

家蠶自動注射系統

蕭季威^{1*} 蕭耀榮²

¹國立臺灣大學 電機系

²國立臺北科技大學 車輛系

壹、前言

基因工程蛋白可應用在動物疫苗、飼料營養添加物、檢驗試劑蛋白、實驗室用蛋白、工業用蛋白等，有極高之應用價值。但目前基因工程蛋白的生產，大都是利用發酵槽培養細菌或酵母菌的方式以生產基因工程蛋白，其成本非常昂貴、技術條件較高、所生產的蛋白質價格高昂。如果以家蠶為載體來生產蛋白質，不但成本低廉，而且產量大、生產的蛋白質品質也較好(張瓊方，2008；趙裕展，2008)。

使用家蠶為載體來生產蛋白質，必須將選定的基因片段置換到桿狀病毒的轉錄區域中，再以此桿狀病毒感染家蠶，讓家蠶體內自然產生帶有此種基因表現的蛋白，則家蠶的體液或所吐的蠶絲均會含有

此特定的基因蛋白(趙裕展，2008)，如圖1；藉由抽取體液或溶解蠶絲再加以純化，就可以得到此特定的基因蛋白。然而目前大部分都使用人工進行桿狀病毒的注射，無法快速大量的生產基因蛋白，僅能少量生產供研究實驗使用。因此發展一個使用於生產基因工程蛋白之家蠶自動注射系統有其重要性，使注射家蠶的流程可以自動化，達到節省人力、快速且大量注射、增加生產效率。

貳、家蠶自動注射系統

本研究針對利用家蠶生產基因工程蛋白，建立一個家蠶自動注射系統的平台，使注射桿狀病毒至家蠶體內的流程可以自動化，達到節省人力、快速且大量注射的目的。但是家蠶自動注射系統之發展，並不像工廠自動生產線上的貨物那麼

* 為本文通訊作者

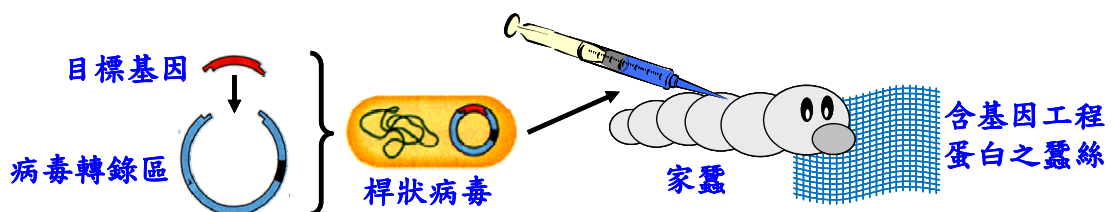


圖 1、含基因蛋白蠶絲之生產過程

單純，家蠶是活體，體積小，會扭動，不像貨物會靜置在輸送帶上，所以要發展一個家蠶自動注射系統之前，有些問題需要先深思和克服：

1. 家蠶的表皮為幾丁質($C_8H_{13}O_5N$)_n，硬度高，不易刺穿；
2. 家蠶身體內部消化道佔大部分體積，其餘可供注射部位之深度淺，注射的深度須精確；
3. 家蠶好蠕動爬行，必須設法固定家蠶；
4. 家蠶易扭動，注射器自動對準有困難；
5. 各家蠶體型大小不一，注射器難以準確接觸家蠶身體；
6. 注射量很微小，一般針筒難以控制注射量；
7. 注射器必須能快速作動，控制迅速完成注射動作。

因此家蠶自動注射平台必須針對前述問題擬定解決方法。本研究分成兩部份探討，一是家蠶注射特性之探討；另一為自動注射平台之設計與測試。因本研究主要在提供一可行之家蠶自動注射平台之設

計與建立，並探討可行性與實用性，因此在架構實體時，採用 LEGO 之零件與驅動系統，如此可在設計組裝上提供更大之便利性與彈性，便於隨時基於需要而修改平台，也減低測試階段中平台之加工費用。自動注射平台經驗證可行性後，即可依此概念以鋁合金材料製作平台之結構，進入實用之階段。

參、家蠶之注射特性

家蠶為完全變態昆蟲，生活史包括卵、幼蟲、蛹、成蟲 4 個階段，其品種繁多，台灣苗栗農業改良場原有三、四百種家蠶，但經過不斷「併種」後，目前剩下 163 種 (張瓊方，2008)。圖 2 為家蠶的身體構造，一般白色雜交種，其頭部為褐色，體軀(胴部)為青白色，胴部前三環節為胸部，後面十環節為腹部，體節間相連接的部分皮膚薄且無體毛，是為節間膜，由後節疊於前節之上，故可助身體伸縮。頭前中央下端有一隻凸出的吐絲管(蠶業發展基金會，2010)。

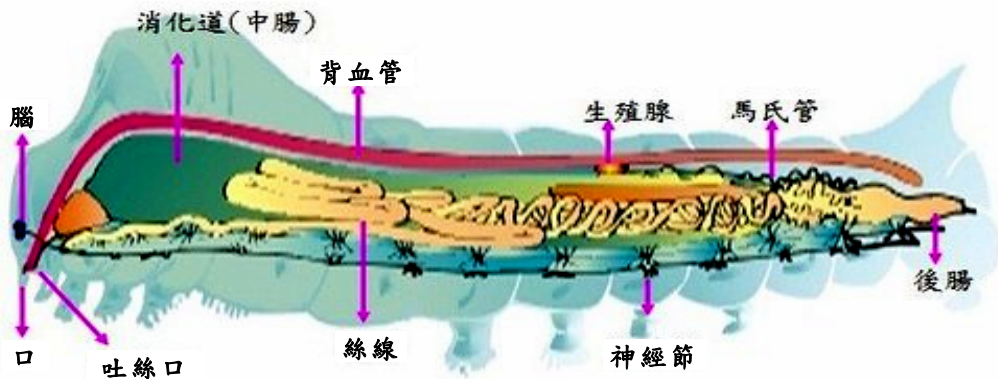


圖 2、家蠶的身體構造 (蠶業發展基金會，2010)

蠶的表皮由幾丁質構成，不能長大，故須蛻皮。在體節的側面有九對黑色氣孔，分別位於第 1 及第 4~11 個環節，和氣管相連，是呼吸器。家蠶體內是開放式循環，在胸部的背面正中央可以看到一條半透明且由後方向前方規律搏動的背血管，第 2~12 個環節有心臟。

將孵化約半個月五齡家蠶(吐絲結繭前)，注射準備好的桿狀病毒使其感染，把想要的蛋白基因帶入，讓家蠶感染發病，其體液或在結繭時吐出的蠶絲即具有特定基因蛋白。

替家蠶注射桿狀病毒時，存在下列問題：

1. 家蠶身體小，若由背部注射，會刺到血管；
2. 由於家蠶的表皮為幾丁質 ($(C_8H_{13}O_5N)_n$)，硬度高，注射需較大力量；
3. 家蠶身體小，若注射力量過大時，會直接刺穿蠶體造成家蠶死亡；
4. 家蠶內部的身體組織柔軟，若注射力量稍大時，針頭易逕穿過組織而刺入家蠶的腸子中，使注射液中之蛋白質被腸內的酵素分解，形成無效注射。

因此注射家蠶時，需有相當之力道以穿刺過幾丁質，但刺穿後，須控制扎針深度，避免扎針過深而刺入腸道中，形成無效注射。因此研究中必須先瞭解家蠶體內之組織構造，建立家蠶各段組織橫剖面，以瞭解家蠶體內構造，找尋組織較厚處扎針注射，並瞭解家蠶表皮何處硬度較小較

容易刺穿，而找出最佳注射部位。

一、家蠶注射部位

本研究先對家蠶進行切片，再觀察其剖面，瞭解家蠶可扎針之部位及深度。實驗中起初使用冷凍切片及乾冰冰凍切片等方法，但切片厚且無法看清楚各組織，效果均不佳，因此改使用包埋處理，包埋的藥品及程序都按照實驗室中的包埋處理標準程序，包括：

1. 取死亡之家蠶組織以 4% Paraformaldehyde /0.1M PBS 於 4°C 固定；
2. 再將蠶體組織以 15% Sucrose/0.1M PBS 於 4°C 固定；
3. 再將蠶體組織以 30% Sucrose/0.1M PBS 於 4°C 固定；
4. 再將蠶體組織於乾冰上以 OCT 包埋，使蠶體組織固化；
5. 將包埋後蠶體第 8 環節附近的組織切成約 1 cm³，再於 -20°C 用冷凍切片機切片，在橫剖面及縱剖面方向均進行切片，每片厚約 7~10µm；

經過包埋、冷凍切片之程序，才得到完整之家蠶剖面切片(圖 3)。由圖 4 的橫切面和縱切面顯微切片樣本，可看出蠶表皮與背血管之間之組織極少，若由家蠶背部扎針，針頭穿過表皮後馬上就會刺入背血管和消化道，因此背部不是適合的扎針部位。但在蠶體的下側部分，有厚約 3mm 的組織在表皮和消化道之間，若由此處扎針且橫向入針 3mm，則注射液可順利注入組織內，不會刺入血管或消化道。



圖 3、包埋之家蠶、冷凍切片機及蠶體切片

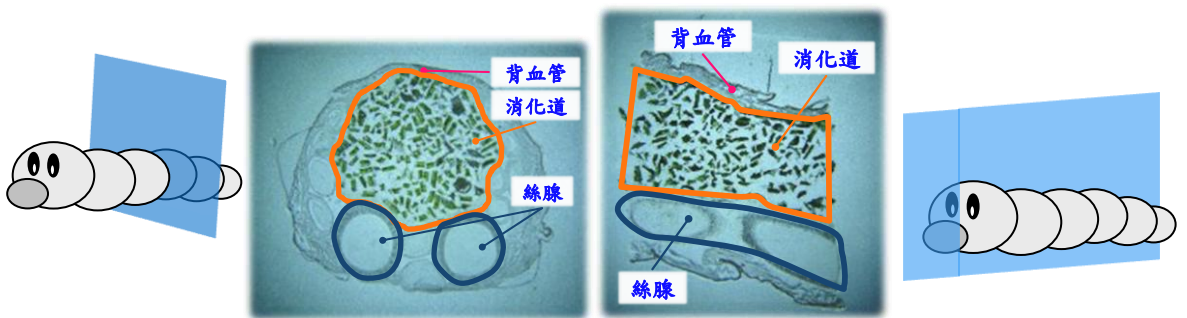


圖 4、家蠶蠶體之橫切面及縱切面顯微切片樣本

二、家蠶之注射力量

因為家蠶的表皮是有彈性的動物組織，不適於以硬度計量測，本研究改用讓注射針頭穿過表皮所需之穿刺力量來代表家蠶表皮的硬度。本研究設計了一個表皮穿刺力測量器，如圖 5，具有一可自由垂直升降的滑座，滑座前固定了一個直徑 0.7 mm 的針頭，滑座後端連結在推力計上，可量測針頭下降要刺穿家蠶表皮所需之最大力量。推力計的全刻度範圍為 0~10 gw，每 0.5 gw 一個刻度，推力之估計值為 0.1 gw。實驗時，量測各環節中間、體節連接處之表皮穿刺力量，每處位置量測 3 次，再取其平均值，為家蠶該處表皮的穿刺力量。

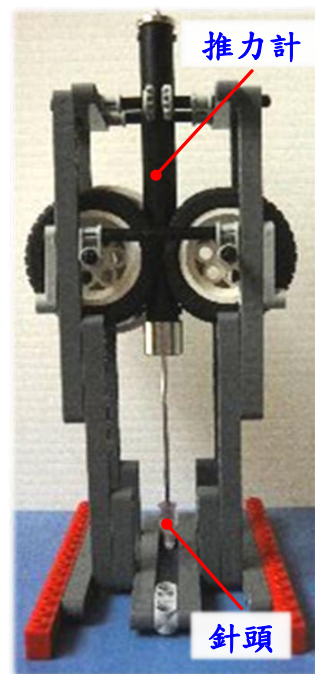


圖 5、家蠶蠶體之橫切面及縱切面顯微切片樣本

實驗結果將環節中間及體節連接處所量測到之最大穿刺力整理於圖 6，由結果可知：(a) 家蠶表皮穿刺阻力由胸部環節向尾部環節遞減；(b) 環節中間的表皮穿刺阻力較大，而體節與體節之間的表皮穿刺阻力較小；(c) 側面的表皮穿刺阻力比背部的穿刺阻力要小。

因此要對家蠶注射時，應由第 8 體節之後下針，且盡可能從體節與體節之間下針，則僅需較小之穿刺力即可讓針頭穿刺過家蠶表皮。所以家蠶注射時之最佳部位為第 8~11 環節的體節之間，側面 1/3 下方，橫向入針，最佳入針深度 2~3 mm，才不會將注射液注入背血管或消化道，使

注射液中之蛋白遭到酵素分解。

肆、自動注射平台

平台之原始構想為架設一自動輸送帶，輸送帶上方設有注射系統，如圖 7；將家蠶依序送上輸送帶後，系統固定家蠶並自動偵測家蠶是否到達定位，再讓注射頭接觸家蠶應注射之部位，自動注入一份微劑量後，家蠶繼續輸送到後方集中盒。

在本研究中，將家蠶自動注射之流程，分為輸送、固定、定位、注射等四個子系統。各系統所使用之零件材料列於附錄之表 A 中。

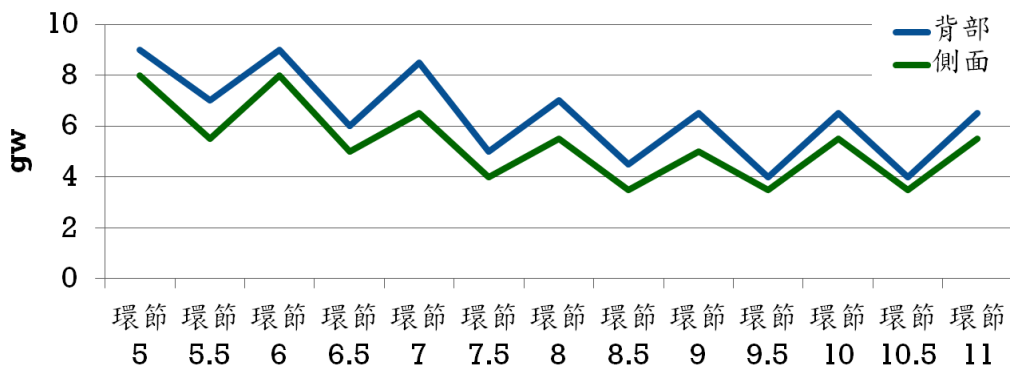
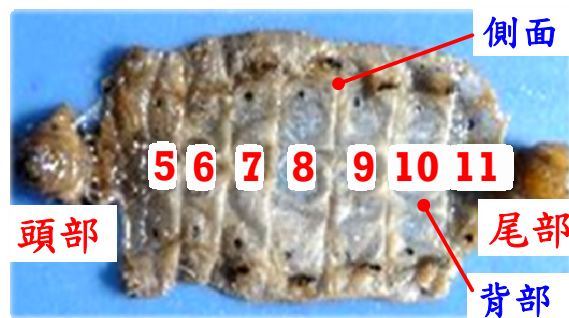


圖 6、表皮穿刺部位及穿刺力

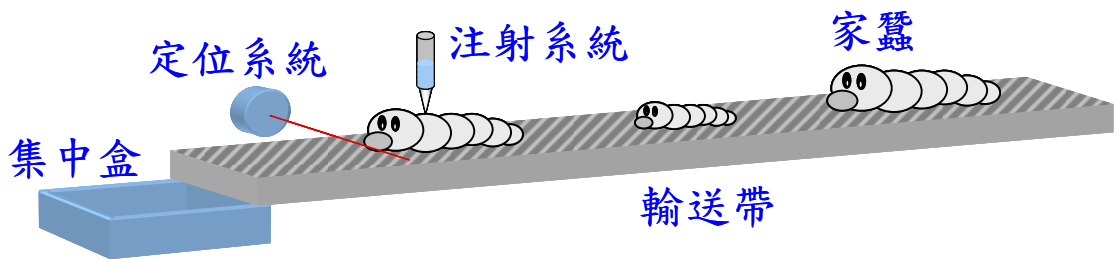


圖 7、家蠶自動注射平台之示意圖

一、家蠶輸送系統

家蠶之輸送系統採用類似皮帶式之輸送帶系統，如圖 8 所示，以 35 cm x 6 cm 之長條塑膠片前後接合形成環狀輸送帶。輸送帶框架前端亦設計一組驅動滾輪，及 7 組支撐用之從動滾輪。環狀輸送帶內側並塗佈矽膠橫條，增加環狀輸送帶表面摩擦力，避免打滑失步，讓環狀輸送帶形成履帶而可被順利帶動。

但該輸送帶式家蠶輸送系統其系統體積較大，且輸送帶易振動，有噪音，讓家蠶感覺不安而扭動。因此本研究改採轉盤式的輸送盤，將直線式輸送改為旋轉的圓周運動式，不但體積可大幅減小，藉著輸送盤的平穩旋轉，家蠶也不會再感到不安了。

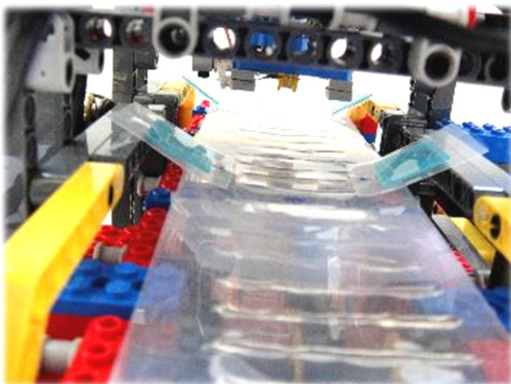


圖 8、輸送帶系統

系統以圓盤塑膠板與轉盤接合，形成圓形輸送盤。底座並整合驅動馬達與減速齒輪，圓盤並參考家蠶尺寸將輸送圓盤分成 3 等分，每等分 120°各承載一隻家蠶。完成之圓形輸送盤系統如圖 9，整體體積大幅減小，僅有 14 cm x 12 cm x 6 cm，比起輸送帶系統，體積共減少 75%；其運轉速度為 3 sec / rev；

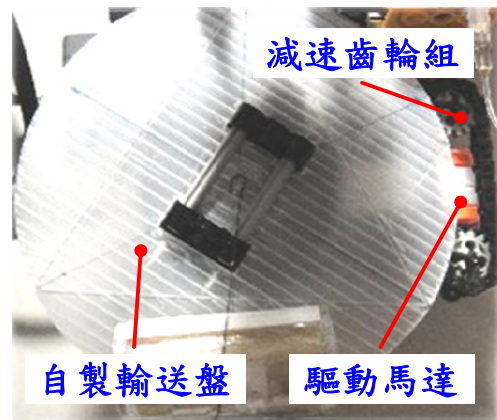


圖 9、圓形輸送盤系統

二、家蠶固定系統

由於家蠶大小不一且會不斷蠕動，使注射器不容易與蠶體準確接觸，因此必須將家蠶固定在輸送盤上，讓注射器可以進行定位，但固定器若過度壓迫家蠶，易使

家蠶體壓升高，不利於注射。本研究設計了彈性固定器，使其能適應家蠶各種體型，並將家蠶拘束住，限制家蠶的行動。

(一) 水袋式彈性固定器

彈性固定器以水袋製成，在 PE 塑膠袋裝填水再密封，形成彈性水袋；在輸送帶上兩側間隔裝置水袋傾斜板，傾斜板的一端與輸送帶密合。在輸送系統中段，設置傾斜架高軌，讓傾斜板向輸送帶中間傾側，水袋即靠水的重量向下壓迫住家蠶，使水袋與家蠶貼合並拘束住家蠶。

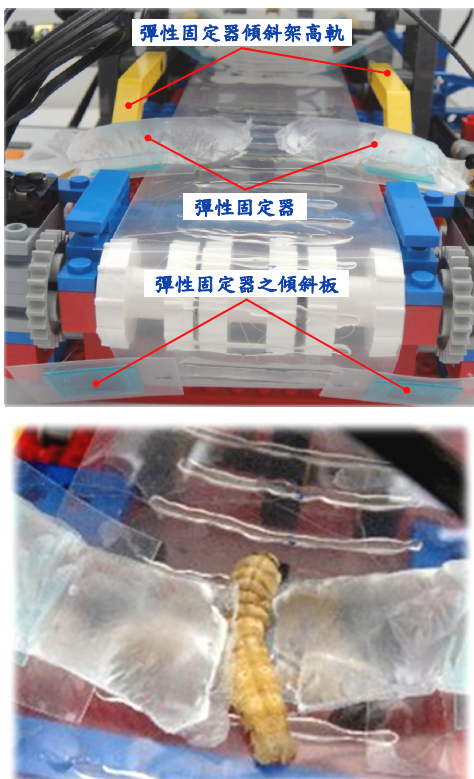


圖 10、家蠶彈性固定系統

固定系統中的水袋雖具有彈性，可密切貼合家蠶體，但水袋的拘束力不夠，家蠶劇烈扭動時，水袋無法讓其保持固定姿勢等待注射；且水袋內的水的重量仍會壓迫家蠶，容易使家蠶體壓升高。因此本研究改以電流變液替代水袋，並以莢艙限制家蠶活動。

(二) 莢艙固定系統

原固定系統之傾斜板及架高軌的體積太大，難以適用於旋轉輸送盤，因此本研究將其改成像太空艙的莢艙式設計，內層鋪上液袋，以固定家蠶。整個莢艙式固定系統之示意圖如圖 11，其設計原則為：

1. 固定用莢艙有上掀式上蓋，方便操作人員將家蠶放入莢艙；
2. 固定用莢艙側邊開有窗口，讓注射器可伸入接觸蠶體；
3. 莢艙在注射完畢後能自動開啟，讓家蠶離開莢艙及固定系統。

莢艙以透明壓克力管作成，側邊開窗，莢艙關閉時使用磁鐵讓上下蓋互相吸住；輸送盤等分為 3 道圓弧，並使每段圓弧片可向下彎折。當家蠶注射完畢後，該片圓弧將因重力而彎折，莢艙便會跟著歪斜，而上蓋因拉線之牽引會克服磁力使莢艙上蓋自動掀開，使家蠶因重力而自動跌落到下方的收集盤(圖 12)，便於操作人員收集。

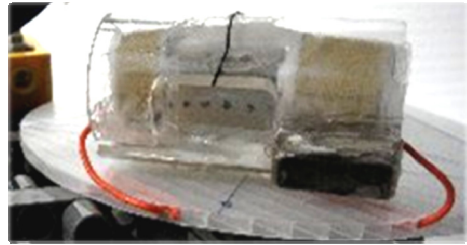
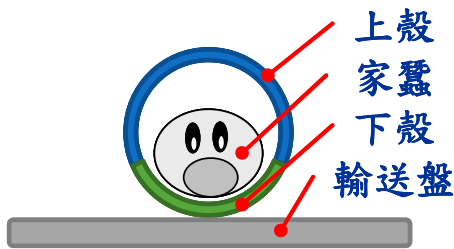


圖 11、英艙固定系統，家蠶在英艙內等待注射

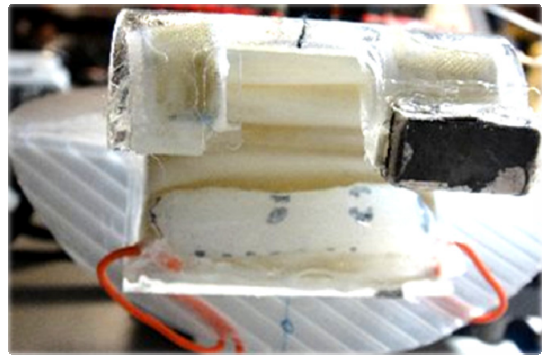
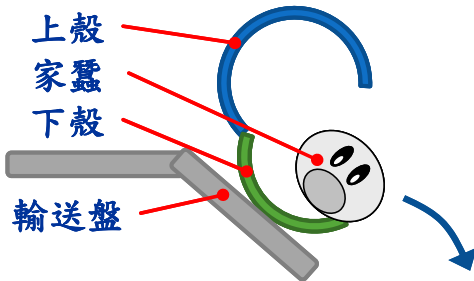


圖 12、家蠶因重力落到下方收集盤

(三) 電流變液液袋

因水袋無法與蠶體密合，且易因重量壓迫在蠶體迫使家蠶體壓升高，不利於注射。因此研究中改用智慧型材料電流變液，作為新的彈性固定系統。該系統之構想如同石膏，未凝固前是液體，可以充分貼合蠶體，但等凝固後，就有很大的拘束性可限制家蠶的運動，就像是開了一個跟家蠶體形完全符合的隧道，家蠶待在裡面不會感到不舒適，但又無法移動位置。

電流變液 (Electro-rheological Fluid) 是由一絕緣不導電之液體與介電性高且具有極性之介質 ($1\sim 10\mu\text{m}$) 所均

勻混合而成，當加入電場時，粒子介質便會產生極化，沿電場方向形成鏈結。電流變液會隨著電場強度的增加而增加液體的黏滯性，而移除電場時液體將會恢復液體狀態，此反應過程具可逆性，反應時間在幾毫秒內完成 (蕭耀榮、李居歷，2007)。

此一新式彈性固定系統內的液體具備：(1) 不通電時為彈性體，本身可流動變形，可適應不同大小之家蠶而與蠶體密切貼合，讓家蠶感覺舒適而不會不安地扭動；(2) 通電後，電流變液黏稠性增高，產生足夠之拘束力，讓家蠶待在固定位置注射。

電流變液液袋中使用柔軟之銅網做為正負極，並在正負極板之間，以塑膠格網將正負極板隔開，避免正負極金屬極板不小心相接觸引起短路。完成之電流變液 U 型液袋如圖 13，液袋電線連接到輸送盤底部的兩條銅箔導電膠帶，當輸送盤離注射位置 90° 時，電極會分別與銅箔導電膠帶相接觸而通電，使電流變液硬化而將家蠶拘束住，便完成了彈性固定系統之工作。

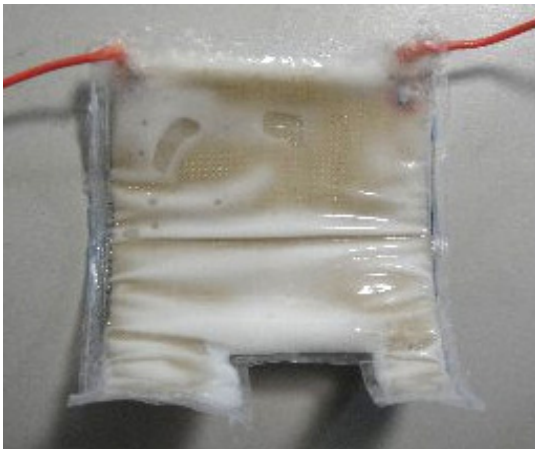


圖 13、電流變液 U 型液袋

三、家蠶定位系統

家蠶注射時，最佳的部位是第 8~11 環節的體節之間的側面 1/3 下方，注射方向為橫向入針，最佳入針深度 2~3 mm。因此在對輸送帶上的家蠶進行注射時，必須讓注射器對準體節之間注射部位，即控制輸送帶移動到定點時停下來，等候注射器前進。為因應家蠶體型大小不同，本研究在注射定位方法上，使用影像辨識方

法，來辨別家蠶體節而準確入針，圖 14 為設置之影像辨識定位系統。

家蠶注射部位在體節間，但體節間顏色與蠶體顏色近似，並沒有明顯的黑線，所以無法作為辨識的特徵。唯一的特徵是家蠶在體節的側面有九對黑色氣孔，分別位於第 1 及第 4~11 個環節，這些氣孔與蠶體顏色的對比尚明顯，因此可用來作為辨識的特徵。

而家蠶氣孔因為側面共有 9 個，會造成定位辨識系統辨識出不同氣孔目標，使每次定位位置都不一樣，而我們希望定位在第 8~11 環節的體節之間；因為在輸送盤上每個莢艙內的家蠶都大約相距 120° ，因此每次要定位時，控制系統會讓輸送盤轉動 120° ，再進行辨識家蠶的黑色氣孔，得到氣孔的座標，這樣就可將針頭定位在兩氣孔之間的體節間了。由該定位辨識系統之影像辨識結果，可知道家蠶體節之位置及與針頭零點之距離，因此可調整轉盤使體節對正針頭，並提供針頭前進之距離。

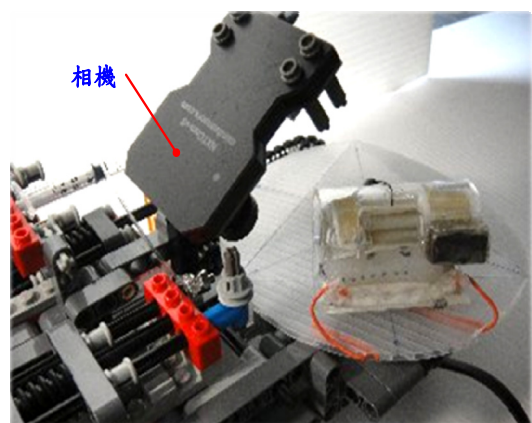


圖 14、影像辨識之注射定位系統

四、家蠶注射系統

注射系統的功能為當家蠶進入定位後，注射針頭移動，刺入家蠶表皮 2 mm 後停止，開始微量注射 0.005 ml。注射系統包含了可移動式注射針頭及微量注射系統。注射針頭使用針長 10 mm 之內徑 0.21 mm 微量注射針頭(如圖 15)，注射針頭與注射器針筒脫離，兩者中間使用 1 mm 的膠管相連。系統中另設一家蠶敷藥滾輪，防止注射後之針孔可能造成家蠶被其他細菌感染，敷藥滾輪採取被動式設計，家蠶注射後，讓其緩慢通過滾輪，則滾輪上之凡士林會自動塗在家蠶注射傷口上，達到敷藥的功效。

注射針頭模組安置在輸送盤側面，採側向入針之方式，並將蝸桿反向安裝而與改為針筒活塞桿並接，使得注射模組的長度減為活塞行程的 2 倍長，減少了注射系統之體積，如圖 16。

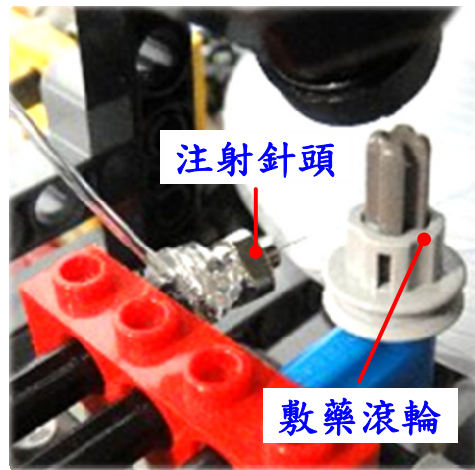
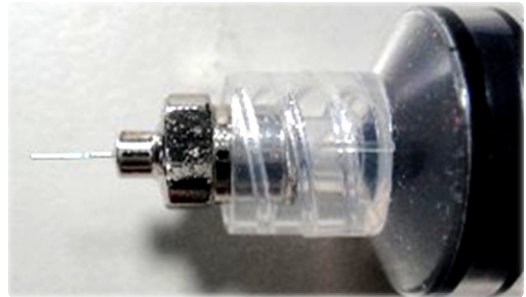


圖 15、微量注射針頭模組與敷藥滾輪

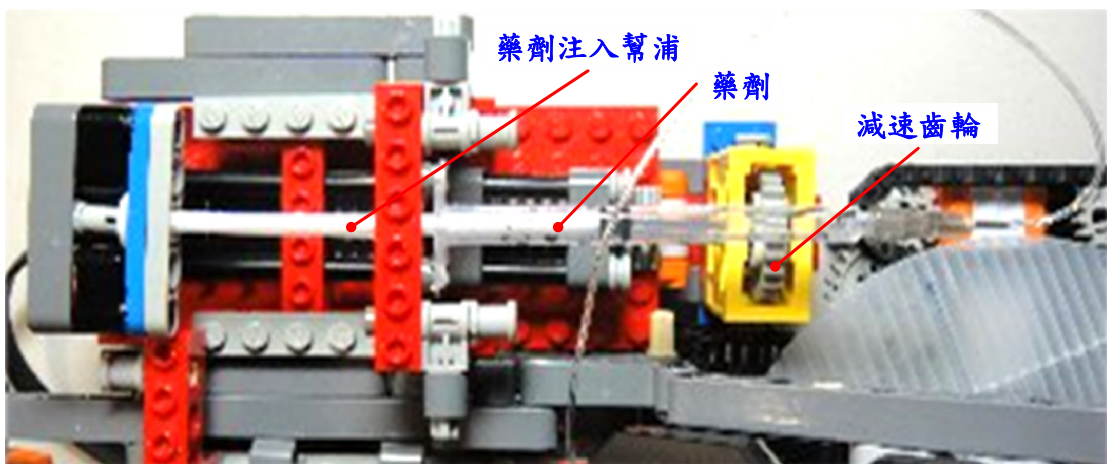


圖 16、注射系統

由於注射量相當微少，僅 0.005 ml，因此針筒活塞的上端接在兩個蝸齒輪及減速齒輪上，使減速比達到 24:1，而蝸齒輪螺距 3.1 mm，減速齒輪 24 齒，所以蝸桿前進距離為：

$$\frac{3.1}{24} = 0.129 \frac{\text{mm}}{\text{rev}} \quad (1)$$

針筒每 0.5 ml 刻度距離 280 mm，故針筒活塞液體量為：

$$\frac{0.5}{28} \cdot \frac{\text{ml}}{\text{mm}} = 17.86 \frac{\mu\text{l}}{\text{mm}} \quad (2)$$

故注射器注射量為

$$0.129 \cdot \frac{\text{mm}}{\text{rev}} \times 17.86 \frac{\mu\text{l}}{\text{mm}} = 2.3 \frac{\mu\text{l}}{\text{rev}} \quad (3)$$

即馬達每轉的注射量為 2.3 μl ，因此每次注射，控制馬達轉 2.174 轉則可定量注射 0.005 ml。

五、自動注射系統之控制流程

為配合驅控馬達，控制程式以圖控式 NXT-G 軟體來撰寫，系統之控制流程與程式如圖 17。

六、系統測試

圖 18 為完成之家蠶自動注射系統，其次系統包括輸送系統、固定系統、定位系統、注射系統等四個系統，整體體積為 15 cm x 27 cm x 10 cm，讓使用時更方便。各子系統經測試均可順利工作，模擬測試中，完成一隻注射需 20 秒，比人工注射快 4 倍，可以節省人力及時間。

為了測試系統的效果，本研究使用黏土依家蠶比例做了模擬蠶，並同樣在氣孔位置畫上黑點，並使用紅墨水代替藥劑進行測試。圖 19 為系統模擬注射後的結果，結果顯示每隻家蠶都可注射在同一環節。

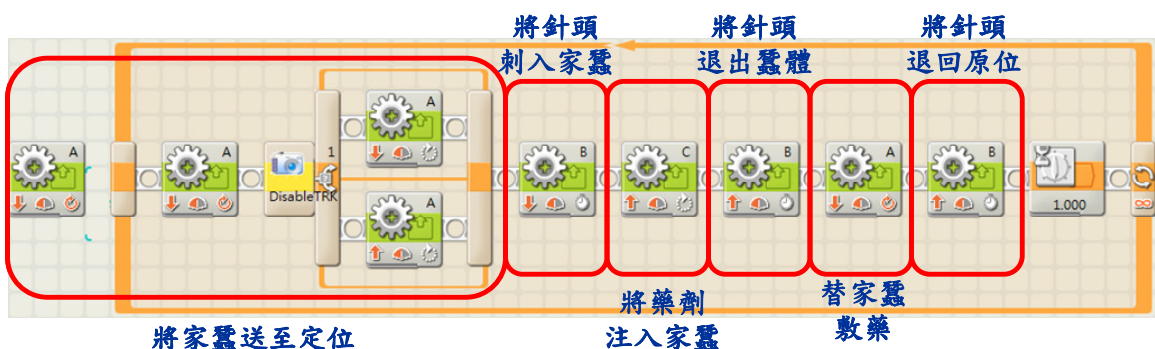


圖 17、家蠶自動注射系統之控制流程與程式

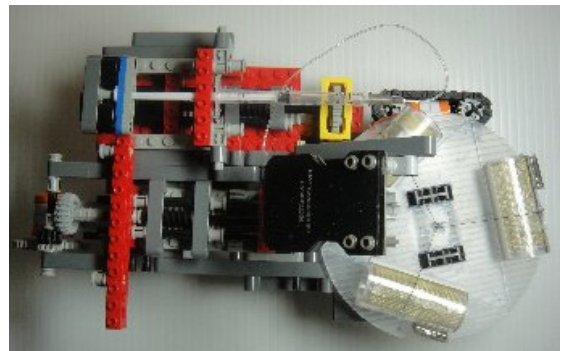
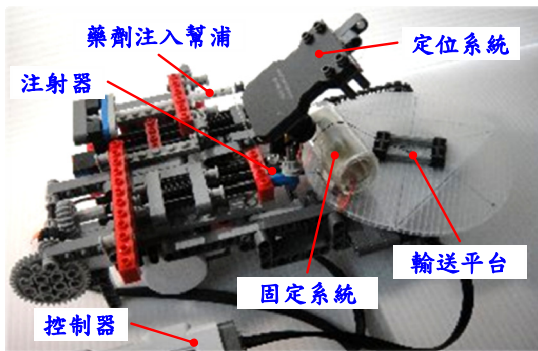


圖 18、家蠶自動注射系統

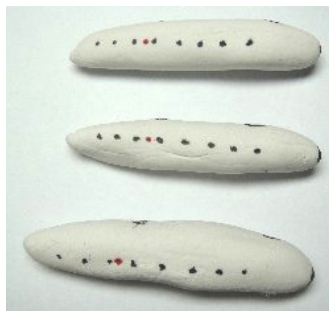


圖 19、系統模擬注射之結果

伍、結論

本研究設計發展一創新之家蠶自動注射系統，兼顧家蠶舒適及工作效率下，全程全自動化進行固定及注射之工作，可大幅改善人工注射速度緩慢之問題。本研究中先探討了家蠶最佳注射部位，可避免無效注射。整個家蠶自動注射系統包括輸送、固定、定位、及注射敷藥四個子系統，並運用輸送圓盤、電流變液莢艙、影像辨識等技術來改善系統，使系統體積小，且注射速度加快，經測試結果，比人工注射快了 3 倍。未來只要依此設計使用鋁合金骨架，便可應用於實際之注射工作，讓家蠶注射工作能在家蠶傷害最小下完成自動

化注射，對使用家蠶生產特定基因工程蛋白之工作，可提供貢獻。

致謝

本論文感謝國立臺灣科學教育館青少年科學人才培育計畫之輔導，亦感謝中央研究院分生所趙裕展研究員之指導，特此致上感謝之意。

參考文獻

- 張瓊方(2008)：養蠶吐藥——螢光蠶開創新思路。台灣光華智庫，33(11)，28-36。
- 趙裕展(2008)：病毒基因工程特論。中研院分生所實驗課程講義。

蕭耀榮、李居歷(2007)：電流變液之研製與性能分析。中國機械工程學會第24屆全國學術研討會(2007)。桃園中壢市：中原大學。

蠶業發展基金會(2010)：蠶寶寶的成長過程。2010年7月4日，取自<http://www.silkworm.org.tw/silkworm/tsdf3-2.asp>。

附錄

表 A、家蠶自動注射系統所使用之零件材料

系統名稱	各系統使用之零件材料
表皮穿刺力量測	推力計 Ohba Siki 10 g, LEGO 橡膠車輪 x 2，
輸送系統	NXT 馬達(內含角度感測器) x 1、旋轉盤 x 1、16 齒齒輪、鍊條、塑膠圓盤(直徑 d=12 mm)
固定系統	自製壓克力莢艙 x 3、自製電流變液袋 x 3、單芯電線、導電銅片、及磁鐵 x 3。
定位系統	NXTcam、辨識軟體 NXCamView 程式
注射系統	NXT 馬達 x 2、蝸桿、24 齒齒輪、48 齒齒輪、1 mL 塑膠針筒、微量注射針頭(內徑 0.21 mm)x1
控制系統	NXT-G 程式