



پردازش هوشمند تصاویر زیست پزشکی

نیم سال اول ۰۳-۰۲

مدرس: محمدحسین رهبان

تمرین سوم	میکروسکوپ	مهلت ارسال:
-----------	-----------	-------------

- مهلت ارسال پاسخ تا ساعت ۲۳:۵۹ روز مشخص شده است.
- در طول ترم امکان ارسال با تاخیر تمرین ها بدون کسر نمره تا سقف ۱۲ روز وجود دارد. محل بارگزاری جواب تمرین ها بعد از ۴ روز بسته خواهد شد و پس از گذشت این مدت، پاسخ های ارسال شده پذیرفته نخواهند شد.
- توجه داشته باشید که نوت بوک های شما باید قابلیت بازاجرای ۱۰۰ درصد داشته باشند و در صورت نیاز به نصب یک کتابخانه یا دسترسی به یک فایل، مراحل نصب و دانلود (از یک محل عمومی) در نوت بوک وجود داشته باشد.
- هم فکری در انجام تمرین مانعی ندارد، فقط توجه داشته باشید که پاسخ تمرین حتما باید توسط خود شخص نوشته شده باشد. همچنین در صورت هم فکری در هر تمرین، در ابتدای جواب تمرین نام افرادی که با آن ها هم فکری کرده اید را حتما ذکر کنید.
- برای پاسخ به سوالات نظری در صورتی که از برگه خود عکس تهیه می کنید، حتما توجه داشته باشید که تصویر کاملا واضح و خوانا باشد. در صورتی که خوانایی کافی را نداشته باشد، تصحیح نخواهد شد.
- محل بارگذاری سوالات نظری و عملی در هر تمرین مجزا خواهد بود. به منظور بارگذاری بایستی تمارین تئوری در یک فایل زیپ با نام `IABI_Theo_hw[HW-Number]_[First-Name]_[Last-Name]_[Student-Id].zip` و تمارین عملی نیز در یک فایل مجزای زیپ با نام `IABI_Prac_hw[HW-Number]_[First-Name]_[Last-Name]_[Student-Id].zip` بارگذاری شوند.
- در صورت وجود هرگونه ابهام یا مشکل، در کوئرای درس آن مشکل را بیان کنید و از پیغام دادن مستقیم به دستیاران آموزشی خودداری کنید.

بخش تئوری (۷۰ نمره)

۱. سوال اول (۱۰ نمره)

- (آ) تعریف رزولوشن را برای میکروسکوپ ها با استفاده از مفهوم minimum-distance بیان کنید.
- (ب) فرمول مربوط به minimum-distance را بنویسید و توضیح دهید هر کدام از پارامترها به چه نحوی رزولوشن را تحت تاثیر قرار می دهد.
- (ج) برای افزایش رزولوشن کدام پارامترها را می توانیم تغییر دهیم؟ به چه طریقی می توان برای افزایش رزولوشن این پارامترها را تغییر داد؟
- (د) از نوری با فرکانس ۶۰۰ تراهرتز برای تصویربرداری در مدیا یا ضریب شکست ۲.۱ استفاده شده است. نیم زاویه نور ورودی به لنز objective برابر ۳۰ درجه است. حداکثر فاصله ی دو نقطه ی نورانی قابل تمایز در تصویر ثبت شده این میکروسکوپ چقدر است؟

۲. سوال دوم (۱۲ نمره)

- (آ) مبنای کار میکروسکوپ bright-field را توضیح دهید.
(ب) در میکروسکوپ dark-field چگونه از ورود نور مزاحم جلوگیری می‌شود؟
(ج) از میکروسکوپ dark-field برای تصویربرداری در چه کاربردهایی استفاده می‌شود؟
(د) در مورد معایب و محدودیت‌های میکروسکوپ الکترونی تحقیق کرده و یکی از این موارد را توضیح دهید.

۳. سوال سوم (۱۲ نمره)

تحقیق کنید که در هر کدام از موارد زیر استفاده از چه میکروسکوپی مناسب‌تر است. دلیل خود را توضیح دهید.

- (آ) شمارش سلول‌های گلبول قرمز خون
(ب) مشاهده‌ی هاگ‌های قارچ
(پ) تصویربرداری از ویروس کرونا
(ج) مطالعه پروتئین‌های غشایی سلول
(د) مشاهده‌ی کریستال ویتامین‌ها
(ر) تصویربرداری دو بعدی اندامک‌های داخلی و جزئیات سلول از یک نمونه نازک
(ز) تصویربرداری سه بعدی از ساختار سطحی یک نمونه نسبتاً ضخیم و فیکس شده
(و) تصویربرداری سه بعدی سلول‌های یک نمونه زنده و نازک
(ه) مطالعه ساختاری و عملکرد نورون‌های هرمی مغز
(ی) تهیه تصاویر هیستوپاتولوژی از بافت بدن
- Handwritten notes: STEP/element, Bright, TEM, Confocal, STEP, and a large arrow pointing from the list to the right.

۴. سوال چهارم (۱۶ نمره)

با توجه به این مقاله به پرسش‌های زیر پاسخ دهید:

- (آ) منظور از neuron tracing چیست؟
(ب) منظور از خطاهای fiber missing و fiber crossing چیست؟
(ج) روش‌های مبتنی بر Deep Learning چگونه به بهبود الگوریتم‌های حل مسئله‌ی neuron tracing کمک کرده‌اند؟
(د) ارزیابی خروجی متدهای مطرح شده برای neuron tracing با gold standard به کمک متریک‌های فاصله‌ای مشکلی به همراه دارد. ابتدا این مشکل را توضیح داده و بنویسید برای حل این مشکل به سراغ چه متریک‌هایی می‌رویم و این نوع متریک ارزیابی را توضیح دهید.

۵. سوال پنجم (۲۰ نمره)

یکی از دو مقاله‌ی زیر را به دلخواه خود انتخاب کرده و ابتدا به صورت خلاصه در یک یا دو پاراگراف در مورد مسئله‌ای که مقاله در پی حل آن است و همچنین متدی که به کمک آن چالش عنوان شده را حل می‌کند، توضیح داده و سپس به سوالات مربوط به مقاله‌ی انتخابی خود پاسخ دهید.

۱. مقاله اول

- (آ) چه چالش‌هایی در رابطه با robustness در تصویربرداری Annexin-V وجود دارد؟
(ب) به چه علت segment کردن object‌های ریز در تصاویر پزشکی ارزشمند است؟

۲. مقاله دوم

- (آ) چه مزایایی در patch-based بودن روش ارائه شده نسبت به روش‌های tile-based وجود دارد؟
(ب) در این مقاله، یکی از متریک‌های استفاده شده intensity profile است. در مورد این متریک توضیح دهید.

CellProfiler

هدف از انجام این تمرین، آشنایی با ابزار CellProfiler است. تحلیل Object های بیولوژیکی یکی از پرتکرار ترین کارها در آزمایشگاه ها است. در این تمرین قصد داریم تا با طراحی یک PipeLine این روند را اتوماتیک کنیم. یک آزمایشگاه در محله ی ونک بر روی نمونه های خاصی از یک بیماری جدید در حال تحقیقات است. و ما قرار است به کمک دانشمان از نرم افزار CellProfiler این روند را برای آنها اتوماتیک کنیم. از آنجایی که تصاویر محرمانه هستند، این آزمایشگاه تنها یک عکس نمونه و ماسکی از ظرف آزمایششان را در اختیار ما قرار داده اند. در پوشه ی تمرین، این دو عکس برای شما قرار داده شده است. یکی از عکس ها عکس نمونه ی آزمایشی است و عکس دیگر ماسکی از محیطی که قصد بررسی آن در Plate آزمایشی را داریم. برای انجام این کار لطفا دستورات زیر را قدم به قدم انجام داده و از مراحل آن گزارش تهیه کنید.

بخش اول: آماده سازی اولیه

ابتدا جدیدترین نسخه این نرم افزار را از این [لینک](#) دانلود کنید.

۱. پایپ لاین ناقصی که به شما داده شده است را لود کنید.
۲. Images: هر دو عکس داخل پوشه Image را در این نرم افزار لود کنید.
۳. MetaData: در این تمرین نیازی به استخراج MetaData نداریم. لذا نیازی به تغییری در این بخش نداریم.
۴. NameAndType: در بخش NameAndType قصد داریم تا به صورت اتوماتیک تصاویر ماسک و نمونه آزمایشی را از یکدیگر تفکیک و نام گذاری کنیم. فرض کنید تمامی تصاویر نمونه های آزمایشی با عبارت ۱-۶ شروع می شوند و تصاویر ماسک شامل عبارت PlateTemplate هستند. عبارت OrigColor را به تصاویر مربوط به نمونه های آزمایشی و عبارت PlateTemplate را به تصاویر ماسک ها Assign کنید. نوع تصاویر نمونه آزمایشی را ColorImage و نوع تصاویر PlateTemplate را BinaryMask قرار دهید.
۵. Groups: در این تمرین نیازی به گروه بندی تصاویر نداریم. لذا نیازی به تغییر این بخش نداریم.

بخش دوم: آماده سازی PipeLine

۶. به کمک ماژول ColorToGray چنل های تصویر نمونه هایمان را که از نوع RGB هستند را جدا می کنیم و سپس هر چنل را سیاه و سفید می کنیم و سپس هر چنل را نام گذاری می کنیم. نام چنل قرمز را OrigRed ، چنل سبز را OrigGreen و چنل آبی را OrigBlue بگذارید.
۷. از آنجایی که اکثر تصاویر با نور غیریکنواخت در سراسر تصویر گرفته می شوند، اصلاح تصاویر قبل از پردازش بسیار مهم است. سه ماژول CorrectIlluminationCalculate تعریف کنید، یکی برای هر کانال تصویر اصلی (قرمز، سبز و آبی). هدف تولید یک تصویر به نام "illuminationCorrectionFunction" برای هر کانال است که نمایانگر سایه صاف (SmoothShading) در سراسر صفحه است. این تصویر در مرحله بعد از تصویر اصلی کم می شود. نام خروجی ماژول مربوط به چنل قرمز را IllumRed و بقیه را به شکل مشابه قرار دهید. روش این کار را Background قرار داده و BlockSize را ۲۲ بگذارید. نیازی به Rescale کردن نیست و برای Smoothing از روش گوسی اتوماتیک استفاده کنید. نیازی به تغییر بقیه موارد نیست.
۸. در این بخش به کمک یک ماژول CorrectIlluminationApply تصاویر هر چنل را به کمک خروجی های بخش قبل تصحیح می کنیم. کافیت تصویر ورودی را تصاویر بدست آمده از مرحله ۶ و نوع عملیات را Subtract قرار دهید. نام خروجی ماژول مربوط به چنل قرمز را CorrRed و بقیه را به شکل مشابه قرار دهید.

۹. در این بخش نیاز داریم تا به کمک ماژول ImageMath تصاویر مربوط به چنل آبی و سبز را با یکدیگر ترکیب کنیم. نام خروجی این بخش را CombinedImage بگذارید. روش ترکیب را Add قرار داده و حاصل را در مقدار ۰.۵ ضرب کنید. نیازی به تغییر بقیه موارد نیست.
۱۰. ممکن است در بسیاری از عکس ها، مرکز Plate در مرکز تصویر نباشد. به کمک یک ماژول Align می توانیم این کار را انجام بدهیم. قصد داریم تصویر PlateTemplate، تصویر تصحیح شده چنل قرمز و تصویر ترکیب شده از بخش قبل را به کمک این بخش Align کنیم. نحوه Crop کردن تصویر را KeepSize قرار بدهید. تصویر اول را PlateTemplate قرار دهید و خروجی آن را AlignedPlate بنامید. تصویر دوم را CorrRed قرار داده و خروجی را AlignedRed بنامید. تصویر سوم را نیز CombinedImage قرار داده و خروجی را AlignedCombined بنامید. نحوه Alignment را Similarity قرار بدهید.
۱۱. حال که تصویر تصحیح شده چنل قرمز و تصویر ترکیب شده چنل های آبی و سبز، هر دو با تصویر ماسک Align شده اند، قصد داریم تا به کمک تصویر ماسک و دو ماژول MaskImage، ماسک مورد نظر را اعمال کنیم تا بخش هایی از تصویر که خارج از Plate هستند را حذف کنیم. خروجی تصویر AlignedRed را MaskedRedPlate و خروجی تصویر AlignedCombined را MaskedCombined بنامید.
۱۲. حال برای تشخیص Redness هر کلونی در تصویر نیاز داریم تا تصویر ترکیب شده را از تصویر قرمز کم کنیم. این کار را به کمک ماژول ImageMath انجام بدهید. خروجی ماژول را SubtractedRed بنامید و برای تصاویر چنل قرمز و ترکیب شده از خروجی مرحله قبل استفاده کنید. توجه کنید که قصد داریم تا مقادیر منفی را صفر در نظر بگیریم. نیازی به تغییر بقیه موارد نیست.
۱۳. بقیه موارد PipeLine موارد تخصصی هستند که نیازی به تغییر آنها نیست. با اجرا کردن کل ماژول ها، علاوه بر یک تصویر، دو فایل csv نیز ذخیره می شود. لطفاً آن ها را نیز به همراه گزارش خود ارسال کنید.