DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.01.002
第24卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 1
2002年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2002

文章编号:1000-5404(2002)01-0003-03

论著

组合靶基因自动检测仪应用软件的设计

黄 庆,刘明华,张 雪,黄君富,陈 鸣,蒋天伦,张 波,府伟灵 (第三军医大学附属西南医院检验科,重庆 400038)

提 要:目的 研制与开发组合靶基因自动检测仪应用软件。方法 应用VB6.0编程语言及Access 97数据库实现压电石英谐振频率的实时检测与分析。结果 实现了组合靶基因自动检测仪压电石英谐振频率的实时检测、数据分析、结果保存与数据转换等。结论 组合靶基因自动检测仪应用软件是一类可实时检测与分析压电石英谐振频率的新型实用性软件,可广泛应用于压电石英谐振频率的检测。

关键词:基因芯片;压电基因传感器;应用软件
中图法分类号:R197.39;R319 文献标识码:A

Design and development of a software for an quartz crystal microbalance-based gene analyzer

HUANG Qing, LIU Ming-hua, ZHANG Xue, HUANG Jun-fu, CHEN Ming, JIANG Tian-lun, ZHANG Bo, FU Wei-ling (Department of Clinical Laboratories, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To design and apply a software of the gene analyzer based on quartz crystal sensor array. Methods The frequency of the pieoelectric quartz crystal (PQC) resonance was detected and analyzed in real-time with the software programmed with Microsoft Visual Basic Version 6.0 (VB6.0) and Microsoft Access 97 database. Results The designed software realized the detection of PQC frequency, data analysis and exchange, and result save in real time during the objective gene analysis. Conclusion The software for the gene analyzer is a new valid software that can detect and analyze the frequency of the PQC resonance, and should be widely used.

Key words: gene chips; piezoelectric gene sensors; software

组合靶基因自动检测仪(Gene Analyer)是一类将压电石英谐振传感技术、微细加工技术与生物芯片技术相结合的应用于临床基因诊断的新型检测仪。目前,已成功地应用于人乳头瘤病毒及结核分枝杆菌所致疾病的临床基因诊断[1,2]。在该仪器的研制过程中,其应用软件的开发与研制在整个仪器的研发过程中发挥了重要作用,为该仪器的研制成功奠定了坚实基础。本研究就组合靶基因自动检测仪应用软件的设计与研制作一介绍。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 应用程序 美国Microsoft公司Visual Basic V6.0(VB6.0)、Microsoft Access 97和Microsoft Excel 97。

1.1.2 主要仪器 组合靶基因自动检测仪由本单位自行研制。该检测仪由压电石英晶体揩振微阵列芯片、晶体振荡电路、频率采集电路及后端处理计算机组成[3]。与该仪器应用软件密切相关的具体硬件组成主要有:压电石英晶体谐振微阵列芯片、晶体振荡电路、频率采集电路、缓冲电路、10 MHz标准时钟源、配置不低于PII以上的计算机系统、频率记数仪以及个人电脑组成。组合靶基因自动检测仪的基本工作原理是利用压电石英谐振晶体对表面微质量变化敏感的特性,将DNA探针分子固定于镀有金或银膜层的石英晶体支持物上,当探针与靶分子的杂交后会使晶体表面微质量的发生改变,从而导致石英晶体谐振频率的改变(下降),通过检测石英晶体谐振频率的变化值即可判断样品有无靶分子,以及靶分子数量的多少[1~4]。

1.2 方法

1.2.1 软件编制 采用VB6.0编程语言编程及编译各应用界面窗口,用Microsoft Access 97数据库保存实时检测数据及相关信息,用VB6.0的相关控件以表格及趋势图的方式显示以往或实时的(原始或处理后)测量结果,以图表的方式显示或保存已测量的晶振频率的各阶段趋势图和总趋势图;能自动将已测量的晶振频率(原始或处理后)的测量结果转换到Microsoft Excel 9X/2000格式,以便操作者在Excel操作环境中进行有关分析。

1.2.2 处理方法 频率采集的处理:频率等于单位时间内所测得的脉冲数,对本系统而言,也就是某对级连计数器的计数值(如1#和2#计数器)。计算机根据操作者输入的采集时间间隔(如1s或20s),自动采集该间隔长度的实时频率值,并将其保存至Access数据库中。

测量结果的保存:每次试验结果产生的记录有近3 000条,如果将每次的试验结果保存在相同的数据库和相同的表中,那会严重影响整个软件的运行速度,甚至可能造成无法正常实时采集晶振的输出频率。采用临时数据库保存试验时的测量结果,每次试验完毕后自动保存在另一数据库中(该库保存所有的测量结果)。

测量结果的显示:用Datagrist控件显示实时的或以往的测量结果和有关信息(如测量阶段,某阶段的测量序列号,测量时间等)。用Mschart控件显示测量频率的分段趋势图和总趋势图,并将趋势图保存在相应图形文件中。

基金项目:国家"九五"科技攻关项目(96-A23-04-04);国家自然科学基金资助面上项目(39870831);国家高技术计划生物技术领域青年基金资助项目("863"项目);全军"九五"医学科研计划资助面上项目(98MO94);全军"十五"医学科研计划资助面上项目(01MA180);全军"十五"医学科研计划指令性课题(01LO65);重庆市科委风险投资基金资助项目
作者简介:黄 庆(1971-),男,四川省眉山市人,硕士,主治医师,讲师,主要从事分子生物学、基因诊断与治疗方面的研究。电话:(023)68754429,E-mail:qhuang@mail.tmmu.com.cn
通信作者:府伟灵(E-mail:weilingfu@yahoo.com)
收稿日期:2001-10-30;修回日期:2001-12-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

测量结果的处理: 各试验阶段均需一定时间, 其晶振输出频率才能稳定, 处理时自动判断各阶段是否已达到稳定, 仅对达到稳定后的测量结果进行处理。即: 剔除测量过程中的粗大误差值即变化跳跃过大、不合实际的频率值后, 用 5 点平移平均法处理各阶段的测量频率, 并将处理后的结果保存在数据库中。

测量结果转换: 采用粘贴、拷贝等技巧, 将某晶振的测量结果转换到 Excel 环境中。操作者进行完有关分析后自动返回运行系统环境。

防止误操作的处理: 采用自动提示方式防止操作者输入不合理的信息; 采用输入密码的方式防止操作者误退出运行系统。

2 结果

软件运行时仅有一个主界面, 在主界面中点击相关命令显示相应子界面。具体包括检测信息、实时检测、数据图表、参数设置、文件处理、数据分析六个子界面, 见图 1A。

检测信息: 在该界面中显示已有检测基因芯片编号, 输入新检测编号, 输入检测开始段等。

实时检测: 持续显示各通道的实际频率值, 有开始、停止、继续、退出、总趋势、分段趋势等命令, 显示采集时的阶段号, 采集序列号、采集进度, 趋势图等, 且分段趋势图可放大缩小。

数据图表: 既可反映实时检测数据, 又可回顾性地察看已完成的以往检测数据, 数据资料完整, 主要包括阶段号、序列号、上移值 F0 等 8 项参数, 见图 1B。

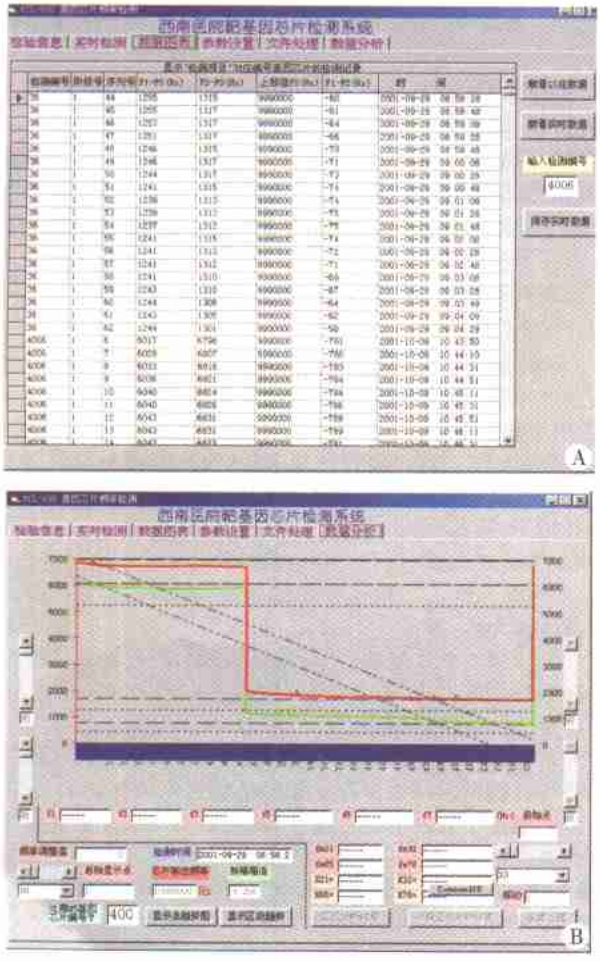


图 1 组合靶基因自动检测仪应用软件界面 A: 数据图表; B: 数据分析

Fig 1 Interfaces of the software for the gene analyzer

A: Data graph; B: Data analysis

参数设置: 通过该界面可定制/输入/显示各检测阶段的反应与检测条件, 主要包括各检测阶段名称与检测时间、检测过程的波动条件(即相邻采集频率的波动值)、处理时各阶段稳定条件等。

文件处理: 有删除、转换命令等。删除命令将已有的某晶振频率测量结果从数据库中删除; 转换命令将已有的某晶振测量结果粘贴到 Microsoft Excel 97 表格中。

数据分析: 可显示某一晶振的原始测量结果的各阶段趋势图和总趋势图, 执行有关命令后, 显示某一晶振的处理后的各阶段趋势图和总趋势图、各阶段的平移平均后的平均频率。分段趋势图可放大缩小。各分段趋势图和总趋势图可选择地以图形文件保存, 以便后期分析处理与应用。

应用: 目前, 该软件已成功地应用于组合靶基因自动检测仪核酸杂交反应动力学与热力学特性研究, 准确地评价了诸如环境温度、气压、磁场起伏、冲击震荡、介电常数、电导、流过晶体的激励电流起伏等组合靶基因自动检测仪外界影响因素, 以及离子强度和温度、靶序列浓度、靶序列长度、碱基不匹、结合位点、探针长度等影响 DNA 杂交反应的内在因素, 并在金膜和银膜电极对比研究中发挥了重要作用。在临床疾病及相关检测应用中, 该软件已成功地应用于人乳头瘤病毒、结核分枝杆菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)mecA 基因和 femA 基因的检测[1~4]。

3 讨论

随着基因芯片技术的飞速发展, 基因芯片已逐步成为临床基因诊断的重要手段之一。在多种形式的基因芯片技术中, 建立在压电传感基础上的压电基因传感器是近年发展起来的一种新的基因芯片技术[5~7]。我们研制的组合靶基因自动检测仪正是将压电石英谐振技术、微细加工技术与生物芯片技术紧密结合的新型基因芯片。目前, 该仪器已成功地应用于人乳头瘤病毒和结核分枝杆菌所致疾病的临床基因诊断, 以及耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)mecA 和 femA 基因的特异性抗药谱研究。

组合靶基因自动检测仪应用软件的工作基础是基于 DNA 杂交反应导致压电石英晶体表面微质量的改变(下降)。该软件通过特定的方式来实现晶振频率变化的实时采集, 并通过一定的算法将晶振频率变化以趋势图, 包括整个检测过程的总趋势图和分段检测过程的分段趋势图来显示, 直观形象地为研究者提供详细的数据, 大大加快了组合靶基因自动检测仪的研究进度, 并为该仪器的研制成功奠定的坚实的基础。

在软件系统设计上, 首先考虑了软件操作的易用性与简便性, 因此, 设计了检测信息、频率检测、数据表格、参数设置、文件转换、数据处理等分别具有不同功能, 但又相互密切相关的六个子功能应用窗口界面, 从而大大简化了操作的复杂性, 使研究者能直观生动地观察到整个检测过程及分段检测过程的实时进程, 大大促进了研究工作的顺利进行。其次, 在频率数据的分析处理上, 对频率采集数据的处理、检测结果的保存/显示/处理/转换等均结合 DNA 杂交反应的特异性进

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

行了软件编程及医学统计学上的综合考虑，不仅实现了对采集频率时间间隔的自由控制，同时，检测结果实现了自动存盘，可将检测结果以总趋势图与分段趋势图直观形象地显示，还可将检测结果输入第三方应用软件 Microsoft Excel 9X/2000 进行进一步的后期处理。对于检测结果的统计学处理，我们主要采取了剔除误差过大频率值算法，同时，在综合评价频率数据的多种处理方式后，我们采用了 5 点平移法处理各时段的频率数据，实现了对频率检测结果趋势图的平滑处理。

组合靶基因自动检测仪应用软件是一类可实时检测与分析压电石英晶体揩振频率的新型实用性软件，可广泛地应用于基于压电石英谐振传感器类基因芯片的频率检测与结果分析。

（致谢：感谢重庆三晶科技发展有限公司在该软件的研制与开发中的大力支持与鼎力协助！）

参考文献：

[1] 汪江华，府伟灵，王颖莹，等. 组合靶基因自动检测仪快速检测人乳头瘤病毒[J]. 中华检验医学杂志，2000，23(5)：264－266.
[2] 王颖莹，府伟灵，张 伟，等. 应用压电基因传感器芯片检测结核分枝杆菌 DNA[J]. 中华医院感染学杂志，2000，10(6)：418－420.
[3] 刘明华，府伟灵，汪松林，等. 压电基因传感器阵列的初步构建[J]. 第三军医大学学报，2001，23(7)：810－812.
[4] 汪江华，府伟灵，王颖莹，等. 压电基因传感器技术在快速诊断 HPV 中的应用[J]. 中国检验与临床，2000，1(1)：23－24.
[5] Niikura K, Matsuno H, Okahata Y. Direct monitoring of DNA polymerase chain reaction on a quartz crystal microbalances[J]. J Am Chem Soc, 1998, 120(3): 8 537－8 540.
[6] Faweett N C, Evans J A, Craven R D, *et al*. Nucleic acids hybridization detected by piezoelectric resonance[J]. Anal Lett, 1988, 21(4): 1 099－1 114.
[7] Fredriksson C, Kihiman S, Rodahl M, *et al*. The piezoelectric quartz crystal mass and dissipation sensor: a means of studying cell adhesion[J]. Langmuir, 1998, 14(3): 248－251.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2002)01-0005-01

个案与短篇

0.2%罗哌卡因硬膜外分娩镇痛的临床观察

Clinical study on epidual analgesia in childbirth with 0.2% Ropivacaine

王秀琼，陶国才 （第三军医大学附属西南医院麻醉科，重庆 400038）

罗哌卡因是一新型长效酰胺类局麻药，低浓度时具有感觉运动分离的特点[1]，适用于分娩镇痛。我院用 0.2%罗哌卡因硬膜外持续输注进行分娩镇痛，取得了较好的效果。

1 资料与方法

选择足月初产妇 60 例，ASA Ⅰ－Ⅱ级，随机分为Ⅰ组：罗哌卡因和Ⅱ组：布比卡因-芬太尼。

待产妇宫口开至 2～3 cm 时，按常规于 $L_{2\sim3}$ 或 $L_{3\sim4}$ 穿刺置管，推注 1%利多卡因 3～5 ml，5 min 后Ⅰ组推注 0.2%罗哌卡因 8 ml，Ⅱ组推注 0.125%布比卡因 10 ml，30 min 后用微量输液泵经硬膜外导管连续输注镇痛药，Ⅰ组 0.2%罗哌卡因 7 ml/h，Ⅱ组 0.0625%布比卡因-0.0002%芬太尼 10 ml/h。根据需要随时调整速度，至宫口开全停药。

常规监测生命体征、观察镇痛效果、运动阻滞情况、胎心率；记录产程、分娩方式；新生儿 Apgar 1、5 min 评分、出血量。

统计学处理，计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 t 检验，计数资料采用 χ^2 检验。

2 结果

两组产妇麻醉前后血压，心率，呼吸频率无明显变化（$P>0.05$）。镇痛效果：①无痛：Ⅰ组 83%，Ⅱ组 70%；②轻微疼痛：Ⅰ组 17%，Ⅱ组 30%；③无中度及剧烈疼痛。两组剖宫产率、出血量、第一产程活跃期、第二产程、第三产程均无明显变化（$P>0.05$）；器械助产率：Ⅰ组 6.7%，Ⅱ组 16.7%，两组相比差异有显著性（$P<0.05$）。新生儿情况两组新生儿 Apger1、5 min 评分无显著性差异（$P>0.05$）。

3 讨论

我国以往普遍采用布比卡因-芬太尼硬膜外分娩镇痛，镇痛效果满意，但有部分运动神经阻滞，器械助产率明显增加（$P<0.05$），此外，布比卡因有一定的心脏毒性。因此，我们选用心脏毒性较低的罗哌卡因替代。

罗哌卡因硬膜外分娩镇痛，运动阻滞轻[2]。我们用首量 8 ml，以浓度 0.2%速度 7 ml/h 持续硬膜外输注，提供了良好的镇痛效果，且起效快。其中 2 例部分运动组滞，减慢其输注速率，逐渐恢复正常，镇痛仍有效。

综上所述，罗哌卡因镇痛效果良好，运动阻滞轻，且心脏和中枢神经系统毒性低，用于硬膜外分娩镇痛比布比卡因-芬太尼优越。0.2%罗哌卡因用于分娩镇痛用药量存在个体差异，应及时调整输注速度以达到良好的镇痛效果，且不影响产程。

关键词：分娩镇痛；罗哌卡因
中图法分类号：R614.3 文献标识码：B

参考文献：

[1] Zaric D, Nydahl D A, Philipson L, *et al*. The effect of continuous lumbar epidural infusion of ropivacaine (0.1%, 0.2% and 0.3%) and 0.25% bupivacaine on sensory and motor block in volunteers[J]. Reg Anesth, 1996, 21(1): 14－25.
[2] Beilin Y, Calea M, Zahn T, *et al*. Epidural ropivacaine for the initiation of labor epidural analgesia: a dose finding study[J]. Anesth Analg, 1999, 88(6): 1 340－1 345.

（编辑 王 红）

作者简介：王秀琼(1968－)，女，四川省遂宁市人，硕士研究生，主治医师，讲师，主要从事肝移植血凝血方面的研究。电话：(023)68753776

收稿日期：2001-03-20；修回日期：2001-05-16

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net