



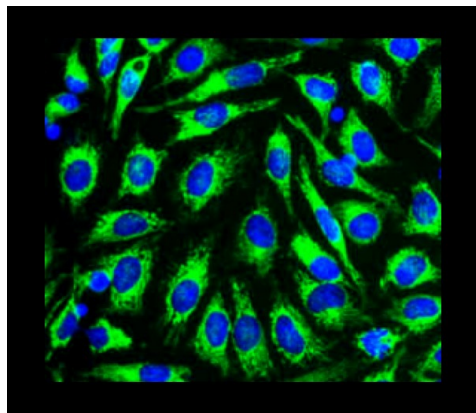
НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ
ЦЕНТР ИНФОХИМИИ

Разработка дополнительного функционала программы Cellrose+ для вычисления интенсивности флуоресценции на изображении

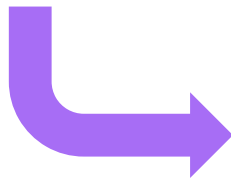
Мещеряков Марк

2025

Cellpose: универсальный алгоритм сегментации клеток

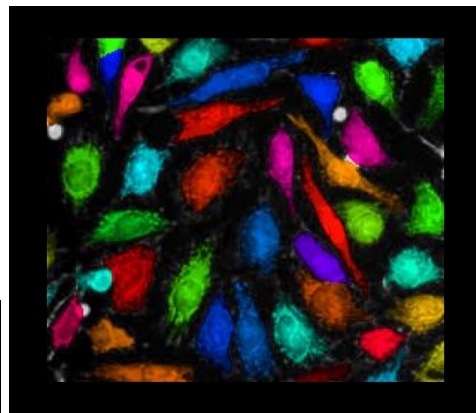
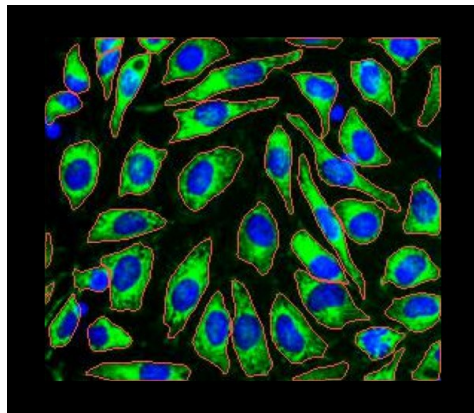


Исходное изображение

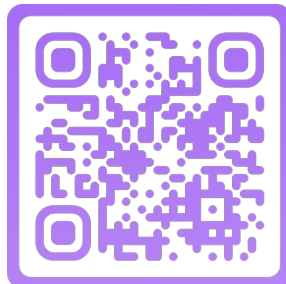


Модель:
Cellpose-SAM

Предсказанные контуры



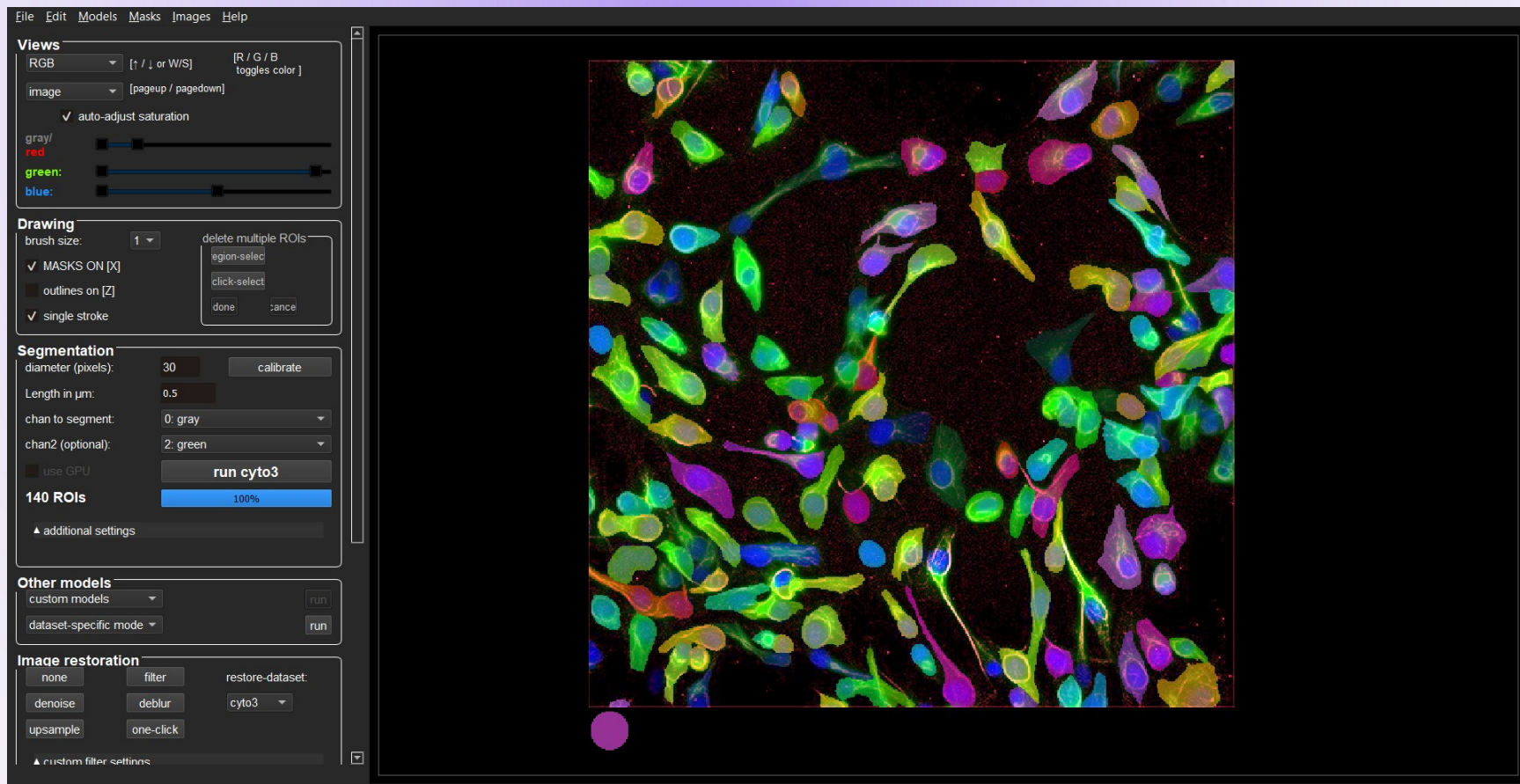
Предсказанные маски



САЙТ CELLPOSE



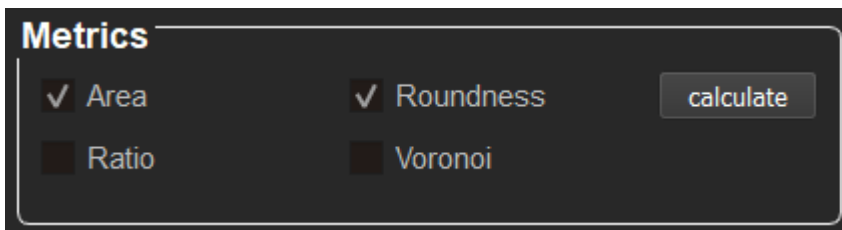
СТАТЬЯ



Графический интерфейс Cellpose

Cellpose+

Выделение морфологических признаков клеток



- Площадь
- Округлость
- Соотношение размеров клеток и ядер
- Доля изображения, занимаемая клетками/ядрами
- Относительные координаты центра
- Диаграмма Вороного
- Энтропия Вороного
- Выпуклая оболочка всех объектов
- Мера непрерывной симметрии (CSM)



СТАТЬЯ



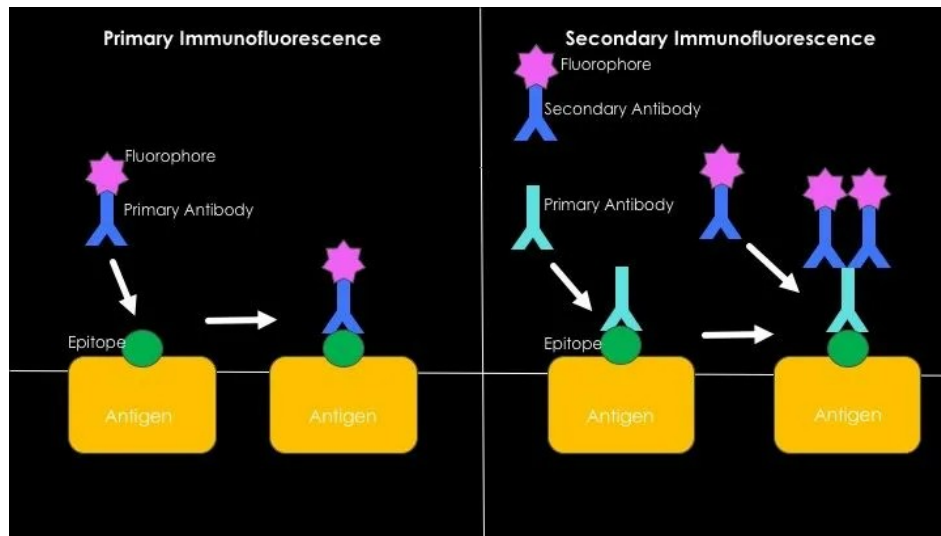
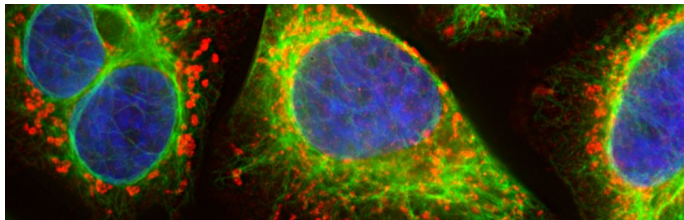
GITHUB

Иммунофлуоресценция

Это метод обнаружения и визуализации специфических молекул, основанный на использовании флуоресцентно меченых антител.

Зачем?

- Определение локализации белков
- Оценка экспрессии белков
- Изучение клеточных процессов



Прямая

Быстро, но не ярко

Непрямая

Дольше, но ярко

По интенсивности флуоресценции можно косвенно оценить количество белка.

На этом остановимся подробнее

Проблемы и решения



Fiji — пакет обработки изображений на основе ImageJ2

Расчет интенсивности флуоресценции с помощью Fiji использовался, например, в статье *“A simple method for quantitating confocal fluorescent images”*

Проблема!

После работы в Cellpose переносить данные для анализа в Fiji долго и неудобно!



САЙТ FIJI



СТАТЬЯ

Матчасть вычислений

В статье “*Fluorescence-based Quantification of Nucleocytoplasmic Transport*” описывается основной способ расчета яркости флуоресценции:

Средняя интенсивность флуоресценции

$$\text{Mean Fluorescence Intensity} = \frac{\text{Total Fluorescence Intensity Measured}}{\text{Number of pixels Measured}}$$



СТАТЬЯ

Простейшее **вычитание фона**:
 $\text{Corrected MFI} = \text{MFI}_{\text{ROI}} - \text{MFI}_{\text{BG}}$

необходимо для **устранения неспецифического сигнала**, обеспечения достоверности измерений и корректного сравнения флуоресцентной интенсивности между клетками и изображениями.

Переформулированная мной формула для матрицы пикселей:

$$\text{MFI}_k^{(c)} = \frac{1}{N_k} \sum_{(i,j) \in R_k} I_{i,j}^{(c)}$$

Где:

- $R_k = \{(i, j) \mid M[i][j] = k\}$ — множество всех пикселей, принадлежащих клетке k , согласно маске сегментации M .
- $N_k = |R_k|$ — количество пикселей, принадлежащих клетке k .
- $I_{i,j}^{(c)}$ — интенсивность пикселя с координатами (i, j) в канале c .

Реализованный функционал

```
background_brightness = 0
if subtract_background:
    background_mask = (mask == 0)
    if np.any(background_mask):
        background_brightness = brightness[background_mask].mean()
    else:
        background_brightness = 0

data = []
center_coords = []
for obj_id in object_ids:
    obj_mask = (mask == obj_id)
    mean_brightness = brightness[obj_mask].mean() - background_brightness
    data.append({'id': obj_id, 'mean_brightness': mean_brightness})

    coords = np.column_stack(np.where(obj_mask))
    center_x = coords[:, 1].mean()
    center_y = coords[:, 0].mean()
    center_coords.append((center_x, center_y))

data = pd.DataFrame(data)
```

Фрагмент исходного кода

Cell brightness

Channel: Green

Source: ☒ Original image ☐ Filtered/restored image

☒ Subtract background

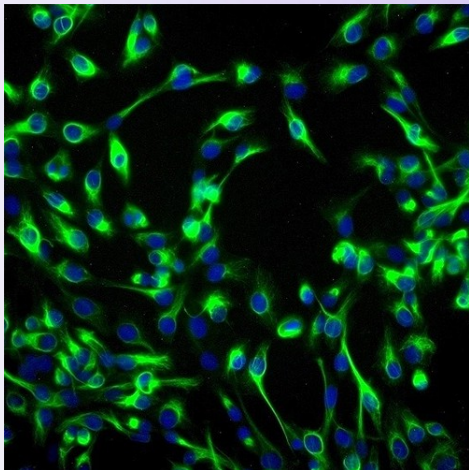
Calculate

Пользователь может:

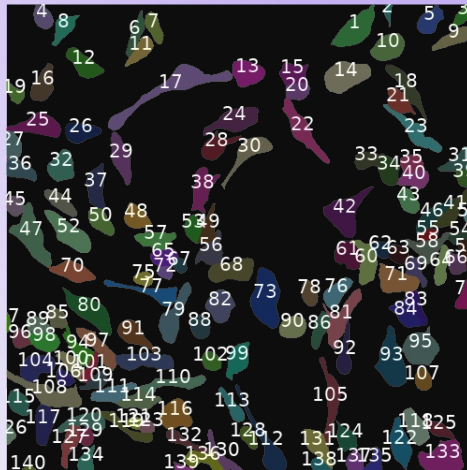
- Выбрать канал
- Указать использовать ли оригинальное изображение или измененное с помощью Cellpose
- Включить/отключить вычитание фона

После запуска

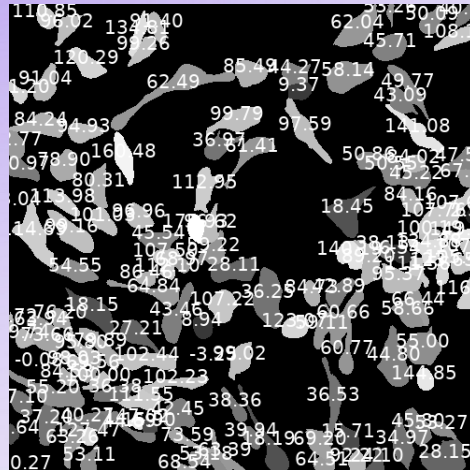
В папке появятся результаты работы алгоритмов



Исходное изображение



Нумерация клеток



Визуализация
яркости клеток

```
id,mean_brightness
1,62.035015
2,53.2617
3,40.732372
4,110.8463
5,50.085087
6,134.81253
7,91.398964
8,96.01937
9,108.191536
10,45.71197
11,99.26447
12,120.291115
13,95.404135
```

CSV-файл со средней
яркостью каждой
клетки

Рост благосостояния общества достигает максимума, когда в обществе создаются условия для реализации всякого проекта, если он ничего не ухудшая, улучшает положение хотя бы одного человека.

Вильфредо Парето

Спасибо за внимание!

ІІТМО

НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ
ЦЕНТР ИНФОХИМИИ

