

Curve fitting e compensazione su segnali di citometria ad impedenza

Mastrofini Alessandro

alessandro.mastrofini@alumni.uniroma2.eu

Abstract

Lorem ipsum dolor sit amet, consectetur adipiscing elit. Ut purus elit, vestibulum ut, placerat ac, adipiscing vitae, felis. Curabitur dictum gravida mauris. Nam arcu libero, nonummy eget, consectetur id, vulputate a, magna. Donec vehicula augue eu neque. Pellentesque habitant morbi tristique senectus et netus et malesuada fames ac turpis egestas. Mauris ut leo. Cras viverra metus rhoncus sem. Nulla et lectus vestibulum urna fringilla ultrices. Phasellus eu tellus sit amet tortor gravida placerat. Integer sapien est, iaculis in, pretium quis, viverra ac, nunc. Praesent eget sem vel leo ultrices bibendum. Aenean faucibus. Morbi dolor nulla, malesuada eu, pulvinar at, mollis ac, nulla. Curabitur auctor semper nulla. Donec varius orci eget risus. Duis nibh mi, congue eu, accumsan eleifend, sagittis quis, diam. Duis eget orci sit amet orci dignissim rutrum.

1 Introduzione

Lorem ipsum dolor sit amet, consectetur adipiscing elit. Ut purus elit, vestibulum ut, placerat ac, adipiscing vitae, felis. Curabitur dictum gravida mauris. Nam arcu libero, nonummy eget, consectetur id, vulputate a, magna. Donec vehicula augue eu neque. Pellentesque habitant morbi tristique senectus et netus et malesuada fames ac turpis egestas. Mauris ut leo. Cras viverra metus rhoncus sem. Nulla et lectus vestibulum urna fringilla ultrices. Phasellus eu tellus sit amet tortor gravida placerat. Integer sapien est, iaculis in, pretium quis, viverra ac, nunc. Praesent eget sem vel leo ultrices bibendum. Aenean faucibus. Morbi dolor nulla, malesuada eu, pulvinar at, mollis ac, nulla. Curabitur auctor semper nulla. Donec varius orci eget risus. Duis nibh mi, congue eu, accumsan eleifend, sagittis quis, diam. Duis eget orci sit amet orci dignissim rutrum.

Nam dui ligula, fringilla a, euismod sodales, sollicitudin vel, wisi. Morbi auctor lorem non justo.

Nam lacus libero, pretium at, lobortis vitae, ultricies et, tellus. Donec aliquet, tortor sed accumsan bibendum, erat ligula aliquet magna, vitae ornare odio metus a mi. Morbi ac orci et nisl hendrerit mollis. Suspendisse ut massa. Cras nec ante. Pellentesque a nulla. Cum sociis natoque penatibus et magnis dis parturient montes, nascetur ridiculus mus. Aliquam tincidunt urna. Nulla ullamcorper vestibulum turpis. Pellentesque cursus luctus mauris.

2 Background

Il citometro ad impedenza è un dispositivo COMPLETA COMPLETA

Ovvero non è altro che un microcanale riempito di un buffer conduttivo al cui interno passano delle correnti elettriche. Nel dispositivo in questione si applica un potenziale all'elettrodo centrale e si misura una corrente differenziale tra i due elettrodi laterali.

METTI CREF FIGURA

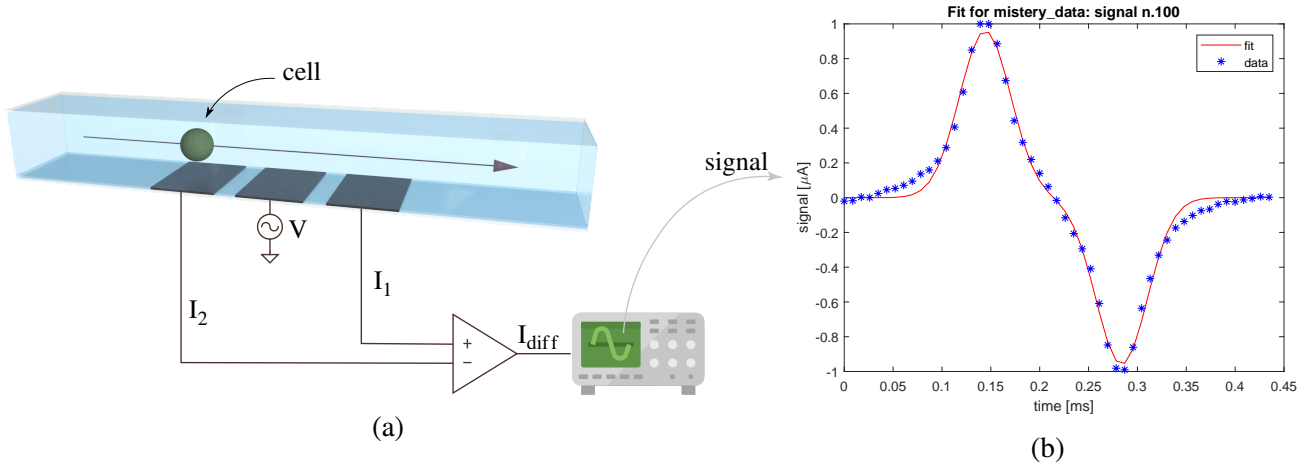


FIG. 1

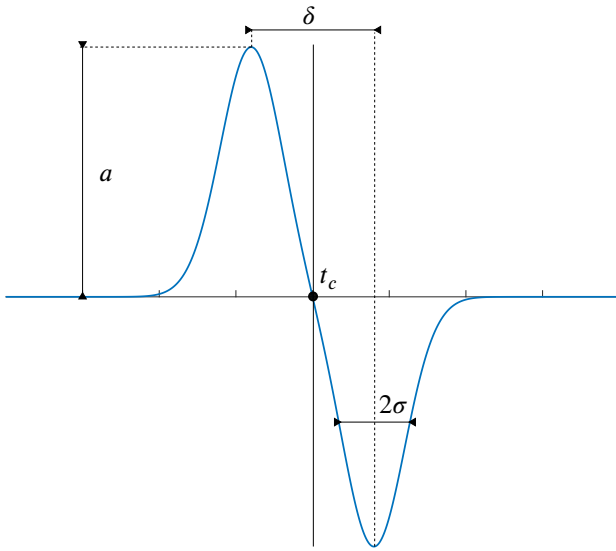


FIG. 2

Tramite la misura di corrente differenziale è possibile stimare alcune proprietà della cellula che passa nel canale. In particolare, al passaggio della cellula, si misura un segnale con una forma d'onda di tipo gaussiana bipolare.

Tramite il segnale di picco è possibile stimare il diametro. Il segnale è proporzionale al volume della cellula per cui il diametro sarà legato all'ampiezza del segnale (a) come:

$$D = Ga^{1/3} \quad (1)$$

Dove G è un guadagno che risente delle proprietà elettriche del citometro.

2.1 Gaussiana bipolare

La gaussiana bipolare è una forma d'onda caratteristica composta da due gaussiane identificate

dalla generica equazione:

$$g(t) = a [e^{g_+(t)} - e^{g_-(t)}] \quad (2)$$

Ovvero, considerata un'ampiezza di riferimento a (i.e. il valore massimo di picco), è la somma di due gaussiane nel tempo di cui la seconda ribaltata. La distanza picco-picco è pari a δ e si introduce un parametro di centratura t_c . Le due gaussiane condividono la medesima deviazione standard σ e sono identificate dall'equazione:

$$g_{\pm}(t) = \frac{-\left(t - \left(t_c \pm (\delta/2)\right)\right)^2}{2\sigma^2} \quad (3)$$

Dove il segno \pm va riferimento alla gaussiana positiva o ribaltata.

2.2 Procedura di fitting

Partendo dai dati sperimentali è necessario introdurre una procedura di fitting numerico per identificare la gaussiana, e quindi i suoi quattro parametri descrittivi, tale da rappresentare il segnale analizzato.

Tale procedura di fitting viene implementata secondo un algoritmo di ottimizzazione. Ovvero, si cerca di ridurre la differenza tra il dato misurato $[d]_i$ e il template di fitting (g) allo stesso istante temporale.

Definita la funzione di errore come tale differenza:

$$e = [d]_i - g_i(t_i, a, t_c, \delta, \sigma) \quad (4)$$

Si cerca di minimizzare la funzione obiettivo definita proprio come la norma dell'errore:

$$E(a, t_c, \delta, \sigma) = \frac{1}{2} \sum_i \left\| d_i - g(t_i, a, t_c, \delta, \sigma) \right\|^2 \quad (5)$$

2.3 Accuratezza

I dispositivi microfluidici possono essere più o meno accurati. Questo è legato alla configurazione degli elettrodi, alla geometria e COMPLETA COMPLETA

In particolare, per il caso di riferimento si osserva una dipendenza del segnale dalla posizione all'interno del canale. Nonostante l'ampiezza del picco della gaussiana sia correlata con il diametro cellulare si osserva una dipendenza anche dalla posizione.

Ovvero, a parità di diametro, una cellula passante vicino agli elettrodi darà un picco di ampiezza maggiore alla stessa cellula passante ad una distanza maggiore.

Nonostante nella configurazione utilizzata non si può avere una misura diretta della posizione all'interno del canale è possibile ottenerne una stima effettuando una compensazione del segnale tenendo conto della correlazione tra la posizione e lo shape parameters.

In particolare, risulta valida la relazione tra il parametro di forma $\frac{\sigma}{\delta}$ e il diametro normalizzato che segue una legge lineare:

$$\frac{D}{d} = c_1 + c_2 \left(\frac{\sigma}{\delta} \right) \quad (6)$$

Si possono quindi usare tali coefficienti della retta per correggere il diametro elettrico togliendo l'effetto di posizione [1].

2.4 Dataset di riferimento

Il dataset di riferimento è un insieme di dati grezzi di citometro ad impedenza.

Per il dispositivo in questione il guadagno è pari a $10.5 \mu\text{m} / \text{A}^{1/3}$. I segnali sono campionati con una frequenza $f_s = 115 \text{ kHz}$ con un totale di oltre 50.000 segnali.

PARLA DEL DATASET E DEI PARAMETRI

3 Risultati

Inizialmente la procedura viene applicata su un dataset ristretto considerando 400 segnali. Ven-

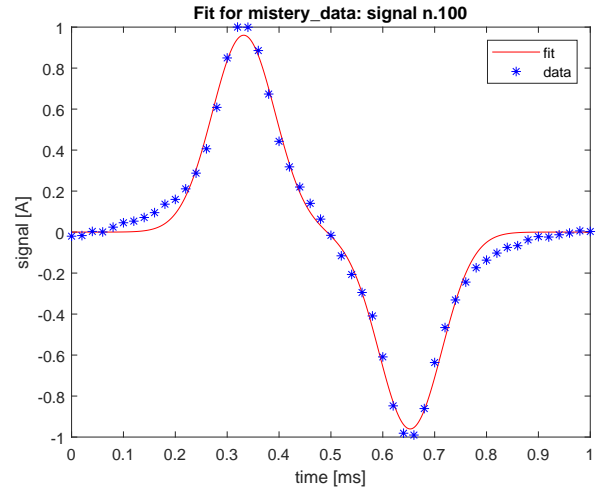


FIG. 3: Grafico dell'andamento temporale del segnale n. 100. In blu i campioni e in rosso il segnale fittato con una gaussiana bipolare

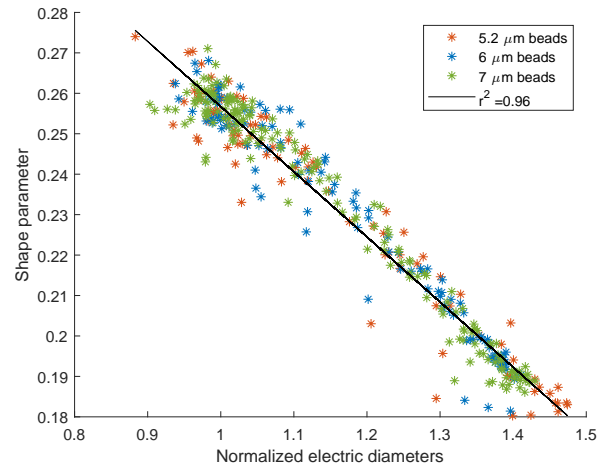


FIG. 4

gono selezionati quindi i segnali di indice da 400 a 800.

Successivamente la procedura verrà applicata anche su un riferimento più esteso.

3.1 Fitting numerico

A partire dal singolo segnale all'interno dell'intero dataset è possibile fittare la gaussiana bipolare andando a stimarne i quattro coefficienti descrittivi.

Considerando il template in eq. (2) è possibile utilizzare il comando Matlab `fit()` fornendo il template stesso, i dati e i valori iniziali per la stima ai minimi quadrati.

Inoltre, essendo il segnale molto piccolo $\propto 10^{-6}$ è utile normalizzare il segnale di ampiezza e scalare l'asse dei tempi riportandolo in secondi nel range

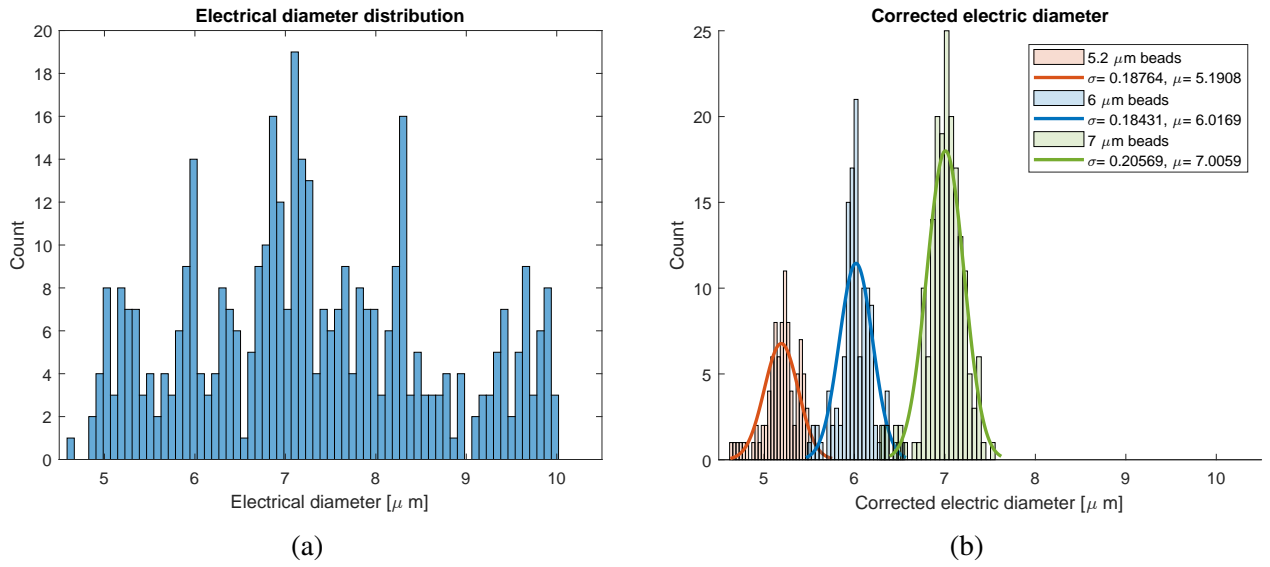


FIG. 5

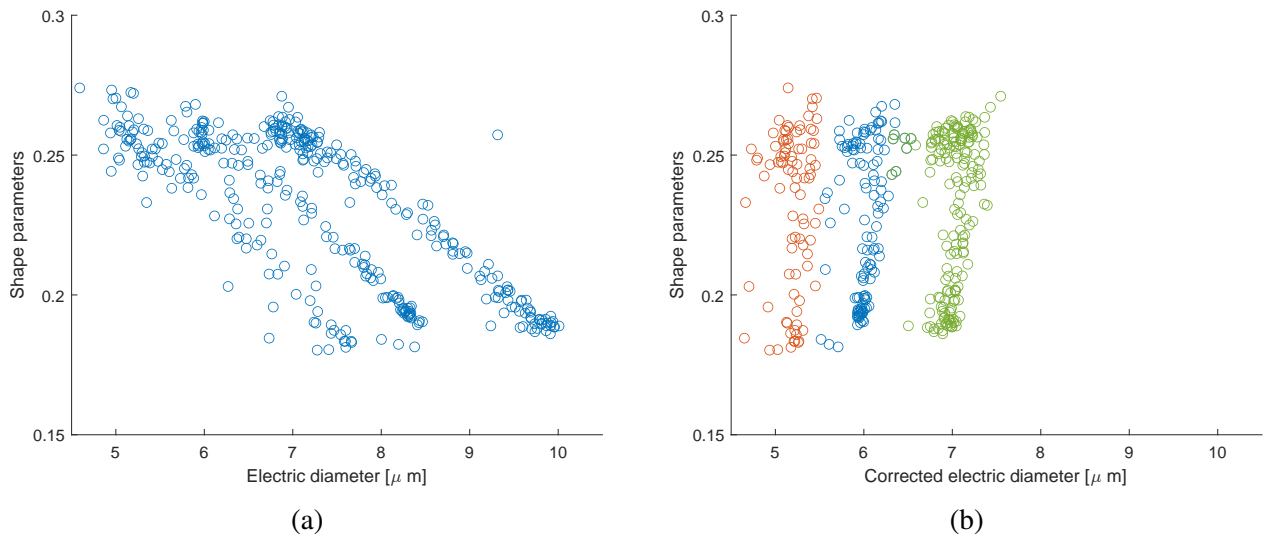


FIG. 6

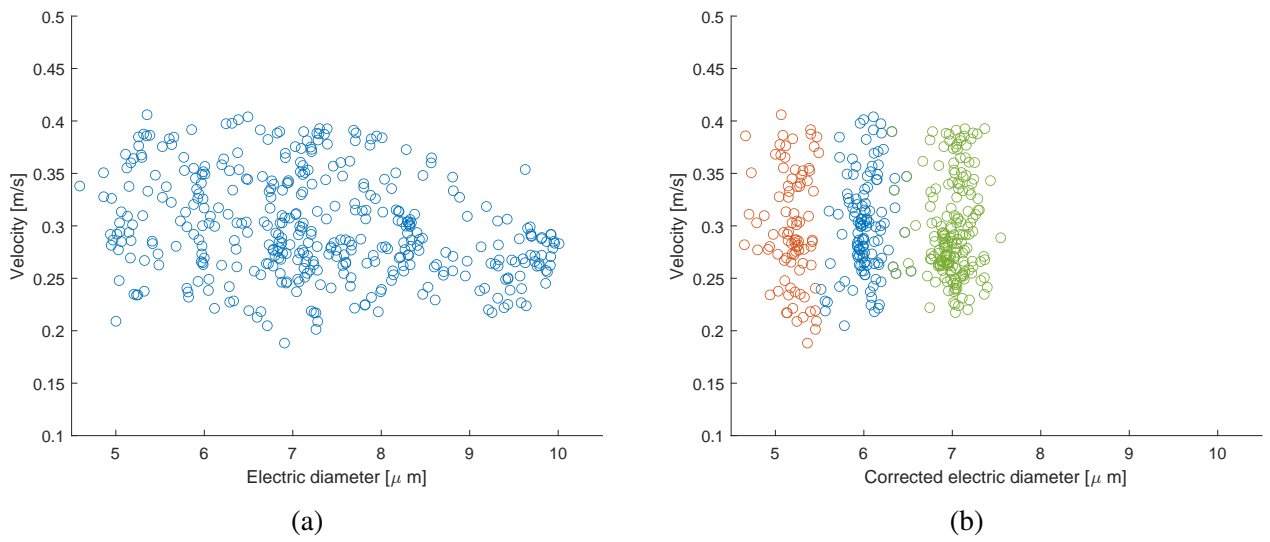


FIG. 7

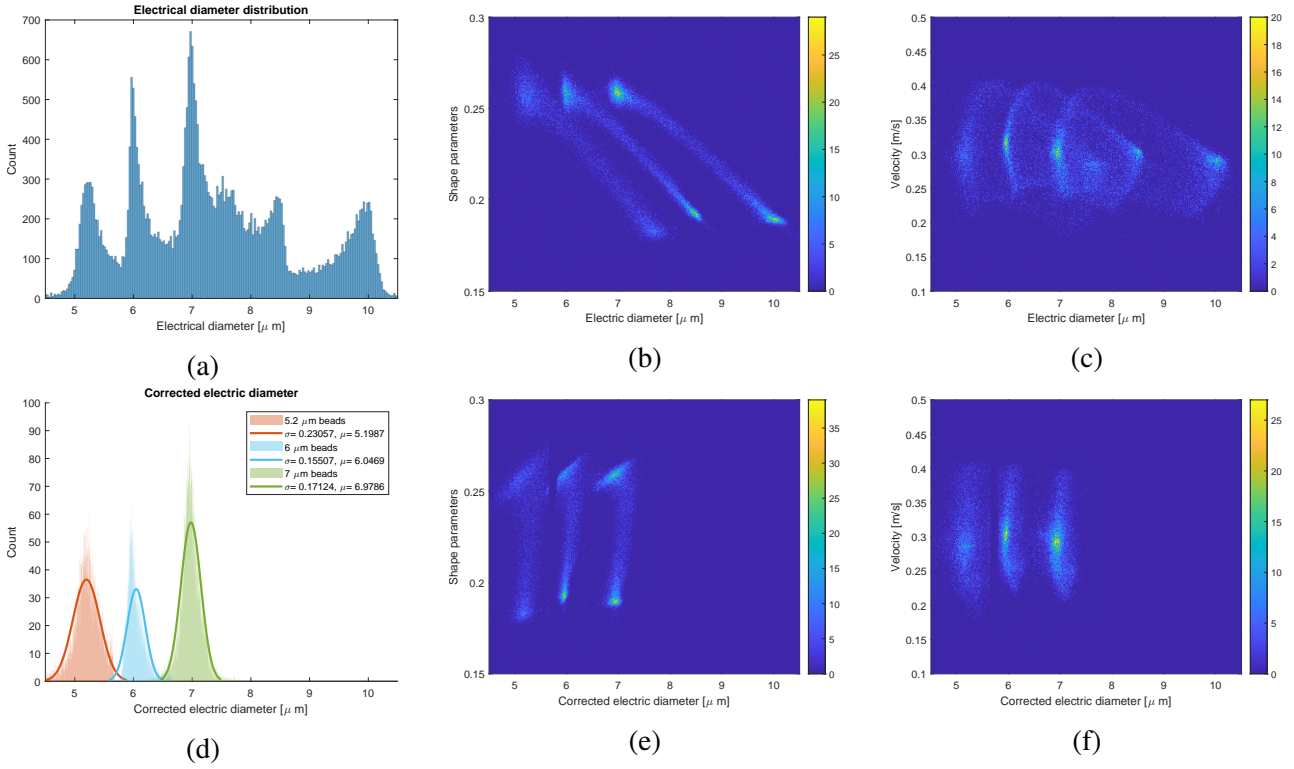


FIG. 8

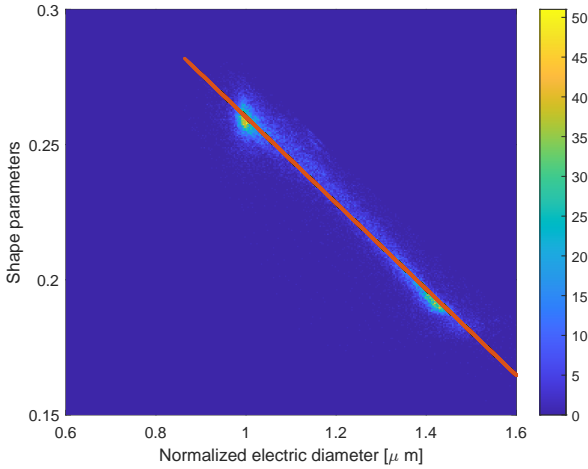


FIG. 9

$[0; \frac{1}{f_s}]$, dove f_s è la frequenza di campionamento il cui inverso indica l'ultimo campione temporale.

A questo deve seguire poi necessariamente una riscalatura nel dominio originario.

Un esempio di fitting è presente in fig. 3.

3.2 Compensazione

Per la procedura di compensazione è necessario stimare i coefficienti di un fitting lineare. Tale fitting deve essere fatto nello spazio $[\frac{\delta}{\sigma}; \frac{D}{d}]$ ed è quindi necessario normalizzare i diametri elettrici rispetto

ai singoli diametri nominali delle tre famiglie.

Dallo scatter plot del diametro elettrico vs shape parameters è possibile distinguere tre famiglie (fig. 6a). Mediante la funzione `inpolygon()` è possibile selezionare separatamente i valori corrispondenti alle tre famiglie e quindi normalizzarle per il rispettivo diametro nominale.

Quindi è possibile calcolare la retta che meglio approssima l'andamento dello shape parameter in funzione del diametro elettrico normalizzato (fig. 4). Dunque è possibile estrarre i coefficienti:

- $c1 = 2.59$
- $c2 = -6.20$

E il coefficiente di determinazione $r^2 = 0.96$.

Tramite tali coefficienti è possibile correggere i valori tramite l'eq. (6).

Si ottengono quindi le famiglie separate sia nello scatter plot dello shape parameter che della velocità, in fig. 6 e fig. 7.

3.3 Estensione del dominio di interesse

La stessa procedura può essere applicata anche su una quantità di segnali notevolmente maggiore. Vengono quindi considerati, nello stesso dataset di riferimento, i segnali di indice a 200 a 35200.

La procedura può essere applicata allo stesso modo ma gli scatter plot vengono sostituiti da plot di densità che permettono di osservare meglio la distribuzione dei valori.

4 Conclusioni

Disponibilità dei dati

Il materiale è disponibile alla repository online del progetto: <https://github.com/mastroalex/curve-fitting>

Riferimenti

- [1] Vito Errico et al. “Mitigating positional dependence in coplanar electrode Coulter-type microfluidic devices”. en. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 247 (Aug. 2017), pp. 580–586. ISSN: 09254005. DOI: 10 . 1016 / j . snb . 2017 . 03 . 035. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400517304525> (visited on 03/19/2022).

Appendice