

单细胞拉曼光谱模拟系统软件

单细胞拉曼光谱模拟系统软件是模拟细胞工作环境和光谱特性,实现对模拟细胞的捕获和数据获取,达到可以脱离硬件系统的束缚来对模拟细胞进行采集;同时模拟系统软件根据拉曼光谱系统的具体功能要求并结合硬件系统来进行设计,实现可以控制拉曼光谱硬件系统进行活体单细胞的采集等功能,达到系统原位、实时、连续、自动获取单细胞拉曼光谱的目的。

§1 单细胞拉曼光谱模拟系统软件总体设计

§1.1 开发环境

本套系统软件主要基于 Visual Studio 2008 集成开发环境,以 C++ 语言开发完成。C++ 是一种静态数据类型检查的、支持多重编程范式的通用程序设计语言。它支持过程化程序设计、数据抽象、面向对象程序设计、制作图标等等泛型程序设计等多种程序设计风格。

Visual Studio 2008 是 Microsoft 公司开发的一种具有高度综合性能的软件开发工具,采用面向对象的程序设计(OOP)方法,将数据及对数据操作方法封装在一起,作为一个相互依存、不可分离的整体—对象。对同类型对象抽象出其共性形成类。类的大多数数据只能用本类的方法进行处理。类(Class)通过一个简单的外部接口与外界发生关系,对象与对象之间通过消息进行通讯。这样,程序模块间的关系简单,程序模块的独立性、数据的安全性就具有良好的保障。同时,通过继承与多态性,使程序具有很高的可重用性,使软件的开发和维护更为方便。

MFC(Microsoft Foundation Class)类库封装大部分 Windows API(Application Programming Interface)函数,所包含的功能涉及到整个 Windows 操作系统。MFC 不仅提供了 Windows 环境下应用层的框架,还提供了创建应用程序的组件。使用 MFC 类库和 Visual Studio 2008 程序开发工具,可以简化应用程序的设计,缩短开发周期。开发出的程序有着运行速度快、可移植能力强等优点。因此,我们采用 Visual Studio 2008 进行激光拉曼光谱仪系统软件开发。

(1) Win32API

Microsoft Win32 API 是 Windows 的应用编程接口,包括窗口信息、窗口管理函数、图形设备接口函数、系统服务函数、应用程序资源等。Win32API 是 Microsoft 32 位 Windows 操作系统的基础,所有 32 位 Windows 应用程序都运行在 Win32 API 之上,其功能是由系统的动态连接库提供的。

(2) MFC

MFC(Microsoft Foundation Class)是 Microsoft 公司用 C++语言开发的一套基础类库。直接利用 Win32 API 的大部分内容, 并提供了一个应用程序框架用于简化和标准化 Windows 程序的设计。MFC 是 Visual Studio 2008 的重要组成部分, 并且以最理想的方式与其集成为一体。主要包括以下各部分: Win32API 的封装、应用程序框架、OLE 支持、数据库支持、通用类等。

§1.2 软件功能模块设计

单细胞拉曼光谱模拟系统软件根据活体单细胞或模拟细胞采集的实际需要, 对不同功能模块进行开发, 实现的功能主要有:

- (1) 仪器控制, 包括光谱仪、激光器、三维平台以及微流控相关仪器参数设置等功能。
- (2) 模拟细胞形状、大小、光谱数据等。
- (3) 活体单细胞或模拟细胞图像分析, 包括图像处理及保存等功能。
- (4) 活体单细胞或模拟细胞拉曼光谱采集、保存及分析等功能。
- (5) 光谱处理, 包括滤波、平滑、FFT 等功能。
- (6) 数据库创建、数据增加及删除等功能。

单细胞拉曼光谱系统模拟软件提供了整个系统与操作用户之间唯一的交互接口。它所提供的显示平台是否直观, 提供的控制平台是否便捷, 直接关系到整个软件系统的可靠性和可操作性, 从而影响到整个系统的性能。因此, 人性化的界面设计和良好的程序框架构建是整个单细胞拉曼光谱系统控制软件设计部分的核心。

§2 仪器控制模块

仪器控制模块实现了对光谱仪、激光器、三维平台以及微流控等器件参数设置及控制等功能。通过对仪器参数进行设置及控制, 实现对单细胞拉曼光谱进行自动采集功能。参数设置和微流控控制界面如图 1 所示。

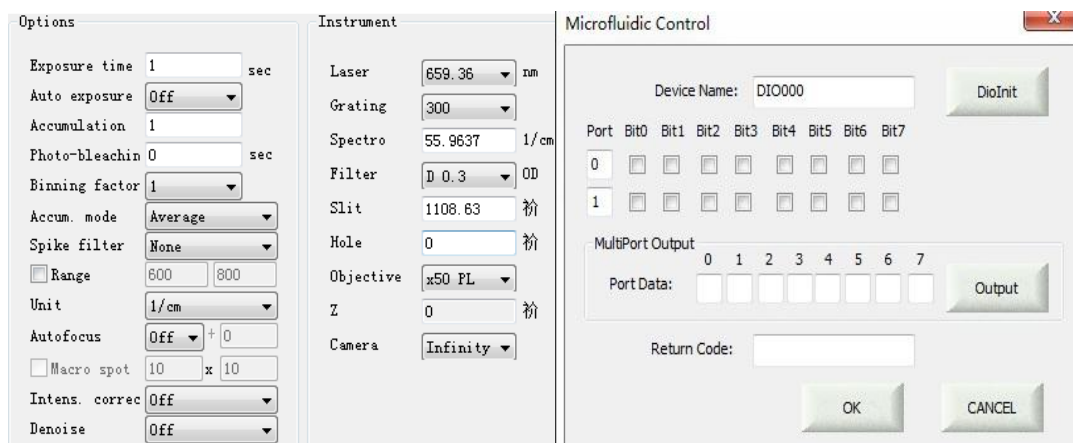


图 1 参数设置和微流控控制界面

§3 细胞模拟模块

细胞模拟模块通过数学的计算和分析，对细胞的结构和功能进行分析、整合和应用，以模拟和再现细胞（如图 2 所示）。从而实现在没有拉曼系统硬件情况下，软件可以正常运行和测试。

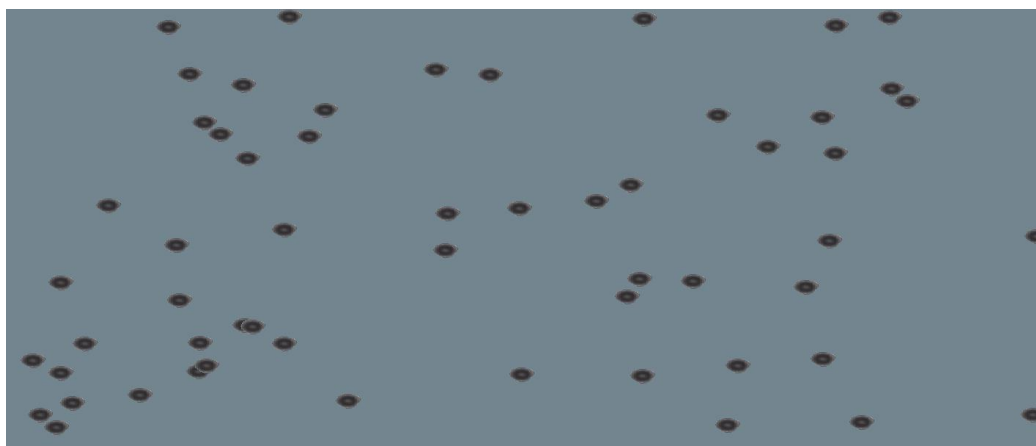


图 2 模拟细胞图像

§4 图像分析模块

图像分析模块通过对细胞图像进行灰度变换、边界检测、深度优先搜索等处理后，获取每个细胞的位置，从而方便后续的单细胞自动拉曼光谱采集等操作。工作流程如图 3 所示。

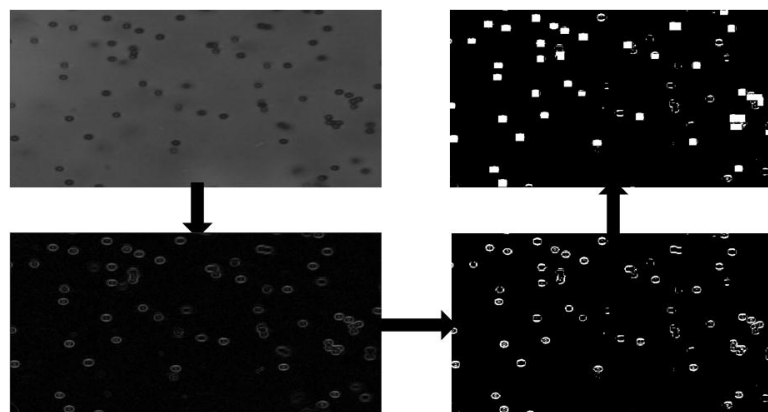


图 3 图像处理流程

§5 光谱采集及分析模块

光谱的实时采集是系统的主要工作，在连接拉曼系统硬件的情况下，采集过程为首先对光谱仪初始化，然后对光谱仪相关参数进行设置，最后控制三维平台定位到每一个细胞的位置，并控制激光器打开激光，从而获取细胞的拉曼光谱数据。采集的光谱数据以 `ngs` 的格式保存在 C 盘根目录下以当前日期命名的文件夹中，文件名以当前系统时间而命名；在不连接拉曼系统硬件情况下，采集过程首先是对生成模拟细胞数量和大小进行设置，然后对细胞图像进行处理，获取细胞位置等信息，最后根据位置对指定细胞进行光谱数据采集，并以 `ngs` 的格式保存到 C 盘根目录下以当前日期命名的文件夹中，文件名以当前系统时间而命名；

§6 光谱处理模块

拉曼光谱信号处理研究，是单细胞拉曼光谱模拟系统软件重要组成部分。光谱信号预处理的常用方法有平滑滤波、傅里叶变换滤波、小波变换滤波等。其中傅里叶变换滤波是本系统后期光谱处理用到的主要方法，通过调用 `ORIGIN8.0` 软件提供的光谱处理 `DLL` 文件，来进行光谱数据的后期处理工作。

数字傅里叶滤波(Digital Fourier filtering)预处理方法可以有效地滤除高频噪声和由仪器背景杂噪或基线漂移等原因引起的低频噪声，增加光谱信噪比。数字傅里叶滤波首先将数据进行快速傅里叶变换(FFT)，在频率空间与高斯窗函数作用，然后反快速傅里叶变换(IFFT)，得到经带通滤波后的光谱数据。高斯函数的均值和标准差分别确定带通滤波器的中心频率和带宽，滤波参数的确定通常采用

数值优化方法来实现，以获得最佳滤波效果。

通过调用 OFFT.dll 文件中的相关函数，对受噪声调制的弱信号拉曼光谱进行变换得到其频谱图。采用低通、高通、带通、带阻、门限等滤波方式进行信号的滤波处理。

§7 数据库控制模块

数据库控制模块实现了数据库创建、数据增加及删除等功能。数据库中存放着细胞相关信息，包括光谱数据、图像、细胞位置、采集时间、细胞种类、温湿度情况、细胞培养条件等信息。单细胞拉曼光谱系统模拟软件将获取到的拉曼光谱数据和细胞图像自动存入数据库中，方便数据调用及查看。数据库结构如图 4 所示。

(A)			(B)					
ID	Project ID	Date	Name	Incubation time	Shaking	Temperature	OD	Note
Cell-11	11	12-12-1	Yeast	16h	150rpm	21	1.025	
Cell-12	12	12-12-1	Yeast	16h	150rpm	21	1.025	
Cell-13	13	12-12-1	Yeast	16h	150rpm	21	1.025	
Cell-14	14	12-12-1	Yeast	16h	150rpm	21	1.025	
Cell-15	15	12-12-1	Yeast	16h	150rpm	21	1.025	











(C)							(D)		
ID	Laser	Filter	Grating	Objective	Humidity	Exposure time	Coordinate	Image	Raman
Cell-11	532	---	600	50PL	30	5s	5.6,20.3,2.5		
Cell-12	532	---	600	50PL	30	3s	8,30.7,2.5		
Cell-13	532	---	600	50PL	30	3s	7,23.7,2.5		
Cell-14	532	---	600	50PL	30	5s	6.8,24.6,2.5		
Cell-15	532	---	600	50PL	30	4s	2,28.7,2.5		

图 4 数据库结构图。(A) 项目信息：序号，测试时间等；(B) 样品准备：细胞名字，温度等；(C) 仪器参数：激光器波长，狭缝宽度，积分时间等；(D) 细胞信息：细胞位置，细胞图像，光谱数据等。