



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Image analysis for gene expression based phenotype characterization in yeast cells

Tleis, M.

Citation

Tleis, M. (2016, July 6). *Image analysis for gene expression based phenotype characterization in yeast cells*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/41480>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/41480>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/41480> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Tleis, Mohamed

Title: Image analysis for gene expression based phenotype characterization in yeast cells

Issue Date: 2016-07-06

Samenvatting

Beeldanalyse van objecten op microscopische schaal vereist nauwkeurigheid opdat de metingen uit de beeldanalyse kunnen worden gebruikt om te verschillen te vinden in groepen van objecten die worden bestudeerd. Dit proefschrift gaat over metingen verkregen uit microscope beelden gedaan zijn ten behoeve van onderzoek in de gistbiologie. Wij hebben algoritmes en workflow van beeldanalyse van gist-cellen bestudeerd teneinde de meetnauwkeurigheid te begrijpen en verbeteren. De *Saccharomyces cerevisiae* (bakkersgist) cel is een algemeen gebruikt model systeem in de levenswetenschappen. Het is essentieel het gedrag van genen en eiwitten in deze cellen te bestuderen zodat het daarmee kan bijdragen aan het vinden van behandelingen en oplossingen voor genetische en erfelijke ziekten. Dit is mogelijk omdat veel van de processen die zich op het moleculaire niveau afspelen in de gistcel vergelijkbaar zijn met de processen in de menselijke cel.

In de onderzoeksgroep Imaging & BioInformatica van het LIACS hebben we een platform ontwikkeld voor het doen van beeldanalyse van gistcellen. Dit platform dient ter ondersteuning van het gistbiologie onderzoek; het is ingebed in een softwaretoepassing en wordt bediend door middel van een Grafische Gebruikers Omgeving. De softwaretoepassing integreert modules and algoritmes voor segmentatie, metingen, data-analyse en visualisatie.

In hoofdstuk 1, wordt de motivatie voor het onderzoek uiteengezet, meer specifiek: hoe kunnen systemen voor patroon herkenning worden ingezet voor het onderzoek naar genexpressie in cellen gebaseerd op beelden verkregen uit experimenten. Daarnaast presenteren we de basis achtergronden en definities die nodig zijn voor de vervolghoofdstukken in dit proefschrift. Daarbij wordt speciaal aandacht gegeven aan cytomics en methodieken uit patroonherkennen zoals dezen zijn gebruikt in het beschreven onderzoek in dit proefschrift.

In hoofdstuk 2 wordt een complete omgeving voor beeld-gebaseerd experimenteel gist onderzoek gepresenteerd. Deze omgeving demonstreert hoe een complete reeks van bewerkingen (ook wel pipe-line genoemd) biologen kan helpen in het doen en verwerken van experimenten. In dit hoofdstuk worden ook de afzonderlijke componenten geïntegreerd in de reeks van bewerkingen behandeld: te weten segmentatie, metingen, data analyse en het Grafische Gebruikers Omgeving waarbinnen al deze componenten als een applicatie gepresenteerd worden.

In hoofdstuk 3 bespreken we onze nieuwe aanpak voor segmentatie waarbij gebruik gemaakt wordt van de Hough Transformatie en minimale pad-lengte algoritmes. We laten zien hoe deze algoritmes de segmentatie van ei-vormige (ovoïde) objecten, zoals gist cellen, kan verbeteren. We beginnen met een uitleg van de basis van de Hough Transformatie en minimale padlengte algoritmen. Daarop presenteren we onze generieke aanpak om eivormige objecten te vinden

in microscoop beelden door cirkelboogsegmenten te zoeken gebruikmakend van onze eigen variant van het Hough Transformatie algoritme. Daarnaast gaan we in op het toepassen van minimale padlengte algoritmen om na een eerste schatting de exacte contour van de objecten te vast te stellen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een polaire representatie van het deel van het beeld waar het object is gevonden. Dit hoofdstuk beschrijft een additioneel algoritme voor het verruimen van de gevonden contouren van de eivormige objecten. Een dergelijke verruiming is soms nodig als gevolg van onduidelijkheid van de randen en ook door bepaalde instellingen/keuzes in de microscopie. Eerst wordt uitgelegd hoe de polaire representatie van de beelden wordt gebruikt om het initiële resultaat te verbeteren door het toepassen van ons circulaire kortste pad algoritme. Daarna wordt uitgelegd hoe, door gebruik te maken van drie condities, dit proces precies gestuurd kan worden. Deze condities zijn: weerstand, limiet en convergentie. Het hoofdstuk sluit af met een demonstratie van resultaten en vergelijkt deze resultaten met andere methoden waarbij gebruik gemaakt wordt van een set van “test-beelden” van *S. cerevisiae* cellen.

In hoofdstuk 4 gaan we specifiek in op de “machine learning” aspecten en we introduceren de kenmerken die we gebruiken om, in een “machine learning” aanpak, automatisch groepen van cellen te kunnen herkennen die gecultiveerd zijn in twee verschillende media. We gebruiken eenzelfde aanpak om cellen te classificeren tegenover artefacten. We beginnen met het uitleggen van technieken voor kenmerk-extractie, waaronder eerste-orde histogram kenmerken, textuur metingen, invariante momenten, co-occurent matrix kenmerken en multi-scale wavelet textuur kenmerken. Daaropvolgend worden verschillende classificatie methoden geëvalueerd teneinde een model te bouwen dat kan worden gebruikt in het platform dat we in Hoofdstuk twee hebben geïntroduceerd. Dit model is getraind om de automatische de verschillende celgroepen te kunnen herkennen. Deze automatische herkenning kan worden ingezet om te laten zien dat er verschillende patronen van genexpressie zijn wanneer cellen in verschillende niveaus van stress worden gecultiveerd. Dezelfde classificatie methoden worden bovendien geëvalueerd om cellen te kunnen identificeren tegenover andere objecten. Op deze manier worden rommel en resten van dode cellen gescheiden van levende cellen.

In hoofdstuk 5 wordt het beeldanalyse platform gebruikt in een toepassing waarbij het effect van keukenzout (NaCl) wordt gedemonstreerd op de expressie van de 14-3-3 genen, te weten *Bmh1* en *Bmh2*, in samenhang met *Nha1*. In deze studie wordt daarnaast ook nog gebruik gemaakt van een mutant-stam van het *BMH1* gene waardoor de expressie van *Nha1* onder verschillende niveaus van osmotische stress kan worden bestudeerd. De resultaten die uit de beeldanalyse zijn verkregen zijn gevalideerd met een complementaire study waarbij gebruik gemaakt is van flow-cytometrie.

In hoofdstuk 6 sluiten we af met de conclusies en de lessen geleerd in dit onderzoek. Tenslotte geven we een blik op de toekomst met suggesties voor verder onderzoek.