

利用基于Python/RGB模块的DNA电泳图像分析方法检测绵羊血浆中羊源性成分

曹诗林^{1,2,3*}, 张春鸿³, 赖昕珏³, 袁志涛³, 郝锦亨³, 陈慧³, 马俊炜³, 李鑫尧³, 余洁婷³, 罗佳伟³, 陈胤熹³, 郑少鹏³, 郑焜文³, 林小茹³, 陈宛涓⁴

(1. 佛山科学技术学院广东省食品智能制造重点实验室, 广东佛山 528225)(2. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510641)(3. 佛山科学技术学院食品科学与工程学院, 广东佛山 528000)
(4. 佛山科学技术学院材料与氢能学院, 广东佛山 528000)

摘要: 该文探究了运用 Python 处理食品中 DNA 分子量与含量测定的新方法, 建立了 DNA 凝胶图像分析方法。将不同分子量的 DNA Marker 与 DNA 标准样品进行琼脂糖凝胶电泳并拍照, 利用自行开发 Python 程序分析凝胶图, 对图像进行灰度图转换、高斯模糊、图像阈值化、轮廓检测的图像优化步骤, 探究了轮廓平均值法、轮廓中线法、全局数据平均法、全局数据积分法反映出 DNA 浓度与 RGB 数值间的线性关系, 选取最优处理方法, 通过读取像素迁移距离、RGB- 灰度、RGB- 向量、RGB- 亮度进行 DNA 分子量与含量的测定实验, 建立一种基于 Python/RGB 色彩体系的 DNA 凝胶电泳中分子量与含量的分析方法。检测结果误差较小, 证明了 Python/RGB 的 DNA 分子量与含量分析方法的可行性, 同时将该文所构建的凝胶图像分析方法应用于绵羊血浆中羊源性成分检测, 结果显示所得目的蛋白为 296 bp, 而用 DNA 检测法得出样品中片段大小为 294 bp, 误差为 0.99%, 有望构建一种肉类源性成分检测的新方法。

关键词: DNA 凝胶电泳; DNA 分子量; DNA 含量; Python

文章编号: 1673-9078(2024)06-252-259

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.6.0629

Detection of Sheep-derived Components in Sheep Plasma Using DNA Electrophoresis Image Analysis Based on the Python/RGB Module

CAO Shilin^{1,2,3*}, ZHANG Chunhong³, LAI Xinjue³, YUAN Zhitao³, HAO Jinheng³, CHEN Hui³, MA Junwei³, LI Xinyao³, YU Jieting³, LUO Jiawei³, CHEN Yinxi³, ZHENG Shaopeng³, ZHENG Kunwen³, LIN Xiaoru³, CHEN Wanjuan^{4*}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Intelligent Food Manufacturing, Foshan University, Foshan 528225, China)
(2. College of Food Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510641, China)
(3. College of Food Sciences, Foshan University, Foshan 528000, China)
(4. College of Materials and Hydrogen Energy, Foshan University, Foshan 528000, China)

引文格式:

曹诗林,张春鸿,赖昕珏,等.利用基于Python/RGB模块的DNA电泳图像分析方法检测绵羊血浆中羊源性成分[J].现代食品科技,2024,40(6):252-259.

CAO Shilin, ZHANG Chunhong, LAI Xinjue, et al. Detection of sheep-derived components in sheep plasma using DNA electrophoresis image analysis based on the Python/RGB module [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(6): 252-259.

收稿日期: 2023-05-27

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2101003); 广东省高等教育学会实验室管理专业委员会研究基金项目(GDJ20220256); 青年基金项目(2019A1515110621; 2019A1515111049); 广东普通高校青年创新人才项目(自然科学类)(2017KQNCX217); 佛山科学技术学院高层次人才启动项目(GG07016); 广东省科技创新战略专项资金(大学生科技创新培育)项目(pdjh2020b0627; pdjh2022b0550); 佛山科学技术学院实验室开放创新基金(2022 No.005); 大学生创新创业训练计划项目(XJ2022102; XJ2022103; XJ2022111; XJ2022112)

作者简介: 曹诗林(1987-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 生物合成与生物转化, E-mail: shilin.cao@fosu.edu.cn

Abstract: A novel method for determining the molecular weight and content of DNA in foods was developed using Python, and an image analysis method for DNA gels was established. Agarose gel electrophoresis was performed using DNA markers of different molecular weights and DNA standard samples, and gel images were captured for analysis with a self-developed Python program. Image optimization was then performed using grayscale image conversion, Gaussian blurring, image thresholding, and contour detection, and the linear relationship between DNA concentration and RGB value was explored using the contour average, contour centerline, global data average, and global data integration methods, and the optimal processing method was selected. Pixel migration distance, RGB-grayscale value, RGB-vector, and RGB-brightness were used to determine the molecular weight and DNA content. A method for analyzing the molecular weight and content in DNA gel electrophoresis was established based on the Python/RGB color system. The relatively small error in the detection results demonstrates the feasibility of using Python/RGB to obtain information about DNA molecular weight and analyze content. Application of the gel image analysis method to detect sheep-derived components in the sheep plasma indicated 296 bp of the target protein, while 294 bp was obtained using the DNA detection method, indicating an error of only 0.99%. The results therefore indicate that the method may serve as a novel means of detecting meat-derived components.

Key words: DNA gel electrophoresis; DNA molecular weight; DNA content; Python

在食品生物化学实验教学中, 包括了电泳实验的教学内容 [脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid, DNA) 电泳与蛋白电泳]。利用电泳实验鉴别食品中的羊源性成分, 是一个常规的检测项目^[1], 是食品生物化学实验教学的重要部分。

凝胶电泳实验可以检测核酸和蛋白的分子量与样品含量^[2]。核酸、蛋白等生物大分子大多含有阳离子和阴离子基团, 当他们分散在溶液中时, 其净电荷取决于介质中的氢离子浓度或与其他大分子的相互作用。在电场中。带点颗粒向阴极或者阳极迁移, 其迁移方向取决于颗粒的带电性质。由于单位时间内的迁移距离与呈显著的相关性, 因此通过测定同分子量的标准物的迁移距离, 可以得到分子量与迁移距离的相关性, 从而测出待测样品的分子量。此外, 条带的亮度与样品的上样量呈正相关, 因此通过检测不同上样量的标准物条带的亮度, 可以得到条带亮度与上样量之间的关系, 从而进一步测出待测样品的上样量。目前, biorad 等凝胶成像系统均有配套的成像分析软件。开发一个简易、免费的凝胶成像分析软件, 在教授传统食品生化实验的过程的同时教授 Python 编程的知识是一个有意思的课题。Python 是目前在实验科学上应用广泛的简单易学的编程语言。利用 Python 的 numpy、skimage 等模块实现凝胶图像分析^[3], 通过自建软件, 分析条带迁移距离和 DNA 分子量的关系, 分析条带红绿蓝颜色表示法 (Red Green Blue, RGB) 亮度数据与 DNA 含量的关系; 由此开发出基于 RGB 色彩体系的 DNA 分子量与含量检测方法^[4], 实现

DNA 的分子量分析和含量测定, 可望构建凝胶成像软件。

近年来, 肉制品的消费量日益增长, 一些不法分子为了牟利, 在羊肉中掺加其他肉类, 以假充真, 以次充好。目前, 以 DNA 为基础的检测方法是最常用方法, 其利用羊特异性线粒体 DNA 片段设计引物, 通过取血液 / 细胞 / 组织基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取羊的 DNA 后进行 PCR 扩增, DNA 凝胶电泳后进行产物鉴定, 鉴定在 295 bp 是否含有羊源性目的 DNA 片段。以此鉴别其是否为羊肉制品。利用本课题自行研发的 Python/RGB 的 DNA 分子量与含量分析方法, 建立一种结合 PCR 进行羊源性成分检测的新方法, 为保护市场公平销售体制提供技术保障, 也更好的为食品监管部门提供技术上的支持。

本课题的研究亮点主要在于: (1) 从经典的分子生物学实验出发, 探索这些经典实验的新的实验数据处理模式和检测方法; (2) 利用课题组前期在基于 Python 的 RGB 彩色分析^[5]模块的基础上, 进一步建立 DNA 电泳凝胶的分析方法, 探索 Python 编程语言在实验生物学领域的应用前景; (3) 把实验生物学与计算机编程知识有机结合, 利用计算机编程技术解决实际问题。

1 材料与方法

1.1 原料

5*Load buffer, 购于万昊生物; DNA 标准样

品、DS 10000 DNA marker、DS 15000 DNA marker、Marker 2, 购于东盛生物; 琼脂糖, 购于 Biowes; Gold view, 购于源叶生物; 50×TAE, 购于 Biosharp; 绵羊血浆、血清 / 血浆游离 DNA 提取试剂盒。

1.2 主要仪器设备

WFH-203C 暗箱式四用紫外分析仪, 上海精科实业有限公司; A200 基因扩增仪, 杭州朗基科学仪器有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 上海力辰邦西仪器科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 模块设计

1.3.1.1 图像处理

使用 OpenCV 库中的 `cv2.imread()` 函数读取原始图像。对图像进行灰度图转换, 图像锐化的工作, 使用 `cv2.GaussianBlur()` 函数进行高斯模糊操作, 用于去除图像中的噪声。随后使用 `cv2.normalize()` 函数进行直方图归一化, 使图像的对比度增强, 再使用 `cv2.threshold()` 函数进行图像阈值化工作, 此操作是为了后续的轮廓检测做准备。

1.3.1.2 轮廓检测

导入 `Opencv` 的包, 使用 `cv2.findContours()` 函数进行轮廓检测。识别并标记出 DNA 跑胶条带的轮廓, 并采用四种统计方法: 轮廓平均法, 轮廓中线法, 全局平均法, 全局积分法。轮廓平均法是将轮廓上所有的坐标点上的 RGB 值求平均; 轮廓中线法是将取出检测出的轮廓的中线坐标点的 RGB 值求平均; 全局平均法是取轮廓内所有像素点坐标, 计算 RGB 值求平均; 全局积分法是取轮廓内所有像素点坐标, 计算由 RGB 均值得出的亮度, 再乘于其轮廓面积。

1.3.1.3 聚类算法分

聚类算法只在全局平均法以及全局积分法使用到。将收集到轮廓内的所有坐标点进行 K 均值聚类算法分类, 根据图像中条带的数量分类成相应的聚类。并使用 `.labels_` 方法提取标签以方便进行 RGB 计算。

1.3.1.4 计算亮度并画图

根据格拉斯曼定律^[20], 将得出的 RGB 均值以 $RGB \text{ 亮度} = 0.3R + 0.6G + 0.1B$ 的公式计算其亮度值。将每一个条带的亮度值加入到一个列表里, 使用 `Matplotlib` 模块进行绘图, 查看绘图的效果。得出

的亮度列表同样会生成一份 csv 表, 存储浓度与亮度的数值。

1.3.1.5 线性回归分析

对数据结果进行线性回归分析, 得到模型的截距以及回归系数, 并利用生成的数据结果画出线性回归图像。

1.3.2 DNA分子量分析方法

选用不同分子量的 Marker、DNA 标准品并选择对应的最适浓度凝胶以及条件, 进行凝胶电泳, 将电泳后的凝胶在凝胶成像系统或紫外分析仪下拍照, 照片用于接下来实验做分子量分析。

1.3.3 DNA含量分析方法

选用不同分子量 DNA 样品, 将其按照浓度梯度进行稀释, 与 DNA Marker 一同按顺序上样。将电泳后的凝胶置于凝胶成像系统拍照, 照片用于接下来实验做 DNA 定量分析。

1.3.4 绵羊血浆DNA的提取及分子量和含量分析

利用购买的血清 / 血浆游离 DNA 提取试剂盒, 提取绵羊血浆中的 DNA, 并进行 PCR 扩增验证。将提取好的 DNA 在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存。

1.4 数据分析

本实验通过自行建立的 Python/RGB 模块对电泳得到的凝胶进行 DNA 分子量与含量的分析; 在 DNA 分子量的分析方法中, 选用了不同分子量的 DNA Marker 样品得到的凝胶绘制标准曲线并分析数据来确定误差范围, 再通过测定已知分子量样品; 在 DNA 含量的分析方法中, 通过分析样品的标准曲线拟合程度来确定选取最优处理方法。再通过所选取的方法进行标曲曲线的绘制, 最终测定绵羊血浆中羊源性成分来验证方法的可靠性。建立一种基于 Python/RGB 色彩体系的 DNA 凝胶电泳中分子量与含量的分析方法

2 结果与讨论

2.1 基于Python的DNA样品分子量分析研究

2.1.1 DNA Marker标准曲线的绘制

本课题首先以三种 marker (DS 10000 DNA marker、DS 15000 DNA marker、Marker 2) 研究对象, 考察像素迁移距离与 DNA 分子量的关系。将 DS 10000 DNA Marker、DS 15000 DNA marker、

Marker 2 的电泳凝胶分析图，分别用 `imganal.py` 程序读取每个条带中间点的像素值。并以像素迁移距离的倒数为 X 轴，DNA Marker 中各条带分子量为 Y 轴，制作曲线，并作线性回归分析。结果如表 1 显示，所得的三种样品的 DNA 凝胶分析图中，像素迁移距离的倒数与 DNA Marker (DS 10000 DNA marker、DS 15000 DNA marker、Marker 2) 中各条带分子量线性关系良好，且拟合系数 R^2 分别为 0.979 5、0.972 2、0.997 9。

表 1 DNA待测样品误差分析

Table 1 Error analysis of the DNA sample to be tested

样品	DS 10000 DNA marker	DS 15000 DNA marker	Marker 2
标准曲线	$y=3E+6x-3\ 348.5$	$y=4E+6x-5\ 700.1$	$y=1E+6x-847.97$
R^2	0.979 5	0.972 2	0.997 9

2.1.2 DNA分子量测定的误差分析

选用分子量为 1 000、2 000、4 000、10 000 bp DNA 标准品为待测样品，并使用 10 000 bp 的 DNA Marker 为标准品。每个待测样品做四组平行实验，取平均值作为实验最后结果。对得到的数据进行误差分析，结果如表 2 显示，各待测样品误差较小，表明本方法准确度良好。

表 2 DNA待测样品误差分析

Table 2 Error analysis of DNA samples to be tested

待测样品分子量/bp	实测分子量/bp	误差/%
1 000	962	3.78
2 000	2 122	6.11
4 000	4 278	6.96
10 000	9 585	4.15

2.2 基于Python与RGB色彩体系的DNA含量分析方法研究

2.2.1 图像预处理方法的优化

以上样量为 30、40、50、60、70 ng 的待测样品所得的 DNA 电泳图研究对象进行图像预处理。对图像只进行灰度图转换、高斯模糊^[6]、图像阈值化、轮廓检测的步骤。结果如图 1 显示，发现轮廓检测不能很好地识别图像中较暗的部分。需要对图像进行直方图规定化以增强整体图像的对比度。

使用分子量为 9 415 bp 样品的条带图像作例子，由图 2 可知，优化前，对于上样量 > 60 ng 的样品，轮廓选取相对成功，而对于含量 < 60 ng 的样品，

轮廓选取效果不佳。优化后的图像在不同上样量下，都可以准确识别出条带的轮廓。

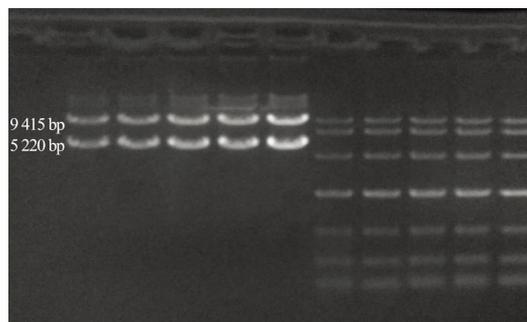


图 1 分子量分别为 9 415 bp、5 220 bp 的待测样品的凝胶电泳图

Fig.1 Gel electrophoresis of the samples with molecular weights of 9 415 bp and 5 220 bp respectively

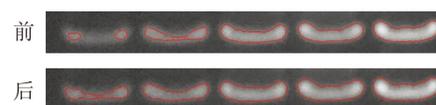


图 2 优化前后的分子量为 9 415 bp 样品的轮廓选取效果
Fig.2 Contour selection effect of sample with molecular weight of 9 415 bp before and after optimization

2.2.2 轮廓中数据统计方法的优化

轮廓平均值法^[7](图 3a) 是取条带中的轮廓坐标作 RGB 计算后取平均，通过 `cv2.findContours()` 函数来直接取得轮廓坐标作 RGB 计算。该方法的 R^2 为 0.62，不能很好的反映 DNA 浓度与 RGB 数值间的线性关系。

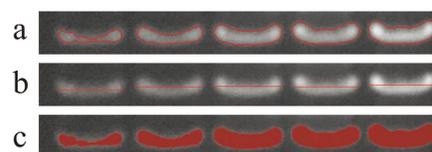


图 3 三种不同方法分别取得的分子量为 9 415 bp 样品的坐标点

Fig.3 Coordinate points of samples with a molecular weight of 9 415 bp obtained by three different methods

轮廓中线平均值法(图 3b) 是取条带中的中线坐标点作 RGB 计算取平均，通过对条带图像轮廓检测中最大与最小的 y 轴坐标作相减除二的计算，来取得条带图像中的中线坐标。该方法的 R^2 为 0.96，能够很好的反映 DNA 浓度与 RGB 数值间的线性关系。

全局数据平均值法(图 3c) 是通过取图像中所有像素点坐标，作 K 均值聚类算法分类出各个条带的像素密集的区域再作 RGB 值计算后取平均值。

该方法的 R^2 为 0.97, 能够很好的反映 DNA 浓度与 RGB 数值间的线性关系。

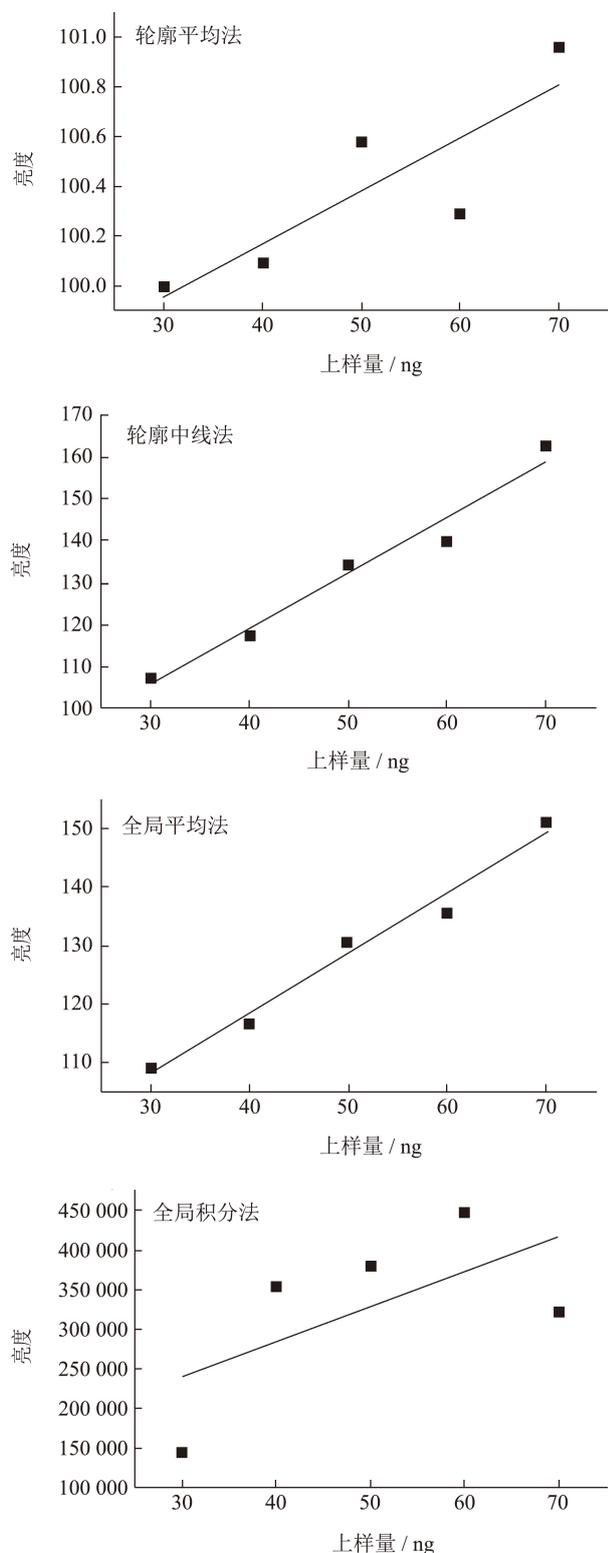


图 4 全局统计法和轮廓统计法表示分子量为 9 415 bp 样品的亮度与浓度的关系

Fig.4 The global statistical method and the contour statistical method express the relationship between brightness and concentration of samples with a molecular weight of 9 415 bp

全局数据积分法 (图 3c) 是通过取图像中所有像素点坐标, 作 K 均值聚类算法分类出各个条带的像素密集的区域再作 RGB 值计算后取平均值后与像素点数量值相乘。该方法的 R^2 为 0.19, 不能很好的反映 DNA 浓度与 RGB 数值间的线性关系。

如图 4, 对以上统计方法的比较中发现, 使用全局数据平均值法的统计方法得出的结果最优最好, 轮廓中线平均值法较优, 轮廓平均值法与全局数据平均法效果较差。因此, 在对条带进行分析时, 应首先使用轮廓中线平均值法来初步查看折线的分布, 再使用全局数据平均值法来得出精确的数据结果。

2.2.3 线性回归方式的优化

如图 5, 对 2.2.2 得出的最优的数据统计方法的基础上对上样量为 30~70 ng 且分子量为 10 000 bp 的 DNA 样品作线性回归分析。得出的线性回归结果: $Y=1.176X+107.114$ 公式, $R^2=0.9549$ 。

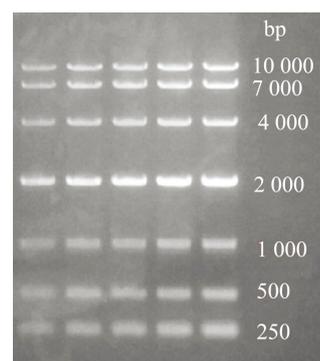


图 5 上样量分别为 30、40、50、60、70 ng 的 DNA Marker 的凝胶电泳图

Fig.5 Gel electrophoresis maps of DNA markers with loading amounts of 30, 40, 50, 60 and 70 ng respectively

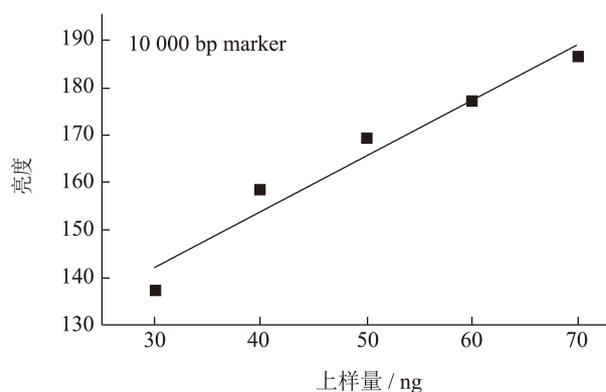


图 6 对分子量为 10 000 bp 的 Marker 数据作线性回归分析结果

Fig.6 Linear regression analysis results of Marker data with molecular weight of 10 000 bp

2.2.4 RGB数据的表征指标的探究

在 2.2.3 中得出最优的线性回归的基础上，选择分子量为 10 000 bp 的 DNA 样品为研究对象，考察 RGB-灰度、RGB-亮度、RGB-向量值等不同指标值与 DNA 样品上样量之间的关系，模型的评价标准是 R^2 。具体公式为：

$$\text{RGB-灰度} = 0.3R + 0.59G + 0.11B + 0.5 \quad (1)$$

$$\text{RGB-亮度} = 0.3R + 0.6G + 0.1B \quad (2)$$

$$\text{RGB-向量值} = \sqrt{R^2 + G^2 + B^2} \quad (3)$$

对三种数据表征指标进行计算得到结果如下：

表 3 数据表征指标与 R^2 的关系

Table 3 Relationship between data characterization indexes and R^2

数据表征指标	R^2
RGB 灰度	0.975 5
RGB 亮度	0.975 8
RGB 向量	0.946 6

根据表 3 可知，这三种 RGB 数据表征指标的差异性不大。

2.2.5 不同分子量的DNA标准品的定量分析统计效果的探究

在前述章节所得的最优分析方法的基础上，探究 marker 中 4 000、7 000、10 000 bp 三种分子量的 DNA 条带的分析统计效果。分别对右边的 4 000、7 000、10 000 bp 的 marker 进行数据分析，结果如表 4，最终得出的线性回归图对各个点能较好地拟合，模型的泛化能力良好。

表 4 DNA marker的4 000、7 000、10 000 bp条带线性回归情况

Table 4 Linear regression of 4 000, 7 000 and 10 000 bp bands of DNA marker

marker 的分子量/bp	R^2	回归方程
4 000	0.972 8	$Y=0.920 1x+132.75$
7 000	0.931 8	$Y=0.955 1x+141.14$
10 000	0.954 8	$Y=1.176x+107.114$

2.2.6 不同分子量的DNA待测样品的含量分析结果探究

利用本课题所建立的 DNA 定量分析方法，分析 9 415 bp 分子量的 DNA 待测样品的含量。选用亮度值作为数据表征指标来考察本方法的准确性。如图 7，选取上样量为 30 ng、60 ng 的样品进行验证，并使用 10 000 bp 的 marker 作为标准物，探究本测

试方法的误差情况。结果如表 5，对得到的数据计算其误差分别得到 3% 与 7.5%，表明本课题组所建立的 DNA 定量分析方法准确度良好。

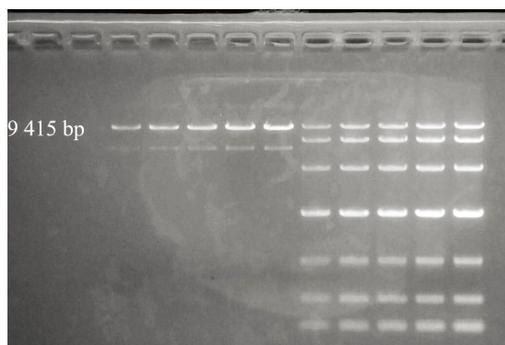


图 7 分子量为 9 415 bp 的 DNA 待测样品的凝胶电泳图
Fig.7 Gel electrophoresis of DNA samples with molecular weight of 9 415 bp

表 5 分子量为9 415 bp的DNA待测样品实测含量与理论产量

Table 5 Measured content and theoretical yield of DNA samples with molecular weight of 9 415 bp

理论含量/ng	RGB 亮度值	实测 DNA 含量/ng
30	143.5	31.0
60	182.7	64.5

2.3 基于Python与RGB方法检测绵羊血浆成分中的羊源性成分

对提取出的绵羊 DNA 进行琼脂糖电泳，选取平均值和 Maker 2 标准曲线进行分析。根据 DNA 检测法^[8]检测得羊源性成分 DNA 片段大小为 294 bp。结果如图 8 显示，而实测样品中片段大小为 296 bp，误差为 0.99%。

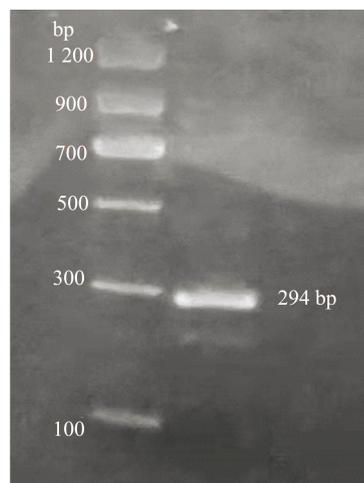


图 8 分子量为 294 bp 样品 PCR 的凝胶电泳图
Fig.8 Gel electrophoresis of PCR with molecular weight 294 bp sample

2.4 方法评价

2.4.1 基于Python DNA分子量分析法与凝胶电泳图像分析系统的比较

数字图像处理技术在植物学^[9]、医学^[10]、分子生物学等理工科领域,提供了高效和高质量的检测^[11-17]。本研究分析DNA分子量的原理如下:(1)DNA在高于其等电点的溶液中带负电,在电泳过程中,DNA向阳极移动,其迁移速率与分子量成反相关,因此通过测定不同分子量的标准DNA样品在凝胶中的迁移距离,可测算得到分子量与迁移距离间的关系公式,通过把待测样品的迁移距离带入以上相关关系公式,可得到待测样品的分子量,而在凝胶途中,样品的迁移距离可以通过计算凝胶上样口至电泳后条带的位置得到。传统的凝胶电泳分析仪的主要工作过程是^[18,19]:以高分辨率激光扫描仪或照相机拍摄的相片作为输入源,通过相应的专业图像处理方法对其进行优化,完成对图像的分析,从而可测定出相对分子量等,在此过程中,图像的截取容易受到外界环境的干扰,影响分析结果。在系统的图像处理软件方面,bio-Rad等凝胶成像设备的价格较高,难以满足国内小型实验室的要求。而本方法仅需一张照片,在Python程序下读取像素值即可进行分析,不仅成本低,而且使用方便快捷,操作简单。

2.4.2 基于Python DNA含量分析法与紫外分光光度法、qRT-PCR测定方法的比较

对于本文研究的基于Python/RGB DNA含量分析法与紫外分光光度法^[20]、qRT-PCR^[21-23]测定方法的比较,相比较可知,两种方法都能较快速的检测出样品DNA含量,但是紫外分光光度法准确度和灵敏度较低,受DNA纯度影响较大,受溶剂组成影响因素较大,稳定性不高,qRT-PCR测定方法部分试剂属于有毒物^[24],若处理不当则对实验员及环境影响较大,且仪器昂贵,对实验员技术要求较高。本方法不仅检测速度比前两种更快,更简易,而且适用性范围广泛,对环境污染较小。因此在追求快速检测的测定中,基于Python DNA含量分析法更具有优势。

2.4.3 基于Python DNA含量分析法检测食品中羊源性成分的结果分析

通过DNA试剂盒提取绵羊血浆中的DNA进行PCR扩增后凝胶电泳,运用本法对DNA凝胶电泳

图进行分析,结果显示所得目的蛋白为296 bp,而用DNA检测法得出样品中片段大小为294 bp,误差为0.99%;而较为常用的实时荧光定性PCR法误差率为1%,相比证明本法能完成绵羊血浆DNA提取物中动物源性成分的测定,以此为基础可以通过检测其他动物源性来鉴定肉制品中是否存在有掺杂情况。同时有着快速、准确、灵敏度高、成本较低、无污染等优点,对于食品监管部门来说,此法是提供一种新型检测PCR产物羊源性产物的方法;对于实验人员而言,此法简便快捷,使用试剂安全无污染,极大保护了实验人员人身安全;对于肉制品市场来说,此法不但可以更好地保护了消费者的利益,更可以促进食品安全市场准入制度的规范化。

3 结论

本文主要利用Python/RGB颜色模式对DNA的定量分析,通过对其分析方法与测试条件的优化,在此条件的基础上,探究此方法的准确度,重复性。通过优化图像预处理方法、优化轮廓中数据统计方法,对电泳图处理进行优化。探究了RGB数据的表征指标;线性回归方式;不同分子量的DNA标准品的定量分析统计效果;不同分子量的DNA待测样品的定量分析结果从而达到探索最佳分析方法与测试条件的方法。本研究从经典的分子生物学实验出发,尝试同时教授学生分子生物学实验以及Python的编程基础,具有一定的创新性。

参考文献

- [1] 阮运杰.DNA凝胶电泳分析系统研究[D].黑龙江:哈尔滨工程大学,2012.
- [2] 潘伟明.琼脂糖凝胶电泳装置及方法的改进[J].中山大学学报论丛,2004,24(1):241-244.
- [3] SILVA LUCIANO S, SCHARCANSKI J. Video segmentation based on motion coherence of particles in a video sequence [J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2010, 19: 1036-1049.
- [4] 刘国宏,于竞翔,任丽君.RGB检测方法研究进展[J].分析科学学报,2020,36(4):591-596.
- [5] 陈慧,郝锦亨,袁志涛,等.利用python/RGB色彩数据分析平台快速测定还原糖浓度[J].现代食品科技,2021,37(7): 315-320.
- [6] 丁怡心,廖勇毅.高斯模糊算法优化及实现[J].现代计算机(专业版),2010,8:76-77,100.
- [7] SATOSHI SUZUKI, KEIICHI A. Topological structural analysis of digitized binary images by border following [J]. Computer Vision, Graphics, and Image Processing, 1985,

- 30: 32-46.
- [8] 任秀,骆海朋,崔生辉.酶联免疫吸附法和DNA检测法在肉类鉴别中的应用[J].中国食品卫生杂志,2015,27(1):93-97.
- [9] 黄湘华.植物新品种鉴定信息管理系统的研建[D].北京:北京林业大学,2004.
- [10] 包华音.中药壁虎质量控制关键技术与质量评价体系研究[D].济南:山东中医药大学,2012.
- [11] BRADFORD MARION M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254
- [12] SUMNER JAMES B, GRAHAM VARVIN. Dinitrosalicylic acid as a reagent for blood sugar [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1921, 47: 5-9
- [13] MASUKO T, MINAMI A, IWASAKI N, et al. Carbohydrate analysis by a phenolsulfuric acid method in microplate format [J]. *Analytical Biochemistry*, 2005, 339: 69-72
- [14] 陈志娟,蔡梦华,高素虹.食品中磷测定方法研究[J].预防医学论坛,2009,15(12):1204-1205.
- [15] JABBARI A, SHAMSIPUR M. Kinetic spectrophotometric determination of traces of sulfite based on its additional reaction with methyl green [J]. *Microchemical Journal*, 1993, 48: 349-355.
- [16] 魏珏.简谈CCD原理[J].实用影音技术,2003,6:70-72.
- [17] 黄洁,张轲,朱晓鹏,等.基于RGB数字滤光的CCD激光熔覆测温系统的标定[J].光电子.激光,2013,5:967-974.
- [18] 吴艳丽.凝胶电泳图像分析系统的研究与实现[D].北京:北京工业大学,2016.
- [19] 王欠.凝胶电泳图像处理与分析系统研究[D].天津:河北工业大学,2009.
- [20] 熊燕飞,班宜辉,张建坤,等.DNA紫外吸收定量法中干扰校正用沉淀剂存在的问题及改进方法[J].江汉大学学报(自然科学版),2019,47(1):29-35.
- [21] 曹晨华,刘晓志,段月娇,等.实时定量PCR法检测生物技术药物中宿主基因组DNA残留[J].生物技术进展,2014, 4(2):142-145.
- [22] 张晶,周朝东,黄哲甦.荧光定量PCR法测定地特胰岛素原料中酿酒酵母宿主DNA残留量[J].现代药物与临床, 2020,35(7):1312-1315.
- [23] 梁圣楠,刘漩,梅金红.基于实时荧光RT-PCR法对新型冠状病毒核酸检测的研究[J].病毒学报,2020,36(6):1171-1176.
- [24] 任广睦,刘季,王英元.实时荧光定量PCR技术应用于核酸定量检测的研究进展及展望[J].山西医科大学学报, 2006,37(9):973-976.