



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Image Analysis and Platform Development for Automated Phenotyping in Cytomics

Yan, K.

Citation

Yan, K. (2013, November 27). *Image Analysis and Platform Development for Automated Phenotyping in Cytomics*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/22550>

Version: Corrected Publisher's Version

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/22550>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/22550> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Yan, Kuan

Title: Image analysis and platform development for automated phenotyping in cytomics

Issue Date: 2013-11-27

Nederlandse Samenvatting

In het onderzoeksveld van de Cytomics staat het begrijpen van cellulair en sub-cellulair gedrag centraal. Om dergelijk onderzoek op een grote schaal te kunnen uitvoeren is automatisering noodzakelijk. Het doel van een experiment in cytomics is het bestuderen van bepaald gedrag van cellen uit beelden die worden verkregen van een geautomatiseerde microscoop opstelling; bijvoorbeeld voor het bestuderen en meten van de migratie van een kanker cel. Dit specifieke doel wordt gerealiseerd door gebruik te maken van geschakelde beeldanalyse procedures. Het doel van deze beeldanalyse is om numerieke kenmerken uit de reeksen van beelden te halen met behulp van digitale beeldverwerkingstechnieken. Wanneer dit wordt toegepast op grote schaal op beeldreeksen afkomstig uit bio-experimenten dan spreekt men vaak van een “high-content screening” (HCS) experiment. Als we het beeldanalyse probleem van een HCS-experiment vergelijken met andere vraagstukken uit de beeldanalyse, dan zien we dat beeldreeksen die worden geproduceerd door HCS-experimenten zoals toegepast in studies voor cytomics, objecten bevatten die significant variëren in intensiteit en vorm. Standaard oplossingen voor de beeldanalyse houden meestal geen rekening met inter-object variatie hetgeen foute resultaten introduceert. Met deze vaststellingen in gedachte ligt het focus van ons onderzoek op het ontwerpen van specifieke oplossingen voor de beeldanalyse die kunnen omgaan met de inter-object variatie in HCS-beeldreeksen waarbij een strategie wordt gebruikt in dewelke de berekeningen zich aanpassen aan de variatie in de data. In dit proefschrift worden specifieke oplossingen behandeld voor twee belangrijke procedures in de beeldanalyse van HCS-beeldreeksen, te weten, (1) beeldsegmentatie en (2) object-volgen (beter bekend als object-tracking).

(1) Beeldsegmentatie is de procedure waarbij objecten, zoals bijvoorbeeld cellen, in een beeld worden herkend. Het is vaak lastig om, gebruik makend van een standaard oplossing voor beeldsegmentatie, de instellingen voor deze procedure zo te kiezen dat er rekening wordt gehouden met de variatie tussen de individuele objecten.

In het onderzoek beschreven in dit proefschrift, wordt de ontwikkeling behandeld van een adaptief algoritme, het zogenaamde “watershed-masked clustering” (WMC) algoritme. In vergelijking met andere algoritmes voor segmentatie laten we zien dat het WMC-algoritme een zeer goede en stabiele resultaten geeft in HCS-studies.

(2) Object-volgen (object-tracking) is een procedure waarbij dynamische informatie wordt verzameld en geëxtraheerd van objecten in een beeldreeks; bijvoorbeeld de snelheid van migratie van een cel. Een algoritme voor object tracking construeert links tussen objecten uit opeenvolgende beelden uit een beeldreeks waarbij gebruikt wordt gemaakt van informatie over de object-vorm en/of de object-positie. In het onderzoek in de celbiologie zijn de objecten cellen of sub-cellulaire structuren. Objecten per beeld in (ongeveer) dezelfde positie zijn en/of vergelijkbare vorm hebben worden aan elkaar gerelateerd. Omdat het een tijdreeks betreft kan er zo een “traject” worden vastgesteld en uit dit traject kunnen metingen zoals snelheid en bewegingspatroon worden berekend.

In het onderzoek beschreven in dit proefschrift worden twee “tracking” algoritmes geïntroduceerd, namelijk het algoritme bekend als “*kernel density estimation with mean shift*” en het algoritme bekend als “*energy driven linear motion*”. Onze testen hebben uitgewezen dat deze twee algoritmen accurate “tracking” resultaten genereren. Dit wordt eveneens bevestigd door de twee case studies die in dit proefschrift zijn gepresenteerd.

De volgende twee case studies laten de bruikbaarheid van onze specifieke oplossingen voor beeldanalyse zien.

Case-studie 1: Onze beeldanalyse oplossing heeft het mogelijk gemaakt, metingen te verkrijgen voor motiliteit en morfologie van kanker cellen die behandeld waren met een groei-factor. De metingen kunnen worden gebruikt om de verschillen te onderscheiden in het gedrag van de cel zoals dat wordt geïnduceerd door verschillende groei-factoren. Met de metingen kan een bijdrage worden geleverd aan het doorgronden van respons die door een medicijn wordt geïnduceerd uitgedrukt in motiliteit en morfologie.

Case-studie 2: In deze case-studie laat onze beeldanalyse oplossing de mogelijkheid zien om voor een sub-cellulair complex metingen te extraheren uit een beeldreeks. In het bijzonder wordt hiermee de dynamiek van matrix adhesie eiwitten die betrokken zijn bij de beweging van de cel geïllustreerd. De analyse uit deze case-studie bevestigt op numerieke wijze dat de omzet van deze matrix-adhesie complexen, uitgedrukt in duur van assemblage en disassemblage, sterk geassocieerd is met de regulatie van cel motiliteit.

Met het beschikbaar hebben van een goed systeem voor data-management, kan de beeldanalyse op een efficiënte manier worden uitgevoerd. Het systeem voor datamanagement schermt de eindgebruiker af van de onderliggende complexiteit van de berekeningen in de beeldanalyse door een hoogwaardig grafisch gebruikers-interface (GUI). Het geautomatiseerde proces onderliggend aan het gebruikers interface maakt het mogelijk om te schalen naar een groter volume van beelddata. Voorts neemt, door dit systeem, de toegankelijkheid van de interdisciplinaire data toe doordat een standaardisatie is doorgevoerd van data formaten en opslag van meetgegevens tussen verschillende experimenten. Deze standaardisatie van data formaten is een belangrijk kenmerk omdat een uiteindelijk doel van cytomics is, een integratie tot stand te brengen met andere –omics data zodat de correlatie tussen genotype en fenotype bestudeerd kan worden.

Concluderend, het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven heeft tot doel efficiënte en robuuste oplossingen voor HCS analyse te ontwerpen. Door bestaande algoritmen te analyseren en bestuderen, hebben we algoritmen kunnen ontwerpen die goed passen bij de unieke karakteristieken van een HCS experiment. De case-studies laten zien dat de beeldanalyse oplossingen die zijn geïmplementeerd waarbij deze algoritmen worden gebruikt, een goed platform bieden voor het verkrijgen van objectieve informatie voor het doorgronden van biologische vraagstukken. Vergeleken met handmatige analyse kunnen de geautomatiseerde oplossingen voor beeldanalyse de HCS analyse verder objectiveren. Op deze manier wordt de weg bereid voor het begrijpen van de controle mechanismen die het gedrag van de cel bepalen.