

**НЕЙРОСЕТЕВОЙ КЛАССИФИКАТОР БИОЛОГИЧЕСКИХ  
СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ LAB-ON-CHIP БИОСЕНСОРА  
НА ОСНОВЕ ОПТИЧЕСКОГО РЕЗОНАНСА МОД  
ШЕПЧУЩЕЙ ГАЛЕРЕИ**

**Э. А. Чернявская<sup>1</sup>, В. А. Саечников<sup>1</sup>, Г. Швайгер<sup>2</sup>,  
А. Остендорф<sup>2</sup>**

---

<sup>1</sup>*Белорусский государственный университет*

*Минск, Беларусь*

<sup>2</sup>*Рурский университет*

*Бохум, Германия*

*saetchnikov@bsu.by*

Обнаружены существенные изменения спектров оптического резонанса мод шепчущей галереи (МШГ) в диэлектрических микросферах растворов, моделирующих плазму крови, 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 интер-

претации данных, исследуемых с помощью разрабатываемого биосенсора. Получено, что вероятностная нейронная сети позволяет правильно классифицировать исследуемые биологические соединения со средней вероятностью 97,3 %.

*Ключевые слова:* оптический резонанс, моды шепчущей галереи, вероятностная нейронная сеть, биологические соединения, сенсор.

## **ВВЕДЕНИЕ**

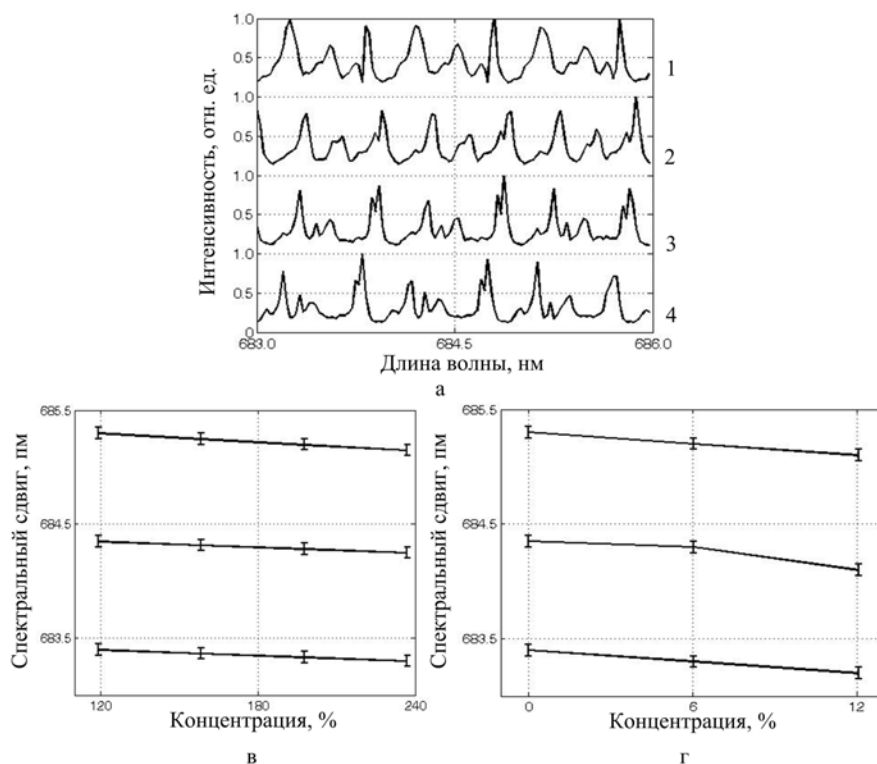
В ближайшее время важной задачей нанофотоники является создание новых микросенсоров, позволяющих анализировать динамику ДНК и белков в клетках организмов. Идентифицировать биологические объекты позволяют рефрактометрические биосенсоры, основанные на резонансных и интерференционных явлениях в фотонных 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.

Разработка и применение интеллектуальных систем на основе искусственных нейронных сетей для решения прикладных задач, и для классификации биологических соединений в частности, является одним из актуальных и разрабатываемых направлений в сфере информационных технологий.

Отработке экспериментальной методики исследования биологических соединений в растворах с помощью спектроскопии оптического резонанса МШГ, а также возможности использования аппарата искусственных нейронных сетей для классификации биологических соединений, исследуемых с помощью разрабатываемого биосенсора, [1–3] посвящена эта работа.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ РАСТВОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОГО РЕЗОНАНСА МШГ**

В ходе эксперимента мы попытались смоделировать состав крови и применить, разработанную выше методику на полученных фантомах крови. Сначала готовился раствор белка – альбумина в де ионизированной 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 (в) и NaCl (г)

На рис. 1 представлены спектры резонансов МШГ, а также зависимости их от концентраций альбумина (рН 7.0, Albumin Fraktion V, AppliChem, GmbH) и NaCl в де-ионизированной 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 более детальные исследования выполнить в последующем.

Ряд белков, входящих в состав крови, являются весьма важными индикаторами 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 забо-

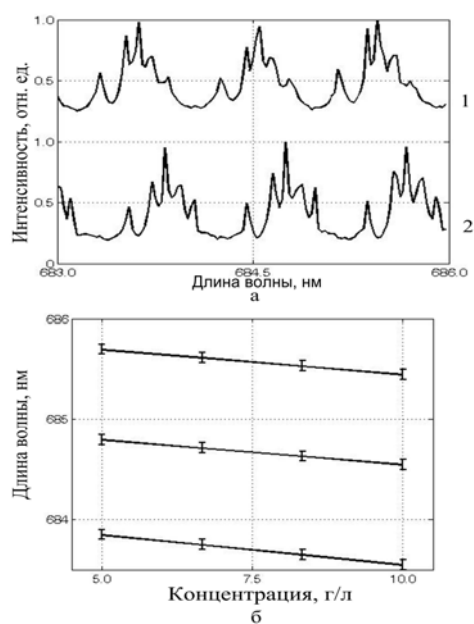


Рис. 2. Спектры резонансов МШГ (а) в водном растворе С–реактивного белка при концентрации 10 (1) и 5(2) г/л, а также спектральные сдвиги резонансов МШГ от концентрации С– реактивного белка (б)

леваний. 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.

## НЕЙРОСЕТЕВОЙ КЛАССИФИКАТОР БИОЛОГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

В задачах классификации в биомедицине применяются как вероятностные нейронные сети (ВНС), так и многослойного перцептрон (МП) и алгоритм обратного распространения ошибки. В качестве нейронной сети нами использовалась ВНС, важными преимуществами которой является вероятностный смысл выходных параметров (поэтому их легче интерпретировать) и достаточно быстрое обучение сети.

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

Для целей настоящей работы использовалась информация об объекте исследования, представленная в виде видеоизображений, полученных при помощи цифровой видеокамеры в формате .avi и обработанных в пакете Matlab Image Processing Toolbox [1-3]. В качестве входных данных использовались следующие величины: относительный (по отношению к свободному спектральному интервалу) спектральный сдвиг частоты оптического резонанса МШГ при в микросфере [1–3] и относительная эффективность возбуждения МШГ проявляющихся в пределах свободного спектрального интервала, которые изменялись в зависимости от концентрации исследуемых веществ. 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:

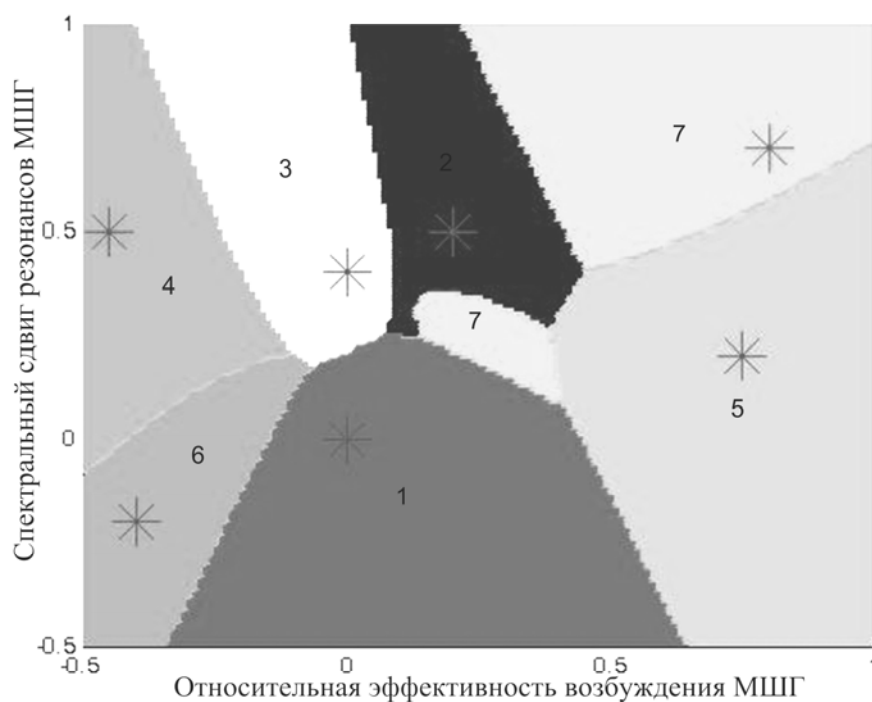
$$\frac{(\nu - \nu_0) / \Delta \nu_{FSR}}{\int_{FSR} I(\nu) I_{max} d\nu} \quad ((1))$$

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:

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

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

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 – в 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 возрастет. 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 %.



*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

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

## ЛИТЕРАТУРА

1. Саечников, В. А. Использование оптического резонанса мод шепчущей галереи в микросферах для обнаружения и идентификации биологических соединений в режиме реального времени / В. А. Саечников, Э. А. Чернявская // ЖПС. 2010. Т. 77, № 5. С. 774–781.
2. Чернявская, Э. А. Обнаружение и идентификация микро/нано частиц и компонент крови с использованием оптического резонанса мод шепчущей галереи в микросферах / Э. А. Чернявская, В. А. Саечников // ЖПС. 2010. Т. 77, № 5. С. 751–759.
3. Saetchnikov, V. A. Optical micro resonance based sensor schemes for detection and identification of nano particles and biological agents in situ / V. A. Saetchnikov, E. A. Tcherniavskaia, G. Schweiger, A. Ostendorf // Proceedings of SPIE. 2010. Vol. 7712. P. 771221–771232.
4. Чернявская, Э. А. Применение нейронных сетей в задачах классификации биологических соединений по характеристикам оптического резонанса мод шепчущей галереи. / Э. А. Чернявская, В. А. Саечников // ЖПС. 2011. Т. 78, № 3. С. 485–488.