

doi: 10.3788/gzxb20174606.0612004

# 毛细管电泳噪声特性分析

陈功<sup>1,2</sup>, 朱锡芳<sup>1</sup>, 窦晓鸣<sup>2</sup>, 刘晨晨<sup>2</sup>, 许清泉<sup>1</sup>, 山口佳则<sup>2</sup>, 倪一<sup>2</sup>

(1 常州工学院 电气与光电工程学院, 江苏 常州 213022)

(2 华东理工大学 理学院, 上海 200237)

**摘 要:** 为优化毛细管电泳荧光信号检测系统, 提高检测灵敏度, 以 100~1 000 碱基对的脱氧核糖核酸作为分离对象, 羟乙基纤维素为筛分介质, 研究了直流电场下毛细管电泳荧光信号检测系统中的噪声特性. 对不同分离电场强度、羟乙基纤维素溶液浓度和分子量、毛细管有效长度以及毛细管内径形状等情况下的噪声特性进行分析. 分析得到该检测系统中信噪比最佳的优化参量, 即分离电场强度为 500~600 V/cm、羟乙基纤维素浓度为 0.6%~0.7%、羟乙基纤维素分子量为 250、圆形内径为 50  $\mu\text{m}$  以及毛细管有效长度为 8 cm.

**关键词:** 荧光; 毛细管电泳; 噪声特性; 脱氧核糖核酸; 灵敏度

中图分类号: TH841

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2017)06-0612004-9

## Analysis of Capillary Electrophoresis Noise Characteristics

CHEN Gong<sup>1,2</sup>, ZHU Xi-fang<sup>1</sup>, DOU Xiao-ming<sup>2</sup>, LIU Chen-chen<sup>2</sup>,  
XU Qing-quan<sup>1</sup>, YAMAGUCHI Yoshinori<sup>2</sup>, NI Yi<sup>2</sup>

(1 School of Electrical and Photoelectronic Engineering, Changzhou Institute of Technology,  
Changzhou, Jiangsu 213022, China)

(2 School of Science, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** In order to optimize the fluorescence detection capillary electrophoresis system and improve the detection sensitivity, the signal noise characters were studied when separating 100~1 000 base pair deoxyribonucleic acid ladder under direct current electric field in hydroxyethyl cellulose solutions. The dependence of signal noise on separation electric field intensity, polymer concentration, hydroxyethyl cellulose molecular weight, the effective length and the capillary shape were investigated. Experiment result shows that optimum parameters can be obtained under best signal noise ratio, which are the separation electric field strength of 500~600 V/cm, hydroxyethyl cellulose concentration of 0.6%~0.7%, hydroxyethyl cellulose molecular weight of 250, round inner diameter of 50  $\mu\text{m}$  and effective capillary length of 8 cm.

**Key words:** Fluorescence; Capillary electrophoresis; Noise characteristics; Deoxyribonucleic acid; Sensitivity

**OCIS Codes:** 120.1880; 300.2530; 070.4790

## 0 引言

毛细管电泳 (Capillary Electrophoresis, CE) 作为高效的微分离分析方法被广泛应用于临床医学、分子生物检测及蛋白质与核酸的分离分析等领域<sup>[1-2]</sup>. 毛细管电泳荧光信号检测系统噪声通常有来自于分析仪器的杂散光噪声、放大电路的噪声、光电倍增管的噪声、静态光学噪声、激光器开启的静态噪声和脱氧核糖核酸

**基金项目:** 国家自然科学基金 (No. 21305089)、江苏省自然科学基金青年基金 (No. BK20130245)、水声通信与海洋信息技术教育部重点实验室 (厦门大学) 和江苏省青蓝工程优秀青年骨干教师人才计划 (2017 年) 资助

**第一作者:** 陈功 (1979-), 男, 副教授, 博士后, 主要研究方向为生物分子诊断信息处理. Email: realchengong@sina.com

**通讯作者:** 朱锡芳 (1965-), 男, 教授, 博士, 主要研究方向为光学工程. Email: zhuxf@czu.cn

**收稿日期:** 2016-12-21; **录用日期:** 2017-01-24

<http://www.photon.ac.cn>

(Deoxyribonucleic Acid, DNA)电泳时引起的动态噪声等. 在毛细管电泳中,有效信号的分离以及碱基信号峰的识别率都受到这些噪声的影响,如果能明确噪声来源,就能有针对性地从源头上采用物理措施、从检测分析阶段采用信号处理方法来抑制噪声,提高荧光信号的信噪比.

文献[3-6]针对毛细管电泳时引起的动态噪声,采用小波分析方法实现非平稳电泳荧光信号的去噪. 文献[7]通过软件模拟得到毛细管内的激发光光斑对毛细管各个角度的光强,用来考察毛细管内径对噪声分布的影响,通过软件模拟电泳分离 DNA 的筛分介质引起瑞利散射噪声. 文献[8]提出光谱恢复的方法、文献[9]采用电泳背景噪声的估计方法实现信噪比的提升. 上述研究方法主要侧重研究毛细管电泳荧光信号检测系统中激光器开启时毛细管电泳引起的动态噪声,并采用高效的信号处理技术实现信噪比的提升. 目前鲜有文献全面分析毛细管检测系统噪声的来源、试验条件和实验对象改变时噪声的变化规律. 本文采用自制毛细管电泳系统,以 100~1000 碱基对(base pair, bp) DNA (日本 Takara 株式会社)为分离对象,研究在直流电场下羟乙基纤维素(Hydroxyethyl Cellulose, HEC)溶液中毛细管电泳分离 DNA 时的噪声特性.

## 1 噪声来源及实验结果

实验系统主要设备有石英毛细管(美国 Polymicro Technologies 公司)、倒置显微镜 IX71(日本 Olympus 公司)、MODEL 610E 高压电源(美国 Trek 公司)、汞灯光源、U-MWIB-3 滤光片(日本 Olympus 公司)、60×物镜 PlanApo/IR(日本 Olympus 公司)和 R928 光电倍增管(Photoelectric Multiplier Tube, PMT)(日本 Hamamatsu Photonics 公司),化学试剂包括 SYBR Green I(美国 Invitrogen 公司),10× Tris-硼酸-EDTA 缓冲液(Tris Borate EDTA, TBE)(美国 Bio-Rad 公司).

### 1.1 分析仪器的噪声

毛细管电泳荧光信号检测系统中,分析仪器的噪声主要包括:外部可见光进入系统,经内部构件的多次反射、折射或衍射到达探测器形成的外部杂散光;光学系统内温控热源及温度较高的光学构件产生的红外辐射,经过系统表面的反射、折射或衍射传播进入探测器的内部杂散光;成像光线经非光路表面散射或经光路表面的非正常传播而进入探测器的成像杂散光<sup>[10]</sup>.

系统采用遮光布和遮光板阻挡外部杂散光;构建密闭箱、保持实验室恒温通风环境避免内部杂散光;安装摄影镜头遮光罩和挡光环阻挡成像杂散光.

### 1.2 放大电路的噪声

光电倍增管后端的放大电路模块中主要存在散粒噪声、热噪声和闪烁噪声. 散粒噪声与电流流动相关,其为频谱均匀分散的白噪声;热噪声也是白噪声,只与绝对温度相关;闪烁噪声也称为  $1/f$  噪声,其存在于所有的有源元器件中<sup>[11]</sup>. 从图 1 可以看出,前置放大器的输出端噪声表现为散粒和热噪声,其幅度在 0~0.34 mV 波动,个别较大闪烁噪声,电压不超过  $\pm 0.7$  mV.

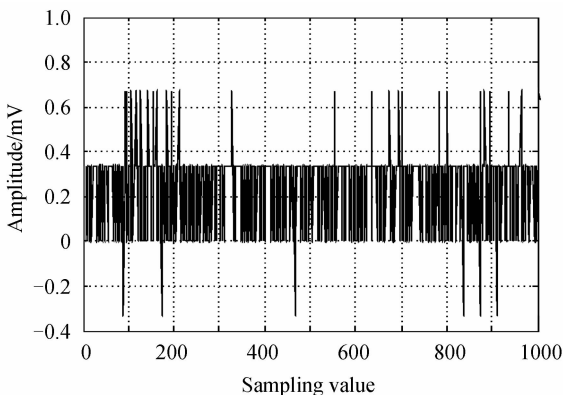


图 1 放大电路的噪声  
Fig. 1 Noise from amplifier circuit

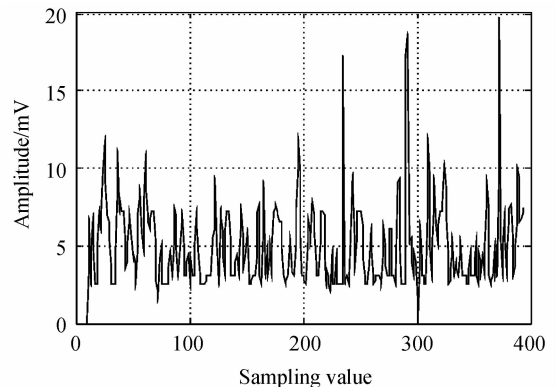


图 2 光电倍增管的噪声  
Fig. 2 Noise from photoelectric multiplier tube

### 1.3 光电倍增管的噪声

光电倍增管(Photomultiplier, PMT)的噪声主要来源于光电子发射和二次发射电子倍增管所引起的噪声以及 PMT 设计、制造所引起的噪声,其中包括光阴极的热离子发射、倍增管寄生气体电离、输出级到阴极

的光反馈以及 PMT 材料自发发射所引起的随机噪声<sup>[12-15]</sup>.

实验中将 PMT 和放大电路用数据线连接,关闭激光器,用黑纸挡住光电倍增管光路,此时 PMT 噪声主要与其设计和制造相关.打开连接 PMT 电源,测量输出噪声,采集到的波形如图 2,可以看出 PMT 的背景噪声的电平主要集中在 2.5~10 mV.

#### 1.4 未加分离电场时的静态噪声

##### 1.4.1 未加荧光染料

毛细管内填充含有  $0.5 \times$  TBE 的 HEC 缓冲溶液,未添加 SYBR Green I 荧光染料.开启激光器,不加分离电场,采集到的噪声波形如图 3(a).从图中可以看出,激发光路中放入带有缓冲液的毛细管时,本底噪声的电平主要集中在 8~15 mV.

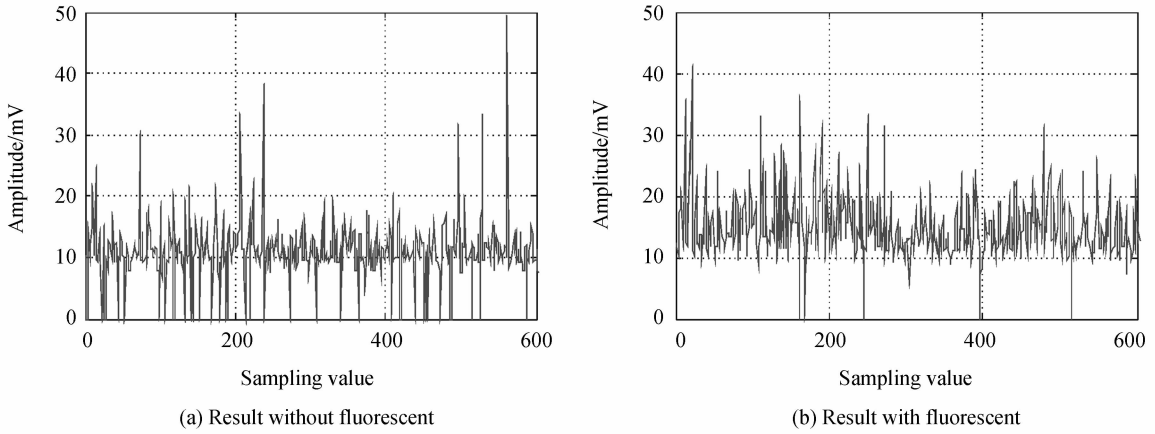


图 3 静态噪声  
Fig. 3 Static noise

##### 1.4.2 加荧光染料

毛细管内填充含有 SYBR Green I 荧光染料的 HEC 缓冲溶液,不加分离电场,采集到的噪声波形如图 3(b).从图中可以看出,激发光路中放入带有缓冲液的毛细管时,本底噪声的电平主要集中在 10~25 mV.

#### 1.5 加分离电场时 DNA 毛细管电泳引起的动态噪声

毛细管内填充 SYBR Green I 荧光染料的 HEC 缓冲溶液,以 100~1 000 bp DNA 为分离对象,两端施加直流电压,DNA 在毛细管电泳时引起动态噪声,分析不同条件下毛细管电泳分离 DNA 的实验结果.

##### 1.5.1 分离电场强度、HEC 浓度时噪声特性

图 4 显示了分离电场强度对噪声特性的影响,其中  $l_t$ 、 $l_e$  分别表示毛细管总长度和有效长度, $l_e/l_t = 6/11$ ,引入电场 100 V/cm,引入电场时长 2.0 s,HEC 分子量 1 300 k,有效长度为 4 mm、圆形内径为 50  $\mu\text{m}$ .可以看出:噪声均值在 0.2~0.45 V 范围内;对于不同浓度的 HEC,电场强度与噪声均值、方差成正比关系.

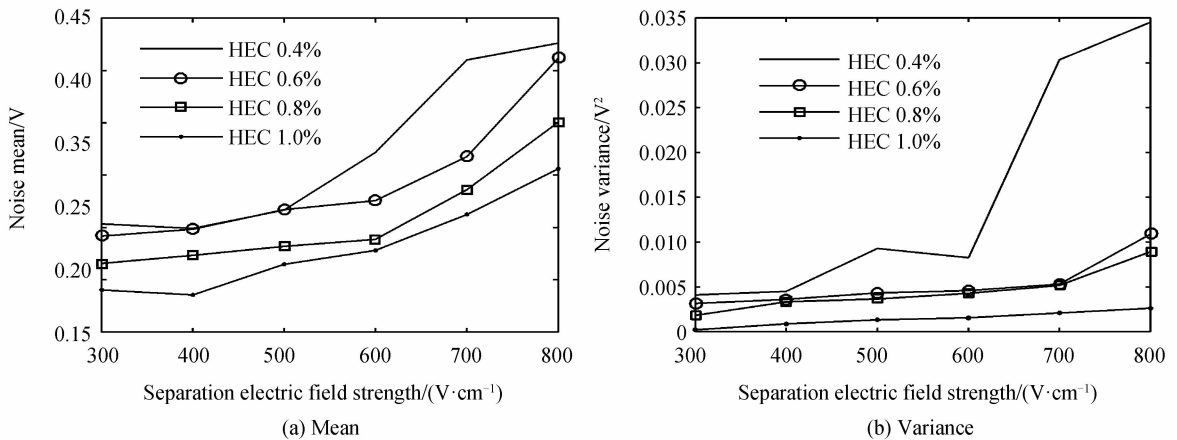


图 4 电场强度对噪声的影响  
Fig. 4 Noise with changing electric field intensity

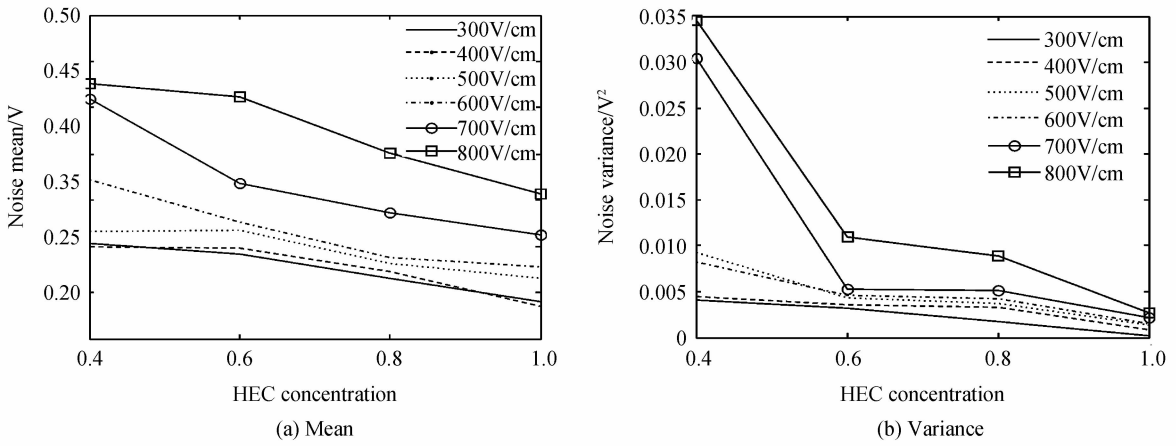


图 5 HEC 浓度对噪声的影响

Fig. 5 Noise with changing HEC concentration

图 5 显示了 HEC 浓度对噪声特性的影响,参量与图 4 相同.可以看出:噪声均值在 0.2~0.45 V 范围内;对于不同分离电场强度,HEC 浓度与噪声均值、方差成反比关系.

1.5.2 不同分子量时噪声特性

图 6 为 HEC 分子量对噪声特性的影响, $l_c/l_t=6/11$ ,引入电场 100 V/cm,引入电场时长 2.0 s,分离电场 300 V/cm.可以看出:筛分介质浓度相同时,噪声均值、方差与 HEC 分子量成正比;筛分介质分子量相同时,浓度越高,噪声均值和方差也越高.

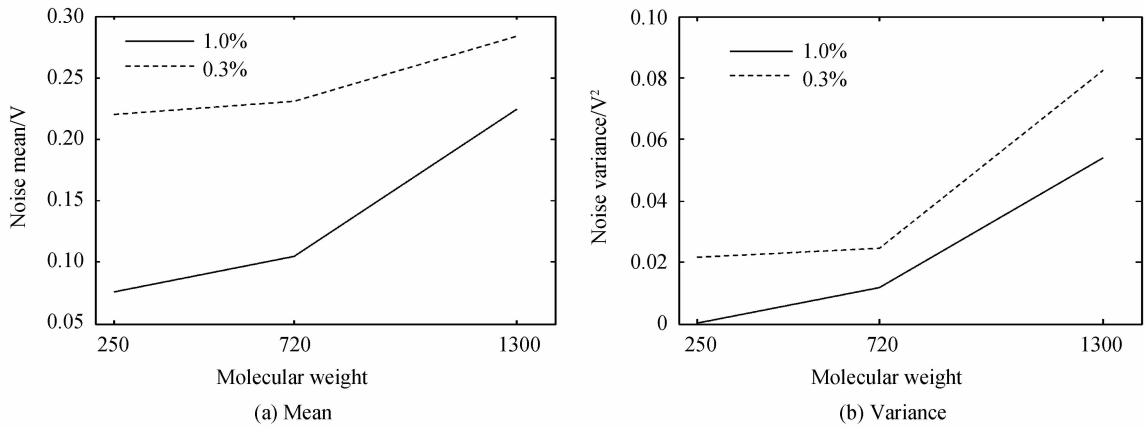
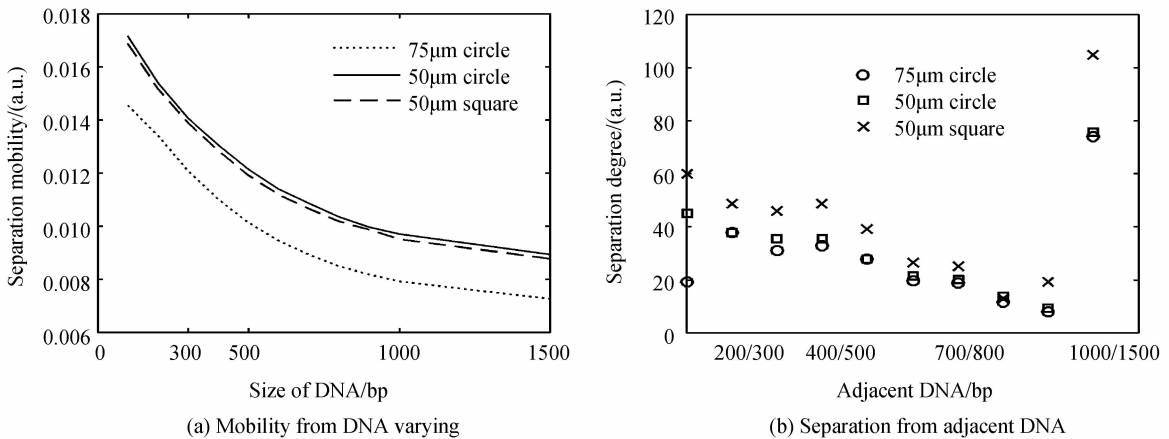


图 6 HEC 分子量对 DNA 电泳噪声的影响

Fig. 6 DNA electrophoresis noise from HEC molecular weight

1.5.3 不同毛细管类型时噪声特性

图 7 为毛细管电泳时,DNA 分离效率、噪声特性随毛细管内径形状的变化关系, $l_c/l_t=6/11$ ,引入电场



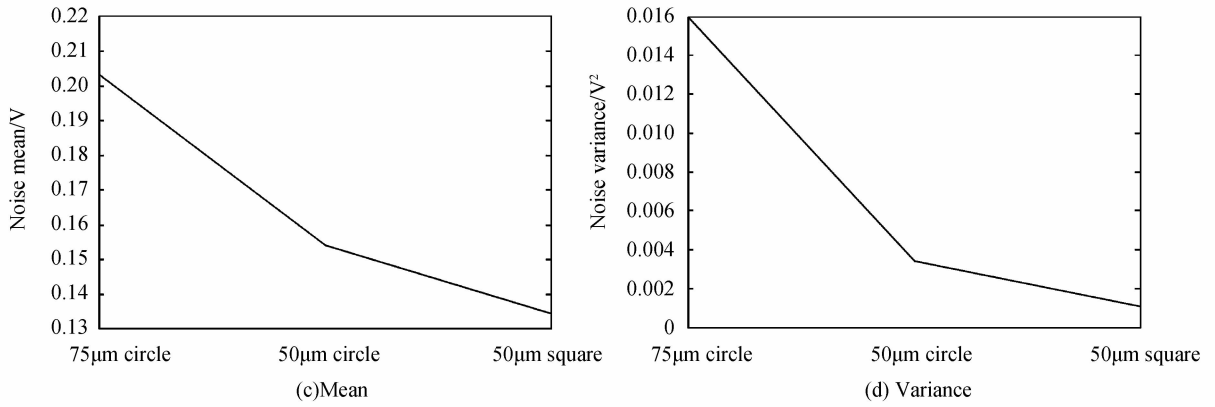


图7 不同毛细管类型对DNA分离噪声的影响

Fig. 7 DNA separation noise from different types of capillary

100 V/cm,引入电场时长 0.5 s,HEC 浓度 0.3%,分子量 1 300 k. 选用圆形截面毛细管的内径为 75 μm、50 μm,毛细管正方形内截面边长为 50 μm.

1.5.4 不同毛细管有效长度时噪声特性

在相同的筛分介质中,若毛细管上所加的电场强度一定,DNA 淌度与分离度随毛细管有效长度变化关系如图 8,引入电场 100 V/cm,引入电场时长 0.5 s,分离电场 300 V/cm,HEC 浓度 0.3%、分子量 1 300 k.

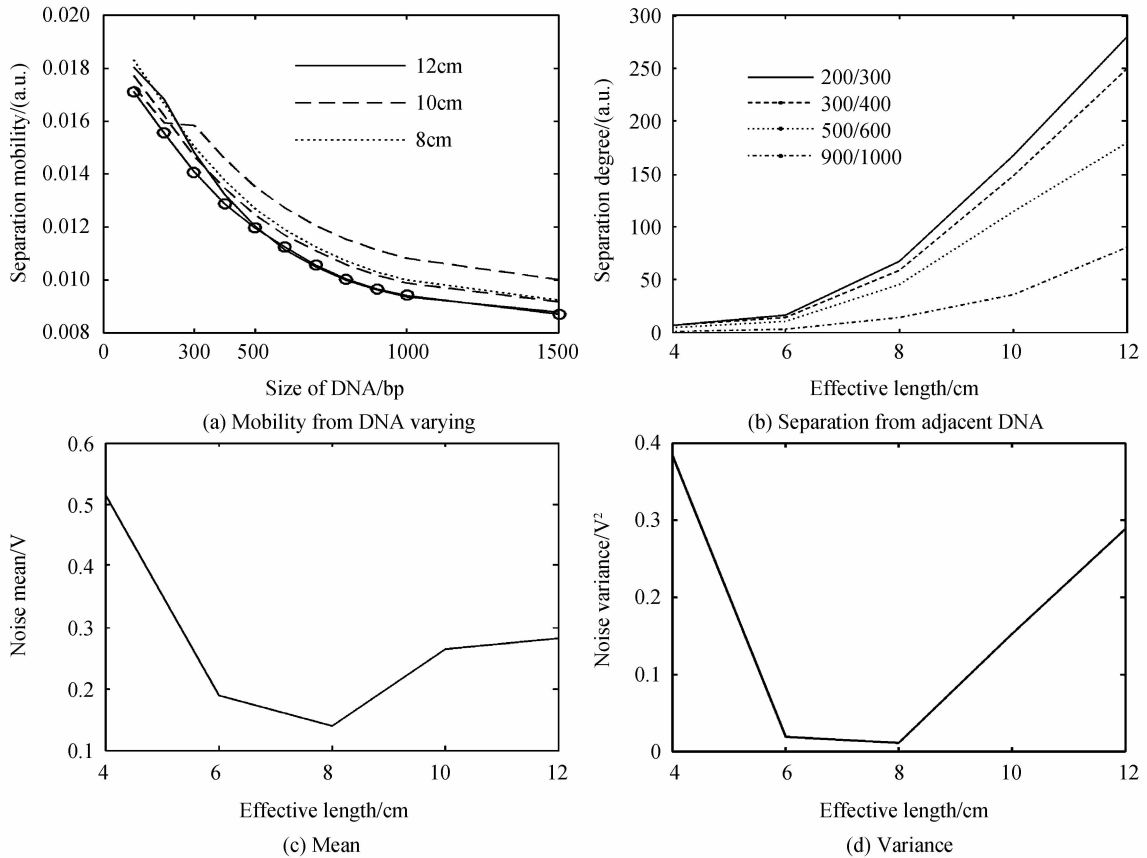


图8 毛细管有效长度对DNA分离的影响

Fig. 8 DNA separation noise from length of capillary

2 实验分析和讨论

2.1 电场强度、HEC 浓度对噪声影响分析

为进一步说明不同分离电场强度和 HEC 浓度对 DNA 分离噪声的影响,从 DNA 分离淌度、DNA 迁移时间、DNA 大小和 DNA 分离效率等角度进行分析.

图 9 显示了毛细管电泳时不同分离电场强度下 DNA 分离淌度随 DNA 大小的变化关系. 可以看出: HEC 浓度不变时, 电场强度越高, 相邻 DNA 片段之间淌度差越高; HEC 浓度越高, DNA 在 HEC 中迁移淌度越低. 考虑到带电粒子在流体中运动时, 溶剂阻力  $F_f$  与粒子运动速度  $v$  和溶剂粘度  $\eta$  成正比, 即  $F_f = \eta v$ , 带电量为  $q$  的粒子在电场作用下所受电场作用力为  $F_E = qE$ , 当带电粒子在电场作用下运动稳定后  $F_f = F_E$ , 可知  $v = (qE)/\eta$ <sup>[16]</sup>. 所以, 电场强度增大, DNA 在毛细管内迁移速度增大, 引起电泳时动态噪声波动的增加, 但是由于 HEC 浓度增加使带电粒子稳定, 导致 DNA 在毛细管内迁移速度的稳定, 对应动态噪声波动减弱.

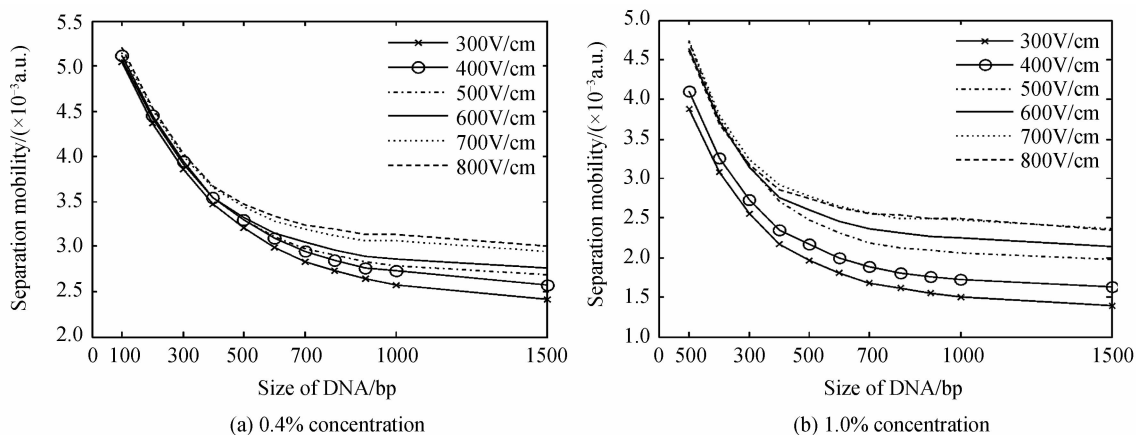


图 9 电场强度对 DNA 分离淌度影响  
Fig. 9 DNA mobility from electric field

图 10 显示了不同大小 DNA 的分离效率随电场强度变化状况. 由图可知, 电场强度越高, DNA 迁移时间越短. 事实上由于  $v = (qE)/\eta$ , 迁移时间为  $t = (l_e \eta)/(qE)$ . DNA 迁移时间与电场强度成反比. 因此电场强度增加, 系统动态噪声增加但噪声持续时间较短, 电场强度减少, 系统动态噪声减少但噪声持续时间较长.

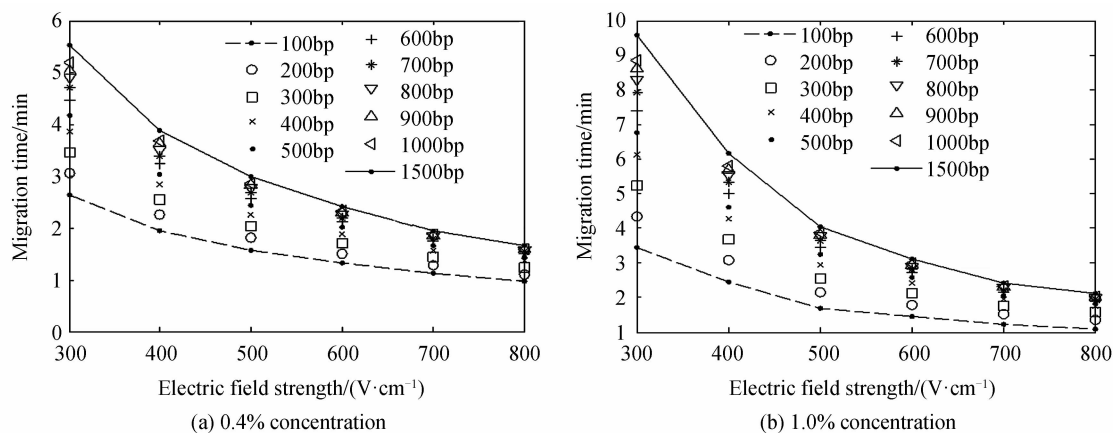


图 10 电场强度对 DNA 分离效率的影响  
Fig. 10 DNA separation efficiency from electric field

图 11 显示了不同电场强度下, 毛细管电泳分离 DNA 时对应的分离度. 可以看出 HEC 浓度较高时的分离度高于浓度较低时的分离度 5 倍左右.

综上, 对于分离电场强度的变化, 由于 HEC 缓冲液内部所产生的热量与毛细管两端的电压成正比, 电压增加导致缓冲液的焦耳热增加, 使得凝胶的粘度降低, DNA 片段迁移的阻力变小, DNA 各片段迁移速度变快, 噪声波动增加. 考虑到电压的提高可以增加毛细管的分离淌度, 因此, 以 500~600 V/cm 的分离电场强度进行研究为宜.

对于 HEC 浓度的变化, 浓度较低的 HEC 未达到稳定的筛分结构, DNA 片段迁移受到阻力较小, DNA 各片段迁移速度快, 因此噪声较大, 但是分离度较弱. HEC 浓度提高时, DNA 各片段迁移受到阻力增加, 分离时间变长, 此时分离度高, 噪声波动特性不明显. 因此, 以 0.6%~0.7% 的 HEC 浓度进行研究为宜.

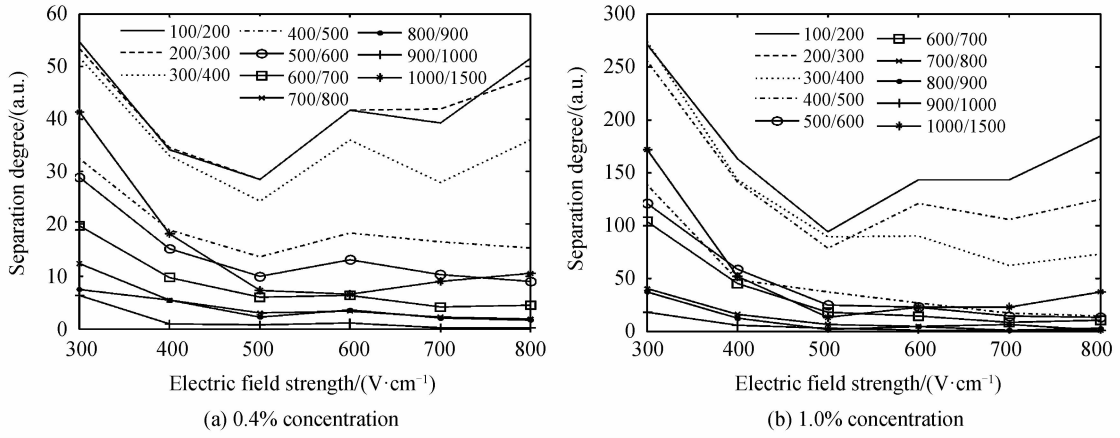


图 11 电场强度对分离度的影响  
Fig. 11 Separation from electric field

### 2.2 分子量对噪声影响分析

图 12 中,筛分介质浓度相同时,HEC 分子量越大,相邻 DNA 片段之间淌度差越高;HEC 分子量相同时,筛分介质浓度越高,DNA 在高浓度 HEC 中分离淌度越低,HEC 分子量越大,毛细管电泳时更容易透射荧光,表现出更高的噪声均值和方差.因此,以较低的 HEC 分子量进行研究为宜.

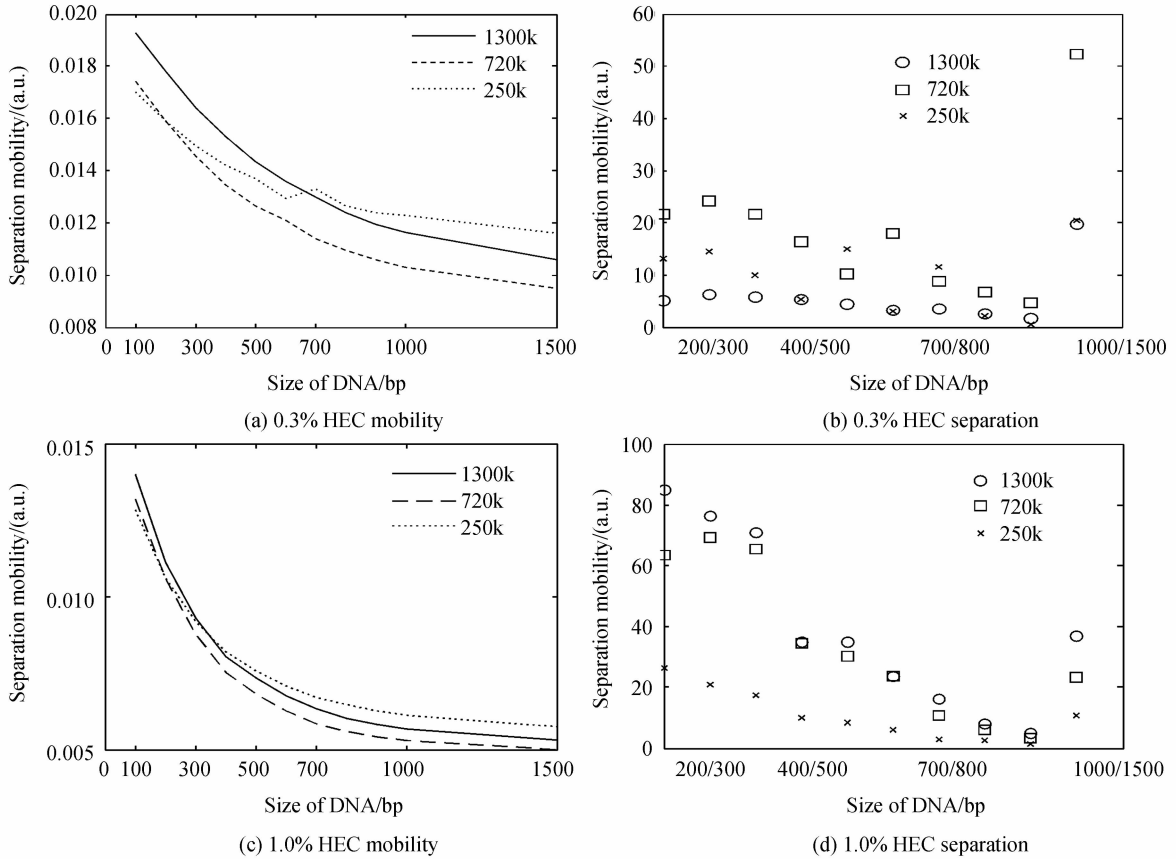


图 12 HEC 分子量对噪声的影响分析  
Fig. 12 Analysis of DNA electrophoresis noise from HEC molecular weight

### 2.3 毛细管对噪声影响分析

毛细管类型不同时,毛细管噪声的均值范围约 0.13~0.21 V,噪声均值和方差均与随着侧面积与截面积之比成反比.当毛细管电泳时,侧面积与截面积之比较小,毛细管中筛分介质产生焦耳热过大不能及时逸散,随着热量增加,离子运动速度加快,导致毛细管电泳 DNA 分离效率降低以及噪声的增加.在 DNA 分离实验中,若采用 50  $\mu m$  方形的较小内径的毛细管作为分离柱,在相对较高的分离场强下,能提高分离速度.

但若毛细管内径过小,会减小检测时的光程.因此,选用  $50\ \mu\text{m}$  圆形内径的毛细管作为分离柱为宜.

毛细管有效长度不同时,由于毛细管两端电场强度一定,在相同的介质中相邻的 DNA 各片段速度差恒定,毛细管长度越长,迁移时间越长,分离度与毛细管有效长度成正比.但 DNA 分子与筛分介质由于相互作用,其形状与运动路径在不断变化,且变化呈现随机性.因此在不同 DNA 片段位置的淌度以及噪声均值、方差也呈现一定的随机性.

#### 2.4 毛细管电泳最佳优化参量

综合比较毛细管电泳荧光信号检测系统中的噪声情况可知:分析仪器中电路噪声均值约在  $1\ \text{mV}$  以下,光电倍增管的噪声均值约在  $20\ \text{mV}$  以下,加入含荧光染料的缓冲溶液背景噪声均值在  $50\ \text{mV}$  以下;分离电场、HEC 浓度变化时噪声均值变化范围为  $0.2\sim 0.5\ \text{V}$ ;HEC 分子量变化时噪声均值变化范围为  $0.05\sim 0.3\ \text{V}$ ;毛细管类型改变时噪声均值变化范围为  $0.1\sim 0.5\ \text{V}$ .

通过分析,试验中最佳优化指标参量为: $500\sim 600\ \text{V/cm}$  的分离电场强度、 $0.6\%\sim 0.7\%$  的 HEC 浓度、 $250\ \text{HEC}$  分子量、 $50\ \mu\text{m}$  圆形内径和  $8\ \text{cm}$  有效长度的毛细管.图 13 为利用毛细管电泳荧光信号检测系统进行实验时参量指标优化前后的相对荧光强度比较数据,图(a)~(d)分别表示最优参量、改变电场强度、改变 HEC 浓度和改变分子量的非优化参量对比,图 13(a)中噪声波动性明显低于其它三组情况,通过对比发现本文所给出参量的优越性.

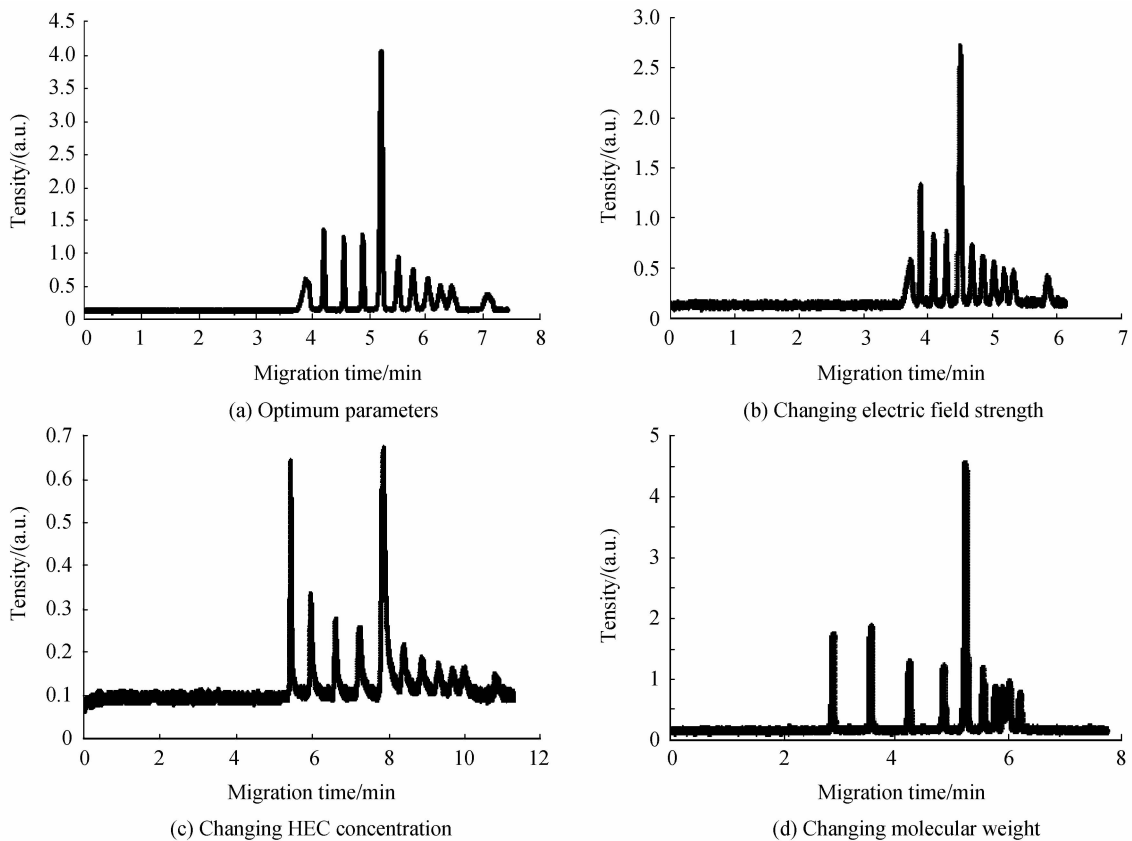


图 13 毛细管电泳对比

Fig. 13 Comparison of capillary electrophoresis results

### 3 结论

本文从毛细管电泳荧光信号检测系统中噪声来源的角度研究和分析噪声对系统检测性能的影响,并给出系统最优参量.研究发现影响检测性能的主要噪声来源于激光器开启时电泳所引起的噪声.不同分离电场强度、HEC 溶液浓度和分子量、毛细管有效类型等环节的噪声均不同程度地引起电泳噪声的波动.在实现电泳过程中,需要根据现有条件合理选择仪器参量、试验用品和试验试剂,以实现最佳检测性能.



## 参考文献

- [1] CHENG Hui-ling, CHIOU Shyh Shin, LIAO Yu-mei, *et al.* Genotyping of single nucleotide polymorphism in  $\gamma$ -glutamyl hydrolase gene by capillary electrophoresis[J]. *Electrophoresis*, 2011, **15**: 2021-2027.
- [2] LIU Yuan-yuan, WANG Rong, JIA Zheng-ping, *et al.* H-ras gene mutation detection of gastric cancer by restriction fragment length polymorphism with capillary electrophoresis[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2009, **67**(4): 323-328.  
刘圆圆,王荣,贾正平,等. 毛细管电泳-限制性片段长度多态性分析检测胃癌 H-ras 基因点突变[J]. *化学学报*, 2009, **67**(4): 323-328.
- [3] XI Zheng-shan, YANG Yong, MA Wen-li, *et al.* Application of wavelet denoising and signal resemble quality in electrophoresis signal[J]. *Microelectronic Technology*, 2004, **24**: 24-27.  
奚正山,杨瑛,马文丽,等. 小波去噪与信号相似性在电泳信号方面的应用[J]. *微电子技术*, 2004, **24**: 24-27.
- [4] SHI Da-ming, QU Hai-bin, CHENG Yi-yu. Filter of capillary electrophoresis signals based on online wavelet transform[J]. *Journal of Jiangnan University (Natural Science Edition)*, 2007, **6**(3): 340-344.  
史大明,瞿海斌,程翼宇. 基于在线小波变换的毛细管电泳信号滤噪方法[J]. *江南大学学报(自然科学版)*, 2007, **6**(3): 340-344.
- [5] ZHEN Hua, SHI Yan, WANG Jie, *et al.* Analyzing the wavelet denoising of electrophoresis fluorescence signals for DNA sequencing[J]. *Optical Instruments*, 2007, **29**(2): 17-21.  
郑华,石岩,汪洁,等. DNA 测序电泳荧光信号的小波去噪分析[J]. *光学仪器*, 2007, **29**(2): 17-21.
- [6] SHEN Xin, DU Yu-ren, WANG Jie, *et al.* A novel denoising algorithm for electrophoretic fluorescent signal based on the best basis of wavelet packets[J]. *Journal of Yangzhou University (Natural Science Edition)*, 2011, **14**(2): 70-73.  
沈鑫,杜宇人. 一种基于最优小波包基的电泳荧光信号去噪方法[J]. *扬州大学学报(自然科学版)*, 2011, **14**(2): 70-73.
- [7] SHI Yan, WANG Li-qiang, ZHENG Hua, *et al.* Signal to noise ratio analysis for DNA detecting system by capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2008, **37**(7): 1446-1449.  
石岩,王立强,郑华,等. 激光诱导荧光毛细管电泳 DNA 检测系统信噪比分析[J]. *光子学报*, 2008, **37**(7): 1446-1449.
- [8] YU L, LACEY M E, SWEEDLER O V, *et al.* Spectral restoration from low signal-to-noise, distorted NMR signals application to hyphenated capillary electrophoresis-NMR[J]. *Journal of Magnetic Resonance*, 2003, **162**: 133-140.
- [9] EMY G L, CALISTO V, ESTEVES V I. Noise normalisation in capillary electrophoresis using a diode array detector[J]. *Journal of Separation Science*, 2011, **34**: 1703-1707.
- [10] YUAN Yu-kai. Stray light suppressing measure of optical system[J]. *Journal of Atmospheric and Environment Optics*, 2007, **2**(1): 6-10.  
原育凯. 光学系统杂散光的消除方法[J]. *大气与环境光学学报*, 2007, **2**(1): 6-10.
- [11] HE Zheng-rong. Noise analysis and design of operational amplifier circuits[J]. *Microelectronics*, 2006, **36**(2): 148-153.  
何峥嵘. 运算放大器电路的噪声分析和设计[J]. *微电子学*, 2006, **36**(2): 148-153.
- [12] YE Li-hua, WANG Hai-yang, WANG Wen-xuan, *et al.* Design of low- noise preamplifier based on PMT and its signal processing[J]. *Chinese Journal of Electron Devices*, 2013, **36**(3): 340-343.  
叶莉华,汪海洋,王文轩,等. 基于光电倍增管的低噪声前置放大器的设计及其信号处理[J]. *电子器件*, 2013, **36**(3): 340-343.
- [13] KIM H, CHEN C T, RONZHIN A, *et al.* A silicon photo-multiplier signal readout using strip-line and waveform sampling for positron emission tomography[J]. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 2016, **830**: 119-129.
- [14] 周荣楣. 光电发射、次级电子发射与光电倍增管[M]. 成都: 电子科技大学出版社, 2015.
- [15] 王文祥. 真空电子器件[M]. 北京: 国防工业出版社, 2012.
- [16] LIU Chen-chen, LI Zhen-qing, MENG Fan-ming, *et al.* Capillary electrophoresis of DNA in Hydroxyethylcellulose[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2013, **71**: 265-270.  
刘晨晨,李振庆,孟凡明,等. 羟乙基纤维素中毛细管电泳 DNA 分离特性研究[J]. *化学学报*, 2013, **71**: 265-270.

**Foundation item:** The National Natural Science Foundation of China (No. 21305089), Natural Science Foundation of Jiangsu Province of China (No. BK20130245), Key Laboratory of Underwater Acoustic Communication and Marine Information Technology (Xiamen University) and Qinglan Project of Jiangsu Province