



تحلیل هوشمند تصاویر زیست پزشکی

نیم‌سال اول ۰۴-۰۳

مدرس: محمدحسین رهبان

تمرین سوم عملی

طراحی پایپ‌لاین CellProfiler

هدف از انجام این تمرین آشنایی با ابزار CellProfiler است. تحلیل‌های Object بیولوژیکی یکی از پرتکرارترین کارها در آزمایشگاه‌ها است. در این تمرین قصد داریم تا با طراحی یک Pipeline این روند را اتوماتیک کنیم. برخی سلول‌ها بسیار بافت‌دار و توده‌ای هستند. این پایپ‌لاین کمک می‌کند این سلول‌های توده‌ای را شناسایی کرده و اندازه‌گیری‌های مورفولوژیکی، شدت و بافت را به دست آوریم. برای هر نمونه سه عکس مختلف با پسوند های D و F و R داریم. در مجموع سه نمونه مختلف در فولدر images موجود است که مجموعاً شامل ۹ عکس می‌شود. برای شروع ابتدا جدیدترین نسخه این نرم‌افزار را از این [لینک](#) دانلود کنید و سپس مراحل پروژه را به ترتیب انجام دهید.

بخش اول: آماده‌سازی اولیه

۱. ابتدا در نرم‌افزار یک پروژه جدید ایجاد کنید. همان‌طور که مشخص است هر پروژه شامل آماده‌سازی اولیه Images، Metadata، NamesAndTypes و Groups است. در ادامه باید این بخش‌ها را متناسب با نمونه‌ها ویرایش کنید.
۲. Images: همه عکس‌های موجود در فولدر عکس‌ها را در این بخش لود کنید.
۳. Metadata: نیازی به استخراج متادیتا نداریم.
۴. NamesAndTypes: در این قسمت می‌خواهیم به طریق match شدن با rule‌ها به عکس‌های یک نمونه نام اختصاص دهیم. برای این منظور از سه rule مختلف برای سه پسوند مختلف استفاده می‌کنیم. قانون اول به فایل‌هایی که شامل D می‌شوند، اسم OrigBlue اختصاص می‌دهیم. قانون دوم به فایل‌هایی که شامل F می‌شوند، اسم OrigGreen اختصاص می‌دهیم. قانون سوم به فایل‌هایی که شامل R می‌شوند، اسم OrigRed اختصاص می‌دهیم.
۵. Groups: نیازی به گروه کردن عکس‌هایمان نداریم.

بخش دوم: آماده‌سازی پایپ‌لاین

۶. حال باید از سه مازول crop برای سه عکس مختلف استفاده کنیم. ابتدا یک مازول crop در بخش Pipeline، با کلیک راست کردن و انتخاب مازول مرتبطه از بخش Add، اضافه می‌کنیم. این مازول باید روی عکس OrigBlue اعمال شود و اسم خروجی را نیز CropBlue قرار دهید. crop باید بصورت یک مستطیل باشد که پترن کراپ سایکل آن نیز First است. پوزیشن چپ و راست را به ترتیب پیکسل‌های ۵۰۱ و ۷۰۰ و پوزیشن بالا و پایین را به ترتیب ۲۵۱ و ۴۵۰ قرار دهید تا در نهایت یک کراپ ۲۰۰*۲۰۰ داشته باشیم. همچنین پاک کردن سطر و ستون‌های خالی را برای لبه‌ها قرار دهید. سپس دو مازول دیگر کراپ به ترتیب برای OrigGreen و OrigRed قرار دهید و نامشان را CropGreen و CropRed بگذارید. شکل کراپ این دو مازول را بر اساس کراپ قبلی انتخاب کنید و ماسک کراپ را روی CropBlue قرار دهید. تنظیمات پاک کردن سطر و ستون خالی را نیز مانند قبل انتخاب کنید.

۷. در این قسمت ماژول IdentifyPrimaryObjects اضافه کنید. تنظیمات ماژول را روی advanced قرار دهید و عکس ورودی را CropBlue انتخاب کرده و اسم آبجکت primary را Nuclei بگذارید. همچنین متد تشخیص آبجکت و همینطور متد کشیدن خطوط جداکننده را بر اساس shape انتخاب کنید.
۸. در این قسمت ماژول IdentifySecondaryObjects اضافه کنید. عکس ورودی و آبجکت ورودی را به ترتیب روی CropGreen و Nuclei قرار دهید. همچنین اسم آبجکت را Cells بگذارید.
۹. در این قسمت ماژول IdentifyTertiaryObjects اضافه کنید. آبجکت کوچکتر و بزرگتر را به ترتیب Nuclei و Cells قرار دهید. همچنین اسم آبجکت را Cytoplasm بگذارید.
۱۰. در این قسمت ماژول MeasureObjectSizeShape اضافه کنید و هر سه آبجکت قبلی را انتخاب کنید تا اندازه گیری شوند.
۱۱. در این قسمت ماژول MeasureObjectIntensity اضافه کنید و عکس ورودی را CropBlue انتخاب کرده و همه آبجکت ها را برای اندازه گیری انتخاب کنید.
۱۲. در این قسمت ماژول MeasureTexture را اضافه کنید و مانند بخش ۱۱ عکس و آبجکت ها را انتخاب کنید.
۱۳. در این قسمت ماژول MeasureObjectNeighbors اضافه کنید. نوع آبجکت و همچنین آبجکت های همسایه که باید اندازه گیری شود را هر دو Nuclei قرار دهید. همچنین متد تعیین همسایه را بصورت فاصله ی مشخص و به فاصله ۴ بگذارید.
۱۴. در این قسمت ماژول MeasureColocalization اضافه کنید. عکس های ورودی را CropBlue و CropGreen انتخاب کنید. نحوه اندازه گیری هم بستگی را روی حالت Both بگذارید. آبجکتی که باید اندازه گیری شود را Nuclei قرار داده و همچنین متد Costes Thresholding را روی Fast قرار دهید.
۱۵. در این قسمت ماژول MeasureImageIntensity اضافه کنید و عکس ورودی اش را CropBlue قرار دهید.
۱۶. در این قسمت ماژول MeasureImageQuality اضافه کنید. محاسبه معیارها را روی حالت select قرار بدهید و عکس OrigBlue را بعنوان ورودی انتخاب کنید. همچنین دو لیست عکس دیگر اضافه کنید که به ترتیب -Orig و Green و OrigRed را بعنوان ورودی بگیرد.
۱۷. در این قسمت ماژول CalculateMath اضافه کنید. اسم خروجی اندازه گیری را Ratio قرار دهید و operation را روی Divide قرار دهید. نوع اندازه گیری numerator را آبجکت بگذارید و آبجکتش را Nuclei انتخاب کنید. سپس Category را روی Intensity، Measurement را روی MeanIntensity و Image را روی CropBlue قرار دهید. نوع اندازه گیری denominator را مثل قبل تعیین کنید اما Category را روی AreaShape و Measurement را روی Area بگذارید.
۱۸. در این قسمت ماژول ClassifyObjects اضافه کنید. آبجکتی که باید در این ماژول اندازه گیری شود Nuclei است. همچنین Category را روی AreaShape و Measurement را روی Area بگذارید. مقدار Lower threshold را ۳۵۰ و Upper threshold را ۷۰۰ قرار دهید. سپس به هر bin اسم دهید و اسم ها را بترتیب Small، Medium و Large بگذارید.
۱۹. در این قسمت ماژول GrayToColor اضافه کنید. عکس های CropBlue، CropGreen و CropRed را در هر یک از بخش های مرتبطش انتخاب کنید و نام خروجی را RGBImage بگذارید. همچنین نیازی به rescale شدت نداریم.
۲۰. در این قسمت ماژول SaveImages اضافه کنید و عکس RGBImage را برای ذخیره شدن انتخاب کنید. عکس OrigBlue را بعنوان پیشوند نام فایل عکس خروجی انتخاب کنید. همچنین پسوند RGB را برای فایل خروجی اضافه کنید. ذخیره سازی را با فشردن lossless انجام ندهید و محل ذخیره سازی مورد نظرتان را نیز انتخاب کنید.
۲۱. در این قسمت ماژول ExportToSpreadsheet اضافه کنید. محل ذخیره سازی مورد نظرتان را انتخاب کنید. نیاز به اضافه کردن پیشوندی به اسم فایل نیست. اجازه overwrite کردن در ران های مختلف را بدهید. همچنین باید میانگین مقادیر به ازای هر عکس محاسبه شود. نیاز به خروجی گرفتن همه انواع خروجی نیست و فقط دیتای Image، Nuclei، Cells و Cytoplasm نیاز است. پس به ترتیب چهار دیتاست مختلف در این ماژول تعریف کنید که به ترتیب

به نام‌های Image.csv، Nuclei.csv، Cells.csv و Cytoplasm.csv باشند.

بخش سوم: موارد تحویلی

گزارشی از تمام مراحل انجام پروژه بنویسید و همراه با فایل پروژه و خروجی‌های اجرای پایپ‌لاین (شامل سه عکس و چهار فایل CSV) ارسال کنید.

همچنین با توجه خروجی فایل‌های CSVتان به دو سوال زیر در گزارش پروژه جواب دهید:

۱. هر نمونه شامل چند هسته بود؟

۲. AreaShape_Area محاسبه شده سیتوپلاسم آبجکت ۱۰م از هر نمونه را که در فایل CSV موجود است بنویسید.