

基因测序系统中动态因素对能量集中度的影响

孙志远^{1**}, 李婉玉^{2*}

¹中国科学院长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033;

²吉林大学第一医院肝病科, 吉林 长春 130061

摘要 在基因测序系统中, 能量集中度是实现碱基准确识别的一个重要参数。拍照过程中, 硅片台的位置误差会使硅片和相机之间产生偏移并导致图像退化, 进一步影响能量集中度。建立了硅片台动态性能参数与能量集中度之间的理论模型。基于基因测序系统进行静态和动态实验, 结果显示: 能量集中度与硅片台的位置标准差呈线性关系。如果要求能量集中度优于 65%, 硅片台的位置标准偏差应控制在 140 nm 以内。同时, 基于动态实验采集的 DNA 纳米球图像计算出的能量集中度与实验结论相符。该研究可以合理地分配基因测序系统中硅片台的动态性能指标。

关键词 成像系统; 基因测序; 荧光显微镜; 能量集中度; 动态参数

中图分类号 TH742

文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201939.0911003

Effects of Dynamic Factors on Ensquared Energy in Gene Sequencing System

Sun Zhiyuan^{1**}, Li Wanyu^{2*}

¹Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun, Jilin 130033, China;

²Hepatology Department, The First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin 130061, China

Abstract In a gene sequencing system, the ensquared energy is an important parameter for realizing accurate recognition for the base. Nevertheless, the displacement between wafer and camera, which is caused by vibration and position error of wafer stage while photographing, will decrease the image quality and further influence the ensquared energy. This study establishes the relationship model between the dynamic factors and ensquared energy. Static and dynamic experiments are carried out on the sequencing platform. The results reveal that the ensquared energy has linear relationship with the location standard deviation of the wafer stage. If the ensquared energy value is required larger than 65%, the location standard deviation should be controlled below 140 nm. Meanwhile, the ensquared energy calculated by using the DNA nanoball image collected in the dynamic experiment is in accordance with the experimental conclusion. The dynamic performance parameters of the wafer stage in the gene sequencing system can be allocated reasonably.

Key words imaging systems; gene sequencing; fluorescence microscopy; ensquared energy; dynamic factors

OCIS codes 110.1758; 120.0120; 170.2520

1 引言

DNA 测序技术正处于迅速发展, 其突出特点是: 测序通量(测序数据量)大幅增大, 原始数据中每个碱基的测序成本急剧下降, 以前的一些奢侈性研究活动(如个人基因组测序、宏基因组学研究及对大

量重要物种的测序), 变得越来越切实可行。第一代脱氧核糖核酸(DNA)测序技术是由 Sanger 等^[1]开创的链终止法或是由 Maxam 等^[2]提出的化学法。第二代测序主要是同步化三磷酸核苷酸的洗脱方法和同步化的光学检测方法的结合^[3-5], Wheeler 等^[6-10]利用商业化仪器, 以短连续性的片段序列

收稿日期: 2019-02-20; 修回日期: 2019-04-23; 录用日期: 2019-05-23

基金项目: 吉林省科技厅(20180520116JH)、天晴基金(TQGB20180160)、吉林大学第一医院交叉学科创新项目(JDYJYC006)

* E-mail: liwanyu2006@163.com; ** E-mail: 15843047922@163.com

0911003-1

和测序阅读长度的形式,每周输出数十亿碱基对(Gbp)的DNA序列。第三代测序的代表性技术为牛津纳米孔公司的纳米孔技术^[11-12],该技术致力于取消光学设施,无需进行DNA扩增,以检测跨越纳米孔的导电性变化来进行测序。现在主流的基因测序设备仍然是基于光学成像的方法,特定的荧光物质被附着到碱基上,通过激光激发荧光物质的方式产生荧光,光学系统将产生的荧光信号成像到图像传感器上,通过特定的碱基识别软件识别出图像上光斑对应的碱基,并给出一个碱基识别精度的质量分数。该质量分数与多种因素有关,包含DNA纳米球(DNB)信号的能量、光学系统的成像质量及碱基识别软件的算法精度等。对于光学成像系统自身来说,光学系统的能量集中度^[13-14]是影响质量分数的重要参数之一,如果能量集中度低,能量分布是发散的,DNB之间的串扰和背景干扰会影响质量分数。

为了实现基因测序的高通量,需要承载生物芯片的工件台(硅片台)具有运行稳定、扫描快速及定位精度高等优点。基因测序系统中硅片台的两种主要工作模式分别是匀速运动模式和步进运动模式。在匀速运动模式中,由硅片台导致的振动很小^[15],然而系统中需要增加振镜来补偿硅片台的匀速运动^[16],这极大地增加了系统复杂性和装配难度,所以,现阶段的基因测序仪广泛地采用基于步进工作模式的硅片台;在步进运动模式中,硅片台的加、减速过程产生的振动会在拍照周期内产生像移^[17],从而影响光学系统的能量集中度,所以进行基因测序系统设计时,需要评估硅片台的动态运动性能对成像质量的影响。

近些年,能量集中度指标是成像系统的关键指标^[18-20],Andersen^[21]提出衍射极限点扩展函数的能量集中度函数;Dixit等^[22]研究了不同的Zernike像差对单光束能量集中度的影响;刘让等^[23]提出了一种基于多方位多尺度的形态学滤波和局部特征准则的点目标检测方法,该方法以能量集中度作为虚假点的剔除算法,以降低目标的虚警率。

上述研究均只针对静态图像,很少涉及能量集中度和光学成像过程中动态因素之间的关系。对基于步进工作模式的基因测序系统进行研究,找出硅片台的动态性能对基因测序系统成像质量的影响机理,进而得出硅片台动态特性与能量集中度之间关系的理论模型。

2 基于杂交和连接反应的测序技术

本研究中介绍的测序技术是基于杂交和连接反应的测序技术,同时依靠光学技术对荧光物质进行探测^[24],测试流程^[25]如图1所示。

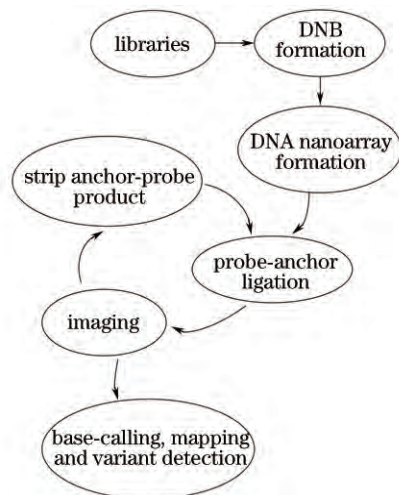


图1 测序流程

Fig. 1 Sequencing process

1) 先将基因组DNA进行超声处理,加上一些接头后进行模板环化、酶切和扩增,产生约400个碱基的环化测序片段,一个环化片段所产生的扩增产物称为DNB;2) DNB被选择性地连接到经六甲基二硅氮烷处理的硅芯片上,形成DNB阵列芯片^[26];3) 运用普通探针,对标准锚定序列和延伸锚定序列进行杂交和连接检测,每进行一个杂交和连接循环则需对带有DNB的芯片进行荧光成像,然后用甲酰胺溶液对DNB进行重建,这种循环被重复直到全部组合的探针和锚定序列被检测;4) 碱基识别、映射、装配和分析软件用于基因的快速重构。

光学平台用于亚微米级DNB阵列芯片的快速读取,成像过程如图2所示。高密度DNB以一定规则提前装载到测序芯片上^[27],附着在DNB上的荧光物质被激光激发后,所产生的荧光照射到探测器上形成DNB图像。激光器发射的激光被分束片反射后通过物镜聚焦到芯片上。粘接荧光物质的DNBs被激光激发产生荧光。受激荧光通过物镜、带通滤光片、筒镜后照射到相机靶面上。为了获取较高的通量,通过一个三维运动平台对装载高密度DNB的生物芯片进行扫描,其中两个轴用于实现水平方向扫描,另一个轴与自动检焦配合实现扫描过程中最佳焦面的快速探测。

图 2 基于光学平台的成像过程

Fig. 2 Imaging process based on optical platform

3 动态参数与能量集中度之间的数学模型

3.1 图像退化过程

光学系统像差、激光发热、步进运动产生的像移等因素会影响基因测序系统的成像质量,导致图像模糊和变形,即图像退化。

假设退化系统 $h(x, y)$ 是空间不变线性系统, 退化过程可以表示为

$$g = S[f(x, y) * h(x, y)] + n, \quad (1)$$

式中: $f(x, y)$ 为目标图像; $h(x, y)$ 为退化模型; $*$ 代表卷积; S 为采样过程; $n(x, y)$ 为噪声函数; $g(x, y)$ 为退化后的图像。退化过程如图 3 所示。

在静态成像情况下,退化模型 $h(x, y)$ 主要指光学系统的点扩展函数。然而,在动态成像的情况下,运动组件的像移会使图像质量退化。

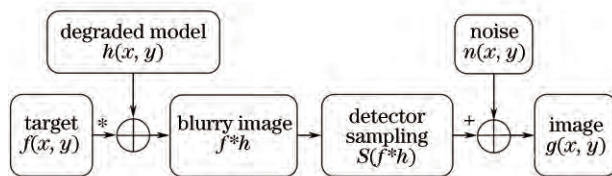


图 3 图像退化模型

Fig. 3 Model of image degeneration

对于基因测序系统而言,成像系统的像元能量集中度(中心像元的能量占九宫格所有像元能量总和的百分比)因受设计、制造及对准等因素的影响而不能达到理想化,导致带有 DNB 信息的光斑能量从所在像元(九宫格的中心像元)溢出到相邻的像元(九宫格边缘的 8 个像元)。

现阶段,使用质量分数 Q30 来评价基因测序系统中基因测序的准确度及测序通量,Q30 是指识别置信度达到 99.9% 的 DNB 位点百分比。如果光学像差、硅片台运动产生的像移等因素导致生物芯片上 DNB 点位的能量集中度退化较多,则会大大降低基因测序系统的 Q30 值,即影响了测序通量。大量基因测序数据表明,为了使 Q30 优于 80%,能量集中度应高于 65%。

3.2 模型的建立

本节介绍了动态参数影响能量集中度的物理过程,具体算法流程如图 4 所示。 $p_1, p_2, \dots, p_n$ 是硅片台在拍照位置处随机误差导致的成像偏移。

目前,有专利技术用于控制 DNB 的尺寸和密度。因此,硅片上的 DNB 有相似的尺寸和亮度。选择

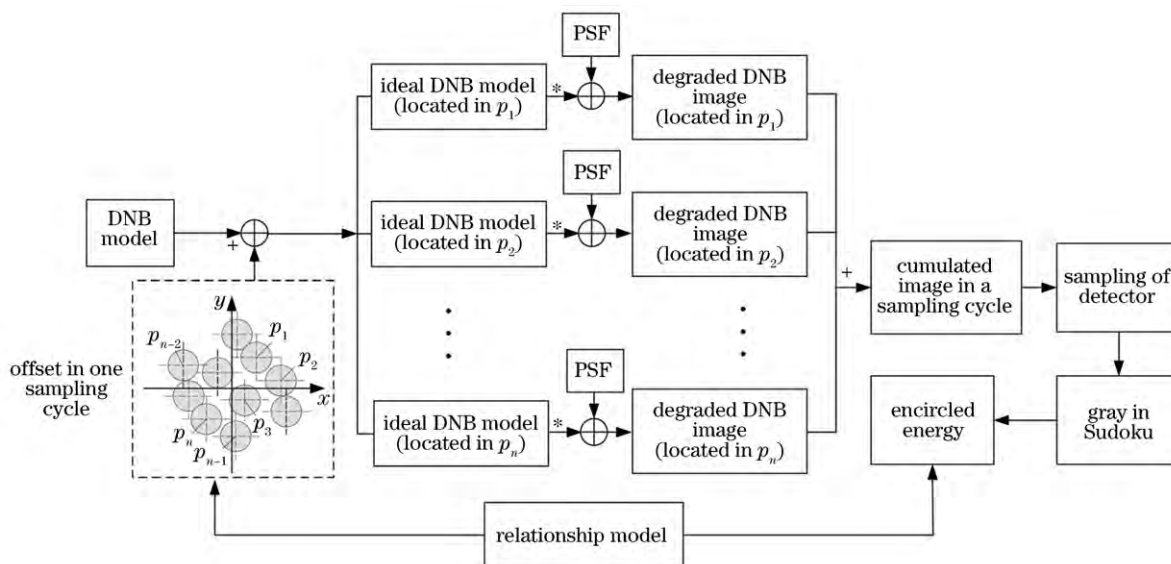


图 4 算法流程图

Fig. 4 Flow chart of algorithm

一个 DNB 进行理论分析,同时将 DNB 的能量归一化为 1。退化过程包含静态因素和动态因素。静态因素是指光学系统的像差及激光热影响,可以通过点扩展函数评估;动态因素包含振动以及硅片台的位置误差,这会导致拍照周期内的像移。首先,考虑静态因素,将理论 DNB 模型和光学系统的点扩展函数进行卷积后,相机上会形成一个弥散斑。然后考虑动态因素,即在一个采样周期内的像移。假设拍照周期为 T ,硅片台的采样频率为 f_{stage} ,则在一个采样周期内所采集的帧数量 $n = T \times f_{\text{stage}}$ 。因此,在一个采样周期内,理想 DNB 经过图像退化及能量累加后得到的弥散斑为

$$R_{\text{image}} = \sum_{i=1}^n f(l_{xi}, l_{yi}) * P_{\text{SF}}, \quad (2)$$

式中: $f(\cdot)$ 为 DNB 的理论模型; P_{SF} 为光学系统的点扩展函数; $L_x = [l_{x1} \ l_{x2} \ \cdots \ l_{xn}]$ 和 $L_y = [l_{y1} \ l_{y2} \ \cdots \ l_{yn}]$ 分别是在 x 和 y 扫描方向上 DNB 与相机靶面之间的偏移矩阵; n 为一个采样周期内所采集的帧数量。 L_x 和 L_y 可以通过位移干涉测量系统或编码器获得。

根据光学系统设计结果,在一个采样周期内采集得到的连续 DNB 弥散斑分布在探测器上约 9 个像元区域内。经过探测器的有限采样以后,可以获得九宫格区域内 9 个像元的灰度值。根据九宫格的灰度值计算出该 DNB 的能量集中度。

在测序过程中,光学系统点扩展函数以及激光热影响在内的静态因素是不变量,与硅片台运行的随机误差相关的动态因素是影响能量集中度的主要因素。因此,根据图 4 所示的理论模型,建立动态参

数与能量集中度之间的理论模型。

在一个采样周期内, DNB 的位置是离散的,如前所述,探测器上形成的 DNB 弥散斑的分布与一个采样周期内 n 帧图像的位置相关。因此,一个采样周期内 n 帧图像的位置标准偏差可以用于描述 DNB 光斑的弥散程度(STD, S_{TD}),即

$$S_{\text{TD}} = \frac{\sum_{i=1}^N \sqrt{(l_{xi} - \bar{l}_x)^2 + (l_{yi} - \bar{l}_y)^2}}{N}, \quad (3)$$

式中: $\bar{l}_x = \frac{\sum_{i=1}^N l_{xi}}{N}$; $\bar{l}_y = \frac{\sum_{i=1}^N l_{yi}}{N}$; N 为采样点个数; i 为累加变量。

4 测序系统及测量结果

4.1 测序平台的搭建

为了验证动态参数对能量集中度的影响,在测序平台上开展相关实验,如图 5 所示。测序平台包含大理石基座、三维运动平台、物镜、照明模块、分光模块、筒镜模块、自动检焦模块和相机等。水平运动平台使用 Aerotech 公司的气浮平台。分光模块用于 4 路激光、自动检焦光和荧光光束分光,多个带通滤光片用于衰减激光对荧光的影响。4 个 CMOS 相机用于捕获 4 路不同的荧光信号。为了减小外部振动影响,将设备放置在具有 VC-D 振动标准^[28]的基座上进行实验。

4.2 基于位移干涉测量系统的动态参数测量

步进运动过程产生的动态误差可以通过位移干涉测量(DMI)系统进行测量,如图 6 所示。

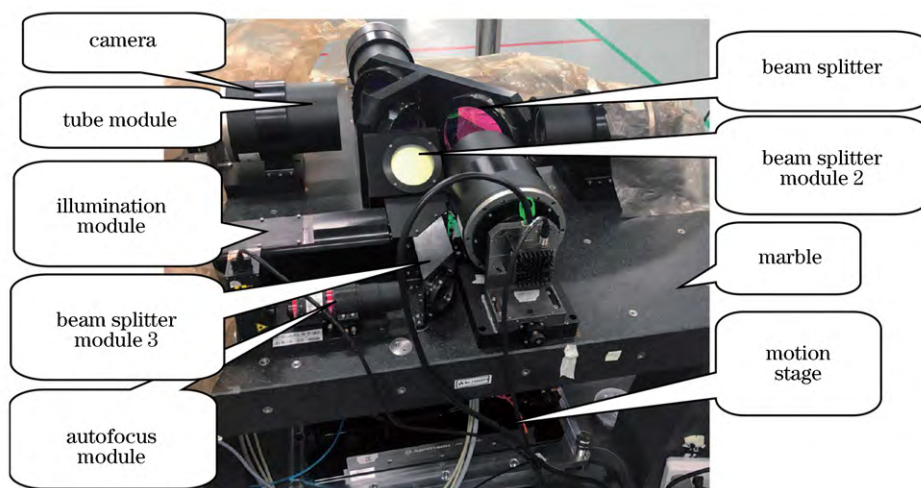


图 5 测序平台

Fig. 5 Photograph of sequencing platform

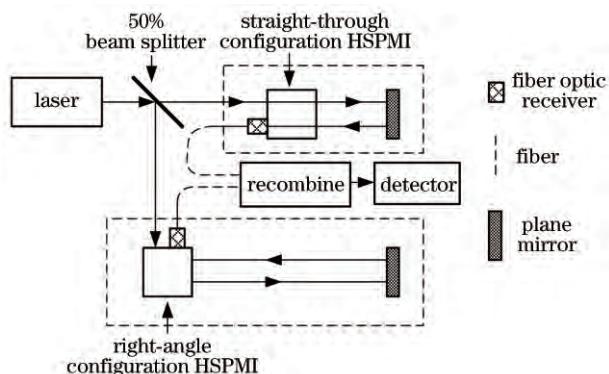


图 6 基于 DMI 系统测量动态参数

Fig. 6 Dynamic parameter measurement schematic based on DMI system

激光被一个 50% 分束片分束到两个路径中。将两个平面反射镜分别放置在大理石平台的上平台和硅片台的 z 轴上。两个平面反射镜在步进运动过程中的位移通过高稳定平面反射镜干涉仪 (HSPMIs) 测量得到, 对两个位移信号进行处理后, 得到两个反射镜之间的相对位移。因为光学模块是固定到大理石平台上的, 所以这个相对位移量实际上是相机和硅片台上硅片的相对位移。测量结果包含硅片台的振动和位置误差。

4.3 静态成像

静态因素包含光学系统像差和激光热影响。其中, 光学系统像差主要指光学系统原理误差、光学设计误差和光学制造误差。上述所有因素均属于系统误差, 通过测序系统的点扩展函数表示。

利用一个工艺芯片来评估测序系统的点扩展函数。通过自动检焦模块对工艺芯片进行清晰成像。图 7(a) 所示为工艺芯片上的刃边图案。在正交的方向上选取两个区域 (ROI), 利用刃边方法及 Fermi 函数^[29] 计算出的点扩展函数如图 7(b) 所示。

选取如图 8 所示的位置获取九宫格中各点位灰度值, 同时采集背景灰度值, 去除背景影响后, 生物芯片在静态成像情况下的能量集中度约为 73%。

4.4 动态成像

完成静态成像后, 开展动态成像。动态成像的运动周期为 75 ms, 运动和整定时间为 50 ms, 拍照周期为 15 ms。除了前述静态成像描述的因素, 硅片台步进运动产生的振动和硅片台在拍照过程中的位置误差会导致像移, 从而影响动态成像质量。

为了获取统计特性, 进行约 800 个视场的扫描。当硅片台进行步进扫描运动时, 使用 DMI 系统测量相机和硅片台之间的相对位移。在拍照周期内,

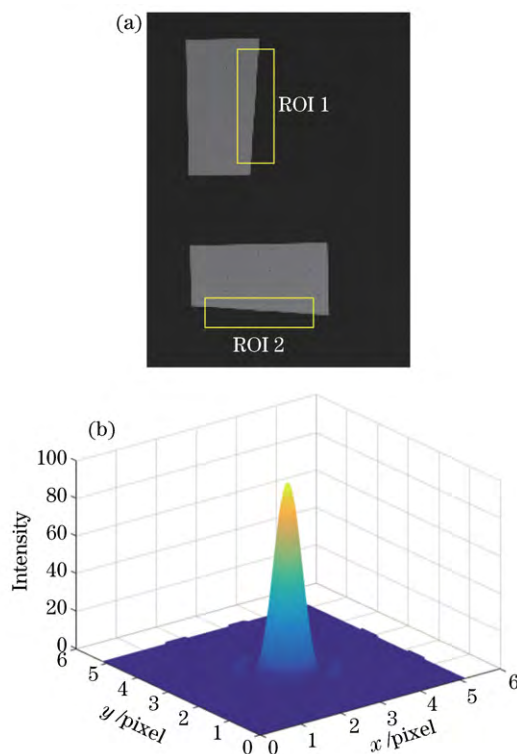
图 7 测序系统的 PSF 测量。(a) 工艺芯片的像;
(b) 测序系统的 PSF 结果

Fig. 7 PSF measurement of sequencing system. (a) Image of processing chip; (b) PSF of sequencing system

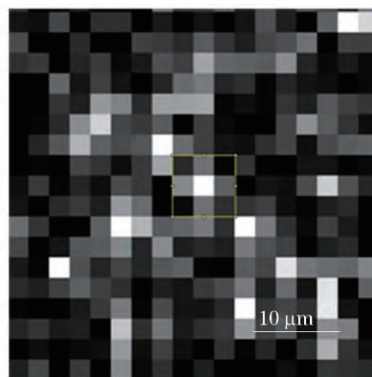


图 8 静态时采集的 DNB 图像

Fig. 8 DNB image captured at static condition

DNB 的位置是离散的。根据所述模型, 像空间上的 DNB 弥散斑与采样周期内的 N 个帧的位置是相关的。首先, 用硅片台相对于理论位置的位置误差的标准差 (位置标准差) 来表示 DNB 的离散程度, 该参量为硅片台在两个运行方向上位置误差的合成量。所有测试视场位置误差的位置标准差直方图如图 9 所示。同时, 位置标准差以及相应的视场数量如表 1 所示。

由图 9 和表 1 可知, 87% 的视场位置标准差在 60~160 之间。根据所述的理论模型, 计算出位置

标准差对应的能量集中度,如图 10 所示。

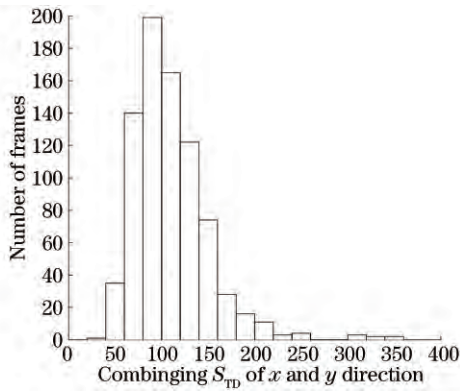


图 9 位置标准差的分布

Fig. 9 Distribution of position standard deviation

表 1 位置标准差的分布

Table 1 Proportion of different ranges

Range of location S_{TD}/nm	Number relative to all frames /%
<60	4.47
60-80	17.39
80-100	24.72
100-120	20.50
120-140	15.16
140-160	9.19
>160	8.57

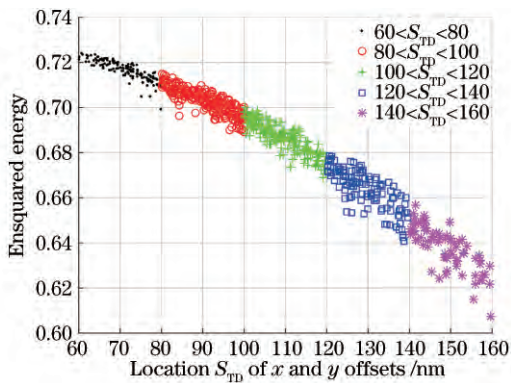


图 10 能量集中度结果

Fig. 10 Ensquared energy

图 11 所示为在动态情况下拍摄的一帧图像。通过 DMI 系统计算得到采集该帧图像时,硅片台位置标准差约为 126,在该帧图像中选择一个受周围 DNB 能量串扰影响较少的 DNB,计算得到的集中度约为 66.44%,该结果与统计结果一致。

5 讨 论

首先进行工艺芯片的静态实验。通过已知的标

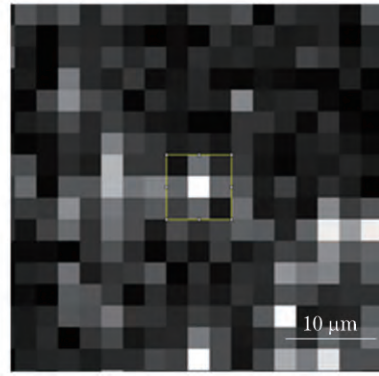


图 11 动态情况下拍摄的 DNB 图像

Fig. 11 DNB image captured at dynamic status

准图形和成熟的算法反演出基因测序光学系统的点扩展函数;然后进行生物芯片的动态实验。通过 DMI 系统测量硅片台的动态性能参数,根据点扩展函数和动态性能参数计算各视场的能量集中度,通过大量实验找出硅片台动态性能参数与能量集中度之间的关系模型。

从图 10 可以看出,能量集中度与位置标准差近似呈线性关系。随着位置标准差的增大,能量集中度减小。从对能量集中度的影响机理来看,在图像传感器的采样周期内,各采样点相对于理论位置的偏差越小,光斑的弥散量越小,曝光后产生的目标光斑会聚程度越高,能量集中度也越高。所以硅片台运行的二维方向上的位置误差合成得到的位置标准差,是影响能量集中度的一个非常重要的指标,可以作为基因测序系统能量集中度的评判准则。在基因测序系统中,位置标准差需控制在 140 nm 以内,以保证能量集中度高于 65%。

图 11 所示为生物芯片动态实验采集的图像, DNB 的密度差异、装载效率、装载位置误差以及光学系统的畸变等都会影响 DNB 在探测器上的能量分布。因此,图 11 的生物芯片成像图中会出现某些区域的 DNB 分布很稀疏、某些区域的 DNB 分布却聚集成团状体的现象。为防止计算结果出现较大误差,使用特定的筛选方案来选择受周围 DNB 弥散影响较小的 DNB,作为能量集中度计算的样本。

6 结 论

建立了硅片台动态性能参数与能量集中度之间的理论模型,统计结果表明:能量集中度与位置标准差近似呈线性关系。在基因测序系统中,当位置标准差控制在 140 nm 以内时,可保证能量集中度高于 65%。同时,确定了以硅片台运行的位置标准差

作为基因测序系统能量集中度的评判准则,并统计出不同的位置标准差范围对应的能量集中度数值。

建立了动态参数与能量集中度之间的理论模型。应用该技术,可得到满足基因识别中能量集中度要求的硅片台动态性能参数,并且合理地分配硅片台的动态性能指标,而不是一味地求最小的位置精度,这样可以节约基因测序系统的研制成本。

由于生物芯片上 DNB 的密度差异、装载效率、装载位置误差及光学系统的畸变都会影响 DNB 在探测器上的能量分布,所以只能选择经过特定算法筛选后的 DNB 作为样本。无法进行大量样本的统计是 본 研究的不足之处。在后续研究中,考虑制备一个专用工艺芯片,在该芯片上镀上模拟 DNB 的图案,保证图案的大小、位置精度等,并将该芯片用于在动态实验中评价能量集中度的变化。

参 考 文 献

- [1] Sanger F, Nicklen S, Coulson A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1977, 74(12): 5463-5467.
- [2] Maxam A M, Gilbert W. A new method for sequencing DNA [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1977, 74(2): 560-564.
- [3] Metzker M L. Sequencing technologies: the next generation[J]. Nature Reviews Genetics, 2010, 11(1): 31-46.
- [4] Deurenberg R H, Bathoorn E, Chlebowicz M A, *et al.* Application of next generation sequencing in clinical microbiology and infection prevention [J]. Journal of Biotechnology, 2017, 243: 16-24.
- [5] Li Z, Askim J R, Suslick K S. The optoelectronic nose: colorimetric and fluorometric sensor arrays[J]. Chemical Reviews, 2019, 119(1): 231-292.
- [6] Wheeler D A, Srinivasan M, Egholm M, *et al.* The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing [J]. Nature, 2008, 452(7189): 872-876.
- [7] Bentley D R, Balasubramanian S, Swerdlow H P, *et al.* Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry [J]. Nature, 2008, 456(7517): 53-59.
- [8] Ley T J, Mardis E R, Ding L, *et al.* DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome [J]. Nature, 2008, 456(7218): 66-72.
- [9] Wang J, Wang W, Li R, *et al.* The diploid genome sequence of an Asian individual[J]. Nature, 2008, 456(7218): 60-65.
- [10] Pushkarev D, Neff N F, Quake S R. Single-molecule sequencing of an individual human genome[J]. Nature Biotechnology, 2009, 27(9): 847-850.
- [11] Branton D, Deamer D W, Marziali A, *et al.* The potential and challenges of nanopore sequencing [J]. Nature Biotechnology, 2008, 26(10): 1146-1153.
- [12] Bayley H. Sequencing single molecules of DNA[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2006, 10(6): 628-637.
- [13] Nichols J M, Miller C. Analytical expression for the average ensquared energy[J]. Journal of the Optical Society of America A, 2015, 32(4): 654-659.
- [14] Smith W J. Modern optical engineering [M]. New York: McGraw-Hill Professional, 2000.
- [15] Tian Y B, Li T T, Cheng L. Compound control of pneumatic servo positioning platform based on double bellows [C]//2017 Chinese Automation Congress (CAC), October 20-22, 2017, Jinan, China. New York: IEEE, 2017: 3103-3108.
- [16] Shaw L A, Chizari S, Shusteff M, *et al.* Scanning two-photon continuous flow lithography for synthesis of high-resolution 3D microparticles [J]. Optics Express, 2018, 26(10): 13543-13548.
- [17] Fu Y B, Guo T J. High-precision position control of a gene sequencer motion stage[J]. Optics and Precision Engineering, 2018, 26(10): 2455-2462.
- 付云博, 郭同健. 基因测序仪运动平台的高精度定位控制[J]. 光学 精密工程, 2018, 26(10): 2455-2462.
- [18] Andersen D R, Jackson K J, Blain C, *et al.* Performance modeling for the RAVEN multi-object adaptive optics demonstrator[J]. Publications of the Astronomical Society of the Pacific, 2012, 124(915): 469-484.
- [19] Basden A G, Evans C J, Morris T J. Wide-field adaptive optics performance in cosmological deep fields for multi-object spectroscopy with the European Extremely Large Telescope[J]. Monthly Notices of the Royal Astronomical Society, 2014, 445(4): 4008-4014.
- [20] Zhang P, Li J, Olson E, *et al.* Impact of point spread function on infrared radiances from geostationary Satellites [J]. IEEE Transactionson Geoscience and Remote Sensing, 2006, 44(8): 2176-2183.
- [21] Andersen T B. Accurate calculation of diffraction-limited encircled and ensquared energy[J]. Applied Optics, 2015, 54(25): 7525-7533.
- [22] Dixit A, Mishra S K, Gupta A K. Sensitivity of singular beams in the presence of Zernike aberrations [J]. Optics and Lasers in Engineering, 2015, 71: 74-

- 84.
- [23] Liu R, Wang D J, Jia P, *et al.* Point target detection based on omnidirectional morphology filtering and local characteristic criterion[J]. *Acta Optica Sinica*, 2017, 37(11): 1104001.
刘让, 王德江, 贾平, 等. 基于全方位形态学滤波和局部特征准则的点目标检测[J]. *光学学报*, 2017, 37(11): 1104001.
- [24] Drmanac R, Sparks Andrew B, Callow Matthew J, *et al.* Human genome sequencing using unchained base reads on self-assembling DNA nanoarrays [J]. *Science*, 2010, 327(5961): 78-82.
- [25] Niedringhaus T P, Milanova D, Kerby M B, *et al.* Landscape of next-generation sequencing technologies [J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(12): 4327-4341.
- [26] Han J H, Kim H J, Sudheendra L, *et al.* Electrophoretic build-up of multi nanoparticle array for a highly sensitive immunoassay [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 41: 302-308.
- [27] Han W J, Wei Q Q, Li Y T, *et al.* Fabrication of SU8-based chip suitable for genomic sequencing[J]. *Acta Physica Sinica*, 2013, 62(14): 148701.
韩伟静, 魏清泉, 李运涛, 等. 一种基于 SU8 聚合物的基因测序芯片 [J]. *物理学报*, 2013, 62(14): 148701.
- [28] Salyards K A, Hanagan L M. Evaluation of vibration assessment criteria and their application to stadium serviceability [J]. *Journal of Performance of Constructed Facilities*, 2010, 24(2): 100-107.
- [29] Li H, Yan C X, Shao J B. Measurement of the modulation transfer function of infrared imaging system by modified slant edge method[J]. *Journal of the Optical Society of Korea*, 2016, 20(3): 381-388.