

文章编号: 1001-4322(2008)06-1027-04

单离子微束离子入射点定位*

王晓华¹, 陈连运²

(1. 合肥工业大学 计算机与信息学院, 合肥 230009;

2. 中国科学院 等离子体物理研究所 离子束生物工程学重点实验室, 合肥 230031)

摘要: 为满足辐射实验的定位精确度要求, 提出了一种对微束离子入射点进行捕捉和定位的方案。该方案根据离子束流轰击闪烁体激发出光信号的特性, 结合单离子微束装置的显微图像采集系统, 通过对离子激发出的光斑进行图像采集分析实现了对离子入射点的定位。验证实验通过一种 CR39 膜记录离子辐射径迹, 采用的毛细玻璃管瞄准器内径为 $5\ \mu\text{m}$, 长度为 $980\ \mu\text{m}$ 。实验得出了运用该方案进行入射点定位时装置的整体定位精度。

关键词: 单离子微束; 入射点定位; 束斑**中图分类号:** TP391.41; TL507 **文献标识码:** A

作为一种高度精确的细胞辐射生物学和癌症研究手段, 单离子微束照射技术日益成为各国竞相发展的热点技术^[1-4]。经过多年研究积累, 中国科学院离子束生物工程学重点实验室(CAS-LIBB)的单离子微束细胞精确照射装置的性能达到或超过了设计目标, 使得单一或精确数量的离子射入细胞或细胞不同部位, 或被检测细胞的相邻细胞等成为可能, 为了解类似于细胞内及细胞间通讯, 细胞的损伤修复, 特别是为评价环境低剂量辐射危害性提供了理想的实验平台^[5-8]。

1 单离子微束装置结构原理与实验流程

1.1 装置结构原理

CAS-LIBB 单离子装置由静电加速器、偏转磁铁、束稳定器、磁四极透镜、束线电子开关、光阑和微束瞄准器等构成。射频离子源产生的离子由 Van de Graaff 加速器加速至 $2.0\sim 3.0\ \text{MeV}$, 经过束流导向器和狭缝到达第一级偏转磁铁。经过一级磁偏转后的单能离子水平运输, 依次穿过束稳定器、磁四极透镜、束线开关到达二级偏转磁铁。二级磁偏转后的离子再经过一对狭缝, 垂直向上进入微束室中的瞄准器^[1-2, 9]。瞄准器把进入微束室的离子束径约束到 μm 量级, 以便将预定个数的离子准确辐射到直径为几 μm 或更小范围的靶中。CAS-LIBB 装置的瞄准器为内径 $1\ \mu\text{m}$ 或 $5\ \mu\text{m}$, 外径 $210\ \mu\text{m}$, 长 $900\sim 980\ \mu\text{m}$ 的厚壁石英毛细玻璃管。毛细管安装在垂直度可调的固定器中心, 出口用 $3.5\ \mu\text{m}$ Mylar 膜隔离真空, Mylar 后依次安装用于离子探测的 $7\ \mu\text{m}$ 反光铝箔和 $18\ \mu\text{m}$ 薄膜闪烁体(BC400), 最后再用 $3.5\ \mu\text{m}$ Mylar 封装。图 1 为瞄准器及其安装结构示意图。

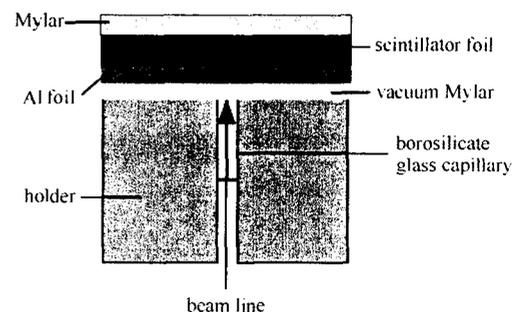


Fig. 1 Schematic drawing of the collimator and its fixing configuration

图 1 瞄准器及其安装结构示意图

辐射实验中, 生物样品提前种植到特制的样品盘中, 这种特制样品盘由不锈钢材料做底座, 中间留有直径为数 cm 的圆形孔, 孔的部位封有一层 $3.5\ \mu\text{m}$ 厚的 Mylar。而样品盘则安装在一个带有步进电机可在 x, y 方向精确移动的样本架上。样品盘上方是装置的图像采集与分析部分。该部分由显微镜、图像增强仪、固体摄像器件和图像采集处理卡等部件组成。其布局如图 2 所示。

1.2 辐射实验流程

发展单离子微束装置的目的是将预定数目的离子辐射到样品中的某个指定位置, 从而研究低剂量辐射所

* 收稿日期: 2007-10-26; 修订日期: 2008-03-04

基金项目: 国家自然科学基金杰出青年基金资助课题(10225526); 国家自然科学基金资助课题(30570435)

作者简介: 王晓华(1976—), 女, 博士, 主要研究方向为计算机应用; wxhyuy@sohu.com。

引起的细胞变化。即对样品进行“定点”和“定量”辐射。对系统的关键部件实施计算机控制是实现“定点”和“定量”辐射的前提。此外,实验中借助计算机程序对关键部件的工作状态进行判断并及时提供反馈也是实验顺利开展保障。装置的计算机控制系统逻辑上可分为三大模块:样品图像数据采集和分析、样本架控制、离子计数和束开关控制模块(如图 2 所示)。

辐射实验流程如下:(1)从离子源引出束流并调整束流品质;(2)把样品盘安装到样本架上;(3)图像采集分析模块对样品图像进行采集、分析,得出样品待辐射点坐标等参数^[10];(4)移开显微镜物镜,光电倍增管代替此位置探测辐射到样品中的离子个数(光电倍增管安装在显微镜一悬空的物镜位置上,如图 2 所示);(5)根据已知的待辐射点坐标,程序控制样本架把第一个样品拖动到离子出口接受辐射;(6)当探测到辐射了预定个数的离子后系统断开束开关,再把下一个样品送到离子出口。循环往复,直到所有样品辐射完毕。

2 离子入射点定位

2.1 仪器与方法

实验流程(5)中提到的离子出口也就是离子从瞄准器引出后入射到样品图像上的位置,只有先确定了该位置坐标,才能根据该位置与图像上样品待辐射位置的相对位移发送指令给样本架;然后通过样本架的动作把每个待辐射点送到离子出口。这里的离子出口也被称为离子入射点,求解离子入射点坐标的过程即是对入射点定位的过程。

2.1.1 薄膜闪烁体

当离子通过物质时,与材料中的电子通过库仑作用损失能量,而引起物质中的原子或分子电离和激发。一些情况下被激发的原子将通过发射光子的方式返回到基态。正是利用能激发光子这一特性,闪烁体 BC400 被用来探测瞄准器出口离子的存在并精确到具体的离子个数。除离子探测外,离子入射点定位也可借助离子束轰击闪烁体激发出光信号来实现^[11]。

2.1.2 入射点光斑图像的采集与入射点定位

束流强度达到 300 s^{-1} 时,即可直接在显微镜下观察到离子穿越闪烁体激发出的光斑。光斑经显微镜放大和图像增强器亮度增强后,图像采集程序可以将光斑图像采集到计算机。但光斑亮度属微光范围,图像采集时要排除外界一切光源的影响在暗室进行。图 3 为一次实验中拍摄到的离子入射点的一幅光斑图像。

通常情况下,实验将连续采集 10~20 幅类似于图 3 的光斑图像并统一对其进行分析,最终确定出入射点的坐标。对于一幅光斑图像来讲,先计算出每个像素点的灰度值并求出该点在图像上的坐标,然后自动挑选出光斑中最亮像素点的坐标值。当所有图像的最亮点坐标均计算出来后,程序根据这些坐标点的出现几率来确定离子入射点坐标。

图 4 是对 10 帧束斑图像进行入射点坐标分析的结果。其中 4 帧图像的最亮点坐标均为(418,344),3 帧图像的分析结果为(419,344)。即坐标点(418,344)在 10 帧图像中的出现几率为 40%,(419,344)的出现几率为 30%。根据这些坐标点的出现几率及其平均因素,最终入射点坐标被确定为(418,344)。

2.2 坐标变换

由于坐标是以图像中的 pixel(像素)为单位的。pixel 是图像分析程序默认的单位,而在实际的样品辐射过程中,样本架的动作则是以空间物理单位(如 mm, μm)为依据的。因此,必须求出两种单位之间的换算关系才能确保从图像中返回的信息的有效性。

实验从图像采集分析系统入手求解该换算关系。借助两个带有微观刻度的 reticle(标线),图像采集分析

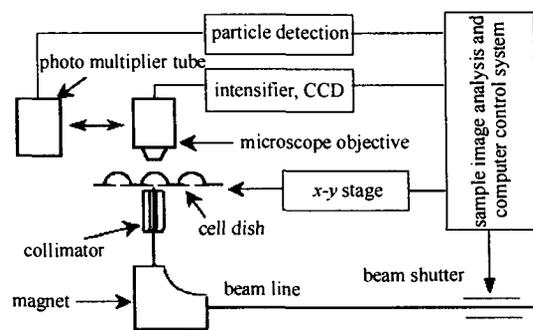


Fig. 2 Schematic drawing of the control system for the CAS-LIBB microbeam facility

图 2 CAS-LIBB 装置微束控制系统示意图

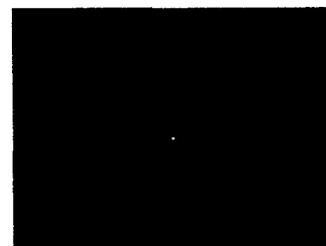


Fig. 3 Image of the spot of light produced within the scintillator foil by ions

图 3 实验采集到的离子入射点光斑图像

系统首先对显微放大后的 reticle 刻度进行图像采集和分析识别,求出相应特征刻度的 pixel 值。然后,根据 reticle 的原有刻度(以 μm 为单位),把图像分析系统返回的 pixel 值与其对应,就得到了二者的换算关系。为保证换算关系求解的精确性,通常采用多次实验再求平均的方法。当采用不同放大倍数的物镜时分别对应着不同的换算关系,因此必须对不同放大倍数分别求解。美国 Columbia 大学微束装置上的放大倍数为 6 和 40 时相应的坐标变换关系为 $2.65, 0.42 \mu\text{m}/\text{pixel}$ 。我们求得在放大倍数分别为 4, 10, 20, 40 时 CAS-LIBB 微束辐照装置对应的坐标变换关系 $4.100, 1.730, 0.877, 0.438 \mu\text{m}/\text{pixel}$ 。

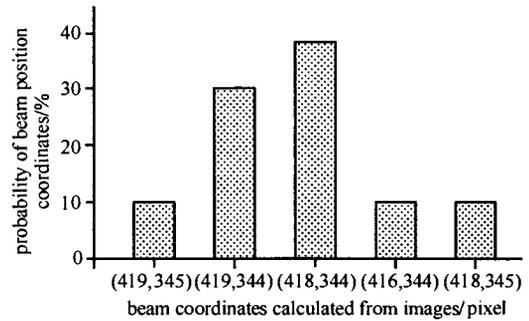


Fig. 4 Probabilities of the spot point coordinates calculated from 10 spot images

图 4 10 帧束斑图像的人射点坐标出现几率图

3 实验验证

为了验证入射点定位方法的精确性,必须采用一种能直观反映出离子辐射径迹的实验方法,从而通过对预辐射位置 and 实际辐射到的位置间的偏差来研究装置的定位精度,同时也是对该入射点定位技术的有力评价。实验采用一种 CR39 膜记录离子径迹。该 CR39 膜是长和宽都为 10 mm、厚度为 1 mm 的透明无色硬塑料,是用烯丙基二甘醇碳酸酯(ADC)制成的一种核径迹探测器。对于离子辐射过的 CR39 膜,通常使用浓度为 $6 \times 10^3 \text{ mol}/\text{m}^3$ 的 NaOH 溶液在 70°C 的水浴温度下刻蚀 2~3 h,即可观察到离子径迹。

3.1 实验条件

毛细管瞄准器内径 $5 \mu\text{m}$,长度 $980 \mu\text{m}$;质子束能量 $2.0 \sim 3.0 \text{ MeV}$;离子从真空室引出并到达 CR39 膜前先后经过 $3.5 \mu\text{m}$ 厚的真空封膜、 $7 \mu\text{m}$ 厚的挡光铝箔、 $18 \mu\text{m}$ 厚的闪烁体 BC400 及 $3.5 \mu\text{m}$ 厚的 Mylar 膜。

3.2 实验思路和方法

(1)在 CR39 膜上辐射一个离子束斑点阵,上下左右相邻点间距 $100 \mu\text{m}$ 。点阵坐标预先保存在一个文本文件中,辐射过程中样本架根据文本文件中的坐标移动相应的位移对 CR39 膜进行辐射。

(2)第一次辐射产生的束斑点阵被模拟为生物实验中的细胞,通过对束斑点阵进行图像采集分析求出每一束斑中心在图像上的坐标。接下来,根据求出的坐标设计并计算出任意两个相邻束斑中心点连线的中点坐标,然后在这些中点位置上进行二次辐射(二次辐射点没有设定在原束斑上,是为了避免两次辐射的结果相互混淆而不能明显表达二次辐射的效果)。如图 5 所示,尺寸较大的花边圆形代表第一次辐射的束斑,较小的星形代表第二次辐射的插入束斑。插入束斑 1 的坐标由第一次的辐射束斑 A 和 B 的中心坐标求得,2 的坐标由 A 和 C 求得,依此类推。而插入点 3 的坐标则是由 A 和 D,或者 B 和 C 得到的。

图 6 所示为经过两次辐射后的束斑点阵效果。其中尺寸较大的束斑是第一次辐射时产生的,较小的是第二次辐射时的插入束斑,两次辐射中每个辐射点的剂量均为 100 个质子。图中两次辐射的束斑尺寸之所以差别较大,是因为第一次的辐射束斑接受了两次 NaOH 溶液的刻蚀。

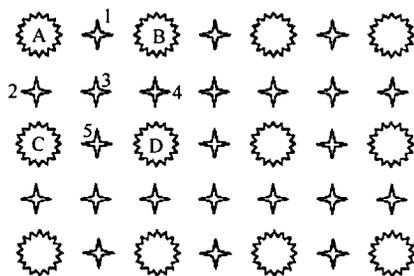


Fig. 5 Distribution of beam spots of two irradiations

图 5 两次辐射的束斑分布示意图

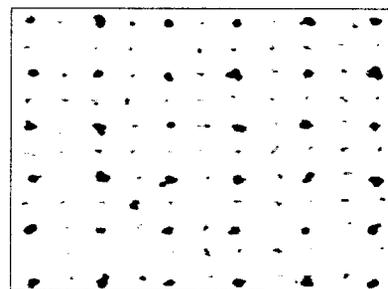


Fig. 6 Image of beam spots on twice-irradiated CR39

图 6 经过两次辐射的束斑点阵图像

3.3 结果分析

通过大量实验得知:用内径 $5 \mu\text{m}$ 、长度 $980 \mu\text{m}$ 的厚壁毛细玻璃管作瞄准器时,98%的插入束斑与预先设定位置的偏差在 $3.6 \mu\text{m}$ 范围内,91%的插入点与设定位置的偏差在 $2.4 \mu\text{m}$ 范围内。具体实验结果如图 7 所

示。实验真实反映了装置的定位精度,该 μm 量级的定位精度可以很好地胜任细胞-亚细胞尺度的精确辐射^[1-3, 12]。

微束装置的定位精度由瞄准器的瞄准度和计算机系统的定位能力共同决定。瞄准器的瞄准度跟毛细管内径大小等因素有关。而计算机系统的定位能力不仅取决于样本架的移动精度,更重要的是图像分析系统的定位能力。而对于图像分析系统来讲,即便样品待辐射点坐标的求解很精确,但此坐标只是样品在图像上相对坐标而已,若入射点定位不准确,每个样品仍不能被精确送到离子出口接受辐射。因此,入射点的定位精度直接影响整个装置的定位辐射精度。以上实验结果则充分验证了该入射点定位方法的可行性与实效性。

4 结 语

对于整个微束装置来讲,科学家们已经不仅仅满足于研究可数离子定点照射后细胞的终端效应。而引入和嫁接各种高新技术,原位无损地探测离子辐照过程中活体细胞构象和生理、生化参量的变化将成为单离子束装置发展的趋势。因此,需要不断研究新的方法和技术,更进一步改善系统的工作性能。

参 考 文 献:

- [1] Folkard M, Vojnovic B, Gilchrist S, et al. The design and application of ion microbeams for irradiating living cells and tissues [J]. *Nucl Instr Meth B*, 2003, **210**: 302-307.
- [2] Randers-Pehrson G, Geard C R, Johnson G, et al. The Columbia University single-ion microbeam [J]. *Radiat Res*, 2001, **156**: 210-214.
- [3] Michelet C, Moretto Ph, Barberet Ph, et al. A focused microbeam for targeting cells with counted multiple particles[J]. *Radiat Res*, 2002, **158**: 370-371.
- [4] Greif K D, Brede H J, Giesen U, et al. The PTB single ion microbeam for irradiation of living cells[J]. *Nucl Instr Meth B*, 2004, **217**: 505-512.
- [5] Wu L J, Randers-Pehrson G, Xu A, et al. Targeted cytoplasmic irradiation with alpha particles induces mutations in mammalian cells[C]// *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999, **96**: 4959-4964.
- [6] Geard C R, Randers-Pehrson G, Marino S A, et al. Intra- and intercellular responses after cell site-specific microbeam irradiation [J]. *Radiat Res*, 2000, **153**: 233.
- [7] Yu Z L. Introduction to ion beam biotechnology [M]. New York: Springer Publishing House, 2006: 245-262.
- [8] Feng H Y, Yu Z L, Chu P K. Ion implantation of organisms [J]. *Materials Science and Engineering R*, 2006, **54**: 49-120.
- [9] 詹福如, 余增亮. 加速管中离子运动轨迹的计算[J]. *强激光与粒子束*, 2000, **12**(1): 103-106. (Zhan F R, Yu Z L. The calculation of the ion trajectory in an accelerating tube. *High Power Laser and Particle Beams*, 2000, **12**(1): 103-106)
- [10] Wang X H, Wang S H, Yu Z L. Cell locating for the image analysis system of the ASIPP microbeam. [J]. *Plasma Science and Technology*, 2005, **7**(3): 2885-2888.
- [11] Michael B D, Folkard M, Prise K M. Microbeam probes of cellular radiation response[J]. *Int J Radiat Biol*, 1994, **65**: 503-508.
- [12] Legge G J F. A history of ion microbeams [J]. *Nucl Instr Meth B*, 1997, **130**: 9-19.

Beam position location for single-ion microbeam

WANG Xiao-hua¹, CHEN Lian-Yun²

(1. School of Computer and Information, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China;

2. Key Laboratory of Ion Beam Bioengineering, Institute of Plasma Physics, Chinese Academy of Sciences, P. O. Box 1126, Hefei 230031, China)

Abstract: Target location accuracy is a key index for the microbeam irradiation. Therefore, a method for capturing and locating the microbeam position is offered. The microbeam position is identified by imaging the fluorescent spot excited when particles hit the scintillation foil. Using the image capture and analysis system, the fluorescent spot is analyzed to determine the microbeam position. Furthermore, experiments using CR39 nuclear track detector to measure the microbeam locating method are presented. The overall target location accuracy is measured when a borosilicate glass capillary with $5 \mu\text{m}$ inner diameter and $980 \mu\text{m}$ length is used as the microbeam collimator.

Key words: Single-ion microbeam; Beam position locating; Ion cluster

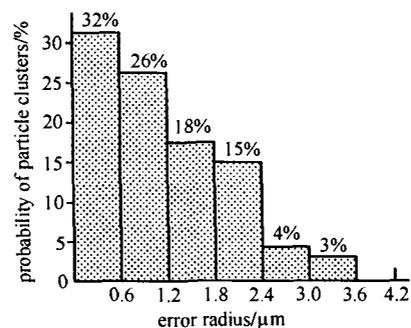


Fig. 7 Targeting accuracy measured for the CAS-LIBB Microbeam

图 7 CAS-LIBB 装置定位精度的测量结果