به نام خداوند جان و خرد

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه

خانم پگاه شرف صالح پایان نامه ۹ واحدی خود را **با عنوان آنالیز تصاویر الکتروفورز دو بعدی از نمونه های بیولوژیکی** در تاریخ ۱۳۸۸/۱۲/۱۶ ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد مهندسی برق و کامپیوتر - مهندسی پزشکی پیشنهاد می کنند.

عضو هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
استاد راهنما	دکتر محمدحسین میران بیگی	استادیار	
استاد مشاور	دکتر بهروز وزیری	استادیار	
استاد ناظر	دکتر حمیدرضا مومنی	دانشیار	
استاد ناظر	دکتر علی مطیع نصرآبادی		
مدیر گروه (یا نماینده گروه تخصصی)	دکتر علی محلوجی فر	دانشیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱٥ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب ..... دانشجوی رشته ..... ورودی سال تحصیلی ۸۷-۸۶ مقطع ..... دانشکده ..... متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا: .....

تاریخ: ۱۳۸۹/۲/۸

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته مهندسی برق است که در سال ۱۳۸۸ در دانشکده برق و کامپیوتر - گروه مهندسی برق دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکتر محمدحسین سراج بخش ، مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر فرزاد هرمزی و مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر ــــــ از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب نگاه نرگس صالح دانشجوی رشته مهندسی برق مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: نگاه نرگس صالح

تاریخ و امضا: ۱۳۸۹/۲/۸

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده برق و کامپیوتر

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

رشته مهندسی پزشکی گرایش بیو الکتریک

آنالیز تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی از نمونه های بیولوژیکی

نگارنده:

پگاه شرف صالح

استاد راهنما:

دکتر محمد حسین میران بیگی

استاد مشاور:

دکتر بهروز وزیری

زمستان۱۳۸۸

تقدیم به مادر عزیزتر از جانم

که با وجود تجلی مشکلات و نگرانیهای من در چشمان زیبا و مهربانش،

حضور رئوف و گرمش همواره آرام بخش و مشوق من بوده است و

من حتی زیباترین واژه ها را قاصر از قدردانی و تشکر از فداکاری ها و محبت های او می یابم.

و تقدیم به برادران عزیزم پیام و پژمان، برای تشکر از تمام خوبیها و کمک ها و بزرگواریهایشان.

سپاسگزاری

از استادار جمندم جناب آقای دکتر محمد حسین میران بیگی که با صبر و بزرگواری فراوان همواره مرا از راهنمایی های ارزنده شان بهره مند ساختند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از مشاور گرامی جناب آقای دکتر بهروز وزیری که با همکاری فراوان در به نتیجه رسیدن این تحقیق نقش موثری داشتند، سپاسگزارم.

از جناب آقای حسین منتظری کردی و جناب آقای محمد مهدی یزدان و سرکار خانم سحر مقیمی که در انجام مراحل این تحقیق اینجانب را یاری نمودند، تشکر می کنم.

هم چنین از همکاران مرکز تحقیقاتی پاستور سرکار خانم زندی، سرکار خانم ترکاشوند و سرکار خانم آذریان که همواره من را در طول تحقیق یاری نمودند، قدردانی می کنم.

چکیده

پروتئومیک در واقع علم جداسازی و تعیین هویت پروتئینها و بررسی میزان حضور آنها در نمونه های بیولوژیکی است. در حال حاضر اساسی ترین تکنیک در جداسازی پروتئینها الکتروفورز ژل دو بعدی است که پروتئین ها را در دو بعد متعامد بر اساس شارژ و جرم مولکولی تفکیک می کند. پس از جدا سازی پروتئینها در صفحات حاوی ژل، این صفحات اسکن شده و تصویر آنها حاصل می شود. دو مجموعه تصویر در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند که همگی از انستیتو پاستور ایران اخذ شده اند. مجموعه اول تصاویر مربوط به کلیه همستر می باشند که به دو گروه سالم و آلوده به ویروس هاری تقسیم می شوند. هدف از تحلیل تصاویر این مجموعه پیدا کردن پروتئینهای نشانگر ویروس هاری در این رده سلولی است. مجموعه دوم تصاویر از مغز ماهیان خاویار تهیه شده اند که اثر سم متیل جیوه بر آنها بررسی می شود و به دو گروه سالم و گروه تغذیه شده با متیل جیوه تقسیم می شوند. هدف بررسی اثر سم متیل جیوه بر پروتئین های مغز ماهیان خاویار است.

تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی مستلزم انجام سه مرحله ناحیه بندی، تطابق و آنالیز آماری است. در این تحقیق در مرحله ناحیه بندی برای آشکار سازی لکه های پروتئینی ابتدا تصاویر با فیلتر لاپلاسی گوسی لبه یابی شدند و سپس از الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده برای ناحیه بندی استفاده گردید. برای اصلاح ناحیه بندی و تفکیک نواحی مناسب از آرتیفکت ها، پارامترهای شکل از نواحی استخراج شدند. درمرحله تطابق لکه های پروتئینی که در تصاویر با هم مطابقت دارند مشخص گردیدند. در این تحقیق درمرحله تطابق ابتدا تصاویر نمونه بر روی تصویر مرجع گروه پایه تثبیت خطی شدند. برای تطابق نواحی یک همسایگی مطلوب برای هر ناحیه در نظر گرفته شد. سپس هر ناحیه از یک تصویر با نواحی که در همسایگی مطلوبش در تصویر دیگر قرار گرفته اند به سه روش مقایسه گردید تا ناحیه مطابقش پیدا شود که این سه روش عبارتند از: روش استفاده از معرف های ویژگی، روش استفاده از ضرایب همبستگی و روش مثلثهای دیلانی. در مرحله آنالیز آماری نواحی تطابق یافته در تصاویر به لحاظ ویژگیهای آماری مقایسه گشتند. در آنالیز درون گروهی ضریب واریانس برای هر تطابق درون یک گروه بدست آمد تا تغییرات بیان پروتئینی درون یک گروه بررسی شود. در نهایت از تست تی برای آنالیز بین گروهی استفاده شد تا نواحی که به لحاظ آماری تغییرات معنادار پیدا کرده اند آشکار شوند. این نواحی به عنوان نشانگرهای حیاتی معرفی شدند.

نتایج حاصل از پیاده سازی روشهای این تحقیق بر روی دو مجموعه تصویری که از انستیتو پاستور اخذ شده اند با نتایج نرم افزار ImageMaster مقایسه گردید. در مرحله ناحیه بندی مشاهده شد که نرم افزار ImageMaster در مجموع تعداد نواحی بیشتری را بر روی تصویر تشکیل می دهد که یک دلیل آن بیشتر بودن نواحی False positive است و دلیل دیگر جداسازی نواحی متداخل است. مزیت روش این تحقیق در بیشتر بودن درصد نواحی True positive است و ایراد این روش در بیشتر بودن نواحی False negative است. نتایج حاصل از تطابق نواحی در این تحقیق نیز با نتایج نرم افزار ImageMaster مقایسه شدند و مشخص شد که ترکیب سه روش مورد استفاده در این تحقیق می تواند نتایج مرحله تطابق را نسبت به روش نرم افزار فوق بهبود دهد.

واژگان کلیدی: آنالیز تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی، الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده، تطابق ویژگیها، معرف های ویژگی، ضریب همبستگی، مثلثهای دیلانی

فهرست مطالب

فهرست جداول ه

فهرست اشکال و

فصل ۱- مقدمه

۱-۱- پیشگفتار ۲

۱-۲- بیان مساله ۲

۱-۳- هدف انجام تحقیق ۳

۱-۴- روش انجام تحقیق ۳

۱-۵- ساختار پایان نامه ۴

فصل۲- آشنایی با الکتروفورز ژل دو بعدی

۲-۱- مقدمه ای بر علم بررسی پروتئین ها ۶

۲-۲- الکتروفورز ۷

۲-۲-۱- الکتروفورز دو بعدی ۹

۲-۲-۲- متمرکز کردن ایزوالکترویکی ۱۰

۲-۲-۳- الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید- اس دی اس ۱۱

۲-۳- مروری مختصر بر طیف نگاری جرمی ۱۱

۲-۴- کاربردهایی از الکتروفورز ژل دو بعدی و طیف نگار جرمی ۱۲

۲-۵- جمع بندی ۱۴

فصل۳- مروری بر روشهای تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی

۳-۱- مقدمه ۱۶

۳-۲- ناحیه بندی تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی ۱۸

۳-۲-۱- جمع آوری ارزش پیکسلها ۱۹

۳-۲-۱-۱- جمع آوری ارزش پیکسلهای محلی ۲۰

۳-۲-۲- استفاده از عملگرهای ریخت شناسی ۲۱

۳-۲-۳- روش الگوریتم ژنتیک ۲۱

۳-۲-۴- ناحیه بندی با فیلتر لاپلاسی گوسی ۲۲
۳-۲-۵- الگوریتم حوضچه آبگیر ۲۲
۳-۳- فیلتر کردن لکه های نامطلوب ۲۳
۳-۳-۱- انواع لکه ها ۲۳
۳-۳-۱-۱- پارامترهای بافت و شکل لکه ها ۲۴
۳-۴- روشهای تثبیت کردن تصاویر ۲۶
۳-۴-۱- تطابق ویژگیها ۲۷
۳-۴-۱-۱- روشهای تطابق بر مبنای منطقه ۲۷
۳.۴.۱.۱.۱ روش همبستگی ۲۷
۳-۴-۱-۲- روشهای تطابق بر مبنای ویژگی ۲۸
۳.۴.۱.۲.۱ روشهایی که از معرف های ویژگی استفاده می کنند ۲۸
۳-۴-۲- تطابق ویژگیها در تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی ۲۸
۳-۴-۲-۱- تثبیت الاستیک تصاویر ۲۹
۳-۴-۲-۲- تطابق نقاط با استفاده از خطوط اس-پی ۳۰
۳-۴-۲-۳- تطابق با مثلث سازی دیلانی ۳۰
۳-۵- آنالیز آماری ۳۱
۳-۵-۱- آزمون **t** ۳۲
۳-۵-۲- آزمون ویلکاکسون ۳۲
۳-۵-۳- آزمون کولموگراو ۳۳
۳-۶- چالشها در تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی ۳۳
۳-۷- مروری بر نرم افزار های تجاری موجود ۳۴
۳-۸- جمع بندی ۳۶
فصل۴ - پیاده سازی روشهای تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی
۴-۱- مقدمه ۳۸
۴-۲- ناحیه بندی ۳۹
۴-۲-۱- الگوریتم حوضچه آبگیر ۳۹

۴-۲-۲- تعریف و محاسبه حوضچه های آبگیر ۴۰
۴-۲-۲-۱- تعریف الگوریتم حوضچه آبگیر با استفاده از خطوط دارای بیشترین شیب ۴۰
۴-۲-۲-۲- تعریف ناحیه بندی با استفاده از غوطه ور سازی ۴۱
۴-۲-۲-۳- تعریف ریاضی مسأله ۴۱
۴-۲-۲-۴- فاصله ژئودزی ۴۲
۴-۲-۲-۵- منطقه تاثیر ژئودزی ۴۳
۴-۲-۲-۶- اسکلت مناطق تاثیر ۴۳
۴-۲-۲-۷- تعریف حوضچه آبگیر و آبخیز با استفاده از غوطه ورسازی ۴۵
۴-۲-۳- تبدیل حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده ۴۵
۴-۲-۴- لبه یابی ۴۷
۴-۲-۵- حد آستانه ۴۸
۴-۳- فیلتر کردن نواحی ۵۰
۴-۳-۱- پارامترهای شکل نواحی برای حذف نواحی نامطلوب ۵۰
۴-۴- تطابق در تصاویر الکتروفورزژل دو بعدی ۵۲
۴-۴-۱- تثبیت خطی ۵۲
۴-۴-۲- تثبیت خطی تصاویر ۵۳
۴-۴-۳- یافت همسایگی مطلوب ۵۵
۴-۴-۴- تطابق ویژگیها با استفاده از معرف های ویژگیها ۵۵
۴-۴-۵- تطابق ویژگیها با استفاده از ضریب همبستگی بین ویژگیها ۵۷
۴-۴-۶- مثلث سازی دیلانی ۶۲
۴-۵- آنالیز آماری ۶۶
۴-۵-۱- آنالیز آماری درون گروهی ۶۶
۴-۵-۱-۱- محاسبه ضریب واریانس ۶۷
۴-۵-۲- آنالیز بین گروهی ۶۹
۴-۵-۲-۱- آزمون t ۶۹
۴-۶- جمع بندی ۷۰

فصل۵- نتایج حاصل از پیاده سازی روش های تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی بر روی نمونه-های بیولوژیکی

۵-۱- مقدمه ۷۲

۵-۲- مقایسه سه روش ناحیه بندی ۷۳

۵-۳- تصاویر رده سلولی **BHK** ۷۶

۵-۳-۱- ناحیه بندی تصاویر BHK ۷۷

۵-۳-۲- تطابق در تصاویر BHK ۸۵

۵-۳-۳- آنالیز درون گروهی تصاویر BHK ۸۹

۵-۳-۴- آنالیز بین گروهی تصاویر BHK ۹۰

۵-۴- تصاویر مغز ماهیان خاویار ۹۲

۵-۴-۱- ناحیه بندی تصاویر مغز ماهیان خاویار ۹۳

۵-۴-۲- تطابق در تصاویر مغز ماهیان خاویار ۱۰۱

۵-۴-۳- آنالیز درون گروهی ۱۰۳

۵-۴-۴- آنالیز بین گروهی ۱۰۳

۵-۵- جمع بندی ۱۰۴

فصل ۶- نتیجه گیری و پیشنهادات

۶-۱- نتیجه گیری ۱۰۷

۶-۲- پیشنهادات ۱۰۹

فهرست جداول

جدول۲-۱ مثالهایی از تحقیقات انجام شده بر روی بیماری سرطان با استفاده از الکتروفورز ژل دو بعدی و طیف نگار جرمی ۱۳
جدول ۳-۱ پاسخ مرحله ناحیه بندی نرم افزارها ۳۵
جدول۳-۲ پاسخ مرحله تطابق در نرم افزارها ۳۵
جدول۴-۱ ضریب همبستگی ویژگیهای شکل ۴-۱۷ ۶۱
جدول۴-۲ طول و زاویه اضلاع مثلث های دیلانی ویژگیهای شکل ۴-۱۹ ۶۴
جدول۴-۳ تعداد اشتراکات اضلاع برای ویژگیهای شکل ۴-۱۹ ۶۵
جدول۵-۱ مقایسه نتایج ناحیه بندی با الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و نرم افزار ImageMaster بر روی تصاویر BHK ۸۵
جدول۵-۲ در صد تطابق دو تصویر مرجع گروه پایه و تصویر مرجع گروه هدف تصاویرBHK با روشهای مختلف ۸۸
جدول ۵-۳ در صد تطابق دو تصویر مرجع گروه پایه و تصویر مرجع گروه هدف تصاویرBHK پس از بررسی دستی ۸۹
جدول ۵-۴ مقایسه نتایج ناحیه بندی با الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و نرم افزار ImageMaster بر روی تصاویر مغز ماهیان خاویار ۱۰۰
جدول ۵-۵ در صد تطابق دو تصویر مرجع گروه پایه و تصویر مرجع گروه هدف تصاویرمغز ماهیان خاویار با روشهای مختلف ۱۰۲

فهرست اشکال

شکل ۳-۱ شمای نمادین از تصاویر الکتروفورزدر دو گروه ژل پایه و هدف ۱۶

شکل ۳-۲ شمای نمادین ناحیه بندی تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی ۱۷

شکل ۳-۳ شمای نمادین تطابق ۱۷

شکل ۳-۴ جمع آوری ارزش پیکسلها ۲۰

شکل ۳-۵ انواع لکه ها ۲۵

شکل ۴-۱ حوضچه های آبگیر، آبخیزها و می نیمم های محلی در یک شمای نمادین ۴۱

شکل ۴-۲ فاصله ژئودزی p بین دو نقطه x و y در مجموعه A ۴۲

شکل ۴-۳ مناطق تاثیر ژئودزی از اجزاB درون مجموعه A ۴۳

شکل ۴-۴ $Y \cap X_{h_{\min}} = \phi$ ۴۴

شکل ۴-۵ $Y \cap X_{h_{\min}} \neq \phi$ و به هم متصل می باشند. ۴۴

شکل ۴-۶ $Y \cap X_{h_{\min}} \neq \phi$ و به هم متصل نمی باشند. ۴۴

شکل ۴-۷ قسمتی از یک تصویر الکتروفورز ژل دوبعدی را برای بررسی سندروم الکل جنینی ۴۶

شکل ۴-۸ ناحیه بندی تصویر شکل۴-۷ با الگوریتم حوضچه آبگیر ۴۷

شکل ۴-۹(الف) ناحیه بندی بدون لبه یابی ، (ب)ناحیه بندی همراه با لبه یابی ۴۷

شکل ۴-۱۰ تصویر مرجع گروه سالم تصاویر کلیه همستر اخذ شده از انستیتو پاستور ۴۸

شکل ۴-۱۱ ماتریس برچسب با حد آستانه بزرگ (ب) ماتریس برچسب با حد آستانه کوچک و(ج) ماتریس برچسب OR شده دو ماتریس الف و ب ۴۹

شکل ۴-۱۲ ناحیه بندی بدون فیلتر نواحی نامطلوب بر روی تصویر مرجع گروه سالم شکل ۴-۱۰ ۵۱

شکل ۴-۱۳ ناحیه بندی پس از فیلتر کردن لکه ها بر روی تصویر مرجع گروه سالم شکل ۴-۱۰ ۵۲

شکل ۴-۱۴ (الف) نقاط کنترل بر روی تصویر مرجع گروه پایه (ب) نقاط کنترل بر روی تصویر مرجع گروه هدف (ج) روی هم قرار گرفتن دو تصویر با تثبیت خطی ۵۴

شکل ۴-۱۵ یافت همسایگی مطلوب برای نواحی در دو ژل ۵۵

شکل ۴-۱۶ یکسان کردن ابعاد پنجره برای به دست آوردن ضریب همبستگی ۵۸

شکل ۴-۱۷ مثالی از منطقه متراکم درقسمتی از تصویر مرجع گروه پایه وتصویر مرجع گروه هدف ۶۰

شکل ۴-۱۸ شمای نمادین ویژگیهای داخل مربعات نشان داده شده در شکل ۴-۱۶ ۶۱

شکل ۴-۱۹ مثلثهای دیلانی بر روی تصویر مرجع گروه پایه از مجموعه تصاویر کلیه همستر ۶۳
شکل ۴-۲۰ مثلث های دیلانی ویژگیهای شکل ۴-۱۶ بزرگ نمایی شده ۶۳
شکل ۵-۱ قسمتی از یک تصویر الکتروفوز ژل دو بعدی برای بررسی سندروم الکل جنینی ۷۳
شکل ۵-۲ ناحیه بندی با دیسک با دو شعاع ۵ و ۱۰ وماتریس برچسب حاصل ۷۴
شکل ۵-۳فیلتر لاپلاسی گوسی که با تصویر اصلی کانوالو می شود ۷۴
شکل ۵-۴ تصویرحاصل کانوالوشن تصویر۵-۱ با فیلتر نمایش داده شده در شکل ۵-۳ ۷۵
شکل ۵-۵ تصویر باینری شده حاصل از کانوالوشن تصویر۵-۱ با فیلتر شکل ۵-۳ ۷۵
شکل ۵-۶ ماتریس برچسب حاصل از کانوالوشن تصویر۵-۱ با فیلتر شکل ۵-۳ ۷۵
شکل ۵-۷ ماتریس برچسب حاصل از بندی با الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده بر روی تصویر ۵-۱ ۷۶
شکل ۵-۸ ماتریس برچسب حاصل از بندی با الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده بر روی تصویر ۵-۱ ۷۶
شکل ۵- ۹ ناحیه بندی تصویر اول و مرجع گروه سالم تصاویر BHK توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۷۸
شکل ۵-۱۰ ناحیه بندی تصویر دوم گروه سالم تصاویر BHK توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۷۹
شکل ۵-۱۱ ناحیه بندی تصویر سوم گروه سالم تصاویر BHK توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۸۰
شکل ۵-۱۲ ناحیه بندی تصویر مرجع گروه آلوده تصاویر BHK توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده وماتریس برچسب حاصل ۸۱
شکل ۵- ۱۳ ناحیه بندی تصویر دوم گروه آلوده تصاویر BHK توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده وماتریس برچسب حاصل ۸۲
شکل ۵- ۱۴ ناحیه بندی تصویر سوم گروه آلوده تصاویر BHK توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده وماتریس برچسب حاصل ۸۳
شکل ۵-۱۵ ناحیه بندی تصویرمرجع گروه سالم تصاویر BHK اخذ شده از انستیتو پاستور با نرم افزار ImageMaster ۸۴

شکل ۵-۱۶ تصویر ژل مرجع گروه سالم تصاویر BHK که پروتئین های دارای تفاوت معنادار بین دو گروه سالم و آلوده با پیکان ها مشخص شده اند . ۹۱
شکل ۵-۱۷ تصویر ژل مرجع گروه آلوده تصاویر BHK که پروتئین های اضافه شده در اثر ویروس هاری را با پیکانهایی نشان می دهد . ۹۲
شکل ۵-۱۸ ناحیه بندی تصویرمرجع گروه سالم تصاویر مغز ماهیان خاویار اخذ شده از انستیتو پاستور با نرم افزار ImageMaster ۹۳

شکل ۵-۱۹ ناحیه بندی تصویر مرجع گروه سالم تصاویر مغز ماهیان خاویار توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۹۴
شکل ۵-۲۰ ناحیه بندی تصویر دوم گروه سالم تصاویر مغز ماهیان خاویار توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۹۵
شکل ۵-۲۱ ناحیه بندی تصویرسوم گروه سالم تصاویر مغز ماهیان خاویار توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۹۶
شکل ۵-۲۲ ناحیه بندی تصویر مرجع گروه آلوده تصاویر مغز ماهیان خاویار توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۹۷
شکل ۵-۲۳ ناحیه بندی تصویر دوم گروه آلوده تصاویر مغز ماهیان خاویار توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۹۸
شکل ۵-۲۴ ناحیه بندی تصویر سوم گروه آلوده تصاویر مغز ماهیان خاویار توسط الگوریتم حوضچه آبگیر با نشانگرهای کنترل شده و ماتریس برچسب حاصل ۹۹
شکل ۵-۲۵ نقاط کنترل بر روی تصویر مرجع گروه سالم و بر روی تصویر مرجع گروه هدف تصاویر مغز ماهیان خاویار ۱۰۱
شکل ۵-۲۶ تثبیت خطی دو تصویرشکل ۵-۲۵ بر روی همدیگر ۱۰۱
شکل ۵-۲۷ تصویر ژل مرجع گروه سالم تصاویر مغز ماهیان خاویار که پروتئین های دارای تفاوت معنادار بین دو گروه سالم و آلوده در آن با پیکان ها مشخص شده اند ۱۰۴

فصل ۱

مقدمه

۱-۱- پیشگفتار

پروتئومیک یا علم بررسی پروتئینها در واقع علم جداسازی و تعیین هویت پروتئینها و بررسی میزان حضور آنها در نمونه های بیولوژیکی است . هدف این علم شناسایی نحوه عملکرد سلول های زنده است. کاربردهای این علم گستردگی زیادی دارد که از آن میان می توان به تعیین میزان و نوع پروتئین های موجود در یک نمونه بیولوژیکی، کشف نشانگر های حیاتی پروتئینی برای تشخیص و درمان بیماری ها و مشخص کردن هدف ها در طراحی داروها اشاره کرد[۱].

در حال حاضر اساسی ترین تکنیک در جداسازی پروتئینها الکتروفورز ژل دو بعدی است که پروتئین ها را در دو بعد بر اساس نقطه ایزوالکتریک و جرم مولکولی تفکیک می کند[۲]. پس از جدا شدن پروتئین ها در یک صفحه حاوی ژل پلی اکریل آمید، این صفحه اسکن شده و تصویر آن به دست می آید. این تصویر که از سطوح خاکستری تشکیل شده است، اطلاعات هزاران پروتئین را در بر دارد و پروتئینها در آن مشابه با لکه های تیره رنگ بر روی پس زمینه روشن ژل ظاهر می گردند. اخیرا جداسازی پروتئینها توسط الکتروفورز ژل دو بعدی و تعیین هویت آنها توسط طیف نگار جرمی کاربرد بسیاری پیدا کرده است. این علم در تشخیص بسیاری بیماری ها از جمله سرطان ها، در مانیتور کردن میزان پیشرفت یا بهبود یک بیماری و نیز در صنعت داروسازی کاربردهای فراوانی دارد[۳،۴].

۱-۲- بیان مساله

بررسی کمی و کیفی تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی نیاز به روشهای پردازش تصاویر و شناسایی الگو دارد[۵]. امروزه روش های گوناگونی برای پردازش اتوماتیک این تصاویر و آسان نمودن تحلیل آنان به کار می رود. لیکن پیچیدگی های بسیاری که در این تصاویر وجود دارد سبب بروز اشکالاتی در پاسخ های روش های پردازشی می شود که مستلزم دخالت کاربر برای تصحیح دستی نتایج است[۶]. تصحیح دستی نتایج سبب می شود امکان تکرارپذیری در نمونه مورد مطالعه کم شود. آنچه به چشم یک کاربر مناسب می آید نمی تواند استاندارد دقیقی برای تعیین لکه های پروتئینی باشد و کاربر دیگر ممکن است اصلاحات دیگری بر روی تصاویر نمونه انجام دهد که منجر به نتایج متفاوت شود. برای تصحیح دستی نتایج، هم چنین نیاز به استفاده از نیروهای متخصص و کار آمد و صرف زمان زیاد است که می تواند سبب محدودیت در به کار گیری الکتروفورز ژل دو بعدی برای امور تحقیقاتی گردد. مزایای استفاده از الکتروفورز ژل دو بعدی در بسیاری زمینه های تحقیقاتی تاکنون ثابت شده است[۱،۲،۳،۴]. پروتئینهای نشانگر حیاتی در بسیاری از نمونه های بیولوژیکی تاکنون به

کمک این روش آشکار سازی شده اند و هر روزه کاربردهای روش فوق توسعه می یابد. بهبود روش های تحلیل تصاویر الکتروفورز برای تحلیل بهتر و بررسی دقیق تر پروتئینها از موضوعات تحقیقاتی روز است. هر چه تحلیل این تصاویر با روش های نرم افزاری منجر به نتایج دقیق تر و کاملتر شود، استفاده از این روش در بررسی پروتئینها بیشتر شده و امکان جمع آوری پایگاه های داده برای پروتئینها بیشتر فراهم می شود. در این تحقیق ضمن اشاره به روش های تحلیل تصاویر موجود، سعی شده است الگوریتم هایی برای بهبود و برطرف کردن محدودیت های این روش ها ارائه شود.

۱-۳- هدف انجام تحقیق

بنابرآنچه در بیان مساله گفته شد نیاز به توسعه الگوریتم هایی برای تحلیلی تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی وجود دارد که بتوانند نیاز به ویرایش دستی در این تصاویر را برطرف کنند. در این تحقیق که از همکاری متخصصان مرکز تحقیقاتی پاستور بهره گرفته است، تصاویر نمونه های بیولوژیکی از داده های مورد مطالعه در این مرکز اخذ شده است. این مرکز برای تحلیل این تصاویر از نرم افزاری استفاده می کند که در این نرم افزار پس از آنالیز تصاویر توسط نرم افزار، متخصصان مرکز زمان زیادی را صرف ویرایش نتایج نرم افزار می کنند. در این تحقیق سعی شده است روش هایی ارائه شود که ضمن نزدیکی به نتایج این نرم افزار با نام ImageMaster برخی اشکالات و محدودیت های این نرم افزار را برطرف کند.

۱-۴- روش انجام تحقیق

دو مجموعه تصویر در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته اند که همگی از انستیتو پاستور تهران اخذ شده اند. مجموعه اول تصاویر از رده سلولیBHK [1] مربوط به کلیه همستر می باشند که به دو گروه سالم و آلوده به ویروس هاری تقسیم می شوند. هدف از تحلیل تصاویر این مجموعه پیدا کردن پروتئینهای نشانگر ویروس هاری در رده سلولی BHK است. مجموعه دوم تصاویر از مغز ماهیان خاویار تهیه شده اند که اثر سم متیل جیوه بر آنها بررسی می شود و به دو گروه سالم و گروه تغذیه شده با متیل جیوه تقسیم می شوند. هدف بررسی اثر سم متیل جیوه بر پروتئین های مغز ماهیان خاویار است. برای هر گروه سه تصویر وجود دارد و در نتیجه در هر مجموعه شش تصویر قرار گرفته است.

[1] Baby Hamster Kidney

جهت تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی سه مرحله لازم است[۶،۵]. اولین مرحله در تحلیل این تصاویر تفکیک پروتئینها از پس زمینه ژل می باشد که این کار با ناحیه بندی این تصاویر انجام می شود. مرحله دوم در تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی تطابق دادن نواحی یافت شده در تصاویر مختلف یک آزمایش است تا لکه های پروتئینی مشابه در تصاویر با هم ارتباط پیدا کنند. این نواحی ابتدا باید در تصاویر گروه پایه با هم تطابق پیدا کنند. نواحی تصاویر گروه هدف نیز باید با هم تطابق یابند. سپس نواحی مطابق در دو گروه پایه و هدف تطابق می یابند.

در مرحله سوم پس از آنکه نواحی مطابق در تصاویر یک گروه و نواحی مطابق در تصاویر دو گروه پیدا شدند، این نواحی باید به لحاظ آماری مقایسه گردند تا تفاوت های معنا دار در آنها آشکارشوند. بدین منظور تطابق ها ابتدا در درون یک گروه با آنالیز آماری درون گروهی بررسی می شوند. تطابق ها سپس در بین دو گروه با آنالیز بین گروهی بررسی می شوند تا تفاوت نحوه گسترش پروتئینی و یا همان نشانگر های حیاتی بین دو گروه پایه و هدف یک نمونه آشکار شود. کلیه روش های تحلیل در این تحقیق با نرم افزار MATLAB انجام پذیرفته است.

۱-۵- ساختار پایان نامه

در فصل دوم این تحقیق برای آشنایی با علم بررسی پروتئین ها به اصول مقدماتی الکتروفورز ژل دو بعدی و طیف نگار جرمی و کاربردهای آنان پرداخته می شود. در فصل سوم مراحل لازم برای تحلیل تصاویر الکتروفورز ژل دو بعدی بیان می شود و مثال هایی از روشهایی که تاکنون برای ناحیه بندی، تطابق و آنالیز آماری این تصاویر به کار رفته اند ارائه می شود. در فصل چهارم روش های به کار رفته در این تحقیق در مراحل ناحیه بندی، فیلتر کردن لکه های نامطلوب، تطابق، آنالیز درون گروهی و آنالیز بین گروهی تشریح می شود. فصل پنجم نتایج حاصل از این روش ها را بر روی دو مجموعه تصویری که از انستیتو پاستور اخذ شده اند ارائه می دهد و این نتایج را با نتایج نرم افزار ImageMaster مقایسه می کند. در فصل ششم پیشنهاداتی به منظور بهبود روش های کنونی داده می شود.