

УДК 620.3; 6:539-022.532; 612.821.8, 681.3.07

## КЛАССИФИКАЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ ХАРАКТЕРИСТИК ОПТИЧЕСКОГО РЕЗОНАНСА МОД ШЕПЧУЩЕЙ ГАЛЕРЕИ В ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИХ МИКРОСФЕРАХ

Э.А. ЧЕРНЯВСКАЯ, В.А. САЕЧНИКОВ

*Белорусский государственный университет  
пр. Независимости, 4а, Минск, 220050, Беларусь*

*Поступила в редакцию 10 февраля 2011*

Приведены экспериментальные данные по зависимости спектров оптического резонанса мод шепчущей галереи (МШГ) в диэлектрических микросферах от компонентного состава растворов, моделирующих плазму крови. Обнаружены существенные изменения спектров оптического резонанса МШГ, связанные как с изменением макроскопических параметров окружения микросферы, так и с возможным взаимодействием ее поверхности с компонентами раствора. Проанализирована возможность и целесообразность использования вероятностной нейронной сети в качестве классификатора для обработки и интерпретации данных, исследуемых с помощью разрабатываемого биосенсора, основанного на оптическом резонансе МШГ. Было получено, что вероятностная нейронная сеть позволяет правильно классифицировать исследуемые биологические соединения со средней вероятностью 97,3%.

*Ключевые слова:* нейронная сеть, оптический резонанс, моды шепчущей галереи, биологические объекты.

### Введение

В ближайшее время важной задачей нанофотоники является создание новых микросенсоров, позволяющих анализировать динамику ДНК и белков в клетках организмов. Кроме того, микросенсоры могут осуществлять гормональный контроль, исследовать наноматериалы для целевой доставки лекарств, имплантатов (искусственных сосудов, органов, для интерфейса электронных устройств, вживляемых в человеческие органы), детектировать антитела, бактерии, вирусы в сыворотке крови в режиме реального времени.

Идентифицировать биологические объекты позволяют рефрактометрические биосенсоры, основанные на резонансных и интерференционных явлениях в фотонных и плазмонных наноструктурах. Эти биосенсоры являются широко используемой техникой label-free систем биомолекулярного распознавания в режиме реального времени.

В отдельный класс микросенсоров, обладающих высокой чувствительностью, можно выделить сенсоры, базирующиеся на методике, основанной на оптическом резонансе мод шепчущей галереи (МШГ) в диэлектрических микросферах [1–3]. Показано, что этот метод обеспечивает требуемую чувствительность. Система биосенсора такого типа может быть использована для обнаружения биологических объектов: бактерий, белков, вирусов, спор, ДНК, РНК.

Кроме задачи идентификации биологических объектов в рамках техники label-free систем, немаловажной проблемой является задача классификации биологических соединений. Известно, что разработка и применение интеллектуальных систем на основе искусственных нейронных сетей для решения прикладных задач является одним из актуальных и разрабатываемых направлений в сфере информационных технологий. Примером может служить применение нейронных сетей для распознавания образов, выполнения моделирования и прогноза поведе-

ния объекта или развития процесса, выбора и оптимизации параметров объекта по экспериментальным данным, классификации – отнесения объектов и ситуаций к тем или иным категориям.

Особый интерес для нас имеет применение нейронных сетей в биомедицине вообще, а также применение нейронных сетей для классификации биологических соединений в частности. В задачах классификации в биомедицине применяются как вероятностные нейронные сети (ВНС), так и многослойный перцептрон (МП) и алгоритм обратного распространения ошибки.

В качестве нейронной сети использовалась ВНС, важными преимуществами которой является вероятностный смысл выходных параметров (поэтому их легче интерпретировать) и достаточно быстрое обучение сети.

Целью настоящей работы являлась разработка методики идентификации биологических соединений (в частности, на фантомах крови) и оценка возможности использования аппарата искусственных нейронных сетей для задач классификации биологических соединений, исследуемых с помощью разрабатываемого биосенсора, основанного на оптическом резонансе (МШГ) [1–3].

### Методика идентификации биологических соединений в растворах с помощью спектроскопии оптического резонанса МШГ на микросферах

В ходе эксперимента мы попытались смоделировать состав крови и применить разработанную методику, описанную в работах [1–3], на полученных фантомах крови. Сначала готовился раствор белка – альбумина – в деионизированной воде, концентрация которого менялась добавлением воды или матричного раствора. Затем в образец добавлялся раствор хлористого натрия. Таким образом получался образец, который по составу был близок к плазме крови. Следует отметить, что нарушение баланса основных компонент крови, которое может быть следствием различных патологий, достаточно легко моделируется в нашем случае изменением концентрации белка и хлористого натрия.

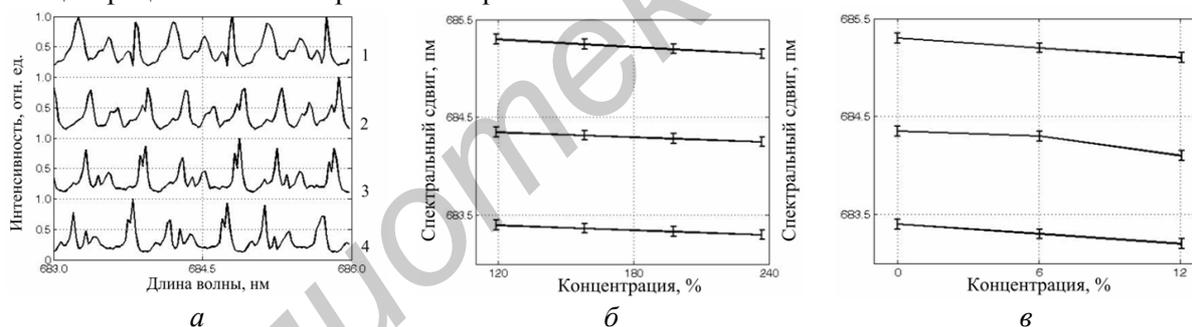


Рис. 1. Спектры резонансов МШГ (а) в водном растворе при концентрациях альбумина – 240 (1), 120 (2–4) мг/л и NaCl – 0 (1, 2) 6 (3), 12 (4) мг/л, а также спектральные сдвиги резонансов МШГ от концентрации альбумина (б) и NaCl (в)

На рис. 1 представлены спектры резонансов МШГ, а также их зависимости от концентраций альбумина (pH 7.0, Albumin Fraktion V, AppliChem, GmbH) и NaCl в деионизированной воде. В ходе эксперимента использовалась предельно низкая (несколько микроватт) мощность излучения лазера, которая для работы с биологическими структурами *in situ* является существенным фактором. Для снижения общего уровня шумового рассеянного излучения использовалась точечная фокусировка луча на микросферу. Структура спектра, как видно из рисунка, была достаточно сложной за счет высокой добротности микросферы. Однако идентификацию отдельных максимумов и оценку их сдвига удавалось провести в ходе экспериментов достаточно надежно. Зависимости от концентрации в растворе, как альбумина, так и хлористого натрия оказались практически линейными в исследованном нами диапазоне. Оценка чувствительности метода к изменению концентрации исследованных компонент дала величины порядка 20 мг/л и 1÷2 мг/л для альбумина и NaCl соответственно. Следует отметить, что достижение более высокой чувствительности возможно при использовании режима многократной записи спектров с последующей статистической обработкой результатов. Пока что такой задачи не ставилось, но планируется выполнить более детальные исследования в последующем.

Ряд белков, входящих в состав крови, является весьма важным индикатором различных патологий организма. В частности, С-реактивный белок, относящийся к группе белков плазмы крови острой фазы, широко используется в клинической диагностике крови как индикатор воспалительных процессов. Поэтому оперативное определение наличия его в крови является важным для диагностики целого ряда заболеваний. Например, уже при концентрации С-реактивного белка около 1.0 мг/л, риск сосудистых осложнений (острый инфаркт миокарда, инсульт) минимален, а при увеличении данной концентрации в 3 раза становится высоким. (<http://smed.ru/guides/66001/#article>). Серия экспериментов, проведенных нами с водными растворами С-реактивного белка (C-Reactive Protein(CRP) AppliChem, GmbH), продемонстрировала возможность использования метода оптического резонанса МШГ для контроля содержания белков. Проведение экспериментов осложнялось необходимостью учитывать короткое время сохранения его при нормальной температуре, а также малым объемом матричного раствора. Поэтому измерения проводились по мере разбавления воды в матричный раствор. На рис. 2 приведены резонансные спектры МШГ и сдвиги их максимумов для растворов С-реактивного белка при различной его концентрации. Как видно из рисунка, несмотря на достаточно сложную структуру спектров, сдвиги их максимумов определяются однозначно. При этом их местоположение от концентрации белка хорошо аппроксимируется линейной зависимостью.

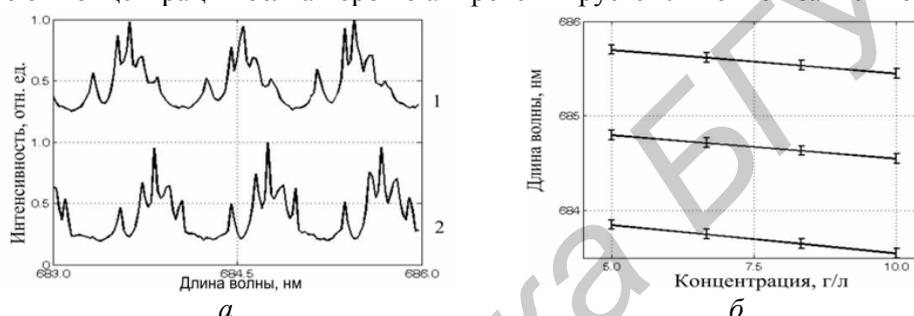


Рис. 2. Спектры резонансов МШГ (а) в водном растворе С-реактивного белка при концентрации 10 (1) и 5(2) г/л, (б) спектральные сдвиги резонансов МШГ от концентрации С-реактивного белка

Таким образом, представленные экспериментальные данные продемонстрировали возможность использования метода оптического резонанса МШГ на микросферах для контроля концентрации ряда важнейших компонент крови.

### Методика классификации биологических соединений в растворах с помощью спектроскопии оптического резонанса МШГ на микросферах

При построении классификатора на основе нейронной сети были пройдены следующие этапы: подготовка данных, предобработка данных и конструирование, обучение сети, диагностика работы сети.

В качестве исследуемых веществ использовались [1–3]: этанол, глюкоза, аскорбиновая кислота, альбумин, NaCl, С-реактивный белок, фантомы вирусов и бактерий – суспензии микросфер из ПММА диаметром 57 и 400 нм. Относительный спектральный сдвиг частоты оптического резонанса МШГ в микросфере и количество МШГ, проявляющихся в пределах свободного спектрального интервала, рассчитывались по формулам:

$$\begin{aligned} & (\nu - \nu_0) / \Delta \nu_{FSR}, \\ & \int_{FSR} I(\nu) / I_{\max} d\nu, \end{aligned} \quad (1)$$

где  $I(\nu)$  – интенсивность рассеянного микросферой излучения на частоте  $\nu$ ,  $\Delta \nu_{FSR}$  – свободный спектральный интервал,  $I_{\max}$  – максимальная интенсивность рассеянного микросферой излучения в пределах свободного спектрального интервала. Результаты классификации вероятностной нейронной сетью представлены на рис. 3. Оценка точности классификации оценивалась с помощью формулы:

$$PR = \frac{\text{NumCorrect}}{\text{NumTotal}} 100\% \quad (2)$$

где NumCorrect – количество правильных классификаций, NumTotal – количество всех классификаций, PR – оценка точности классификации.

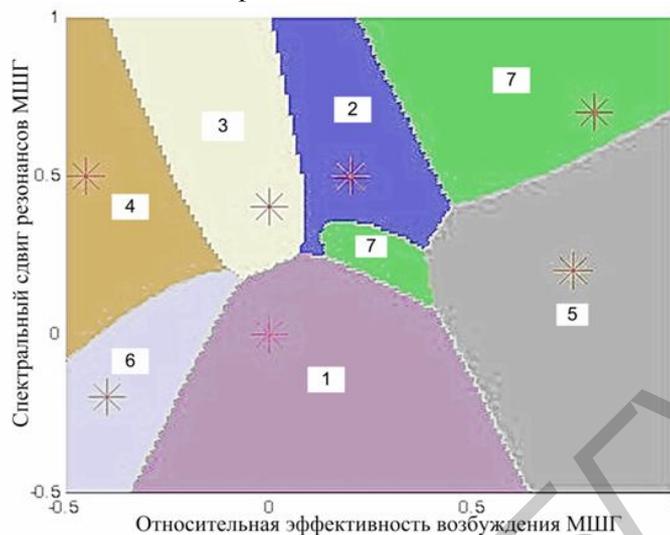


Рис. 3. Результаты классификации вероятностной нейронной сетью: этанол (1), глюкоза – (2), альбумин (3), С-реактивный белок (4), эмульсия микросфер ПММА (5), NaCl (6), аскорбиновая кислота (7), (\*) – пробные данные из тестируемого подмножества

В результате вероятностная нейронная сеть, полученная при помощи разработанного алгоритма, позволяет классифицировать использованные биологические соединения с хорошей точностью, а именно: этанол – в 100% случаев, глюкозу – в 92% случаев, альбумин – в 100% случаев С-реактивный белок – в 98% случаев, эмульсию из микросфер ПММА – в 100% случаев, NaCl – 100% случаев, аскорбиновую кислоту – в 91% случаев. Несколько низкие процентные оценки точности классификации для глюкозы и аскорбиновой кислоты связаны и близкими значениями относительного спектрального сдвига частоты оптического резонанса МШГ и количества МШГ, проявляющихся в пределах свободного спектрального интервала этих биологических веществ. Однако при увеличении статистических данных по этим двум веществам оценка точности классификации возрастает. Таким образом, вероятностная нейронная сеть, полученная при помощи разработанного алгоритма, позволяет классифицировать исследуемые биологические соединения с хорошей точностью. Общее количество правильных классификаций составило 97,3%.

Данная работа является этапом по разработке методов обнаружения и идентификации биологических проб в режиме реального времени на основе сенсорного элемента – оптического микрорезонатора на МШГ и с конечной целью создания высокочувствительных миниатюрных биосенсоров нового типа применительно к персонализированной медицине.

## CLASSIFICATION AND IDENTIFICATION OF BIOLOGICAL AGENTS ON THE BASIS OF OPTICAL MICRORESONANCE OF WHISPERING GALLERY MODES IN DIELECTRIC MICROSPHERES

E.A. TCHERNIAVSKAIA, V.A. SAETCHNIKOV

### Abstract

Experimental data of optical whispering gallery mode resonance in dielectric microspheres on component content of blood phantoms, so as pathology indicators and virus phantoms are represented. Resonance spectra variation due to macroscopic parameters of solution and probable interaction of

microsphere with solution components were obtained. Possibility and expediency of the use of a probabilistic neural network as a classifier for processing and interpretation of the data obtained with the help of developed biosensor, based on an optical resonance of whispering gallery modes, have been analyzed. It has been obtained that a probabilistic neural networks allow to classify correctly investigated biological agents with average probability of 97,3 %.

#### Литература

1. Саечников В.А., Чернявская Э.А. // ЖПС. 2010. 77. 5. С. 774–781.
2. Чернявская Э.А., Саечников В.А. // ЖПС, 2010. 77. 5. С. 751–759.
3. Saetchnikov V.A. Tcherniavskaia E.A., Schweiger G. // Proceedings SPIE. 2009. P. 73661LM–73661L–13.

Библиотека БГУМР