

Тема работы

Характеризация многокомпонентных полидисперсных биологических систем по светорассеянию с помощью сканирующей проточной цитометрии

Состав коллектива

Конохова Анастасия Игоревна, аспирант ИХКГ СО РАН

Научное содержание работы

1. Постановка задачи

По определению к биологическим дисперсным системам относят класс объектов, для которых дисперсионной средой является вода или растворы электролитов, а дисперсионной фазой – частицы биологического происхождения. Примерами таких систем являются различные эмульсии (молоко), биологические жидкости человека (кровь, плазма), природные среды, включающие разнородные клеточные популяции. Задача детальной характеристики подобных систем является частью многих фундаментальных и научно-прикладных исследований, в том числе в области биомедицины и биотехнологии, и требует применения точных, высокоинформативных и, зачастую, неинвазивных методов анализа, среди которых наиболее широкое применение находят оптические методы.

Исследование оптических свойств дисперсных сред, как правило, основано на двух принципиально разных подходах, при которых измерения проводятся либо на ансамбле частиц, либо на одиночных частицах в режиме поштучного анализа. Возможность измерения большого объема оптической информации о рассеянии на одиночных частицах открывает более широкие возможности для анализа гетерогенных дисперсных систем, включая их покомпонентную классификацию, статическую и динамическую характеристику. Это, в свою очередь, позволяет решать множество задач, включая идентификацию примесей в составе гетерогенных систем, детекцию отклонений характеристик системы от нормы, динамический анализ функций распределений характеристик системы в ответ на внешнее воздействие (клиническая диагностика). Разумеется, информативность и точность проводимого анализа зависит от объема и качества измеряемой оптической информации, а также от методов ее обращения для оценки непосредственных характеристик самого объекта, т.е. решения обратной задачи светорассеяния.

2. Современное состояние проблемы

В настоящее время наиболее продвинутой технологией с точки зрения объема оптической информации, измеряемой для отдельных частиц, является сканирующая проточная цитометрия (СПЦ). Данная технология позволяет измерять зависимость интенсивности рассеянного излучения от угла (индикатрису светорассеяния) для одиночных частиц в потоке с большой скоростью (до 1000 частиц в секунду). Использование большого объема информации, содержащейся в каждой индикатрисе, в комбинации с передовыми методами решения прямой и обратной задачи светорассеяния, позволяет характеризовать морфологию (размер, форму, внутреннюю структуру и показатель преломления) этих частиц с субдифракционным разрешением, используя некоторую оптическую модель, описываемую несколькими параметрами. Данный подход уже успешно применялся для характеристики как относительно простых сферических и более сложных несферических биологических клеток, включая лимфоциты, тромбоциты и эритроциты, т.е. для анализа однокомпонентных моно- и полидисперсных сред. Однако возможности сканирующей проточной цитометрии для анализа более сложных, многокомпонентных биологических систем, включающих частицы с различающейся морфологией, до сих пор не были изучены.

Целью работы является развитие метода характеристики составных биологических одно- и многокомпонентных полидисперсных систем по светорассеянию с помощью сканирующей

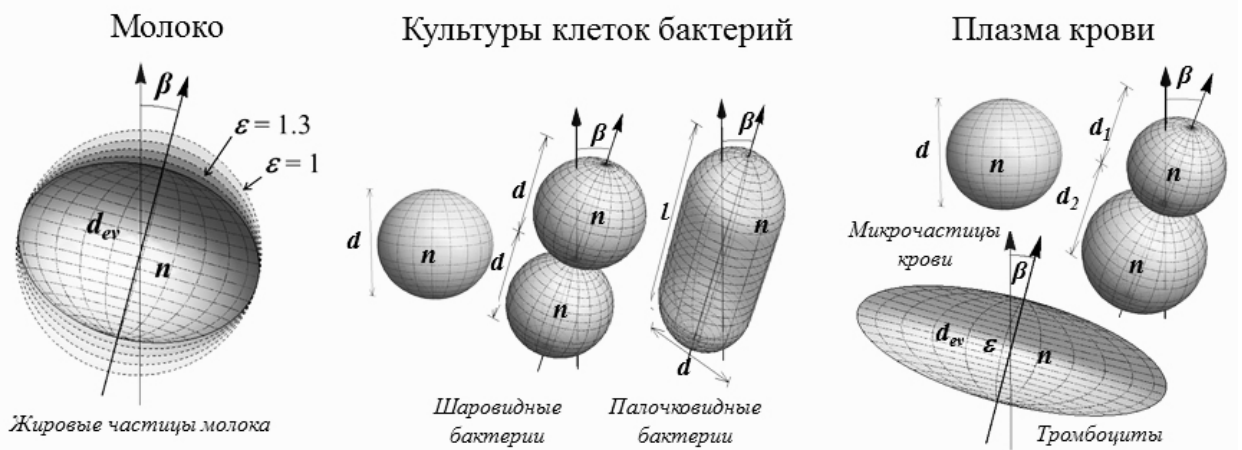


Рис. 1 Оптические модели и их параметризация для сферических и несферических частиц в составе многокомпонентных полидисперсных биологических систем.

проточной цитометрии. Разрабатываемый метод требует решения фундаментальных проблем взаимодействия электромагнитного излучения с частицами. Прежде всего это прямая задача, то есть моделирование индикатрис светорассеяния. Она должна быть решена много раз для частиц, параметры которых находятся в ожидаемом интервале. Путем сравнения экспериментальной индикатрисы с расчетными решается обратная задача, то есть определение характеристик частиц. Для достижения хорошей точности необходимо достаточно большое число расчетных индикатрис (порядка 10^5 - 10^6). В проводимом исследовании в качестве характерных полидисперсных многокомпонентных биологических систем рассматривались плазма крови, включающая тромбоциты и микрочастицы клеточного происхождения, молоко, жировые частицы которого являются классическим примером полидисперсной эмульсии, и суспензионные бактериальные культуры.

3. Подробное описание работы, включая используемые алгоритмы.

Сложность прямой задачи сильно зависит от формы и структуры частицы. Например, для однородного шара применима теория Ми, для сфероидов – метод расширенных граничных условий (метод Т-матриц). Кроме того, существуют общие и более медленные методы моделирования светорассеяния (например, метод дискретных диполей, DDA), применимые к частицам любой формы и внутренней структуры.

Последний метод гарантирует сходимость результатов для любых частиц в широком диапазоне размеров частиц и показателей преломления. Однако при этом время вычислений сильно зависит от показателя преломления. Наиболее быстро метод работает для показателей преломления близких к 1, что характерно для биологических клеток в жидкой среде.

При расчетах методом DDA рассеивающий объект делится на одинаковые диполи, размер которых должен быть много меньше длины волны. Обычно достаточно 10 диполей на длину волны в среде. Характерное число диполей для биологических клеток составляет 10^6 . Расчет светорассеяния требует учета взаимодействия всех диполей между собой, то есть решения $\sim 10^6$ уравнений. На современном настольном компьютере расчет одной индикатрисы занимает 1-10 минут.

Поскольку для точного нахождения решения обратной задачи светорассеяния требуется расчет $\sim 10^5$ - 10^6 теоретических индикатрис, необходимость использования суперкомпьютера очевидна.

В проводимом исследовании для анализа дисперсных систем, включая молоко, плазму крови и суспензии бактериальных культур, были насчитаны 4 базы данных теоретических индикатрис для входящих в их состав несферических клеток и частиц, оптические модели которых проиллюстрированы на

- Ошибка: источник перекрёстной ссылки не найден:
- жировые частицы молока (ЖЧМ) в виде слегка сплюснутых сфероидов;
 - микрочастицы крови в форме агрегатов двух сферических частиц;
 - палочковидные бактерии в виде цилиндров с полусферическими концами;
 - шаровидные бактерии-диплококки в форме димеров из двух идентичных шаров.

Соответствующие параметры моделей (размеры, ориентация, показатель преломления) выбирались случайно из диапазона, покрывающего биологическую вариабельность характеристик каждого из объектов.

Для расчетов методом дискретных-диполей использовалась программа с открытым исходным кодом ADDA v.1.0 (<http://code.google.com/p/a-dda/>). Индикатрисы рассчитывались для углов рассеяния ϑ от 5° до 70° с шагом 0.5° , используя стандартную дискретизацию 12 диполей на длину волны, с интегрированием по азимутальному углу φ от 0° to 360° по 64 точкам. При расчетах на различных длинах волн, значение для показателя преломления окружающей среды n_0 (0.9% водный раствор [хлорида натрия](#)) устанавливалось согласно дисперсионному соотношению.

На примере расчета базы данных палочковидных бактерий, описываемых моделью цилиндра с полусферическими концами, командная строка выглядела так:

```
adda -shape capsule RAT -lambda WLEN -size DIAM -m REL_REF_INDEX  
0.00000 -scat_grid_inp 1.txt -phi_integr 7 -dir DIRECTORY -orient 0 BETA 0  
-dpl 12
```

где RAT - h/d отношение длины цилиндра к его диаметру, $WLEN$ - длина волны в среде, $DIAM$ - диаметр цилиндра, REL_REF_INDEX - относительный показатель преломления частицы, $DIRECTORY$ - директория для сохранения файлов расчета, $BETA$ - угол ориентации β .

4. Полученные результаты

Было насчитано 4 базы данных индикатрис, объем которых составил 500000 индикатрис для ЖЧМ, 300000 - для палочковидных бактерий, и по 200000 индикатрис для базы данных димеров бактерий и микрочастиц.

5. Иллюстрации, визуализация результатов

Рассчитанные базы данных использовались при решении обратной задачи светорассеяния для характеристики вышеупомянутых объектов и для объяснения некоторых экспериментальных наблюдений.

В частности, результаты моделирования показали, что для жировых частиц, размер которых составляет несколько длин волн, небольшое отклонение формы частицы от сферической модели приводит к наблюдаемому в эксперименте замыванию осциллирующей структуры сигнала (Ошибка: источник перекрёстной ссылки не найден). На основании этого можно сделать вывод о необходимости применения несферической модели для описания формы и точного измерения характеристик некоторой доли измеряемых ЖЧМ.

Типичные результаты характеристики одиночных несферических клеток в результате решения обратной задачи светорассеяния путем сравнения экспериментальных индикатрис с теоретическими из базы данных представлены на примере палочковидных бактерий на

Ошибка: источник перекрёстной ссылки не найден.

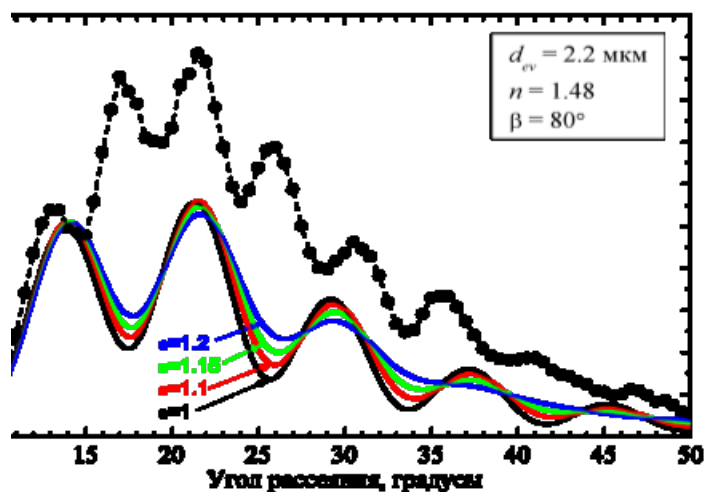


Рис. 2. Теоретические индикатрисы светорассеяния для сферы и сплюснутого сфероида с разным отношением осей (непрерывные линии) и экспериментальная индикатриса светорассеяния жировой частицы молока, измеренная на сканирующем проточном цитометре (пунктир).

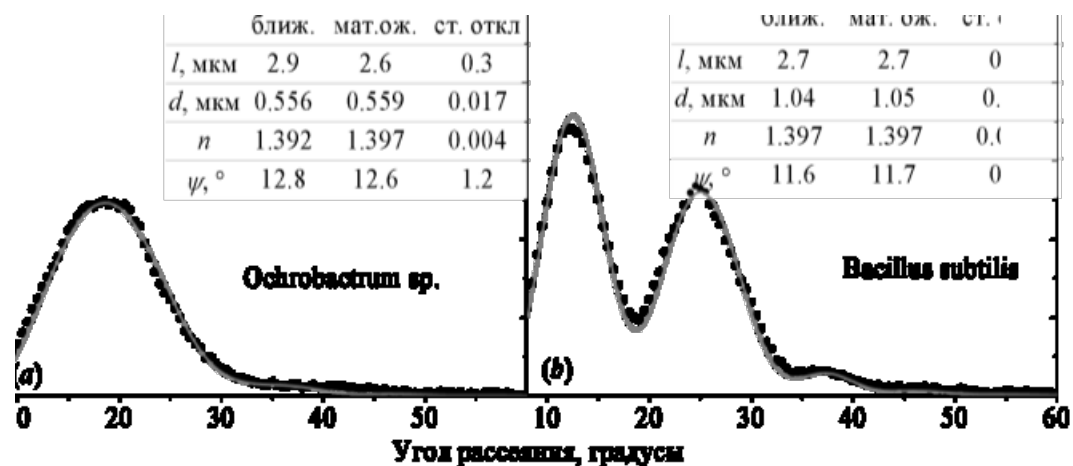


Рис. 3. Типичные экспериментальные и ближайшие теоретические индикатрисы палочковидных бактерий *Ochrobactrum sp.* 1326 (a) и *Bacillus subtilis* 1327(b), полученные в результате глобальной оптимизации с использованием базы данных.

Эффект от использования кластера в достижении целей работы.

Для расчетов одновременно использовались до 16 узлов. Таким образом, одновременно было задействовано до 128 процессоров, что позволило рассчитывать до 100000 индикатрис за сутки. При расчетах на настольном компьютере это заняло бы порядка месяца. Выходные файлы архивировались в один архив, который скачивался посредством сети интернет.

Перечень публикаций, содержащих результаты работы (если есть).

1. A.I. Konokhova, D.N. Chernova, A.E. Moskalensky, D.I. Strokotov, M.A. Yurkin, A.V. Chernyshev, and V.P. Maltsev. Super-resolved calibration-free flow cytometric characterization of platelets and cell-derived microparticles in platelet-rich plasma // *Cytometry*. 2016. Vol. 89, № 2. P. 159–168.
2. A.I. Konokhova, A.A. Rodionov, K.V. Gilev, I.M. Mikhaelis, D.I. Strokotov, A.E. Moskalensky, M.A. Yurkin, A.V. Chernyshev, and V.P. Maltsev. Enhanced characterisation of milk fat globules by their size, shape and refractive index with scanning flow cytometry // *International Dairy Journal*. 2014. Vol. 39, № 2. P. 316–323.
4. A.I. Konokhova, A.A. Gelash, M.A. Yurkin, A.V. Chernyshev, and V.P. Maltsev. High-precision characterization of individual *E. coli* cell morphology by scanning flow cytometry // *Cytometry Part A*. 2013. Vol. 83A, № 6. P. 568–575.

Результаты работы были так же опубликованы в 8 тезисах 7 международных конференций *Electromagnetic and Light Scattering (ELS) XIV* (17–21 June 2013, Lille, France), *ELS XV* (21–26 June 2015, Leipzig, Germany), 28, 29 and 30 th *Congress of ISAC (CYTO)* (19–22 May 2013, San Diego, USA; 17–21 May 2014, Ft. Lauderdale, USA; 26–30 June 2015, Glasgow, UK), *Laser-light and Interactions with Particles (LIP-2014)*, (25–29 August 2014, Marseille, France), *International conference "Mathematical Modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology"* (MM-HPC-BBB-2014) (24–27 June 2014, Novosibirsk, Russia)

Ваши впечатления от работы вычислительной системы и деятельности ИВЦ НГУ, а также Ваши предложения по их совершенствованию.

За все время расчетов не было ни одного сбоя, система работала надежно. Особенно порадовала быстрая связь с интернетом (так как данные расчетов в виде архивов размером около 2 ГБ скачивались на удаленный компьютер).