

# АНАЛИЗ ИЗОБРАЖЕНИЙ СИСТЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

О. С. Нечай, Е.А. Головатая

## МЕТОД FISH

FISH (fluorescence in situ hybridization) – молекулярно-цитогенетический метод для определения наличия или отсутствия последовательностей ДНК в хромосоме. Метод FISH является модификацией детекции нуклеиновых кислот *in situ* с помощью радиоактивной метки; отличие заключается лишь в том, что в методике FISH применяются флуоресцентно меченые зонды. Впоследствии данная методика была модифицирована с целью определения специфических последовательностей молекул ДНК на хромосомах человека с использованием нерадиоактивных ДНК зондов.

FISH метод основан на принципе использования способности одной цепи ДНК специфически гибридизироваться с другой парной цепочкой ДНК. FISH использует короткие ДНК участки (зонды), к которым уже прикреплены флуоресцентные светящиеся маркеры. Зонды связываются комплементарно с тестируемыми участками хромосом.

Визуализацию связавшихся ДНК-зондов проводят при помощи флуоресцентного микроскопа. Во флуоресцентном микроскопе образец облучается светом с соответствующей частотой. Излучение образца, соответственно, пропускается через фильтр, отсекающий свет на частоте возбуждения [2, с. 289–293].

## ВЫДЕЛЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МАРКЕРОВ НА ИЗОБРАЖЕНИИ

### Пороговая обработка

Пороговая обработка – один из наиболее распространенных методов сегментации изображений.

Первым этапом в реализации данного алгоритма производится сглаживание изображения с помощью фильтра Гаусса для удаления побочных максимумов. Далее вычисляется светимость каждого из пикселей по линейному закону для пространства RGB:

$$Y=0.2126R+0.7152G+0.0722B, \quad (1)$$

где R – красная компонента, G – зеленая компонента, B – синяя компонента.

Следующим этапом задаётся пороговое значение светимости. Если значение светимости пикселя больше порога, то этот пиксель включает-

ся в область. Если же значение светимости пикселя меньше порога – пиксель в область не включается. Результаты работы данного алгоритма представлены на рисунке 1 [3, с. 88].

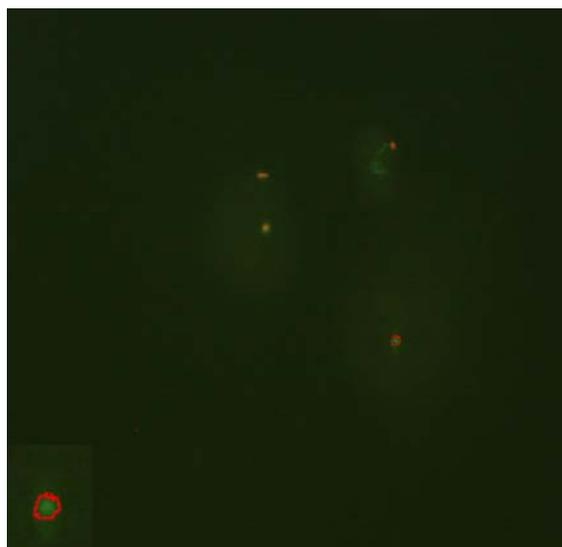
В результате работы алгоритма пороговой обработки нередко с маркером выделяется мусор и иные объекты на изображении, не относящиеся к маркерам.



*Рис. 1.* Результат применения алгоритма пороговой обработки

### **Рекурсивная точечная заливка**

Алгоритм рекурсивной точечной заливки позволяет выделять достаточно однородные области изображения, на которых изменение цвета не очень велико. Результаты применения алгоритма рекурсивной точечной заливки представлены на рисунке 2.



*Рис. 2.* Результат применения рекурсивной точечной заливки

Для применения алгоритма необходимы начальные точки, которые предлагается выбрать как точки локальных максимумов. Присутствие шума на изображениях может дать побочные нежелательные максимумы. Следовательно, на первом этапе алгоритма необходимо устранить побочные максимумы. Этап сглаживания изображения заключается в применении операции свертки по оператору Гауссова размытия.

После проведения операции сглаживания изображения начинается поиск локальных максимумов. Поиск производится по каждому пикселю в соответствии со значениями яркости в 4 соседних пикселях.

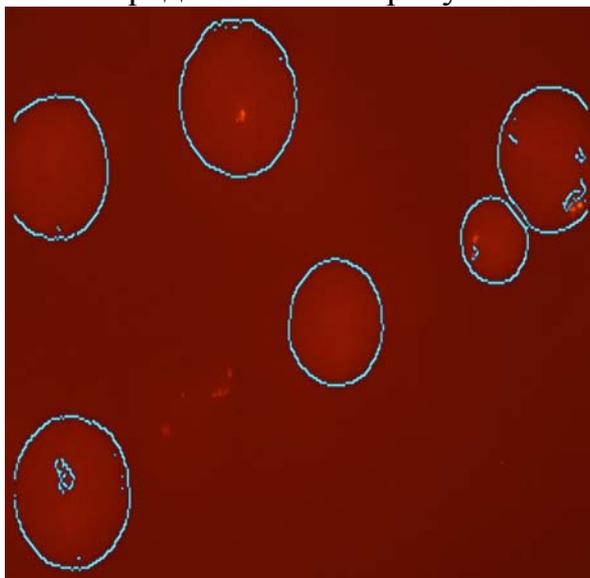
Следующим этапом находится цветовая разность между исходным пикселем и каждым последующим. Далее совершается рекурсивный обход точек вокруг выделенного локального максимума и принимается решение о включении или невключении пикселя в область.

Недостатком работы алгоритма рекурсивной точечной заливки является подбор пороговых значений светимости и цветовой разности вручную.

### **АВТОМАТИЧЕСКОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК НА ИЗОБРАЖЕНИИ**

Для качественного проведения анализа требуется структурная детализация объектов на изображении, а именно необходимо знать, какой клетке принадлежит маркер. Для этого границы клеток выделяются на изображении, где они четко видны, далее изображение с выделенными границами соотносится с изображением с выделенными маркерами.

Наилучшие результаты получены при использовании детектора границ Кэнни. Результаты представлены на рисунке 3.



*Рис. 3 . Результат применения детектора границ Кэнни*

Первый этап алгоритма детектора Кэнни состоит в сглаживании изображения с помощью фильтра Гаусса. Границы отмечаются там, где градиент изображения приобретает максимальное значение. Они могут иметь различное направление, поэтому алгоритм Кэнни использует четыре фильтра для обнаружения горизонтальных, вертикальных и диагональных ребер в размытом изображении. Следующим этапом происходит подавление немаксимумов.

Далее производятся двойная пороговая фильтрация и трассировка областей неоднозначности.

Для проведения одного FISH-анализа требуется изучить большой объем выборки. Выделение границ клеток упрощает задачу доктора, уменьшает время проведения анализа [1, с. 240].

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Выделение флуоресцентных маркеров на изображении, а также выделение границ клеток на изображении значительно упрощает работу над анализом изображений, полученных при проведении FISH-анализа.

Основной проблемой при применении данных алгоритмов является наличие мусора на изображениях, который не позволяет качественно выделить маркеры и проанализировать изображения. Отличием от настоящих маркеров является свечение на изображениях при освещении светом разных длин волн, в то время как маркеры флуоресцируют только при освещении светом определенной длины волны.

## **Литература**

1. *Р.Гонсалес, Р. Вудс, С.Эддинс.* Цифровая обработка изображений в среде MATLAB // Техносфера. 2006. С. 86–246.
2. *И. Ю. Юров, С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров.* – Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты // ИД «Медпрактика – М».2014. С. 289–295.
3. *Tiago Ferreira, Wayne Rasband.* ImageJ User Guide IJ 1.46r // Tuesday 2nd October.2012. С 87–95.

## **МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО ТОКОВЫХ ФЛУКТУАЦИЙ В GAAS**

**И. С. Новиков, В. М. Борздов**

## **ВВЕДЕНИЕ**

Хорошо известно, что основными механизмами токовых флуктуаций являются тепловой шум, дробовой шум, филиккер-шум и телеграфный