



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117191759 A

(43) 申请公布日 2023. 12. 08

(21) 申请号 202310938622.8

(22) 申请日 2023.07.28

(71) 申请人 中国科学院苏州生物医学工程技术
研究所

地址 215000 江苏省苏州市高新区科灵路
88号

申请人 中国医科大学附属盛京医院

(72) 发明人 殷建 吴安华 孙姣姣 程文
刘广兴 郭松溢 尹焕才 刘行
蔡睿锴

(74) 专利代理机构 沈阳亚泰专利商标代理有限
公司 21107

专利代理师 王春玲

(51) Int.Cl.

G01N 21/65 (2006.01)

G16B 40/10 (2019.01)

G16B 40/20 (2019.01)

G16H 50/30 (2018.01)

G06F 18/214 (2023.01)

G06F 18/2411 (2023.01)

G06F 18/2413 (2023.01)

G06F 18/25 (2023.01)

B22F 9/24 (2006.01)

B22F 1/054 (2022.01)

C01G 39/06 (2006.01)

B82Y 15/00 (2011.01)

B82Y 40/00 (2011.01)

B82Y 30/00 (2011.01)

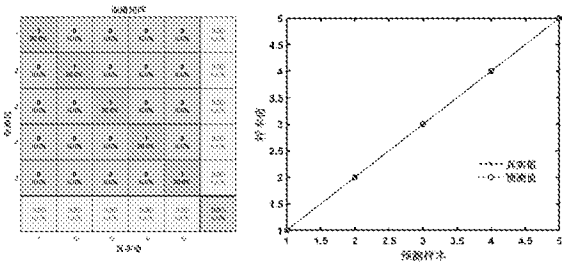
权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54) 发明名称

一种基于拉曼光谱的脑胶质瘤边界识别技术

(57) 摘要

本发明公开了基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别技术,属于肿瘤诊断领域。本发明通过在二硫化钼(MoS₂)纳米片上原位合成金纳米花结构,并结合三种可靶向胶质瘤细胞的适配体,制备了胶质瘤传感SERS基底。利用机器学习确定胶质瘤切除碎片样品中肿瘤细胞比例,进而为术中实时导航提供参考与校准依据。该方法具有快速、准确及高灵敏的优势。本发明所公开的检测技术可在2分钟内获得结果,极大提高临床诊断效率,实现术中分子病理诊断,具有重大的临床意义。



1. 一种SERS增强基底的制备方法,其特征在于,具体步骤如下:

S1, MoS₂纳米片制备:将聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)或者聚对苯二甲酸乙二酯(PET)胶带与表面光滑无污染的MoS₂单晶块紧密结合在一起,并轻轻压胶带;随后将MoS₂与胶带分离,得到一层MoS₂纳米片;干净的硅衬底经过氧等离子清洗30分钟,用显微镊子或显微针尖轻轻触碰MoS₂纳米片,将纳米片粘附在显微镊子或显微针尖的尖端,将粘附有MoS₂纳米片的显微镊子或显微针尖轻轻移动到目标基底的位置,确保显微镊子或显微针尖与基底表面轻触,并在接触的地方释放MoS₂纳米片,缓慢而小心地抬起显微镊子或显微针尖,使MoS₂纳米片留在目标基底表面上;

S2, SERS基底的制备:使用有机溶剂丙酮清洗S1所制得的MoS₂纳米片,并氮气吹干;配制0.036%(w/v)的氯金酸作为金源,以0.74%(w/v)的盐酸羟胺和0.012%(w/v)柠檬酸三钠混合液作为还原溶液;90℃下,将金源溶液缓慢滴加到MoS₂纳米片上,使其充分覆盖;将还原溶液缓慢滴加到MoS₂纳米片上,还原金离子,直至还原溶液使用完全,并在MoS₂纳米片表面生长金纳米花结构;反应结束后,用去离子水小心冲洗基底;

S3, SERS增强基底制备:为了进一步增强SERS基底对胶质瘤细胞的检测性能,利用可靶向结合ADAM15、ARMC10和PTPRN蛋白的巯基化适配体对其进行修饰;在适配体混合液中加入2-亚氨基硫烷盐酸盐溶液,室温下孵育1小时后,利用脱盐离心柱分离巯基化适配体;将S2中制备好的SERS基底浸入适配体混合溶液中,反应一小时后,用去离子水清洗并4℃保存,制得SERS增强基底。

2. 根据权利要求1所述的一种SERS增强基底的制备方法,其特征在于,在步骤S3中三种适配体溶液按照1:1:1的比列混合;所述三种适配体的序列如SEQ ID No.1~ SEQ ID No.3。

3. 一种采用权利要求1-3任一项所述的制备方法获得的SERS增强基底在制备检测胶质瘤边界的产品中的应用。

4. 一种采用权利要求1-3任一项所述的制备方法获得的SERS增强基底在制备预测胶质瘤样本中肿瘤细胞比例的产品中的应用。

5. 一种基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤1, SERS增强基底的制备:

S1, MoS₂纳米片制备:将聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)或者聚对苯二甲酸乙二酯(PET)胶带与表面光滑无污染的MoS₂单晶块紧密结合在一起,并轻轻压胶带;随后将MoS₂与胶带分离,得到一层MoS₂纳米片;干净的硅衬底经过氧等离子清洗30分钟,用显微镊子或显微针尖轻轻触碰MoS₂纳米片,将纳米片粘附在显微镊子或显微针尖的尖端,将粘附有MoS₂纳米片的显微镊子或显微针尖轻轻移动到目标基底的位置,确保显微镊子或显微针尖与基底表面轻触,并在接触的地方释放MoS₂纳米片,缓慢而小心地抬起显微镊子或显微针尖,使MoS₂纳米片留在目标基底表面上;

S2, SERS基底的制备:使用有机溶剂丙酮清洗S1所制得的MoS₂纳米片,并氮气吹干;配制0.036%(w/v)的氯金酸作为金源,以0.74%(w/v)的盐酸羟胺和0.012%(w/v)柠檬酸三钠混合液作为还原溶液;90℃下,将金源溶液缓慢滴加到MoS₂纳米片上,使其充分覆盖;将还原溶液缓慢滴加到MoS₂纳米片上,还原金离子,直至还原溶液使用完全,并在MoS₂纳米片表面生长金纳米花结构;反应结束后,用去离子水小心冲洗基底;

S3, SERS增强基底制备: 为了进一步增强SERS基底对胶质瘤细胞的检测性能, 利用可靶向结合ADAM15、ARMC10和PTPRN蛋白的巯基化适配体对其进行修饰; 三种适配体溶液按照1:1:1的比列混合后, 在适配体混合液中加入2-亚氨基硫烷盐酸盐水溶液, 室温下孵育1小时后, 利用脱盐离心柱分离巯基化适配体; 将S2中制备好的SERS基底浸入适配体混合溶液中, 反应一小时后, 用去离子水清洗并4℃保存, 制得SERS增强基底;

步骤2、神经胶质瘤样本制备:

临床手术获取的脑胶质瘤样本, 按照比例加入0.86%的冰生理盐水, 采用超声匀浆机对样本进行匀浆, 胶质瘤样本呈现白色均匀溶液;

步骤3、SERS信号采集与分析:

将S2所获得匀浆液滴加于S1获得的SERS增强基底上, 搅动使其均匀分布, 液层厚度约为50μm, 孵育30s-60s后, 用的激光波长为532nm, 最大激发功率为14mW, 物镜放大倍数为20倍, 积分时间为10s, 对增强基底上的样品进行信号采集; 在光谱采集之前, 使用硅芯片的520cm⁻¹的拉曼光谱带对光谱仪进行校准;

步骤4、训练预测模型:

将1002、1154、1373及1519 cm⁻¹处的信号为核酸和蛋白质的特征峰作为输入特征向量, 以肿瘤细胞比例范围作为分类标签, 在任意两类样本之间设计一个径向基核函数支持向量机进行分类器训练;

步骤5、风险预测:

为实现k个类别的区分, 需要设计k(k-1)/2个同类向量机, 当对一个未知样本进行分类, 最后得票最多的类别为该未知样本的类别。

6. 根据权利要求5所述的方法, 其特征在于, 步骤1 S3中三种适配体溶液按照1:1:1的比列混合; 所述三种适配体的序列如SEQ ID No.1~ SEQ ID No.3。

7. 根据权利要求5所述的方法, 其特征在于, 步骤2中所述胶质样本与冰生理盐水的比例为1g:9mL。

8. 一种胶质瘤边界识别模型, 其特征在于, 通过如权利要求5~7中任一项所述的基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法构建得到。

9. 一种电子设备, 包括存储器和处理器, 所述存储器存储有可在所述处理器上运行的计算机程序, 其特征在于, 所述处理器执行所述程序时实现权利要求5~7任意一项所述基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法中的步骤。

10. 一种计算机可读存储介质, 其上存储有计算机程序, 其特征在于, 所述计算机程序被处理器执行时实现权利要求5~7任意一项所述基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法中的步骤。

一种基于拉曼光谱的脑胶质瘤边界识别技术

技术领域

[0001] 本发明属于肿瘤诊断领域,涉及一种基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别技术,更进一步涉及表面增强拉曼散射(SERS)基底结合机器学习确定胶质瘤切除碎片样品中肿瘤细胞比例,进而为术中实时导航提供参考与校准依据。

背景技术

[0002] 脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤,具有高增殖、高侵袭、高异质性、高治疗抵抗、高复发以及高死亡率的“六高”特征。据统计,高级别胶质瘤患者的平均中位生存时间往往仅12个月。此外,脑胶质瘤多见于儿童,居于儿童恶性肿瘤死亡率的第二位。

[0003] 首先,由于胶质瘤弥漫浸润生长的特性,使胶质瘤与正常脑组织之间的边界并无明确的影像学边界,进而导致基于术中导航系统的手术切除边界不明确,这也是脑胶质瘤复发及恶化的重要原因。目前,神经病理医生可对切除组织进行简单荧光染色后,通过激光共聚焦显微镜观测肿瘤存在与否,校正术中导航结果,提高手术切除准确度。但该方法存在过度依赖病理医师经验、主观干扰因素偏多,病理反馈速度较慢(需15分钟以上)等缺陷,进而延误病人治疗。免疫组化、免疫荧光及质谱等相关设备的检测结果相对准确,但耗时更长、不适合手术实时指导。因此,如何能够实现对脑胶质瘤组织进行实时快速诊断,进而对手术切除范围进行反馈参考,是本领域技术人员亟需解决的关键问题。

[0004] 表面增强拉曼散射(SERS)是在纳米颗粒表面和界面上产生的一种非弹性光学效应。当分子吸附在粗糙的贵金属表面时,它们的拉曼信号可以增强 $10^6 \sim 10^{14}$ 倍。SERS技术的检测灵敏度极高,甚至可达到单分子检测的水平,且具有无损检测、快速检测 and 原位测量等诸多优点。SERS光谱特征带窄,可提供丰富的分子指纹信息。因此,该光谱技术特别适用于生物系统和细胞相关的检测系统。近年来,基于SERS技术的肿瘤分析研究一直是生物医学领域的热点,尤其是胶质瘤边界的识别。比如,Xu等人通过银纳米粒子自组装成膜以及响应性SERS报告因子4-巯基吡啶制备了传感芯片,4-巯基吡啶的SERS特征峰比在不同的pH条件下有规律地变化,通过测定间质液pH值来确定胶质瘤浸润的边界(Talanta 2022, 250: 123750)。然而,作者只在小鼠神经胶质瘤细胞中对该方法进行了初步的验证,在真实样本中,生物环境中丰富的谷胱甘肽等生物硫醇可以通过配体交换取代连接在贵金属表面的硫代配体,破坏SERS纳米探针,导致检测信号失真和定量不准确。此外,这种间接检测的方法不利于对肿瘤信息的收集。Zhou等人使用便携式拉曼分析仪对人类胶质瘤进行了研究,并采用主成分分析-支持向量机机器学习方法区分胶质瘤组织与正常组织和胶质瘤分级。与组织病理学作为金标准相比,该技术对胶质瘤的识别准确率只有80%(Cancers 2023, 15, 1752.)。除了上述工作外,目前对于胶质瘤的识别仅限于二分类的方法,只进行“有”或“无”的分析,无法提供更精准的肿瘤浸润比例的信息、为术中实时导航提供参考与校准依据。

发明内容

[0005] 针对上述问题,本发明提供本一种利用SERS基底增强样本拉曼信号强度,结合机

器学习,建立基于胶质瘤细胞特征谱的肿瘤比例预测方案,为术中实时导航提供参考与校准依据。

[0006] 为了实现上述目的,本发明提供了如下技术方案。

[0007] 本发明提供了一种SERS增强基底的制备方法,其特征在于,具体步骤如下:

S1,MoS₂纳米片制备:将聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)或者聚对苯二甲酸乙二酯(PET)胶带与表面光滑无污染的MoS₂单晶块紧密结合在一起,并轻轻压胶带;随后将MoS₂与胶带分离,得到一层MoS₂纳米片;干净的硅衬底经过氧等离子清洗30分钟,用显微镊子或显微针尖轻轻触碰MoS₂纳米片,将纳米片粘附在显微镊子或显微针尖的尖端,将粘附有MoS₂纳米片的显微镊子或显微针尖轻轻移动到目标基底的位置,确保显微镊子或显微针尖与基底表面轻触,并在接触的地方释放MoS₂纳米片,缓慢而小心地抬起显微镊子或显微针尖,使MoS₂纳米片留在目标基底表面上;

S2,SERS基底的制备:使用有机溶剂丙酮清洗S1所制得的MoS₂纳米片,并氮气吹干;配制0.036%(w/v)的氯金酸作为金源,以0.74%(w/v)的盐酸羟胺和0.012%(w/v)柠檬酸三钠混合液作为还原溶液;90℃下,将金源溶液缓慢滴加到MoS₂纳米片上,使其充分覆盖;将还原溶液缓慢滴加到MoS₂纳米片上,还原金离子,直至还原溶液使用完全,并在MoS₂纳米片表面生长金纳米花结构;反应结束后,用去离子水小心冲洗基底;

S3,SERS增强基底制备:为了进一步增强SERS基底对胶质瘤细胞的检测性能,利用可靶向结合ADAM15、ARMC10和PTPRN蛋白的巯基化适配体对其进行修饰;在适配体混合液中加入2-亚氨基硫烷盐酸盐溶液,室温下孵育1小时后,利用脱盐离心柱分离巯基化适配体;将S2中制备好的SERS基底浸入适配体混合溶液中,反应一小时后,用去离子水清洗并4℃保存,制得SERS增强基底。

[0008] 进一步地,在步骤S3中三种适配体溶液按照1:1:1的比列混合;所述三种适配体的序列如SEQ ID No.1~ SEQ ID No.3。

[0009] 本发明还提供了一种采用权利要求1-3任一项所述的制备方法获得的SERS增强基底在制备检测胶质瘤边界的产品中的应用。

[0010] 本发明还提供了一种采用权利要求1-3任一项所述的制备方法获得的SERS增强基底在制备预测胶质瘤样本中肿瘤细胞比例的产品中的应用。

[0011] 本发明还提供了一种基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤1,SERS增强基底的制备:

S1,MoS₂纳米片制备:将聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)或者聚对苯二甲酸乙二酯(PET)胶带与表面光滑无污染的MoS₂单晶块紧密结合在一起,并轻轻压胶带;随后将MoS₂与胶带分离,得到一层MoS₂纳米片;干净的硅衬底经过氧等离子清洗30分钟,用显微镊子或显微针尖轻轻触碰MoS₂纳米片,将纳米片粘附在显微镊子或显微针尖的尖端,将粘附有MoS₂纳米片的显微镊子或显微针尖轻轻移动到目标基底的位置,确保显微镊子或显微针尖与基底表面轻触,并在接触的地方释放MoS₂纳米片,缓慢而小心地抬起显微镊子或显微针尖,使MoS₂纳米片留在目标基底表面上;

S2,SERS基底的制备:使用有机溶剂丙酮清洗S1所制得的MoS₂纳米片,并氮气吹干;配制0.036%(w/v)的氯金酸作为金源,以0.74%(w/v)的盐酸羟胺和0.012%(w/v)柠檬酸

三钠混合液作为还原溶液;90℃下,将金源溶液缓慢滴加到 MoS_2 纳米片上,使其充分覆盖;将还原溶液缓慢滴加到 MoS_2 纳米片上,还原金离子,直至还原溶液使用完全,并在 MoS_2 纳米片表面生长金纳米花结构;反应结束后,用去离子水小心冲洗基底;

S3,SERS增强基底制备:为了进一步增强SERS基底对胶质瘤细胞的检测性能,利用可靶向结合ADAM15、ARMC10和PTPRN蛋白的巯基化适配体对其进行修饰;三种适配体溶液按照1:1:1的比列混合后,在适配体混合液中加入2-亚氨基硫烷盐酸盐溶液,室温下孵育1小时后,利用脱盐离心柱分离巯基化适配体;将S2中制备好的SERS基底浸入适配体混合溶液中,反应一小时后,用去离子水清洗并4℃保存,制得SERS增强基底;

步骤2、神经胶质瘤样本制备:

临床手术获取的脑胶质瘤样本,按照比例加入0.86%的冰生理盐水,采用超声匀浆机对样本进行匀浆,胶质瘤样本呈现白色均匀溶液;

步骤3、SERS信号采集与分析:

将S2所获得匀浆液滴加于S1获得的SERS增强基底上,搅动使其均匀分布,液层厚度约为50 μm ,孵育30s-60s后,用的激光波长为532nm,最大激发功率为14mW,物镜放大倍数为20倍,积分时间为10s,对增强基底上的样品进行信号采集;在光谱采集之前,使用硅芯片的520 cm^{-1} 的拉曼光谱带对光谱仪进行校准;

步骤4、训练预测模型:

将1002、1154、1373及1519 cm^{-1} 处的信号为核酸和蛋白质的特征峰作为输入特征向量,以肿瘤细胞比例范围作为分类标签,在任意两类样本之间设计一个径向基核函数支持向量机进行分类器训练;

步骤5、风险预测:

为实现k个类别的区分,需要设计 $k(k-1)/2$ 个同类向量机,当对一个未知样本进行分类,最后得票最多的类别为该未知样本的类别。

[0012] 进一步地,步骤1 S3中三种适配体溶液按照1:1:1的比列混合;所述三种适配体的序列如SEQ ID No.1~ SEQ ID No.3。

[0013] 进一步地,步骤2中所述胶质样本与冰生理盐水的比例为1g:9mL。

[0014] 本发明还提供了一种胶质瘤边界识别模型,其特征在于,通过如上任一项所述的基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法构建得到。

[0015] 本发明还提供了一种电子设备,包括存储器和处理器,所述存储器存储有可在所述处理器上运行的计算机程序,其特征在于,所述处理器执行所述程序时实现如上任一项所述基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法中的步骤。

[0016] 本发明还提供了一种计算机可读存储介质,其上存储有计算机程序,其特征在于,所述计算机程序被处理器执行时实现如上任一项所述基于拉曼光谱的胶质瘤边界识别的方法中的步骤。

[0017] 与现有技术相比本发明的有益效果。

[0018] 本发明通过在二硫化钼(MoS_2)纳米片上原位合成金纳米花结构,并结合三种可靶向胶质瘤细胞的适配体,制备了胶质瘤传感SERS基底。利用机器学习确定胶质瘤切除碎片样品中肿瘤细胞比例,进而为术中实时导航提供参考与校准依据。

[0019] 本发明借助于优选的SERS基底材料、特征光谱及分类方法,提出对人脑组织中的

脑胶质瘤细胞存在与否及比例进行预测,确定肿瘤边界与否。

[0020] 本发明提供的技术方案充分利用拉曼光谱液相检测、灵敏度高及指纹谱检测的优势,有助于术中肿瘤边界的识别,为手术提供行之有效的指导。

[0021] 本技术可在2分钟内获得结果,极大提高临床诊断效率,实现术中导航实时反馈。

附图说明

[0022] 图1 SERS基底的扫描电镜图。

[0023] 图2 SERS基底修饰前后样本的SERS信号对比。

[0024] 图3脑胶质瘤样本、脑胶质瘤细胞及正常组织的平均拉曼图谱及其差异位点。

[0025] 图4基于未修饰SERS基底的分类结果。

[0026] 图5基于修饰后SERS基底的分类结果。

具体实施方式

[0027] 以下实施例将有助于对本发明的了解,但这些实施例仅为了对本发明加以说明,本发明并不限于这些内容。在实施例中的操作方法均为本技术领域常规操作方法。

[0028] 实施例1 SERS增强基底的制备。

[0029] 首先,将聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)或者聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)胶带与表面光滑无污染的 MoS_2 单晶块紧密结合在一起,并轻轻压胶带。随后将 MoS_2 与胶带分离,得到一层 MoS_2 纳米片。干净的硅衬底经过氧等离子清洗30分钟。用显微镊子或显微针尖轻轻触碰 MoS_2 纳米片,将纳米片粘附在显微镊子或显微针尖的尖端。将粘附有 MoS_2 纳米片的显微镊子或显微针尖轻轻移动到目标基底的位置,确保显微镊子或显微针尖与基底表面轻触,并在接触的地方释放 MoS_2 纳米片,缓慢而小心地抬起显微镊子或显微针尖,使 MoS_2 纳米片留在目标基底表面上。

[0030] 随后,使用有机溶剂丙酮清洗 MoS_2 纳米片,并氮气吹干。配制0.036%(w/v)的氯金酸作为金源,以0.74%(w/v)的盐酸羟胺和0.012%(w/v)柠檬酸三钠混合液作为还原溶液。90℃下,将金源溶液缓慢滴加到 MoS_2 纳米片上,使其充分覆盖。将还原溶液缓慢滴加到 MoS_2 纳米片上,还原金离子,直至还原溶液使用完全,并在 MoS_2 纳米片表面生长金纳米花结构。反应结束后,用去离子水小心冲洗基底。

[0031] 为了进一步增强SERS基底对胶质瘤细胞的检测性能(如图2),利用可靶向结合ADAM15、ARMC10和PTPRN蛋白的巯基化适配体对其进行修饰。三种适配体溶液按照1:1:1的比列混合后,在1 mL适配体混合液(10 g/L)中加入46 μL 2-亚氨基硫烷盐酸盐水溶液(14 mM),室温下孵育1小时后,利用脱盐离心柱分离巯基化适配体。制备好的SERS基底浸入适配体混合溶液中,反应一小时后,用去离子水清洗并4℃保存。制备得SERS增强基底电镜图如图1所示。

[0032] 针对ADAM15蛋白的适配体,SEQ ID No.1:

5'-SH-C6-ATAAATGGCGTCACTAGACATGGAATTGACATCATCACCG-3'

针对ARMC10蛋白的适配体,SEQ ID No.2:

5'-SH-C6-ACAATTGGCGTACCCGACGGGGACTTGACGGATGAAAG-3'

针对PTPRN蛋白的适配体,SEQ ID No.3:

5'-SH-C6-AATCCGCCGATGCGCCGAAGGCGACTTGACATTATGAGAG-3'。

[0033] 实施例2神经胶质瘤样本制备。

[0034] 临床手术获取的脑胶质瘤样本,称重约10mg,按照1g:9mL的比例加入0.86%的冰生理盐水,采用超声匀浆机对样本进行匀浆,参数设置为:100%的功率、超声3s、间隔5s;进行超声破碎3次,使胶质瘤样本呈现白色均匀溶液。

[0035] 枪头搅匀为了使信号尽可能均一,液层厚度减少样品堆积引发的拉曼信号缺失;脑胶质瘤样本的重量可保证足够SERS信号的获得;相对于PBS及超纯水,冰生理盐水(8.6g氯化钠溶解于1L超纯水中,并预冷至4℃)可保证尽可能保持样品的稳定,且不影响样品的SERS信号。

[0036] 实施例3 SERS信号采集与分析。

[0037] 所获得匀浆液滴加于SERS基底上,1.0 mL枪头搅动使其均匀分布,液层厚度约为50 μm ,孵育30s~60s后,所采用的仪器为Renishaw inVia共聚焦拉曼光谱仪,所采用的激光波长为532nm,最大激发功率为14mW,物镜放大倍数为20倍,积分时间为10s,对增强基底上的样品进行信号采集。在光谱采集之前,使用硅芯片的520 cm^{-1} 的拉曼光谱带对光谱仪进行校准。每个样品上至少选择5个随机点进行扫描以获得平均拉曼信号。

[0038] 孵育30s~60s为我们经试验验证的SERS基底与匀浆样本的充分反应时间,而过长的孵育时间会导致样本挥发较大而改变原有信号。所选择波长为检测中噪音较低的波长,功率及积分时间用于保证信号强度。特征峰的强度可以用其高度来表征。根据峰强度变化,判断肿瘤细胞存在与否,并进行肿瘤比例预测。

[0039] 优选的,拟重点考察的1002、1154、1373及1519 cm^{-1} 处的信号为核酸和蛋白质的特征峰之一,将其作为输入特征向量,并以肿瘤细胞比例范围(“10%”、“25%”、“50%”、“75%”和“90%”)作为分类标签,在任意两类样本之间设计一个径向基核函数支持向量机进行分类器训练。

[0040] 为实现 k 个类别的区分,需要设计 $k(k-1)/2$ 个同类向量机,当对一个未知样本进行分类,最后得票最多的类别为该未知样本的类别。

[0041] 根据所获得预测结果,将肿瘤细胞比例分类为“10%”、“25%”、“50%”、“75%”和“90%”五个不同范围。

[0042] 实施例4组织样本和胶质瘤细胞样本检测。

[0043] 1. 如实施例1中的步骤制备SERS增强基底。

[0044] 2. 获取50例的脑胶质瘤组织、5例正常脑组织样本以及总量为 10^7 的脑胶质瘤细胞样品(细胞系来自临床病人,医院提供的细胞系名称为GSC4),按照实施例2中的步骤对样本进行超声匀浆,并保持混匀状态。

[0045] 3. 针对样本进行修饰后SERS基底信号采集(如图3),并采用机器学习进行统计预测。

[0046] 4. 根据所获得的预测结果,与实测DNA测序获得的肿瘤比例结果进行比对,结果显示所属比例区间100%预测正确。

[0047] 实施例5修饰和未修饰SERS基底分类结果。

[0048] 1. 实施例1中的步骤制备SERS增强基底。

[0049] 2. 获取50例的脑胶质瘤组织、5例正常脑组织样本以及总量为 10^7 的脑胶质瘤细

胞样品(细胞系来自临床病人,医院提供的细胞系名称为GSC4),按照实施例2中的步骤对样本进行超声匀浆,并保持混匀状态。

[0050] 3. 如实施例3中步骤进行检测样品拉曼光谱,并通过前述方案进行肿瘤比例预测。

[0051] 4. 根据所获得的预测结果,与实测DNA测序获得的肿瘤比例结果进行比对(如图4和图5)。

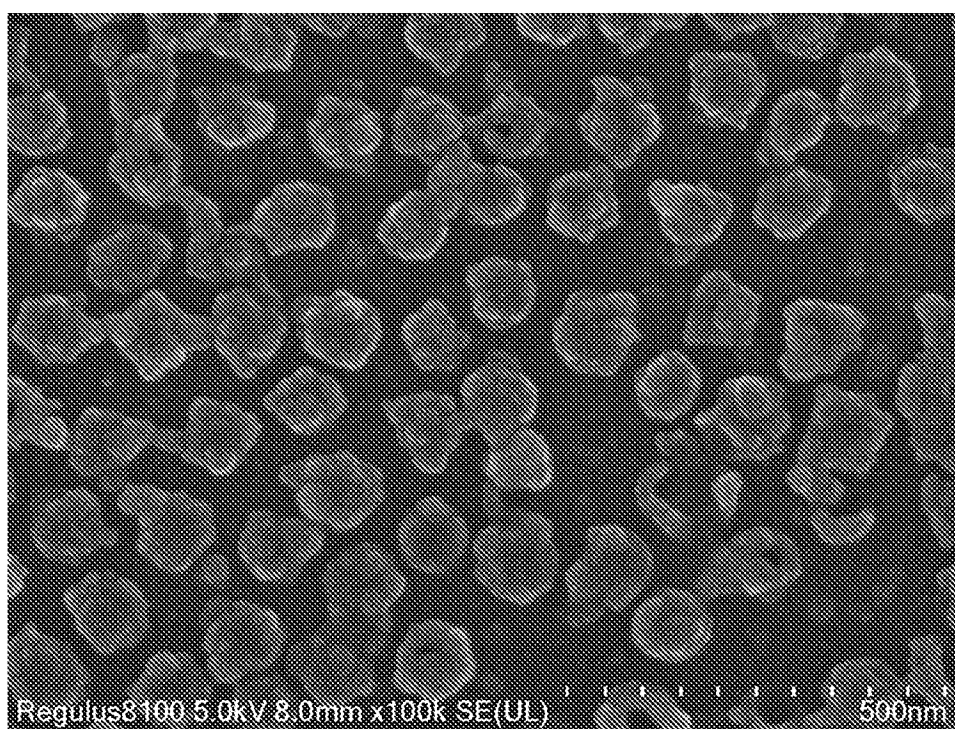


图1

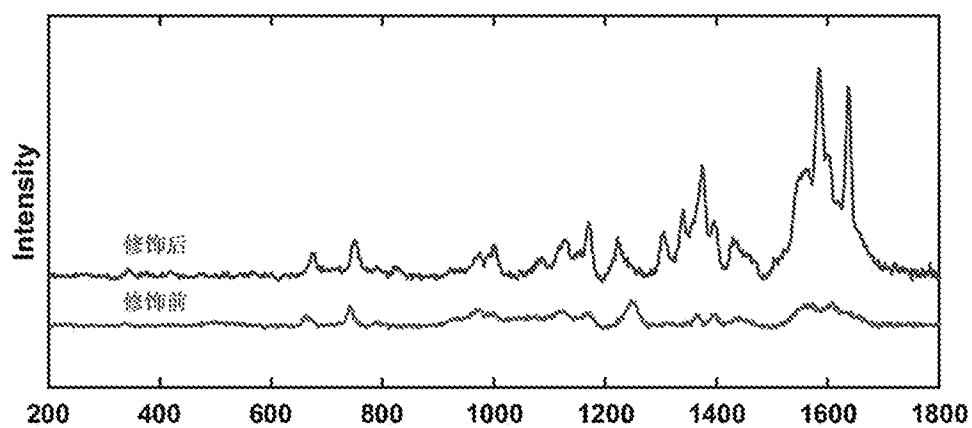


图2

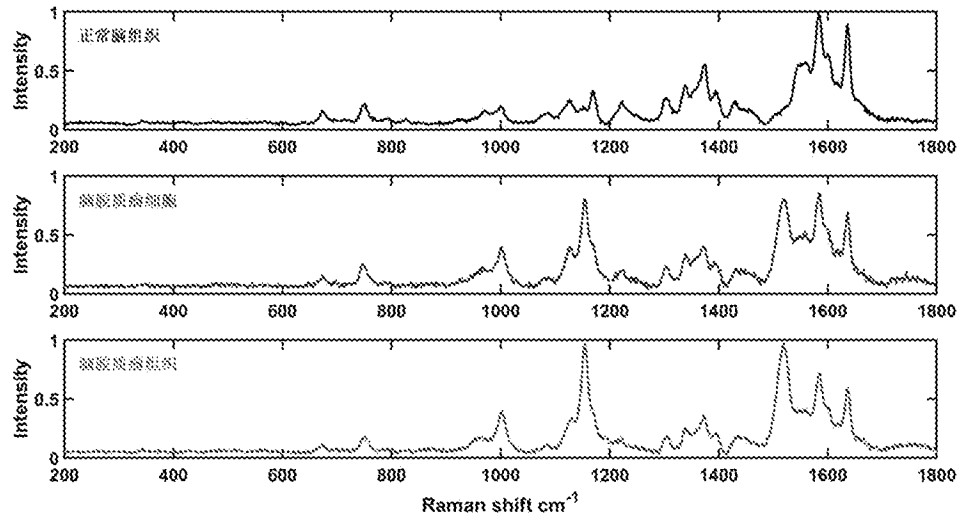


图3

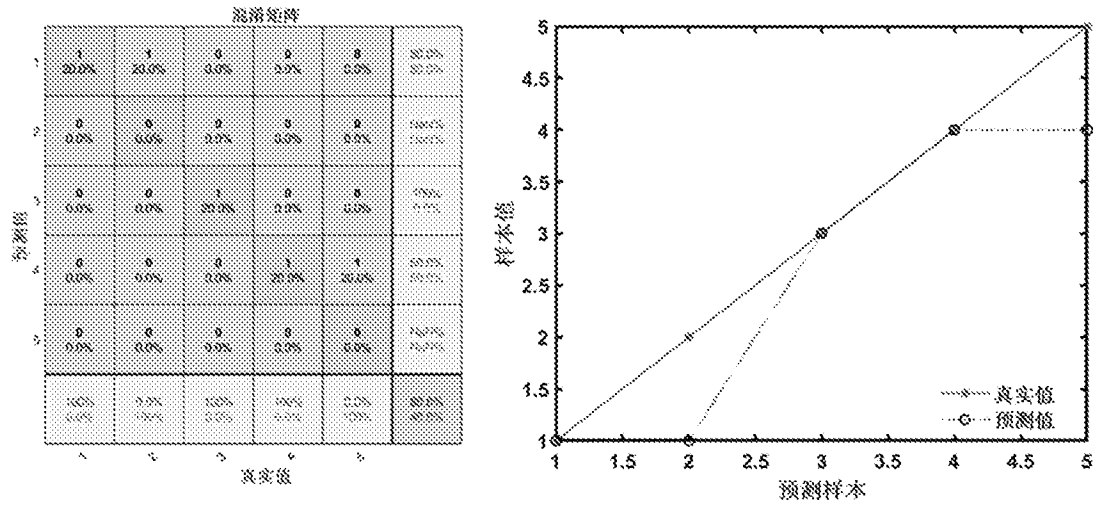


图4

