

数据分析

漫谈 NMT 数据重复性与提升方法

-- 如何打跑 NMT 应用道路上的拦路虎？

刘蕴琦^{1,2} 叶斌^{3,4} 杲红建^{3,4} 许越^{1,2,3,4*}

1 中关村 NMT 产业联盟, 北京, 中国, 100080; 2 NMT 国际联盟, 阿默斯特, 马萨诸塞州, 美国 01002; 3 美国扬格公司, 阿默斯特, 马萨诸塞州, 美国 01002; 4 旭月(北京)科技有限公司, 北京, 中国, 100080

摘要: 为了探讨 NMT 数据的重复性与如何提高重复性的方法, 通过人体温变化的示例引出常识性提升 NMT 数据重复性的方法, 并展示了常识性方法所得到的 NMT 数据。分享了与活体检测重复性相关的 4D 属性变量公式, $J_n = f(E, S, T, n)$, 其中 E: 环境因子变量, 可以是生物因子及非生物因子; S: 空间 / 位置变量; T: 时间变量, 检测的秒 / 时 / 日等时间跨度, 或者生物个体的不同成长阶段; n: 目前商业化了的 NMT 离子 / 分子检测指标。通过对 4D 属性的控制, 提升数据重复性。

关键词: 重复性; NMT 数据; 活体; 离子; 分子

1、前言

随着 NMT 非损伤微测技术在中国科学界的日益普及和广泛应用^[1], 老师和同学们在使用 NMT 技术过程中, 逐步汇集了一些共性问题, 同时也催生了许多精辟的见解, 这里我们用漫谈的轻松形式, 和大伙儿交流和分享一下这些年中国 NMT 人积累的智慧火花, 希望这些火花在照亮大家应用 NMT 科研道路的同时, 还能够点燃更多有志学子的创新欲望。

因为是漫谈, 我先给老师同学们讲一个与 NMT 相关的故事。

大家知道, 尽管 NMT 诞生在中国, 但是它的原初概念和检测原理是来自于产出过多名诺贝尔奖得主的美国麻省 MBL 海洋生物学实验室。在和 Lionel Jaffe 教授 (NMT

检测原初概念的提出人之一, 并且生前担任旭月公司的学术顾问) 一次午餐间闲聊的时候, 给我讲过这样一件他亲身经历的事情。

他们的实验室曾经有一位来自中国的女科学家访问学者, 以做电生理实验为主。MBL 所在地有着世界闻名的身体透明的大个枪乌贼, 极为适合神经电生理学研究。有一次, 实验室的玻璃微电极拉制仪突然坏了, 厂家要过几天才能过来修理, 可是出海打捞回来的枪乌贼和其它实验材料都已准备好了, 这一耽误可能就是几个星期的宝贵时间。

* 通讯作者: Yue Jeff Xu (jeffxu@youngerusa.com, jeff@xuyue.net)
doi:10.5281/zenodo.8437332

这个关键时刻，这位中国女科学家说到：“我来用手拉制实验用的玻璃微电极吧！”。

Jaffe 教授告诉我，当时大家都不敢相信自己的耳朵。但是，咱们这位中国女科学家，不紧不慢地打开实验室酒精喷灯，不一会儿就生生地用两只中国人的巧手拉制出了几只玻璃微电极，令实验室里来自世界不同国家的科学家们叹为观止！至今在 MBL 传为佳话！

2010 年 Jaffe 教授得知他的原初概念在中国以 NMT 的形式得到发扬光大的时候，一方面他觉得非常高兴和欣慰，另一方面，他说一点儿也不感到诧异，因为中国人不仅聪明，而且手实在是太巧了！

所以 2017 年中国科学家利用 NMT 技术发表的文献总数就超过了世界其它国家的总和，也就不足为奇了。

当然这些年，大家在享受 NMT 的无损、实时、原位、无需标记、快速便捷的测量方式之余，对于 NMT 数据的离散性偏大，或者说对于 NMT 数据不能够像其它技术一样具有较容易取得的一致性和重复性，颇感挠头和费解，有时甚至成为某些师生尝试应用 NMT 道路上的一只拦路虎。所以今天，咱们就聊一聊如何打跑这只纸老虎？

2、常识性提升 NMT 数据重复性方法

按照“科普中国”科学百科词条的定义：

数据重复性是指，在相同测量条件下，对同一被测量材料进行连续多次测量所得结果之间的一致性^[2]。

那么对于广大心灵手巧的中国院校师生们，只需要从一些常识性的认知概念出发，比如，使用标准方法和厂家建议耗材及流程并正确操作情况下，由同一操作人员，在同

一实验室，使用同一台仪器，并在短期内，对相同样品做多个单次测试。总言之，就是在尽量相同的条件下，包括程序、人员、仪器、环境等，以及尽量短的时间间隔内完成重复测量任务。保持各方面实验条件（仪器设备、实验材料及溶液配制等等）基本相同或相近，和其它实验技术一样都会获得重复性较好的数据^[2]。

根据这些年全国 NMT 人积累的实践经验，NMT 数据重复性不理想的原因，可以分为主观和客观两个方面。

客观方面主要是经验不足，也是多年来师生们熟悉和习惯了分子生物学等生化实验方法，突然接触到提供生理数据的 NMT 技术，一下子不太适应，需要时间和耐心摸透它的脾气个性。

举例来说，大家都知道人体的体温在 37 度左右，但有时忽视了人体体温随着年龄是有变化的，随着一天的时间是有起伏的，即使一个人身体的不同部位温度也是不一样的^[3]（见图 1）。

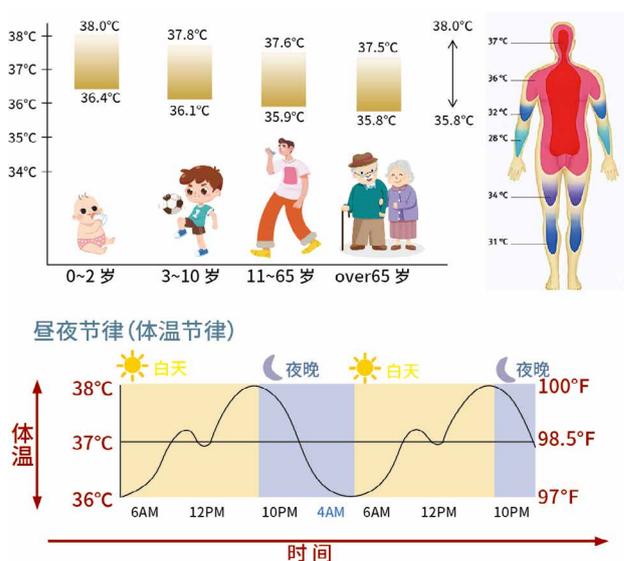


图 1. 人体体温随身体不同部位、年龄、昼夜节律的变化

很多师生开始用 NMT 研究根营养吸收的时候，没有将这些常识和自身的实验结合起来，想当然地认为检测植物根，根的年龄大小、根的哪个部位，以及何时何地取材等等关系不大。可以想象，由此得到的 NMT 数据重复性一定不会理想！

后来，大家意识到了，得像获得重复性好的人体体温一样，先确定根的年龄段，然后进行‘全身’扫描以确定最大吸收区域，而且最好选择每天的同一个时间段进行 NMT 数据采集。

有了这些经验，大家的 NMT 数据的质量获得了显著的提高（图 2.）。这是许卫锋老师 2013 年的 NMT 数据，在水稻和拟南芥两种不同植物的根部都获得了重复性相当好的数据^[4]。

主观上的原因，无非是思想上重视不够，前期科研工作基础不牢，或准备工作马虎所致。

我们遇到过有的课题组，前期分子生物学的工作不够扎实，转基因 / 突变体等结果并不理想，那么 NMT 自然只会忠实地印证基因方面的不好结果，而不是相反；另外，有的实验室材料培养管理不够严格，材料质量不好，那么可以想象从“一群病人”身上是不可能测出期望的“健康人”生理指标的。

不过这种情况不多，也很容易发现和判断，所以，大家只要像老一辈革命家毛主席说的那样：“战略上藐视它，战术上重视它！”，一方面，坚信自己的聪明才智和实验能力，一方面，认真对待 NMT 实验的每一个细节，就一定能够成功地将 NMT 用于提高自身的科研水平！

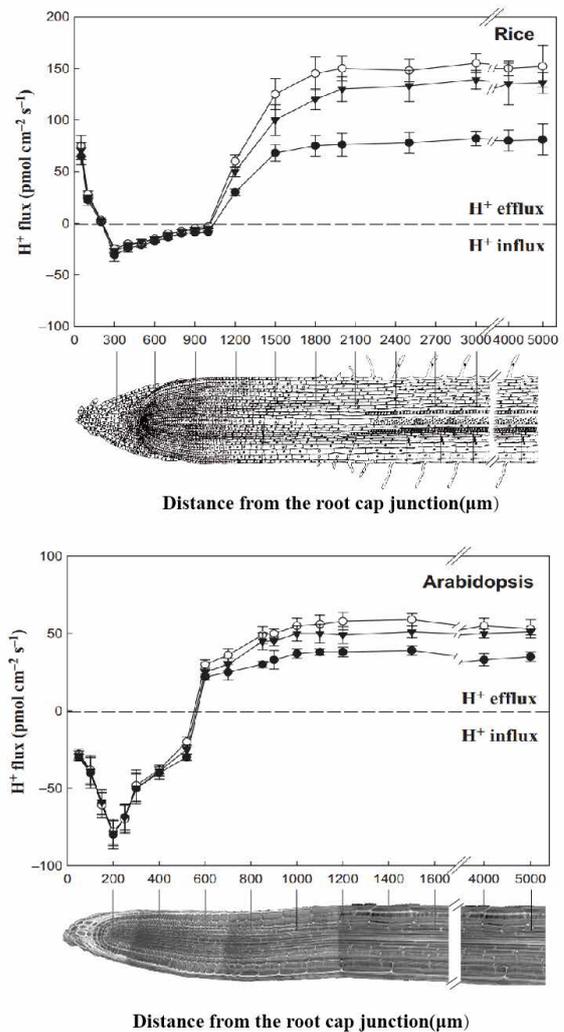


图 2. 水稻和拟南芥根 H⁺ 流速整体扫描结果。中度水分胁迫或外源 ABA 处理对水稻或拟南芥植物根尖表面 H⁺ 流速的影响（距根冠 0-5000 μm）。将 15 日龄的水稻或拟南芥植株暴露于对照条件（实心圆，对照），中度水分胁迫（空心圆，5%PEG 8000）或外源 ABA（实心黑三角，0.1 μM）水培 24 h。这些值是来自两个独立实验的六个重复的平均值和标准差。（插图来自于网络）

3、NMT 数据的 4D 属性与专业提升重复性方法

NMT 最吸引人的技术亮点之一是它的无损检测活体，而且几乎不受样品尺寸大小的限制。然而，事物都是辩证存在的。活体检测，相比其它非活体检测技术，也一定更加容易受到各式各样多种因素的影响，从而必然给获得理想的数据重复性带来极大的挑战！

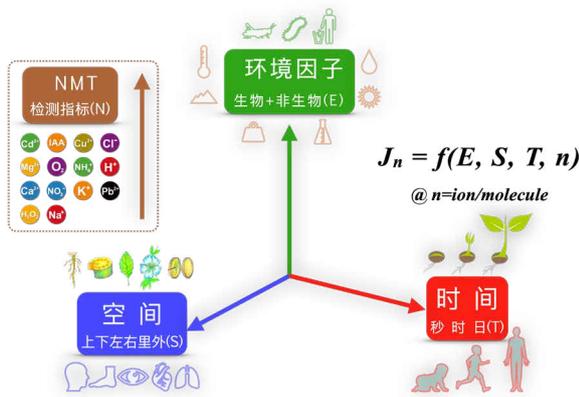


图 3. NMT 数据的 4D 属性。图中公式， J_n ：离子 / 分子流速； n ：目前商业化了的 NMT 离子 / 分子检测指标； E ：环境因子变量，可以是生物因子，比如：昆虫，微生物，人类对环境的影响等生物环境因子，也可以是温湿度，海拔，水源，光照，机械刺激，化学组成等非生物因子； S ：空间 / 位置变量，可以是植物的根 / 茎 / 叶 / 花 / 果，或者人体 / 动物的头 / 脚 / 眼睛 / 心 / 肺等； T ：时间变量，检测的秒 / 时 / 日等时间跨度，或者生物个体的不同成长阶段。

为便于理解和战胜这个挑战，就要知己知彼。我们将形成 NMT 数据的关键要素分成了 4 部分，并将其用一个 4D 系统来描述和展现（图 3.）

依据图 3，NMT 数据可以理解为：

$J_n = f(\text{环境因子, 空间位置, 时间, 离子 / 分子})$

检测某一个离子 / 分子时形成的一个 4DNMT 数据结构。

从 NMT 数据重复性的角度出发，也可以理解为，要想获得一个合格的 / 真实的 / 准确的 NMT 数据，我们必须尽可能保证这 4 个维度的元素一致。那么 NMT 数据重复性“相同测量条件”的关键就可以分解成如下 4 个方面：

1. 相同的环境因子
2. 相同的空间位置
3. 相同的检测时间（间隔）
4. 相同的 NMT 测量仪器及离子分子指标

因此，追求更为专业提升 NMT 数据重复性方法的师生们，可以按照 NMT 数据的 4D 属性逐一分析、排查可能的潜在影响因素，从而通过提高每一个数据的个体质量来切实保证最后的 NMT 数据重复性。

4、建言：借力使力打老虎

经过近 20 年的发展，中国 NMT 生态已经发生了质的改变。

一方面，人工智能的引入，使得 NMT 设备硬件的自动化程度空前提高，随之而来的不仅是检测效率的提升，更重要的是数据质量，特别是 NMT 数据重复性的大幅提升，所以就像旧手机该淘汰就要淘汰了，有条件的单位应该尽快升级到人工智能版本的 NMT 系统。

另一方面是软实力，伴随着中国 NMT 科研应用世界领先地位的确立，是国内众多 NMT 先驱者留下的宝贵 NMT 检测经验，就如图 2 列举的许卫锋老师的出色 NMT 数据。而且，在国家的政策支持和引导下，由中关村 NMT 产业联盟牵头成立的《NMT 国际标准化委员会》等机构，以及汇总中国 NMT 人经验智慧的生医 / 农林植物 / 微生物等领域的 NMT 应用 SOP（标准化操作方案）已经陆续完成整理并出版发行。

由此可见，中国当今的 NMT 生态，早已不是过去的“小米加步枪”了！无论是 NMT 设备硬件，还是测试经验的软实力方面，业已进入了航天和航母时代。

所以，在大家迫不及待地要开展 NMT 实验之前，或者在跃跃欲试准备应用一般性常识或更专业 4D 架构逐一排查 / 分析 NMT 数据重复性欠佳之前，别忘了在您身边有着中国 NMT 先驱者们多年辛勤打造的“东风

战略导弹和歼 20 战机”，用它们来打 NMT 数据重复性这只拦路纸老虎，还不是易如反掌吗？！

5、参考文献

[1] 许越. 非损伤微测技术—2022[J]. NMT 通讯, 2023(01):3-9. DOI:10.5281/zenodo.8227586.

[2] 百度百科“重复性”词条 [EB/OL] (2020-09-14) [2023-11-02]. https://baike.baidu.com/item/%E9%87%8D%E5%A4%8D%E6%80%A7/9226009?fr=ge_ala

[3] 37℃是发烧吗？1 人体的正常体温是怎样波动的？ [EB/OL] (2017-10-16) [2023-11-02]. https://www.douban.com/note/641244506/?type=like&_i=8893561YoHuUVZ,8893603YoHuUVZ

[4] Xu W, Jia L, Shi W, et al. Abscisic acid accumulation modulates auxin transport in the root tip to enhance proton secretion for maintaining root growth under moderate water stress[J]. *New Phytol*, 197, 139–150. doi: 10.1111/nph.12004