

AUTOMATICAL DETECTION OF MACROMOLECULAR COMPLEXES FROM QUANTITATIVE STEM IMAGE AND CALCULATION OF THEIR MOLECULAR MASS

Samuel Záchej

Bachelor Degree Programme (3), FEEC BUT

E-mail: xzache01@stud.feec.vutbr.cz

Vladislav Krzyzanek

E-mail: krzyzanek@isibrno.cz

Abstract: This paper deals with an image processing methods for detection of macromolecular complexes from a quantitative STEM microscope image. It describes principles of image formation, detection and classification of the objects in the image. The paper includes the practical part, where information about an algorithm is mentioned. It summarizes my current stage of my Bachelor's thesis and describes final steps for it's completion.

Keywords: STEM, microscope, image processing, MATLAB,

1. ÚVOD

Táto práca popisuje STEM (scanning transmission elektron microscope) mikroskop, jeho základné charakteristiky a spôsob, akým pomocou tohto systému vzniká kvantitatívny obraz. Následne pojednáva o základných metódach spracovania obrazu, s cieľom detekovať objekty v obraze a určiť ich základné parametre. Jedným z hlavných parametrov je hmotnosť objektov, ich tvar a rozmery. Algoritmus spracovania obrazu je navrhnutý v prostredí MATLAB. Okrem zjednodušenej teoretickej časti, práca popisuje základné prvky vytvoreného algoritmu a dosiahnuté výsledky.

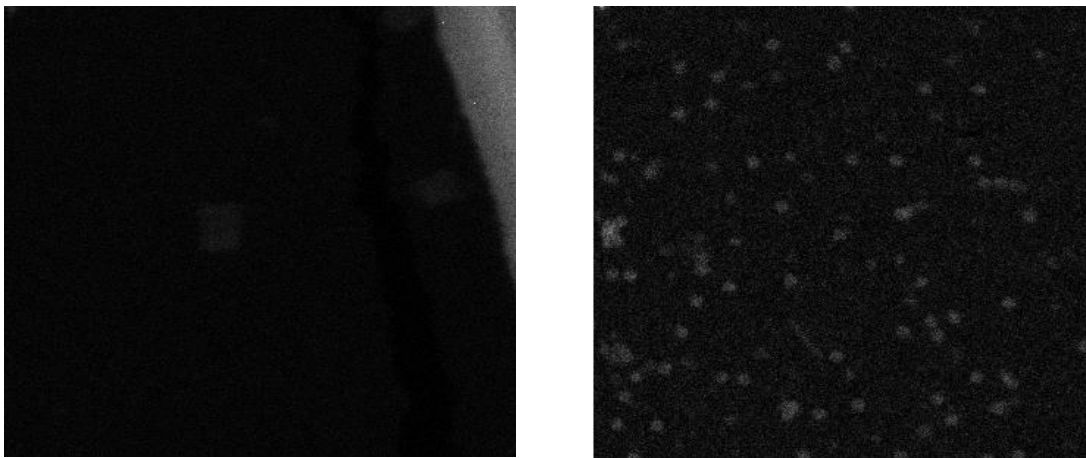
2. ZOBRAZENIE, DETEKCIA A POPIS OBJEKTOV

Pre zobrazenie daných preparátov bol použitý STEM mikroskop. Táto kapitola okrem popisu STEM systému hovorí aj o vzniku obrazu a jeho spracovaní, pomocou matematickej morfológie, lokálnej filtrácie a pod.

2.1. STEM

Názov mikroskopického systému priamo poukazuje na spôsob snímania preparátu a vzniku obrazovej informácie. Základným princípom je skenovanie preparátu bod po bode, úzkym zväzkom elektrónov, ktoré prechádzajú vzorkou a sú zachytené detekčnou sústavou mikroskopu. Elektróny vznikajú v elektrónovom zdroji pomocou javu termoemisie alebo autoemisie. V oboch prípadoch je potrebné aby elektróny prekročili potenciálovú bariéru a boli uvoľnené z kovovej katódy, či už pomocou silného elektrického poľa (autoemisie) alebo pridaním energie elektrónom vo forme tepla (termoemisie). Kombináciou týchto dvoch metód bola vyrobená katóda typu Schottky. Vzniknuté elektróny sú vychyľované a urýchľované cievkami vytvárajúcimi magnetické pole, ktoré zväzok elektrónov fokusujú do čo najmenšieho bodu priamo na preparát. Konečná časť optickej sústavy slúži na vychyľovanie fokusovaného zväzku elektrónov po preparáte. Elektróny putujú na preparát, pričom reagujú s jeho stavebnými časticami. Medzi elektrónmi a hmotou preparátu dochádza ku pružným a nepružným rozptylom. V práci sú spracovávané obrazy pochádzajúce z prstencového dark-field (ADF) detektoru zachytávajúceho predovšetkým elasticky rozptýlené elektróny. Hodnota pixlu vo vzniknutom obraze udáva počet elasticky rozptýlených elektrónov,

v ožiarenej ploche. Svetlé časti obrazu s vyššou hodnotou pixlu, odpovedajú elasticky rozptýleným časticiam (rozptyl je priamo úmerný atómovej hmotnosti častice). Obrazy sú často veľmi komplikované a môžu obsahovať rušivé prvky spôsobené nekvalitnou prípravou preparátu, poprípade obsahujú plochu s roztrhnutým filmom, na ktorom je preparát nanosený. Obrazy často obsahujú proteíny rôzneho tvaru (kruhové, hranaté, s otvorom a pod.) a väčšinou bývajú znehodnotené šumom. [1]



Obr. 1 – Príklad reálnych obrázkov zo STEM mikroskopu. Vľavo sledujeme obraz s roztrhnutým filmom a intenzívnym rušením. Vpravo je znázornený iný typ obrazu s veľkým počtom proteínov a ich nepravidelných zhlukov.

2.2. SPRACOVANIE OBRAZU – TEORETICKÁ ČASŤ

V práci sú zahrnuté možnosti spracovania obrazu pomocou matematickej morfológie v binárnom obraze. Binárny obraz vzniká procesom prahovania. Prah rozdeľuje obraz na pozadie a popredie. Následne je možné pracovať s časťami popredia a pozadia pomocou operácií ako sú erózia, dilatácia a ich kombinácií ako otvorenie a uzatvorenie. V podstate ide o množinové operácie (zjednotenie a prienik množín) medzi obrazom (matica obrazových dát) a štruktúrnym elementom reprezentujúcim množinu bodov s istým tvarom a počiatočným bodom. Využitá je aj možnosť tvorby spojených komponentov obrazu, ktoré reprezentujú objekty v obraze. Komponent vzniká spojením všetkých pixlov popredia, ktoré je možné spojiť bez prerušenia. **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**[4]

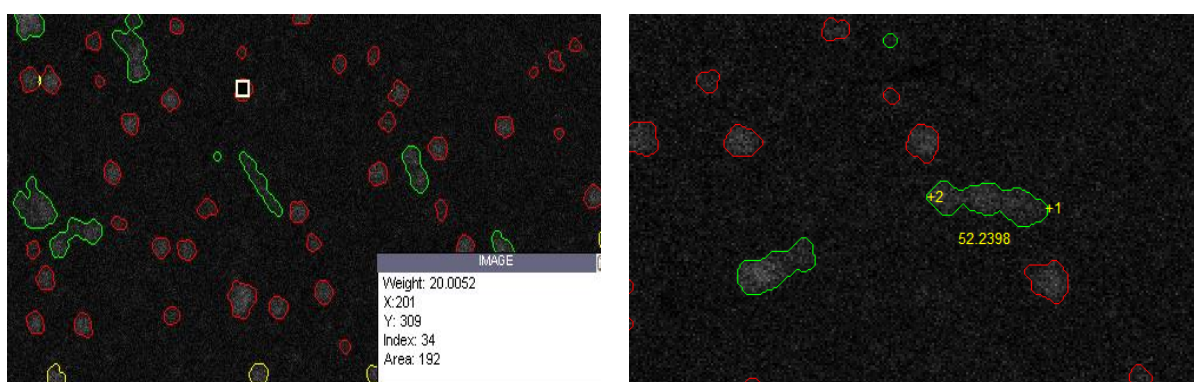
Okrem práce so vzniknutým binárnym obrazom je treba spomenúť aj filtráciu originálnych šedotónových obrazov, znehodnotených aditívnym šumom. Dôležité sú hlavne dva typy filtrov a to mediánový, ktorý pre daný bod obrazu, počíta jeho novú hodnotu zo zoradenej postupnosti dát okolia. Druhým typom je lokálny vyhladzovací filter. Tento typ filtru priemeruje hodnoty masky s hodnotami okolia bodu a počíta tak novú hodnotu počiatočného bodu. [3]

Pre vhodný popis vlastností (príznakov) objektov, využívame dva prístupy a to hlavne stanovenie fotometrických a rádiometrických príznakov, ktoré popisujú geometrické a optické vlastnosti objektov. Na základe príznakov môžeme častice klasifikovať do tried. Klasifikácia prebieha pomocou rozhodovacieho stromu a zhlukovej analýzy.

3. ALGORITMUS SPRACOVANIA OBRAZU

Základné spracovanie obrazu v prostredí MATLAB spočíva v jemnom vyhladení, často silne zašumených obrazov, pomocou mediánovej filtrácie alebo vyhladzujúcich lokálnych maskových filtrov. Následne je stanovená hodnota prahu pomocou skúmania závislosti hmotnosti na iteratívne sa zvyšujúcej hodnote prahu. Vyhovujúca hodnota prahu sa použije pre vytvorenie binárneho obrazu.

Nasledujú jednoduché morfológické operácie v binárnom obraze (napr. otvorenie obrazu štruktúrnym elementom) slúžiace na dodatočné odstránenie pozostatkov obrazového šumu alebo odstránenie častíc dotýkajúcich sa hrany obrazu, nevhodných pre následné merania. Získané častice sú ohraničené. Nasleduje popis vlastností detekovaných objektov a na základe vlastností (príznakov) prebieha triedenie a klasifikácia objektov. Častice nevhodné pre meranie hmotnosti sú označené zelenou farbou (môžu to byť zhluky proteínov, vyznačujúce sa veľkým obvodom vzhľadom na pokrytú plochu, nehomogenitou rozloženia jasových úrovní vo vnútri častíc a pod.). V algoritme funguje možnosť interaktívneho merania vzdialeností v obraze pomocou vstupu užívateľa. Ďalej, je zobrazený výstup s možnosťou interaktívneho alebo priameho zobrazenia hmotností jednotlivých proteínov v obraze. Zároveň je vytvorená funkcia ponúkajúca možnosť segmentácie dotýkajúcich sa objektov, ktorá je však iba okrajovou možnosťou pre užívateľa, vzhľadom na skreslenie hodnôt hmotností a vzdialeností objektov. Základné prvky algoritmu (prahovanie a stanovenie hraníc objektov) boli vzhľadom na silný šum overené aj na modelovaných obrazoch kde bola sledovaná presnosť detekcie hraníc objektov.



Obr. 2 Vľavo príklad zobrazenia hmotnosti jednotlivej častice (hmotnosť = weight v okne). Vpravo - zobrazenie vzdialenosti dvoch bodov (1 a 2) v obraze (zvolené užívateľom). Na oboch obrázkoch sledujeme automaticky ohraničené proteíny (červenou farbou - samostatne situované, zelenou farbou – zhluky proteínov).

4. ZÁVER

Dokument približuje teoretickú a praktickú časť mojej bakalárskej práce. Vzhľadom na povolený rozsah dokumentu je veľa informácií vynechaných. Treba podotknúť, že práca ešte nie je dokončená. Bude doplnená o niektoré dôležité pojmy v rámci teórie. Praktická časť sa nachádza v štádiu, kedy sú vytvorené podporné M-files (súbory prostredia MATLAB) a pracuje sa na vytvorení užívateľského prostredia, ktoré zjednotí vytvorené funkcie a povolí užívateľovi vstupovať do programu a manuálne voliť niektoré parametre (napríklad hodnoty prahu pre vytvorenie binárneho obrazu, poprípade rozšírenie alebo zmenšenie plochy častíc, zobrazenie histogramu a pod).

REFERENCIE

- [1] ENGEL, Andreas. Scanning Transmission Electron Microscopy: Biological Applications. In Peter Hawks, editor: *Advances in Imaging and Electron Physics*. London: Academic, 2009, s. 357-386. Vol. 159. ISBN 978-0-12-374986-4
- [2] HLAVÁČ, Václav a Miloš SEDLÁČEK. *Zpracování signálů a obrazů*. 2. přeprac. vyd. Praha: ČVUT, 2007, 255 s. ISBN 978-80-01-03110-0.
- [3] JAN, Jiří. *Číslíková filtrace, analýza a restaurace signálů*. 2. upr. a rozš. vyd. Brno: VUTUM, 2002, 427 s. ISBN 80-214-2911-9.
- [4] WU, Qiang. *Microscope image processing*. [1st ed.]. Editor Fatima A. Merchant, Kenneth R. Castleman. Burlington: Academic Press, 2008, 548 s. ISBN 978-0-12-372578-3.