

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

СВЕТЛАКОВ

Владислав Игоревич

**РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ЦИФРОВОГО АНАЛИЗА
ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЛЯ СОМЕТ ASSAY РАСТИТЕЛЬНЫХ
КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СВЁРТОЧНЫХ НЕЙРОННЫХ
СЕТЕЙ**

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:

член-корр. НАН Беларуси, д.б.н.

Демидчик В.В.

Допущена к защите

«__» _____ 20__ г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений

кандидат биологических наук, доцент И.В. Смолич

Минск, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

РЕФЕРАТ	3
СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Повреждение ДНК растительных клеток: основные механизмы и вовлечение в физиологические и патофизиологические реакции	9
1.2 Использование искусственных нейронных сетей для анализа изображений в биологии растений.....	15
1.2.1 Принцип работы искусственных нейронных сетей.....	15
1.2.2 Применение нейронных сетей в биологии	29
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования.....	33
2.1 Объект исследования	33
2.2 Культивирование <i>Arabidopsis thaliana</i>	33
2.2 Использование техники замены среды для индукции повреждения ДНК	34
2.3 Использование ультрафиолетового излучения для индукции повреждения ДНК	34
2.4. Детекция двух- и одноцепочечных разрывов ДНК при помощи техники Comet	34
2.5 Анализ изображений электрофореза с применением подходов глубокого обучения.	36
2.5 Статистическая обработка данных.....	38
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	40
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	49
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	50

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 53 с., 28 рис., 48 источников

ARABIDOPSIS THALIANA, СОМЕТ ASSAY, СВЕРТОЧНЫЕ НЕЙРОННЫЕ СЕТИ, АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ МИКРОСКОПИЯ

Объект исследования: корни растения *Arabidopsis thaliana*, выращенного на стерильной гелевой культуре.

Цель: создание и апробирование на примере повреждения ДНК, индуцируемого абиотическими стрессовыми воздействиями, программного пакета для автоматического анализа ДНК-комет на базе свёрточной нейронной сети.

Основные методы исследования: культивирование растений в асептических условиях, методика Comet assay (электрофорез одиночных клеток), автоматизированная флуоресцентная микроскопия, компьютерный анализ изображений с использованием свёрточных нейронных сетей.

В ходе экспериментов была создана компьютерная программа, способная к автоматизированному глубокому анализу изображений электрофореграмм ДНК-комет. Во время тестовой серии экспериментов было определено влияние ультрафиолетового излучения, засоления и тяжелых металлов на стабильность ДНК клеток корня. Анализ полученных результатов происходил в автоматическом режиме созданной программой, результаты по точности сравнимы с анализом человеком-оператором.

Применение автоматизированных подходов позволило не только увеличить скорость обработки и количество анализируемых ДНК-комет, но и минимизировать проблему низкой статистической достоверности, вызванную необъективностью оценки человеком-оператором.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 53 с., 28 мал., 48 крыніц

ARABIDOPSIS THALIANA, COMET ASSAY, ЗВЕРТАЧНЫЯ НЕЙРОННЫЯ СЕТКІ, АЎТАМАТЫЗАВАНАЯ МІКРАСКОПІЯ

Аб'ект даследавання: карані расліны *Arabidopsis thaliana*, вырашчанага на стэрыльнай гелевай культуры.

Мэта: стварэнне і апрабаванне на прыкладзе пашкоджання ДНК, індукіруемага абіятычнымі стрэсавымі ўздзеяннямі, праграмнага пакета для аўтаматычнага аналізу ДНК-камет на базе скруткавай нейронавай сеткі.

Асноўныя метады даследавання: культываванне раслін у асептычных умовах, метадыка Comet assay (электрафарэз адзіночных клетак), аўтаматызаваная флуарэсцэнтная мікраскапія, кампутарны аналіз малюнкаў з выкарыстаннем згортачых нейронавых сетак.

Падчас эксперыментаў была створана кампутарная праграма, здольная да аўтаматызаванага глыбокага аналізу малюнкаў электрафарэграмы ДНК-камет. Падчас тэставай серыі эксперыментаў было вызначана ўплыў ультрафіялетавага выпраменьвання, засалення і цяжкіх металаў на стабільнасць ДНК клетак караня. Аналіз атрыманых вынікаў адбываўся ў аўтаматычным рэжыме створанай праграмай, вынікі па дакладнасці параўнальныя з аналізам чалавекам-аператарам.

Ужыванне аўтаматызаваных падыходаў дазволіла не толькі павялічыць хуткасць апрацоўкі і колькасць аналізаваных ДНК-камет, але і мінімізаваць праблему нізкай статыстычнай дакладнасці, выкліканую неаб'ектыўнасцю ацэнкі чалавекам-аператарам.

ABSTRACT

Graduate work: 53 p., 28 pics, 48 references

ARABIDOPSIS THALIANA, COMET ASSAY, CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORKS, AUTOMATED MICROSCOPY

Object of study: roots of *Arabidopsis thaliana* grown on a sterile gel culture.

Objective: to create and test, using the example of DNA damage induced by abiotic stress, a software package for automatic analysis of DNA comets based on a convolutional neural network.

Main research methods: plant cultivation under aseptic conditions, Comet assay technique (single cell electrophoresis), automated fluorescence microscopy, computer image analysis using convolutional neural networks.

During the experiments, a computer program was created that is capable of automated deep analysis of images of electrophoregrams of DNA comets. During a test series of experiments, the influence of ultraviolet radiation, salinity and heavy metals on the stability of root cell DNA was determined. The analysis of the results obtained was carried out automatically by the created program, the results are comparable in accuracy with the analysis by a human operator.

The use of automated approaches made it possible not only to increase the processing speed and the number of analyzed DNA comets, but also to minimize the problem of low statistical significance caused by the bias of the assessment by the human operator.