

基于 CCD 的生物芯片扫描分析系统的设计

张 帆^{1,2} 薛利军^{1,2*} 李自田¹ 吴小华^{1,2}

(1 中国科学院西安光学精密机械研究所, 西安 710068)

(2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘 要 根据免疫胶体金标记的蛋白质芯片的特点, 利用 CCD、数字图像处理等技术, 设计了一套生物芯片扫描分析系统. 概括了整个系统的结构, 介绍了生物芯片扫描分析系统的软件结构和设计, 详细描述了生物芯片图像分析和处理的方式.

关键词 生物芯片扫描分析系统; CCD; 图像分析

中图分类号 TP731 **文献标识码** A

0 引言

生物芯片技术是 90 年代中期发展起来的一项尖端生物技术. 该技术是指在硅片、玻璃、凝胶或尼龙膜上, 通过机器人自动打印或光引导化学合成技术, 将大量的生物大分子甚至生物样品有序地固定于基片表面, 形成密集的二维生物分子阵列, 然后与标记的待测生物样品进行杂交反应, 通过检测杂交信号的强度及分布, 对靶分子的序列和数量进行分析的一项技术^[1,2]. 目前广泛应用于生物医学和生命科学研究中.

生物芯片有多种标记方法, 其中, 基于荧光标记的检测体系在生物芯片中的重要作用已经获得认同. 目前国内外大多数生物芯片扫描分析系统都是针对这类芯片的. 但是它存在对仪器设备要求较高, 荧光标记物比较昂贵的不足. 因此, 胶体金标记方法由于具有简便、反应速度快、灵敏度高、成本低, 不需特殊的仪器设备等优势, 近年来已经开始应用于临床病原体检测、传感器以及生物芯片分析技术中, 并有望代替昂贵的荧光检测^[3].

生物芯片扫描分析系统是生物芯片能否得到广泛应用的关键仪器. 本文介绍作者在工程应用中, 根据采用胶体金标记方法的生物芯片的特性, 利用 CCD 摄像机, 设计光学成像系统, 结合图像处理系统软件, 成功的实现了针对胶体金标记的生物芯片扫描分析系统. 其中重点介绍了生物芯片图像的处理和分析.

理和分析.

1 系统结构

在采用胶体金标记方法的生物芯片的检测过程中, 待检血清和标记物被依次加至生物芯片上, 若待检测血清中含有与抗原相对应的抗体, 便形成抗原抗体免疫复合物, 在膜上形成肉眼可见的红色斑点阵矩. 根据斑点颜色的深浅, 可以判断血清中是否含有待检测抗体, 从而得到诊断结论.

参考国内外同类产品的原理, 结合所要判读的生物芯片如图 1, 通过分析觉得利用普通显微镜, 通过增加环形光源、CCD 摄像机和计算机图像处理系统软件就可以组成基于 CCD 摄像机的生物芯片扫描分析系统. 系统的组成框图如图 2.

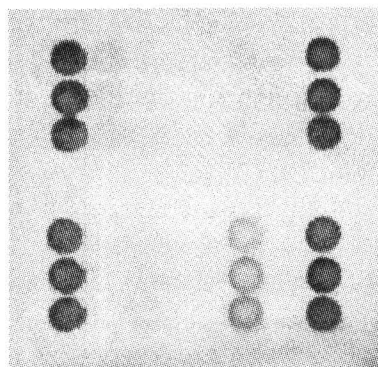


图 1 生物芯片样片图像
Fig. 1 The image of biochip sample

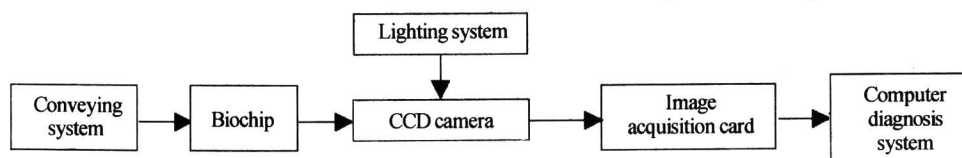


图 2 生物芯片扫描分析系统的结构图
Fig. 2 Architecture of the biochip scanning and analyzing system

传动系统负责将生物芯片传送到摄像机的焦平面上.

由于生物芯片的识别需要彩色图像, 所以采用彩色 CCD 摄像机.

光学照明系统采用白色发光二极管,把 8 个发光二极管以角度差 45° 均匀放置构成一个环形光源,这样整个芯片的光照就比较均匀^[4]. 调整发光二极管的发光角度,用标准灰度卡进行校准,直到芯片的中心和边缘灰度差值不超过 2%. 必须指出的是,发光二极管发光强度(I_V)与电流(I)成正比,与电压(U)成指数关系.

$$I_V = \eta_v I = I_{V_0} \exp(qU/kT) \quad (1)$$

式(1)中 η_v 表示光效率, k 为玻尔兹常量, T 为绝对温度, q 表示电荷数, I_{V_0} 是与材料等有关的常量. 因此很小的电压变化便会对发光二极管的光强产生较大的波动. 环形光源由 8 个发光二极管组成,这种波动影响更加明显,针对这种情况专门设计了准确度较高的线性恒流源以减少电压波动的影响,试验表明这些方法和措施取得了比较满意的效果.

2 生物芯片扫描分析软件系统

生物芯片扫描分析的软件系统主要包括三部分,即档案编辑模块,数据库管理模块以及图像分析模块. 数据库管理模块具有添加、修改、删除、查询、统计、报表输出等功能. 档案编辑模块对测试人病历档案进行编辑,包括测试人信息的编辑、生物芯片信息的编辑以及诊断结论的编辑. 生物芯片图像分析模块对生物芯片图像进行定性以及定量分析,并形成一些诊断结论. 档案编辑的信息及图像分析的

有关结果存入数据库,然后利用数据库管理模块对数据库进行维护. 同时,系统还提供在线帮助和技术支持的功能.

2.1 图像预处理

任何图像都或多或少地混入了噪音污染,从频谱的角度,可以分为高频噪音和低频噪音. 对于高频噪音,选取中值滤波器滤除,它是一种非线性平滑滤波器,可以在消除噪音的同时不至于把图像中的一些细节模糊掉^[5,6].

对于低频噪音,主要应考虑光照不均匀性影响的消除. 可以采用同态滤波的方法来减小,同态滤波器能够选择性的对低对比度及非均匀照明的模糊图像起增强作用^[7].

2.2 图像分析

根据生物实验分析得知,当测试人血清中待检测的抗体浓度越高,杂交反应后生物芯片上的红色斑点颜色越深,这样对应于计算机中采集到的图像,颜色也越深. 据此特征就可以对生物芯片进行分析. 根据颜色的深浅来判断测试人血清中是否含有待检测抗体,以及程度如何,从而给出测试人健康状况的定性或者定量的分析结论.

本文以 4 阵 9 点的芯片为例,介绍芯片图像分析的整个过程.

一个芯片可以同时检测多种指标,最多可达 8 种. 例如,当检测三种指标时,芯片排布方式如图 3.

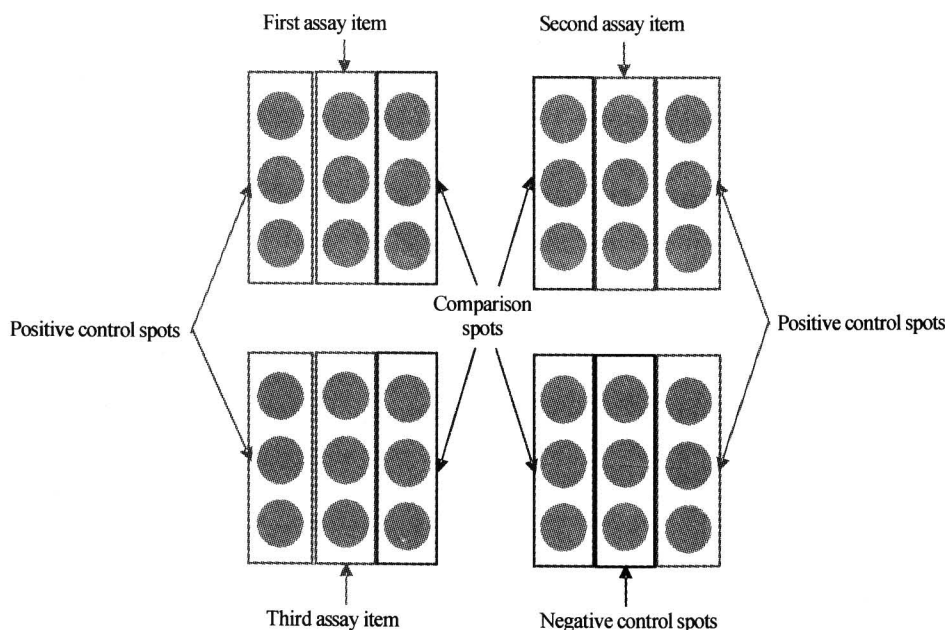


图 3 生物芯片的一种排布方式

Fig. 3 An example of disposition model of biochip

为了从图像中准确地提取出所需要的信息,首先要确定出图像中各个有效点的边界. 由于生物芯片上各矩阵的大小是相同的,各个点的大小、间距固

定,点阵基本位于芯片图像的中间. 根据这些特点,通过行扫描法确定芯片图像的上下边界及高度. 利用数据库中存储与芯片相对应的 4 阵 9 点的模板,

自动圈定分析的有效区域,同时,也提供手工微调的手段,以便更精确的确定有效点的边界. 通常情况下,圈定的边界要比实际的边界略小,以排除图像边界毛刺的干扰,保证分析的准确度^[8].

在进行图像分析的时候,计算质控点的灰度值,以判断芯片的有效性. 计算各组指标点的灰度值($a_i, 1 \leq i \leq 3$). 求出平均灰度值 H_a .

$$H_a = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 a_i \tag{2}$$

计算各组指标点对应的对照点的灰度值($b_i, 1 \leq i \leq 3$). 求出平均灰度值 H_b .

$$H_b = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 b_i \tag{3}$$

比较 H_a 和 H_b , 得到该项指标为阳性或者阴性的结论,由此来判断测试人是否患病.

分析系统也支持将 H_a 与数据库中预先设定的专家诊断库中的值进行比较,得到该项指标的灰度等级 D_a .

$$D_a = f(H_a) \tag{4}$$

分析系统根据表 1,可自动判断测试人是否患病以及病情严重程度如何.

表 1 图像灰度与患病程度对照表

指标名称	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
指标一	-	-	---	?	??	+	++	+++	!	!!
指标二	-	-	?	??	+	++	+++	!	!!	!!!
指标三	-	-	---	?	??	+	++	+++	!	

另外,根据需要,分析系统也可以支持定量分析,将指标项的平均灰度值 H_a 通过和该指标对应的公式,转化为一种国际单位,量化输出.

图像分析处理界面如图 4.

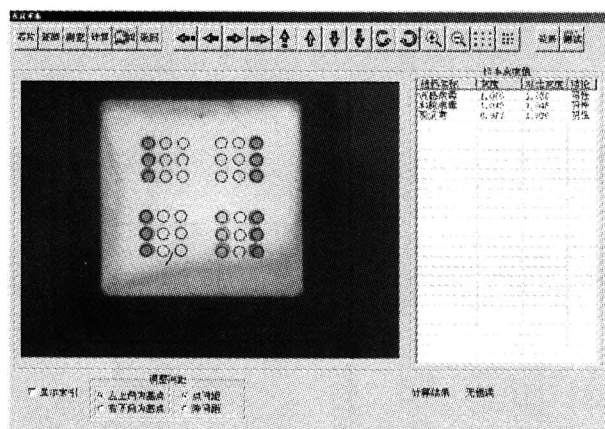


图 4 图像分析处理界面

Fig. 4 The GUI for image analysis

系统具有良好的通用性,可以更改芯片的分析诊断方式(定性或者定量),以满足不同的诊断准确度要求. 可以设置多种的芯片排布方式,以及灰度等级变换规则,用于处理新的试剂制成的生物芯片,

诊断新的疾病.

图像分析得到的诊断结论,利用系统提供的友好的人机界面显示,其测试人记录,诊断结果可以直观的打印输出. 系统能够连接到医院的其他数据库系统,做到资源共享.

3 结论

本文介绍的生物芯片扫描分析系统,能够自动实现对生物芯片的分析、识别,准确率达 97% 以上,而价格只及世界其它同类产品的五分之一. 目前已经应用于几十家三甲以上医院.

生物芯片能为现代医学科学及医学诊断学的发展提供强有力的手段,随着生物芯片技术的不断发展,它在生物学、医学等领域的应用越来越广泛,生物芯片的光学检测仪器也随之发展并得到广泛的应用. 目前,如何提高生物芯片扫描仪的灵敏度、分辨力、扫描时间等,仍然是当前医学仪器的一个研究热点.

参考文献

- 张天浩,张春平,张光寅,等. DNA 芯片制作原理及其杂交信号检测方法. 生物工程进展,2000,20(2):61~68
Zhang T H, Zhang C P, Zhang G Y. *et al. China Biotechnology*,2000,20(2):61~68
- 余国彬,姚汉民,胡松,等. 激光共聚焦生物芯片扫描仪的光学特性. 光电工程,2002,29(3):1~3
Yu G S, Yao H M, Hu S. *et al. Opto-electronic Engineering*,2002,29(3):1~3
- 谷宇,何农跃. 纳米金标记法在 DNA 检测及基因芯片技术中的应用. 中国药科大学学报,2003,34(2):184~189
Gu Y, He N Y. *Journal of China Pharmaceutical University*,2003,34(2):184~189
- 杨淋,周肇飞,张涛,等. 线阵 CCD 在高准确度测量系统中的照明选择. 实用测试技术,2002,28(5):20~22
Yang L, Zou Z F, Zhang T. *Practical Measurement Technology*,2002,28(5):20~22
- Voicn L I, Myler H R, Weeks A R. Practical considerations on color image enhance using homomorphic filtering. *Journal of Electronic Imaging*, 1997,6(1):108~113
- 陈智,王国志,丰善,等. 同态滤波预处理在微粒场全息图图像处理中的应用. 光子学报,2004,33(2):167~170
Chen Z, Wang G Z, Feng S, *et al. Acta Photonica Sinica*, 2004,33(2):167~170
- 赵建伟,王朋,刘重庆. 基于小波变换的分水岭图像分割方法. 光子学报,2003,32(5):601~604
Zhao J W, Wang P, Liu C Q. *Acta Photonica Sinica*, 2003,32(5):601~604
- 徐志刚,马健康,罗秀娟,等. 新型高速视频图像记录判读系统. 光子学报,2004,33(10):1265~1268
Xu Z G, Ma J K, Luo X J, *et al. Acta Photonica Sinica*, 2004,33(10):1265~1268

Design of a CCD Biochip Scanning and Analyzing System

Zhang Fan^{1,2}, Xue Lijun^{1,2}, Li Zitian^{1,2}, Wu Xiaohua^{1,2}

¹ Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068

² Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039

Received date: 2004-12-21

Abstract According to the characters of the protein biochip with immunogold labeling technique, the biochip scanning and analyzing system were designed based on CCD and digital image treatment technology. After presenting the architecture of the whole system, the article introduces the software framework of it. And then, the method of analyzing and processing biochip image is described in detail.

Keywords CCD; Biochip scanning and analyzing system; Image analysis



Zhang Fan was born in 1973 in Shaaxi Province and gained the B. E. degree from Xi'an Jiaotong University in 1996. Now she is studying for her M. S. degree in Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences. Her research interest is in processing of digital images.