



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Shape analysis for phenotype characterisation from high-throughput imaging

Guo, Y.; Guo Y.

### Citation

Guo, Y. (2017, October 17). *Shape analysis for phenotype characterisation from high-throughput imaging*. *SIKS Dissertation Series*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/56254>

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/1887/56254>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/56254> holds various files of this Leiden University dissertation

**Author:** Guo Yuanhao

**Title:** Shape analysis for phenotype characterisation from high-throughput imaging

**Date:** 2017-10-17

# Samenvatting

In dit proefschrift wordt beschreven hoe we vorm hebben bestudeerd, in het bijzonder van het zebravis model systeem. Vorm is een essentiële uiting van het fenotype van een organisme en het kan worden gebruikt als meting met betrekking tot de status van het organisme na een ingreep of voor de studie van de expressie van genen. Daarom is het van belang voor de meting van vorm een exacte vormbeschrijving van het model systeem, zoals de zebravis, te hebben. Bovendien is een voldoende monstergrootte van belang om er zeker van te zijn een evenwichtige en juiste vormanalyse te kunnen doen. Dit laatste is vooral van groot belang voor “high-throughput” analyse van bijvoorbeeld grote hoeveelheden chemische componenten. Alles welbeschouwd, voor superieure prestaties in zebravis (beeld-) analyse is een “high-throughput” imaging systeem nodig.

Om goed met high-throughput imaging te kunnen werken, stellen we ons ten doel een systeem te ontwerpen en te implementeren dat goede prestaties heeft voor “high-throughput” imaging. Voor de kern-operaties is een computationele aanpak nodig waarmee 2D en 3D representaties van de vorm op een precize en snelle wijze kunnen worden verkregen. De kwaliteit van vorm representaties zal worden gevalideerd op een eenvoudige wijze door gebruik te maken van scalaire primitieven, te weten het volume en de oppervlakte van de 3D vorm. Deze primitieven dienen als 3D metingen voor een robuuste eerste inschatting van de vorm voor de karakterisering van het fenotype. Beperking tot alleen het gebruik van vormbeschrijving is niet voldoende; voor beeldvorming op een hogere resolutie, bijvoorbeeld op weefsel- en celniveau, zou ook textuur in aanmerking moeten worden genomen teneinde de vormanalyse te complementeren en verfijnen.

Het onderzoek in dit proefschrift is verdeeld in 5 hoofdstukken met een verschillende onderzoeksfocus, elk hoofdstuk heeft daarmee een eigen onderzoeksvraag. Het omvattende thema dat wordt onderzocht in dit proefschrift is:

## 7. SAMENVATTING

---

*Kunnen we een stabiel systeem voor high-throughput imaging ontwikkelen waarmee op robuuste en accurate wijze vormanalyse voor fenotype karakterisering kan worden uitgevoerd?*

In hoofdstuk 2 ligt de nadruk op methoden waarmee accurate 2D vorm informatie uit microscoopbeelden kan worden verkregen. Voor onze specifieke toepassing komen deze beelden van een high-throughput imaging systeem. Het onderzoeksobject, de zebravis, moet uit deze beelden worden gehaald en dit moet zo precies mogelijk omdat de vorm die uit deze beelden wordt gehaald nodig is voor het construeren van een 3D beeld. Op deze wijze voorzien we in de basis voor snelle en nauwkeurige 3D meting. De methode zal worden ingebed in een, door ons voorgesteld, systeem voor high-throughput axiale beeldvorming. Een hybride segmentatie methode is ontwikkeld dewelke twee benaderingen integreert, (a) het “mean-shift” algoritme en (b) een verbeterde versie van de “level-set” methode. Dit hybride algoritme stelt ons in staat een nauwkeurige 2D beschrijving van het zebravis object te verkrijgen.

In hoofdstuk 3 wordt de 3D-reconstructie van een object vanuit axiale aanzichten uitgewerkt. We onderzoeken een specifieke architectuur voor beeldvorming uit axiale aanzichten en stellen de vraag of nauwkeurige 3D metingen met dit systeem kunnen worden verkregen. Het beeldvormende systeem, de VAST-BioImager, vormt de basis voor de ontwikkeling van een nieuwe vorm-gebaseerde 3D reconstructie methode. We laten zien dat met deze methode nauwkeurige 3D vormbeschrijvingen kunnen worden verkregen op een efficiënte wijze. Van de 3D modellen verkrijgen we metingen voor volume en oppervlakte. Dit is toegepast in een experiment met een grote verzameling zebravis larven van verschillende ontwikkelingsstadia. Voor 3 larvale ontwikkelingsstadia is een statische representatie van de vorm gemaakt uit de 3D metingen van de zebravissen.

In hoofdstuk 4 wordt dezelfde invoer als hoofdstuk 3 gebruikt. Echter, hier richten we ons specifiek op eigenschappen van de objecten die de 3D reconstructie op een directe wijze compliceren. In ons specifieke geval zijn de objecten, de zebravis larven, gedeeltelijk transparant en doorzichtig. Om die reden ontwikkelen we een probabilistische benadering waarbij gebruik gemaakt wordt van probabilistische modellen van de textuur uit het beeld. Op deze wijze zijn we minder beperkt door de nauwkeurigheid van de segmentatie; dit is specifiek het geval bij suboptimale belichtingscondities. Deze nieuwe benadering voor 3D reconstructie uit axiale aanzichten wordt de twee-fase 3D reconstructie genoemd (2-3DLA). De

---

evaluaties laten zien dat de methode goed presteert waarbij wel meer rekentijd nodig is.

De 3D reconstructies zijn initieel gemaakt uit helderveld beelden. In high throughput imaging zijn andere beeldmodaliteiten evenzo belangrijk. Fluorescentie microscopie in het bijzonder, daar dit toestaat specifieke delen van het object te visualiseren. In hoofdstuk 5 besteden we daarom aandacht aan het verder ontwikkelen van het beeldvormende systeem teneinde in staat te zijn 3D reconstructies van verschillende beeldmodaliteiten te verkrijgen en deze te fuseren in een model. We laten dit zien aan de hand van een toepassing waarin de lever van de zebravis wordt gemodelleerd met gebruik van fluorescentie terwijl de gehele vorm wordt gereconstrueerd uit helderveld beelden. Onze resultaten demonstren een multi-modale 3D reconstructie door fusie van 3D modellen op organisme- en orgaanniveau.

Naast strikte vormanalyse onderzoeken we in hoofdstuk 6 de toepassing van classificatie modellen (regressie modellen) met behulp van kernmerken uit beelden van geannoteerde datasets. We stellen ons de vraag of langs deze wijze de kracht van de kenmerken uit de vormanalyse kan worden gevalideerd. In vergelijking met de voorgaande hoofdstukken gebruiken we geheel verschillend materiaal; te weten vier geannoteerde datasets waaronder menselijke gezichten, vlinders, orchideeën en hout. Vanuit de dataset met menselijke gezichten hebben we een grafisch model ontwikkeld voor verwantschapsherkenning van groepen gezichten binnen een beeld. Voor de vlinder-, orchidee- en hout-datasets hebben we een convolutioneel neuraal netwerk (CNN) architectuur, ook wel bekend als “deep learning”, aangepast. Hiermee kunnen we inzicht krijgen in de representatieve kenmerken van de respectievelijke datasets en een classificatie ontwikkelen voor de voorspelling van de taxonomie van de soorten (afgebeeld in het beeld) in de dataset. Voor alle datasets laten we zien dat we met deze aanpak zeer goede resultaten hebben bereikt.

In hoofdstuk 7 sluiten we af met het opsommen van de conclusies uit het onderzoek gepresenteerd in dit proefschrift door het geven van antwoorden op de onderzoeksvragen die we geïntroduceerd hebben in hoofdstuk 1. Vervolgens voorzien we in een evenwichtige discussie van de voorgestelde benaderingen. Tenslotte geven we onze aanbevelingen voor verder onderzoek.

