

• 论 著 •

PSO+: 基于粒子群结合其他迭代算法非线性拟合热对流聚合酶连锁反应的荧光数据

付达^{1,2,4}, 陈友兵^{1,3,4}, 卓之豪^{1,4}, 闵小平^{1,3,4}, 王海^{1,3,4}, 葛胜祥^{1,2,4}, 张师音^{1,2,4}, 王进^{1,2,4}

1. 厦门大学 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室 (福建厦门 361100)
2. 厦门大学 公共卫生学院 (福建厦门 361100)
3. 厦门大学 信息科学与技术学院 (福建厦门 361100)
4. 厦门大学 国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心 (福建厦门 361100)

【摘要】 热对流聚合酶连锁反应 (CCPCR) 利用热对流的原理, 让试剂在试管内流动, 通过试管上下部分的温度差来达到扩增目的。为了实时检测扩增效果, 我们在试剂体系中加入荧光基团, 通过荧光的强弱实时反映扩增的情况。实验结果显示荧光变化曲线符合扩增曲线的 S 型趋势, 但是由于热对流的不稳定性而存在一定的抖动情况, 不利于扩增循环阈值 (CT 值) 的计算。为了解决这个问题, 本文采用动力学方法, 利用双 S 型函数模型来拟合曲线, 使荧光曲线平滑, 从而能更好地根据曲线来推断核酸初始浓度, 达到定量的目的。同时采用 PSO+ 算法求解双 S 型函数参数, 即用粒子群优化 (PSO) 算法结合 Levenberg-Marquardt、Newton-CG 等算法进行曲线拟合, 有效克服 PSO 随机性太强和传统算法 Levenberg-Marquardt、Newton-CG 等容易陷入局部最优解的缺点, 数据拟合结果的 R^2 能够达到 0.999 8。此研究对以后的实时荧光热对流扩增的定量检测研究有指导性意义。

【关键词】 热对流聚合酶连锁反应; 曲线拟合; 双 S 型函数; 粒子群

PSO+: nonlinear fitting fluorescence data based on particle swarm optimizing combine with other iteration algorithm

FU Da^{1,2,4}, CHEN Youbing^{1,3,4}, ZHUO Zhihao^{1,4}, MIN Xiaoping^{1,3,4}, WANG Hai^{1,3,4}, GE Shengxiang^{1,2,4}, ZHANG Shiyin^{1,2,4}, WANG Jin^{1,2,4}

1. State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361100, P.R.China
 2. School of Public Health, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361100, P.R.China
 3. School of Information Science and Engineering, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361100, P.R.China
 4. National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361100, P.R.China
- Corresponding author: MIN Xiaoping, Email: mxp@xmu.edu.cn

【Abstract】 The convective polymerase chain reaction (CCPCR) uses the principle of thermal convection to allow the reagent to flow in the test tube and achieve the purpose of amplification by the temperature difference between the upper and lower portions of the test tube. In order to detect the amplification effect in real time, we added a fluorophore to the reagent system to reflect the amplification in real time through the intensity of fluorescence. The experimental results show that the fluorescence curve conforms to the S-type trend of the amplification curve, but there is a certain jitter condition due to the instability of the thermal convection, which is not conducive to the calculation of the cycle threshold (CT value). In order to solve this problem, this paper uses the dynamic method, using the double S-type function model to fit the curve, so that the fluorescence curve is smooth and the initial concentration of the nucleic acid can be deduced better to achieve the quantitative purpose based on the curve. At the same time, the PSO+ algorithm is used to solve the double s-type function parameters, that is, particle swarm optimization (PSO) algorithm combined with Levenberg-Marquardt, Newton-CG and other algorithms for curve fitting. The proposed method effectively overcomes PSO randomness and the shortcoming of traditional algorithms such as Levenberg-Marquardt and Newton-CG which are

DOI: [10.7507/1001-5515.201708035](https://doi.org/10.7507/1001-5515.201708035)

基金项目: 国家自然科学基金 (81871505); 福建省自然科学基金 (2017J05136); 国家重点实验室自主课题资助项目 (2018ZY001)

通信作者: 闵小平, Email: mxp@xmu.edu.cn



easy to fall into the local optimal solution. The R^2 of the data fitting result can reach 0.999 8. This study is of guiding significance for the future quantitative detection of real-time fluorescent heat convection amplification.

【Key words】 capillary convective polymerase chain reaction; curve fitting; double sigmoid function; particle swarm

引言

传统聚合酶连锁反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术是一种用于放大扩增特定的 DNA 片段的分子生物学技术, 能在 2~3 h 内将微量的 DNA 扩增放大几百万倍, 因此在生物医学领域有着广泛而重要的用途。但是由于传统 PCR 需要在扩增过程中反复升降温度, 导致扩增时间非常长, 而且机台比较庞大, 操作较为不便^[1-3]。热对流 PCR 技术 (capillary convective PCR, CCPCR) 是一种基于热传导和热对流原理的新型体外核酸扩增技术, 让液体试剂在不同温度区发生热对流的过程中完成 PCR 的变性、退火及延伸反应, 不仅摆脱了传统 PCR 技术依赖反复升降温、设备笨重、耗时耗能等缺陷, 而且无需复杂的温控驱动系统、等温扩增技术复杂的酶系统以及严格的引物设计。因此, 对流 PCR 技术得到了众多科研人员的重视, 成为 PCR 领域的一个研究重点^[4-6]。

为了实时检测扩增情况, 我们在 CCPCR 试剂体系中加入荧光基团, 并采用电荷耦合原件 (charge coupled device, CCD) 相机拍摄扩增过程中的荧光强度的变化, 再通过图像分析软件得到荧光强度变化曲线, 求出扩增的循环阈值 (cycle threshold, CT 值)^[7-9]。然而由于试剂管内液体的热对流受温度、试剂管形状和表面特性、重力、粘滞力等各种因素的影响, 会导致试剂管内液体环流紊乱, 从而影响扩增和荧光检测结果的稳定性。因此, 实验结果中会出现荧光曲线数据抖动情况, 这样就很难直接通过手工设置阈值线来求解 CT 值。为了消除数据抖动的影响, 本文采用了曲线拟合的方法。采用双 S 型函数模型^[10], 并根据荧光曲线特点合理设定了曲线参数的取值范围, 再采用 PSO+算法, 即粒子群优化 (particle swarm optimization, PSO) 算法结合 Levenberg-Marquardt、Newton-CG 等算法, 求解出函数模型的参数值。本程序源代码下载地址: https://github.com/youbingchen/youbing/psso_curvefitting。

1 曲线数据和拟合方法

1.1 拟合数据来源

为了完成扩增实验, 我们搭建了实验系统, 如图 1 所示。

使用温度控制器控制上、下端铝块的温度分别为 55℃ 和 95℃, 将 PCR 试剂管嵌入铝块中, 底部和下铝块接触的部分温度为 95℃, 上部和上铝块接触的部分为 55℃, 通过温差促使管中的 PCR 试剂形成自然对流, 实现扩增。系统采用双通道荧光激发与检测结构, 采用光纤作为收发光的通道, 发光二极管作为激发光源, 使用工业相机 (深圳度申科技公司 ICX205AL CCD 相机) 作为荧光采集系统拍照, 采集荧光的变化, 可实现对两种不同的荧光进行检测和定量分析^[11]。

为了解决各扩增试剂管之间的扩增效率的差异性问题, 我们引入了内标校正靶标的方法, 即将已知浓度的内标和未知浓度的靶标放在同一试剂管内扩增, 根据内标的扩增情况校正靶标的扩增。在靶标和内标反应体系中, 均以巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 为模板, 分别在靶标反应体系中加入蓝色荧光基团 (FAM 通道), 内标反应体系加入绿色荧光基团 (HEX 通道)。在试剂管中间位置有两条光纤, 一条同时传输蓝色、绿色两个波长的照射光, 另一条传输蓝色、绿色两个波长的荧光基团激发出来的光, 最后通过一个滤光片, 将蓝色和绿色的荧光分开, 再用 CCD 相机拍摄, 获得荧光图像。每组实验需要 30 min, 每 10 s 切换一次滤光片, 相机拍摄一次荧光照片, 所以每一次实验的两个荧光通道中每个通道各需要拍照 90 次, 采集 90 个荧光强度值。为了将各曲线的基线值 (即荧光强度的起始值) 调整成一致, 我们将计算得到的荧光强度值都减去了前 15 个点平均值。因为根据统计分析, 热对流扩增荧光曲线上行的拐点均在第 20 个点以后, 也就是前 15 个点都属于基线范围。然后以不同时间拍摄的图像分析得到的荧光强度作为纵坐标, 拍照次数作为横坐标, 制作了荧光曲线。由于纵坐标是通过对相机拍照得到的图像进行分析的结果, 只反映荧光的强弱变化, 而不是真正的荧光强度值, 所以没有单位。基于以上的实验方法, 文章中收集了多组实验数据, 下载地址如下: <https://github.com/youbingchen/youbing/>

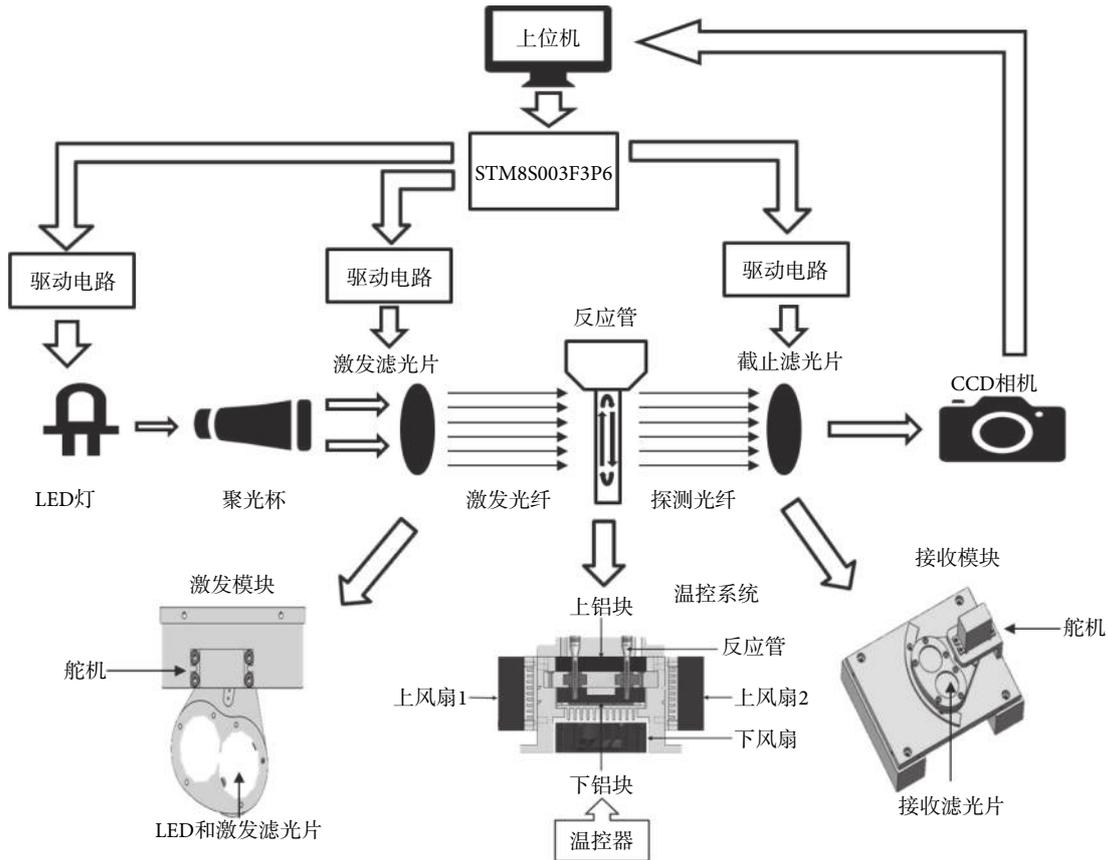


图1 CCPCR 扩增及荧光检测系统

Fig.1 CCPCR amplification and fluorescence detection system

psocurvefitting/tree/master/csvdata。每个 csv 文件中的每一列代表一个试剂管在不同拍照次数下的荧光强度。

1.2 拟合函数选取

图 2 中的数据来自 green_data.csv 文件，是一次实验中同时扩增的 11 个试剂管绿色荧光通道获得的数据。图 2 中红色框内的部分是扩增曲线上行的拐点区域，这部分区域对于求解 CT 值有着关键性的作用。从图 2 可以明显看出，由于热对流会受到各种因素的影响，其原始荧光曲线会有不同程度的抖动。如果用手动设置阈值线的方法得到 CT 值，可能会由于曲线的抖动得到多个点，主观选择其中某个点往往会带来误差。

为了解决这种问题，本文采用双 S 曲线函数模型来拟合荧光扩增曲线。对 PCR 扩增的研究表明，产物的扩增曲线是指数扩增趋势，大体呈现 S 型趋势。而双 S 曲线函数具有指数函数的特点，而且参数变化非常灵活，非常适合于扩增曲线的拟合。双 S 形函数的表达式如下：

$$f(x) = a + bx + \frac{c}{(1 + \exp^{-d(x-e)})(1 + \exp^{-f(x-g)})} \quad (1)$$

表 1 为方程 (1) 的参数含义。根据其含义描

述，本文对其中的参数限定了变化范围，这样不仅有很好的拟合效果，并且能够消除因为粒子群初始值选择不合适而陷入局部最优的情况。*a* 相当于基线高度。*b* 是基线和曲线平稳的斜率，理想的斜率接近为 0，也就是基线和曲线平稳时曲线是平的。但是实际上照射光光强随时间的变化会给荧光光强曲线的这一斜率带来影响，所以其很难达到水平。*c* 是曲线的绝对强度，也就是曲线平稳的高度。对于一般的正常曲线来说，取最高的点减去最低点的高度就是曲线高度，但是对于有抖动的数据，最高点可能是异常点，所以本文根据不同的数据，曲线的高度在其平均点和最高点范围之间浮动。参数 *d* 和 *f* 分别表示 S 形曲线的锐度，因为无法给出这些参数的范围，所以本文将它们的范围定义为 PCR 曲线最普遍的形状进行建模。参数 *e* 和 *g* 分别对应着双 S 函数中两个函数 S 形的拐点位置，考虑到拐点一般在曲线抖动最剧烈的地方，本文有意将其范围扩大。

根据算法优化得到拟合曲线之后，再利用手动设置阈值线求出 CT 值。这样不仅能取得唯一 CT 值，而且使得到的 CT 值更合理。

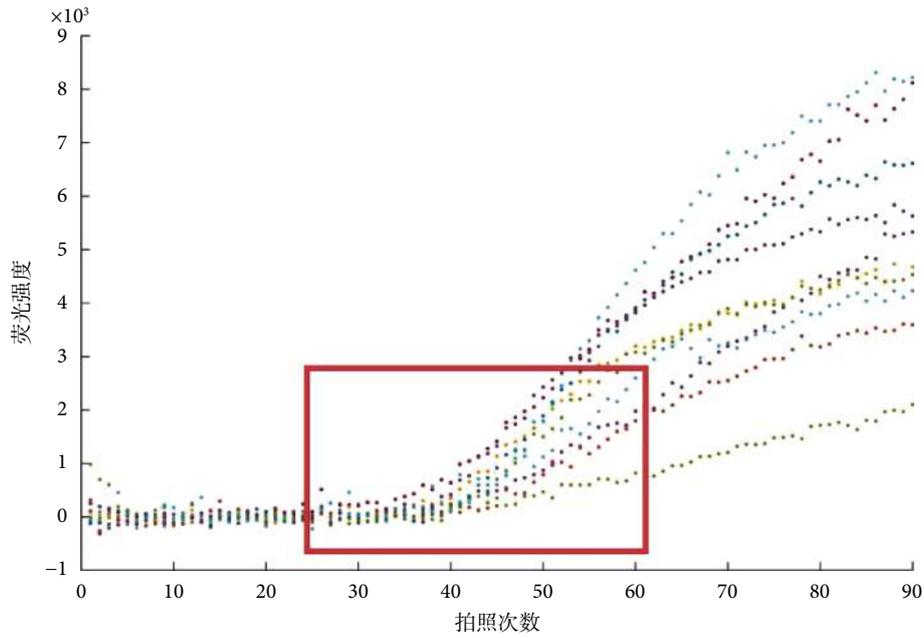


图2 原始荧光数据抖动较大的情况

Fig.2 Jitter situation of the original fluorescence data

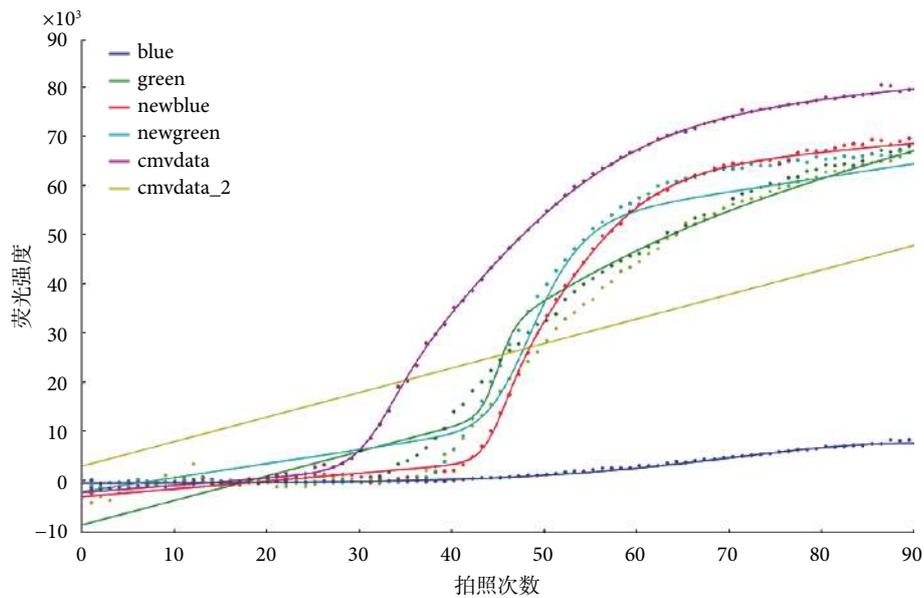


图3 Levenberg-Marquardt 拟合效果

Fig.3 The fit effect of Levenberg-Marquardt

表1 非线性方程(1)参数

Tab.1 Parameters of nonlinear model (1)

参数	参数含义	定义参数范围
<i>a</i>	$x = 0$ 时 y 的值	$[\min\{y_i\}, \text{average}\{y_i\}]$
<i>b</i>	基线和曲线的平稳的斜率	$[0, 0.5]$
<i>c</i>	曲线的绝对强度	$[\text{average}\{y_i\}, \max\{y_i\}]$
<i>d</i>	第一个 S 型的“锐度”	$[-1, 1.1]$
<i>e</i>	第一个 S 型的拐点位置	$\max_x\{f(x_2) - f(x_1)\}$ 前后 20 个点
<i>f</i>	第二个 S 型的“锐度”	$[-1, 1.1]$
<i>g</i>	第二个 S 型的拐点位置	$\max_x\{f(x_2) - f(x_1)\}$ 前后 20 个点

2 经典算法测试

曲线方程确定之后, 曲线拟合的过程就是一个寻找最优曲线参数的过程, 成为了一个优化问题。优化算法有很多, 比较经典的有 Levenberg-Marquardt、Newton-CG、POWELL、遗传算法和 PSO 等。我们对其中一些算法进行了测试。

图 3 中的数据来自 compare_data.csv 文件, 是分别从 blue_data.csv、green_data.csv、cmvdata.csv 等

6组实验数据里面抽取出来的。为了让曲线的横纵坐标范围接近,更加便于拟合,本文将实验的原始值进行一定倍数的缩小。图中的曲线是采用 Levenberg-Marquardt 算法拟合的结果。从图中可以明显看出,部分数据根本无法利用 Levenberg-Marquardt 算法拟合出来,虽然有些数据能够很好被拟合,但是这跟所取的参数初值有很大的关系。因为 Levenberg-Marquardt、Newton-CG、Guass-Newton 等传统迭代算法需要一个合理的初始解才不会陷入局部最优,我们对初始解猜测得越好,算法的结果就越好。但是由于双 S 形函数的参数复杂性和 CCPCR 实验条件的多变性,会导致不同扩增曲线在采用相同初始解的时候,很容易在局部最优收敛,难以得到一个理想的结果,其拟合结果的好坏具有很大的不确定性。

PSO 目前已被广泛应用于参数学习,包括机器学习算法上的参数学习和工程应用中的参数学习^[12-14]。很重要的原因是 PSO 本身原理简单、搜索速度快,与传统迭代算法相比很少出现陷入局部最优解的情况。其基本原理如下所示^[12]:

$$v^{(t+1)} = v^t + c_1 r_1 (p_{lb} - x) + c_2 r_2 (p_{gb} - x) \quad (2)$$

$$x^{(t+1)} = x^t + v^t \quad (3)$$

其中 p_{lb} 是 t 时刻局部最优值, p_{gb} 是 t 时刻全局最优值, x 、 v 都是向量。 c_1 、 c_2 为学习因子。 r_1 和 r_2 为 $0 \sim 1$ 范围内的均匀随机数。这一原理对非线性、多峰问题均具有较强的全局搜索能力。

由于粒子群性能也依赖于本身算法的参数,如果参数选择不合适,粒子就容易飞出问题空间,发生群体“爆炸现象”。针对这种情况,通常采用两种方法控制:惯性参数和收缩因子。本文采用的是惯性系数 PSO:

$$v^{t+1} = wv^t + c_1 r_1 (p_{lb} - x^t) + c_2 r_2 (p_{gb} - x^t) \quad (4)$$

其中 w 为惯性常数。

为了适应不同实验数据不同的抖动情况,我们

对算法的迭代次数进行了一个动态的设定,即: $iterations = baseiteration + itera(x)$, 其中 $baseiteration$ 是基本迭代次数, $itera(x)$ 是迭代次数适应函数。其主要目的是考虑到数据抖动情况,针对一些抖动比较大的数据,防止过早结束搜索。

评价曲线拟合的评价指标^[15-17]通常有统计拟合数据和原始数据对应点的误差的平方和 (RSS)、回归系统的拟合标准差 ($RMSE$)、确定系数 (R^2) 和正则化确定系数 (\bar{R}^2) 等几种参数。理论上 $RMSE$ 的空间范围是 $[0, +\infty)$, R^2 的空间范围是 $[0, 1]$, \bar{R}^2 的空间范围是 $[0, R^2]$, 其中 $RMSE$ 越小越好,而后两种则越大越好。

本文采用经典 PSO 算法,并分别采用不同评价指标对图 3 中的 6 组数据进行了曲线拟合,并作了比较,结果如表 2 所示。

根据比较结果,一般情况下 \bar{R}^2 和 R^2 的拟合效果会优于 $RMSE$ 。但是对于原始数据抖动比较小的情况,由于 R^2 和 \bar{R}^2 空间范围较小,可能会出现因为连续两次迭代最优值变化不大而过早中止迭代的情况。如表 2 中 $cmvdata$ 数据就出现这种情况,采用 $RMSE$ 作为评价指标拟合的结果要优于采用 R^2 和 \bar{R}^2 的结果。

3 粒子群算法和传统迭代算法结合

表 2 虽然表明了 PSO 对 CCPCR 数据有较好的拟合效果,但是由于 PSO 具有较强的随机性,局部收敛性比较差,会导致有些 CCPCR 数据曲线的关键部分拟合效果比较差。为了更好地拟合数据,本文将粒子群和 Levenberg-Marquardt、Newton-CG、POWELL、Guass-Newton 等传统的迭代优化方法结合起来,即采用了 PSO+算法,在每一次迭代过程中将粒子群优化解代入到 Levenberg-Marquardt 等传统算法中,综合利用了 PSO 算法的全局寻优能力和 Levenberg-Marquardt 等算法的局部优化快

表 2 PSO 算法采用不同评价指标优化结果的比较

Tab.2 Comparison of different evaluation function in PSO

评价指标	blue	green	newblue	newgreen	cmvdata	cmvdata_2
$RMSE$	$RM = 0.710\ 0$ $R^2 = 0.988\ 4$ $\bar{R}^2 = 0.987\ 5$	$RM = 0.904\ 7$ $R^2 = 0.997\ 8$ $\bar{R}^2 = 0.997\ 7$	$RM = 0.500\ 8$ $R^2 = 0.999\ 5$ $\bar{R}^2 = 0.999\ 5$	$RM = 0.508\ 6$ $R^2 = 0.999\ 6$ $\bar{R}^2 = 0.999\ 5$	$RM = 0.381\ 0$ $R^2 = 0.997\ 0$ $\bar{R}^2 = 0.996\ 8$	$RM = 0.775\ 6$ $R^2 = 0.993\ 7$ $\bar{R}^2 = 0.993\ 2$
R^2	$RM = 0.696\ 6$ $R^2 = 0.990\ 6$ $\bar{R}^2 = 0.989\ 8$	$RM = 0.927\ 6$ $R^2 = 0.997\ 3$ $\bar{R}^2 = 0.997\ 1$	$RM = 0.506\ 3$ $R^2 = 0.999\ 5$ $\bar{R}^2 = 0.999\ 5$	$RM = 0.450\ 3$ $R^2 = 0.999\ 7$ $\bar{R}^2 = 0.999\ 6$	$RM = 0.400\ 0$ $R^2 = 0.995\ 6$ $\bar{R}^2 = 0.995\ 2$	$RM = 0.749\ 3$ $R^2 = 0.993\ 6$ $\bar{R}^2 = 0.993\ 0$
\bar{R}^2	$RM = 0.663\ 4$ $R^2 = 0.991\ 5$ $\bar{R}^2 = 0.990\ 8$	$RM = 0.802\ 1$ $R^2 = 0.998\ 4$ $\bar{R}^2 = 0.998\ 2$	$RM = 0.499\ 7$ $R^2 = 0.999\ 5$ $\bar{R}^2 = 0.999\ 5$	$RM = 0.471\ 4$ $R^2 = 0.999\ 6$ $\bar{R}^2 = 0.999\ 6$	$RM = 0.494\ 1$ $R^2 = 0.996\ 5$ $\bar{R}^2 = 0.996\ 3$	$RM = 0.786\ 4$ $R^2 = 0.992\ 5$ $\bar{R}^2 = 0.991\ 8$

注:表中, RM 是 $RMSE$ 的缩写

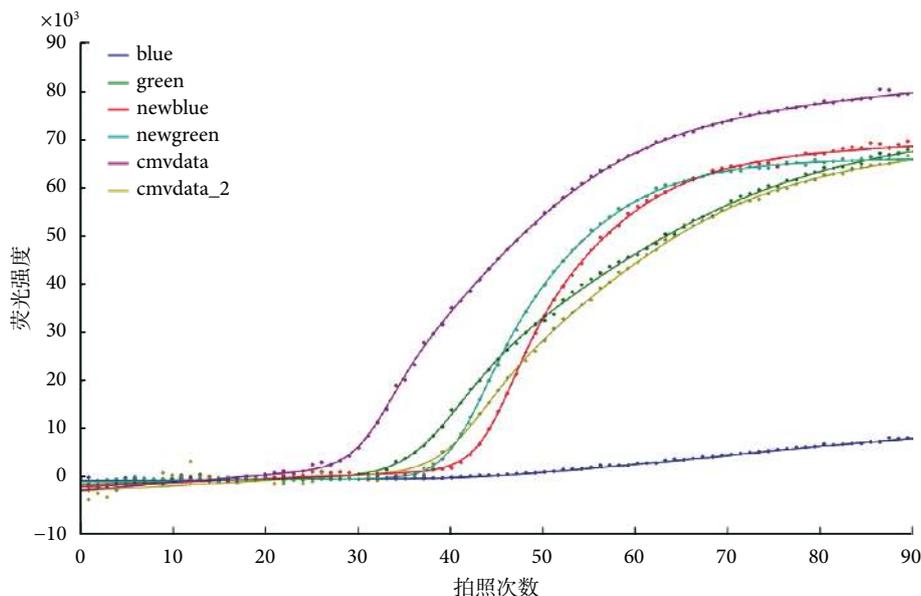


图4 PSO+LM算法拟合效果

Fig.4 The fit effect of PSO+LM algorithm

速收敛能力,从而能够更快地得到一个更优的参数解。

表3对同一组数据,采用RMSE和R²两种评价指标将PSO与PSO+算法进行比较。从表3结果中可以明显看出,结合了任意一种传统迭代算法的PSO+算法,其拟合的效果都要优于PSO算法,而不同的PSO+算法之间的结果则无明显差异。

图4是采用PSO+LM的算法对图3实验数据做的拟合结果。从图中可以看出,对于不同特点的扩增曲线,拟合结果均比较理想,没有出现图3中采用LM算法拟合时不稳定、部分曲线拟合结果很

差的情况。由此可见,PSO+LM算法很好地解决了PSO对解空间的限制,同时也平衡了PSO的随机性和参数的不确定性。表4是优化得到的曲线参数值。

4 结论

CCPCR由于反应过程易受多种因素干扰,其原始的荧光采集数据会有抖动的问题,所以无法直接准确地得到CT值。本文根据扩增曲线的特点,选取双S型函数对曲线进行拟合,并根据曲线参数的意义以及对实验数据的分析确定了各参数的变化范围。再采用PSO结合Levenberg-Marquardt等算法的PSO+算法,优化函数的参数,并采用不同的优化评价指标进行优化,最后对拟合结果进行了比较。实验结果显示双S曲线非常适合热对流扩增曲线的拟合,本文限定的参数范围也比较合理,缩小了优化的范围。同时PSO+算法利用PSO算法的搜索随机性,解决了方程(1)过于灵活的问题,同时也利用Levenberg-Marquardt等方法平衡

表3 PSO算法与PSO+算法的比较

Tab.3 Comparison of PSO with PSO+ algorithms

评价指标	PSO	PSO+LM	PSO+PW	PSO+TN	PSO+CG
RMSE	1.040 3	0.341 9	0.355 0	0.342 5	0.358 5
R ²	0.998 4	0.999 8	0.999 8	0.999 8	0.999 8

注: LM: Levenberg-Marquardt 算法; PW: POWELL 算法; TN: Truncated Newton 算法; CG: conjugate gradient 算法

表4 PSO+LM算法学习出来的曲线的参数值

Tab.4 The parameters of model (1) with PSO+ algorithms

数据名称	a	b	c	d	e	f	g
blue	-0.239 0	0.010 7	-9.736 4	0.273 9	45.158 1	0.075 7	72.315 0
green	-1.029 0	0.050 5	68.185 7	0.072 2	50.998 5	0.330 0	39.080 4
newblue	-1.507 0	0.081 9	63.213 0	0.140 0	48.815 6	0.474 6	45.158 5
newgreen	-0.515 5	0.020 1	65.028 8	0.143 2	46.394 1	0.439 1	41.764 4
cmvdata	-2.282 1	0.159 8	68.129 9	0.110 4	41.543 1	0.476 1	32.053 2
cmvdata_2	-2.390 0	0.105 1	60.699 8	0.094 1	52.253 8	0.382 7	41.786 3

了粒子群的随机性,解决了局部快速优化收敛问题,取得了很好的拟合效果,为后续CT值的计算和实时荧光热对流扩增的定量检测研究打下了基础。

参考文献

- 1 陈旭,齐凤坤,康立功,等.实时荧光定量PCR技术研究进展及其应用. *东北农业大学学报*, 2010, 41(8): 148-155.
- 2 Krishnan M, Ugaz V M, Burns M A. PCR in a Rayleigh-Benard convection cell. *Science*, 2002, 298(5594): 793.
- 3 邓文星,张映.实时荧光定量PCR技术综述. *生物技术通报*, 2007, (5): 93-95, 103.
- 4 吴叶枫.自然对流型微流控PCR系统应用效能的研究.沈阳:中国医科大学, 2007.
- 5 Ugaz V M, Krishnan M. Novel convective flow based approaches for high-throughput PCR thermocycling. *Journal of the Association for Laboratory Automation*, 2004, 9(5): 318-323.
- 6 Chou W P, Chen P H, Miao M, *et al.* Rapid DNA amplification in a capillary tube by natural convection with a single isothermal heater. *Biotechniques*, 2011, 50(1): 52-57.
- 7 易健明,屈武斌,张成岗.实时荧光定量PCR的数据分析方法. *生物技术通讯*, 2015, 26(1): 140-145.
- 8 徐丽华,刘春雷,常玉梅,等.双标准曲线相对定量PCR试验原理与方法. *生物技术通报*, 2011(1): 70-75.
- 9 Heid C A, Stevens J, Livak K J, *et al.* Real time quantitative PCR. *Genome Res*, 1996, 6(10): 986-994.
- 10 霍夫曼-拉罗奇有限公司.利用双S形函数曲线拟合和LEVENBERG-MARQUARDT算法及标准化的PCR肘确定: CN1987880. 2012-06-27.
- 11 翁振宇,闵小平,王海,等.对流实时荧光定量PCR系统设计. *厦门大学学报:自然科学版*, 2018, 57(1): 130-136.
- 12 杨维,李歧强.粒子群优化算法综述. *中国工程科学*, 2004, 6(5): 87-94.
- 13 马超,蔡军,杨飞,等.应用于铣削参数优化的粒子群和遗传交互算法. *计算机工程与应用*, 2015, 51(16): 252-258.
- 14 Yahya Z R, Piah A R M, Majid A A. Conic curve fitting using particle swarm optimization: Parameter tuning//Knowledge Technology. Springer Berlin Heidelberg, 2012: 379-382.
- 15 唐永凯,贾永义.荧光定量PCR数据处理方法的探讨. *生物技术*, 2008, 18(3): 89-91.
- 16 Cameron A C, Windmeijer F A G. An R-squared measure of goodness of fit for some common nonlinear regression models. *J Econom*, 1997, 77(2): 329-342.
- 17 Spiess A N, Neumeyer N. An evaluation of R2 as an inadequate measure for nonlinear models in pharmacological and biochemical research: a Monte Carlo approach. *BMC Pharmacol*, 2010, 10(1): 6.

收稿日期: 2017-08-14 修回日期: 2019-03-12

本文编辑: 李蓓兰