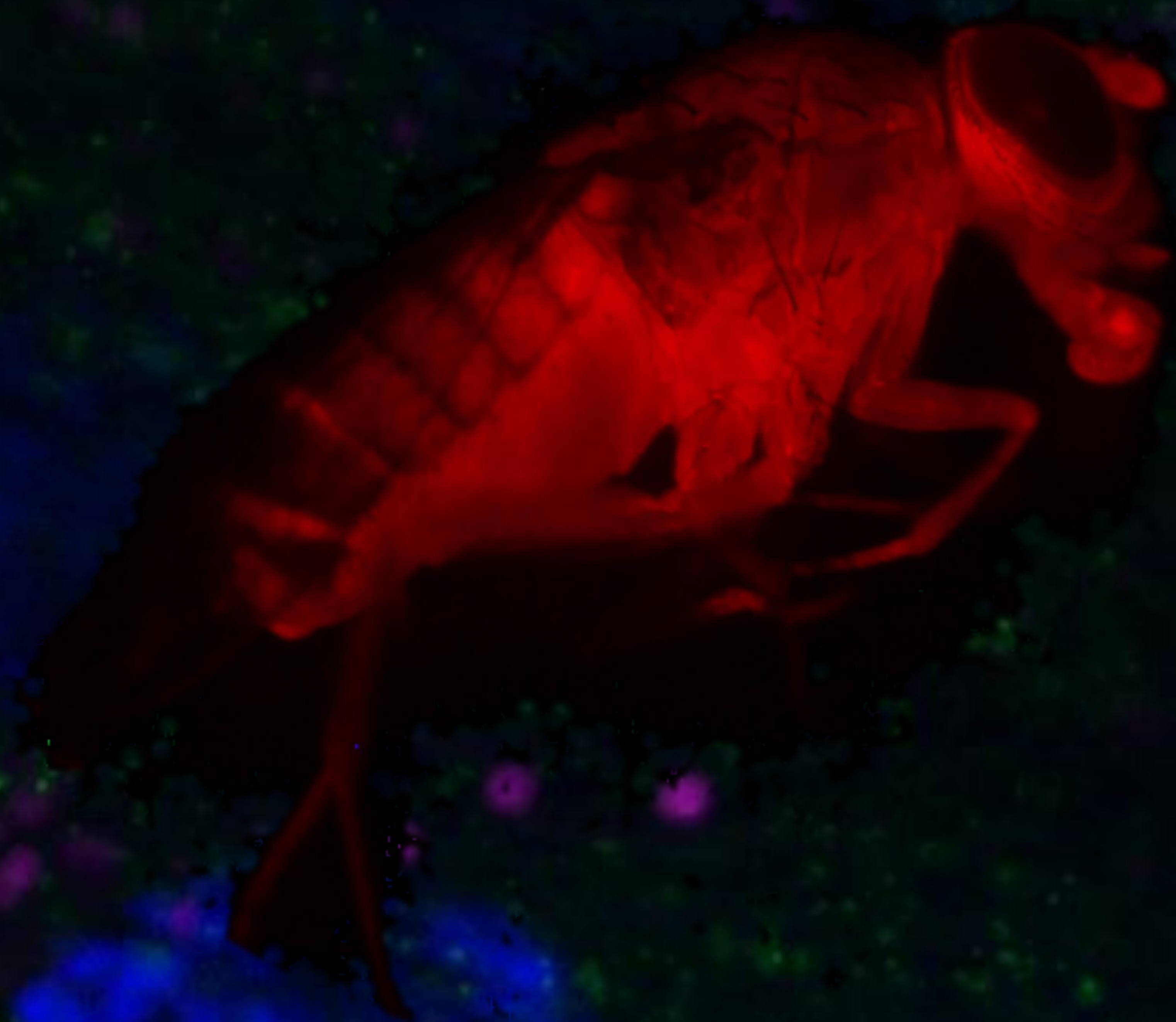


Szekrécións granulumok

¹ ELTE Informatikai Kar
² ELTE Anatómiai, Sejt- és
Fejlődéstudományi Tanszék
³ Szegedi Biológiai Kutatóközpont,
Genetikai Intézet, Szeged

in silico felismerése morfológiai módszerekkel *Drosophila* lárvális nyálmirigyében

Lezsák Domonkos¹ (domonkos@lezsák.hu), Dósa Anna², Juhász Gábor³ és Csizmadia Tamás² (tamas.csizmadia@ttk.elte.hu)

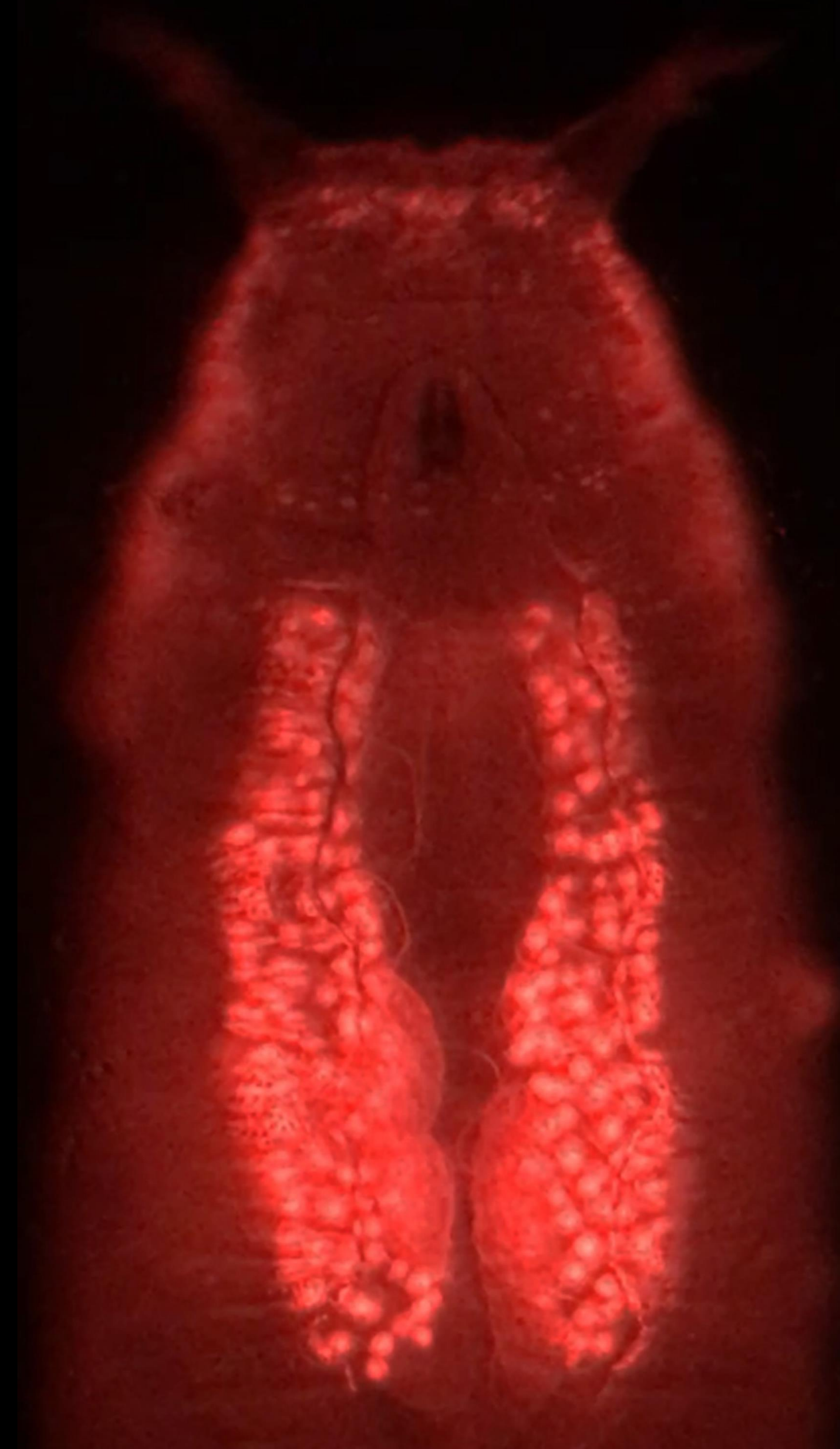


Szekrécións granulumok

¹ ELTE Informatikai Kar
² ELTE Anatómiai, Sejt- és
Fejlődéstudományi Tanszék
³ Szegedi Biológiai Kutatóközpont,
Genetikai Intézet, Szeged

in silico felismerése morfológiai módszerekkel *Drosophila* lárvális nyálmirigyében

Lezsák Domonkos¹ (domonkos@lezsák.hu), Dósa Anna², Juhász Gábor³ és Csizmadia Tamás² (tamas.csizmadia@ttk.elte.hu)

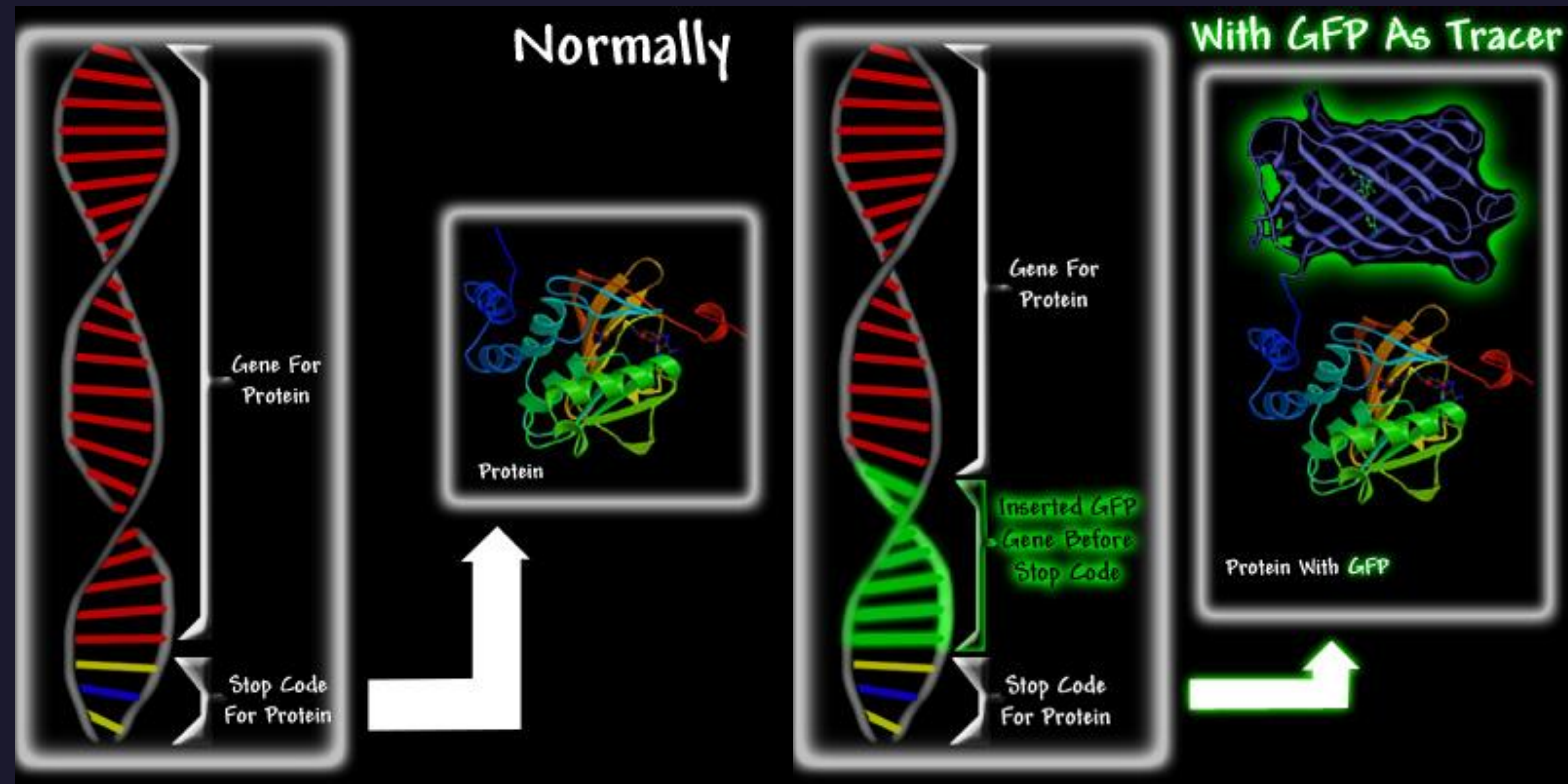


BEVEZETÉS

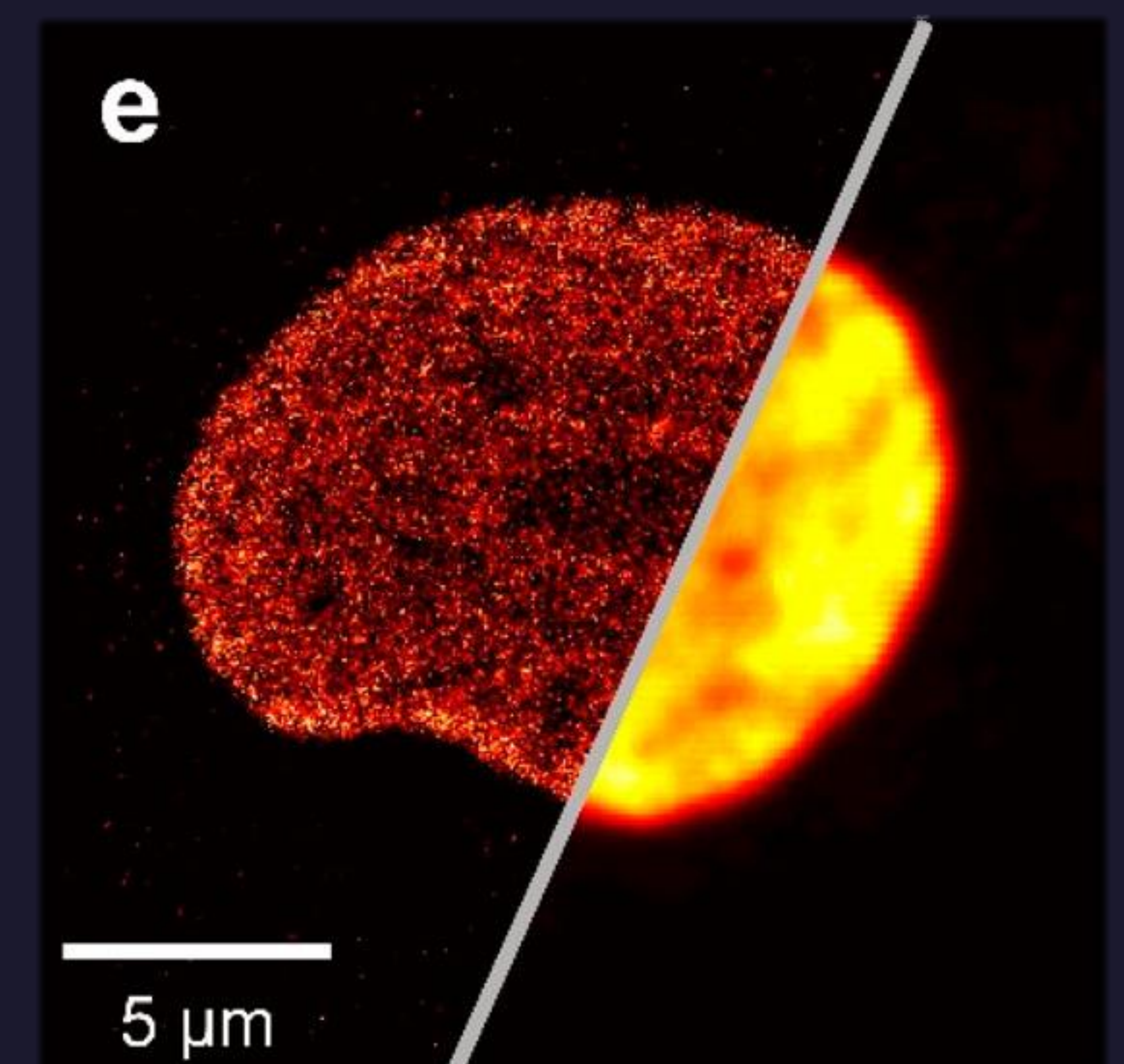
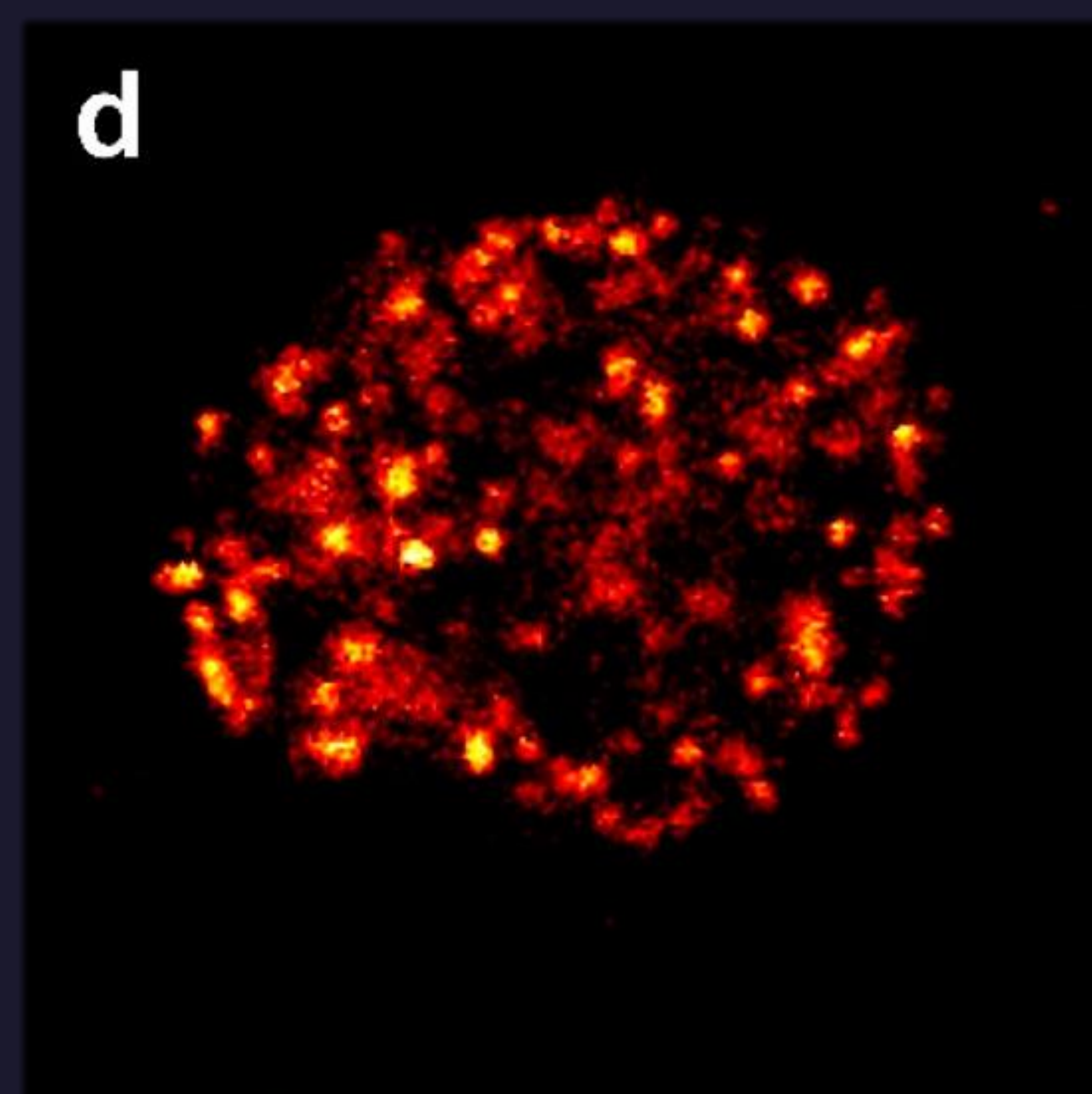
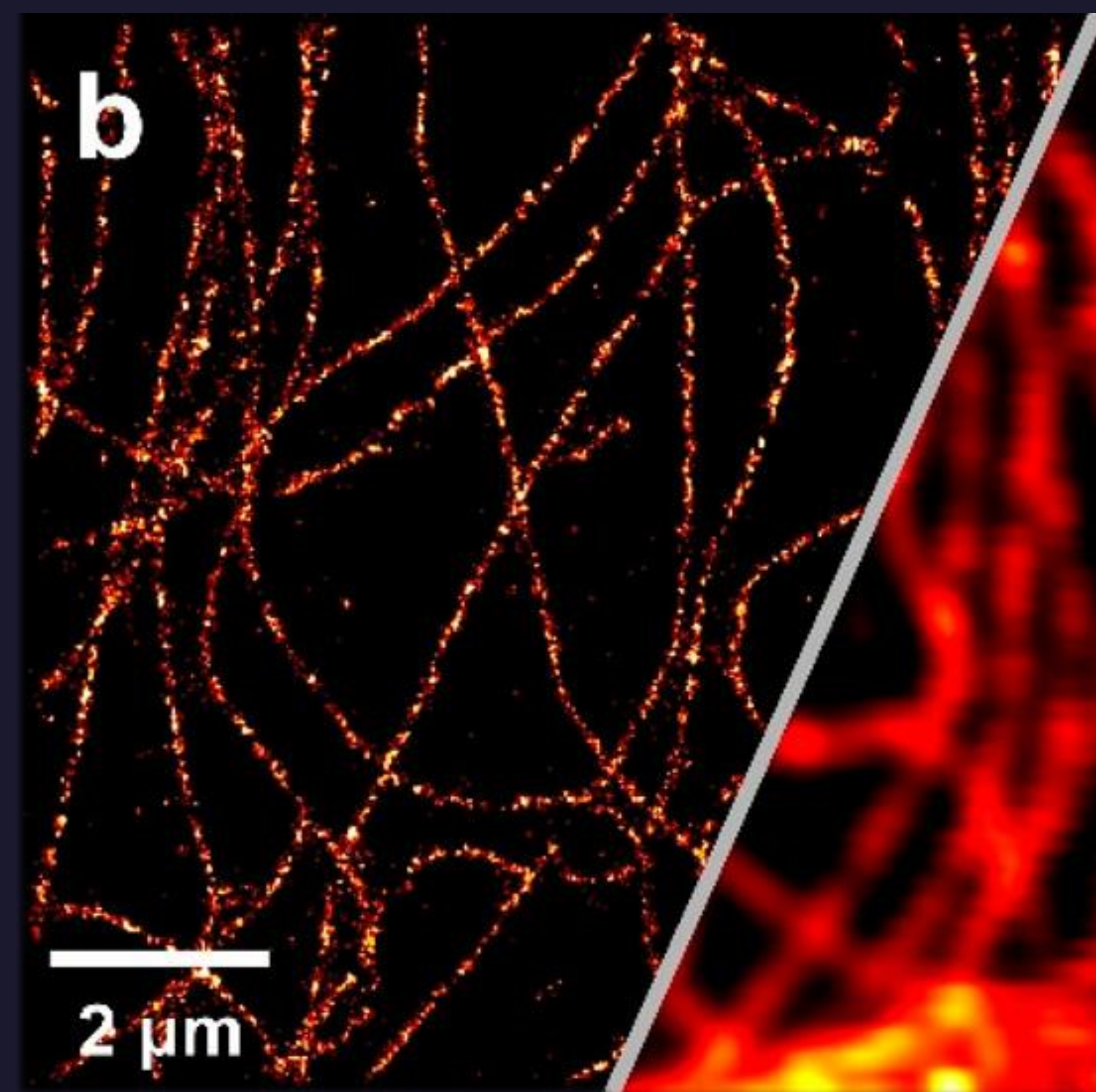
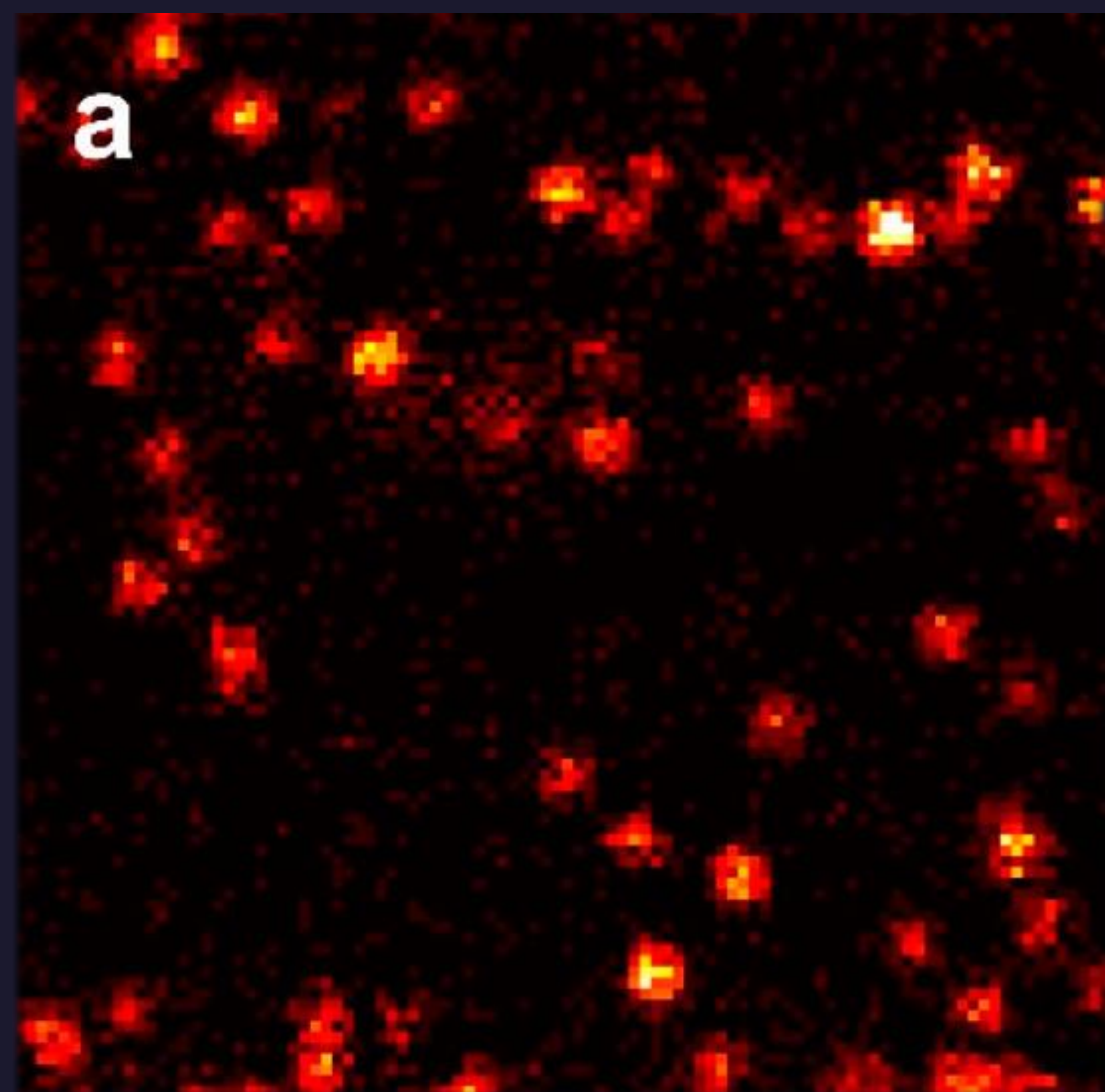
Az esetmuslica (*Drosophila melanogaster*) lárvális nyálmirigy szekréciónak kutatásában nagy szerepe van fluoreszcens markerek használatának. Az informatika fejlődésével megjelentek képelemző szoftverek, amelyek alkalmasak elektronmikroszkópos képek feldolgozására, azonban könnyebben beszerezhető, rosszabb képminőségű szemifokális fluoreszcens mikroszkópos képek automatizált elemzéséhez nem találni működő és olcsó megoldást.

Jelenleg az ecetmuslica lárvák nyálmirigysejtjeiben található váladékszempcsék számolása kézzel történik, jelentős emberi tényezővel, és szeretnék ezen egyszerűsíteni és javítani.

A kutatás során megpróbáltunk fluoreszcens mikroszkópos képeken szekréciónak azonosítani csupán morfológiai eljárásokkal, hogy az azonosítás nagy adathalmazon, számítógéppel is elvégezhető legyen, és könnyedén lehessen statisztikailag helytálló kvantifikációt végezni.

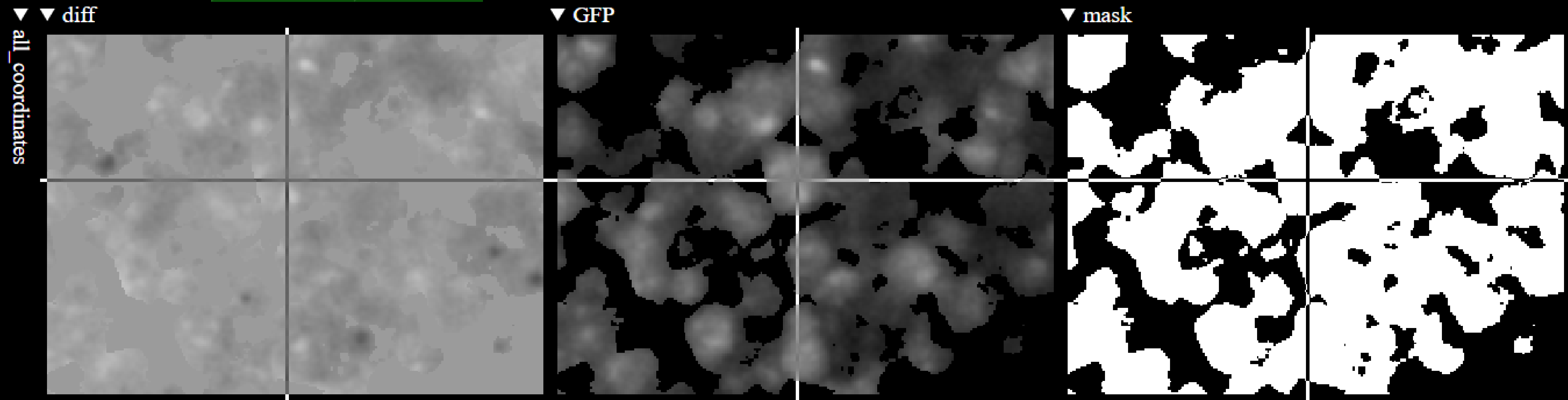


← Képek forrása: <https://www.conncoll.edu/ccacad/zimmer/GFP-ww/prasher.html>



▶ **find_granule_centers** [Open in editor](#) [Open viewer](#)
▶ COMPLETED **find_granule_centers** took 0.328125s

▼ **analyze_coordinates** [Open in editor](#) [Open viewer](#)

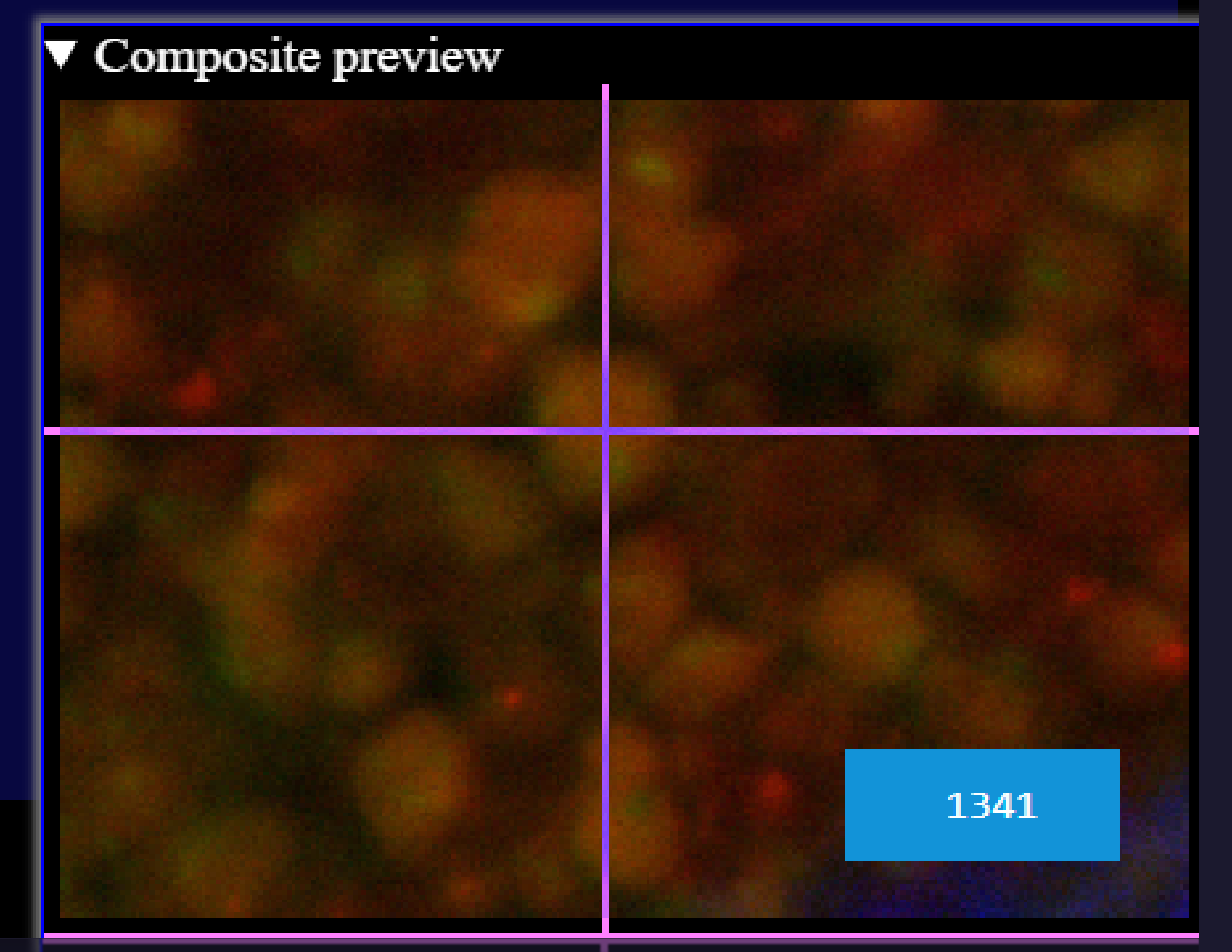
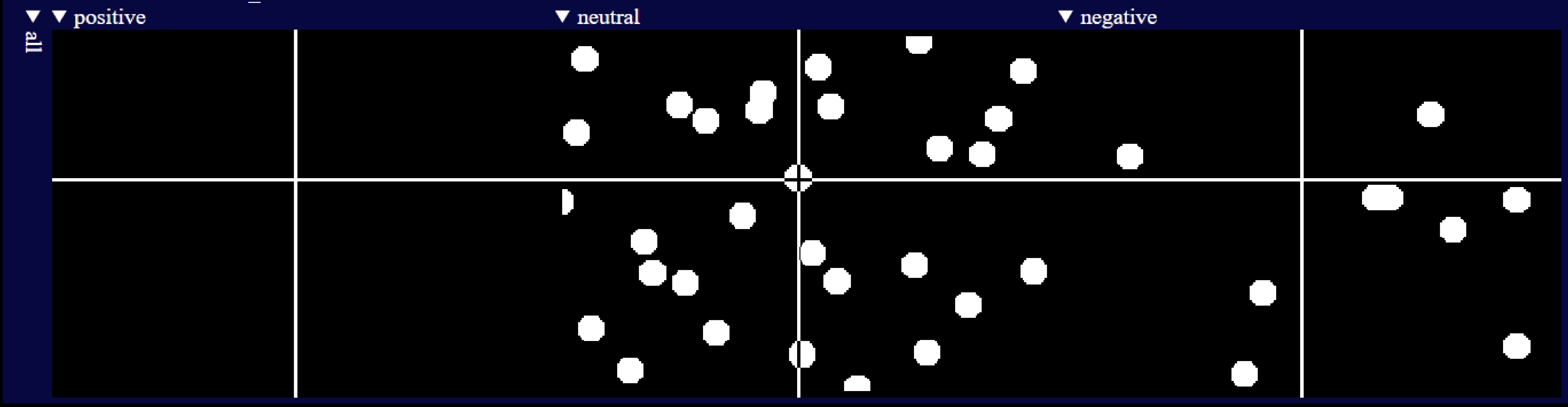


▶ COMPLETED **analyze_coordinates** took 3.84375s

▶ **count** [Open in editor](#) [Open viewer](#)
▶ COMPLETED **count** took 0s

▶ **visualize_coordinates** [Open in editor](#) [Open viewer](#)

▼ COMPLETED **visualize_coordinates** took 0.25s



[View in 5D Viewer](#)

VIEW IN 3D VIEWER

Egy képernyőmentés a programról működés közben →

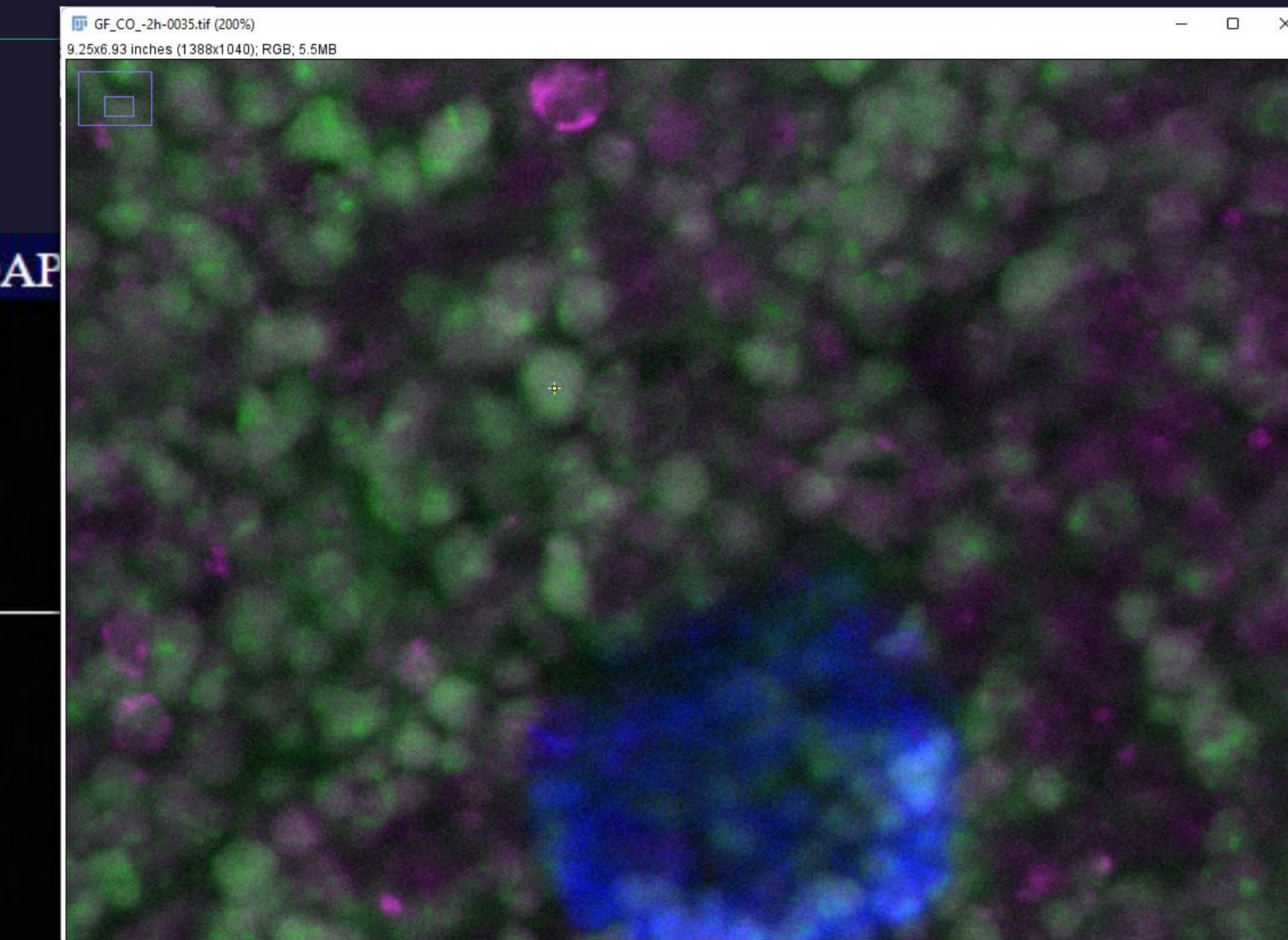
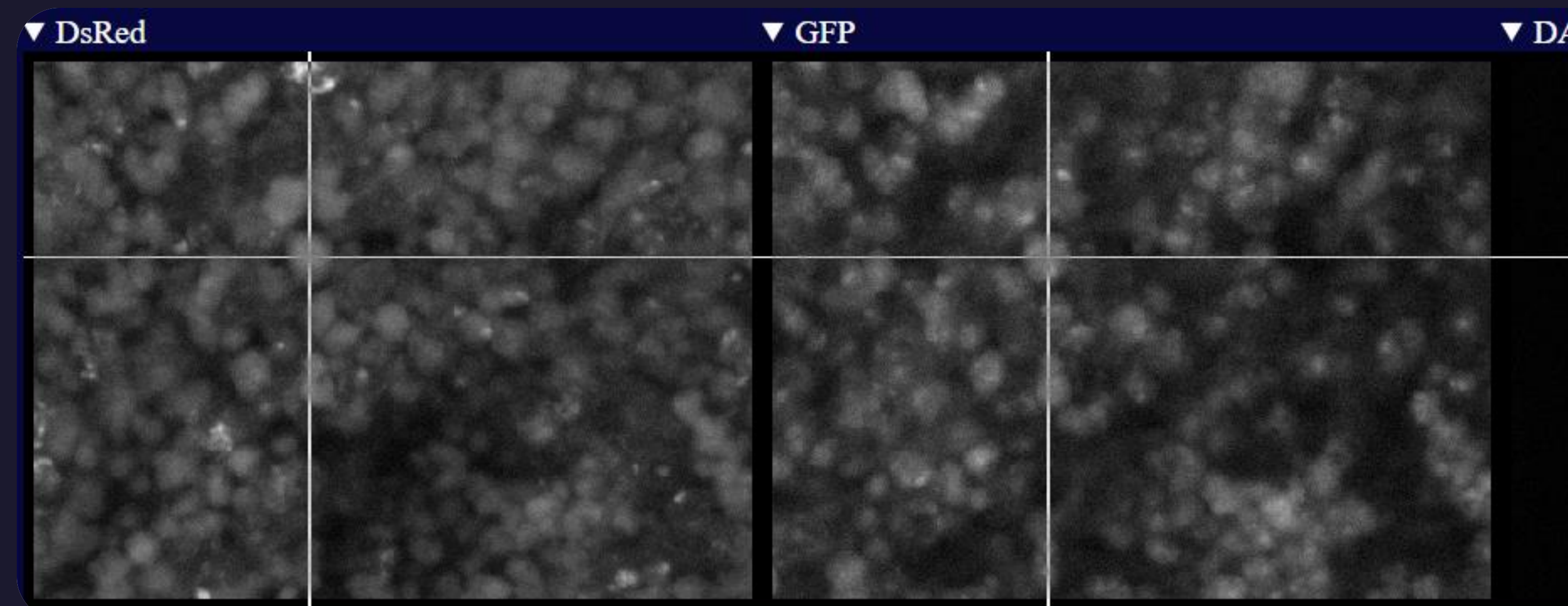
1. Felvételek készítése

A kiértékelhetőséget befolyásoló tényezők:

Vizsgált rendszer mellékjelenségei, expozíció, élesség, méretarány, zaj → mind kísérlet-specifikus

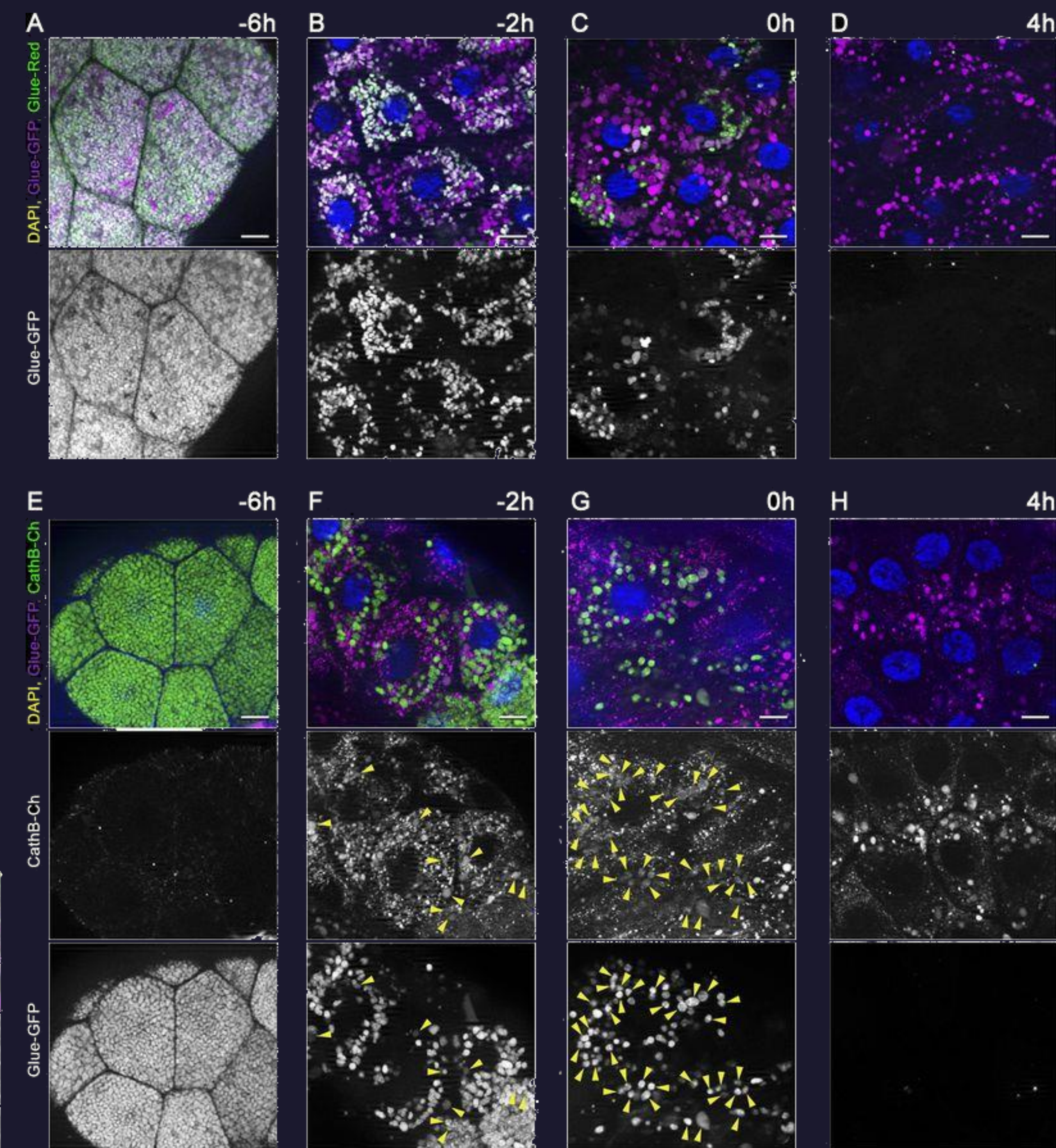
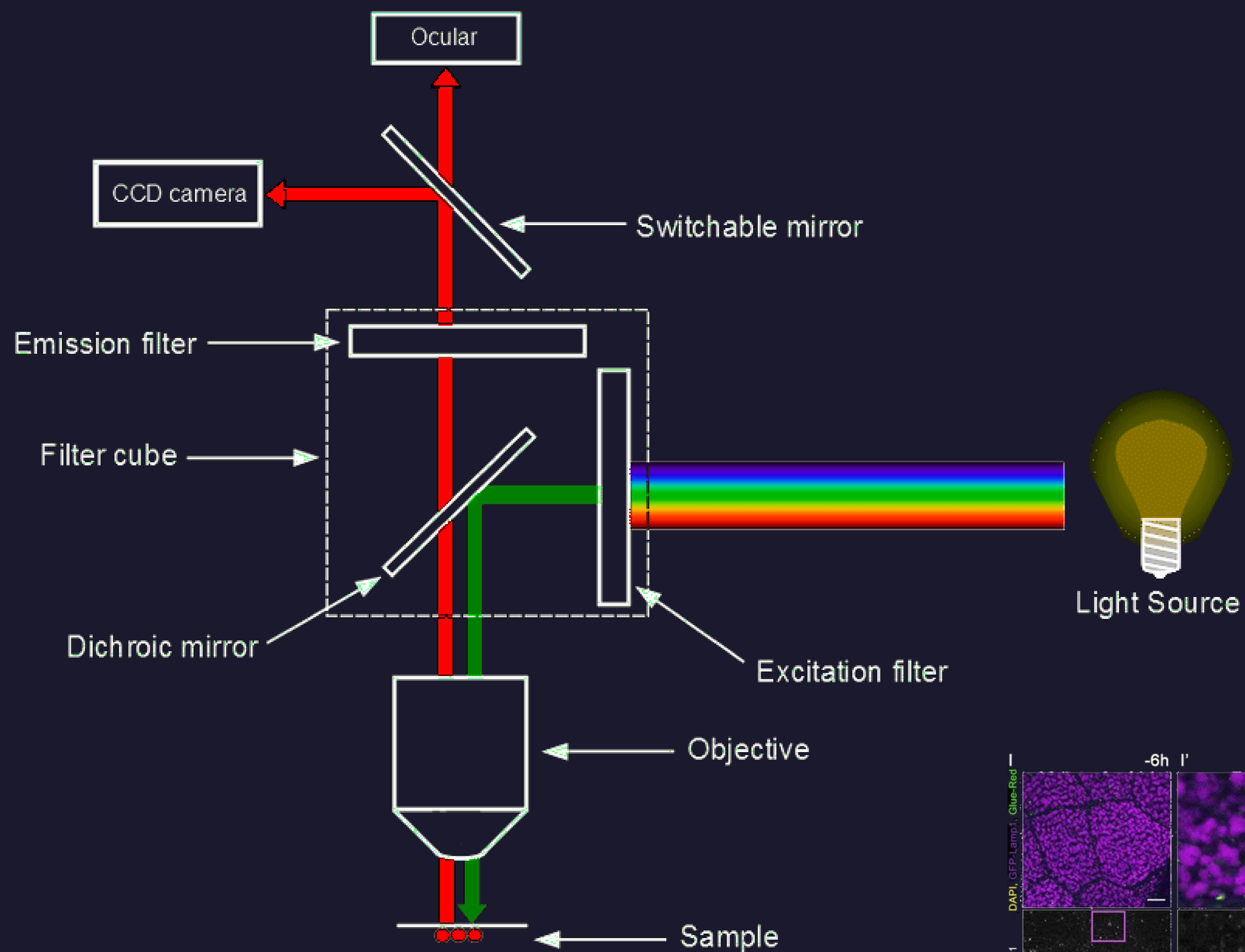
* Kompozit képeken: pirossal DsRed (granulumban lokalizálódik), zölddel GFP (pozitív granulumban lokalizálódik) és kékkel DAPI (sejtmagban lokalizálódik) van megjelenítve

Automatizált elemzéshez elengedhetetlen minél több részlet megtartása, így nagyon fontos, hogy a felvételek csatornánként külön legyenek elmentve.



AxioVision kompozit képe*

<https://doi.org/10.1083/jcb.201702145>



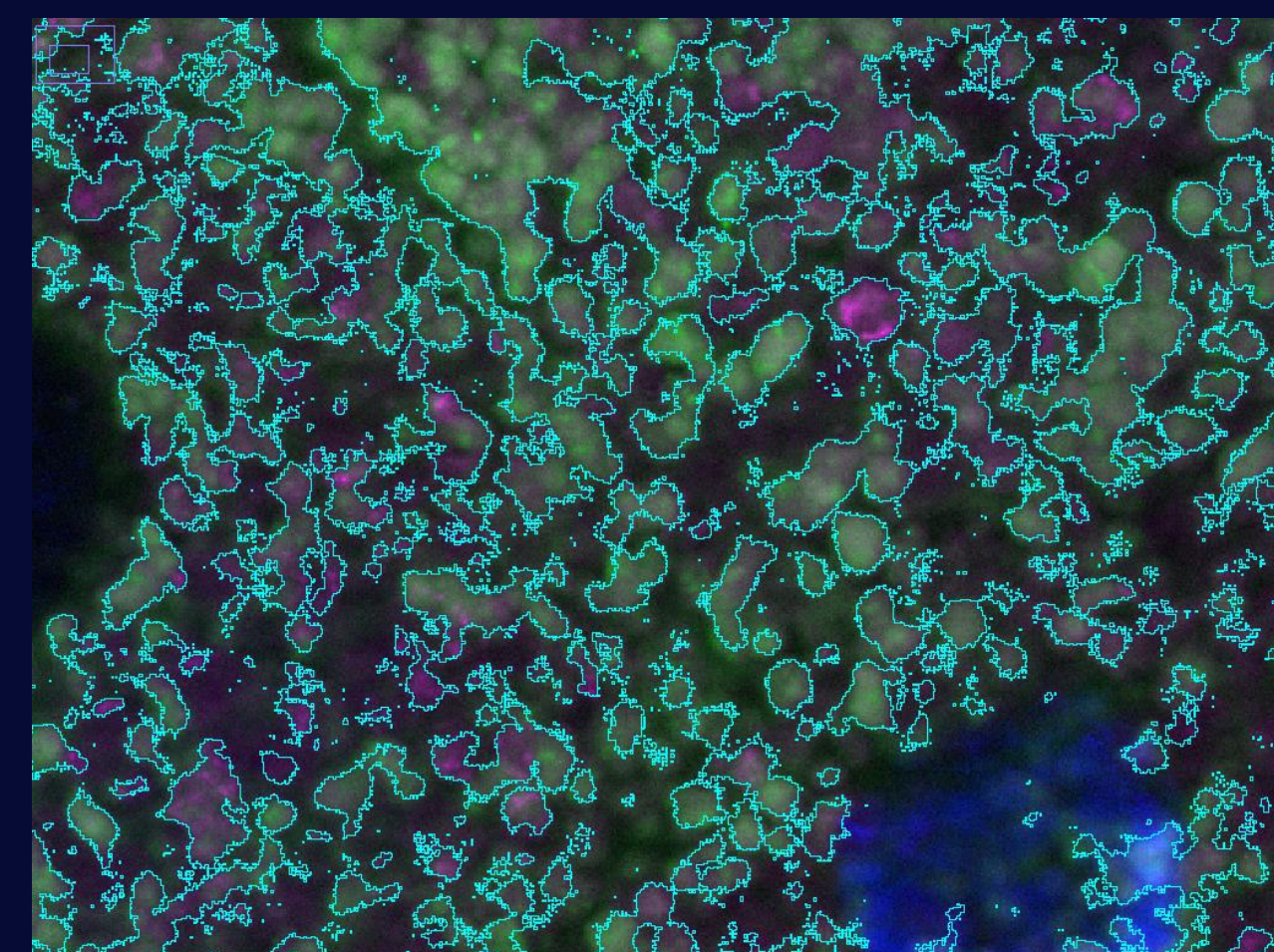
Lehetséges megközelítések



Szegmentálás

Elkülönülő alakzatok
avagy foltok

- Végső lépés
- Sok az átfedő granulum
- Granulum-méretű zaj
- Fiji TWS → gépi tanulás



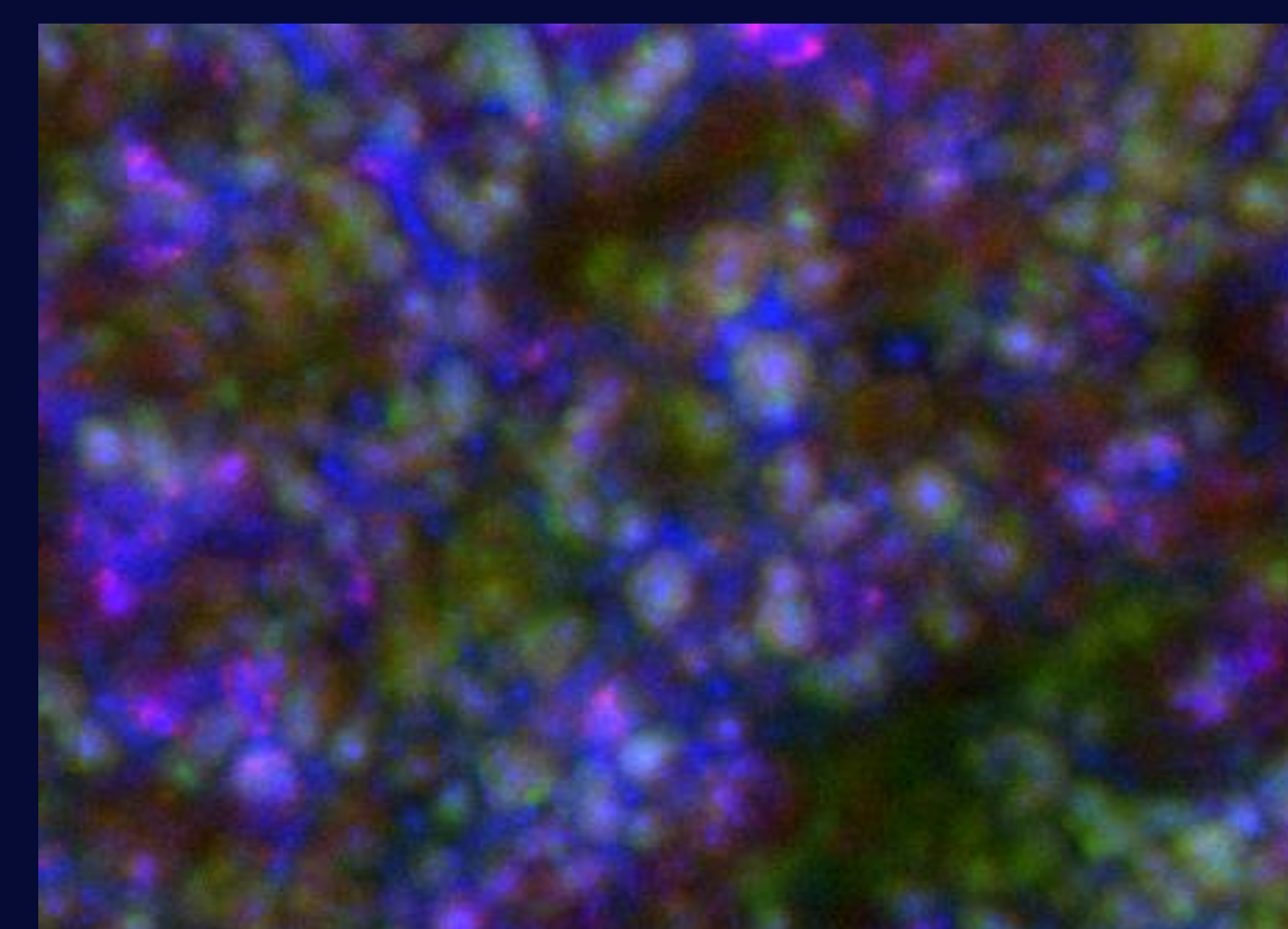
Szegmentálás DsRed-en
egyszerű threshold után*



Hough

Alakzatok szűrése forma szerint
avagy körök keresése

- Mintaillesztés az összes lehetséges helyen
- Szép eredmény
- Nem minden granulum kör alakú → nem reprezentatív



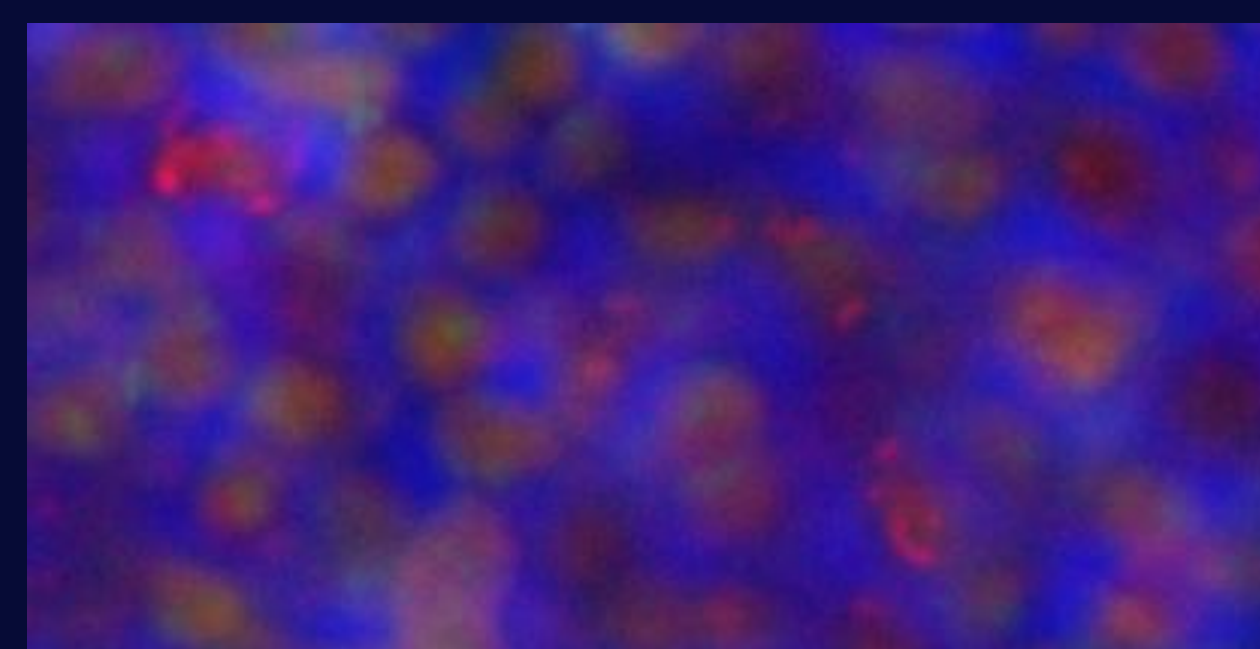
■: Hough transzformáció
DsRed-en Canny után*



DoG piramis

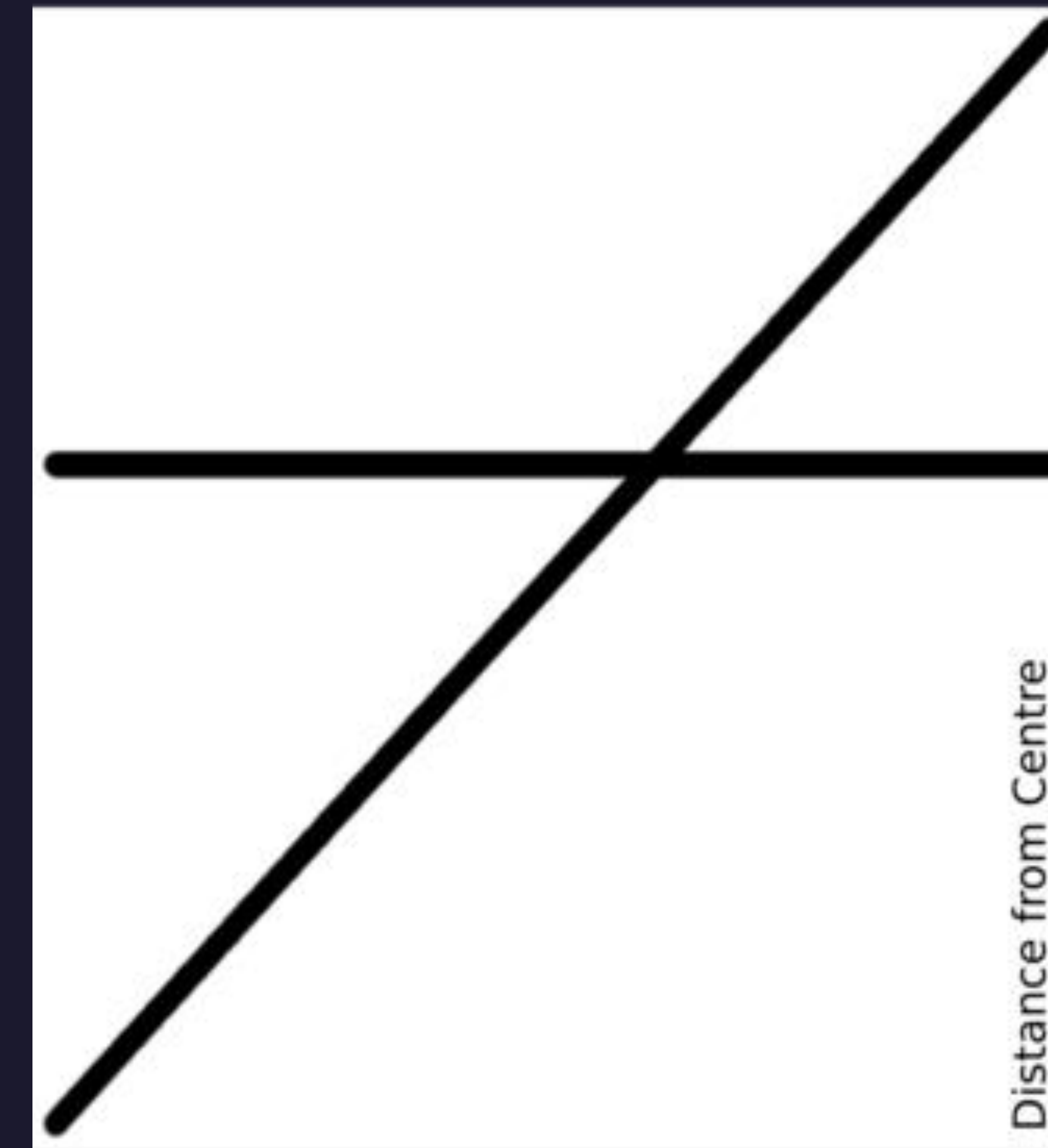
Gömbök 2D-ben
avagy foltok

- Megbízhatóan elkülöníthetők a granulomok
- Emberinél is jobb
- A membrán pontos kijelölésére nem elég

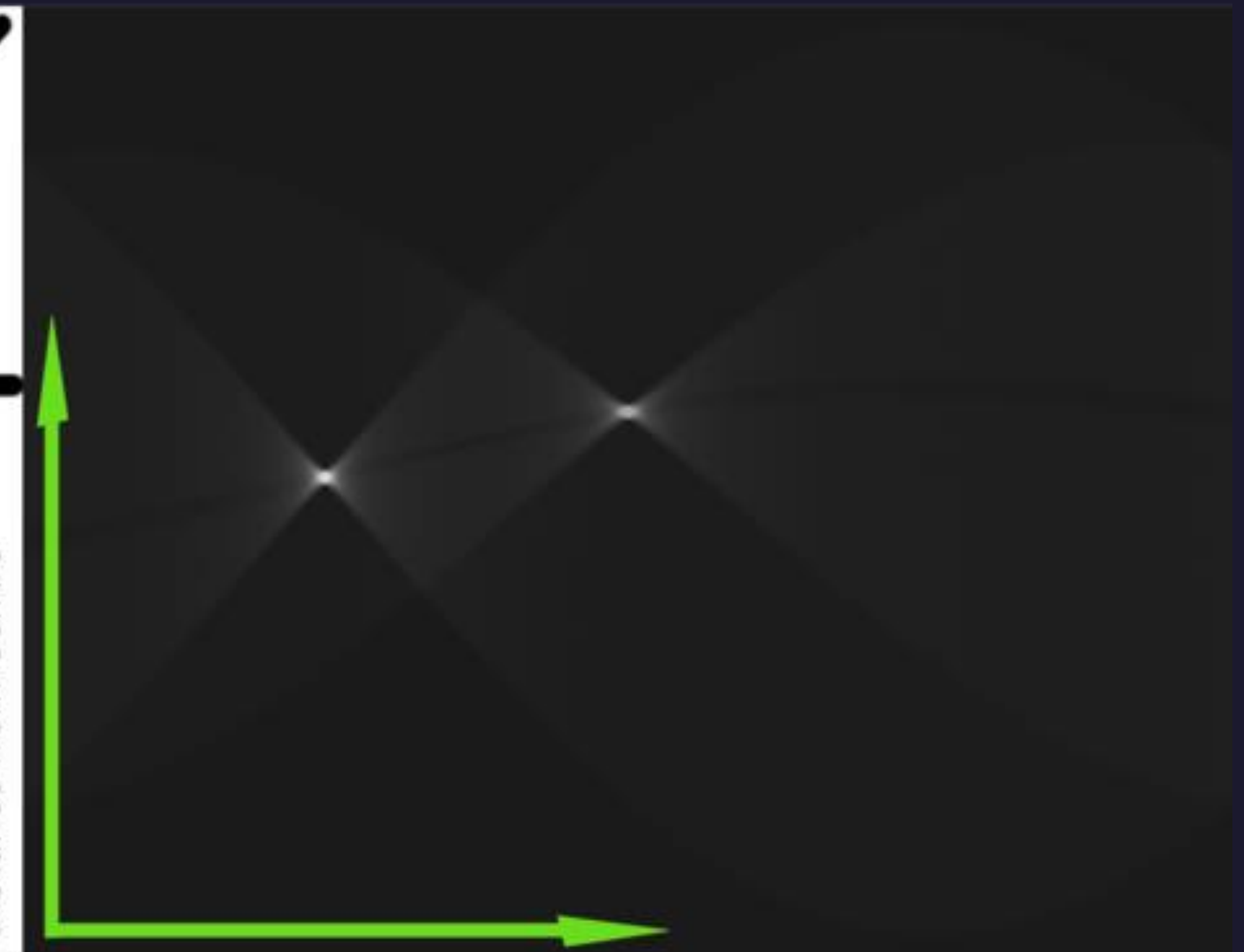


■: Fent 1., alul 2. derivált*

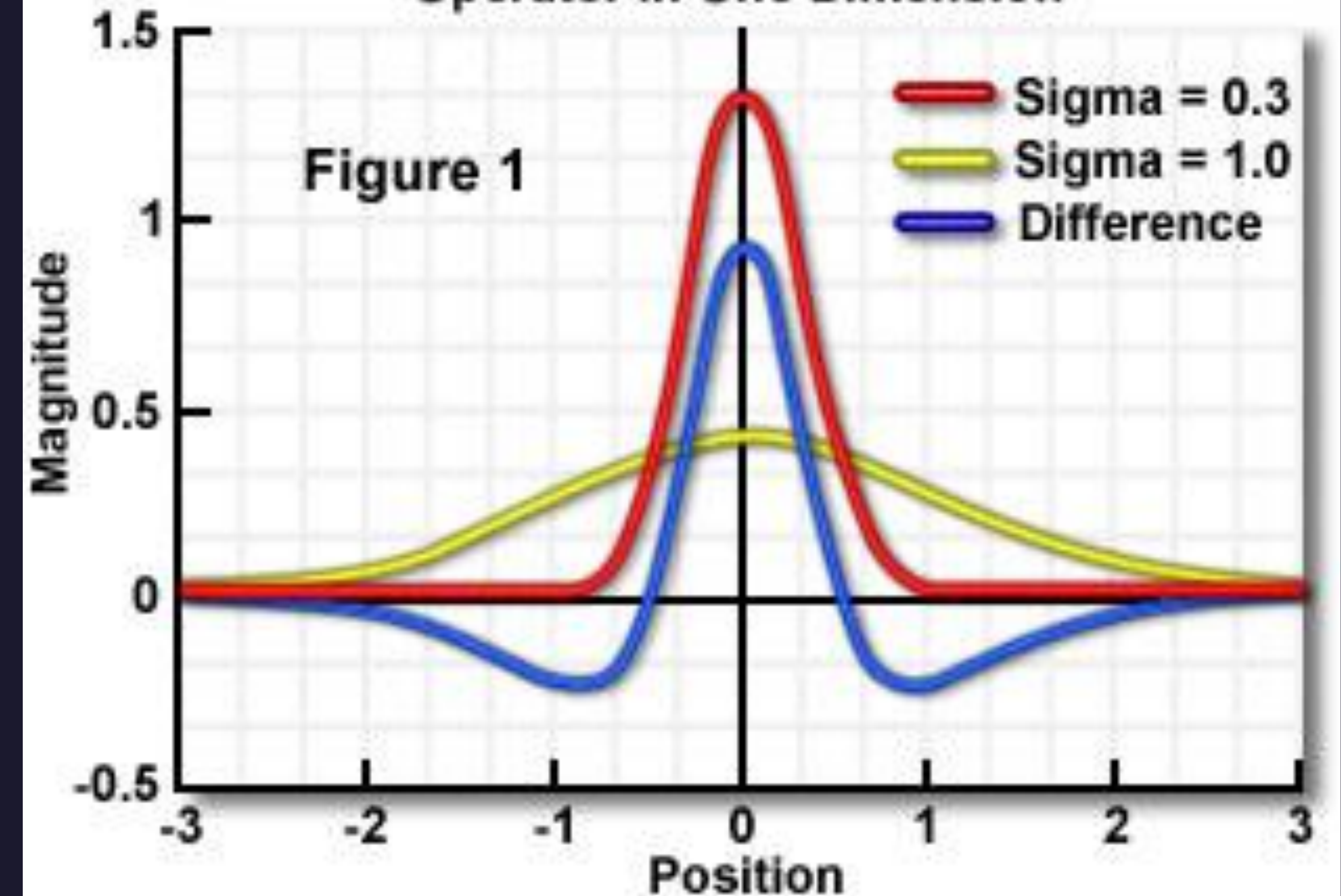
Input Image



Rendering of Transform Results



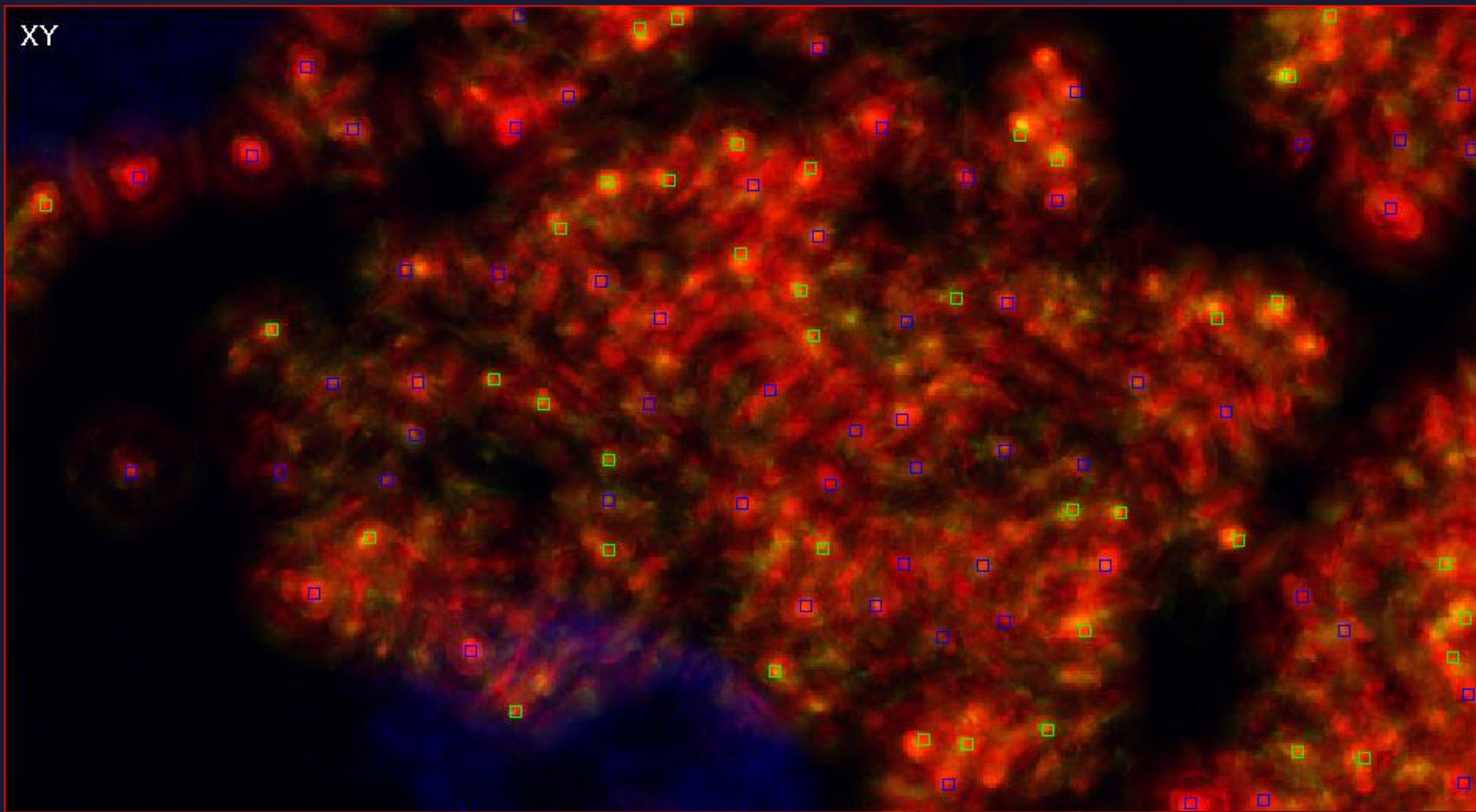
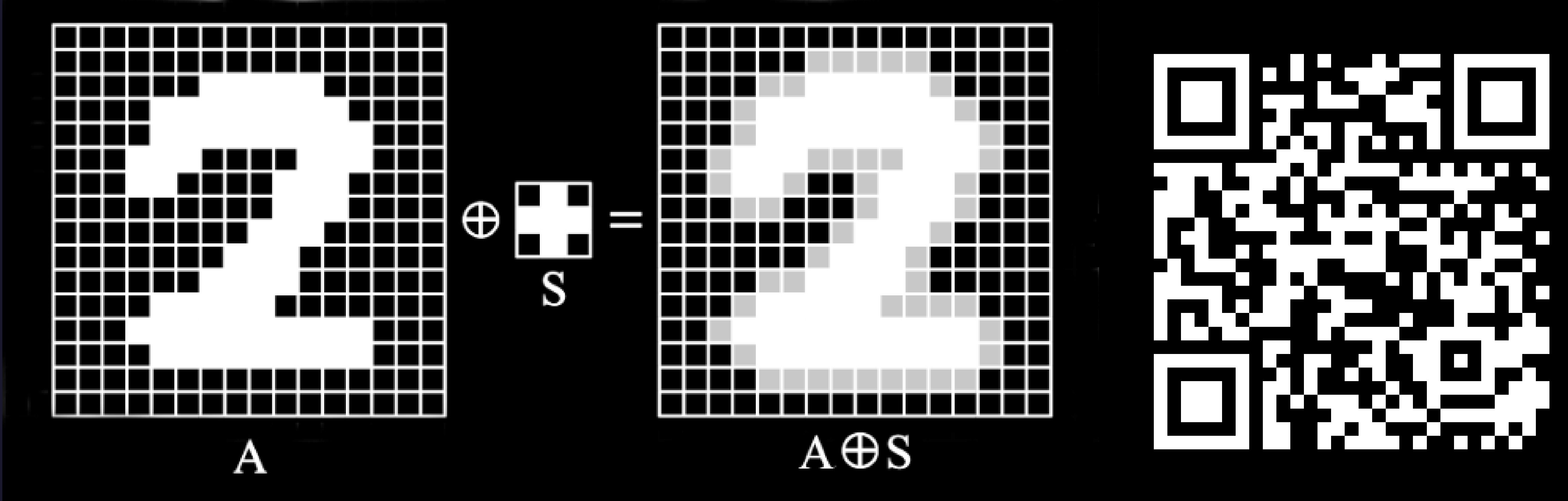
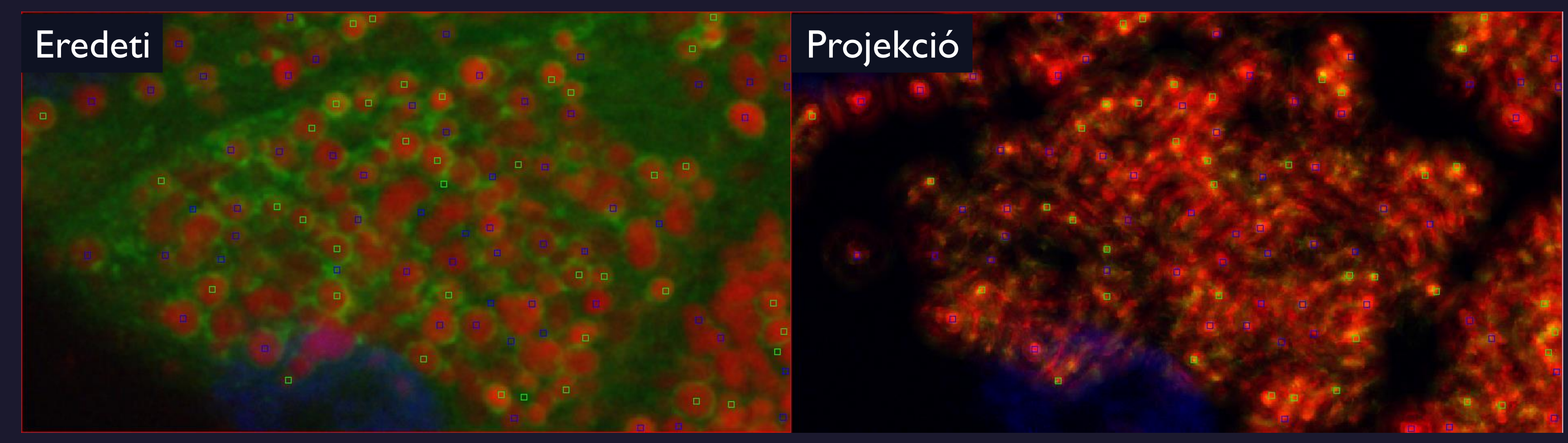
Difference of Gaussians Operator in One Dimension



2. Előzetes kiértékelés

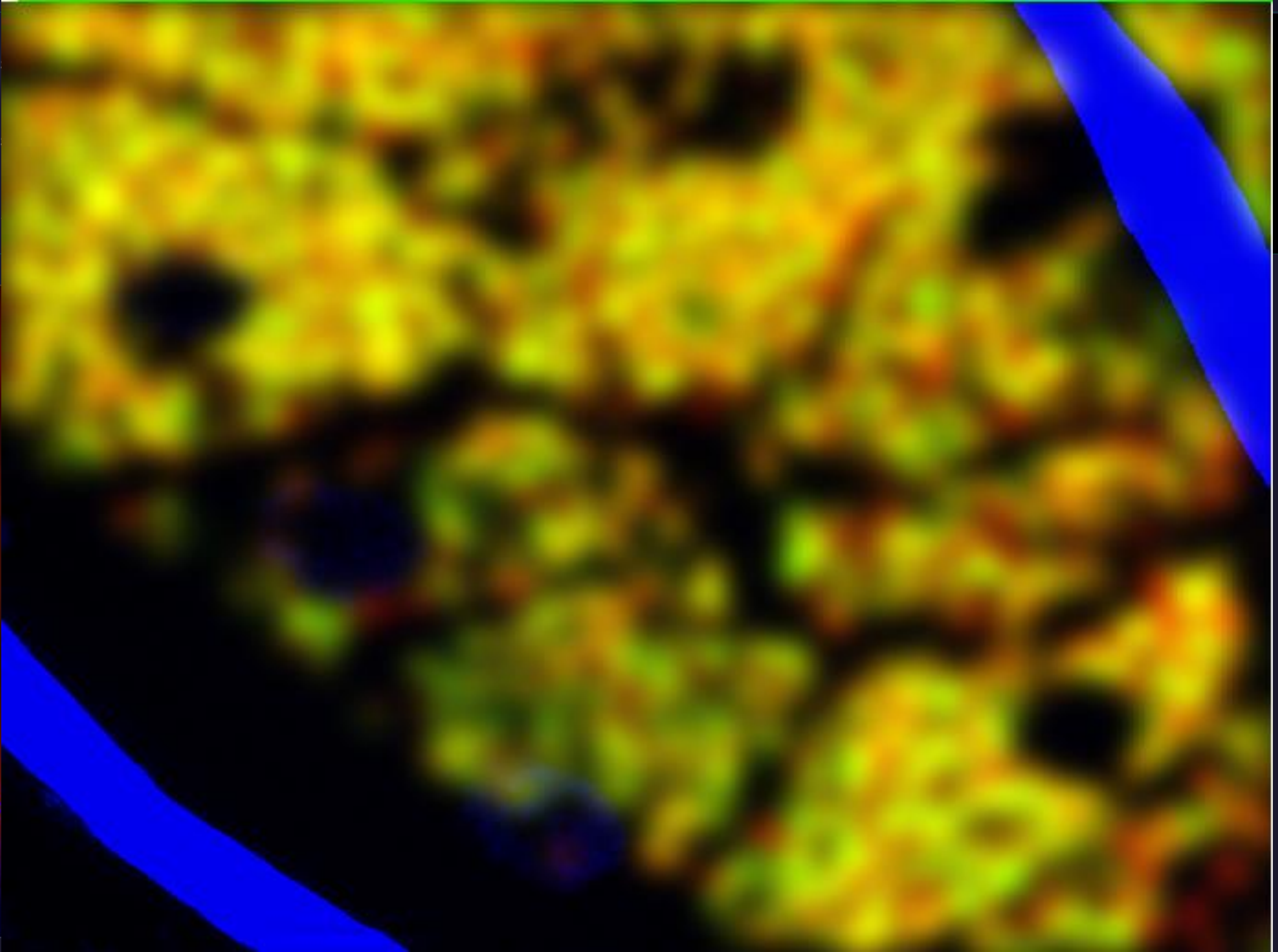
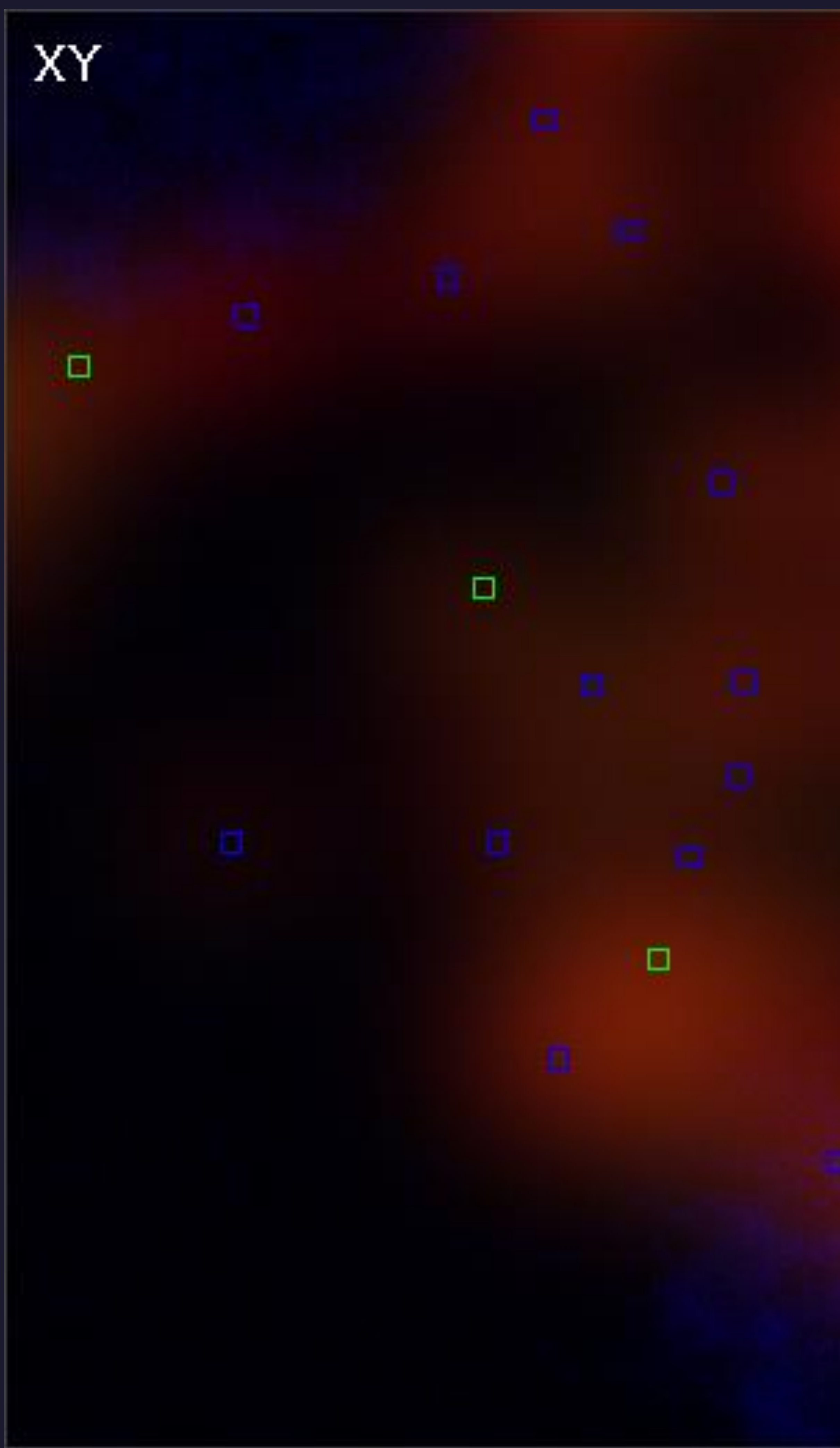
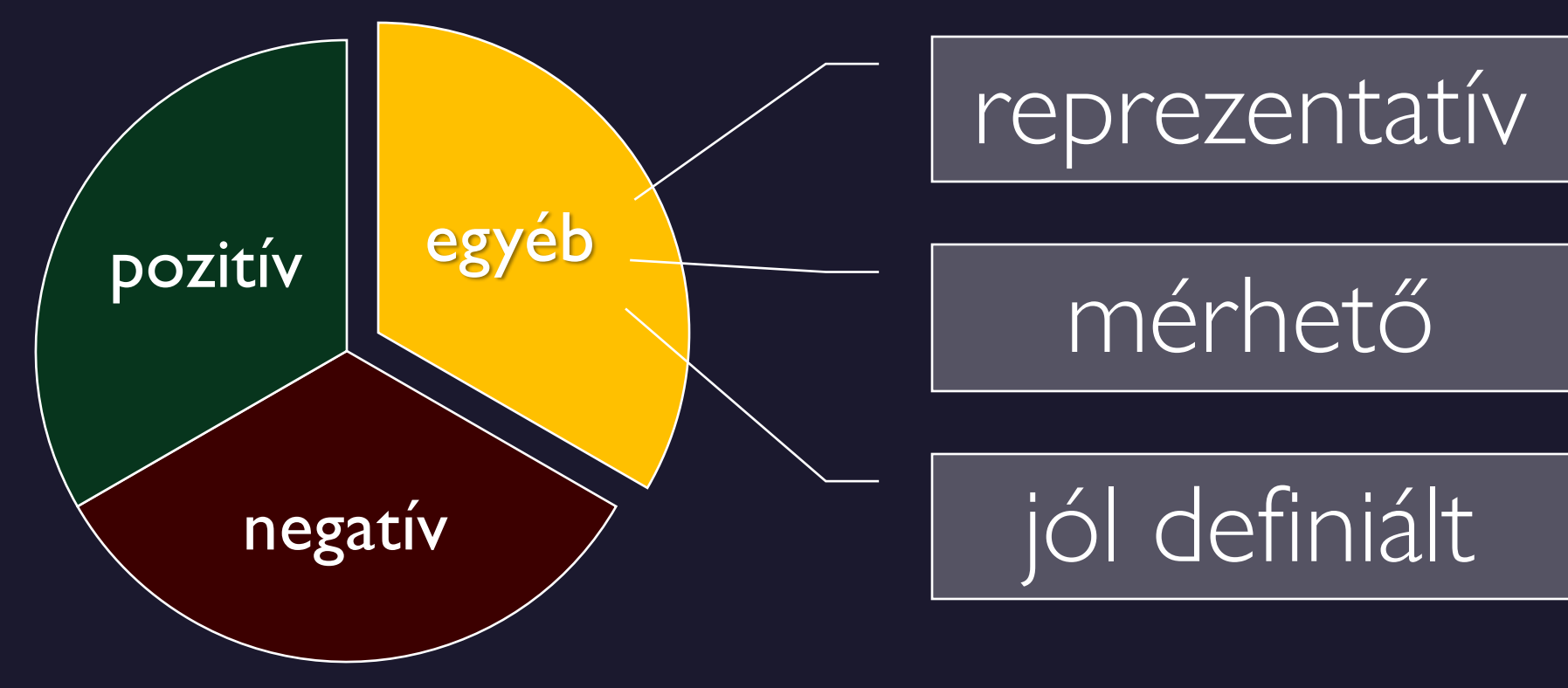


Az eredeti felvételen egy lárvális nyálmirigy látható, ahol a GFP a pozitív membránokra lokalizálódik* (LR). A projekción a fényesség a kör alakú struktúrák valószínűségét jelenti. (Hough transzformáció)
Jelölők a legfényesebb pontokon.

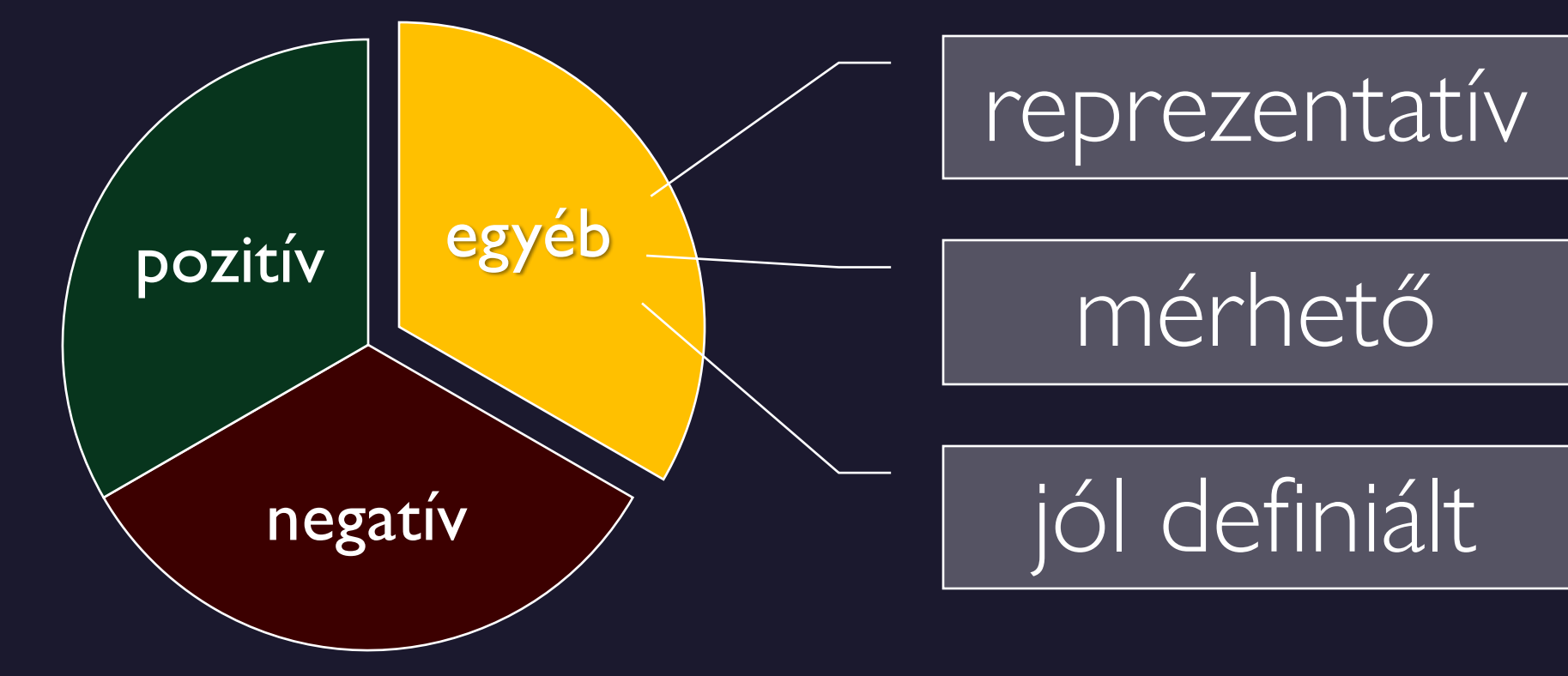


clean: Enyhe elmosás a zaj szűrése érdekében
circelize: Foltokból körök képzése
binarize: Csak azokat a részeket tartom meg, amelyek világosak a granuláriumok membránjait
binary mask: Eldobom azokat a részeket, amiket a piros foltok eltakarnak
zöld (c0) részeket, amiket nem fed semmilyen piros - tudniillik azok megbízhatatlan adatokat tartalmaznak
hough: Körszerű formációk keresése
Hough algoritmusával - azok a pontok lesznek világosak, amelyek nagy valószínűséggel 8-15 pixel átmérőjű köröket tartalmaznak
Itt csak az kerül figyelembevételre, hogy az adott pixelen van-e valami, vagy az fekete.

3. Kvantifikálás



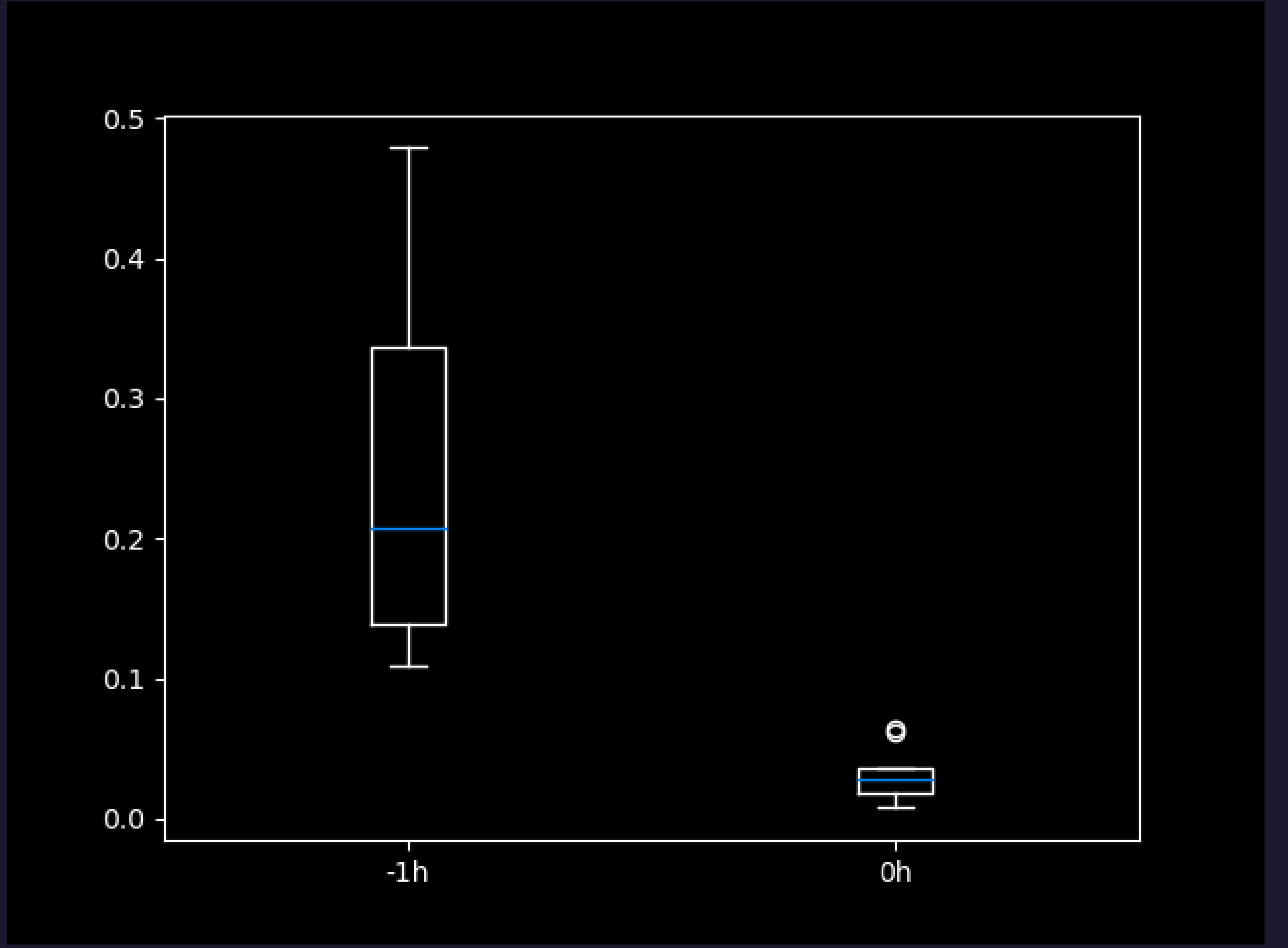
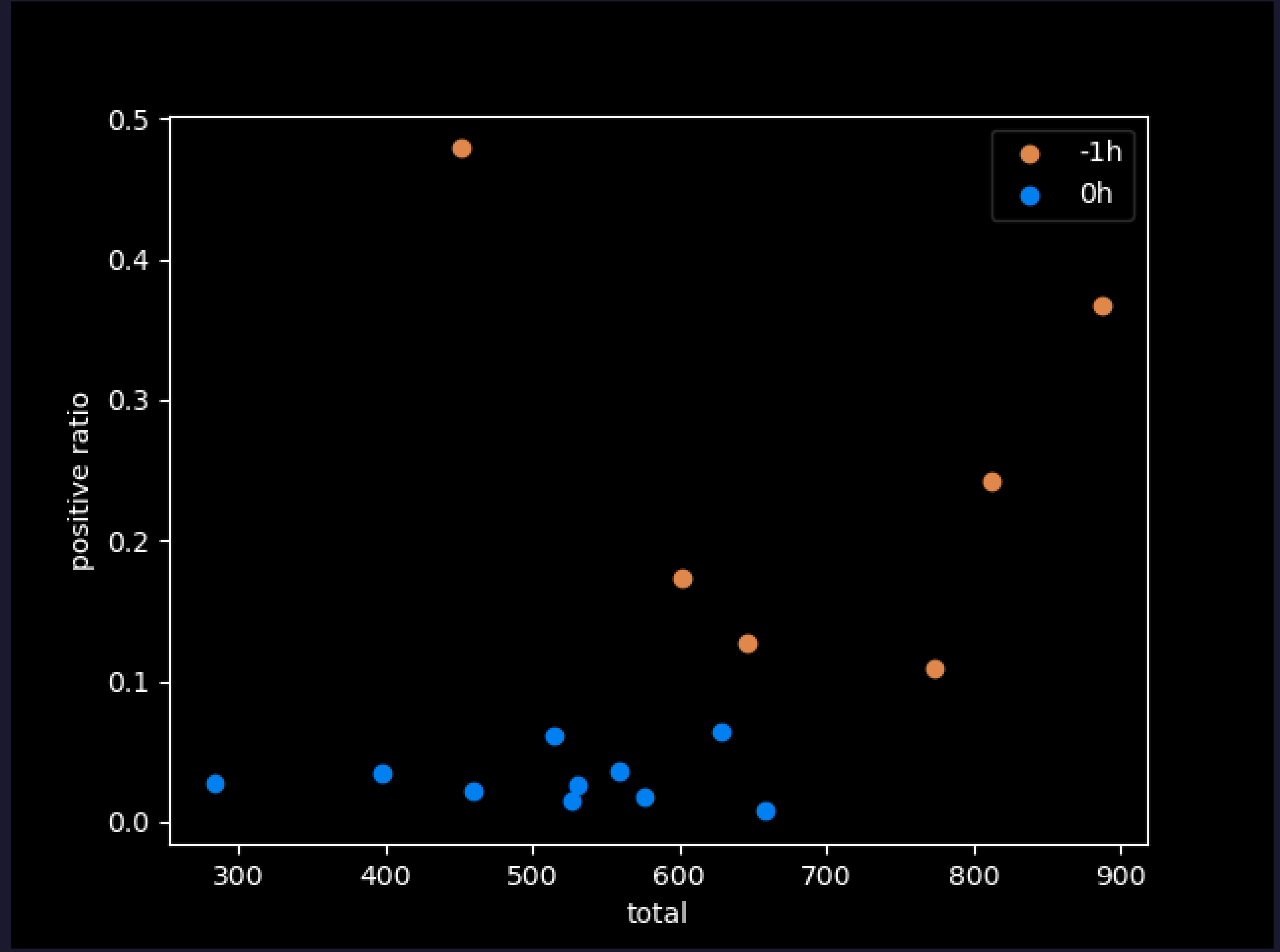
3. Kvantifikálás



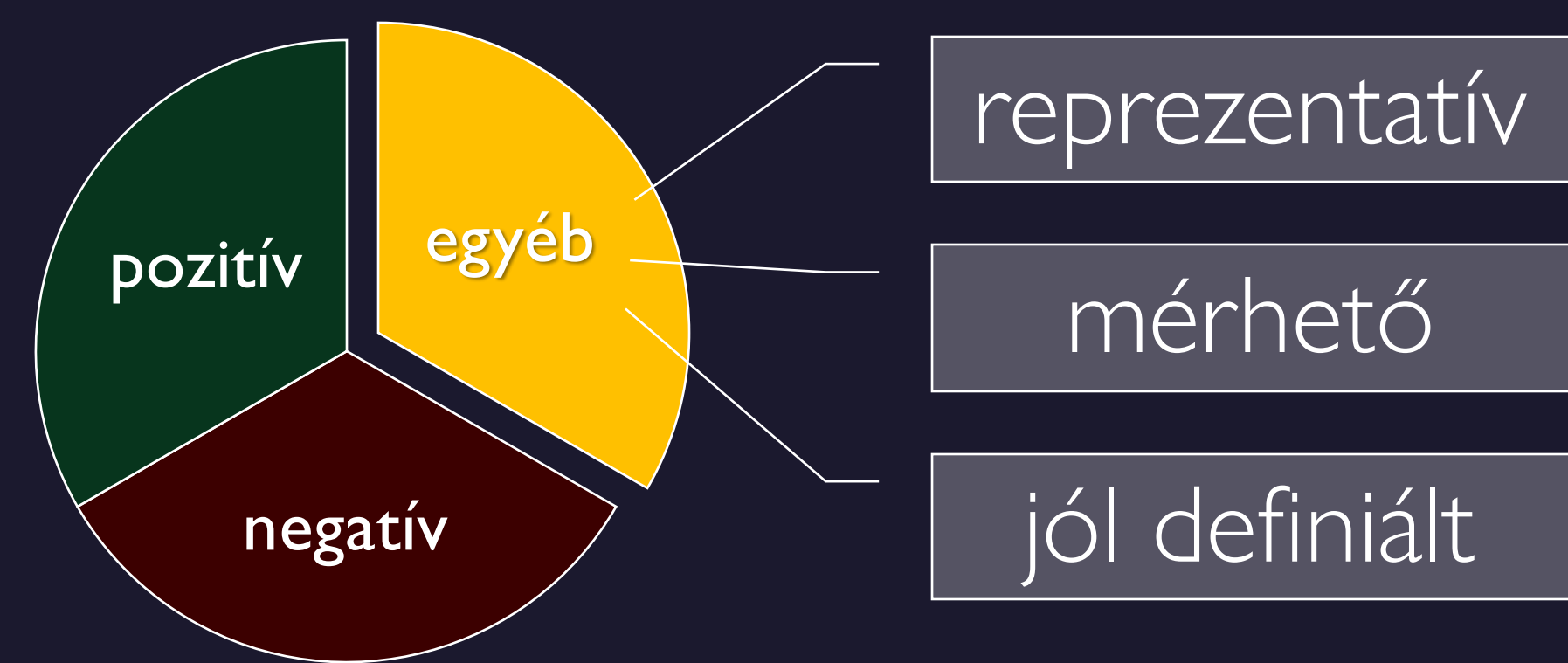
Részlet a program által elmentett statisztikából. Fontos, hogy belekerüljenek a figyelmen kívül hagyott minták is. Ezek kézzel tovább osztályozhatóak

```
count Open in editor Open viewer
COMPLETED count took 0s
stat_text
Count: 1114
GFP positive: 713
GFP negative: 374
Invalid: 0
Dropped: 2.42%
GFP negative ratio: 34.41%
```

h	Positive	Negative	Dropped
-2	100	200	10
0	99	80	5
-2	1000	150	100
...



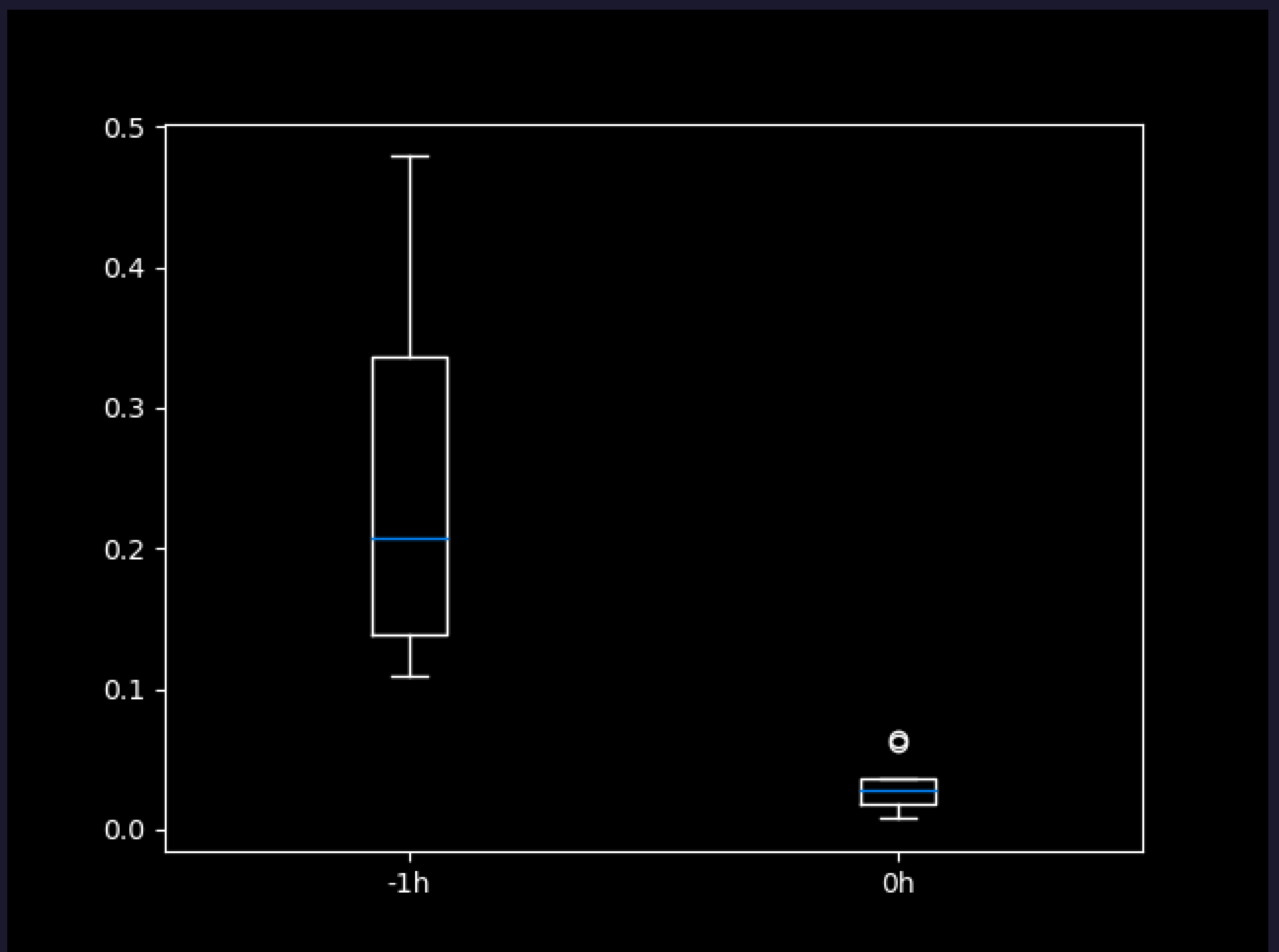
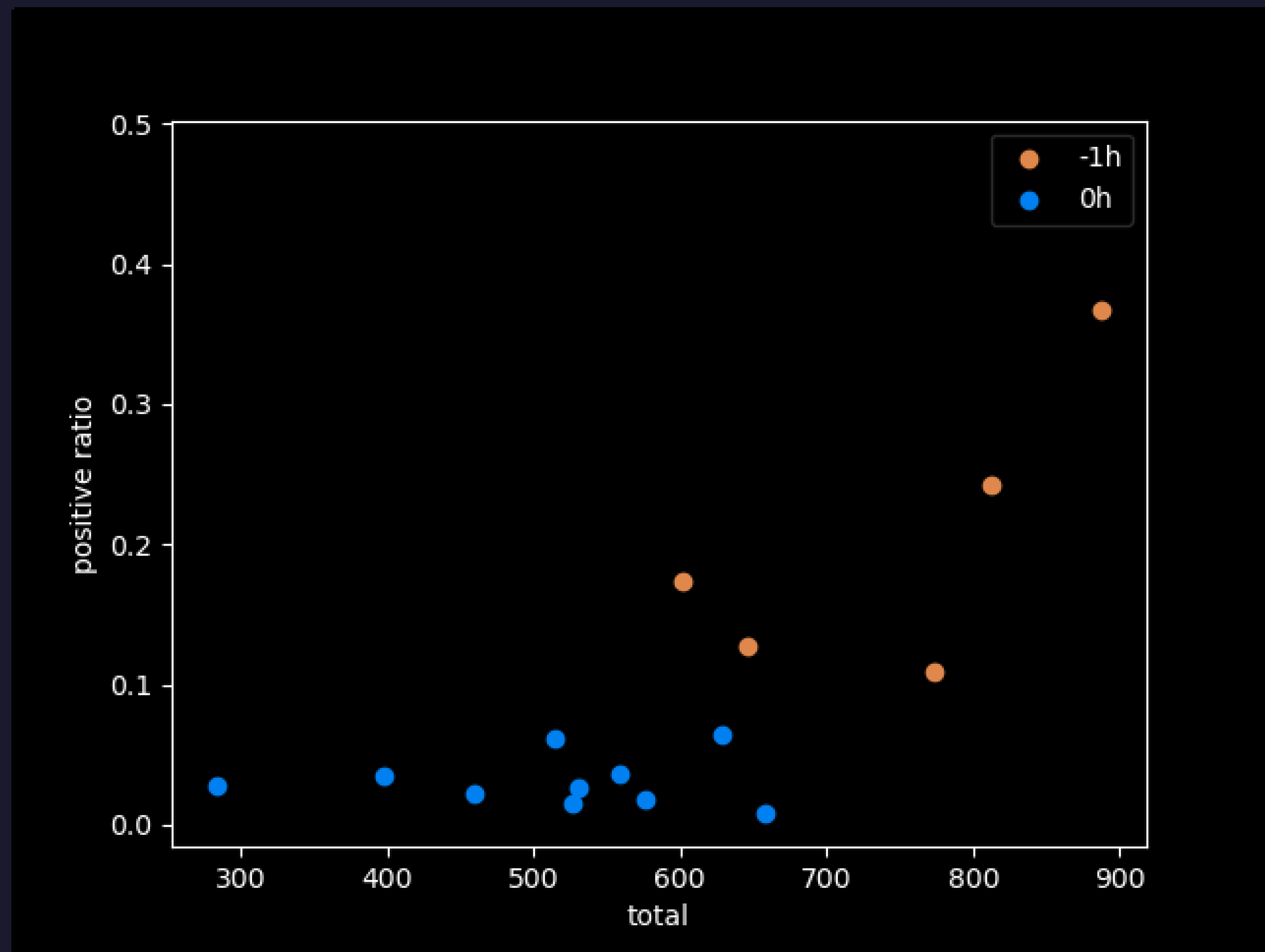
3. Kvantifikálás



Részlet a program által elmentett statisztikából. Fontos, hogy belekerüljenek a figyelmen kívül hagyott minták is. Ezek kézzel tovább osztályozhatóak

```
count Open in editor Open viewer  
COMPLETED count took 0s  
stat_text  
Count: 1114  
GFP positive: 713  
GFP negative: 374  
Invalid: 0  
Dropped: 2.42%  
GFP negative ratio: 34.41%
```

h	Positive	Negative	Dropped
-2	100	200	10
0	99	80	5
-2	1000	150	100
...



4. Eredmények összefoglalása

Intuáció

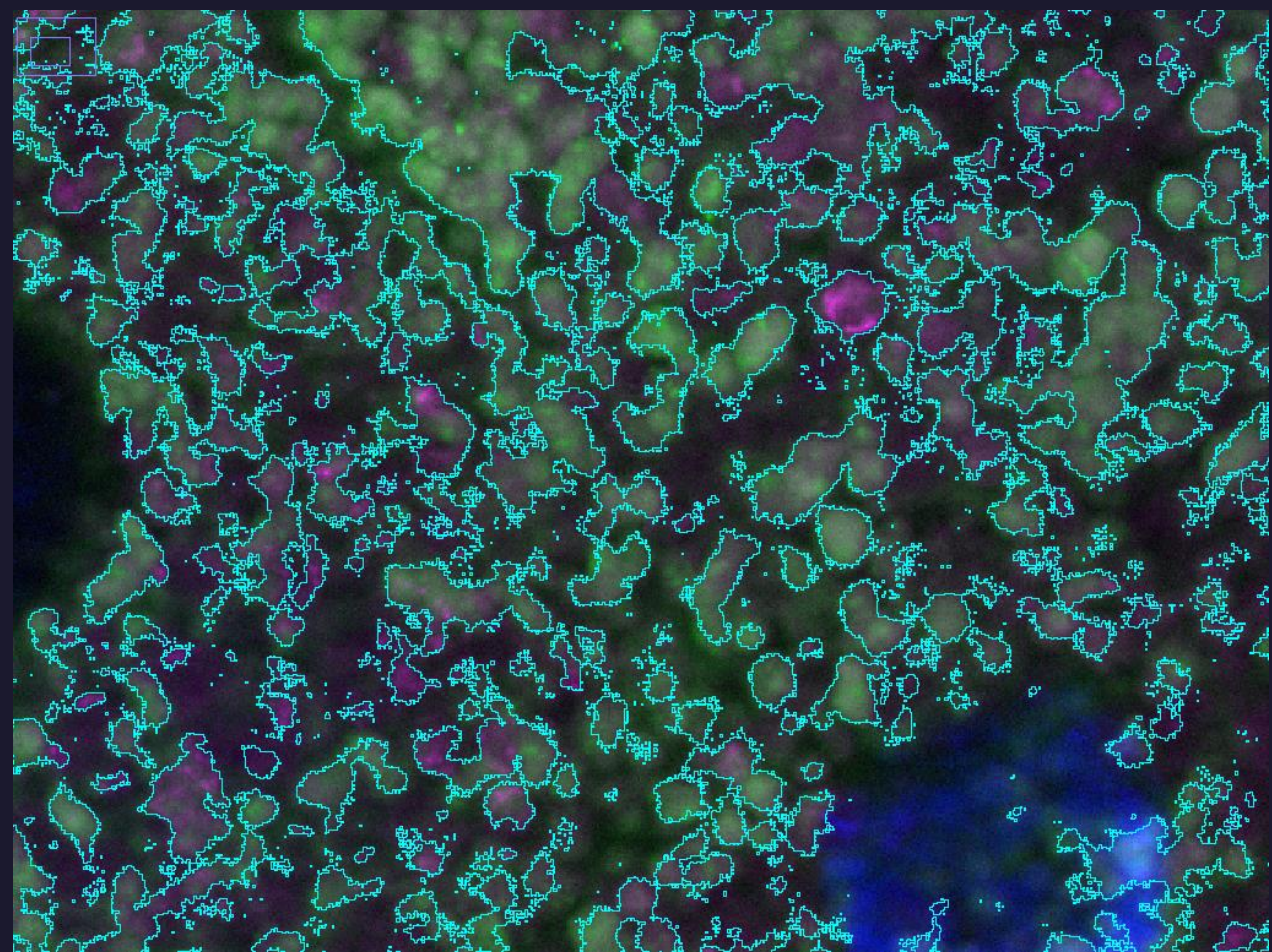
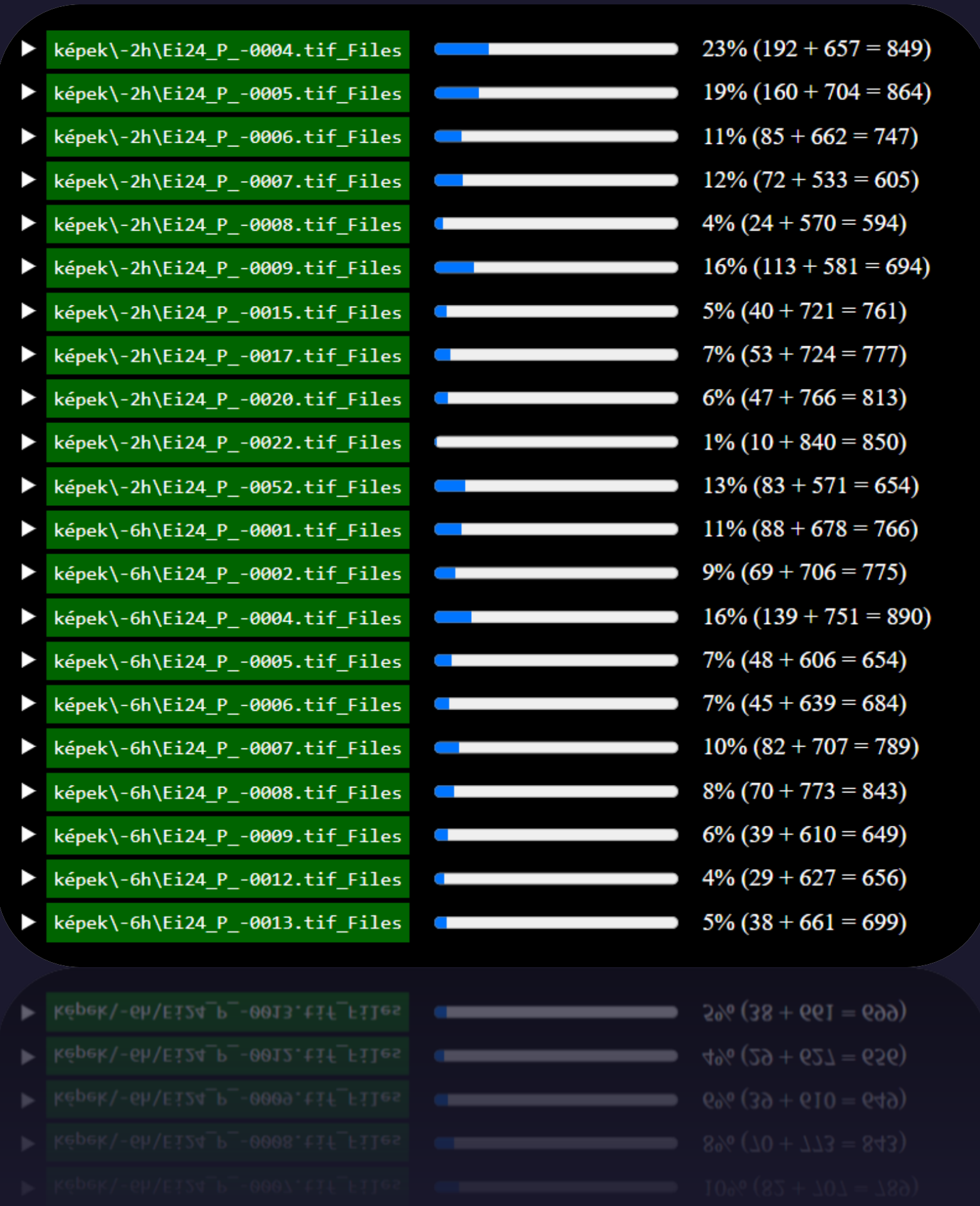
- Ad-hoc analízis

Elemzés

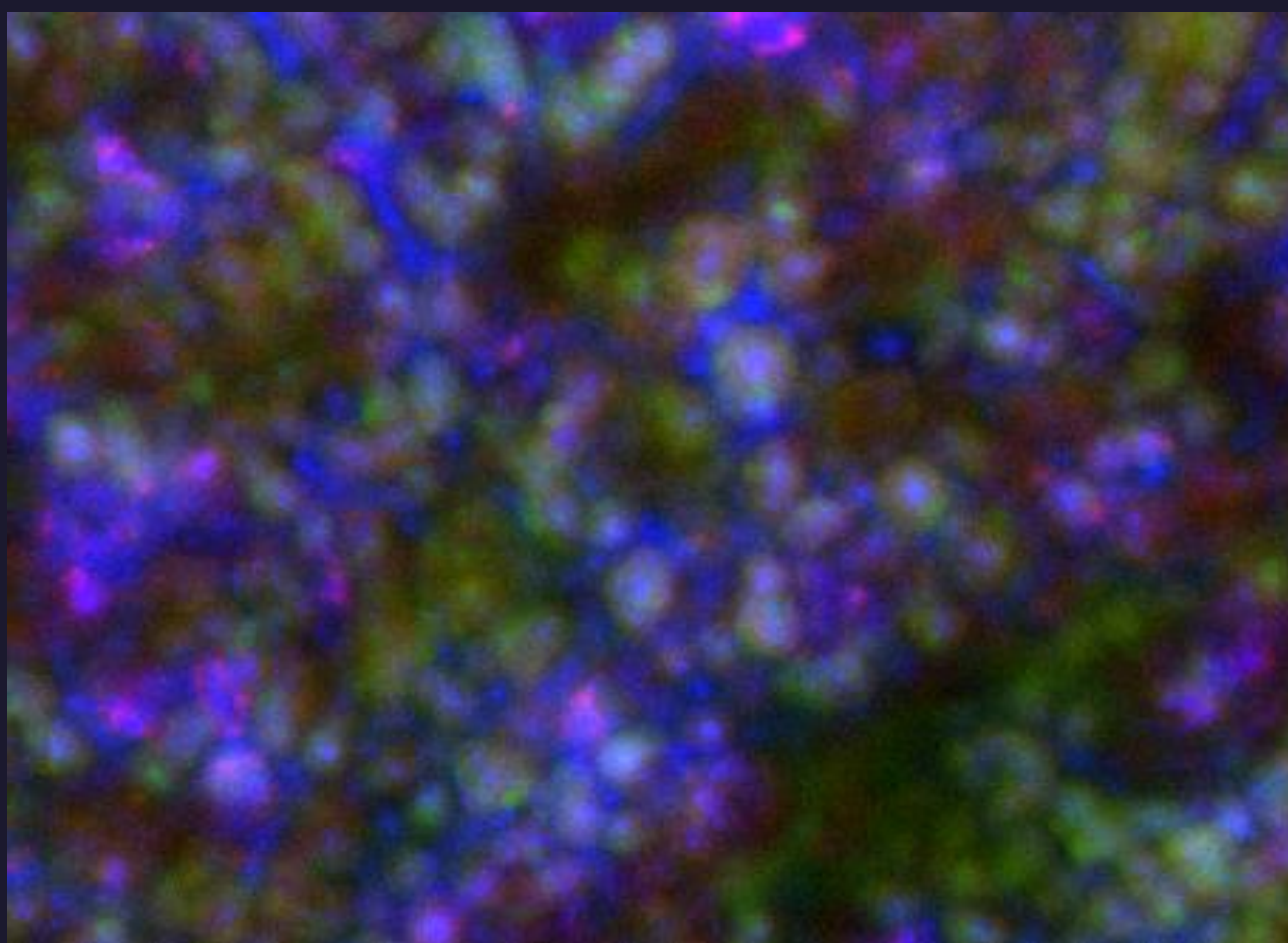
- Összesítő nézet

Publikálás

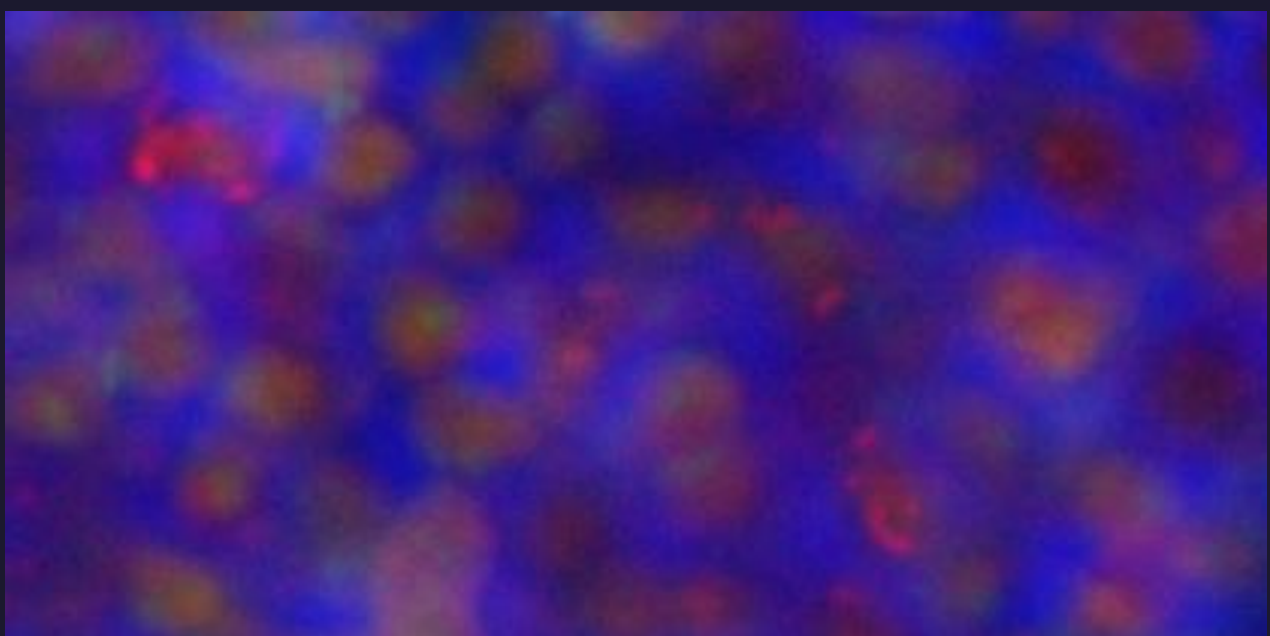
- Grafikon készítés



Szegmentálás DsRed-en egyszerű threshold után*



: Hough transzformáció DsRed-en Canny után*

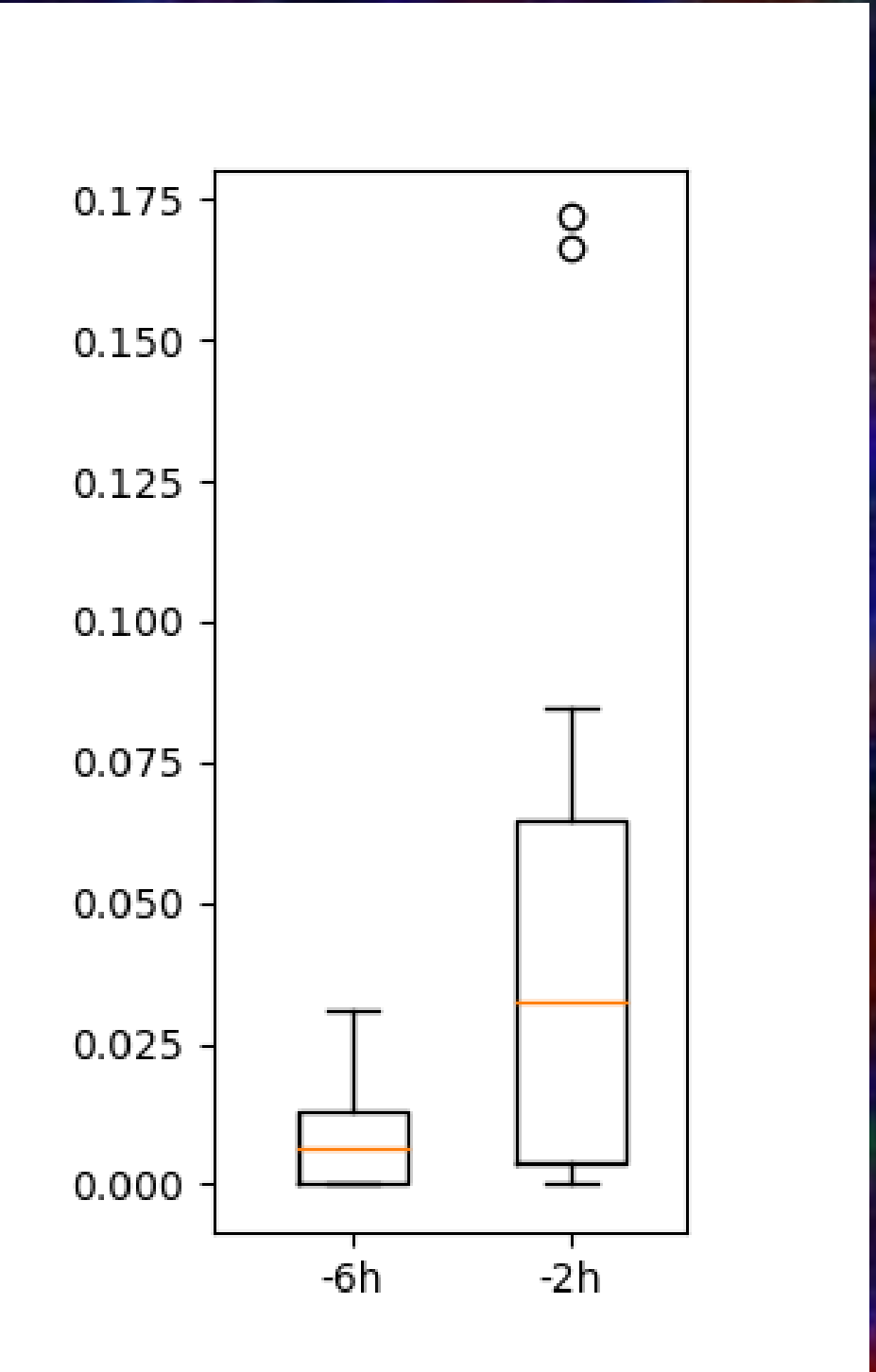


: Fent 1., alul 2. derivált*

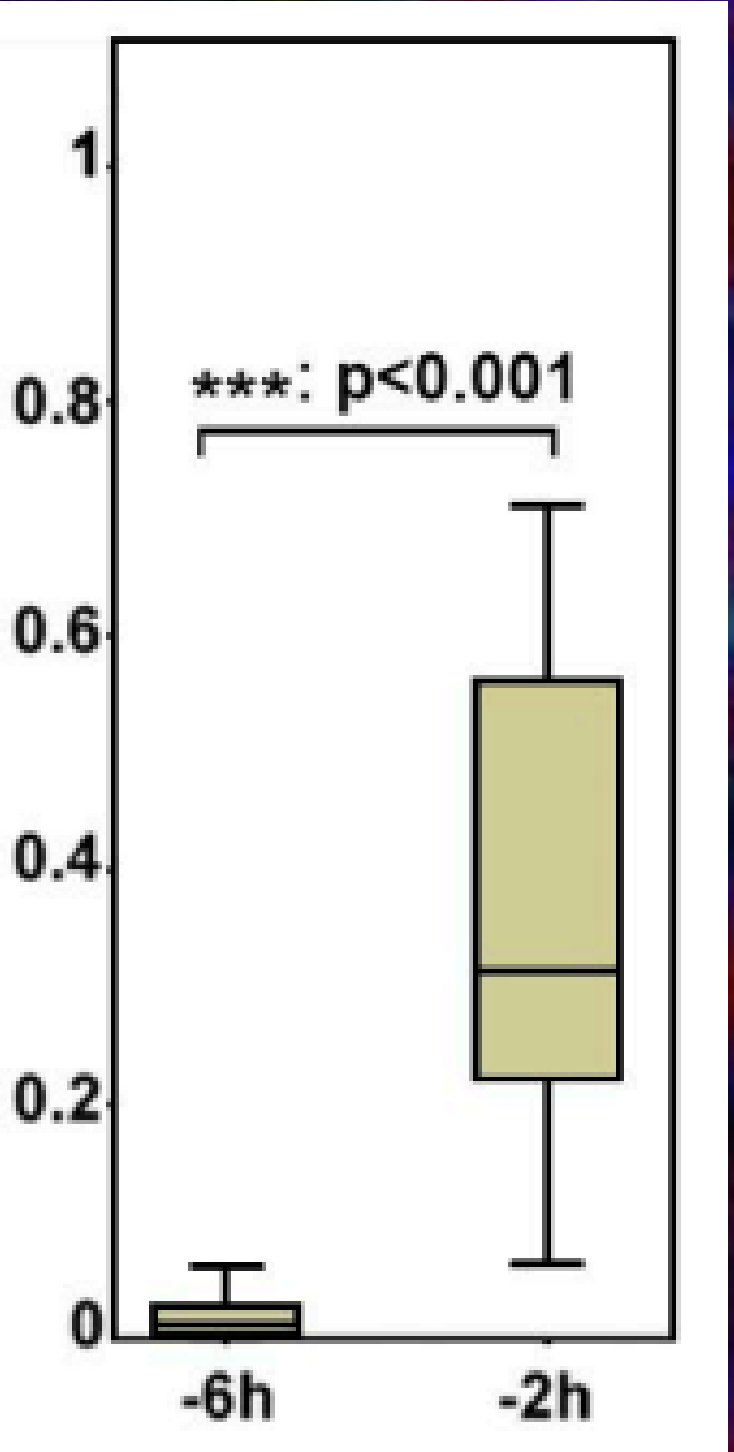
Konklúzió

Az eredmények első látásra biztatóak, azonban minden rendszer / felvétel egyedi beállításokat igényel. Csupán morfológiai megoldások nem alkalmasak általános problémamegoldásra, mindenképpen mélytanuló algoritmust kell bevetni (lásd háttér). Azonban a kikísérletezett eljárásoknak nagy hasznát lehet venni a kézi feldolgozás támogatásában, egyszerűbb feladatoknál, illetve az adott neurális háló megfelelő síkokkal való támogatásában.

Automatikusan rajzolt statisztika



Kézzel készített statisztika



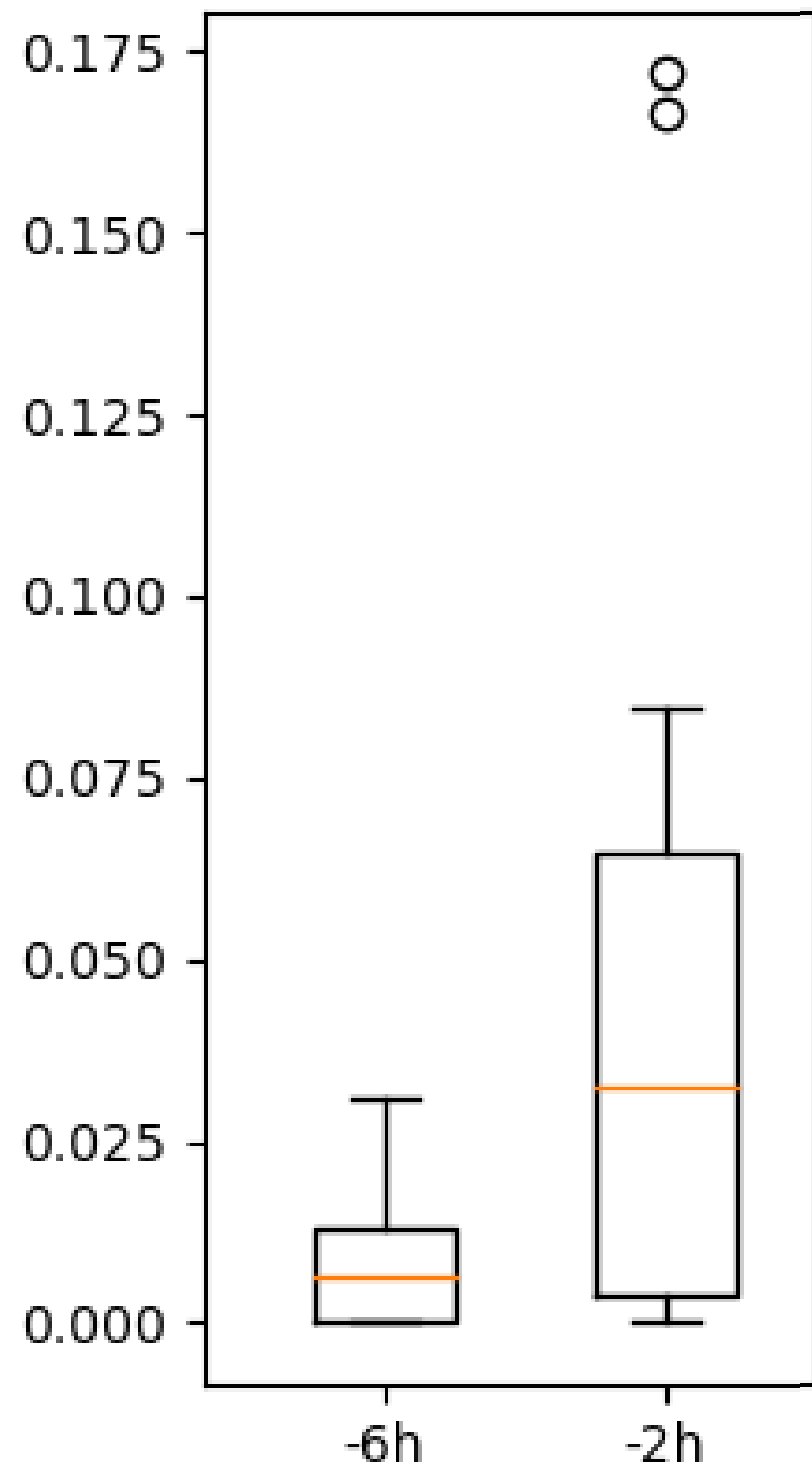
Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

Balra a pozitív membránokkal rendelkező váladékszempcsék aránya látható kézzel és minimális hangolás után géppel számolva ugyanazon a mintahalmazon.

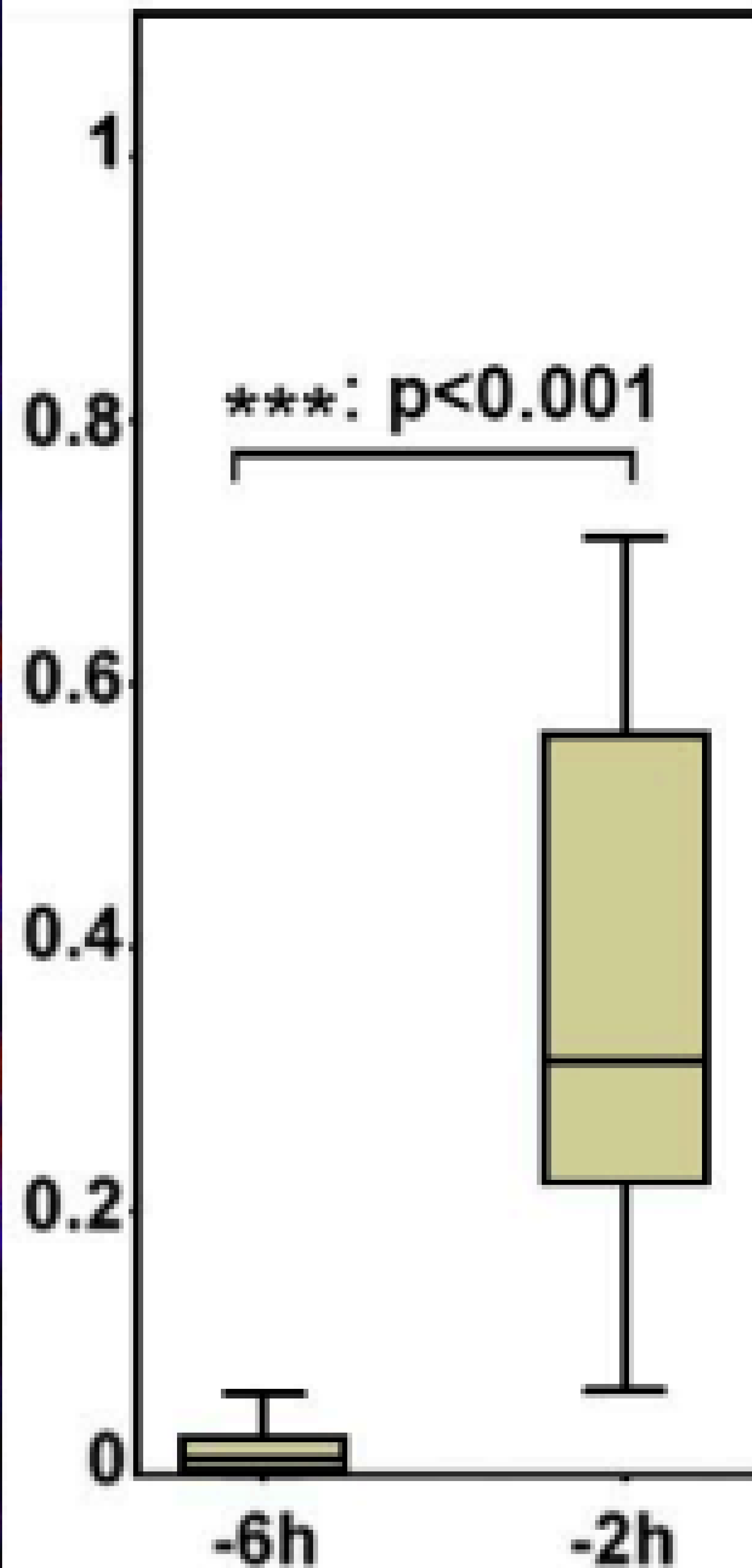
Jövőbeni fejlesztési irányok

- Gyorsabb, több funkcióval bíró felhasználói felület
- Gyorsabb működés GPU használatával
- Tömeges képelemzés (nem csak terminálból)
- Integráció az AxioVision és a Zen programmal, felvételek valós idejű, azonnali elemzése
- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
- Neurális háló alapú szegmentálás

Automatikusan rajzolt statisztika



Kézzel készített statisztika



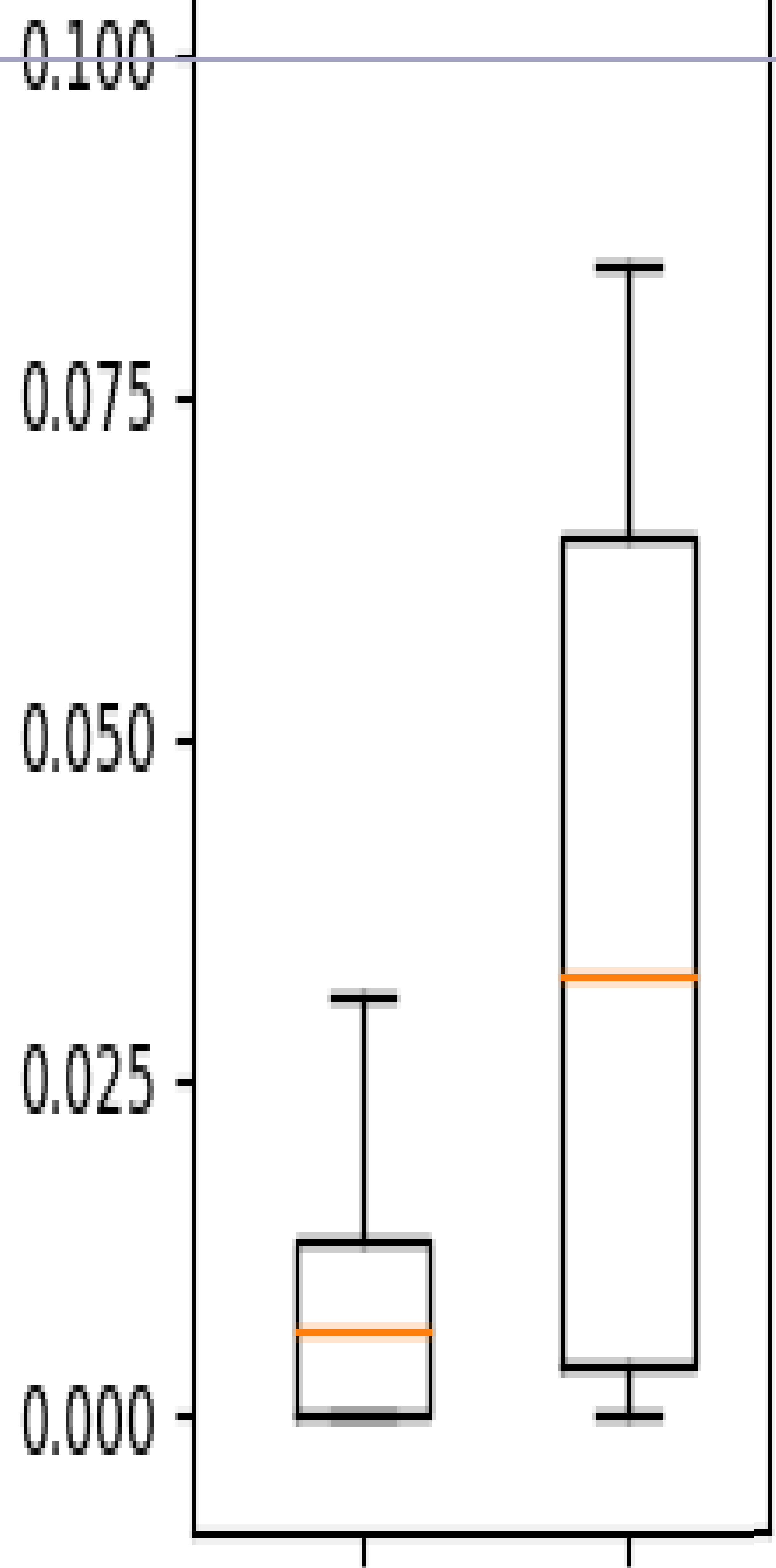
Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

Balra a pozitív membránokkal rendelkező váladékszemcsék aránya látható kézzel és minimális hangolás után géppel számolva ugyanazon a mintahalmazon.

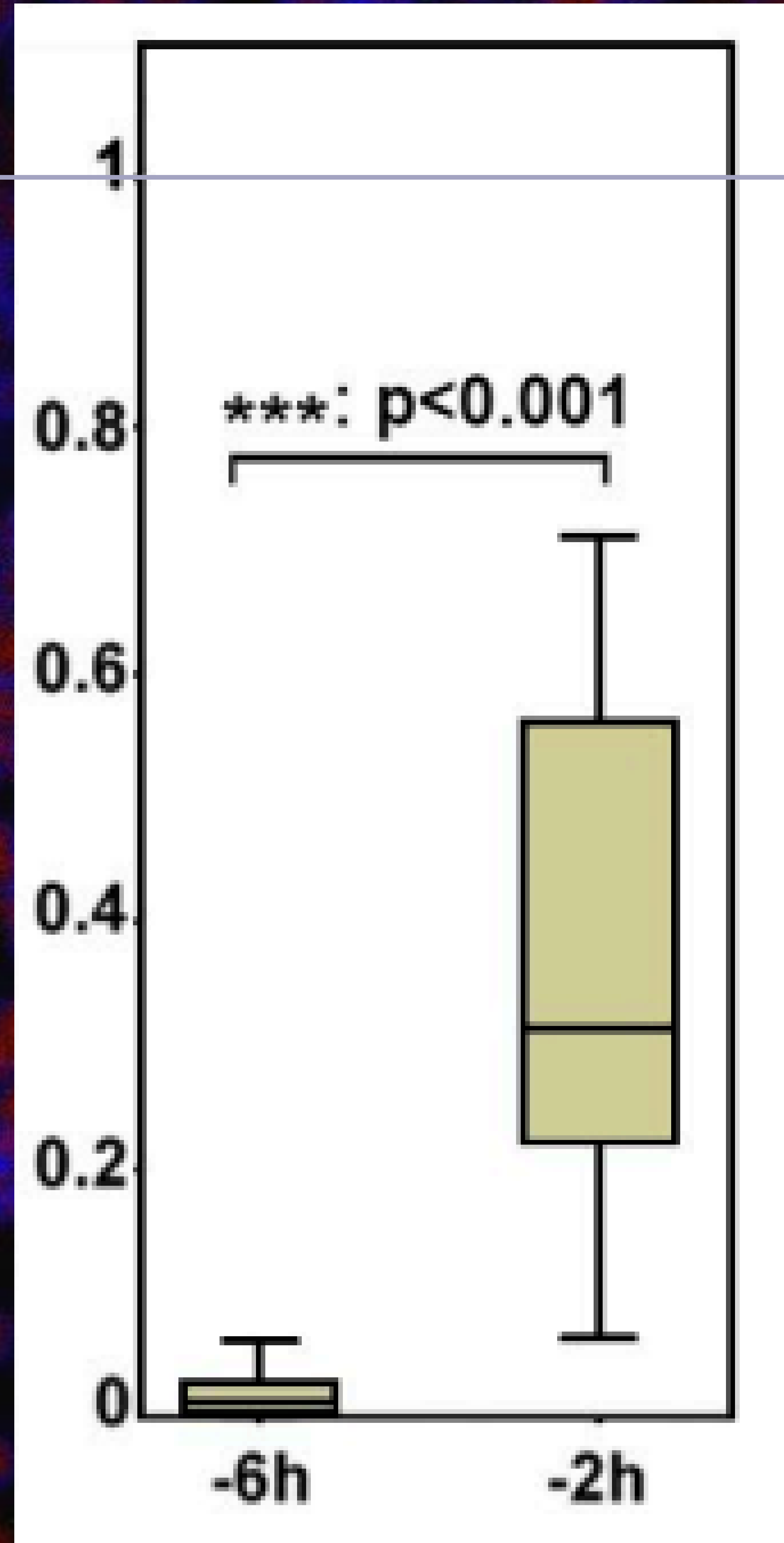
Jövőbeni fejlesztési irányok

- Gyorsabb, több funkcióval bíró felhasználói felület
- Gyorsabb működés GPU használatával
- Tömeges képelemzés (nem csak terminálból)
- Integráció az AxioVision és a Zen programmal, felvételek valós idejű, azonnali elemzése
- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
- Neurális háló alapú szegmentálás

Automatikusan rajzolt statisztika



Kézzel készített statisztika

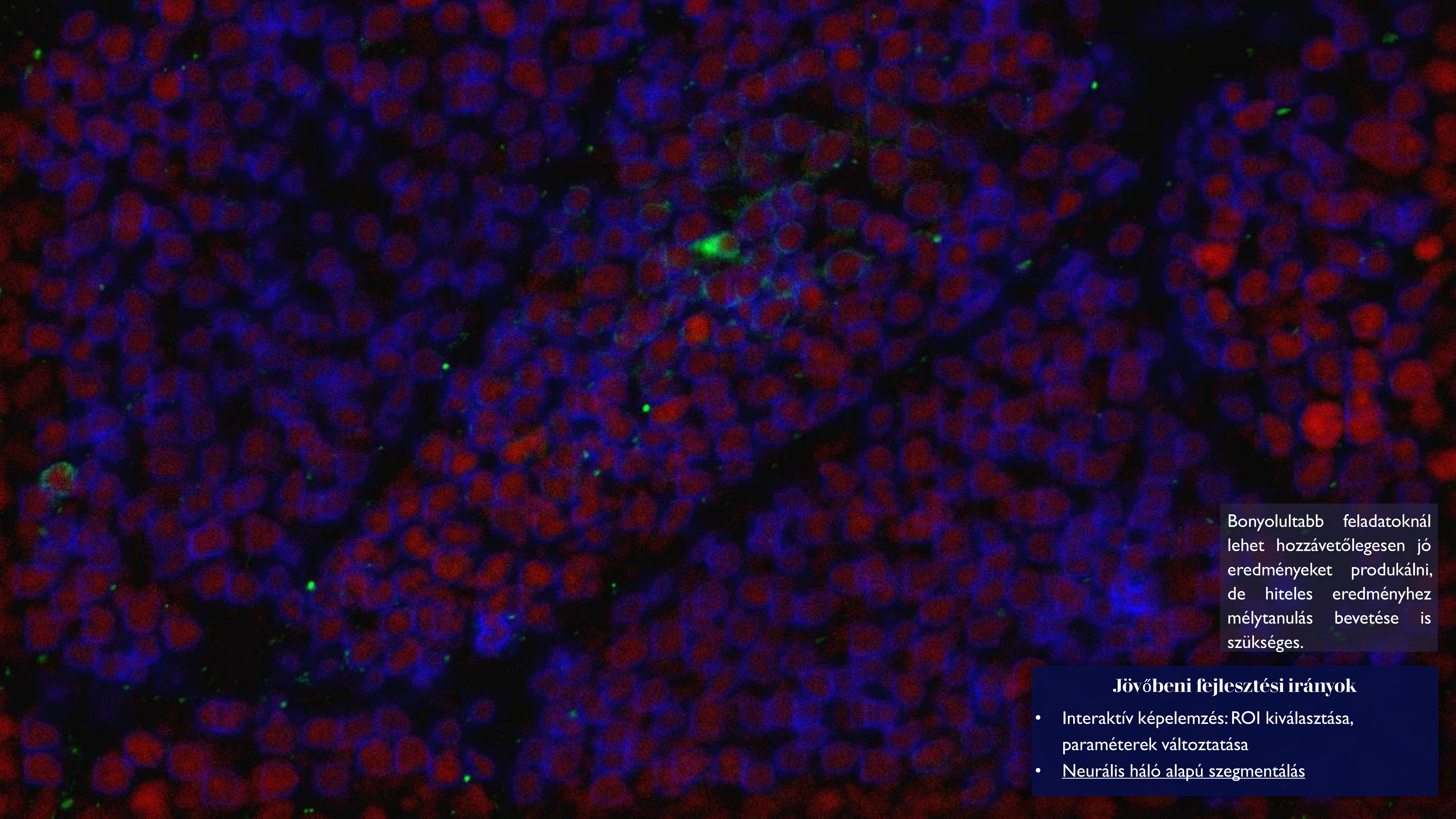


Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

Balra a pozitív membránokkal rendelkező váladékszemcsék aránya látható kézzel és minimális hangolás után géppel számolva ugyanazon a mintahalmazon.

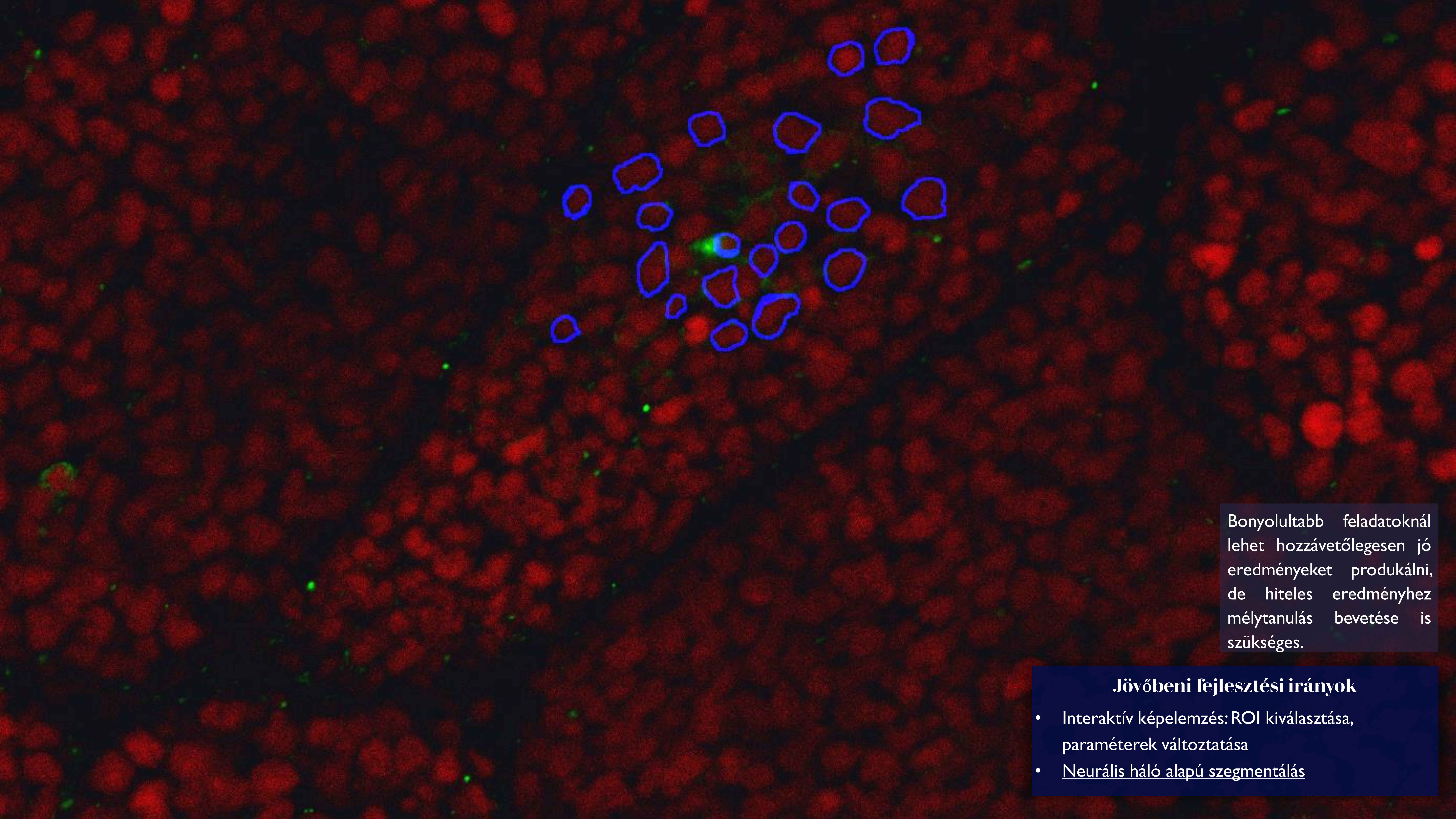
Jövőbeni fejlesztési irányok

- Gyorsabb, több funkcióval bíró felhasználói felület
- Gyorsabb működés GPU használatával
- Tömeges képelemzés (nem csak terminálból)
- Integráció az AxioVision és a Zen programmal, felvételek valós idejű, azonnali elemzése
- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
- Neurális háló alapú szegmentálás



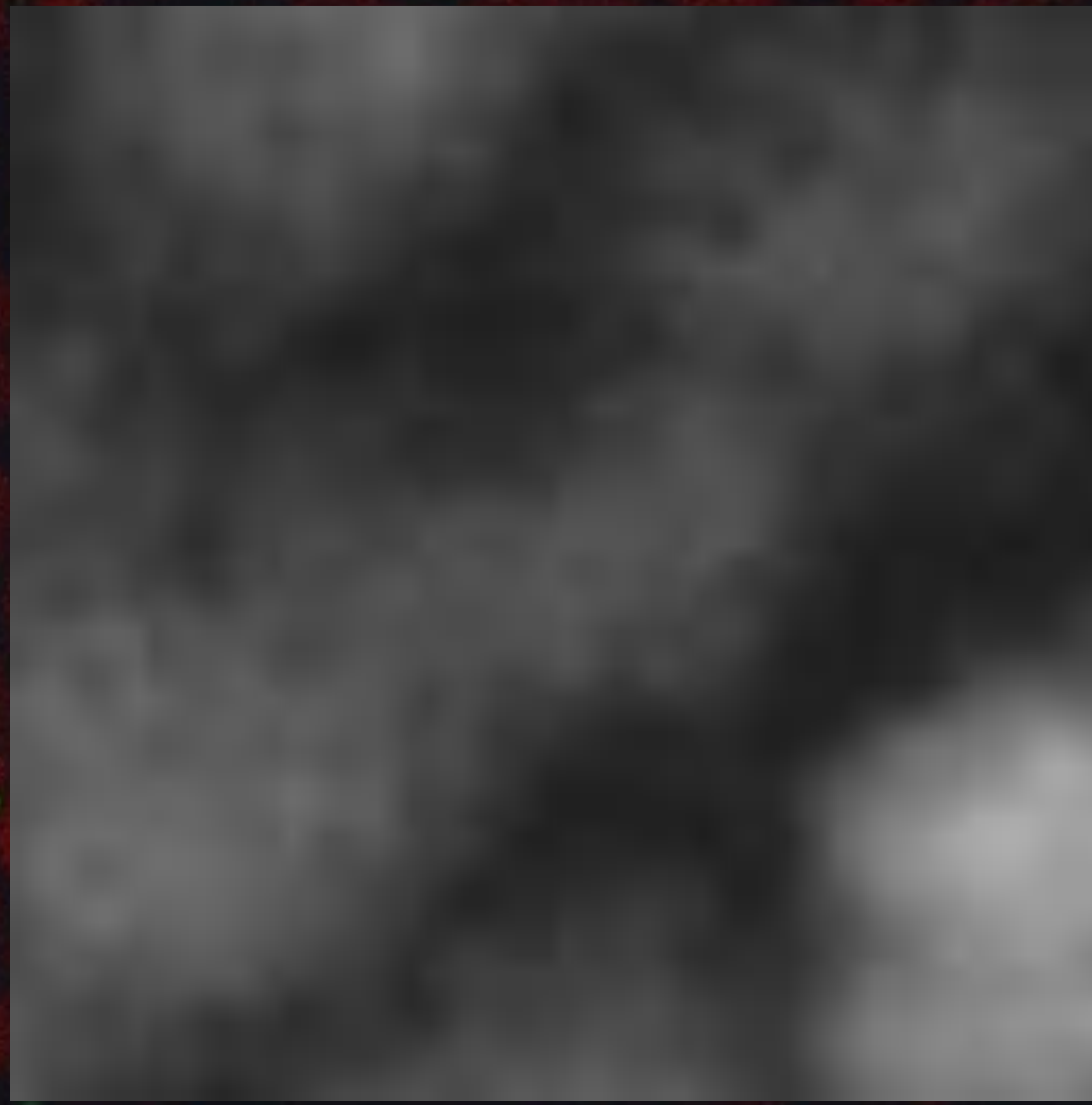
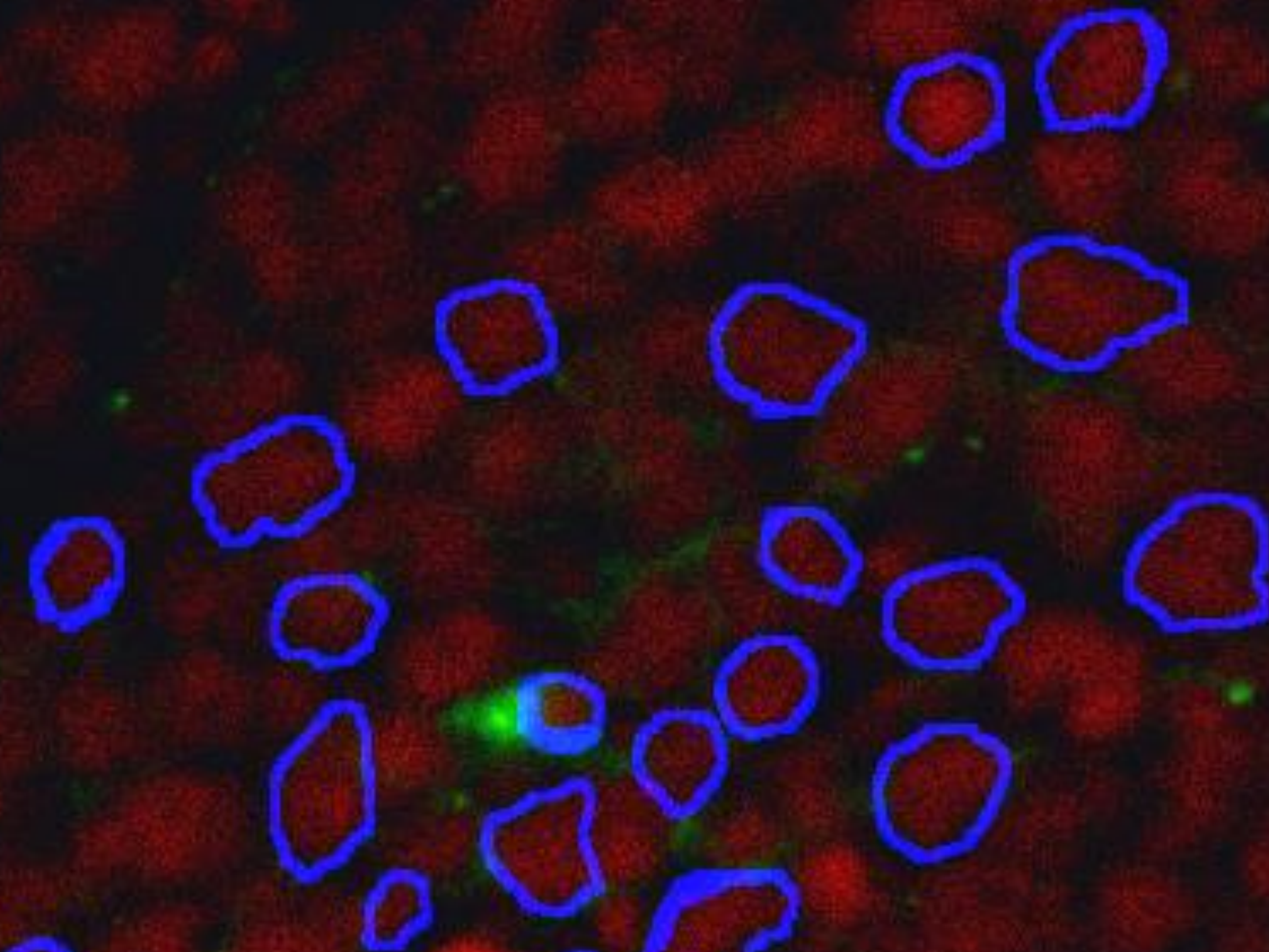
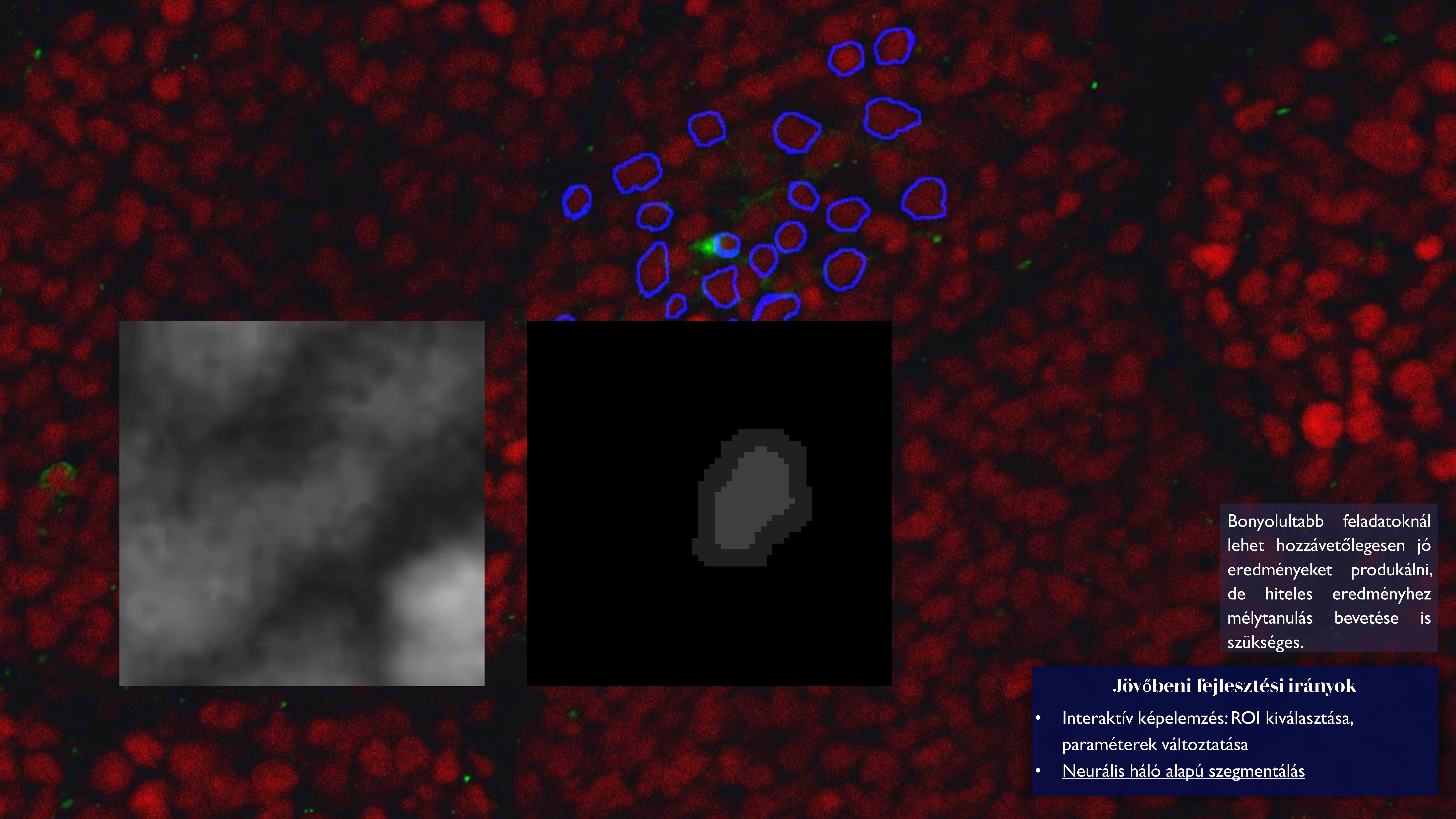
Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

- Jövőbeni fejlesztési irányok**
- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
 - Neurális háló alapú szegmentálás



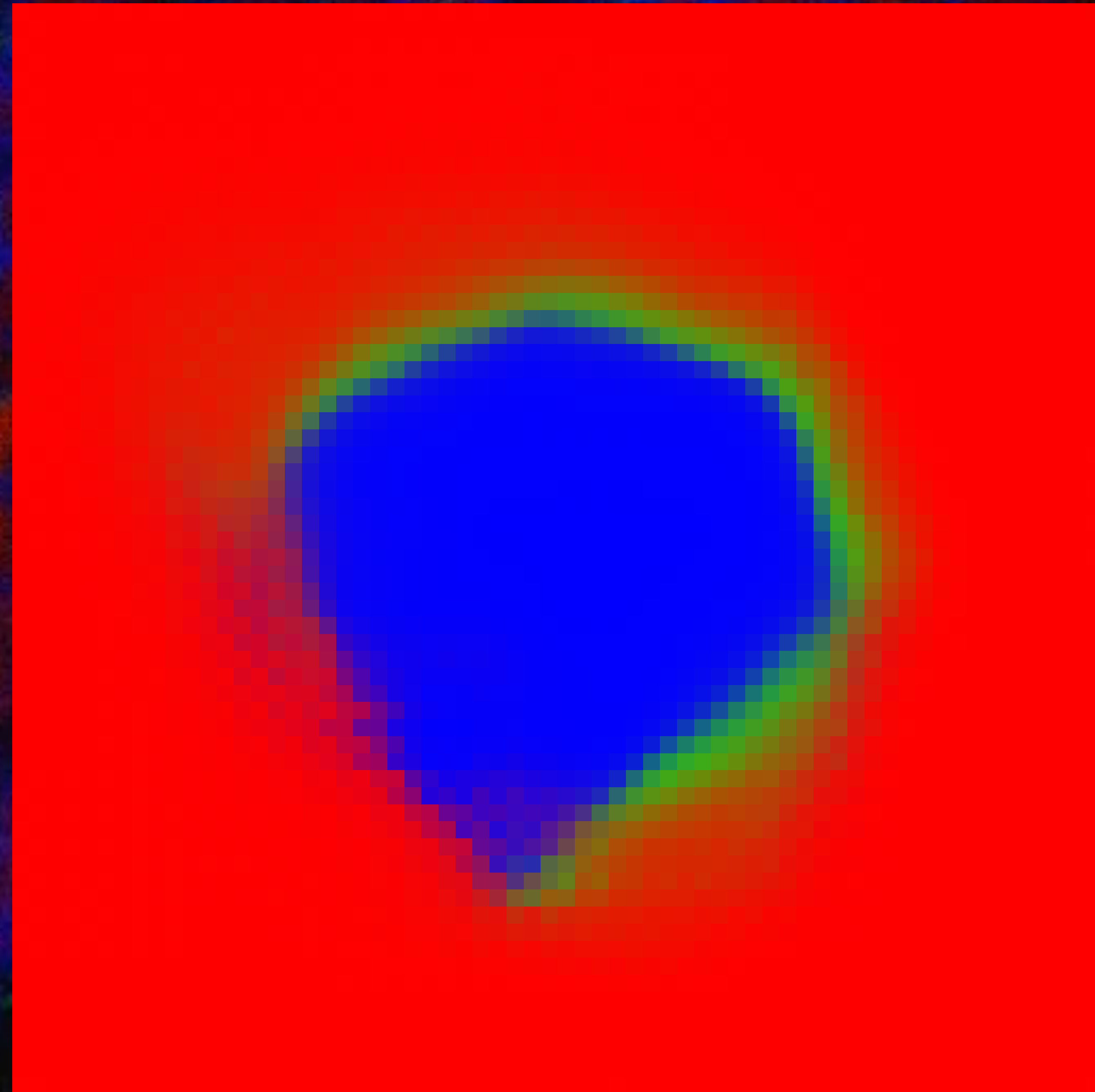
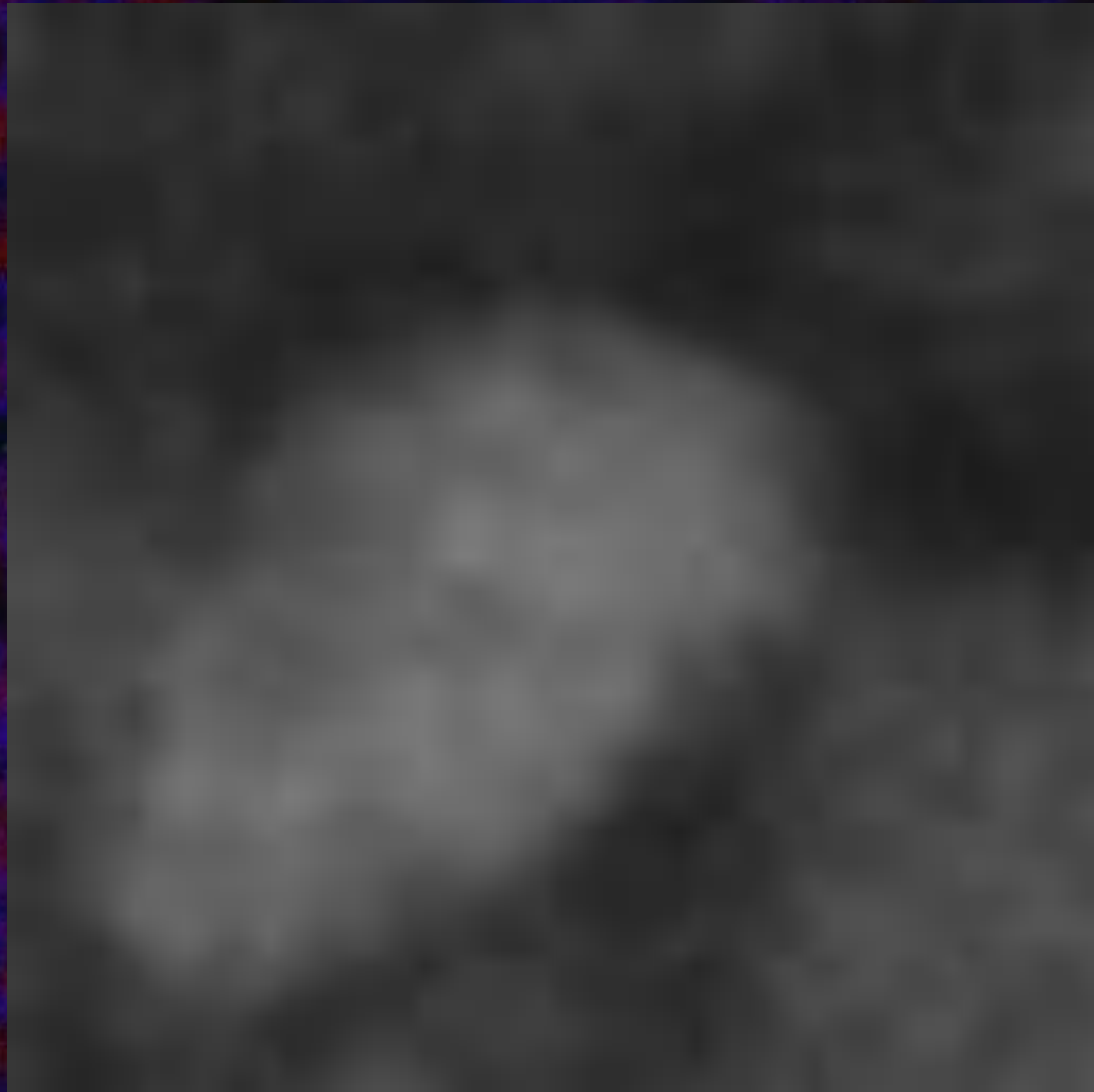
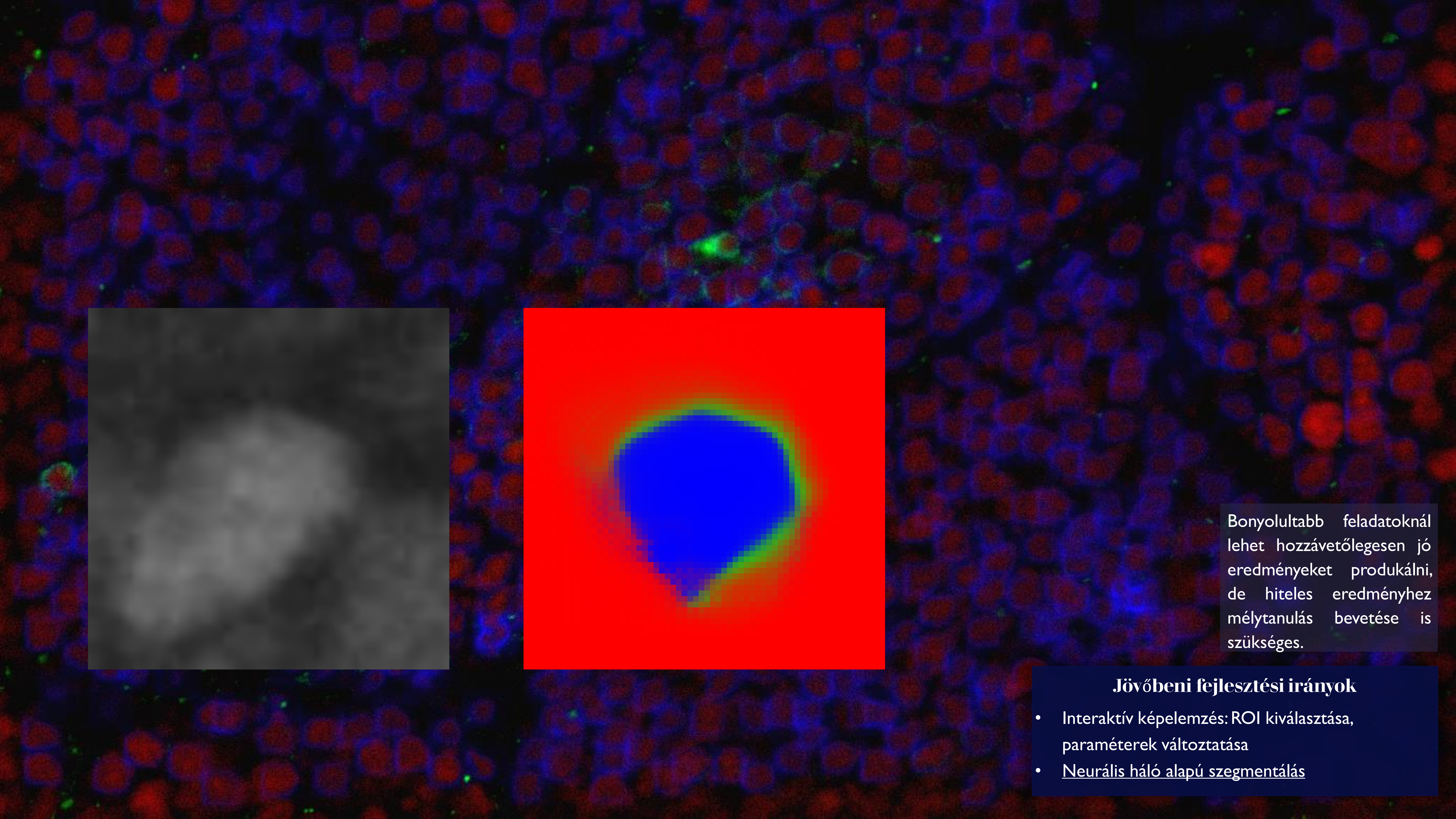
Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

- Jövőbeni fejlesztési irányok**
- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
 - Neurális háló alapú szegmentálás



Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

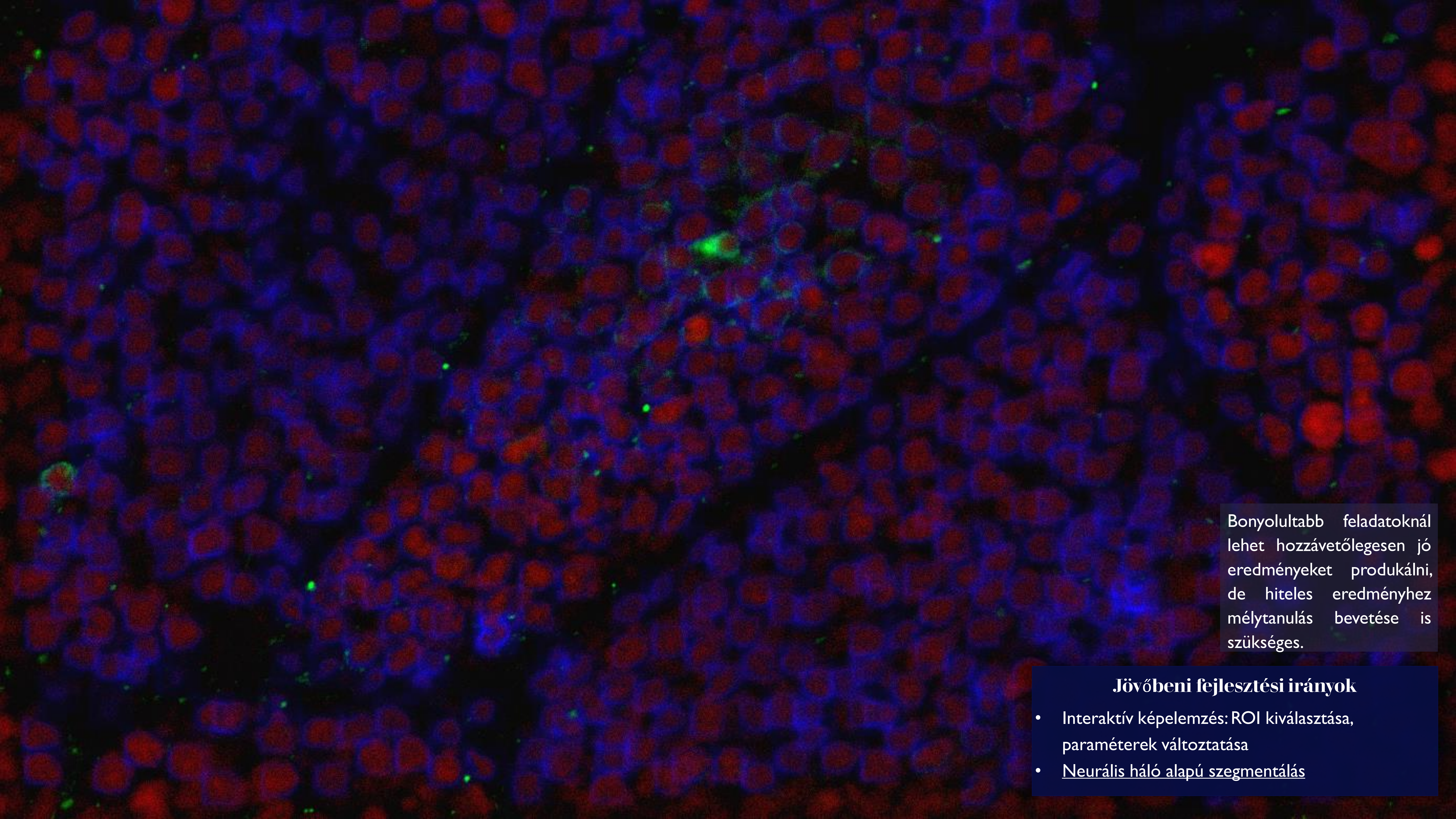
- Jövőbeni fejlesztési irányok**
- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
 - Neurális háló alapú szegmentálás



Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

Jövőbeni fejlesztési irányok

- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
- Neurális háló alapú szegmentálás



Bonyolultabb feladatoknál lehet hozzávetőlegesen jó eredményeket produkálni, de hiteles eredményhez mélytanulás bevetése is szükséges.

- Jövőbeni fejlesztési irányok**
- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása
 - Neurális háló alapú szegmentálás

Köszönöm a figyelmet

I. Felvételek készítése

Automatizált elemzéshez elengedhetetlen minél több részlet megartása, így nagyon fontos, hogy a felvételek csatornánként külön legyenek elmentve.

A kiértékelhetőséget befolyásoló tényezők:
Vizsgált rendszer, mellékjelenségek, expozíció, élesség, méretarány, zaj → mind kísérlet-specifikus
* Kompozit képek: pirossal DsRed (granulumban lokalizálódik), zölddel GFP (pozitív granulumban lokalizálódik) és kékkel DAPI (sejtmagban lokalizálódik) van megjelölve

<https://doi.org/10.1003/jco.201702105>

ELTE Szekréciós granulomok in silico felismerése morfológiai módszerekkel *Drosophila* lárvális nyálmirigyében

László Döröcsöl (doro@inf.elte.hu), Dóra Anna Juhász Gábor és Csornai Teréz (tamas.csornai@inf.elte.hu)

BÖVEZET

A szekréciós granulomok felismerése a morfológiai módszerekkel a *Drosophila* lárvális nyálmirigyében. A morfológiai módszerek segítségével a granulomok morfológiáját vizsgáljuk, és a morfológiai módszerek segítségével a granulomok morfológiáját vizsgáljuk.

I. Felvételek készítése

A kiértékelhetőséget befolyásoló tényezők: Vizsgált rendszer, mellékjelenségek, expozíció, élesség, méretarány, zaj → mind kísérlet-specifikus

2. Edzetes kiértékelés

A kiértékelés során a granulomok morfológiáját vizsgáljuk, és a morfológiai módszerek segítségével a granulomok morfológiáját vizsgáljuk.

3. Kvantifikálás

A granulomok morfológiáját vizsgáljuk, és a morfológiai módszerek segítségével a granulomok morfológiáját vizsgáljuk.

4. Eredmények összefoglalása

A granulomok morfológiáját vizsgáljuk, és a morfológiai módszerek segítségével a granulomok morfológiáját vizsgáljuk.

Közlés

A granulomok morfológiáját vizsgáljuk, és a morfológiai módszerek segítségével a granulomok morfológiáját vizsgáljuk.

Jövőbeni fejlesztési irányok

- Interaktív képelemzés: ROI kiválasztása, paraméterek változtatása