

طراحی روش جدید محاسبه پهنای متوسط لاین در تصاویر پالس فیلد ژل الکتروفورز جهت آشکارسازی و استخراج لاین

محمد رضایی^۱، دکتر محمود امیری^۲، دکتر پرویز مهاجری^۳، دکتر منصور رضایی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مقاله حاضر روش جدیدی را برای محاسبه پهنای متوسط لاین در تصاویر پالس فیلد ژل الکتروفورز (Pulsed field gel electrophoresis) یا PFGE جهت آشکارسازی و استخراج لاین‌ها نشان داد. اگرچه مطالعاتی پیرامون آشکارسازی لاین‌ها بر اساس پروچکشن- پروفایل (Projection profiles) گزارش شده، اما هنوز یک روش اتوماتیک با خطای کم انجام نگرفته است. پهنای متوسط لاین، مهم‌ترین پارامتر برای انجام اتوماتیک پردازش تصاویر PFGE می‌باشد. این پژوهش با هدف استفاده از روش چگالی طیف توان برای محاسبه پهنای متوسط لاین انجام شد.

روش‌ها: ابتدا بر اساس چگالی طیف توان، پردازش تصاویر PFGE انجام گردید. الگوریتم پیشنهادی با استفاده از ۱۰ تصویر PFGE بهبود داده شد و سپس برای تست از ۲۰ تصویر دیگر استفاده گردید که در مجموع شامل ۳۰۰ لاین بود. تصاویر با استفاده از دستگاه ژل الکتروفورز میدان پالسی مدل Bio-Rad واقع در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تهیه شد.

یافته‌ها: استفاده از روش چگالی طیف توان در مقایسه با روش تقاطع خط افقی، ۹۹/۶ درصد از خطای آشکارسازی مراکز لاین را کاهش می‌دهد.

نتیجه‌گیری: با توجه به این که پارامتر پهنای متوسط لاین در چندین مرحله برای آشکارسازی و استخراج لاین‌ها مورد استفاده قرار گرفت، استفاده از روش چگالی طیف توان می‌تواند فرایند استخراج لاین را بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: چگالی طیف توان، پهنای متوسط لاین، تصاویر (PFGE) Pulsed field gel electrophoresis

ارجاع: رضایی محمد، امیری محمود، مهاجری پرویز، رضایی منصور. طراحی روش جدید محاسبه پهنای متوسط لاین در تصاویر پالس فیلد ژل

الکتروفورز جهت آشکارسازی و استخراج لاین. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۹): ۱۹۶۵-۱۹۷۲

مقدمه

تصاویر PFGE حاوی نوارهای عمودی هستند که به آن‌ها لاین گفته می‌شود. هر لاین شامل گروهی از قطعات DNA می‌باشد که به صورت باندهای افقی و با پهنای ثابتی ظاهر می‌شود (۲). ظهور فن‌آوری تصاویر دیجیتال، روش مستقیمی را برای تهیه تصاویر ژل الکتروفورز در یک فرمت مشخص جهت آنالیز فراهم می‌آورد (۳). تصاویر ژل الکتروفورز دیجیتالی به طور گسترده‌ای برای استخراج اطلاعات ارزشمند از مواد بیولوژیک در بسیاری از کاربردهای زیست‌شناسی مولکولی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). به عنوان مثال، برای یافتن رابطه‌ی بین یک نمونه بیولوژیک ناشناخته و یک گروه

از محدودیت‌های ژل الکتروفورز معمولی، عدم توانایی در جداسازی قطعات بزرگ DNA می‌باشد. در سال ۱۹۸۴ تکنیکی ارایه شد که بر این مشکل غلبه کرد. در این تکنیک با تغییر دادن دوره‌ای جهت جریان الکتریکی، قطعات بزرگ DNA قابل جداسازی شدند. امروزه این تکنیک به ژل الکتروفورز میدان پالسی (PFGE) یا Pulsed field gel electrophoresis مشهور است و یکی از روش‌های رایج به شمار می‌رود. تصاویر PFGE می‌تواند برای تیپ‌بندی و مطالعات اپیدمیولوژیک مورد استفاده قرار گیرد (۱).

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی پزشکی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳- دانشیار، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۴- دانشیار، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات توسعه اجتماعی و ارتقای سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

سیگنال حاصل از پروجکشن - پروفایل و یافتن فاصله‌ی نقاط قطع هر لاین به عنوان پهنای آن و سپس به دست آوردن میانگین مقادیر پهنای تمامی لاین‌ها می‌باشد (۱۱).

با توجه به این که روش مذکور نمی‌تواند تخمین دقیقی از پهنای متوسط لاین به دست آورد، در مطالعه‌ی حاضر روش جدیدی برای محاسبه‌ی پهنای متوسط لاین ارایه گردید که اساس آن، چگالی طیف توان سیگنال حاصل از پروجکشن - پروفایل می‌باشد. اساس کار بدین‌گونه است که پروجکشن - پروفایل بر روی تصویر PFGE انجام می‌گیرد و سپس چگالی طیف توان سیگنال به دست آمده، محاسبه خواهد شد. دومین فرکانسی که دارای چگالی توان بیشتری باشد، به عنوان فرکانس متناظر با پهنای متوسط لاین در نظر گرفته می‌شود. این پژوهش در چهار بخش ارایه شد. در بخش اول نحوه‌ی محاسبه‌ی چگالی طیف توان توضیح داده شد و در بخش دوم نیز پهنای متوسط لاین بر اساس چگالی طیف توان محاسبه گردید. همچنین، برای ارزیابی روش محاسبه‌ی پهنای لاین، الگوریتم آشکارسازی لاین مطابق با فلوجارت نشان داده شده در شکل ۱ انجام گرفت. تصاویر PFGE بر روی پایگاه داده‌ها در بخش سوم ارایه شد.

روش‌ها

الگوریتم آشکارسازی لاین در دو بخش محاسبه‌ی پهنای متوسط لاین و پردازش‌های محلی تصویر انجام می‌شود که در شکل ۱ نشان داده شده است. محاسبه‌ی پهنای متوسط لاین بر اساس چگالی طیف توان بر روی سیگنال پروجکشن - پروفایل به دست آمده از کل تصویر انجام می‌گیرد. سپس، تصویر کلی به تصاویر کوچک تری بخش‌بندی می‌شوند تا مراکز لاین‌ها در هر زیرتصویر مشخص گردد. پیش از انجام هر یک از مراحل با استفاده از یک فیلتر میانه‌ی تطبیقی (۱۴-۱۲)، نویز سیگنال برطرف می‌شود. در شکل ۱ نمای کلی پردازش و نحوه‌ی استفاده از پارامتر پهنای متوسط لاین آمده است.

۱- تخمین چگالی طیف توان

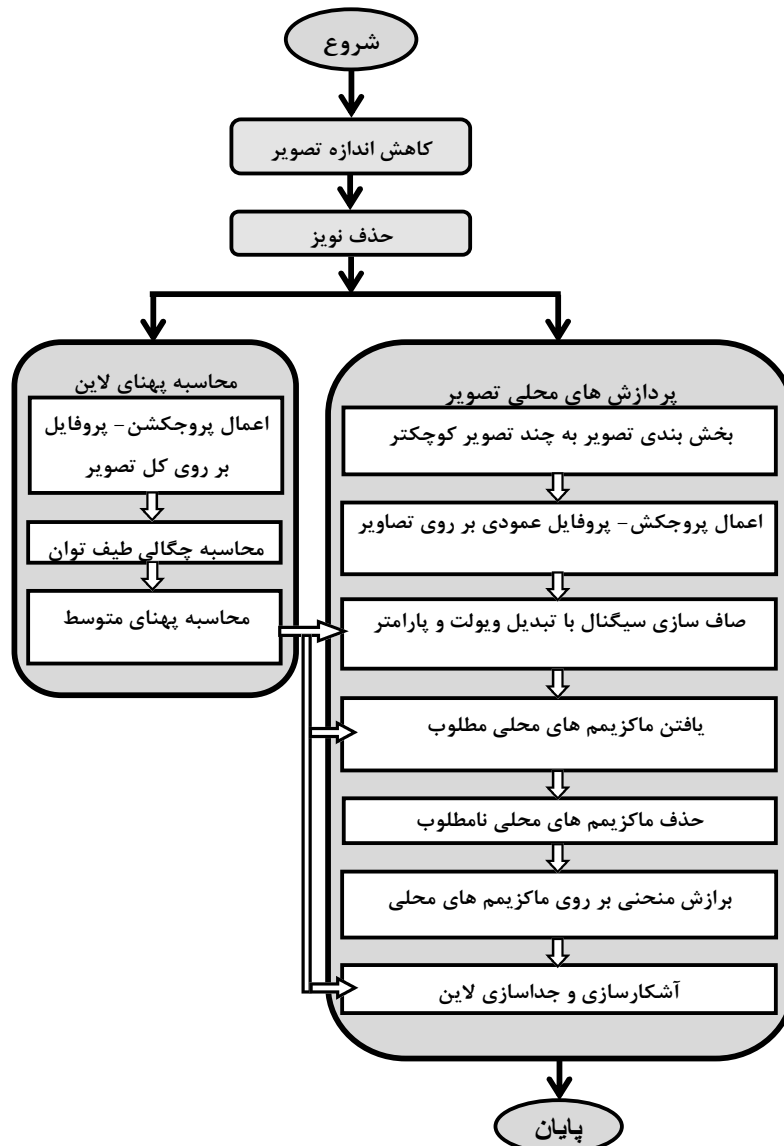
تخمین چگالی طیف توان یکی از روش‌های تعیین فرکانس‌های یک سیگنال می‌باشد. به طور کلی می‌توان مقیاس تغییرات فضایی را با بررسی تغییرات در میدان فرکانس و با استفاده از تحلیل سری‌های زمانی مشخص کرد. استفاده از تبدیل Fourier، روش استاندارد برای تحلیل این سری‌ها است. از آنجا که یک سری زمانی می‌تواند هم در یک میدان فیزیکی (زمان - مکان) و هم در میدان فرکانس به صورت یک طیف مورد بررسی قرار گیرد، با استفاده از تبدیل Fourier می‌توان داده‌های مکانی از حوزه‌ی فضا را به حوزه‌ی فرکانس انتقال داد (۱۵). در این مطالعه از ضرایب تبدیل Fourierی سریع (۱۶) برای تخمین چگالی طیف توان استفاده شد.

بیولوژیک شناخته شده، الگوی DNA آن‌ها مقایسه می‌گردد (۲). به هر حال، آنالیز و ارزیابی دستی تصاویر کار یکنواخت و خسته کننده‌ای است و خطای انسانی را به همراه دارد (۵-۶).

امروزه پردازش و آنالیز این تصاویر با استفاده از کامپیوتر صورت می‌گیرد (۳). از جمله کارهایی که می‌توان انجام داد، فرایند استخراج لاین و مکان‌یابی باندهای هر لاین می‌باشد. عوامل متعددی مانند بار الکتریکی ذرات، دما و pH محیط روی کیفیت تصویر ایجاد شده تأثیر می‌گذارند. بنابراین، لازم است پردازش‌های صحیحی روی تصاویر انجام شود تا فرایند استخراج لاین و مکان‌یابی باندها به درستی صورت گیرد. توجه به این نکته ضروری است که هدف اصلی از پردازش و آنالیز این تصاویر، مکان‌یابی باندها و مقایسه‌ی لاین‌ها بر اساس مکان باندها می‌باشد؛ اما برای این هدف لازم است ابتدا لاین‌ها از تصویر استخراج شود و در نهایت پردازش و آنالیز به صورت جداگانه برای هر لاین صورت گیرد. از آنجا که تصاویر PFGE مانند تصاویر ژل الکتروفورز PCR (Polymerase chain reaction) می‌باشد، می‌توان از مطالعات انجام شده بر روی این دسته از تصاویر نیز بهره‌مند شد. بنابراین، روش‌های متعددی برای حل مشکل آنالیز بصری که زمان‌بر و نادرست بود، پیشنهاد گردید (۷).

اولین مرحله از پردازش تصاویر PFGE، آشکارسازی و استخراج لاین می‌باشد که به آن ردیابی لاین گفته می‌شود (۸). با توجه به این که میزان صحت مرحله‌ی آشکارسازی باند، به طور کامل وابسته به میزان صحت این مرحله می‌باشد، ضروری است از تکنیک‌هایی که باعث بهبودی فرایند آشکارسازی لاین می‌شود، استفاده گردد. در تحقیقات اکبری و همکاران (۷) و Wong و همکاران (۸) روش نیمه‌خودکار آشکارسازی لاین ارایه شد. در این روش‌ها، کاربر باید تعداد لاین‌های موجود در تصویر را به صورت دستی وارد کند. در این میان، نرم‌افزاری تجاری نیز طراحی گردید (۳). با مشخص شدن تعداد لاین‌ها می‌توان تخمینی از پهنای متوسط آن‌ها داشت که برای انجام مراحل بعدی آشکارسازی لاین مانند صاف‌سازی سیگنال، حذف مراکز نامطلوب آشکار شده‌ی لاین‌ها و اتصال مراکز هر لاین در تمام زیرتصویرها بسیار ضروری می‌باشد. اغلب روش‌های اتوماتیک پیشنهاد شده برای آشکارسازی لاین بر اساس پروجکشن - پروفایل (Projection profiles) بر روی محور x ارایه شده است (۹).

جهت صاف‌سازی سیگنال حاصل از پروجکشن - پروفایل، می‌توان از تبدیل موجک (Wavelet) استفاده کرد (۱۰). برای انتخاب مناسب پارامترهای موجک نیز ضروری است که از پارامتر پهنای متوسط لاین استفاده گردد. یکی از روش‌هایی که تاکنون برای تخمین پهنای متوسط لاین استفاده شده است، تقاطع دادن یک خط افقی با



شکل ۱. نمای الگوریتم پیشنهاد شده برای آشکارسازی و استخراج لاین

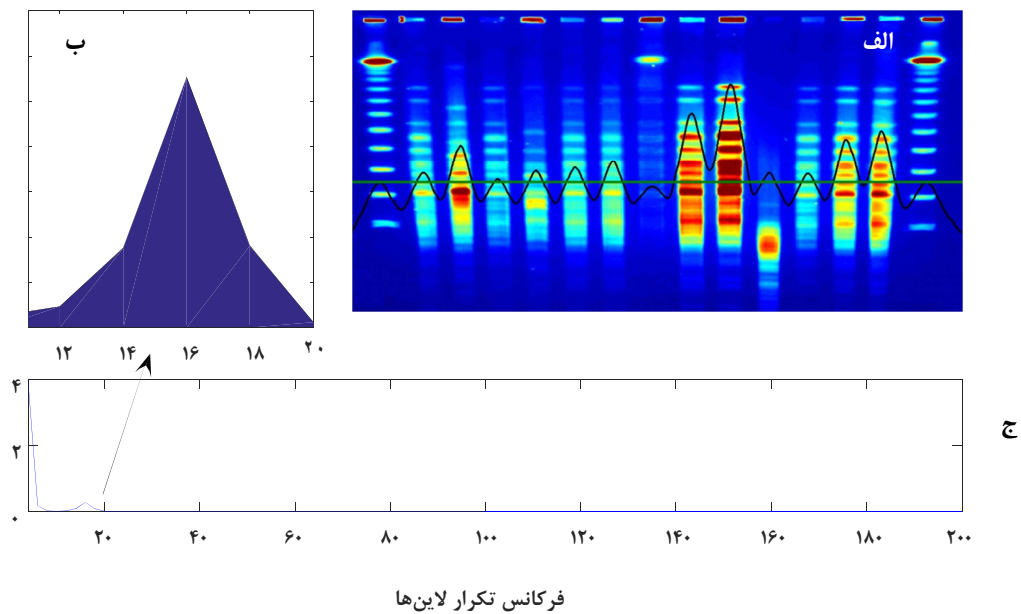
۲- محاسبه‌ی پهنای متوسط لاین

به دست آمده محاسبه شد (شکل ۲، قسمت ب). دو فرکانس اصلی به صورت چگالی طیف توان ظاهر شد. اولین فرکانس که دارای توان بیشتری می‌باشد، مربوط به پس زمینه و فرکانس دوم، نشان دهنده‌ی پهنای لاین‌ها است (شکل ۲، قسمت ج). هرچه فرکانس مربوط بزرگ تر باشد، پهنای لاین کم تر خواهد بود. بنابراین، پهنای لاین رابطه‌ی معکوسی با فرکانس آشکار شده دارد که معادله‌ی آن در ادامه آمده است.

$$w = \frac{1}{f} * (\text{length of projection profiles}) \quad (1) \text{ معادله‌ی ۱}$$

در معادله‌ی ۱، w پهنای لاین و f فرکانس آشکار شده می‌باشد.

پروجکشن- پروفایل روی محور x تخمینی از پهنای لاین‌ها را فراهم می‌کند. پروجکشن- پروفایل همان تبدیل اطلاعات دو بعدی به اطلاعات تک بعدی می‌باشد. در این مطالعه شدت پیکسل‌های هر ستون از تصویر با یکدیگر جمع می‌شود و سیگنالی با تعداد نمونه‌های برابر و تعداد ستون‌های تصویر ارایه می‌دهد. در تصاویر PFGE مقادیر سیگنال حاصل از پروجکشن- پروفایل در طول لاین‌ها بزرگ تر از مقادیر آن در طول فواصل بین دو لاین است. دلیل آن هم وجود باندهایی در لاین‌ها می‌باشد که دارای مقادیر شدت پیکسل بیشتری هستند (شکل ۲، قسمت الف). بنابراین، ابتدا سیگنال پروجکشن- پروفایل صاف سازی و سپس چگالی طیف توان سیگنال



شکل ۲. نحوه‌ی محاسبه‌ی پهنای متوسط لاین با روش چگالی طیف توان

قسمت الف: نمای PFGE (Pulsed field gel electrophoresis) همراه سیگنال پروجکشن- پروفایل و خط افقی مورد استفاده در روش تقاطع خط افقی، قسمت ب: سیگنال چگالی طیف توان مربوط به سیگنال پروجکشن- پروفایل و قسمت ج: بزرگنمایی چگالی طیف توان سیگنال پروجکشن- پروفایل در ناحیه‌ی فرکانسی متناظر با پهنای متوسط لاین

برای انتخاب بهینه‌ی پارامترهای موجک لازم است که از مقدار پهنای متوسط لاین استفاده شود. در مرحله‌ی بعدی، مراکز لاین واقع در موقعیت مشابه دسته‌بندی می‌شوند. قابل توجه است که دقت بودن مقدار پهنای متوسط لاین در این مرحله، باعث کاهش خطا در آشکارسازی لاین خواهد شد.

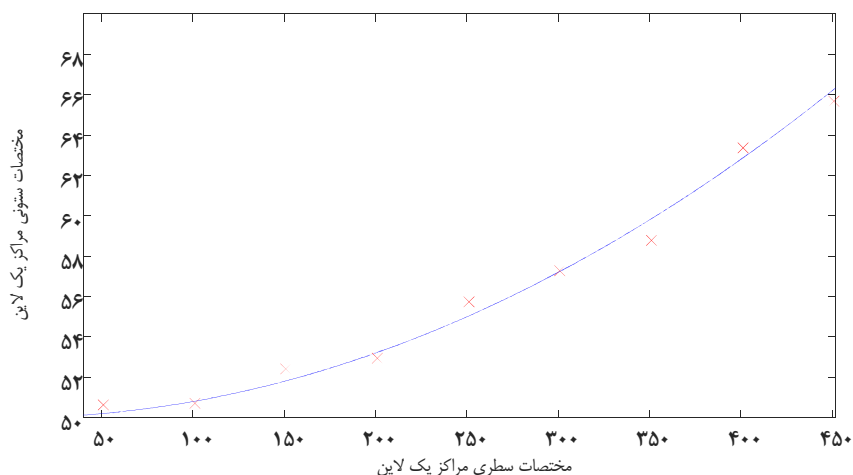
همان گونه که پیش تر گفته شد، برای شناسایی مراکز لاین، از مقدار پهنای متوسط استفاده شد. این تکنیک تا حدودی باعث حذف مراکز لاین کاذب می‌شود. علاوه بر این، از برازش مسیر آشکار شده برای لاین‌ها نیز جهت کاهش خطا استفاده گردید (شکل ۳). بدین منظور مراکز لاین واقع در یک موقعیت عمودی مشابه، در یک بردار و تمامی بردارهای ایجاد شده در یک ماتریس سلولی ذخیره می‌گردد. دلیل این که به جای استفاده از یک ماتریس دو بعدی، از یک بردار و یک ماتریس سلولی استفاده شد، این است که احتمال دارد تعداد مراکز لاین آشکار شده‌ی هر لاین با یکدیگر متفاوت باشد. بعد از ایجاد ماتریس مورد نظر و با استفاده از کد برنامه‌ای، مسیر تمام لاین‌ها برازش گردید و در نهایت با استفاده از تابع به دست آمده، مسیر لاین در طول هر لاین شبیه سازی گردید. حال با استفاده از مسیر شبیه سازی شده، لاین مورد نظر از تصویر اصلی استخراج شد.

۳- پردازش محلی تصاویر

بعد از این که پهنای لاین‌ها مشخص شد، پردازش‌های بعدی به صورت محلی بر روی تصویر انجام می‌شود که شامل چند مرحله است. ابتدا تصویر به چند زیرتصویر با پهنای مشخص، بخش بندی و سپس حداکثرهای محلی سیگنال گرفته شده‌ی هر یک از زیرتصاویر محاسبه می‌گردد. برای جلوگیری از آشکارسازی حداکثرهای نامطلوب محلی، کد برنامه‌ای با قابلیت آشکارسازی حداکثرها و با در نظر گرفتن پهنای قله‌ها و شیب قله مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین، با استفاده از این روش، حداکثرهای محلی که مربوط به قله‌های دارای اختلاف پهنای زیاد با پهنای متوسط لاین‌ها باشد، آشکار نمی‌شود. سرانجام با برازش منحنی مراکز لاین واقع در موقعیت عمودی مشابه، مسیر هر لاین آشکار می‌شود.

آشکارسازی مراکز لاین در هر زیرتصویر بر اساس سیگنال

پروجکشن- پروفایل: در این مرحله، مراکز لاین‌ها در تمامی زیرتصاویرها به دست می‌آید. بدین منظور، ابتدا با استفاده از تبدیل موجک (۱۷)، سیگنال حاصل از پروجکشن- پروفایل در هر زیرتصویر پیش پردازش می‌شود و سپس با استفاده از کد برنامه‌ی آشکارسازی حداکثرهای محلی، مراکز لاین‌ها محاسبه خواهد شد. در مطالعه‌ی حاضر از تبدیل موجک ۷ دسی‌بل با ۶ سطح استفاده گردید.



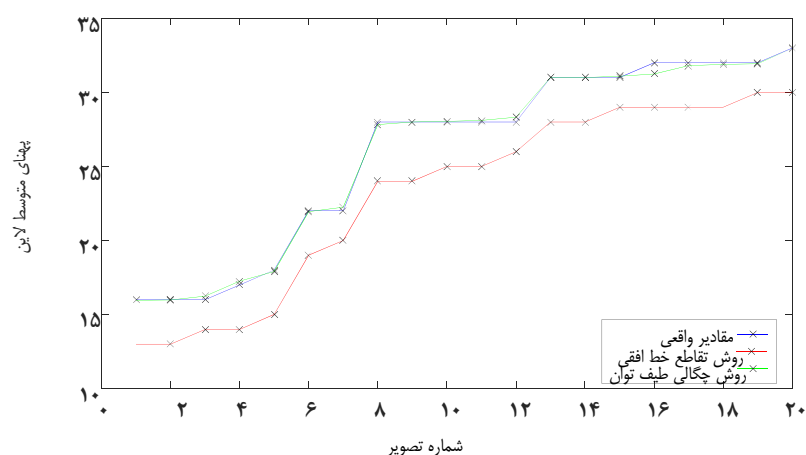
شکل ۳. مراکز آشکار شده‌ی یک لاین استخراج شده از تصویر PFGE (Pulsed field gel electrophoresis) و برازش منحنی مراکز به دست آمده نقاط قرمز رنگ، مراکز آشکار شده‌ی هر زیر تصویر است که با مقداری خطا آشکار شده‌اند و برازش منحنی باعث کاهش این خطا می‌شود.

۴- مواد

برای تست الگوریتم طراحی شده، از ۳۰ تصویر PFGE که در مجموع شامل ۴۵۰ لاین بود، استفاده شد. تمام تصاویر با استفاده از دستگاه PFGE مدل BIO-RAD واقع در آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تهیه گردید. تصاویر با فرمت TIF و در اندازه ی 500×500 پیکسل ذخیره شد. تعداد لاین در هر تصویر از ۱۴ تا ۱۸ لاین متغیر بود. ۳۰ تصویر (۱۰ تصویر برای آموزش و ۲۰ تصویر برای تست) به صورت تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، همه‌ی الگوریتم‌های طراحی شده در نرم‌افزار Matlab نسخه‌ی R2010a پیاده‌سازی و اجرا گردید.

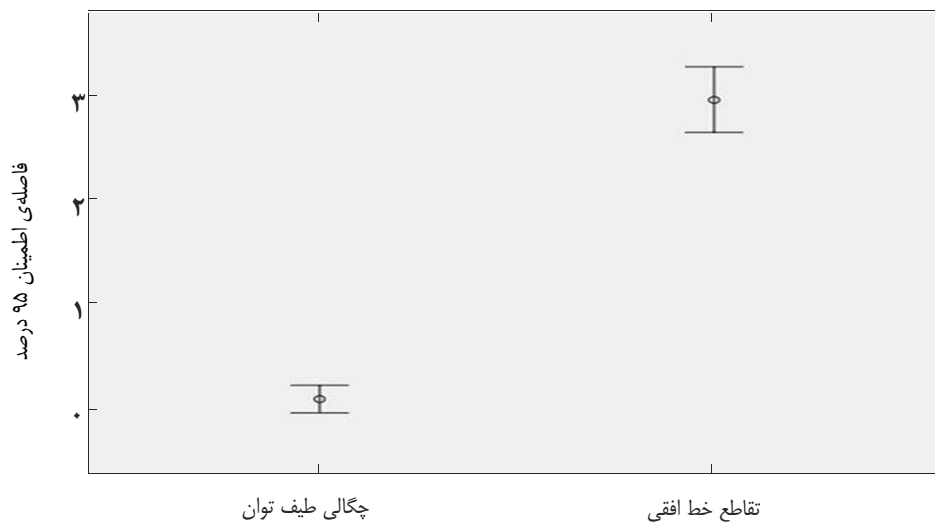
یافته‌ها

الگوریتم پردازشی در دو حالت بر روی تصاویر اجرا شد. در حالت اول از روش تقاطع خط افقی با سیگنال حاصل از پروجکشن-پروفایل و میانگین گیری از مقادیر پهنای به دست آمده از هر لاین و در حالت دوم از روش چگالی طیف توان که در مطالعه‌ی حاضر طراحی شد، استفاده گردید. در دو حالت مورد نظر، مقدار پهنای متوسط لاین برای تمامی تصاویر محاسبه و با مقدار واقعی آن‌ها مقایسه شد. جهت ارزیابی الگوریتم‌ها و محاسبه‌ی خطای هر یک از روش‌ها، روش میانگین مربعات خطا مورد استفاده قرار گرفت (۱۸). در شکل ۴ نتایج این بخش از الگوریتم ارائه شده است.



شکل ۴. پهنای متوسط لاین در ۲۰ تصویر PFGE (Pulsed field gel electrophoresis) با تعداد لاین متفاوت

خط آبی رنگ مربوط به پهنای متوسط و واقعی لاین و خط سبز رنگ پهنای متوسط لاین در تصاویر را نشان می‌دهد که با استفاده از روش الگوریتم پیشنهادی محاسبه شد. همچنین، خط قرمز رنگ پهنای متوسط لاین به دست آمده با استفاده از روش تقاطع خط افقی در ۲۰ تصویر PFGE را نشان می‌دهد.



شکل ۵. فاصله‌ی اطمینان میانگین اختلاف مقادیر پهنای متوسط لاین در دو روش چگالی طیف توان و تقاطع خط افقی با مقادیر واقعی پهنای لاین

طراحی و تست گردید. الگوریتم‌های پیشنهاد شده‌ی این پژوهش چند ویژگی منحصر به فرد داشت که در ادامه به آن‌ها اشاره شده است. با توجه به کاربرد گسترده‌ی موجک در صاف‌سازی سیگنال، در مطالعه‌ی حاضر نیز با استفاده از تبدیل موجک، سیگنال پروجکشن-پروفایل صاف‌سازی شد. بدین منظور از پارامتر پهنای متوسط لاین‌ها جهت انتخاب بهینه‌ی پارامترهای موجک مورد نظر استفاده گردید. پیش‌تر از روش میانگین‌گیری برای صاف‌سازی استفاده می‌شد (۷). در تحقیق Park و همکاران به منظور انتخاب مناسب پنجره‌ی میانگین‌گیری، پارامتر پهنای متوسط لاین‌ها مورد استفاده قرار گرفت (۱۱). تشخیص دقیق این پارامتر در این مرحله حایز اهمیت است. اگر بنا به هر دلیلی محاسبه‌ی این پارامتر همراه با خطای زیاد باشد، تعدادی از حداکثرهای مطلوب محلی سیگنال پروجکشن-پروفایل در حین صاف‌سازی از بین خواهند رفت. با توجه به این که مراکز لاین‌ها در هر زیرتصویر متناظر با حداکثرهای محلی هستند، عدم آشکارسازی آن‌ها باعث آشکارسازی غیر صحیح لاین‌ها خواهد شد. در مطالعه‌ی Park و همکاران برای محاسبه‌ی متوسط پهنای لاین از روش تقاطع یک خط افقی و موازی با محور X سیگنال پروجکشن-پروفایل استفاده گردید (۱۱). خط افقی سبز رنگ (شکل ۲) چگونگی این کار را نشان می‌دهد. با توجه به این شکل مشخص خواهد شد که با وجود اعمال خط افقی در مناسب‌ترین مختصات، پهنای واقعی برخی از لاین‌ها با خطای زیادی محاسبه می‌شود که دلیل آن، ارتفاع غیر یکسان قله‌ها و عدم تقاطع خط افقی با پهنای میانی قله‌ها می‌باشد. در الگوریتم پیشنهاد شده‌ی مطالعه‌ی حاضر، از تکنیک چگالی طیف توان استفاده شد. از آن جا که طیف توان به دست آمده در ناحیه‌ی فرکانسی متناظر

همان‌گونه که در شکل ۵ نشان داده شده است، مقادیر پهنای متوسط لاین به دست آمده از روش تقاطع خط افقی با مقادیر واقعی آن اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/001$)؛ در حالی که بین مقادیر در روش چگالی طیف توان با مقادیر واقعی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P < 0/062$). همچنین، فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد روش تقاطع خط افقی، $3/16-2/54$ و فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد روش چگالی طیف توان، $0/12-0/14$ بود. با توجه به این که میانگین خطای به دست آمده از روش چگالی طیف توان و تقاطع خط افقی به ترتیب برابر با $0/011$ و $2/85$ بود، می‌توان گفت که روش پیشنهادی ما، $99/6$ درصد خطای ناشی از روش تقاطع خط افقی با سیگنال پروجکشن-پروفایل را کاهش داد.

بحث

از آن جا که امروزه از کامپیوتر برای پردازش تصاویر PFGE به صورت گسترده استفاده می‌شود، اعمال فرایندهای پردازشی صحیح و دقیق در مراحل مختلف پردازش به منظور آنالیز تصاویر PFGE از اهمیت بالایی برخوردار است. اولین مرحله‌ی پردازش، آشکارسازی و استخراج لاین‌ها می‌باشد. دقت تمام مراحل بعدی پردازش، به انجام صحیح این مرحله وابسته است. تاکنون، مشهورترین روش برای آشکارسازی لاین‌ها، استفاده از پروجکشن-پروفایل روی محورهای X و Y بوده است (۹، ۷). با توجه به این که شرایط آزمایشگاهی مانند دما، pH محیط و حتی بار الکتریکی ذرات می‌توانند بر کیفیت تصاویر PFGE تأثیر بگذارند و باعث ایجاد انحنای آن شوند، در مطالعه‌ی حاضر الگوریتم‌هایی به منظور آشکارسازی و استخراج لاین‌های دارای انحنای

لاین ارایه می‌دهد. همچنین، مقادیر P نشان می‌دهد که این روش در مقایسه با روش تقاطع خط افقی جایگزین خوبی برای مقادیر واقعی پهنای لاین می‌باشد. از آنجا که آشکارسازی صحیح لاین برای انجام صحیح فرایند کلی پردازش تصاویر PFGE ضروری و دارای اهمیت فراوانی است، استفاده از الگوریتم پیشنهاد شده‌ی این مطالعه می‌تواند باعث بهبود فرایند استخراج لاین گردد. همچنین، با توجه به این که ماهیت پردازشی تصاویر ژل الکتروفورز یکسان می‌باشد، می‌توان از این الگوریتم برای پردازش انواع دیگر PFGE مانند ژل الکتروفورز میدان متعامد، ژل الکتروفورز میدان معکوس شونده، ژل الکتروفورز میدان متغیر عرضی و موارد دیگر استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به جهت حمایت مالی تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند. مقاله‌ی حاضر حاصل پایان‌نامه‌ی دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد بود که به صورت طرح تحقیقاتی با شماره‌ی ثبت ۹۳۲۴۶ در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تصویب گردید.

با پهنای متوسط لاین‌ها بعد از فرکانس مربوط به پس‌زمینه، دارای بیشترین چگالی است، آشکارسازی این فرکانس تخمین خوبی از پهنای متوسط لاین‌ها ارایه داد؛ به گونه‌ای که ۹۹/۶ درصد از خطای روش استفاده شده در تحقیق Park و همکاران (۱۱) را کاهش داد. همان‌گونه که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، می‌توان گفت که علاوه بر وجود اختلاف معنی‌دار روش تقاطع خط افقی با مقادیر واقعی، روش طیف توان اختلاف معنی‌داری با مقادیر واقعی ندارد. بنابراین، می‌تواند جایگزین خوبی برای مقادیر واقعی باشد. از پارامتر پهنای متوسط لاین علاوه بر صاف سازی سیگنال، در حذف مراکز لاینی که به اشتباه آشکار شده بودند و همچنین، تشخیص مراکز لاین مربوط به یک لاین خاص نیز استفاده شد که به طور طبیعی در این مراحل نیز منجر به افزایش کارایی الگوریتم گردید.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، می‌توان گفت که چگالی طیف توان سیگنال حاصل از پروچکشن-پروفایل تصاویر PFGE تخمین خوبی نسبت به سایر روش‌ها از پارامتر پهنای متوسط

References

- Birren B, Lai E. Pulsed field gel electrophoresis: A practical guide. San Diego, CA: Academic Press; 1993.
- Hoelzel AR, Dover GA. Molecular genetic ecology: In focus. Oxford, UK: Oxford University Press; 1992.
- Pizzonia J. Electrophoresis gel image processing and analysis using the KODAK 1D software. *Biotechniques* 2001; 30(6): 1316-20.
- Maramis C, Delopoulos A. Efficient quantitative information extraction from PCR-RFLP gel electrophoresis images. *Proceedings of 20th International Conference on Pattern Recognition (ICPR)*; 2010 Aug 23-26; Istanbul, Turkey.
- Blatter A, Reich E. Qualitative and quantitative HPTLC methods for quality control of *Stephania tetrandra*. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2005; 27(13): 2087-100.
- Schibli A, Reich E. Modern TLC: A key technique for identification and quality control of botanicals and dietary supplements. *JPC J Planar Chromatogr Mod TLC* 2005; 18(101): 34-8.
- Akbari A, Albrechtsen F, Jakobsen KS. Automatic lane detection and separation in one dimensional gel images using continuous wavelet transform. *Anal Methods* 2010; 2(9): 1360-71.
- Wong RTF, Flibotte S, Corbett R, Saeedi P, Jones SJM, Marra MA, et al. LaneRuler: automated lane tracking for DNA electrophoresis gel images. *Automation Science and Engineering, IEEE Transactions on* 2010; 7(3): 706-8.
- Sousa AV, Aguiar R, Mendonca A, Campilho A. Automatic lane and band detection in images of thin layer chromatography. In: Campilho A, Kamel M, editors. *Image analysis and recognition*. New York, NY: Springer; 2004. p. 158-65.
- Machado AMC, Campos MFM, Siqueira AM, de Carvalho OSF. An iterative algorithm for segmenting lanes in gel electrophoresis images. *Proceedings X Brazilian Symposium on Computer Graphics and Image Processing*; 1997 Oct 14-17; Campos do Jordao, Brazil. p. 140-6.
- Park SC, Na IS, Han TH, Kim SH, Lee GS. Lane detection and tracking in PCR gel electrophoresis images. *Comput Electron Agr* 2012; 83: 85-91.
- Dhanasekaran D, Bagan KB. High speed pipelined architecture for adaptive median filter. *European Journal of Scientific Research* 2009; 29(4): 454-60.
- Wheelock AM, Buckpitt AR. Software-induced variance in two-dimensional gel electrophoresis image analysis. *Electrophoresis* 2005; 26(23): 4508-20.
- Kaczmarek K, Walczak B, de Jong S, Vandeginste BG. Preprocessing of two-dimensional gel electrophoresis images. *Proteomics* 2004; 4(8): 2377-89.
- Otnes RK, Enochson L, Maqusi M. *Applied time series analysis*. vol. 1. New York, NY: Wiley; 1978. p. 449.
- Stoica P, Moses RL. *Introduction to spectral analysis*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall; 1997.
- Chui CK. *An introduction to wavelets*. San Diego, CA: Academic Press; 1992.
- Chai T, Draxler R. Root mean square error (RMSE) or mean absolute error (MAE)? Arguments against avoiding RMSE in the literature. *Geosci. Model Dev* 2014; 7: 1525-34.

A New Method for Calculating Lane Average Width on the Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) Images for Lane Detection and Extraction Problem

Mohammad Rezaei¹, Mahmood Amiri PhD², Parviz Mohajeri PhD³, Mansour Rezaei PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: We aimed to a new method to calculate the lane average width on the pulsed field gel electrophoresis (PFGE) images for lane detection and extraction problem. Although some studies are reported for lane detection based on vertical projection profile, they are not automatic with low error. Average width of lane is the most important parameter that is required for automatic image processing of PFGE images. This research with the aim of using the power spectrum density to calculate the lane average width was carried out.

Methods: First, based on the power spectral density, PFGE images were processed. The proposed algorithm was trained using 10 PFGE images and then evaluated for 20 PFGE images which totally consisted of 300 lanes. These images were developed using Bio-Rad model of PFGE in Microbiology Laboratory of Kermanshah University of Medical Sciences, Iran.

Findings: The power spectrum density procedure in contrast to intersection of the horizontal lane yields decreased 99.61% of calculation error for lane detection.

Conclusion: Considering the lane average width is used in several stages for lane detection and extraction procedure, it can be concluded that the power spectrum density improves the process of lane extraction significantly.

Keywords: Power spectrum density, Average Lane width, Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)

Citation: Rezaei M, Amiri M, Mohajeri P, Rezaei M. A New Method for Calculating Lane Average Width on the Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) Images for Lane Detection and Extraction Problem. J Isfahan Med Sch 2015; 33(359): 1965-72

1- MSc Student, Department of Biomedical Engineering, School of Medicine AND Students Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- Assistant Professor, Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

3- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

4- Associate professor, Department of Biostatistics, Social Development and Health Promotion Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Corresponding Author: Mahmood Amiri PhD, Email: ma.amiri@ece.ut.ac.ir