

多光谱成像技术在生物医学中的应用进展*

曾卫娟 李宗焕 文印宪 陈洪雷[△]

(武汉大学基础医学院病理学教研室 湖北 武汉 430071)

摘要 :多光谱成像(multispectral imaging, MSI)技术在生物医学可视化方面是一种新技术,它结合了两个已建立的光学模块:成像学和光谱学。它的原理是基于液晶可调谐滤光片,从可见光到近红外波长(400-970nm)区域获取多光谱图像。自从 MSI 系统加上显微镜商品化以来,MSI 已经成为一种快速发展的领域,可应用于细胞生物学、临床前药物开发和临床病理学等。国外已有大量关于 MSI 在生物医学中应用的研究报道,但国内报道少见。本文主要对多光谱成像的基本原理、近三年内该技术在生物医学领域的应用进展作一简要综述。

关键词 :多光谱成像;生物医学;应用

中图分类号 R445.9 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)05-968-04

Advance of Multispectral Imaging Application in the Biomedicine*

ZENG Wei-juan, LI Zong-huan, WEN Yin-xian, CHEN Hong-lei[△]

(Department of Pathology, School of Basic Medical Science, Wuhan University, Wuhan 430071, China)

ABSTRACT: Multispectral imaging (MSI) is a novel approach in biomedical visualization that combines the advantages of two established optical modalities, imaging and spectroscopy. multispectral images are acquired in visible and infrared wavelength region (e. g. 400-970 nm) with setups based on Liquid Crystal Tunable Filters (LCTF). Since MSI system coupled with microscopy are commercially available, MSI has been a rapidly growing field with applications in cell biology, preclinical drug development, and clinical pathology. Research on MSI application has been reported in the foreign country, but rare in China. This article focuses on the basic principles of MSI, a brief review on progress of multispectral imaging application in the biomedical field from the last three year's references.

Key words: Multispectral imaging; Biomedicine; Application

Chinese Library Classification(CLC): R445.9 **Document code**: A

Article ID:1673-6273(2012)05-968-04

1 引言

研究生物体内复杂的生物过程,最直观的方法就是成像技术,如免疫组化、荧光原位杂交技术、细胞成像技术以及活体动物体内成像技术等。由于自发荧光以及光谱重叠的干扰,这些成像方法都只能用一种染料标记特定分子进行成像,即便通过荧光共振能量转移来研究分子间的相互作用,也只能同时有两种染料标记,且无法消除光谱重叠的干扰。生物体内过程的复杂性决定了单色成像用于生物医学研究的局限性,特别是人类基因组计划完成后,研究进入后基因组时代,更加注重基因表达和蛋白质功能信号通路的研究,这些核酸和蛋白质复杂多样,在体内行使着多种多样的功能,传统的单色标记成像已远不能满足研究需求,而多光谱成像(multispectral imaging, MSI)技术,可以去除光谱重叠的干扰,同时标记多个生物分子,对生物体内复杂的物质代谢、信号转导等生物过程能进行实时监测。

近年来,随着成像学和光谱学的发展,使得图像被解混(unmixed)成为可能,多种染料标记不同的生物分子,即使存在非常明显的光谱重叠,通过光谱解混也能将每种光学信号彼此

分离开来,MSI 技术应运而生。本文就 MSI 技术的基本原理及其在生物医学方面的应用进展做一综述。

2 MSI 的基本原理

MSI 技术是基于成像学和光谱学发展起来的一门新兴技术^[1],它作为一种分析工具,可应用于包括生物医学在内的很多不同的研究领域。多种荧光同时标记时,经过单色光的激发,其多种荧光信号混杂在一起,通过液晶可调谐滤光片(liquid crystal tunable filter, LCTF)对所需波长光进行滤过和电荷耦合元件(charge coupled device, CCD)相机的采集,然后经信号解混系统将采集到的多种混杂的光解混,经过信号输出和显示,可直观地观察到不同颜色标记的生物样品的不同的成分或定位。

MSI 技术和普通成像技术的最大不同之处,能获得每张图像每个像素点的高分辨率的光谱,而不是肉眼所见的红、蓝、绿三色图像。目前获得光谱的方式主要可通过 LCTF 技术, LCTF 是由一组连续的滤光片组成,它可以和 CCD 相机等设备很好地配合用于成像。LCTF 通过对滤光片的连续调节,可允许很窄(10-20nm)带通的光线通过相机,很快获取不同波长的光谱数据,建立一个三维的“cube”。在这个“cube”里,每种光谱对应每

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30900652)

作者简介:曾卫娟(1986-),女,在读博士生,主要研究方向:量子点的生物医学应用研究

[△]通讯作者:陈洪雷,男,副教授。电话:027-68759735, E-mail: hl-chen@whu.edu.cn

(收稿日期:2011-07-28 接受日期:2011-08-23)

个像素点,然后在不同波长处检测荧光探针或染料在细胞或组织中的分布,快速和精确地进行光谱分类和分离,去除样本的自发荧光,从而显著地改善成像过程,并且同时适合于明视野和荧光的多靶点成像,具备完美的共定位分析功能而且通过计

算纯光谱方法学(compute pure spectrum, CPS)定量更加准确^[23]。目前应用较为广泛的成像系统是美国剑桥 CRI 公司开发的 MSI 系统,该系统的结构示意图及产品如图 1 所示。

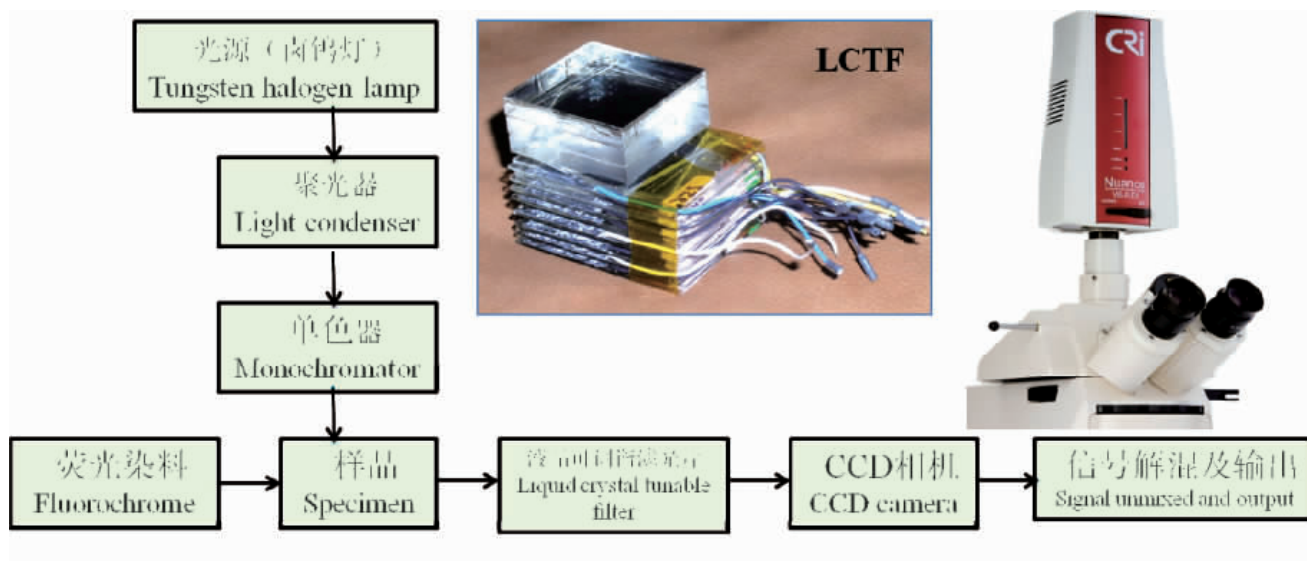


图 1 多光谱成像系统的结构示意图及产品

Fig.1 Schematic representation of multispectral imaging system and its product

除了多光谱活体成像系统外,将多光谱成像原理和流式细胞术联合使用而开发出的 ImageStream 系统也引起广泛关注。该系统整合了流式细胞术和荧光显微技术,结合现代方法学进行成像分析,和流式细胞术相比,该系统可以基于荧光信号同时分析大量细胞的生物学特征并进行数据分析,还提供了形态学数据^[4],如利用该系统可进行细胞凋亡的检测^[5]。

3 MSI 成像特点

组织的自发荧光限制了荧光染料在体内成像的应用,MSI 技术的出现使得这一问题迎刃而解。在活体动物中,动物胃肠内容物、皮肤等均有很强荧光信号,特别是当激发光为蓝色或是绿色时尤为明显,通过利用近红外发射波长的荧光染料,可以减少光的散射,吸收自发荧光,但自发荧光仍然限制着成像的灵敏度,成像依然不理想。而通过 MSI,可以消除自发荧光的影响^[6],使得其在多荧光标记和混合标记方面有很好的应用。

MSI 技术可以适用于各种染料如传统的荧光染料,明视野下的苏木精、二氨基联苯胺等。传统的荧光染料如荧光蛋白,可以很好地用于 MSI 技术,荧光蛋白作为一种信号报告分子,它们可以示踪细胞位移和亚细胞的生物过程,如基因表达和信号转导等^[7]。近年来发展起来的新型荧光探针如量子点(quantum dots, QDs),以其良好的光学特性,尤其适用于 MSI 系统。QDs 具有激发光谱宽而连续、发射光谱窄而对称、荧光强度高是罗丹明 6G 的 20 倍、光化学稳定性好是罗丹明 6G 的 100 倍以上、耐光漂白、发射光颜色与粒径大小关联等优点,故选用粒径大小不同的量子点,在同一激发波长下,不同的量子点将会呈现不同的颜色,通过 CCD 相机捕捉,便可很理想地用于多光谱荧光分子成像^[8]。

4 生物医学的应用

MSI 技术的最新进展已使实时表征、生物功能评定和手术中引导成为可能,包括在基础研究和临床应用等相关方面。

4.1 基础研究

生物体内蛋白种类繁多,且相互间作用关系复杂,MSI 技术为我们提供了一种高效直观的研究方法,该技术可以对生物组织内的发色团的空间分布进行成像^[9],也可以同时进行多种蛋白的体外成像研究,利用多种不同量子点标记不同的蛋白用于蛋白印迹,具有更高的亮度和稳定性^[10]。本课题组最近利用 MSI 结合量子点免疫荧光技术检测了肺癌组织中 EMMPRIN 和 p53 蛋白的共表达,乳腺癌组织内 Her-2 和 CK 蛋白的共表达,结果表明,不论蛋白定位是否相同,解混后均能得到每个蛋白的表达信号,还可去除组织的自发荧光,提高了图像的信噪比^[11,12]。利用传统荧光标记,在同一激发波长下,MSI 可以同时检测福尔马林固定石蜡包埋组织中三种不同的蛋白,不管是否有共定位,表明这种成像方法有利于在组织和细胞中完成多重分析^[13]。除了单纯的蛋白成像,MSI 技术还能用于研究蛋白分子的折叠和结合过程^[14],进一步拓宽了其应用范围。

4.2 临床应用

多种成像技术已广泛地在临床上用于疾病的诊断,如核磁共振成像(MRI)、计算机断层摄影术(CT)、正电子发射体层摄影(PET)等,但这些成像系统价格昂贵,相比之下,MSI 系统则更占优势,而且可以提高灵敏度和精确度,同时进行多色标记等,在疾病的诊断方面具有广阔的应用前景。研究者们开发了一种内窥镜偏振光扫描光谱学(endoscopic polarized scanning spectroscopy, EPSS)系统,通过该系统对整个食管表面的快速

光谱扫描和多光谱成像,可以近实时地提供诊断^[15]。EPSS通过扫描和成像可疑位点,指导组织活检如癌前病变、非典型增生等是可行的。总结已发表的文献,发现皮肤相关疾病和肿瘤的多光谱成像相关研究较为深入,本文主要从这两方面来介绍该技术的应用。

4.2.1 皮肤疾病应用研究 MSI技术由于其光谱穿透能力的限制,对深层组织的成像效果往往不佳,但对浅层组织特别是皮肤,其成像效果很理想,并可以通过人皮肤不同层次的断面扫描,重建三维立体模型,且不受皮肤色素的影响^[16]。2010年, Jakovels等^[17]利用MSI技术在500-700 nm光谱区间和500-600 nm及530-620 nm两个子区间内同时测定了皮肤的三个发色团(chromophores) 氧合血红蛋白、去氧血红蛋白和黑色素,由于这三个发色团的吸收光谱不同,故该技术可以明显区分这三者。皮肤黑色素瘤的早期检测对患者的生存至关重要,新形成的肿瘤的特点之一就是病变部位的血流量增加。实验证明500-700nm范围内的MSI成像具有高灵敏度和更高的反应稳定性,并得到了临床试验的证实,基于该原理,也可以测定皮肤病变血管中氧合血红蛋白和去氧血红蛋白的含量,来评估皮肤血管的血氧饱和度并估计血流量,从而有助于黑色素瘤的早期诊断^[18]。MSI系统还可以与人工神经网络方法进行整合获得重构的高光谱cube,用于皮肤病变的体内成像,结果表明高光谱cube可提供皮肤光反射的光谱数据以及二维空间信息,这有助于改善从皮肤癌到炎症疾病的诊断和随访^[19]。

皮肤损伤是全球很普遍和治疗成本较高的疾病,并且其病因和愈合过程具有多因素性和复杂性。由于测量伤口大小和其他相关特征具有主观性,创伤愈合的定量评价难以开展,而利用MSI技术可以很好地解决这一问题^[20]。Basiri等^[20]人设计了一种新型的多光谱相机,这种相机可以在单一的快照中获得18种不同波长的图像,通过相机与滤镜的有机结合,将这一技术应用于皮肤发色团的表征。为了评价皮肤的细胞外基质的生物工程成分——聚羧甲基葡萄糖酸盐(poly carboxy methyl glucose sulfate, PCMGs)在皮肤创伤愈合过程中是否有促进作用,他们利用MSI技术来量化皮肤氧饱和度及其和伤口愈合之间的关系,结果显示,随着时间的推移,伤口大小均逐渐减小, O₂含量逐渐下降,证明O₂在创伤愈合过程中起着重要作用。

4.2.2 肿瘤应用研究 肿瘤现已成为世界范围内的公共卫生问题,且其发病率和死亡率一直呈上升趋势。应用成像技术进行肿瘤的发生、生长、侵袭和转移等研究具有直观便捷等优点,但由于肿瘤生物学过程的复杂性,单色成像远远不能满足肿瘤研究的需求。MSI技术出现后,在肿瘤诊断和治疗中的应用更为广泛。

Song等^[21]第一次用单抗偶联的荧光磁性靶向多功能纳米生物探针进行多种细胞的检测和分离。利用这种MSI成像技术,他们成功地从多种混合细胞中检测和分离出了白血病细胞和前列腺细胞,并且这种分离效果可以达到96%以上。应用这项技术结合特异性单抗,可以进行肿瘤的早期诊断,这种方法不但简单、敏感、有效、快速并且成本低。在临床上,这种非侵袭性的MSI技术是一种很好的方法,可以用于肿瘤如前列腺癌的活检、放疗、外科手术定位及对肿瘤的病程监测,以弥补单色

成像的不足^[22]。Gilbert等^[23]应用MSI在膀胱小块活检组织中同时检测CK20和p53蛋白的共表达,根据蛋白表达水平,可区分肿瘤性尿路上皮、良性或反应性尿路上皮。Roblyer等^[24]利用多光谱宽视野光学成像可早期检测口腔肿瘤,该技术可以精确鉴别肿瘤组织和非肿瘤组织,但其不能区分癌前病变和癌组织。在肿瘤局部区域治疗中,精确的肿瘤切除是很重要的。手术中采用多光谱荧光成像结合传统的成像方法如x-线、MRI、SPECT/CT和超声有利于肿瘤切缘的精确决定^[25]。Noonan等^[26]将MSI系统和关节机器人内窥镜联合用于肿瘤细胞的边缘鉴定和定位,这将使肿瘤的定位更准确,极大地有利于肿瘤手术切除,特别是那些难以诊断和定位的肿瘤。Chin等^[18]报道应用基于双发射量子点的多光谱术中荧光实时成像可指导外科手术的切除。

前哨淋巴结(sentinel lymph node, SLN)是肿瘤转移时最先受累的一个或一组淋巴结。在肿瘤的转移过程中,如果SLN内无肿瘤细胞转移,则下游淋巴结也不会有转移,故SLN内肿瘤细胞的存在与否可以证明肿瘤是否通过淋巴道转移,MSI技术也广泛应用于该领域研究。Crane等^[27]在10个早期子宫颈癌病人手术过程中将专利蓝和吲哚菁绿混合物注入子宫颈内,然后通过多光谱荧光摄像系统进行实时记录,6个病人淋巴道检测到了荧光信号,共检测了9个SLNs,其中一个有肿瘤转移。这表明将MSI用于检测子宫颈癌的SLN转移是可行的,但考虑到灵敏度和特异性,这种方法需要进一步改进。同年他们小组还用相同的方法成功地对阴道和卵巢癌的SLN进行成像^[28]。与传统技术相比,这种技术可以实时监测荧光信号,将其用于指导手术,不需要使用放射性胶体,可保护病人隐私减轻病人心里痛苦。

4.3 其它应用

MSI系统以其优良性能为科研工作者带来了极大地便利。到目前为止,除了皮肤和肿瘤相关研究,该技术也广泛应用于生物医学的其它各个方面。Rouse等^[29]在白天光照条件下利用实时监测成像系统检测植被反射时CO₂进入大气的含量。Weber等^[30]将CT成像和多频空间频率域成像(SFDI)联用进行MSI检测小鼠脑损伤,提高了图像获取性能。Hight等^[31]用多光谱荧光成像系统进行细胞外pH测定,并评价了该系统用于结直肠癌细胞异体移植的高分辨率pH测定的可行性进行了评价。Kulesa等^[32]利用多光谱指纹印迹技术,通过多色细胞标记和多光谱共聚焦成像方法对位置随时间不断变化的胚胎细胞进行了实时跟踪,解决了胚胎细胞示踪困难的问题。Luckl等^[33]通过MSI监测局部脑缺血来阐明对侧前爪刺激产生的神经保护效应的可能机制。除此之外,近三年来,随着该技术的不断发展成熟,这项技术在生物医学领域的方方面面都得到了广泛地应用,如视网膜成像^[34]、Tourette综合症中大脑形态测量^[35]、嗜酸性食管炎的定位^[36]、大脑毛细血管内皮细胞的成像^[37]等。虽然MSI技术应用日趋广泛,不得不注意到的是由于荧光散射和吸收导致的其荧光信号的低穿透能力,这也是其广泛应用于皮肤相关研究而较少用于体内深部组织研究的原因,即便是应用性能优良的新型染料如量子点,也只能穿透十几毫米而已^[38],因此研究者们渴望开发出荧光强度更高性能更好的荧光染料。

5 结语和展望

近年来, MSI 技术在生物医学领域的应用已日趋广泛和深入, 大大地推动了生物医学的发展, 特别是在改进疾病检测或鉴别和术内转移诊断的精确性, 指导神经外科并能监控治疗反应等方面的应用^[39]。MSI 技术以直观的方式展现了生物体内的复杂过程, 虽也有些不足之处, 但也难以掩盖它与其它成像技术相比的独特优越性, 随着新型荧光染料如量子点的不断发展, 其在生物医学领域的研究和应用也必将更加广泛!

参考文献(References)

- [1] Zhou L, El-Deiry WS. Multispectral fluorescence imaging [J]. J Nucl Med, 2009, 50(10): 1563-1566
- [2] Themelis G, Yoo JS, Ntziachristos V. Multispectral imaging using multiple-bandpass filters[J]. Opt Lett, 2008, 33(9):1023-1025
- [3] Levenson RM, Mansfield JR. Multispectral imaging in biology and medicine: slices of life[J]. Cytometry A, 2006, 69(8):748-758
- [4] Zuba-Surma EK, Kucia M, Abdel-Latif A, et al. The ImageStream System: a key step to a new era in imaging [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2007, 45(4): 279-290
- [5] Henery S, George T, Hall B, et al. Quantitative image based apoptotic index measurement using multispectral imaging flow cytometry: a comparison with standard photometric methods [J]. Apoptosis, 2008, 13(8): 1054-1063
- [6] Levenson RM, Lynch DT, Kobayashi H, et al. Multiplexing with multispectral imaging: from mice to microscopy [J]. ILAR J, 2008, 49(1): 78-88
- [7] Ntziachristos V, Razansky D. Molecular imaging by means of multispectral optoacoustic tomography (MSOT) [J]. Chem Rev, 2010, 110(5): 2783-2794
- [8] Chin PT, Buckle T, Aguirre de Miguel A, et al. Dual-emissive quantum dots for multispectral intraoperative fluorescence imaging[J]. Biomaterials, 2010, 31(26): 6823-6832
- [9] Kim HK, Flexman M, Yamashiro DJ, et al. PDE-constrained multispectral imaging of tissue chromophores with the equation of radiative transfer[J]. Biomed Opt Express, 2010, 1(3): 812-824
- [10] Ornberg RL, Harper TF, Liu H. Western blot analysis with quantum dot fluorescence technology: a sensitive and quantitative method for multiplexed proteomics[J]. Nature Methods, 2005, 2(3): 610-617
- [11] 朱小波, 黄燕华, 彭俊, 等. 量子点免疫荧光技术在病理诊断中的初步应用[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2011, 20(2):116-119
Zhu XB, Huang YH, Peng J, et al. Initial application of quantum dots immunofluorescence technology in pathological diagnosis[J]. Chinese J Histochemistry and Cytochemistry, 2011, 20(2):116-119
- [12] 潘琦, 陈福春, 武百强, 等. 量子点免疫荧光技术检测 EMMPRIN、MMP-2 和 p53 蛋白在人肺癌组织中的表达意义 [J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(3):488-493
Pan Q, Chen FC, Wu BQ, et al. Protein expression of EMMPRIN, MMP-2 and p53 detected by technology of quantum dots immunofluorescence in human lung cancer [J]. Chinese J Pathophysiology, 2011, 27(3):488-493
- [13] Barash E, Dinn S, Sevinsky C, et al. Multiplexed analysis of proteins in tissue using multispectral fluorescence imaging [J]. IEEE Trans Med Imaging, 2010, 29(8):1457-1462
- [14] Gambin Y, Deniz AA. Multicolor single-molecule FRET to explore protein folding and binding[J]. Mol Biosyst, 2010, 6(9):1540-1547
- [15] Qiu L, Pleskow DK, Chuttani R, et al. Multispectral scanning during endoscopy guides biopsy of dysplasia in Barrett's esophagus [J]. Nat Med, 2010, 16(5):603-606
- [16] Alex A, Povazay B, Hofer B, et al. Multispectral in vivo three-dimensional optical coherence tomography of human skin[J]. J Biomed Opt, 2010, 15(2): 026025
- [17] Jakovels D, Spigulis J. 2-D mapping of skin chromophores in the spectral range 500-700 nm[J]. J Biophotonics, 2010, 3(3): 125-129
- [18] D'Alessandro B, Dhawan AP. Multispectral transillumination imaging of skin lesions for oxygenated and deoxygenated hemoglobin measurement[J]. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2010, 6637-6640
- [19] Jolivot R, Vabres P, Marzani F. Reconstruction of hyperspectral cutaneous data from an artificial neural network-based multispectral imaging system[J]. Comput Med Imaging Graph, 2011, 35(2):85-88
- [20] Basiri A, Nabili M, Mathews S, et al. Use of a multi-spectral camera in the characterization of skin wounds [J]. Opt Express, 2010, 18(4): 3244-3257
- [21] Song EQ, Hu J, Wen CY, et al. Fluorescent-magnetic-biotargeting multifunctional nanobioprobes for detecting and isolating multiple types of tumor cells[J]. ACS Nano, 2011, 5(2): 761-770
- [22] Artan Y, Haider MA, Langer DL, et al. Prostate cancer localization with multispectral MRI using cost-sensitive support vector machines and conditional random fields [J]. IEEE Trans Image Process, 2010, 19(9): 2444-2455
- [23] Gilbert CM, Parwani A. The use of multispectral imaging to distinguish reactive urothelium from neoplastic urothelium[J]. J Pathol Inform, 2010, 1:23
- [24] Roblyer D, Kurachi C, Stepanek V, et al. Comparison of multispectral wide-field optical imaging modalities to maximize image contrast for objective discrimination of oral neoplasia[J]. J Biomed Opt, 2010, 15(6): 066017
- [25] Buckle T, Chin PT, van den Berg NS, et al. Tumor bracketing and safety margin estimation using multimodal marker seeds: a proof of concept[J]. J Biomed Opt, 2010, 15(5):056021
- [26] Noonan DP, Payne CJ, Shang J, et al. Force adaptive multi-spectral imaging with an articulated robotic endoscope[J]. Med Image Comput Comput Assist Interv, 2010, 13(Pt 3): 245-252
- [27] Crane LM, Themelis G, Pleijhuis RG, et al. Intraoperative multispectral fluorescence imaging for the detection of the sentinel lymph node in cervical cancer: a novel concept [J]. Mol Imaging Biol, 2010, PMID: 20835767
- [28] Crane LM, Themelis G, Buddingh T, et al. Multispectral real-time fluorescence imaging for intraoperative detection of the sentinel lymph node in gynecologic oncology[J]. J Vis Exp, 2010, (44): 2225
- [29] Rouse JH, Shaw JA, Lawrence RL, et al. Multi-spectral imaging of vegetation for detecting CO₂ leaking from underground [J]. Environ Earth Sci, 2010, 60(2): 313-323
- [30] Weber JR, Cuccia DJ, Johnson WR, et al. Multispectral imaging of tissue absorption and scattering using spatial frequency domain imaging and a computed-tomography imaging spectrometer [J]. J Biomed Opt, 2011, 16(1):0110151

(下转第 963 页)

研发的重要性,企业也不愿意投资进行仪器设备的开发制造。因此,中国的设备生产水平总停留在小离心机、小聚合酶链式反应(PCR)仪、摇床和培养箱等技术水平和工艺水平均不高的小型设备上,同时,需要花费大量的国家科研经费用于采购国外的先进科研设备。现在,面对全球巨大的DNA测序新兴产业,中国如果开始重视科研设备研制技术的积累,那么在该技术领域和产业中还可能占有一席之地。否则,中国将与这个世界同步发展的机会失之交臂。

参考文献(References)

- [1] 邱超,孙含丽,宋超. DNA 测序技术发展历程及国际最新动态[J]. 硅谷,2008,(17):127,129
Qiu chao, Sun han-li, Song Chao. Process of DNA sequencing and the latest international development[J]. Silicon Valley, 2008,(17):127,129 (In Chinese)
- [2] 周晓光,任鲁风,李运涛,等.下一代测序技术:技术回顾与展望[J]. 中国科学:C 辑,2010,(1): 23-37
Zhou Xiao-guang, Ren Lu-hua, Li Yun-tao, et al. Next generation sequencing technology: a technology review and future perspective[J]. Sci China Life Sci, 2010,(1): 23-37(In Chinese)
- [3] 陆祖宏,吕华,肖鹏峰,等.快速低成本全基因组 DNA 测序技术[J]. 中国生物医学工程学报,2008,27(2): 182-186,190
Lu Zu-hong, Lv Hua,Xiao Peng-feng,et al.Ultra-low-cost and rapid human genome DNA sequencing[J].Chinese Journal of Biomedical Engineering, 2008, (4):182-187,190(In Chinese)
- [4] 于聘飞,王英,葛芹玉.高通量 DNA 测序技术及其应用进展[J]. 南京晓庄学院学报,2010,(3):1-5
Yu Pin-fei, Wang Ying, Ge Qin-yu. High-fluxed DNA sequencing technology and its application development[J]. Journal of Nanjing Xiaozhuang University, 2010,(3):1-5(In Chinese)
- [5] National Human Genome Research Institute. NHGRI seeks next generation of sequencing technologies. <http://www.genome.gov/12513210>. 2009,11,4
- [6] National Human Genome Research Institute. Funded grants and grant history. <http://www.genome.gov/11008124#al-4>, 2009, 11, 5
- [7] National Science Foundation. Award search. <http://www.nsf.gov/awardsearch/piSearch.do?searchType=piSearch&page=1&QueryText=DNA+sequencing&PIFirstName=&PILastName=&PIInstitution=&PIState=&PIZip=&PICountry=&Restriction=2&Search=Search>, 2009, 10, 20
- [8] Office of Biological and Environmental Research.Mission. http://www.er.doe.gov/ober/ober_top.html, 2009, 11, 12
- [9] 张熠,李宁. 欧盟框架计划项目经费申请中存在的问题和建议[J]. 农业科技管理,2006,25(4):71-73
Zhang Yi, Li Ning. Problems developed in the application of European Framework Programme and suggestion[J]. Management of Agriculture Science and Technology, 2006,25(4):71-73(In Chinese)
- [10] REvolutionary Approaches and Devices for Nucleic Acid Analysis. READNA. <http://www.cng.fr/READNA/>, 2009, 10, 21
- [11] 中国生物技术发展中心.863 计划生物和医药技术领域项目申报指南.<http://www.most.gov.cn/tztg/201010/P020101021680516097297.pdf>. 2009, 10, 22
China National Center for Biotechnology Development. Application guide for 863 programme biotechnology and medicine field. <http://www.most.gov.cn/tztg/201010/P020101021680516097297.pdf>, 2009, 0, 22(In Chinese)
- [12] 国家自然科学基金. 国家自然科学基金项目综合查询.http://159.226.244.28/portal/proj_search.asp, 2009, 11, 05
National Natural Science Foundation of China. Query of NSFC funds.http://159.226.244.28/portal/proj_search.asp, 2009, 11, 05 (In Chinese)
- [13] 科技部科技型中小企业技术创新基金管理中心. 科技型中小企业技术创新基金的基本特征及性质.http://www.innofund.gov.cn/intro/se_list_01.htm, 2009, 11, 10
National New-High-Tech Innovation Service Center. Basic characters and property of small- and medium-sized Sci-Tech enterprises innovation Fund.http://www.innofund.gov.cn/intro/se_list_01.htm, 2009, 11, 10(In Chinese)
- (上接第 971 页)
- [31] Hight MR, Nolting DD, McKinley ET, et al. Multispectral fluorescence imaging to assess pH in biological specimens [J]. J Biomed Opt, 2011, 16(1): 016007
- [32] Kulesa PM, Teddy JM, Smith M, et al. Multispectral fingerprinting for improved in vivo cell dynamics analysis[J]. BMC Dev Biol, 2010, 10: 101
- [33] Luckl J, Baker W, Sun ZH, et al. The biological effect of contralateral forepaw stimulation in rat focal cerebral ischemia: a multispectral optical imaging study[J]. Front Neuroenergetics, 2010, 2:19
- [34] Gruppette S, Chetty S. Theoretical study of multispectral structured illumination for depth resolved imaging of non-stationary objects: focus on retinal imaging[J]. Biomed Opt Express, 2011, 2(2): 255-263
- [35] Draganski B, Martino D, Cavanna AE, et al. Multispectral brain morphometry in Tourette syndrome persisting into adulthood [J]. Brain, 2010, 133(Pt 12): 3661-3675
- [36] Bautista PA, Yagi Y. Localization of Eosinophilic Esophagitis from H&E stained images using multispectral imaging [J]. Diagn Pathol, 2011, 6Suppl. 1:S2
- [37] Manning HC, Shay SD, Mericle RA. Multi-spectral molecular imaging of capillary endothelium to facilitate preoperative endovascular brain mapping[J]. J Neurosurg, 2009, 110(5):975-980
- [38] Zhou L, El-Deiry WS. Multispectral fluorescence imaging [J]. J Nucl Med, 2009, 50(10):1563-1566