

衍射流式细胞仪中高速 TDI 相机的设计^{*}

韩阳光¹ 李奇峰¹ 程嘉明² 杨云鹏¹ 张鹏飞¹ 撒 昱²

(1. 天津大学精密仪器与光电子工程学院 天津 300072; 2. 天津大学医学院 天津 300072)

摘要: 开发了基于衍射成像的新型无染色流式细胞分析方法,此方法借助时间延迟积分(time delay integration, TDI)相机收集衍射图像,并通过机器学习算法识别细胞。然而,该方法的检测通量受TDI相机扫描频率的限制。为此,设计了一种TDI相机改进方案,旨在提高其扫描频率并验证其实用效果。首先对TDI相机时序控制进行优化,成功将TDI相机扫描频率从50 kHz提升至100 kHz。在验证实验中,基于改进后的相机采集衍射图像后,运用灰度共生矩阵(Gray-level co-occurrence matrix, GLCM)提取特征值,再采用支持向量机(support vector machine, SVM)和随机森林(random forest, RF)分类器开展机器学习训练,分别针对培养的正常肝脏细胞与HepG2肝癌细胞进行两分类识别,以及对3种肺癌细胞系(A549, NCI-H378和NCI-H446)进行三分类识别,所得测试集识别准确率分别为94.14%和95.20%。设计改进的系统在使细胞流速提高到原来的2倍的同时,能够采集到符合识别要求的图像,为高速成像领域提供了创新性的技术支持,具备显著的科学意义与应用价值。

关键词: 衍射流式细胞仪; TDI相机; FPGA; 机器学习

中图分类号: TP212; TH733; TN79 文献标识码: A 国家标准学科分类代码: 510.80; 410.40

Design of high-speed TDI camera for diffraction flow cytometry

Han Yangguang¹ Li Qifeng¹ Cheng Jiaming² Yang Yunpeng¹ Zhang Pengfei¹ Sa Yu²

(1. School of Precision Instrument and Opto-Electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Medical School of Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Our research group has previously developed a novel label-free flow cytometry method based on diffractive imaging, which utilizes a time delay integration (TDI) camera to capture diffraction images and employs machine learning algorithms for cell identification. However, the detection throughput is limited by the scanning frequency of the TDI camera. To address this limitation, we designed an TDI camera optimization scheme to increase the scanning frequency and verify its practical effectiveness. In this study, we optimized the timing control of the TDI camera, successfully increasing its scanning frequency from 50 kHz to 100 kHz. In the validation experiments, after capturing diffraction images with the optimized camera, we extracted feature values using the Gray-level co-occurrence matrix (GLCM) and conducted machine learning training with support vector machine (SVM) and random forest (RF) classifiers. The classifiers were used to distinguish between cultured normal liver cells and hepatocarcinoma HepG2 cells, and to classify three lung cancer cell lines (A549, NCI-H378, and NCI-H446) in a three-class identification task, achieving test set recognition accuracies of 94.14% and 95.20%, respectively. Our optimized system not only doubled the cell flow rate but also ensured the acquisition of images that meet the recognition requirements. This innovation provides a novel technical support for high-speed imaging, with significant scientific and practical value.

Keywords: diffraction flow cytometry; time-delay integration camera; FPGA; machine learning

0 引言

流式细胞仪 (flow cytometry, FCM) 通过对细胞膜蛋白和核酸等靶分子进行荧光标记, 实现对单细胞的高通量、多参数检测^[1], 进而实现对细胞的精确分类、功能状态监测以及亚群分布的深入分析^[2]。然而, 该方法需要对细胞进行染色处理, 可能对细胞造成损害, 包括荧光染料的毒性以及对细胞生理状态的干扰^[3]。此外, 染色后的细胞通常无法用于后续实验操作, 限制了其在活细胞研究中的应用。同时, 荧光标记主要针对分子水平的特征表达, 对细胞结构信息的解析能力有限, 难以全面反映细胞的形态学特征和内部微结构^[4-5]。针对现有流式细胞仪的不足, 本课题组^[6-8] 开发了基于衍射成像技术的流式细胞仪。衍射成像技术是通过激光照射细胞, 利用高度相干光在细胞表面和内部的散射现象, 生成与细胞结构密切相关的衍射图像^[9]。与传统依赖荧光染色的流式细胞检测技术相比, 衍射成像无需对细胞进行染色处理, 能够在无损状态下获取细胞的光学特性和结构信息。该技术的核心优势在于, 通过记录和解析衍射图像的空间分布和光强变化, 可以提取反映细胞形态、大小及内部折射率分布的多参数信息^[10]。作为一种无标记、非侵入式的检测手段, 基于衍射成像的流式细胞仪为无染色细胞分析分选、细胞的三维结构解析、功能研究及分类提供了全新的技术路径^[11]。

基于衍射成像的流式细胞检测技术的关键在于快速捕获高速液流中细胞的衍射图像^[12]。由于细胞在流体室中高速流动, 这对成像系统的灵敏度、噪声控制、动态范围和时空分辨率提出了极高要求, 因此选择高速成像器件尤为重要。时间延迟积分 (time delay and integration, TDI) 线阵相机技术是基于多级延时积分原理, 使线性传感器阵列在目标物与成像系统相对运动时, 对同一空间坐标的像素信号进行逐行累积叠加, 可在弱光、高扫描速度下获得高质量的图像^[13-14], 为后续的细胞分类与功能识别提供可靠的图像基础。本课题组采用的 TDI-CCD 传感器为日本滨松公司生产, 原行扫描速率为 50 kHz, 但为了满足更高通量的应用需求, 需要提高行扫描速率以匹配更高的流速。以往的研究中, Park 等^[15] 使用压缩传感提高 TDI 的扫描速度, Xu 等^[16] 设计了一种带有流水线电荷转移像素的 TDI-CMOS 传感器, 但普遍存在成本高昂、图像质量与采集速度难以兼顾的问题。

本文以原行扫描速率 50 kHz 的 TDI 为基础, 提出了一种改进设计方案, 使行扫描速率提升至 100 kHz。该设计方案采用 TDI 相机作为核心成像组件, 通过现场可编程门阵列 (FPGA) 对 TDI 相机进行驱动控制, 并利用高速 ADC 完成像素值的量化处理。本文改进的 TDI 相机

具有极高帧率和较高的信噪比 (SNR), 能够满足高速液流中细胞衍射图像的实时捕获需求。

1 工作原理

1.1 衍射成像的流式细胞仪原理

衍射成像流式细胞仪工作原理如图 1 所示。在流体室 (flow chamber) 中, 采用鞘流对细胞悬液 (核流) 进行包裹和压缩, 确保单个细胞依次经过激光检测区域。假设激光宽度为 d , 传播方向为垂直于 xy 平面的 z 轴方向。细胞在激光照射区域依次经过 T_1 、 T_2 、 T_3 3 个时刻。其中, T_1 时刻表示细胞接触到激光边缘, T_2 时刻表示细胞流动至激光光斑中心, T_3 时刻表示细胞运动离开激光。在流体室侧面, 通过显微物镜 (objective) 收集侧向 90° 衍射光信息, 并通过透镜 L_1 后成像在像平面 (image plane) 上, 图像传感器选用 CCD 线阵图像传感器。流式细胞仪工作时, 在 x 轴和 z 轴方向同时收集侧向散射光强和前向散射光强。

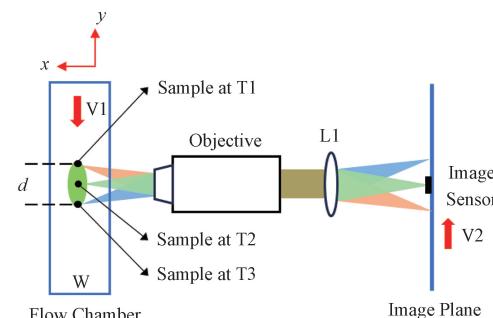


图 1 衍射成像流式细胞仪示意图

Fig. 1 Diagram of the diffraction imaging flow cytometry

流式细胞仪中, 照射激光宽度 d 可以根据高斯光束的聚焦公式表示为:

$$d = \frac{2 \cdot \lambda \cdot L_f}{\pi \cdot w_0} \quad (1)$$

式中: λ 表示激光器波长; L_f 表示聚焦透镜的焦距; w_0 表示激光在透镜上的半径。当流式细胞仪工作时, 细胞流速与核流速度相同, 流速 v_1 可以表示为:

$$v_1 = \frac{v_2}{M} = \frac{f \cdot L_{tdi}}{M \cdot N} \quad (2)$$

式中: v_2 表示衍射图样在像平面上的运动速度; M 表示显微物镜和透镜组合光学系统的放大倍数; f 表示线阵 CCD 的扫描频率; L_{tdi} 表示 CCD 的感光宽度; N 表示扫描级数。在检测过程中, 为了提高检测效率, 通常将细胞流速 v_1 设置较大。根据式(2)可知, 此时衍射图样的运动速度 v_2 将会以 M 倍成比例增大。为了准确捕获高速移动的衍射图样, 需要短曝光时间, 同时保证采集图样的信噪比。

1.2 TDI-CCD 扫描成像原理

本文采用的 TDI-CCD 是一种高效的成像技术, 广泛应用于高速动态场景的检测中。该成像技术通过对目标的多次累积曝光显著提升信噪比和灵敏度, 适用于衍射成像流式细胞仪等需要高分辨率和高动态范围的场景^[17-18], 如图 2 所示。

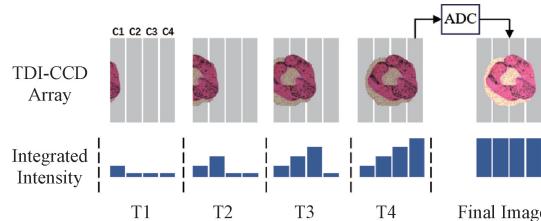


图 2 TDI-CCD 成像原理

Fig. 2 The imaging principle of TDI-CCD

图 2 为 TDI-CCD 成像原理, 详细说明了 4 行 TDI-CCD 感光单元的工作过程。当细胞图像在 T1 时刻进入 CCD 的 C1 行时, CCD 对其进行第 1 次曝光。随着细胞图像在像平面上以速度 v_2 移动, 衍射图在 T2 时刻到达第 C2 行, 并进行第 2 次曝光。此时, C1 行的电子信号转移到 C2 行并与新的曝光信号累加。这个过程依次进行, 当衍射图到达第 C4 行并完成第 4 次曝光后, TDI-CCD 将 C4 行中累积的每个像素的电子信号依次读取, 并通过高速 ADC 转换为数字信号, 拼接成一张完整的细胞图像。该成像机制充分利用了 TDI-CCD 的多级积分特性, 多次累积曝光的过程显著提升了信噪比, 其公式为^[18]:

$$SNR = \sqrt{N} \cdot SNR_0 \quad (3)$$

式中: SNR_0 表示单行传感器的信噪比; N 表示扫描级数。随着传感器级数 N 的增加, 衍射图像信噪比会得到显著提升^[18]。在捕获细胞衍射图像时, 为避免运动模糊, TDI-CCD 要求细胞在像平面上的运动速度 v_2 与电荷转移速度严格同步。

本文选用滨松公司的 s10200-2 图像传感器, 分辨率为 1024×128 , 单个像素大小为 $12 \mu\text{m}$, 因此 CCD 的感光宽度 $L_{tdi} = 1.536 \text{ mm}$ 。为了提高细胞检测效率, 本文将衍射流式细胞仪的流速设定为 $v_1 = 64 \text{ mm/s}$, 显微光学系统放大倍数 $M = 18.75$, 根据式(2)计算可得 $v_2 = 1200 \text{ mm/s}$, $f = 100 \text{ kHz}$ 。由于该线扫速度已超过传感器在全分辨率输出条件下的支持频率, 并且衍射光斑大小约为 $128 \times 128 \text{ pixels}$, 本文对 TDI-CCD 的工作时序进行了优化, 调整了电荷转移与图像采集的同步机制, 确保在高速流式条件下能够满足衍射图像采集的要求。该优化设计保证了系统的可靠性和检测效率, 为高精度衍射成像提供了有力支持。

2 高速 TDI 相机的设计与开发

2.1 总体方案设计

本文设计的流式细胞仪采用 FPGA 对 TDI-CCD 相机进行控制, 其系统总体设计方案如图 3 所示。仪器选用了 Xilinx 公司 7k355tffg900-2 型号芯片作为主控芯片。该芯片具有丰富的 CLB 资源, 可以满高速视频数据流的获取和实时数据处理。PD1 和 PD2 为光电二极管, 分别用于检测细胞的前向散射和侧向散射光信号。这些光信号被多通道 ADC7609 采集, 该 ADC 的分辨率为 18 bit, 最高采样率为 200KSPS。采集到的两路信号拼接成 36 bit 后传输到 FIFO_2 中进行缓存处理, FIFO_2 的存储深度为 128。

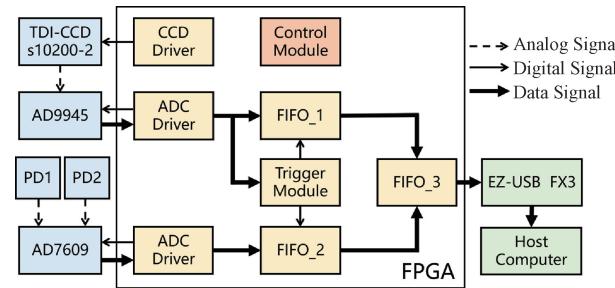


图 3 系统总体设计

Fig. 3 Overall system design

控制模块(control module)用于实现各信号驱动模块的同步控制, 同时负责触发模块、FIFO_1 和 FIFO_2 的读写操作。当上位机(host computer)发送开始采集指令时, 控制模块会输出同步信号 CNV 给 CCD 驱动模块和两个 ADC 驱动模块。CCD 驱动模块的主要功能是驱动 TDI-CCD 传感器完成水平和垂直方向的信号转移, 并将每个像素的输出给高速模数转换器 AD9945。AD9945 分辨率为 12 bit, 支持最高 40 MHz 采样速率, 并采用相关双采样技术以提高信号质量, 采集的像素数据同步传输给 FIFO_1 和触发模块。

触发模块(trigger module)决定了衍射图像的触发位置, 其内部是一个 128 深度的 FIFO。工作时首先将输入的 128 个采样点数据求和, 然后存进 FIFO 中。此时 FIFO 工作在只写不读的状态; 当 FIFO 写满 64 深度后, FIFO 工作切换到边写边读的状态, 等待满足触发条件; 当 128 个数据点和大于触发阈值时, FIFO 重新切换到边写边读状态, 并且将触发有效信号 Valid 发送给 FIFO_1 和 FIFO_2; 当 FIFO 写满后, 控制模块会发送满信号给上位机, 表示一帧衍射图像采集完成。

FIFO_1 模块用于缓存一帧衍射图像, 其内部采用 8 片 FIFO 拼接设计, 每一片 FIFO 的输入位宽 192 bit, 深度

为 128。数据按 16 个采样点为单位首先缓存在 FIFO₀,其次是 FIFO₁,直至 FIFO₇存入 16 个采样点后,完成 TDI-CCD 一行 128 个点的采集。当 FIFO_1 模块中所有 FIFO 写满 64 深度后,模块进入等待状态,直到触发模块发送的 Valid 信号有效。该设计确保衍射光斑始终显示在上位机的图像中央。

FIFO_3 模块用来将 FIFO_1 和 FIFO_2 中的数据同步读出,确保一帧图像和散射光强信号同步,同时完成跨时钟域的数据同步处理。随后,打包的数据通过 EZ-USB FX3 芯片传输至上位机,实现一帧完整数据的实时传输与处理。

2.2 TDI-CCD 相机设计

图 4 为 TDI-CCD 相机的工作模式。设计选用的 S10200-02 图像传感器分辨率 1 024×128,可以通过 Port A 和 Port B 两端读取数据。其中,P1V、P2V、P3V 等信号用于控制 CCD 电荷的垂直转移,P1H、P2H 和 SG 信号用于控制电荷从水平寄存器转移至运算放大器进行处理。分析可知,为了满足细胞高速通过流体室时的衍射成像需求,线扫频率需达到 $f = 100 \text{ kHz}$ 。然而,该频率已超过传感器在全分辨率输出条件下的支持能力,因此需要对时序进行优化设计,以确保传感器在高速运行时能够稳定工作。

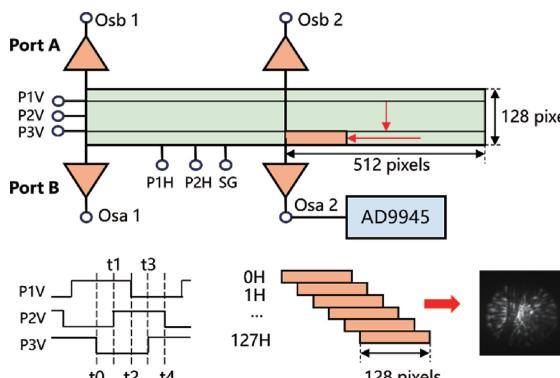


图 4 TDI-CCD 相机工作模式

Fig. 4 Operating mode of TDI-CCD camera

本文采用 Port A 的 Osa2 端口作为主要数据读取通道。由于 S10200-02 传感器在每行数据开始时包含 8 个空像素,设计中利用 AD9945 模块优先采集暗电流数据,并在后续量化处理中将有效信号值减去暗电流值,从而提升数据精度和信噪比。针对衍射图像仅需 $128 \times 128 \text{ pixels}$ 的要求,线扫时由 CCD 驱动模块在 FPGA 中控制 p1v、p2v、p3v 等信号,实现 CCD 电荷的垂直转移。当电荷从水平寄存器转移至运算放大器并输出 128 次后,获得一行 128 pixels 的数据。通过 128 次操作后,可以拼接得到完整的衍射图像。优化后的设计确保了传感器能

够在满足高速衍射成像需求的同时,保持较高的稳定性和精度。

3 功能验证与测试

3.1 硬件电路时序测试

高速 TDI 相机控制电路如图 5 所示。选用 Xilinx 公司 XC7K 系列 FPGA 芯片为主控,负责为 TDI-CCD、AD 转换芯片(AD9945)产生驱动时序,并与 USB 控制芯片 CYUSB3014 通信,后者通过 USB3.0 协议将采集数据发送至上位机。由于 CCD 驱动电压范围为 $-5 \sim 8 \text{ V}$,而 FPGA 产生的控制信号为标准 CMOS 电平只有 $0 \sim 3.3 \text{ V}$,因此需要将 FPGA 产生的 CCD 驱动信号经过 EL7457 芯片转换为 TDI-CCD 所需要的电平。

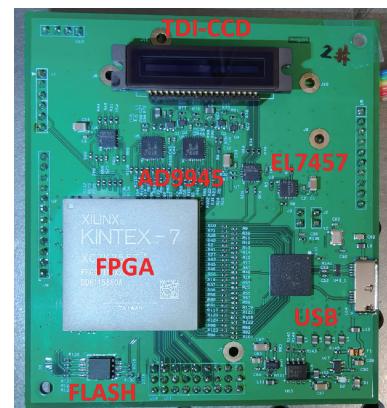


图 5 高速 TDI 相机控制电路

Fig. 5 High-speed TDI camera control circuit

线扫描速度 $f = 100 \text{ kHz}$ 的条件下用 ILA(integrated logic analyzer) 抓取 TDI-CCD 及 AD9945 控制时序如图 6 所示。由图 6(a) 可知,在电荷行转移阶段,p1v、p2v、p3v、tga 信号交替使能,CCD 中电荷依次转移至下一行,最后一行电荷转移至水平移位寄存器,等待水平转移输出;在电荷水平输出阶段,在水平转移信号 rga、sga、p1h、p2h 的控制下,经过 128 个像素周期,信号电荷从输出端口 OSa1、OSa2 输出。

AD9945 控制信号如图 6(b) 所示。由于 FPGA 对 CCD 控制信号经过 EL7457 芯片,产生 22 ns 延时,因此需要将 ADC 控制信号延时 22 ns。采用混合时钟管理模块(mixed-mode clock manager, MMCM) 对信号 shp、shd、dataclk 进行相位调整,以实现延时 22 ns。

3.2 TDI 相机成像测试

为测试 TDI 相机的成像性能,实验采用一个电机驱动的滚轮作为测试装置,如图 7 所示。滚轮直径为 75 mm,滚轮上贴一张 18 mm×240 mm 的印有黑白相间

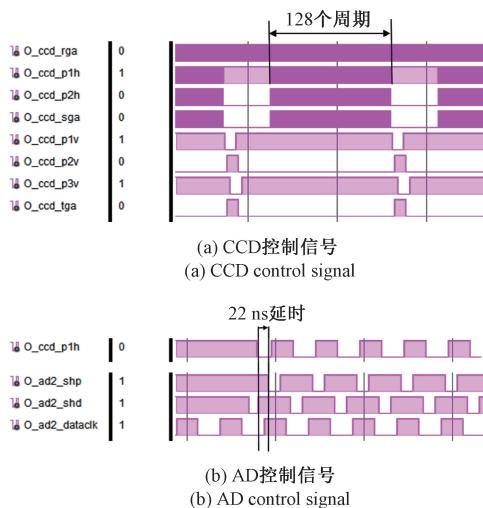


图 6 CCD 及 AD 控制电路时序图

Fig. 6 CCD and AD control circuit sequence diagram

条纹的白纸作为被成像物, 条纹间距 $L_1 = 10.5 \text{ mm}$, 黑条纹宽度 $L_2 = 5 \text{ mm}$ 。调节旋钮可控制滚轮转速。

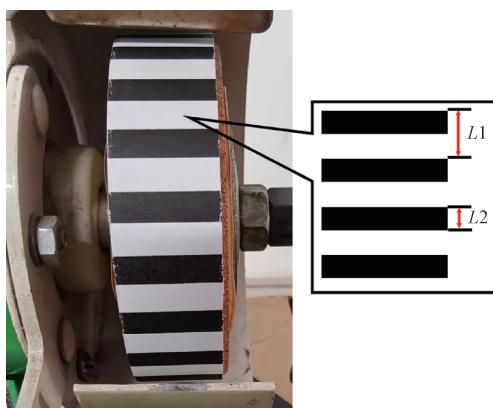


图 7 TDI 成像测试实物

Fig. 7 TDI imaging test physical diagram

在 TDI-CCD 前端集成光学镜头系统, 调节旋钮, 当滚轮转速为 59 r/s 时, TDI 相机成像最清晰。根据式(2)计算得, 镜头放大倍数 $M=0.0857$ 。此时滚轮线速度 V_1 为 13.992 m/s , 与 TDI 相机线扫描速度 100 kHz 匹配。如图 8 所示, 测试采用普通 CMOS 相机拍摄的静态条纹图像作为原图对照, 当滚轮线速度为 13.992 m/s 时, 与 TDI 相机线扫描速度匹配, 所成像最接近原图。当降低或增加滚轮线速度 V_1 为 $9.654, 11.334, 16.650, 19.309 \text{ m/s}$ 时, 成像较差。

为进一步衡量 TDI 相机成像效果, 计算滚轮不同线速度条件下 TDI 相机成像结果与原图的均方误差 (mean squared error, MSE)、结构相似度指数 (structural similarity index measure, SSIM), 如表 1 所示。当滚轮线速度为 13.992 m/s , 与 TDI 扫描速度匹配时, 3 项指标最优, 成像

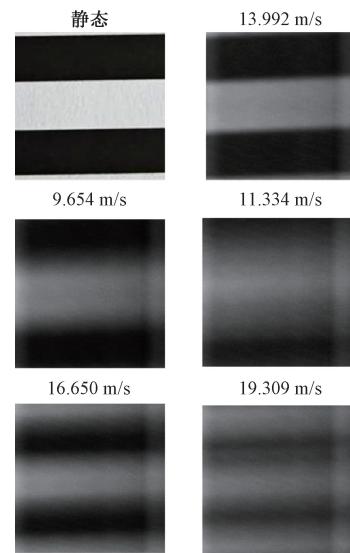


图 8 TDI 相机成像测试

Fig. 8 TDI camera imaging test

效果最佳。此时 MSE 最小为 4.384×10^3 , SSIM 最高为 0.657, 说明图像与参考图高度一致。其他速度下图像质量均有所下降, 表明速度匹配性对 TDI 成像质量具有显著影响。

表 1 线速度 V_1 不同取值时 MSE 与 SSIM 变化Table 1 Changes in image quality with different values of linear velocity V_1

$V_1 / (\text{m} \cdot \text{s}^{-1})$	9.654	11.334	13.992	16.650	19.309
MSE/1 000	7.710	7.290	4.384	6.890	8.932
SSIM	0.450	0.490	0.657	0.435	0.353

高信噪比是 TDI 相机的一个重要特点, 同时也是衡量图像质量的一项重要指标。在暗室条件下用 TDI 相机拍摄一幅图像, 并计算图像峰值信噪比 (PSNR) :

$$PSNR = \frac{4.095}{\sqrt{\frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \quad (4)$$

式中: N 为像素个数; x_i 表示图片中第 i 个像素灰度值; \bar{x} 表示图片中所有像素的灰度平均值。经计算可得, $PSNR_0 = 28.910 \text{ dB}$, 能满足系统扫描频率 100 kHz 时对信噪比的需求。而改进前 TDI 相机的峰值信噪比 $PSNR_0 = 25.680 \text{ dB}$ 。这主要是由于改进后的 TDI 相机对暗电流噪声进行了抑制。

TDI 相机的运动模糊主要由行频与细胞流速失配引起, 具体表现为速度方向上图像的伸缩。而 CMOS 相机运动模糊表现为图像整体的拖影。本系统采用反馈式液流系统, 在曝光时间内速度可以认为是恒定的, 因此速度失配可等效为趋于 0 的定值, 仅使得图像发生微小伸缩, 而不存在可观察的运动模糊问题。在保持曝光时间相同

的情况下用 TDI 相机和 CMOS 相机对条带成像, 成像结果分别如图 9 所示, 调节滚轮转速使 TDI 相机轻度失配, 但 TDI 相机运动模糊仍远小于 CMOS 相机。

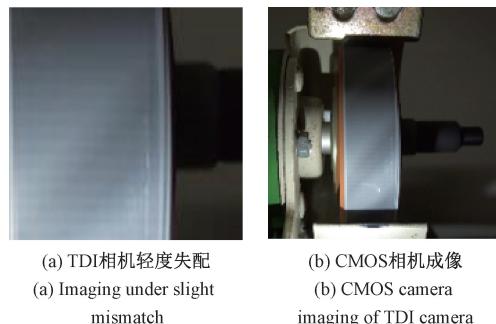


图 9 TDI 相机与 CMOS 相机运动模糊分析

Fig. 9 Analysis of motion blur in TDI and CMOS cameras

3.3 细胞衍射图像采集测试

为评估 TDI 相机在细胞衍射图像采集中的性能, 将 TDI 相机集成于流式细胞仪系统中, 实验装置如图 10 所示。该配置旨在通过高灵敏度成像技术捕捉细胞衍射图样, 以验证其在高速细胞分析中的适用性与成像质量。

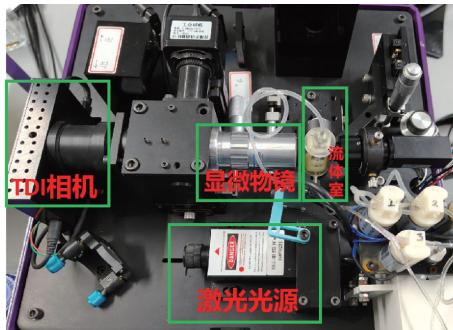


图 10 TDI 相机集成流式细胞仪的实验装置示意图

Fig. 10 Schematic diagram of experimental setup for TDI camera integrated flow cytometry

本文首先测试了正常培养的肝脏细胞系和 HepG2 肝癌细胞系的识别效果。采用本文提出的 TDI 相机数据读取方式, 系统扫描频率为 100 kHz, 得到两种细胞的衍射图, 分别如图 11 所示。衍射图片分辨率为 128×128 pixels。

上位机共保存 4 000 张正常肝脏细胞和 3 652 张 HepG2 肝癌细胞衍射图像。细胞衍射图像选用灰度共生矩阵 (grey level co-occurrence matrix, GLCM) 提取二阶统计量, 结合机器学习算法进行细胞识别^[6,19]。首先使用 GLCM 提取衍射图像的二阶统计量, 将角度 θ 设置为 0° 、 45° 、 90° 、 135° , 将步长 d 设置为 1、2、4、8、16、32, 二阶统计量为角二阶矩 (angular second moment)、对比度 (contrast)、相关性 (correlation)、能量 (energy)、同质

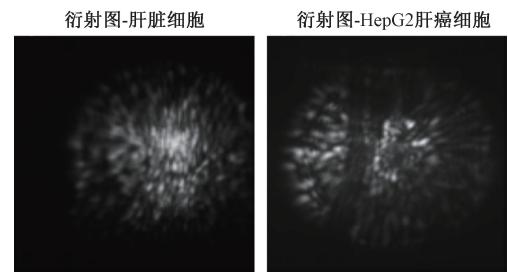


图 11 细胞衍射图像

Fig. 11 Cell diffraction images

性 (homogeneity)、非相似性 (dissimilarity) 等^[20], 可得到共计 144 个特征值。选择 SVM 对细胞衍射图像进行识别, 训练集和测试集比例设置为 2 : 1, 训练时采用十折交叉验证, 最后取平均准确率值。

如图 12 所示, 采用本文提出方案改进后, 即 128×128 pixels 细胞图像的分类混淆矩阵, 其平均分类准确率为 94.14%。改进前, 即 TDI-CCD 在全分辨率模式采集 508×512 的细胞图像时, 平均分类准确率为 96.75%。由于低分辨率图像在特征提取过程中存在信息损失, 导致识别精度略微下降 2.61%, 但得益于所提出方案将样本流速提高 1 倍, 显著提升了整体检测效率。

		改进后	
		128×128 pixels 分类结果	
		Liver Cells	HepG2
Reality	Liver Cells	93.69	6.31
	HepG2	5.36	94.64
		508×512 pixels 分类结果	
Reality	Liver Cells	96.24	3.76
	HepG2	2.68	97.32

图 12 分类结果混淆矩阵

Fig. 12 Classification result of liver and hepG2 cells

由于流式细胞仪在实际应用中需对多种细胞类型进行快速分选, 本文针对 3 类肺癌细胞系进行了识别实验。A549(人非小细胞肺癌细胞系)、NCI-H378(人小细胞肺癌细胞系) 和 NCI-H446(人小细胞肺癌细胞系)。这 3 类肺癌细胞衍射图分别如图 13 所示。

上位机共采集 3 094 张 A549 细胞、3 111 张 NCI-H378 细胞和 3 383 张 NCI-H446 细胞衍射图像。采用 GLCM 提取 144 个特征后, 选择随机森林算法对细胞衍射图像进行分类, 混淆矩阵如图 14 所示。

在采用随机森林算法进行 3 分类任务时, 改进后采集的 128×128 pixels 细胞图像的分类结果平均分类准确率为 95.20%。相比改进前采用 508×512 pixels 图像的分类准确率 97.82%, 准确率略微下降了 2.62%。然而, 由于改进方案将细胞的流速由 32 mm/s 提高至 64 mm/s,

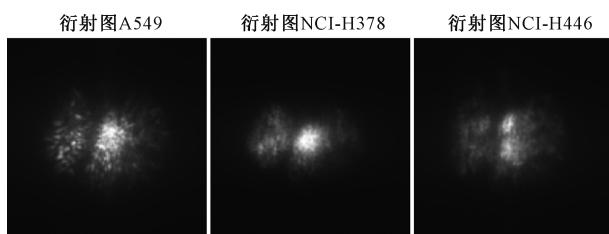


图 13 3 种肺癌细胞系衍射图像

Fig. 13 Cell diffraction images of three lung cancer cell line

改进后 128×128 pixels 分类结果			改进前 508×512 pixels 分类结果					
Reality	A549	NCI-H378	NCI-H446	Reality	A549	NCI-H378	NCI-H446	
	97.14	1.62	1.24		99.05	0.76	0.19	
A549	1.18	95.98	2.85	A549	0.49	96.76	2.75	
NCI-H378	3.19	4.19	92.62	NCI-H378	0.82	1.55	97.63	
NCI-H446								
Prediction				Prediction				

图 14 3 种细胞分类结果

Fig. 14 Classification results of three cell types

使得检测速率从最高每秒 97.65 个细胞提高到 781.25 个细胞, 在保证较高分类精度的同时显著提升了系统检测效率。

4 结 论

针对衍射成像流式细胞仪所使用的 TDI-CCD 行扫描速度较低的问题, 本文通过对 TDI-CCD 的工作时序进行了优化, 调整了电荷转移与图像采集的同步机制, 确保在高速流式条件下能够满足衍射图像采集的要求。该设计有效解决了传统相机在高帧率与短曝光时间之间难以兼顾的问题, 借助 TDI-CCD 的积分成像特性, 在保证信噪比的同时避免了图像模糊与拖影现象。该方案通过 FPGA 调整驱动控制, 无需改变硬件, 为高速弱光条件下成像提供了新的思路。

参考文献

- [1] FUDA F, CHEN M, CHEN W, et al. Artificial intelligence in clinical multiparameter flow cytometry and mass cytometry-key tools and progress [J]. Seminars in Diagnostic Pathology, 2023, 40(2) : 120-128.
- [2] KOWARSCH F, MAURER-GRANOFSKY M, WEIJLER L, et al. FCM marker importance for MRD assessment in T-cell acute lymphoblastic leukemia: An AIEOP-BFM-ALL-FLOW study group report [J]. Cytometry Part A, 2024, 105(1) : 24-35.
- [3] BROADWATER D, BATES M, JAYARAM M, et al. Modulating cellular cytotoxicity and phototoxicity of fluorescent organic salts through counterion pairing [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1) : 15288.
- [4] HUA X, HAN K, MANDRACCHIA B, et al. Light-field flow cytometry for high-resolution, volumetric and multiparametric 3D single-cell analysis [J]. Nature Communications, 2024, 15(1) : 1975.
- [5] DUAN X, ZHENG X, LIU Z, et al. On-chip photoacoustics-activated cell sorting (PA-ACS) for label-free and high-throughput detection and screening of microalgal cells [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(3) : 1301-1309.
- [6] ZHANG N, SA Y, GUO Y, et al. Discriminating ramos and Jurkat cells with image textures from diffraction imaging flow cytometry based on a support vector machine [J]. Current Bioinformatics, 2018, 13(1) : 50-56.
- [7] FENG J, FENG T, YANG C, et al. Feasibility study of stain-free classification of cell apoptosis based on diffraction imaging flow cytometry and supervised machine learning techniques [J]. Apoptosis, 2018, 23 (5-6) : 290-298.
- [8] ZHAO L, TANG L, GREENE M S, et al. Deep learning of morphologic correlations to accurately classify CD4+ and CD8+ T cells by diffraction imaging flow cytometry [J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(3) : 1567-1574.
- [9] 周雨宁, 夏华, 王晓莉, 等. 基于谱分解动态散射成像的细胞无标记检测与分类方法 [J]. 电子测量与仪器学报, 2022(6) : 42-47.
- [10] ZHOU Y N, XIA H, WANG X L, et al. Label-free detection and classification method for cells based on spectral decomposition dynamic scattering imaging [J]. Journal of Electronic Measurement and Instrumentation, 2022(6) : 42-47.
- [11] WANG H, FENG Y, SA Y, et al. Acquisition of cross-polarized diffraction images and study of blurring effect by one time-delay-integration camera [J]. Applied Optics, 2015, 54(16) : 5223-5228.
- [12] RANE A S, RUTKAUSKAITE J, DEMELLO A, et al. High-throughput multi-parametric imaging flow cytometry [J]. Chem, 2017, 3(4) : 588-602.
- [13] JIANG Y, TIAN Y, MAO T, et al. A high resolution TDI-CCD system with measurement matrix coding [J]. SPIE, 2024, 13155 : 141-147.

- [14] PRATLONG J, JERRAM P, TSIOLIS G, et al. TDI CMOS image sensor for Earth observation [J]. SPIE, 2019, 11180: 2332-2343.
- [15] PARK J, GAO L. Continuously streaming compressed high-speed photography using time delay integration [J]. Optica, 2021, 8(12): 1620-1623.
- [16] XU J, SHI X, NIE K, et al. A global shutter high speed TDI CMOS image sensor with pipelined charge transfer pixel [J]. IEEE Sensors Journal, 2018, 18(7): 2729-2736.
- [17] 李强, 樊奔, 陈希. 一种基于多线阵集成 TDICCD 的低轨成像驱动方法 [J]. 航天返回与遥感, 2016, 37(1): 9.
- LI Q, FAN B, CHEN X. A low-orbit imaging driving method based on multi-linear array integrated TDICCD [J]. Spacecraft Recovery & Remote Sensing, 2016, 37(1): 9.
- [18] 刘则润, 万志, 李宪圣, 等. 时间延迟积分 CCD 空间相机信噪比的影响因素 [J]. 光学精密工程, 2015, 23(7): 1829-1837.
- LIU Z X, WAN ZH, LI X SH, et al. Factors influencing signal-to-noise ratio of time delay integration CCD space camera [J]. Optics and Precision Engineering, 2015, 23(7): 1829-1837.
- [19] WANG H, FENG Y M, SA Y, et al. Pattern recognition and classification of two cancer cell lines by diffraction imaging at multiple pixel distances [J]. Pattern Recognition, 2017, 61: 234-244.
- [20] AGGARWAL A K. Learning texture features from GLCM for classification of brain tumor MRI images using random forest classifier [J]. Trans Signal Process, 2022, 18: 60-63.

作者简介



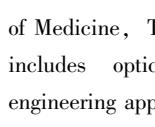
韩阳光, 2011 年于南开大学获得硕士学位, 现为天津大学博士研究生, 主要研究方向为流式细胞仪光学检测技术。

E-mail: han_yg@tju.edu.cn



Han Yangguang received his M. Sc. degree from Nankai University in 2011. He is currently a Ph. D. candidate at Tianjin University. His main research interest includes optical detection technology for flow cytometry.

E-mail: han_yg@tju.edu.cn



Sa Yu (Corresponding author), Ph. D., currently is an associate professor at the School of Medicine, Tianjin University. His main research interest includes optical instrument development and biomedical engineering applications in cell detection.