

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta**

**Návrh a realizace přístroje na testování paměti
u *Drosophila melanogaster***

Bakalářská práce

Pavel Štoček

Školitel: Ing. Michal Šerý, Ph.D.

České Budějovice 2014

Bibliografické údaje

Štoček, P., 2014: Návrh a realizace přístroje na testování paměti u *Drosophila melanogaster*.

[Design and realization of instrument for testing memory in *Drosophila melanogaster*. Bc. Thesis, in Czech.] – 50 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Cílem této bakalářské práce bylo vytvoření přístroje pro potřeby Entomologického ústavu AV ČR, který umožní testování paměti u *Drosophila melanogaster*. Přístroj byl nejprve navrhnout v CAD systému SolidWorks. Soubory s modely výkresů byly předány výrobní firmě, která jej vyrobila. Přístroj byl sestaven a bylo provedeno testovací měření pro ověření funkčnosti.

Annotation:

The aim of this Bachelor thesis is to make an instrument for the needs of the Entomological Institute of the CZECH ACADEMY of SCIENCES, which allows testing *Drosophila melanogaster* memory. First, the device was designed in CAD system SolidWorks. Files with the models of the drawings were handed over to the production company that manufactured the device. The instrument was assembled and the test measurements for validation of functionality was performed.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

České Budějovice, 22. dubna 2014

Pavel Štoček

Poděkování

Zde bych rád poděkoval Ing. Michalovi Šerému, Ph.D, vedoucímu mé bakalářské práce za cenné rady a připomínky potřebné k vypracování této práce. Mojí rodině za podporu a trpělivost. Firmě FUKSA Lišov s.r.o. za výrobu přístroje.

Obsah

Úvod	6
Cíle práce.....	7
1 Návrh zařízení v SolidWorks.....	8
1.1 Proč právě SolidWorks	8
1.2 Popis uživatelského rozhraní programu [1]	8
1.3 Postup návrhu	11
2 Konstrukce přístroje	25
2.1 Materiál a výběr CAD systému pro vývoj	25
2.2 Modelování v CAD systému.....	26
3 Soupis dílů a materiálu	36
4 Popis testovací metody	37
4.1 Vyučovací přístroj	37
4.2 Průběh testu.....	37
4.3 Příprava sběrných a krycích zkumavek	38
4.4 Zdroj vakua a měřiče proudu vzduchu	38
5 Testovací měření.....	40
6 Vyhodnocení a závěr.....	45
7 Citovaná literatura	46
7.1 Seznam obrázků.....	46
7.2 Seznam tabulek	49
8 Přílohy	50

Úvod

Prvotním impulsem pro vypracování této bakalářské práce byla potřeba zařízení pro testování paměti při výzkumu *Drosophila melanogaster* v Entomologickém ústavu AV ČR v Českých Budějovicích. Tento přístroj není možné zakoupit a bylo tedy nutné jej navrhnout a vyrobit. Pro vývoj bylo možno uplatnit znalosti získané při studiu na JČU při práci s CAD systémem Solid Works a vlastní zájem o techniku a konstrukci zajímavého přístroje. Zároveň se jednalo a zajímavé propojení studovaného oboru s konkrétní vědeckou aplikací potřebnou pro výzkum.

Cíle práce

Hlavním cílem této práce bylo vytvoření testovacího přístroje pro testování paměti u drobného hmyzu zvláště pak u druhu *Drosophila melanogaster*.

Dílčí cíle:

- Vytvořit dokumentaci pro kusovou výrobu
- navrhnout pracoviště
- otestovat sestavu

1 Návrh zařízení v SolidWorks

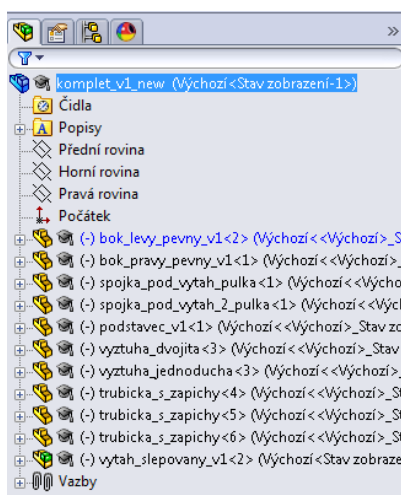
1.1 Proč právě SolidWorks

CAD systém SolidWorks je 3D parametrický modelář, který přesně vyhovoval našim požadavkům při vývoji přístroje. Velmi nám pomohlo, že jsme pracovali s modelem přístroje, na kterém jsme mohli předem odladit jednotlivé části, aniž bychom je museli předem vyrábět a následně upravovat. Což vedlo jednak k úspoře nákladů na vývoj, ale hlavně k jeho urychlení a zefektivnění. Zároveň jsme konzultovali parametry jednotlivých dílů i s výrobní firmou, s ohledem na technická omezení výrobních postupů při použití polykarbonátu. Tímto postupem bylo předem odhaleno několik potencionálně problémových částí, které byly upraveny ještě před vlastní výrobou. Následná výroba přístroje potom již proběhla bez komplikací. Samozřejmě nám velmi pomohlo i to, že je SolidWorks k dispozici nejen na počítačích JČU, ale i jako studentská verze pro práce studentů na jejich vlastních PC.

1.2 Popis uživatelského rozhraní programu [1]

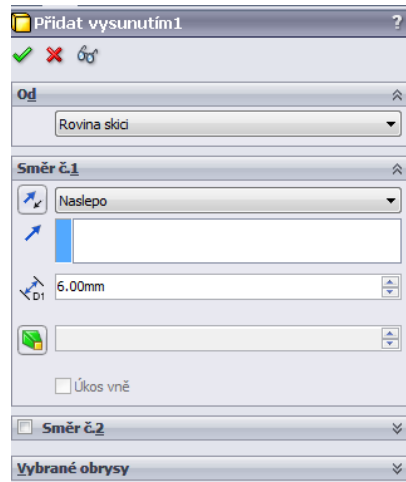
V pracovním prostředí jsou kombinovány všechny moderní ovládací prvky jako například pás karet (nazývaný jako CommandManager), kde jsou logicky seskupeny podobné nástroje, s v praxi osvědčeným systémem roletových menu. Základní prvky tedy jsou:

- strom neboli FeatureManager®, který zobrazuje strukturu dílu, sestavy nebo výkresu. Používá se tehdy, když chceme upravit aktuální skicu, prvek nebo součást



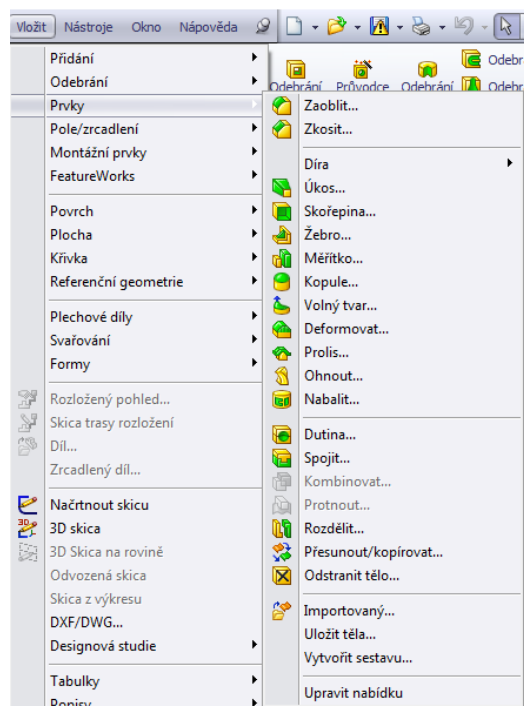
Obr. 1 FeatureManager®

- PropertyManager slouží k nastavení mnoha položek dané operace, jako třeba směr nebo délku vysunutí

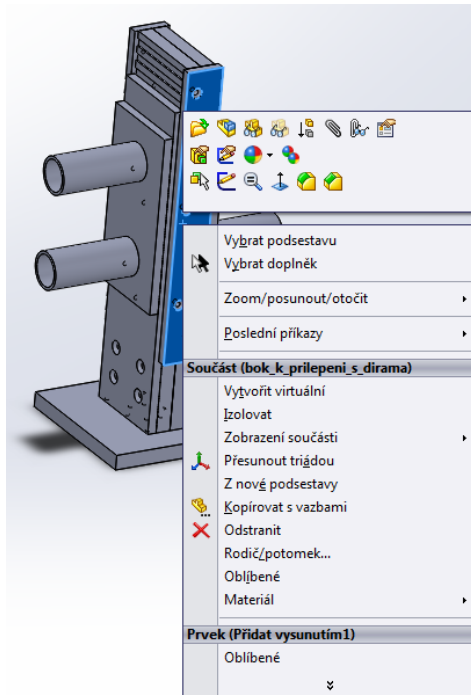


Obr. 2 PropertyManager

- Roletové menu se vyvolává výběrem z nabídek nebo pravým tlačítkem myši vyvoláme místní kontextovou nabídku.

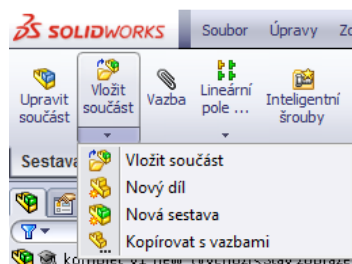


Obr. 3 výběr z roletového menu



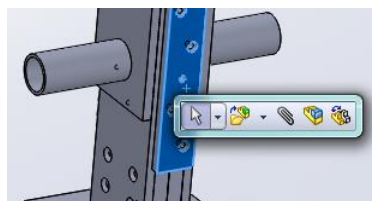
Obr. 4 místní kontextová nabídka

- Panely nástrojů mohou obsahovat i více vnořených možností včetně možnosti úprav dle zvyklostí uživatele.



Obr. 5 panel nástrojů

- Panel zástupců standardně vyvolaný stiskem klávesové zkratky S



Obr. 6 panel zástupců

Systém se ovládá myší, přičemž tlačítka myši pracují následujícím způsobem:

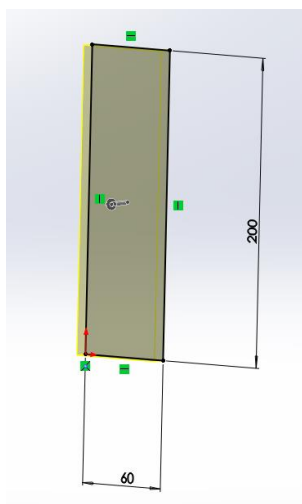
- LEVÉ -výběr položek nabídky, entit nebo objektů
- PRAVÉ – zobrazení místní kontextové nabídky
- STŘEDNÍ – otáčení, posouvání a přibližování. [2]

1.3 Postup návrhu

1.3.1 Modelování části A

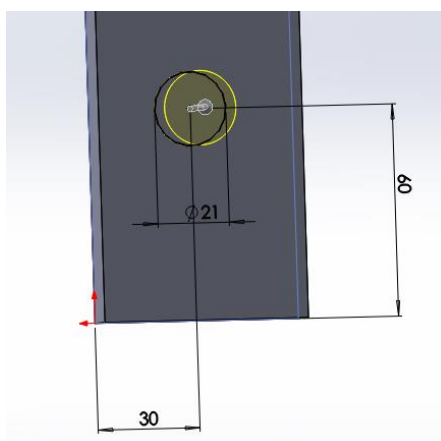
Při vlastním návrhu přístroje bylo rozhodnuto, že budeme modelovat jednotlivé části samostatně a teprve následně využijeme možnosti práce se sestavami, což nám umožní jednak ucelený pohled na celý přístroj a zároveň bude možné předávat jednotlivé komponenty firmě pro výrobu. Úpravy na modelu je možné provádět jak na celé sestavě s následným aplikováním změn do souborů jednotlivých dílů, tak i naopak. Systém tedy umožňuje udržovat všechny výkresy v aktuálních verzích a to i včetně 2D pohledů výrobních podkladů. Při návrhu jsme vycházeli z polotovarů polykarbonátových desek, které jsme měli k dispozici. No, a jelikož byla samozřejmě důležitá i cena výrobku, rozvrhli jsme vše tak, aby nám materiál vyšel. Jednalo se o zbytky z výroby větších zakázek, díky tomu jsme nemuseli nakupovat rozměrné desky, což samozřejmě mělo pozitivní vliv na finální cenu zařízení.

Nejprve jsme začali modelovat pohyblivou část A tedy výtah, který se skládá ze dvou částí. Pro vytvoření dílu byl nakreslen 2D profil, který byl následně funkcí *přidat vysunutím* „vytažen“ do 3D.



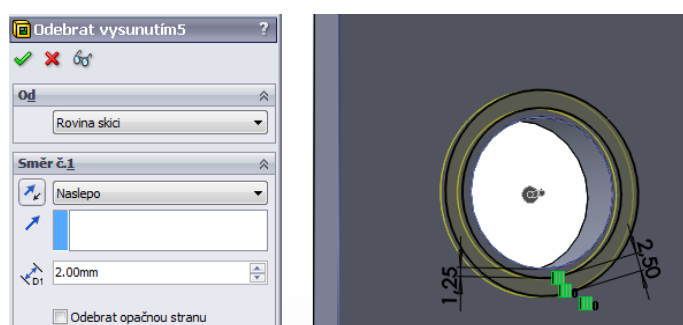
Obr. 7 základní polotovar části A1

Následně byl vytvořen otvor v dolní části funkcí *odebrat vysunutím*, kdy se na výchozí díl načrtne skica odebíraného profilu, který se pomocí inteligentního kótování přesně umístí.



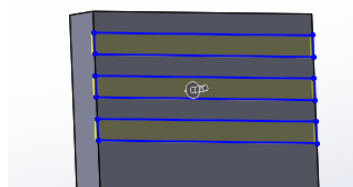
Obr. 8 vytvoření spodní díry v části A1

Dalším krokem bylo vytvoření drážky pro těsnící O-kroužek. Rovněž pomocí funkce *odebrat vysunutím*.



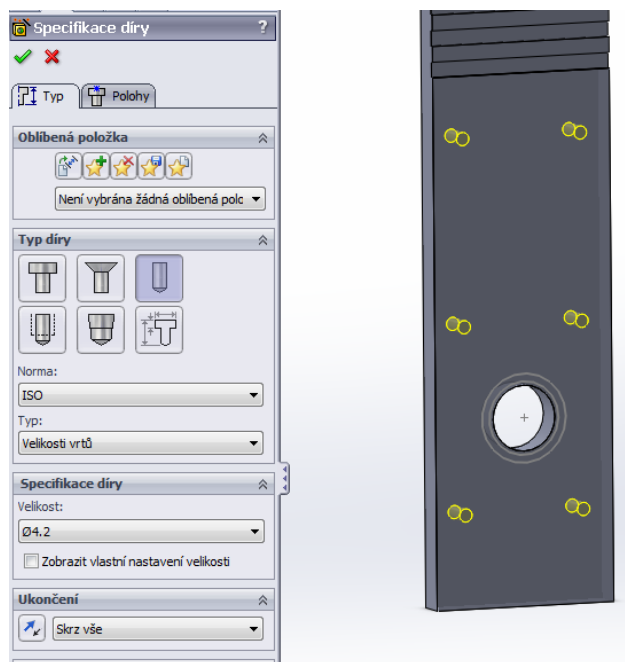
Obr. 9 drážka pro O-kroužek u otvoru v části A1

Dále bylo třeba vytvořit drážkování v horní části, pro lepší držení výtahu v ruce při manipulaci. Opět pomocí funkce *odebrat vysunutím*.



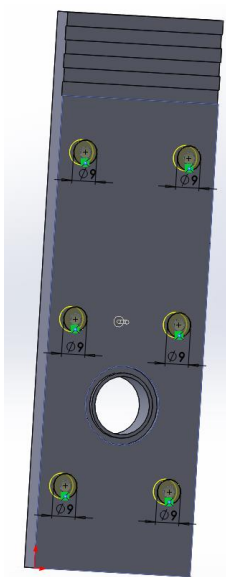
Obr. 10 drážky pro držení na části A1

Pro možnost spojení částí A1 a A2 k sobě bylo třeba vytvořit šest symetricky umístěných děr. Pro tyto případy je funkce *průvodce dírami*, kdy se vtvrtají všechny najednou.



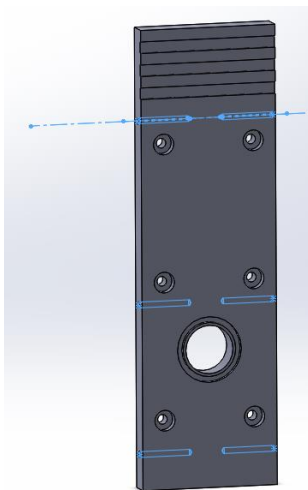
Obr. 11 vrtání děr pro šrouby v části A1

Dalším krokem bylo vytvoření zahloubení pro zapuštění matic, aby nebylo bráněno pohybu výtahu a zároveň bylo možné těsné spojení se stacionární částí ve fixních polohách. Funkcí *odebrat vysunutím*.



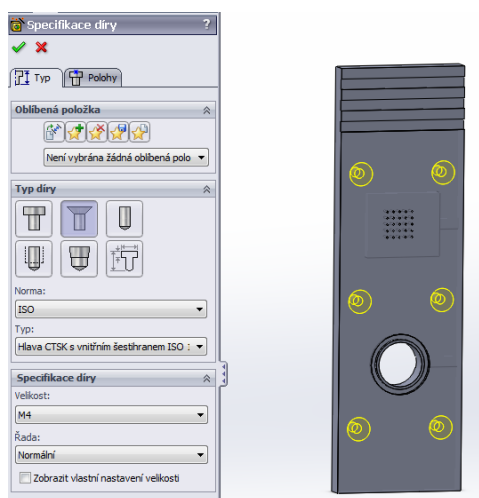
Obr. 12 zapuštění matic v části A1

Posledním krokem bylo vytvoření celkem šesti závitových děr ze stran pro šrouby fixující části A3 a A4 k části A1 respektive A2 funkcí *průvodce dírami*.



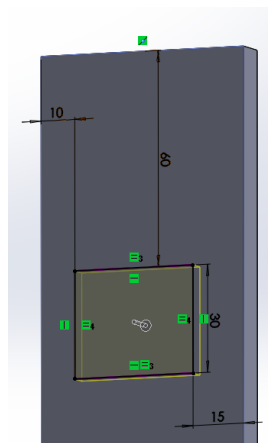
Obr. 13 závitové díry v části A1

Část A2 byla vytvořena stejným způsobem jako část A1 jenom s několika změnami a dalšími úpravami. Nebyla vytvořena zahloubení pro zapuštění matic, ale kuželová zahloubení pro šrouby se zápustnou hlavou, funkcí *průvodce dírami*



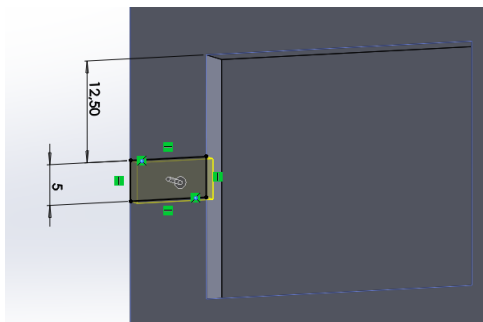
Obr. 14 kuželová zahloubení pro šrouby v části A2

Další úpravou bylo odebrání části tvaru kvádrů z dílu A2 pro vytvoření dutiny při následném spojení dílů A1 a A2 dohromady. Funkcí *odebrání vysunutím*.



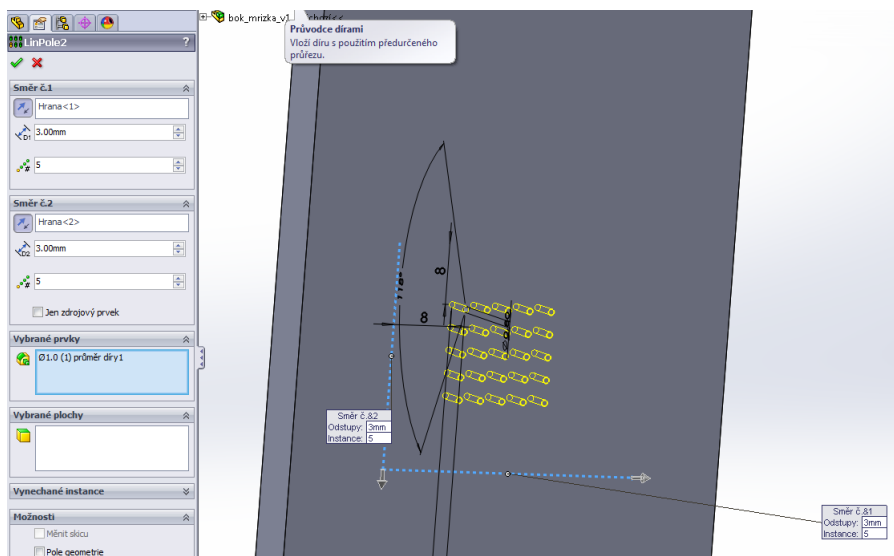
Obr. 15 tvorba dutiny mezi díly A1 a A2

Dále bylo třeba vytvořit napojení dutiny k otvoru v části A4, které bylo provedeno odebráním příslušného profilu funkcí *odebrání vysunutím*.



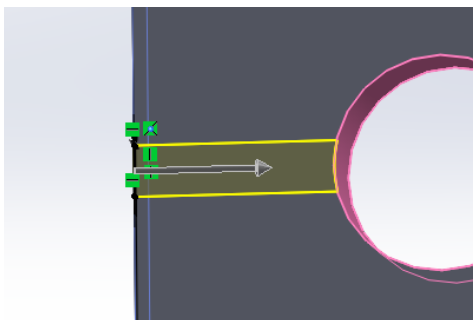
Obr. 16 tvorba napojení dutiny v části A2

Další úpravou bylo vytvoření mřížky pro odsávání přes gridovou zkumavku pomocí funkcí *průvodce dírami* a lineárního pole děr.



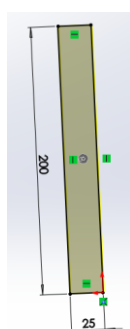
Obr. 17 mřížka v části A2

Jako poslední úprava na části A2 bylo vytvořeno napojení spodního otvoru na otvor v části A4, pomocí funkce *odebrání vysunutím*.



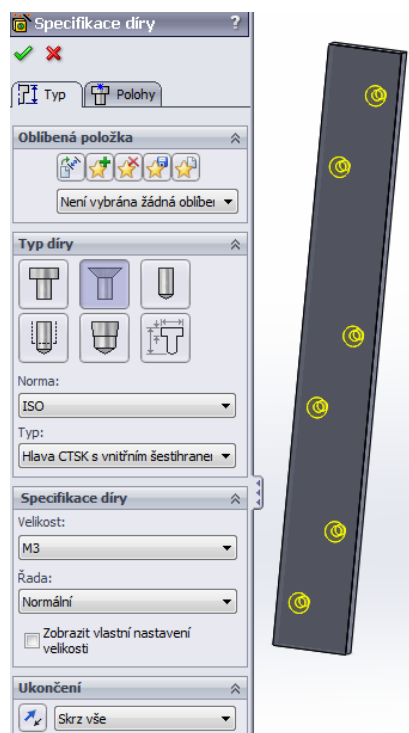
Obr. 18 napojení díry v části A2 na díru v části A4

Nyní bylo třeba vytvořit boky A3 a A4. Jako první byl vytvořen bok A3 pomocí funkce *přidání vysunutím*.



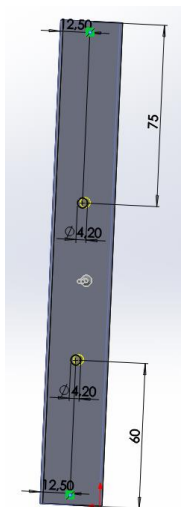
Obr. 19 tvorba boku A3

Následně v něm bylo třeba vyvrtat šest děr s kuželovým zahloubením pro šrouby se zápusťnou hlavou. K čemuž se nejlépe hodila funkce *průvodce dírami*.



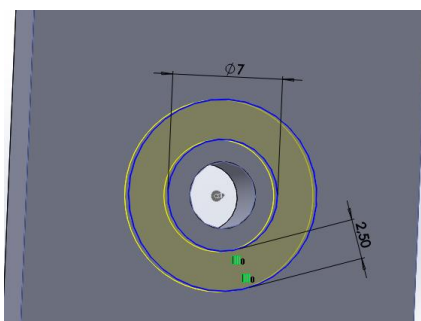
Obr. 20 díry pro šrouby v části A3

Část A4 byla vytvořena stejným způsobem jako část A3 pouze byly navíc vyvrtány dvě díry pro připojení redukcí na hadičky, pomocí funkce *odebrání vysunutím*.



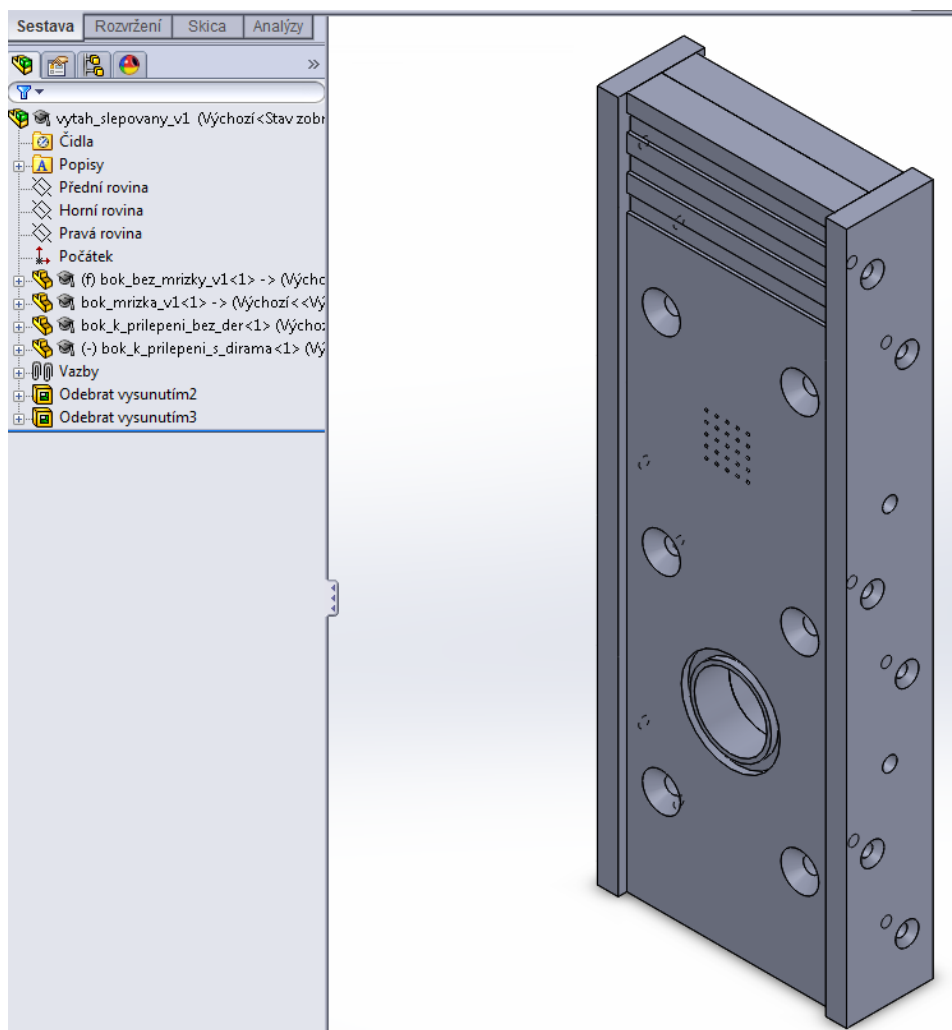
Obr. 21 díry pro napojení na hadičky v části A4

Poslední úpravou na části A4 bylo vytvoření drážky pro O-kroužek, které zajišťují těsné napojení části A4 na spojené části A1 a A2. Použita byla opět funkce *odebrání profilu vysunutím*.



Obr. 22 drážka pro O-kroužek v části A4

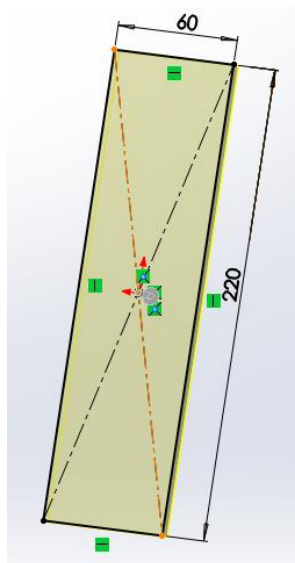
Tím byly vytvořeny všechny jednotlivé díly části A a následným krokem tedy bylo spojení všech dílů do sestavy pro vytvoření modelu celého celku výtahu.



Obr. 23 sestava výtahu - část A

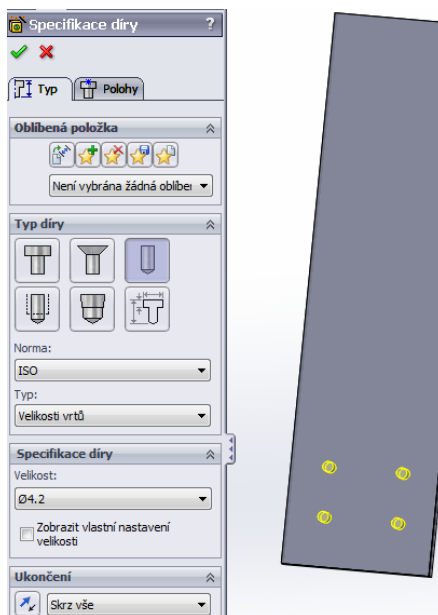
1.3.2 Modelování části B

Dalším krokem bylo vytvoření stacionární části B, do které bude následně umístěn výtah A. Proto bylo třeba nejprve vytvořit dva boky B1 a B2. K tvorbě základních polotovarů obou byla použita funkce *přidání vysunutím*.



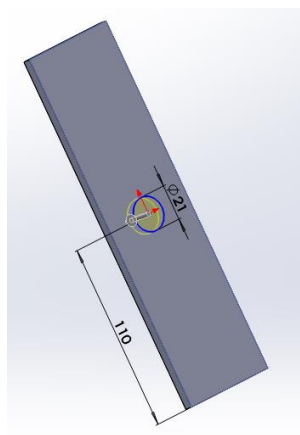
Obr. 24 základní polotovar části B1 a B2

Dále byly ve spodní části dílů B1 a B2 vyvrtány čtyři díry pro jejich spojení přes vymežovací díly B3A a B3B. V dílu B1 bylo navíc použito kuželové zahloubení pro šroub se zápusťnou hlavou, vše pomocí funkce *průvodce dírami*.



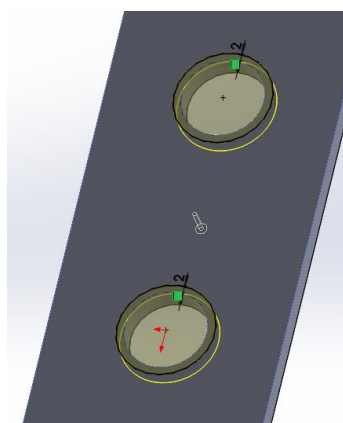
Obr. 25 díry v dolní části B1 a B2

Dále byly vytvořeny díry o stejném průměru jako je vnitřní průměr zkumavky pomocí funkce *odebrání vysunutím* v dílu B1 dvě a v B2 pouze jedna. Pro připojení zkumavek ke stacionární části skrz zesílení B5 respektive B6.



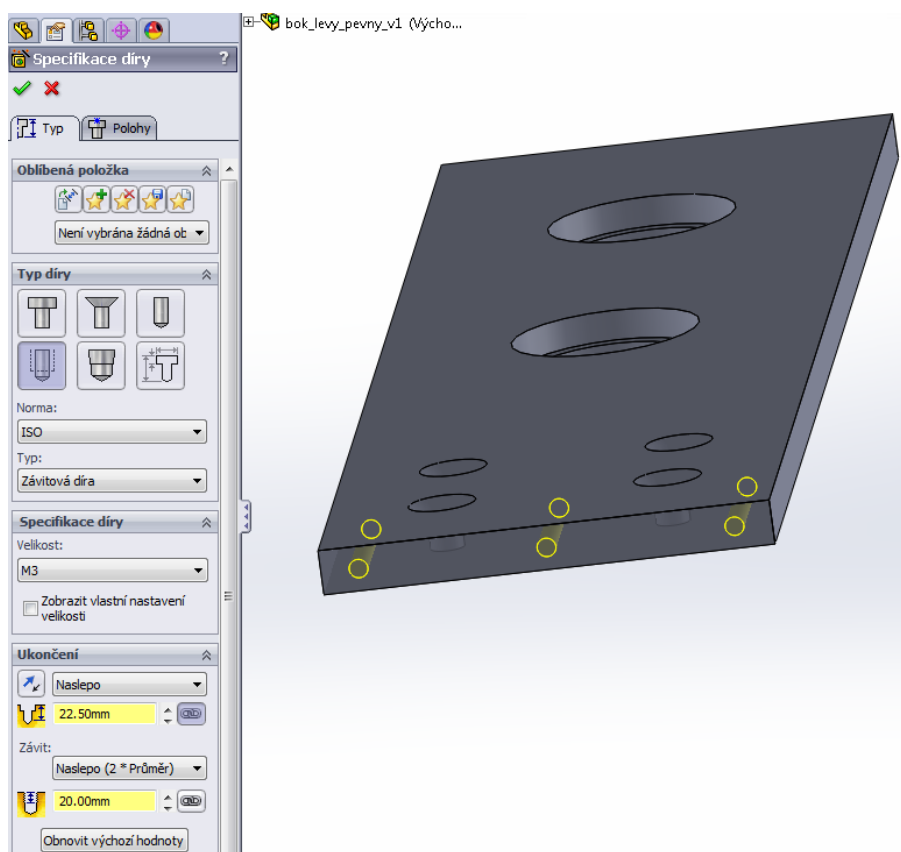
Obr. 26 díry pro připojení zkumavek v B1 a B2

Pro přesné umístění zkumavek bylo v obou dílech B1 i B2 vytvořeno sedlo vytvořením díry o shodném průměru jako je vnější průměr zkumavky, ale pouze do poloviny tloušťky destičky. Funkcí *odebrání vysunutím*.



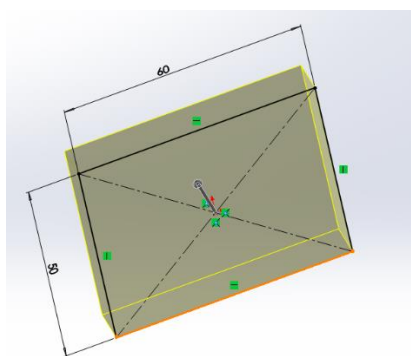
Obr. 27 sedla pro zkumavky v dílech B1 resp. B2

Jako poslední byly na spodní části obou boků vyvrtány v každém tři závitové díry pro přichycení k základně B4. Funkcí *průvodce dírami*.



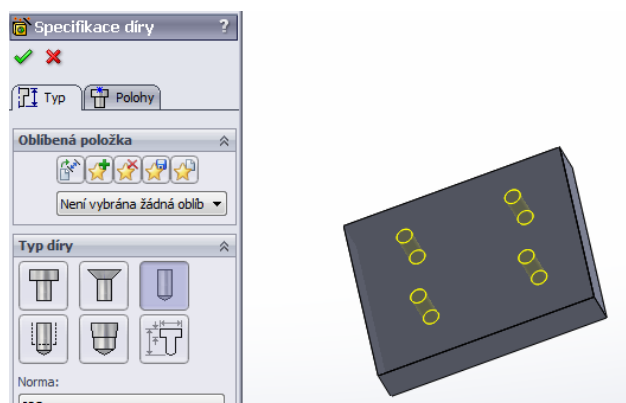
Obr. 28 díry pro připojení B1 resp. B2 k základně B4

Dále byly vytvořeny vymežovací díly B3A a B3B oba pomocí funkce *přidání vysunutím* a následným opracováním.



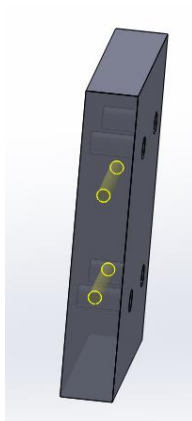
Obr. 29 polotovar dílů B3A a B3B

Nejprve vyvrtáním čtyř děr pro spojení s boky B1 a B2 pomocí funkce *průvodce dírami*.



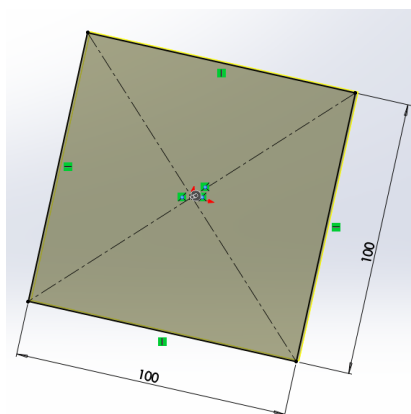
Obr. 30 díry v B3A a B3B pro spojení s částmi B1 a B2

Dále potom vyvrtáním dvou závitových děr v každé části opět pomocí funkce *průvodce dírami* pro připojení k základně B4.



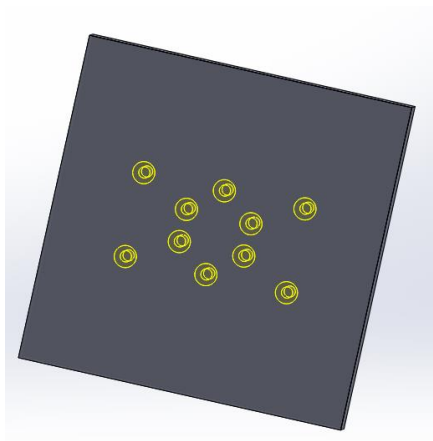
Obr. 31 díry v částech B3A a B3B pro připojení k základně B4

Potom byla vytvořena základna B4. Pomocí funkce *přidat vysunutím* byl vytvořen základní polotovár.



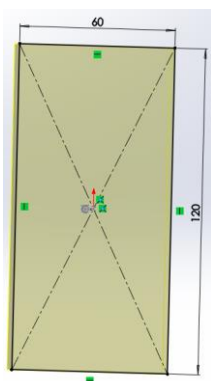
Obr. 32 polotovar základny B4

Do polotovaru základny bylo následně funkcí *průvodce dírami* vyvrtáno deset děr s kuželovým zahloubením pro šrouby s kuželovou hlavou, aby základna mohla bezpečně stát na rovné podložce.

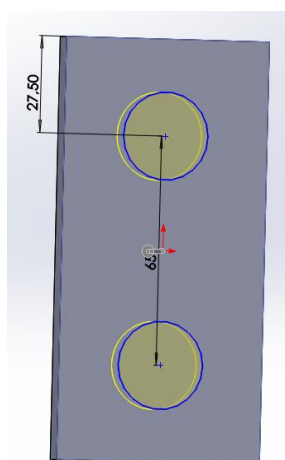


Obr. 33 díry v základně B4 pro připojení k dílům B1,B2,B3A,B3B

Jako poslední byly vytvořeny výztuhy B5 a B6. Pomocí funkce *přidat vysunutím*. Výztuha B5 je větší a má dva otvory o velikosti vnějšího průměru zkumavek vytvořené pomocí funkce *odebrat vysunutím*. Výztuha B6 je menší a otvor má pouze jeden, jinak je vytvořena stejným postupem.

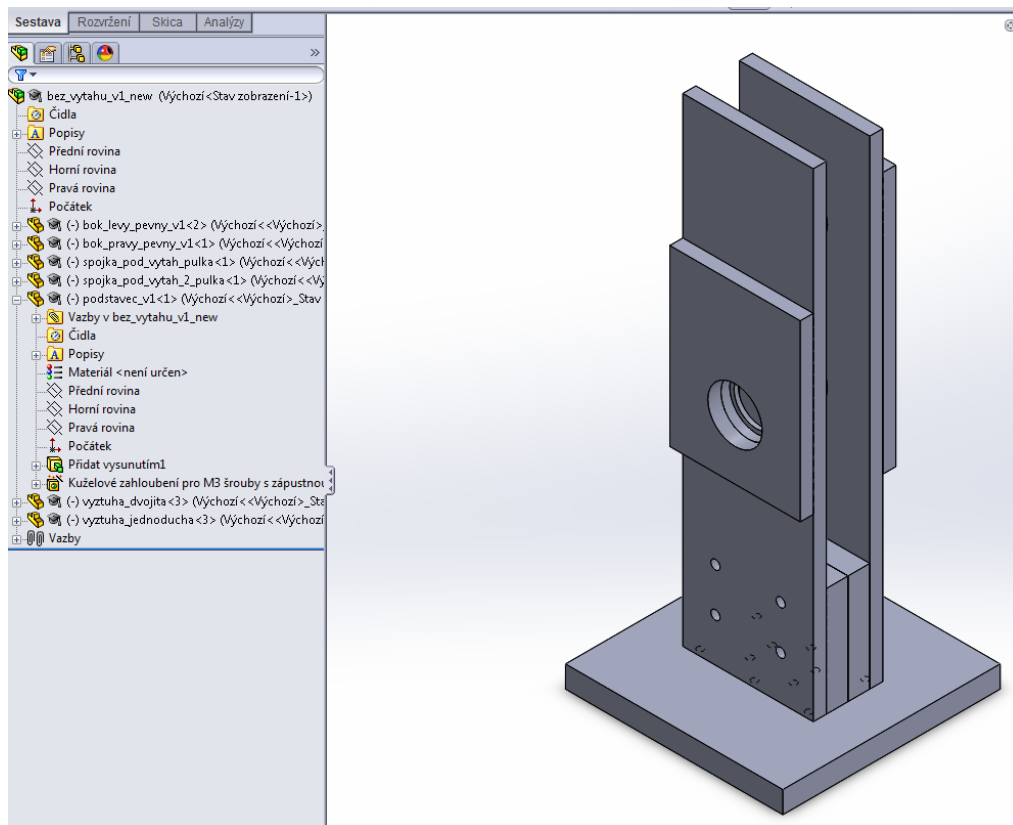


Obr. 34 polotovar B5



Obr. 35 díry pro zkumavky v části B5

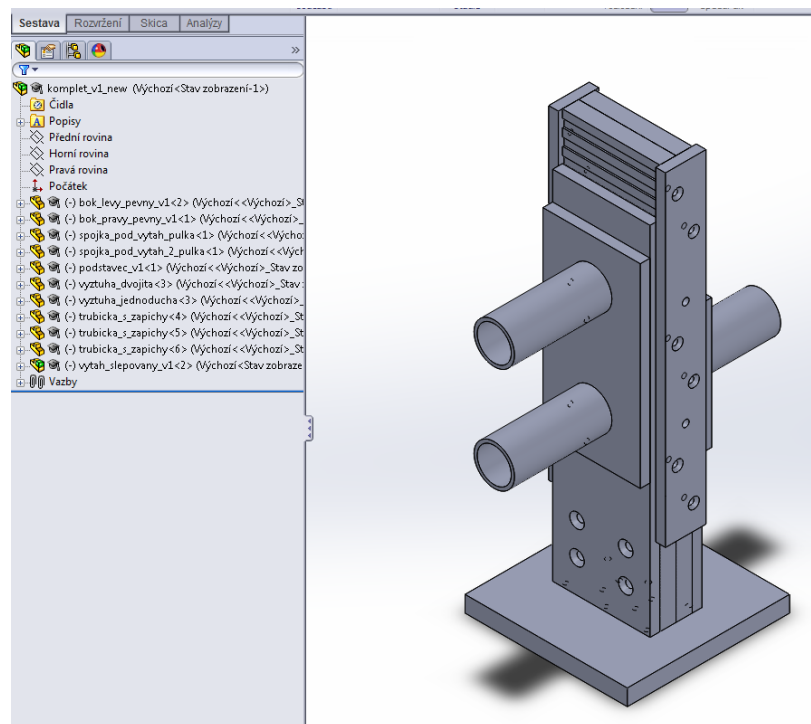
Tímto postupem tedy byly vytvořeny všechny díly stacionární části B a dalším krokem tedy bylo jejich spojení do jedné sestavy.



Obr. 36 sestava části B

1.3.3 Celková sestava přístroje C

Jako poslední krok bylo spojení obou sestav jak A tak i B do jedné celkové sestavy celého přístroje C včetně zkumavek.



Obr. 37 celková sestava přístroje C

2 Konstrukce přístroje

Přístroj, který jsme se rozhodli navrhnout, a vyrobit vychází ze zařízení, které používají ve Wadellově laboratoři v USA, ale není možné jej zakoupit. [3]

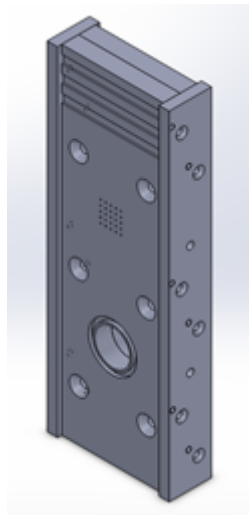
2.1 Materiál a výběr CAD systému pro vývoj

Nejprve bylo třeba vybrat materiál, ze kterého bude testovací zařízení vyrobeno. Materiál musel být inertní vůči působení chemikálií, snadno omyvatelný, mechanicky odolný a to jednak kvůli manipulaci při vlastním testování a dále také pro nutnost rozebiratelnosti pro čištění mezi pokusy. Volba tedy padla na polykarbonát, který vyšel dle nastavených kritérií jako nejvhodnější. Po výběru materiálu bylo třeba navrhnout přístroj a vytvořit výrobní dokumentaci pro jeho realizaci. Nejprve jsme tedy hledali firmu, která by dle našeho zadání byla schopna zařízení vyrobit. Musela mít odpovídající strojní vybavení, včetně možnosti výroby z předem připraveného modelu v 3D CAD systému. Po usilovném hledání jsme našli firmu FUKSA Lišov s.r.o., která všechny naše požadavky splňovala. Byli vybaveni CNC frézou, vodním paprskem pro řezání a hlavně chutí do práce při výrobě přístroje, v jejich podmínkách mikro velikosti, neboť standardně zpracovávají několikametrové kusy kovu. Začali jsme tedy komunikovat s jejich technologem a ladili jsme formu předávání dat mezi námi. Zjistili jsme, že software k ovládání CNC frézy umí formáty IGES, STEP. Nyní tedy přišel na řadu výběr CAD systému pro vlastní modelování přístroje. Systémů je na našem trhu celá řada. Vyšší a střední třída: Autodesk Inventor, SolidWorks, Solid Edge, Pro/Engineer, CATIA, střední a nižší třída DesigCAD, IronCAD, TurboCAD nebo VariCAD. Se systémem VariCAD mám osobní bohaté zkušenosti, neboť jsem ve stejnojmenné firmě tři roky pracoval v oddělení technické podpory. Práce v něm je velice intuitivní a efektivní. Umí i výměnu dat ve formátu IGES nebo STEP. Na naší univerzitě, jsem se ale setkal se systémem SolidWorks, který používá i výrobní firma, proto byl vybrán právě on. Další výhodou byla možnost používat studentskou verzi i doma. Volba systému byla tedy vyřešena. Jako největší výhoda se ukázala možnost výměny přímo 3D modelů součástí přístroje, bez nutnosti generování podrobné 2D výkresové dokumentace. 2D dokumentace se použila pouze pro zjištění materiálové náročnosti přístroje, neboli k objednání polotovarů pro výrobu. Vlastní modely dílů, již technik přímo nahrával do obráběcího software CNC frézy, což velmi zjednodušilo a zefektivnilo celý vývoj, neboť byla eliminována možnost chyb při tvorbě nebo čtení 2D dokumentace a následného převodu zpět do 3D výrobku.

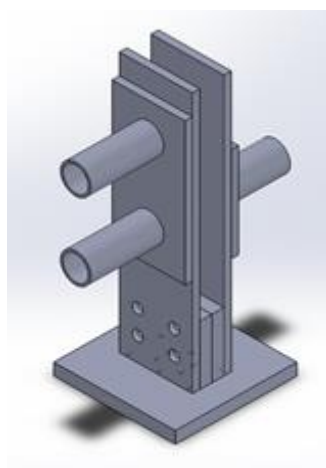
2.2 Modelování v CAD systému

2.2.1 Hlavní funkční celky A a B

Bylo tedy započato s vlastním modelováním přístroje v SolidWorks. Nejprve byly rozvrženy a pojmenovány základní funkční celky. Přístroj se skládá ze dvou základních částí pohyblivé (dále značena jako A) a stacionární (dále značena jako B).



Obr. 38 Pohyblivá část -A

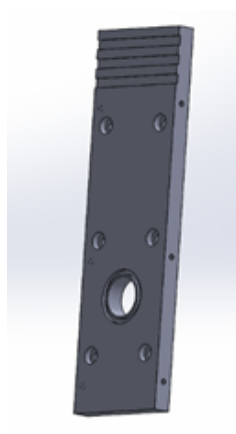


Obr. 39 Stacionární část B

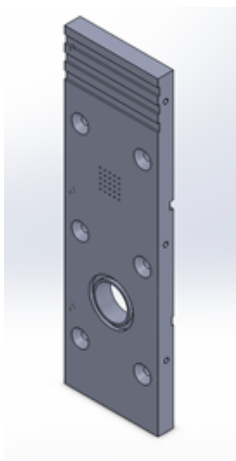
Na část B se připojují učicí a testovací zkumavky a je rovněž připevněna k podstavci, který udržuje celý přístroj v pracovní poloze. K části A se připojuje vodní pumpa, a dále slouží jako výtah mezi učicí a testovacími zkumavkami. Další velmi důležitá vlastnost byla snadná rozebíratelnost celého přístroje, kvůli nutnosti častého čištění od nečistot vzniklých při testování. Přístroj je tedy spojen pomocí šroubových spojů se zapuštěnou hlavou na klíč typu imbus, kvůli odolnosti na mechanické poškození při časté manipulaci a pokud je to z provozního hlediska možné, tak jsou použity křídlové matky pro snadnou manipulaci. Celá sestava je navíc stažena rychlosvorkou, pro utěsnění částí A a B vůči sobě při učení nebo testování, která se snadno odstraní při dopravě testovaných much mezi učicí a testovacími zkumavkami.

2.2.2 Skladba výtahu

Výtah A se skládá ze dvou symetrických částí jedné bez mřížky (dále značena jako A1) a druhé s mřížkou a dutinou pro odsávání (dále značenou jako A2).

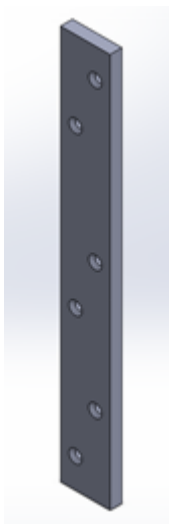


Obr. 40 část výtahu A1

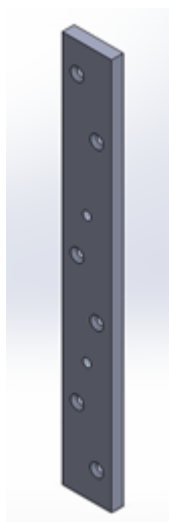


Obr. 41 část výtahu A2

V dolní polovině obou je kruhový otvor, který po spojení obou polovin dohromady vytvoří transportní komůrku pro převoz testovaných much. Obě části jsou pro těsnost spojeny šesti symetricky rozmístěnými šroubovými spoji, čímž je při velmi malé drsnosti povrchu polykarbonátu dosaženo odpovídající těsnosti obou polovin A1 a A2 vůči sobě. Na vnější straně obou polovin je okolo otvoru zafrézování pro těsnící kroužek, který slouží k utěsnění napojení částí A a B při stažení svěrkou. V horní části je z vnější strany obou polovin vyfrézováno několik drážek pro snadnou manipulaci při přesunech z učící do testovací polohy. Poslední dvě části A jsou boky. Jeden bok (dále značen jako A3) s otvory pro šroubky ke spojení s částmi A1 a A2 a druhý bok (dále značen jako A4) navíc s otvory pro připojení vodní pumpy.



Obr. 42 bok A3

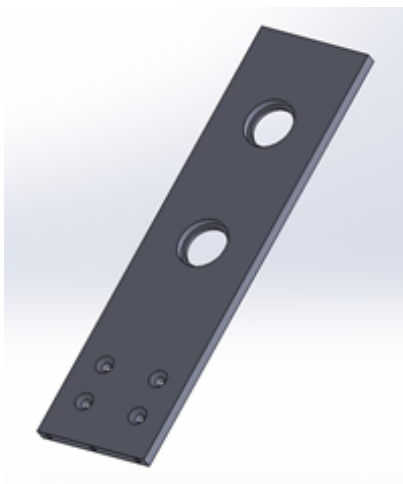


Obr. 43 bok A4

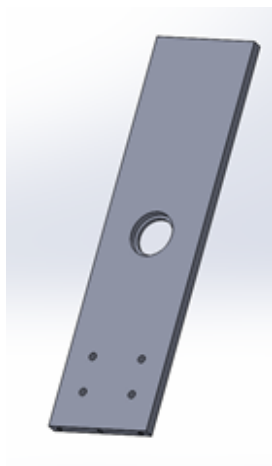
Boky A3 a A4 rovněž slouží jako vodící lišty při pohybu části A vůči části B, kdy umožňují části A pohyb pouze ve svislém směru a zamezují tedy pohybu do stran.

2.2.3 Skladba stacionární části

Bočnice B jsou dvě. Jejich funkce je zamezení pohybu části A do stran, čehož je dosaženo stejnou šířkou jako je vzdálenost boků A3 a A4 od sebe a dále pro napojení zkumavek pro učení a testování včetně umožnění přechodu much z části A do zkumavek. Jedna se dvěma kruhovými otvory (dále značena jako B1) a druhá s jedním kruhovým otvorem (dále značena jako B2).

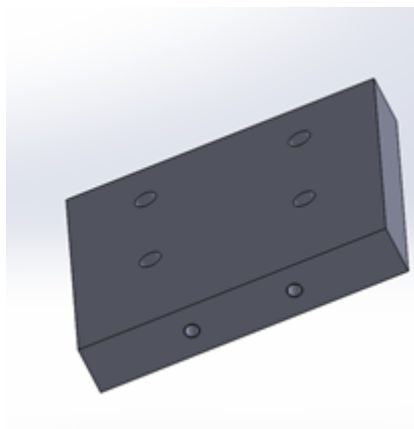


Obr. 44 bočnice B1



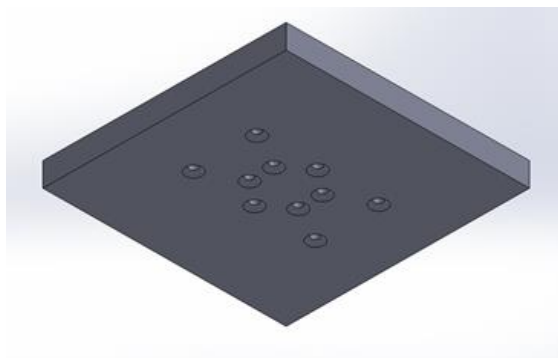
Obr. 45 Bočnice B2

Ve všech otvorech je zafrézováním vytvořeno sedlo, které slouží jako doraz pro zkumavky. V dolní části obou bočnic jsou čtyři symetrické otvory pro spojení bočnic B1 a B2 k sobě pomocí dvou vymežovacích dílů (dále značených jako B3A a B3B).



Obr. 46 vymežovací díly B3A a B3B

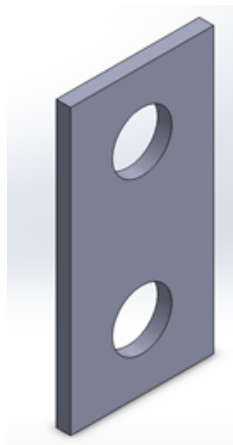
Tyto díly jsou naprosto shodné včetně čtyř symetrických otvorů. Jejich celková tloušťka je stejná jako u částí A1 a A2, čímž přesně vymezují šířku štěrbiny pro umístění a pohyb dílu A ve svislém směru. Zároveň slouží jako spodní doraz pro snadné přesné umístění výtahu A do testovací polohy. Části B1, B2, B3A a B3B jsou spojeny čtyřmi šrouby s křídlovými matkami pro snadnou manipulovatelnost, ze spodní strany je osmi šrouby připojena základna (dále značena jako B4).



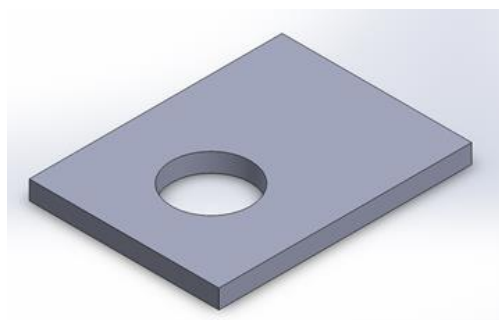
Obr. 47 základna B4

2.2.4 Výztuhy a zkumavky

Pro kvalitnější spojení zkumavek s částí B jsou ještě dvě výztuhy. Jedna se dvěma kruhovými otvory (dále značena jako B5), která je přilepena k části B1 v místě dvou otvorů, druhá s jedním kruhovým otvorem (dále značena jako B6), která je přilepena k části B2 v místě jednoho kruhového otvoru.



Obr. 48 výztuha B5

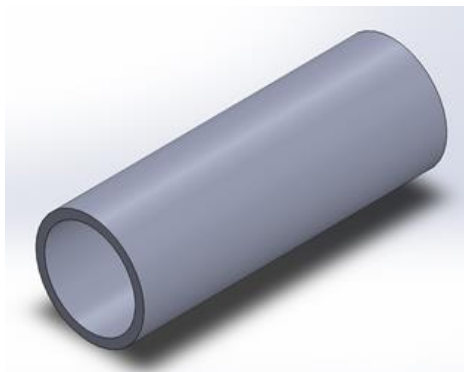


Obr. 49 výztuha B6

Mohou být použity dva druhy zkumavek. Jedny jsou na jedné straně opatřeny dvěma zápichy pro umístění O-kroužků. Druhé tyto O-kroužky ani zápichy nemají. Na opačných koncích zkumavek je umístěna zátka s průchodkou pro napojení hadic od probublávací nádržky pro přívod odorantů. Tyto zátky a průchodky jsme nakoupili.



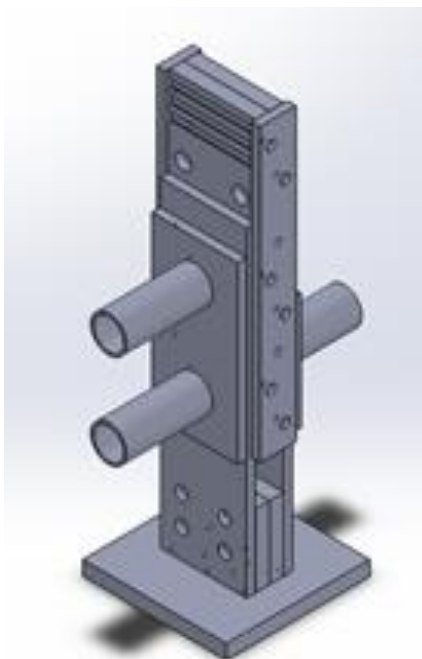
Obr. 50 zkumavka se zápichy



Obr. 51 zkumavka bez zápichů

2.2.5 Kompletní sestava přístroje

Kompletně sestavený testovací přístroj Obr. 52 (dále značen jako C) má dvě základní polohy. Horní učící a spodní testovací.

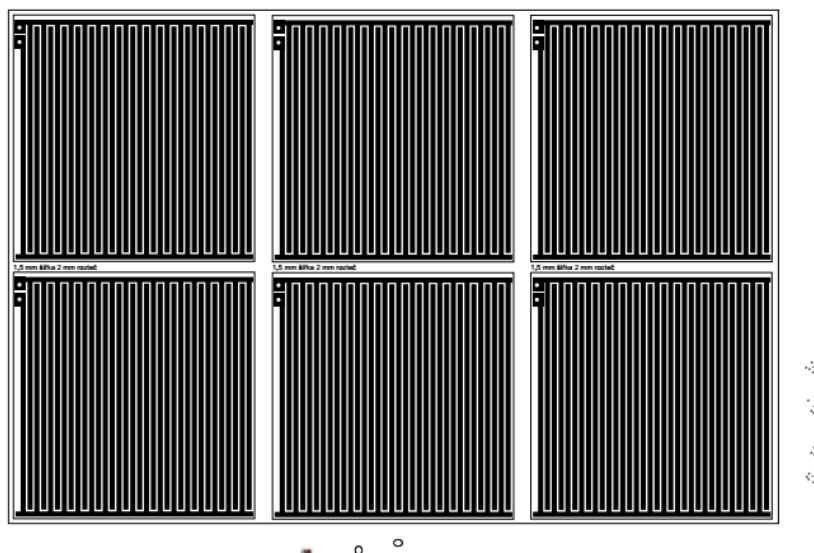


Obr. 52 kompletně sestavený testovací přístroj C

2.2.6 Návrh elektrošokové mřížky

Speciálně je řešena tzv. učící zkumavka (gridová), která po celém vnitřním povrchu flexibilní plošný spoj, sloužící jako elektrošoková mřížka (grid). Při vývoji této mřížky jsme

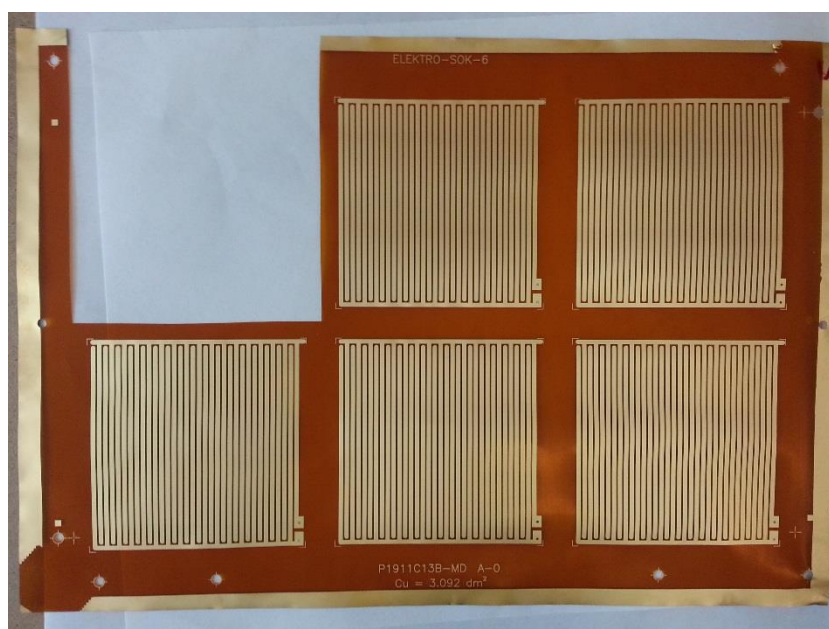
fotili mouchy, *Obr. 53*, abychom vhodně určili vzdálenost vodivých cestiček od sebe.



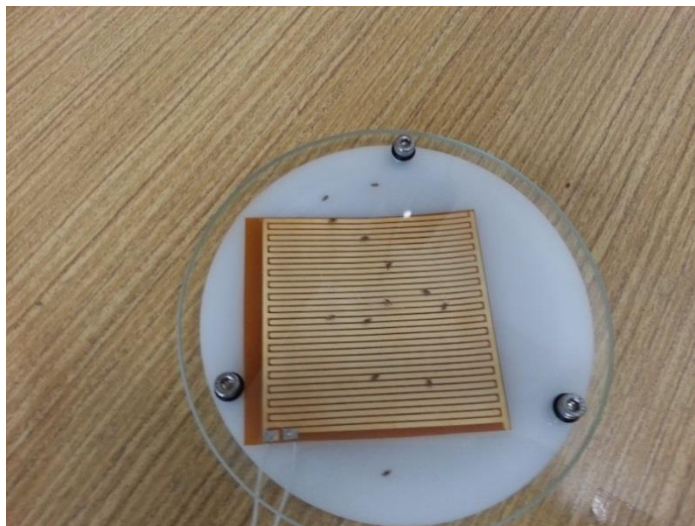
Obr. 53 porovnání fotografovaných much a jejich stop s roztečí mřížky

2.2.7 Testování elektrošokové mřížky

Následně byl vyroben plošný spoj *Obr. 54* a proběhlo jeho testování. Přiletovali jsme k němu drátky a připojil 90 V zdroj pro tvorbu elektrošoků. Pro udržení much v prostoru mřížky jsme použili testovací podložku, na kterou byla umístěna mřížka, vše zakrylo pozorovací sklo a bylo staženo šrouby k sobě.



Obr. 54 flexibilní plošné spoje pro elektrošokovou učící zkumavku



Obr. 55 sestavená testovací souprava

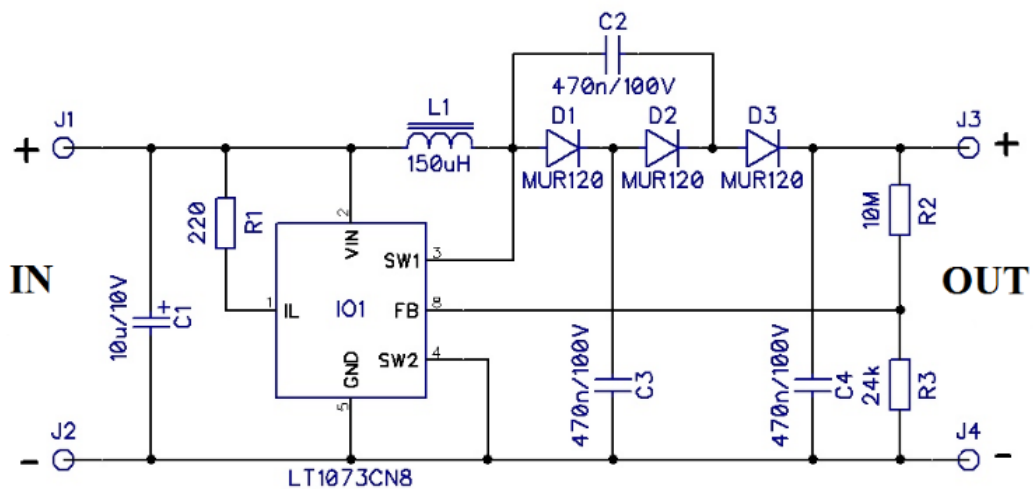


Obr. 56 připojení zdroje elektrošoků

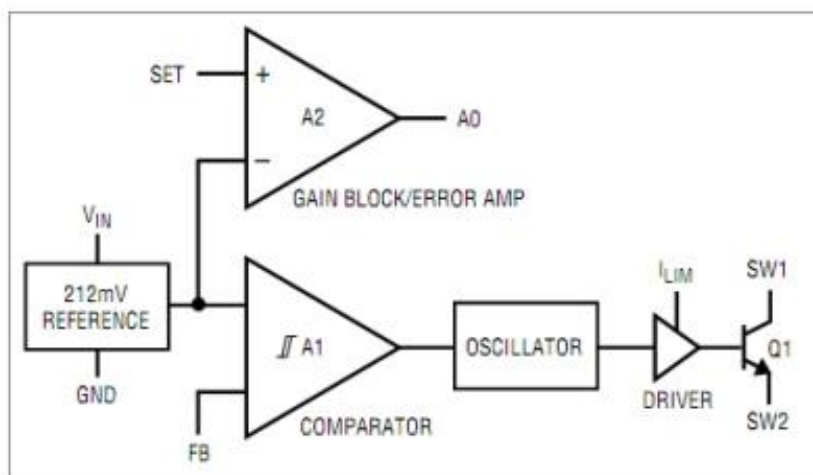
2.2.8 Zdroj napětí pro elektrošoky

Jako zdroj vysokého napětí byl použit obvod s integrovaným obvodem LT1073. Měníč napětí s obvodem LT1093 od firmy Linear Technology upravuje vstupní napětí 1,5 V na stabilizované výstupní napětí o hodnotě až 90 V.

Obvod LT1093 *Obr. 58* z produkce společnosti Linear Technology je určen primárně pro konstrukci elektronických obvodů určených na zvyšování pracovního napětí. Jeho hlavní výhoda spočívá především v širokém rozsahu vstupního napětí (obvod pracuje již od 1 V) a velice nízkém vlastním příkonu. Schéma zapojení obvodu je na obrázku *Obr. 57*. [4] [5]



Obr. 57 schéma zapojení obvodu převzato a upraveno z [4]



Obr. 58 Zjednodušené vnitřní blokové schéma obvodu LT1073 Převzato a upraveno z [4]

3 Soupis dílů a materiálu

Tab. 1 seznam dílů

Tabulka Díl	Rozměr šxvxt[mm]	Počet[ks]	Součást z celku
Díl výtahu A1	60x200x6	1	Výtah A
Díl výtahu A2	60x200x6	1	Výtah A
Bok výtahu A3	25x200x6	1	Výtah A
Bok výtahu A4	25x200x6	1	Výtah A
Bočnice B1	60x220x6	1	Stacionární část B
Bočnice B2	60x220x6	1	Stacionární část B
Vymezovací díl B3A	60x50x10	1	Stacionární část B
Vymezovací díl B3B	60x50x10	1	Stacionární část B
Základna B4	100x100x10	1	Stacionární část B
Výztuha B5	60x120x6	1	Stacionární část B
Výztuha B6	60x80x6	1	Stacionární část B
Zkumavka	Ø21/25x80	1	Stacionární část B

Tab. 2 spojovací materiál a těsnění

Díl	Rozměr	Počet[ks]	Součást z celku
Šroub	M3x30	10	Základna B4
Šroub	M4x40	4	Základna B4
Křídlová matka	M4	4	Základna B4
Podložka	M4	4	Základna B4
Šroub	M4x16	6	Výtah A
Matka	M4	6	Výtah A
Podložka	M4	6	Výtah A
Šroub	M3x20	12	Výtah A
O-kroužek	Ø23.5/2.5	2	Výtah A (A1 a A2)
O-kroužek	Ø7/2.5	2	Výtah A (A4)

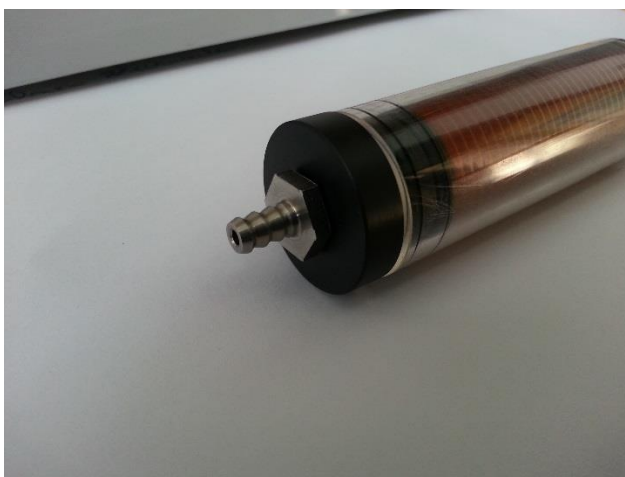
4 Popis testovací metody

4.1 Vyučovací přístroj

Rozhodli jsme se tedy použít metodu, ve které se mouchy trénují a testují na jediném přístroji, zvaném „teaching machine“ (učící mašinka), což je modifikovaná verze „bludiště ve tvaru T“ (‘T’-maze, *Obr. 52*). Přístroj obsahuje pohyblivý „výťah“ s malým prostorem (kompartimentem) pro přenos much z jejich tréninkové pozice v horní části zařízení až na rozhodovací bod z „bludiště ve tvaru T“, ve kterém jsou testovány. V horní poloze jsou mouchy podrobeny v gridové zkumavce (obsahuje elektrošokovou vodivou mřížku) elektrošokům současně s určitým typem pachy. V dolní testovací poloze mají dvě možné cesty, buď za pachem, který je spojen se zážitkem z elektrošoků, nebo za pachem, který není spojen s nepříjemnými podněty. [6]

4.2 Průběh testu

Do zkumavky, která má po svém vnitřním povrchu elektrickou mřížku („gridová zkumavka“) se oddělí populace dospělců. Pomocí vakua lze do zkumavky s uvězněnými mouchami zavádět proud vzduchu s různými pachy. Mouchy se trénují aplikací elektrického proudu na mřížku v době, *Obr. 59* kdy se zavádí jeden ze dvou specifických pachů (označuje se jako CS+). Pak se proud na mřížce vypne a mouchám se zavede jiný pach (CS-), aniž by dostávaly šoky. Po krátkém odpočinku se mouchy přenesou do rozhodovacího bodu se dvěma konvergentními proudy obou zápachů, používaných při tréninku (CS+ and CS-) a dá se jim možnost volby. Před tréninkem vykazují, naivní mouchy stejné preference pro oba zápachy, jak lze změřit v „bludišti tvaru T“ podle distribuce 50:50 mezi oběma zápachy. Ihned po tréninku se však více než 90 % much vyhýbá zápachu (CS+), který byl asociován s elektrošoky. Vyhne-li se 100 % much zápachu spojenému s elektrošoky, je to považováno za „perfektní učení“, kdežto distribuce 50:50 se považuje za „nulové učení“. [3]



Obr. 59 Elektrošoková zkumavka (gridová)

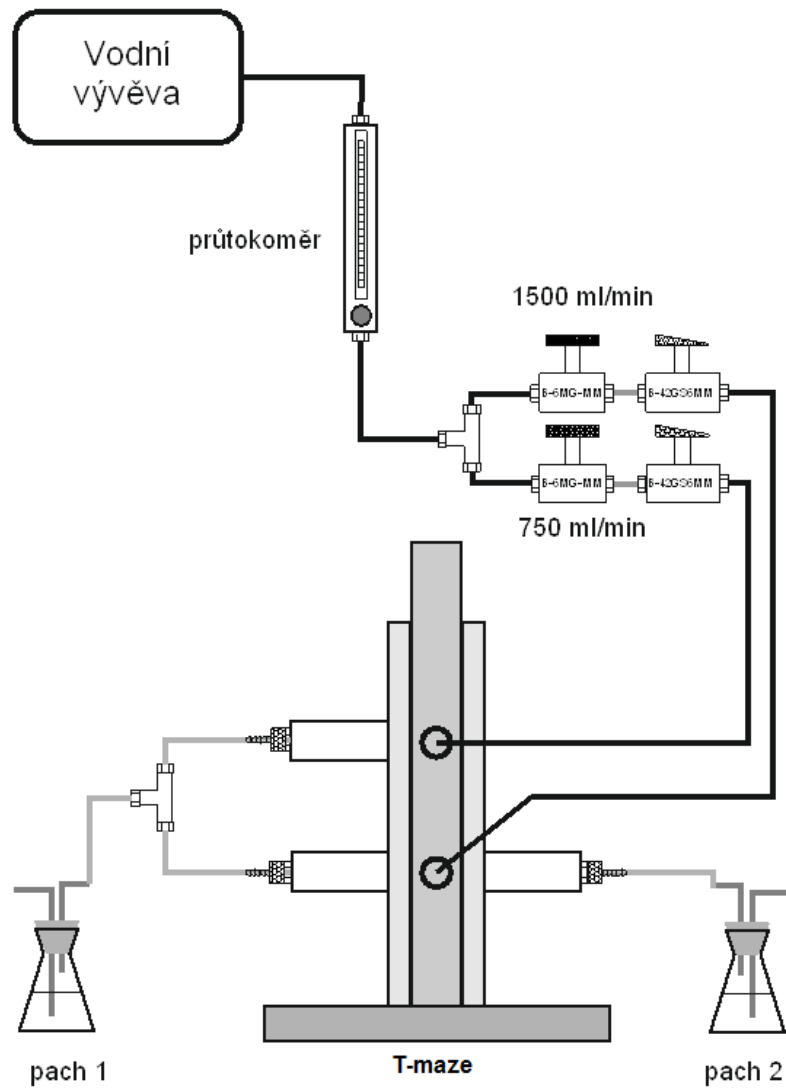
4.3 Příprava sběrných a krycích zkumavek

Sběrné zkumavky tvoří ramena „Téčkového bludiště“ či vyučovacího přístroje a jsou používány pro testy olfaktorického učení. Jsou připojeny k rozhodovacímu bodu „Téčkového bludiště“ tak, že mouchy do těchto zkumavek vstupují, když volí mezi zápachy volbou v ramenech bludiště. Když pak experiment skončí, lze je v každé z obou sběrných zkumavek odchytit. Zkumavky lze od přístroje oddělit a mouchy se přenesou do zkumavky s víčkem. Po úplném ukončení behaviorálních testů lze mouchy uspat a spočítat. Sběrné zkumavky pravděpodobně představují jediný významný zdroj variability materiálu v olfaktorických testech. V důsledku toho je nutné zavést minimální variabilitu při jejich přípravě a údržbě. [6]

4.4 Zdroj vakua a měřiče proudu vzduchu

Zdroj vakua se připojuje k horní a dolní přípojce na výtahu a umožňuje proud vzduchu procházet krycí zkumavkou přes pachové nádoby do sběrných (nebo gridových) zkumavek na mouchy. Je důležité, aby se používal nepřerušovaný proud vzduchu, aby se minimalizovalo rušení much. Vakuové pumpy „rotorového-typu“ by měly jako „bez pulsový“ zdroj vakua vyhovovat. V našem případě je použita vodní vývěva s uzavřeným okruhem. *Obr. 66*

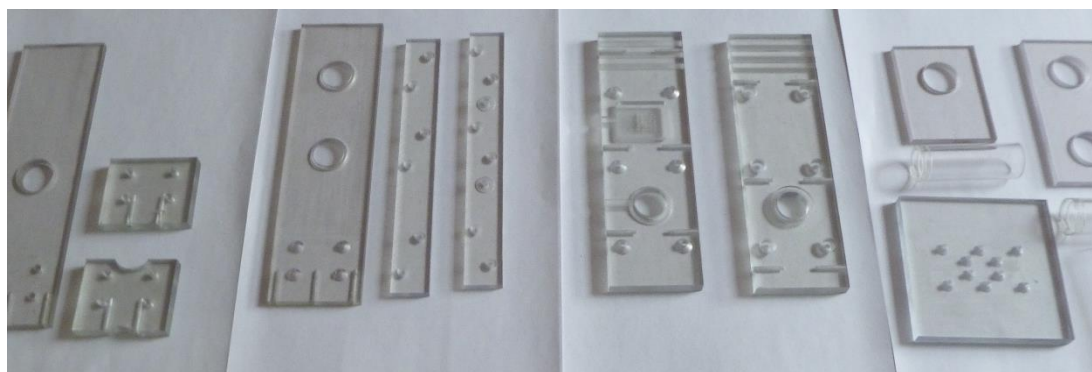
Normálně se v olfaktorických testech používají, dvě vyučovací mašinky a postup se střídá po 15 sekundách. V důsledku toho je vakuum z pumpy rozvětveno pomocí konektoru ve tvaru "Y na dvě hadičky, aby bylo možno zásobovat obě mašinky. Protože má vyučovací mašinka horní a dolní přípojku vyžadující různé rychlosti proudění (750 ml/min a 1500 ml/min, podle pořadí), je vedení vakua dále větveno mezi spodní a horní přípojku pomocí "Y" konektorů. V průběhu pokusů je vakuum připojeno k horním nebo spodním přípojkám každé mašinky pomocí konektorů typu „twistcock“ Rychlost proudění v mřížkové a sběrné zkumavce se měří přímo pomocí průtokoměru vzduchotěsně napojeného na pachotvorný blok. Vakuové průtokové rychlosti se kontrolují v každé dráze regulovatelnými vakuovými jehlovými ventily. (*Obr. 60*) [3]



Obr. 60 schéma zapojení přístroje při testování

5 Testovací měření

Nejprve byl celý přístroj rozebrán na jednotlivé díly a následně důkladně vykoupan v lihové lázni.



Obr. 61 rozebraný přístroj



Obr. 62 lihová lázeň

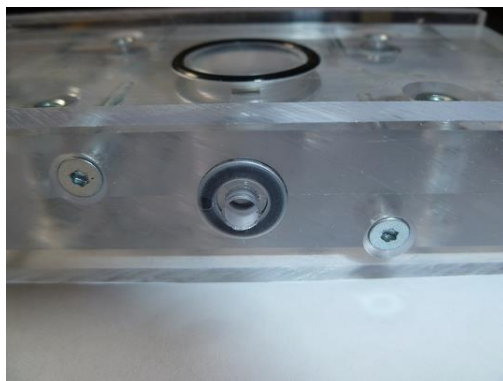


Obr. 63 spojovací materiál

Dále byl celý přístroj zkompletován, aby mohly proběhnout jeho provozní zkoušky, během kterých byla otestována těsnost všech komponentů a funkčnost jednotlivých dílů.



Obr. 64 výtah



Obr. 65 detail těsnění výtahu

Jako zdroj vakua byla použita recirkulační vodní vývěva JVP VELP s uzavřeným vodním okruhem nezávislá na vodovodní síti.



Obr. 66 recirkulační vodní vývěva JVP VELP

Zkumavky byly napojeny na hadičky pomocí přechodových dílů.



Obr. 67 přechodový díl

Napojení hadiček na výtah.



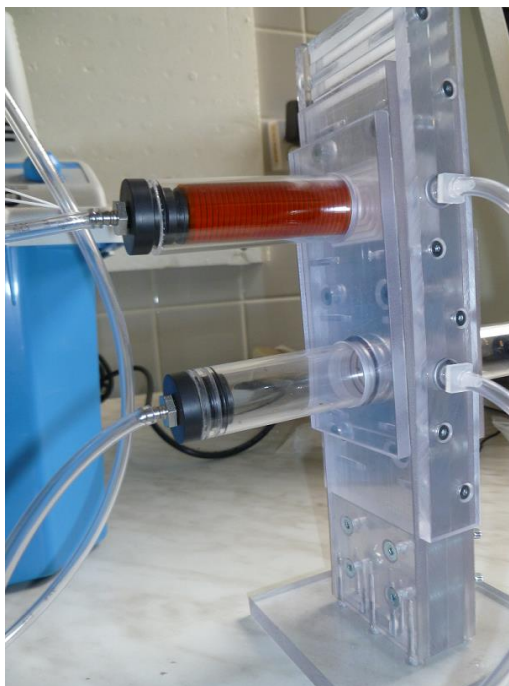
Obr. 68 detail napojení výtahu

Gridová zkumavka.



Obr. 69 gridová zkumavka

Zapojený přístroj v sestavě.



Obr. 70 zapojený přístroj

Test transportu much výtahem.



Obr. 71 transport much

Výtah v dolní rozhodovací pozici.



Obr. 72 test dolní rozhodovací pozice

Detail much ve zkumavce po přechodu z výtahu..



Obr. 73 mouchy ve zkumavce

Testovacím měřením byla ověřena funkčnost celého přístroje a je tedy možné jeho využití v rámci výzkumné činnosti Entomologického ústavu AV ČR.

6 Vyhodnocení a závěr

Cílem této bakalářské práce byl návrh a výroba přístroje pro testování paměti u drobných much zvláště pak druhu *Drosophila melanogaster*. Což se podařilo. Bohužel v době odevzdání práce ještě nebyly k dispozici všechny komponenty nutné pro kompletní měření, proběhlo tedy pouze testovací. Tímto měřením byla ověřena funkčnost přístroje. Funkčnost celé sestavy a finální měření před nasazením do provozu v laboratoři bude provedeno následně.

7 Citovaná literatura

- [1] SOLIDVISION, S. R. O. SolidWorks - 3D CAD navrhování. In: SOLIDVISION, S. R. O. *SolidVision, s.r.o.* [online]. [2013] [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <http://www.solidvision.cz/solidworks/>
- [2] SOLIDVISION, S. R. O. SolidWorks Standard. In: *SolidVision 2* [online]. [2013] [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <http://www.solidvision.cz/solidworks-standard/#S1>
- [3] ZHANG, B. M. R. F. A. S. W. *Drosophila neurobiology: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2010, 534 s.. ISBN 08-796-9905-1.
- [4] Zdroj vysokého napětí s LT1073. In: *Pandatron.cz: elektrotechnický magazín*. [online]. [cit. 2014-04-04]. Dostupné z: http://pandatron.cz/?2563&zdroj_vysokeho_napeti_s_lt1073
- [5] *Linear Technology* [online]. © 2014 [cit. 2014-04-04]. Dostupné z: <http://www.linear.com>
- [6] DUBNAU, J. Training Flies in a T-Maze. In: *Youtube* [online]. 10. 9. 2010 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=-dPfZE5adYg>

7.1 Seznam obrázků

Obr. 1 FeatureManager®	8
Obr. 2 PropertyManager	9
Obr. 3 výběr z roletového menu	9
Obr. 4 místní kontextová nabídka.....	10
Obr. 5 panel nástrojů.....	10
Obr. 6 panel zástupců.....	10
Obr. 7 základní polotovary části A1	11
Obr. 8 vytvoření spodní díry v části A1	12
Obr. 9 drážka pro O-kroužek u otvoru v části A1	12
Obr. 10 drážky pro držení na části A1	12
Obr. 11 vrtání děr pro šrouby v části A1.....	13
Obr. 12 zapuštění matic v části A1	13
Obr. 13 závitové díry v části A1	14
Obr. 14 kuželová zahloubení pro šrouby v části A2	14
Obr. 15 tvorba dutiny mezi díly A1 a A2.....	15
Obr. 16 tvorba napojení dutiny v části A2	15
Obr. 17 mřížka v části A2	15
Obr. 18 napojení díry v části A2 na díru v části A4.....	16
Obr. 19 tvorba boku A3	16
Obr. 20 díry pro šrouby v části A3	16
Obr. 21 díry pro napojení na hadičky v části A4	17
Obr. 22 drážka pro O-kroužek v části A4	17
Obr. 23 sestava výtahu - část A.....	18
Obr. 24 základní polotovary části B1 a B2.....	19

Obr. 25 díry v dolní části B1 a B2	19
Obr. 26 díry pro připojení zkumavek v B1 a B2	20
Obr. 27 sedla pro zkumavky v dílech B1 resp. B2	20
Obr. 28 díry pro připojení B1 resp. B2 k základně B4	21
Obr. 29 polotovar dílů B3A a B3B	21
Obr. 30 díry v B3A a B3B pro spojení s částmi B1 a B2	22
Obr. 31 díry v částech B3A a B3B pro připojení k základně B4	22
Obr. 32 polotovar základny B4.....	22
Obr. 33 díry v základně B4 pro připojení k dílům B1,B2,B3A,B3B.....	23
Obr. 34 polotovar B5	23
Obr. 35 díry pro zkumavky v části B5.....	23
Obr. 36 sestava části B.....	24
Obr. 37 celková sestava přístroje C	24
Obr. 38 Pohyblivá část -A.....	26
Obr. 39 Stacionární část B	26
Obr. 40 část výtahu A1	27
Obr. 41 část výtahu A2	27
Obr. 42 bok A3	28
Obr. 43 bok A4	28
Obr. 44 bočnice B1	29
Obr. 45 Bočnice B2	29
Obr. 46 vymežovací díly B3A a B3B	30
Obr. 47 základna B4	30
Obr. 48 výztuha B5.....	31
Obr. 49 výztuha B6.....	31
Obr. 50 zkumavka se zápichy	31
Obr. 51 zkumavka bez zápichů.....	32
Obr. 52 kompletně sestavený testovací přístroj C	32
Obr. 53 porovnání fotografovaných much a jejich stop s roztečí mřížky.....	33
Obr. 54 flexibilní plošné spoje pro elektrošokovou učící zkumavku	33
Obr. 55 sestavená testovací souprava	34
Obr. 56 připojení zdroje elektrošoků`	34
Obr. 57 schéma zapojení obvodu převzato a upraveno z [4].....	35
Obr. 58 Zjednodušené vnitřní blokové schéma obvodu LT1073 Převzato a upraveno z [4]..	35
Obr. 59 Elektrošoková zkumavka (gridová).....	37
Obr. 60 schéma zapojení přístroje při testování	39
Obr. 61 rozebraný přístroj.....	40
Obr. 62 lihová lázeň.....	40
Obr. 63 spojovací materiál.....	40
Obr. 64 výtah	41
Obr. 65 detail těsnění výtahu	41
Obr. 66 recirkulační vodní vývěva JVP VELP	41
Obr. 67 přechodový díl	42
Obr. 68 detail napojení výtahu.....	42
Obr. 69 gridová zkumavka.....	42

Obr. 70 zapojený přístroj	43
Obr. 71 transport much	43
Obr. 72 test dolní rozhodovací pozice	43
Obr. 73 mouchy ve zkumavce	44

7.2 Seznam tabulek

Tab. 1 seznam dílů	36
Tab. 2 spojovací materiál a těsnění.....	36

8 Přílohy

Na doprovodném DVD jsou uloženy:

Výrobní podklady vytvořené v CAD systému SolidWorks
Fotodokumentace