

$\gamma=0$, боковой уход ионов по обе стороны границы раздела равновероятен. На расстоянии $5\Delta R_{p,l}\Delta R_{p,l}$ от границы раздела «окно-маска» концентрация примеси сформированной модельным профилем $\beta_2=5$ в 10^3 выше сформированной модельным профилем $\beta_1=3$. Концентрация примеси сформированной модельным профилем $\beta_2=5$ отличается от сформированной модельным профилем $\beta_3=10$ незначительно.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Комаров Ф. Ф. Ионная и фотонная обработка материалов. Мн.: Белгосуниверситет, 1998. 209 с.
2. Runge H. Distribution of Implanted Ions under Arbitrarily Mask Edges // Phys. Stat. Sol.(a). 1977. V.39, P. 595–599.
3. Буренков А. Ф., Комаров Ф. Ф., Темкин М. М. Аналитический расчет ионной имплантации через окно в маске // Микроэлектроника. 1987. Т.16, №1. С.15–21.

МАСШТАБИРОВАНИЕ КРИВЫХ МНОГОЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ГЛОБАЛЬНОГО АНАЛИЗА МЕТОДОМ ФАЗОВЫХ ВЕКТОРОВ

А. В. Дигрис

*Кафедра системного анализа и компьютерного моделирования,
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
E-mail: digris@bsu.by*

В данной статье представлен алгоритм вычисления оценок коэффициентов масштабирования для многоэкспоненциальной модели, который может использоваться совместно с методом фазовых векторов при глобальном анализе кривых затухания флуоресценции. Применение предложенного алгоритма в дополнение к результатам самого метода фазовых векторов обеспечивает возможность расчета значений критериев, необходимых для контроля качества проведенного анализа данных.

Ключевые слова: флуоресцентная спектроскопия; глобальный анализ данных; многоэкспоненциальная модель; метод фазовых векторов.

Введение. Для исследования свойств биофизических систем с учетом их пространственных размеров широко используется флуоресцентная микроскопия в сочетании с методом однофотонного счета [1]. В ходе таких измерений получают совокупность кривых затухания флуоресценции, для глобального анализа которых часто используется метод фазовых векторов [1, 2], в сочетании с многоэкспоненциальной моделью вида:

$$f(t) = N\Phi(t) = N \int_0^t I(t-x)g(x)dx; I(t) = \sum_{m=1}^M a_m e^{-t/\tau_m}, \quad (1)$$

где $g(x)$ – функция отклика оборудования, N – параметр масштабирования, a_m и τ_m – относительный вклад и время затухания флуоресценции для m -й экспоненты, соответственно.

Алгоритм метода фазовых векторов [1, 2] позволяет получать оценки параметров a_m и τ_m ($m = 1, \dots, M$) в предположении, что число экспонент и соответствующие им значения τ_m одинаковы для всех кривых затухания в наборе, в то время как значения a_m для различных кривых могут отличаться. В то же время метод фазовых векторов не позволяет оценить значения параметров масштабирования N , которые необходимы для обеспечения соответствия между измеренными и рассчитанными по формуле (1) кривыми. Данное соответствие необходимо для корректного вычисления значений критериев оценки качества проведенного анализа, таких как нормированное значение целевой функции, значения взвешенных остатков и т.д. [3]. В данной статье предлагается алгоритм получения оценок параметров N , позволяющий решить описанную выше проблему.

Масштабирование кривых затухания флуоресценции. Для оценки параметров N в формуле (1) может использоваться метод максимального правдоподобия [3]. Поскольку статистический шум в кривых затухания флуоресценции носит пуассоновский характер, то оценки N могут быть получены путем минимизации целевой функции вида [3]:

$$\chi^2 = \frac{2}{v} \left\{ \sum_{j=1}^L \sum_{i=1}^{K_j} \left(y_i^j \ln \left[\frac{y_i^j}{f_i^j} \right] - y_i^j + f_i^j \right) \right\}, \quad (2)$$

где y_i^j и f_i^j – значения i -х экспериментальной и теоретической кривых затухания флуоресценции в i -м временном кармане, соответственно, K_j – число временных карманов в j -й кривой, L – число кривых в наборе, v – число степеней свободы.

Для нахождения оценок коэффициентов масштабирования N^s ($s = 1, \dots, L$) подставим выражение (1) в (2) вместо f_i^j и составим уравнение, взяв частную производную по N^s и приравняв ее к 0. С учетом того, что от N^s зависит только s -е слагаемое внешней суммы в формуле (2), получим:

$$\frac{\partial \chi^2}{\partial N^s} = \frac{2}{v} \sum_{i=1}^{K_s} \left(-y_i^s \frac{1}{N^s \Phi_i^s} \Phi_i^s + \Phi_i^s \right) = 0 \quad (3)$$

Из последнего уравнения получаем формулу для вычисления оценок масштабирующих коэффициентов:

$$N^s = \sum_{i=1}^{K_s} y_i^s / \sum_{i=1}^{K_s} \Phi_i^s. \quad (4)$$

Таким образом, для корректного вычисления критериев оценки качества проведенного анализа, теоретические кривые в соответствии с (1) должны вычисляться следующим образом:

1. применяя метод фазовых векторов, получаем оценки времен затухания флуоресценции τ_m и значения вкладов отдельных экспонент a_m^j для каждой анализируемой кривой ($m = 1, \dots, M; j = 1, \dots, L$);
2. получаем независимо для каждой j -й кривой ($j = 1, \dots, L$) оценку масштабирующего коэффициента N^j с использованием выражения (4);
3. используя оценки параметров, полученные при выполнении шагов 1 и 2, вычисляем значения теоретических кривых в соответствии с выражением (1).

Вычислительный эксперимент и результаты. Для проверки корректности предложенного выше подхода для вычисления теоретических кривых, был смоделирован и затем проанализирован набор из 9 кривых затухания флуоресценции. При моделировании использовалась двух-экспоненциальная модель со значениями параметров, приведенными в таблице. Импульс отклика оборудования моделировался с использованием выражения, эквивалентного плотности нормального распределения со средним 2 нс и среднеквадратическим отклонением 0.08 нс.

К смоделированным кривым добавлялся пуассоновский статистический шум. Временной интервал равнялся [0; 20] нс. Полученные оценки параметров приведены в таблице, а пример графиков смоделированной и теоретической кривых, соответствующих им взвешенных остатков и их автокорреляционной функции показаны на рисунке.

Как видно из представленных результатов, оценки параметров для времен затухания флуоресценции и вкладов экспонент близки к точным значениям, использованным при моделировании. Оценки для вкладов экспонент менее точны для первых кривых в наборе из-за менее точного определения первой экспоненты в кривой, для которой при малом вкладе в сумму соответствующая экспонента затухает на меньшем числе временных карманов.

Таблица

Значения параметров двух-экспоненциальной модели, полученные при анализе данных методом фазовых векторов и применении выражения (4).

Номер кривой	τ_1 , нс		τ_2 , нс		a_1		a_2		N
	точное	оценка	точное	оценка	точное	оценка	точное	оценка	оценка
1	1.00	0.99	3.00	3.02	0.10	0.15	0.90	0.85	0.18
2					0.20	0.27	0.80	0.73	0.20
3					0.30	0.26	0.70	0.74	0.20
4					0.40	0,41	0.60	0.59	0.22
5					0.50	0,49	0.50	0.51	0.24
6					0.60	0,59	0.40	0.41	0.27
7					0.70	0,68	0.30	0.32	0.30
8					0.80	0,79	0.20	0.21	0.35
9					0.90	0.90	0.10	0.10	0.41

Графики исходной кривой затухания и теоретической кривой хорошо согласуются друг с другом, что дополнительно подтверждается поведением графиков взвешенных остатков и их автокорреляционной функции. Аналогичные результаты были получены для остальных 8 кривых в наборе. При этом полученные значения параметров масштабирования отличны от 1, что говорит о необходимости их оценки и использования при расчете теоретических кривых. Значение глобального целевого критерия (2), рассчитанного после окончания анализа было равным 1.02. Близость данного значения к 1 подтверждает корректность полученных результатов.

Выводы. Метод фазовых векторов эффективен для глобального анализа наборов кривых затухания флуоресценции с высоким уровнем статистического шума. В то же время, для обеспечения возможности применения критериев оценки качества проведенного анализа в дополнение к результатам самого метода фазовых векторов необходимо оценивать коэффициенты масштабирования, что успешно может быть сделано с использованием выражения (4), представленного в данной статье.

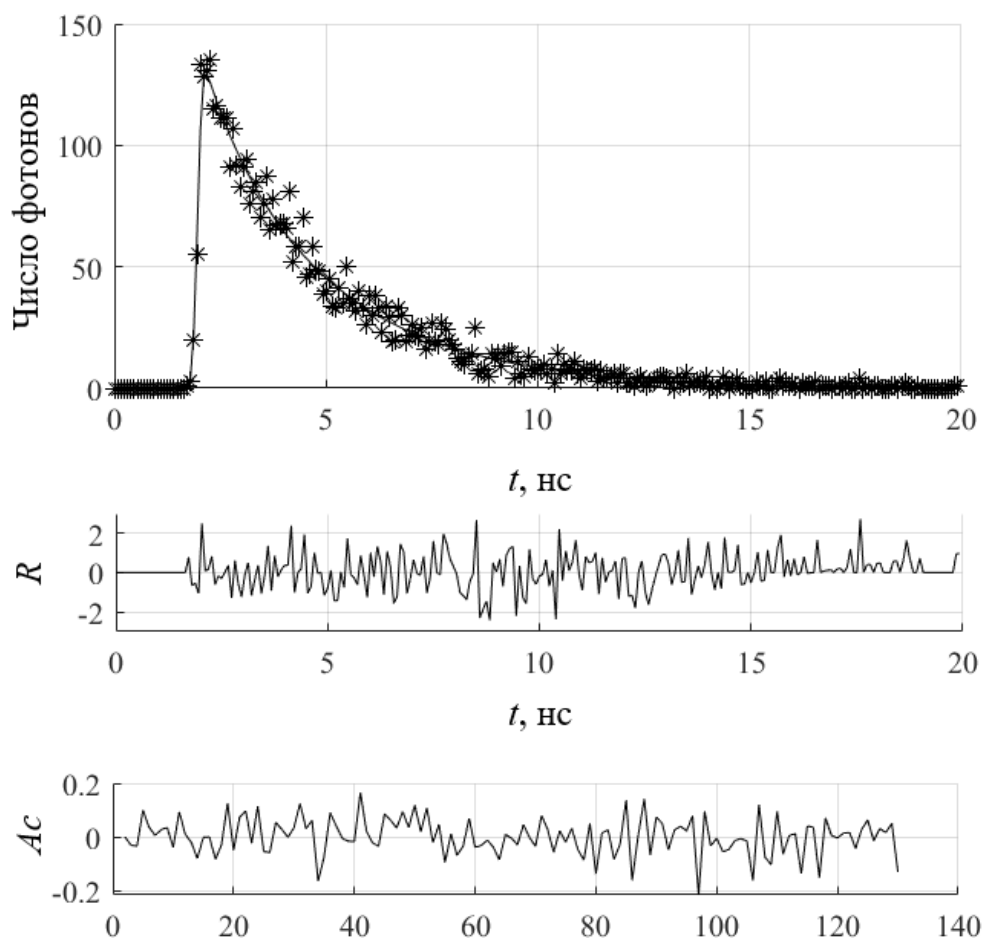


Рис. Пример результатов анализа отдельной кривой. $R(t)$ – взвешенные остатки, Ac – автокорреляционная функция для $R(t)$.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Grecco H. E., Roda-Navarro P., Verveer P. J. Global Analysis of Time Correlated Single Photon Counting FRET-FLIM Data // Opt. Express. 2009. Vol. 17(8). P. 6493–6508.
2. Fereidouni F., Esposito A., Blab G. A., Gerritsen H. C. A Modified Phasor Approach for Analyzing Time-Gated Fluorescence Lifetime Images // Journal of Microscopy. 2011. Vol. 244. P. 248–258.
3. Digris A. V., Novikov E. G., Skakun V. V., Apanasovich V. V. Global Analysis of Time-Resolved Fluorescence Data // In book Fluorescence Spectroscopy and Microscopy: Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology, Springer Protocols. 2014. Vol. 1076. P. 257–277.