

- ford.; 1960 *Exptl. Cell Reseach.* 20:613.
- [7] Nesbitt. M. & U. Franke 1973 *Chromosome.* 41:145—156.
- [8] Nicholas W. W. & A. Levan.: 1962 *Blood.* 20:106—126.
- [9] Rowley, D. & C. Leuchtenberger.: 1964 *Lancet.* 2:743—735.
- [10] Willard, G. H., I. B. H. Hoppe & P. Nellesheim.: 1965 *Proc. soc. Exptl. Biol. Med.* 118:993—996.

用扫描数据计算细胞颗粒密度*

张跃进 蔡永和 华强

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

胚胎发育过程中,细胞中的颗粒分布随发育的进展发生变化。为了更确切地描述这些变化,就需要选择一定的指标进行测算。譬如间隙连接是细胞质膜的特化结构,由膜内颗粒(Intramembranous particle, 简称 IMP)聚集而成(见图版)^[1]。这些 IMP 的分布面积的大小以及它们的密度等等都是说明它们变化的指标,也是发育生物学学者所关心和感兴趣的。要进行上述指标的测算,首先将颗粒分布的区域拍成电镜图片的正片或负片,然后经过反射式或透射式光密度扫描,同时将图像数字化,存入磁盘,由微处理机作进一步处理。

目前最常用的把一幅图像转换为适于输入到数字计算机的设备的设备是显微光密度计、飞点扫描器、析象管和电视摄像机数字化转换器。这些设备耗资都很昂贵。我们从现有设备情况以及需要处理样品的要求出发,把一台 CS-900 薄层扫描仪(或国产同类型号仪器),稍经改造后(以由单板机控制的步进电机,代替原设备上垂直方向扫描的驱动电机),使原有的 ZIGZAG 扫描(一种之字形的双向扫描)的分辨率提高近 4 倍。该设备原来垂直分辨率为每 mm 获得 1~2 个数据,经改造后为每 mm 能获得 7 个数据。这样便能将一幅不大于 $3 \times 10 \text{ cm}^2$ 的图像(由于受 CS-900 扫描仪行程的限制)经其扫描和数字化后送入微处理机的内存。从行式打印机上获得的数字图像能满意地反映出原电镜照片上 IMP 分布的真实情况。

CS-900 是机械式扫描仪,其输出的电信号经由 $\mu\text{C-Z 80}$ 单板机控制的 8 位 16 路 A/D 转换器数字化,获得的数字化图像由 TRS-80 的 BASIC 程序进行处理。其图像处理的窗口,类似于照相取景框。具体方法是在白纸上开一个窗口,其形状按所要处理的细胞内颗粒分布的范围而定,但因受输入设备扫描行程的限制其面积不得大于 $3 \times 10 \text{ cm}^2$ 。这样的窗口可以避免细胞颗粒出现在边界上而造成的误差。把开了窗口的白纸覆盖到放大适当倍数的电镜照片上,使窗口与所要处理的区域相重合,再将其置于 CS-900 薄层扫描仪中进行反射式光密度或透射式光密度 ZIGZAG 扫描,在计算机软件的控制下能获得一个反映照片上灰度值的二维数字矩阵。

TRS-80 微处理机的处理程序由一系列模块程序所组成。图 2 为程序框图。其中第一个程序模块是控制数据输入。第二个程序模块按某个确定的灰度等级阈值 D_L 来鉴别 IMP 及照片本底,同时给每个 IMP 定位。而 D_L 值可以从灰度等级直方图中得到^[2]。

$$D_L = D_b - f(D_b - D_c)$$

其中 D_b 为直方图中灰度等级出现次数最多的值, D_c 为灰度等级中的最小值, f 为一个小于 1 的系数。当测得某位置上的灰度等级小于 D_L , 那末该位置认为是照片本底,反之则

* 曾弥白同志对本文提出许多宝贵意见,在此致谢。

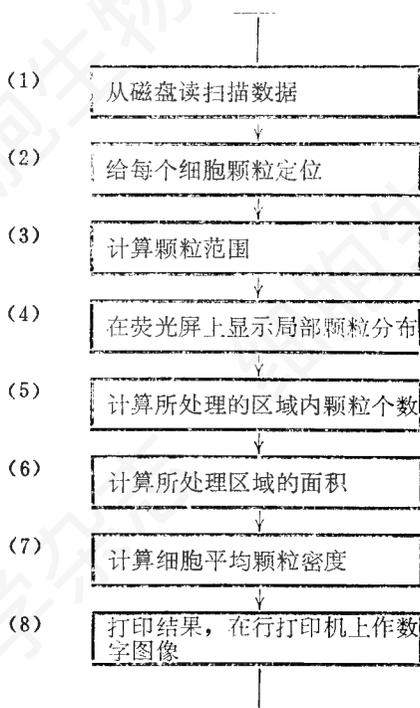


图 2 程序框图

认为可能是 IMP 的一部分 (如果处理的是负片, 则相反)。在第三个程序模块中决定一个大于 D_L 的点是否构成 IMP。由于需要处理的 IMP 通常直径为 $1\mu\text{m}$ 左右 (这可以由控制图片放大倍数的方法来得), 考虑到最小的 IMP 处于最差的位置时, 由估算结果表明在扫描过程中至少应获得大于 D_L 的 5~6 个数据, 因此约定构成 IMP 的条件为大于 D_L 的相连点必须大于 4 个, 另外如果一个大于 D_L 的点能找到与某个 IMP 相连的四个相邻点, 则该点便合并到该 IMP 中, 在这些条件下第五个程序模块就可以对所处理的区域内 IMP 逐行扫描, 进行编号及计数。第四个程序模块提供程序员在必要时观察中间结果的可能性, 它可以显示局部区域 IMP 的分布情况, 判断所选择的阈值 D_L 是否恰如其分, 既要使得每个 IMP 彼此分得开, 但又不能漏掉个别小的 IMP。第六个程序模块计算处理窗口内的数据个数 N , 且由下式决定所处理区域的面积 (S):

$$S = N \frac{L}{\tau} VT^2 (\text{mm}^2)$$

其中 L 为垂直扫描幅度, τ 为垂直扫描半周期, V 为水平扫描速度, T 为采样周期。于是通过第七个程序模块可获得 IMP 平均密度

$$C = \frac{M \times B^2}{S \times 10^6} [\text{个}/(\mu\text{m})^2], \text{ 其中 } M \text{ 为所处理}$$

区域内的 IMP 个数, B 为照片放大倍数, S 为以 $(\text{mm})^2$ 为单位的处理区域之面积。最后第八个程序模块使用行式打印机输出结果以及作出 IMP 分布的数字图像 (由于行打速度较慢, 后者可以省略)。表 1 为七张照片的处理结果。处理结果表明得到的数据和用成套专用仪器测得的相近。然而由于① 照片上各颗粒灰度不均

表 1 微机处理结果

序号	编号	平均 IMP 密度 [个/(\(\mu\text{m})^2\)]
1	No. 2968	6941(6621)*
2	No. 2970**	7459(7045)
3	No. 3127 a	6319(6678)
4	No. 4969	8184(8123)
5	No. 5042	6112
6	No. 4181	7459(8163)
7	No. 5445 a	5490

* 括号内数据为中科院生理所徐嘉芳同志用 C. M. Technologies 测得之结果。

** 间隙连接见图版。

注: 表中编号为 No. 2970 (曾弥白, 王新民, 1984)^[1]

匀使得所选择的 D_L 不能面面俱到, 而造成测量误差。② 窗口的边缘效应。③ 局部测算结果与整体指标之间的差别等因素, 都给这方法带来测算误差, 但与抽样人工验算相比较其系统误差 $< 10\%$ 。这是一个以最简单的图像输入设备解决微机图像处理问题的简单而可行的方法。它比用笔触式输入方式来计算 IMP 密度的方法不仅减少了人为参与的因素, 而且降低了操作人员的劳动强度。该方法对一些其它的简单图像处理问题也能适用, 如激光光斑模式

测定,放射自显影银粒定量分析等等。但该方法受输入设备限制,不能直接对面积较大的整个颗粒分布的区域进行处理,使得该方法有一定的局限性。遇到这种情况,可以对整个区域的多个部位逐次进行测算,然后求其平均值作为最后结果,以此来弥补上述局限性所造成的误差。然而这样做增加了处理时间。另外由于数据采集系统和微处理机之间的数据通道不是DMA形式也延长了处理时间。为此对于大面

积较复杂的图像处理问题,就必须建立分辨率高的图像输入装置。

参 考 文 献

- [1] 曾弥白,王新民。1984。实验生物学报, 17(2):219—243。
 [2] Groen, F. C. A, Verbeek, P. W. and Ploes, W. Van der, 1977, Computation of DNA-based parameters from chromosome scans. From Informatik-Fachberichte 8, digitale 8, digitale Bildverarbeitung (Herausgegeben Von h. -H. Nagel):21—30.

细胞工程讲座

动物细胞工程的现状和展望

叶 敏

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

70年代开始,由于DNA重组和细胞融合技术的迅速发展,使生物工程进入了一个崭新的发展阶段。据不完全统计全世界生物工程公司近400个,美、日、西欧各国以及苏联等无一不卷入在这场技术革命中,有人估计到2000年全世界生物工程的总经费将达640亿美元左右,生物工程热正波及着整个世界。

作为生物工程主体之一的细胞工程,由于淋巴细胞杂交瘤和单克隆抗体的大力发展和应用,也在迅速崛起,在我国,单抗的研制在最近几年中也如雨后春笋。然而细胞工程决不限于单抗,它的内容应当广阔得多。本文将从动物细胞工程方面予以说明,以引起大家的注意和讨论,也许会有利于对这领域的理解,从而得到应有的更大发展。

一、什么是动物细胞工程

单就“细胞工程”这个名词而言,在西方国家的杂志书刊中尚未见到相应的提法,日本有称为“细胞工学”的期刊。英文译名为Cell Technology,但Cell Technology这一名词的含意可以甚广,不一定能体现它是属于生物工程的范畴。如果套用遗传工程的说法,细胞工程似应译为Cellular Engineering,这名词虽曾用过,

但原意是指用细胞移植的方法来取代体内机能缺损的细胞,是否会引起误解,另一种译法可为Cell Biotechnology,也许更能表达它的本意。

细胞工程或动物细胞工程的意义是什么?究竟应包括那些内容,迄今尚无定论。有人提出[1]它是应用细胞生物学和分子生物学的方法,按照人们设计的蓝图,有计划地改变细胞内遗传物质的技术和发展这种技术的领域。如果是这样,那么只有牵涉到改变细胞遗传物质的技术领域才算作细胞工程的范围。然而从更广义的内容来看,在体外培养和繁殖大量的细胞以获得细胞产品或利用细胞本身的技术领域也应包括在内。其次细胞工程是渗透有工程学的生物学,是一门综合的科学技术,它的成果最终要落实到能提供产业化规模的产品,因而定义上最好能反应出结合工程科学的含意在内。

二、动物细胞工程所涉及的技术领域

动物细胞工程所涉及的主要技术是细胞融合,细胞拆合、染色体导入和基因转移这四个方

• 本文承孝德教授审阅,并提出宝贵意见,谨致谢意。