

# Signal Selection Tool

## Softwarový výstup

Ing. Michal Kuneš,  
Dr. Ing. Jan Schier,  
Ing. Bohumil Kovář Ph.D.

Department of Image Processing  
Institute of Information Theory and Automation of the ASCR,  
Pod Vodárenskou věží 4, CZ-182 08, Praha 8, Czech Republic  
+420 26605 2470, <http://zoi.utia.cas.cz>  
{xkunes, schier, kovar}@utia.cas.cz

### Obsah

1. Úvod.....	2
2. Části programu.....	2
3. Úvodní obrazovka programu SST.....	3
4. Pracovní plocha programu SST.....	4
4.1 Přidávání a mazání signálů (11).....	4
4.2 Zoom (12).....	6
4.3 R / G / B (7).....	7
4.4 Save Image (3).....	7
4.5 Reject Image (Use Image) (7).....	7
4.6 Surf Graph (9).....	8
4.7 Prev. / Next (13).....	9
4.8 Info (10).....	9
4.9 Quit (1).....	9
5. Použité softwarové nástroje.....	9
6. Obsah a popis příloženého balíku.....	9
7. Závěr.....	10

### Revize

Revize	Datum	Autor	Popis změn v dokumentu
0	16.9.2012	M.K.	Vytvoření dokumentu
1			
2			

Tento dokument byl podpořen projektem TA0101093: Systém pro podporu vyhodnocování metody FISH, Technologická agentura České republiky.

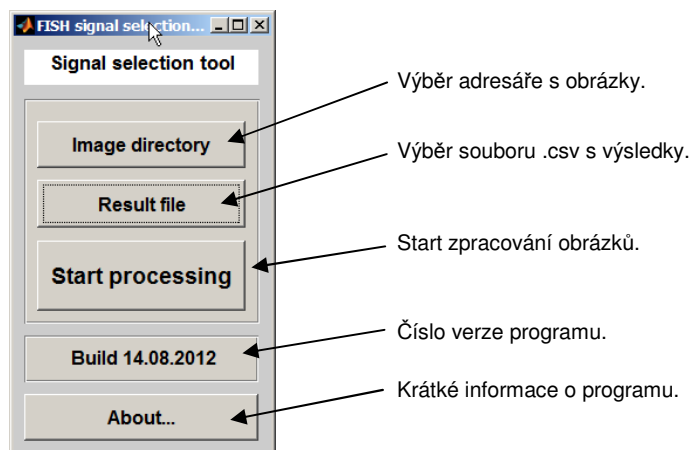
## 1. Úvod

Signal Selection Tool (SST) je jednoduchý nástroj umožňující ruční označení hledaných signálů v obrázcích a jejich zařazení do očíslovaných skupin. Příkladem mohou být fluorescenční signály v jádře buněk označených metodou FISH (Fluorescence In Situ Hybridization).

Program systematicky prochází jednotlivé obrázky ve vstupním adresáři, zobrazuje je a uživatel může do obrázku vložit očíslované skupiny křížků, označující objekty našeho zájmu (signály). Jednotlivé křížky je možné rozřadit do skupin tak, aby objekty zájmu (signály) patřící k jedné skupině (buňce) byly umístěny ve stejné skupině (měly stejné číslo).

## 2. Části programu

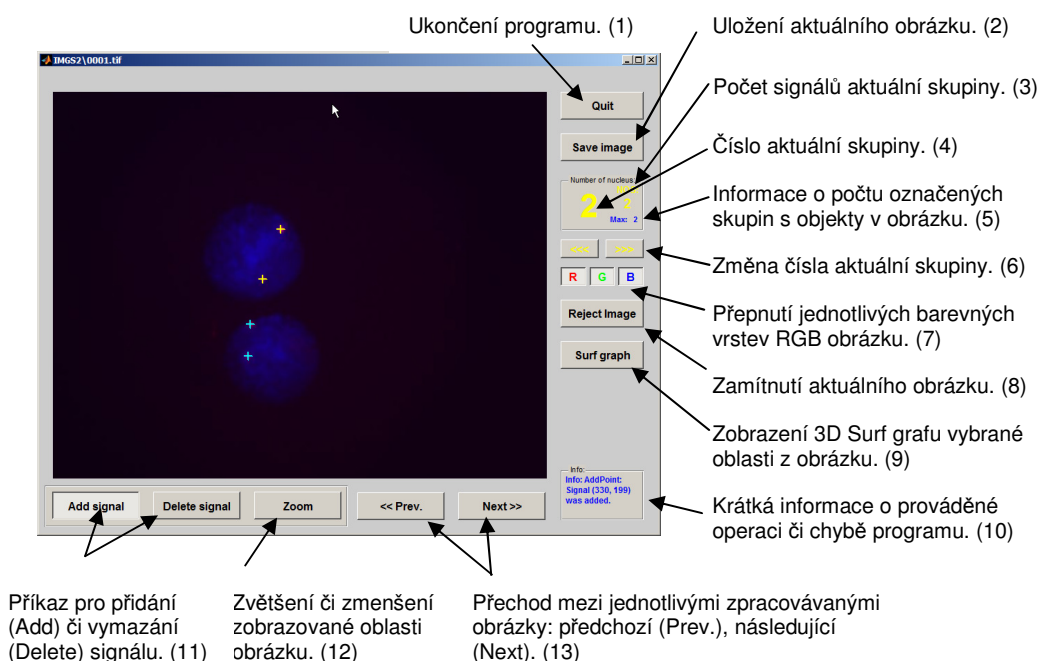
Obrázek 1 ukazuje dvě základní části programu. Jde o jednoduché úvodní menu, umožňující nastavení adresáře se soubory, výstupního souboru s výsledky, start zpracování obrázků a zobrazení krátké informace o programu SST. U obrázku jsou také uvedeny krátké popisky, popisující funkce daných tlačítek a oblastí programu. Přesnější popis funkcí jednotlivých tlačítek je uveden v kapitole 3.



Obrázek 1 SST Úvodní dialog

Druhou částí programu je vlastní pracovní plocha (obr. 2), umožňující označit hledané objekty v obrázku. Zde jde o fluorescenční signály v jádře buněk označených metodou FISH. Signály jsou na obrázku 2 viditelné jako červené či nafialovělé tečky v modrých oblastech, což jsou jádra buněk. Jednotlivé barvy signálů a buněk se mohou lišit v závislosti na použitém barvivo při vyhodnocování vzorků pomocí metody FISH.

Na obrázku 2 je vidět ukázka pracovní plochy programu SST. Jednotlivé signály jsou označeny barevným křížkem, který byl do obrázku ručně přidán pomocí programu SST. U obrázku jsou také krátké popisky, popisující jednotlivá tlačítka a oblasti programu SST. Přesnější popis funkcí jednotlivých tlačítek a práce s nimi je uveden v kapitole 4.

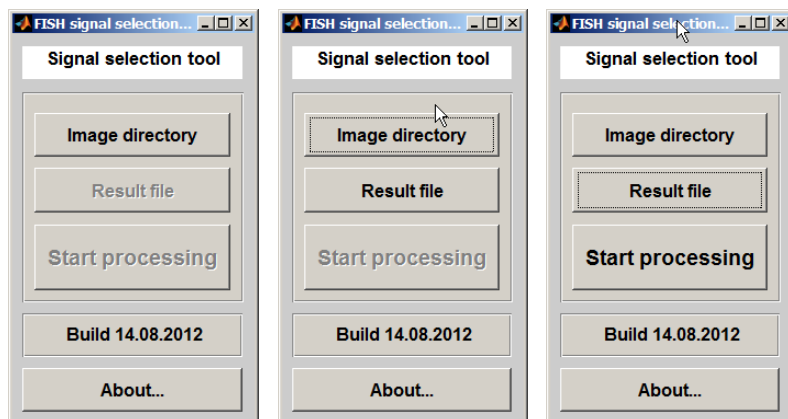


Obrázek 2 SST pracovní plocha

### 3. Úvodní obrazovka programu SST

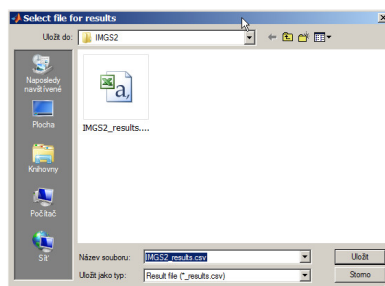
Úvodní obrazovka programu SST obsahuje 4 tlačítka, jak ukazuje obrázek 3. Jednotlivá tlačítka programu se aktivují až po zadání jednotlivých položek (Obr. 3a, 3b, 3c).

Práce s programem se zahájí stiskem tlačítka *Image directory* (adresář s obrázky) (Obr. 3a) a ve standardním výběrovém dialogu zvolíme adresář, kde se nacházejí vstupní obrázky. Po zadání adresáře se aktivuje tlačítko *Result file* (soubor výsledků) (Obr. 3b).



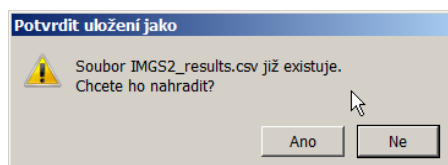
Obrázek 3 a, b, c Úvodní obrazovka programu SST

Druhým krokem je zadání souboru s výsledky. Klikem na tlačítko *Result file* zadáme soubor s výsledky (nový či existující). Výsledky se ukládají do textového .csv souboru.



Obrázek 4 Result file dialog

Pro zadání výstupního souboru je využit standardní systémový dialog pro ukládání (Obr. 4). Pokud výstupní soubor existuje, systém se zeptá zda chceme soubor přepsat (Obr. 5). Zadáme-li v dialogu pro náhradu souboru *Ano* (Nahradit), pak je možné v následujícím dialogu zvolit, zda chceme soubor přepsat novým souborem (*Overwrite*) či výsledky přidat do stávajícího souboru (*Append*) (Obr. 6). Není tedy nutné volit vždy nový soubor s výsledky, pokud pro danou sadu vstupních obrázků již nějaký máme, ale můžeme dále pokračovat se stávajícím souborem.



Obrázek 5 Result file: Standardní dotaz na přepsání souboru

Jak bylo již uvedeno, výstupní soubor je standardní textový soubor s příponou .csv. Soubor obsahuje na každém řádku relativní či absolutní (je-li to nutné) cestu k souboru s obrázkem, číslo skupiny objektů (jádra) a souřadnice označených objektů (signálů). Souřadnice v obrázku jsou odpočítávány od levého horního rohu (levý horní roh je bod o souřadnicích  $x, y = 0, 0$ ) Jednotlivé hodnoty jsou v souboru .csv odděleny středníkem.

Příklad:

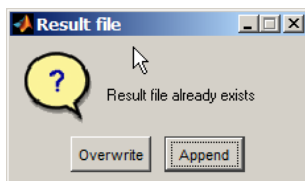
```

IMG2\01.jpg;1;444;204;
IMG2\01.jpg;1;368;229;
IMG2\01.jpg;2;600;375;
IMG2\01.jpg;2;590;473;
IMG2\02.jpg;1;679;129;

```

Po zadání adresáře s obrázky a souboru pro výsledky se aktivuje tlačítko *Start processing* (Obr. 3c) a jeho stisknutím je možné začít vlastní práci s obrázky.

Program SST si nastavení adresáře se vstupními soubory a nastavení souboru s výsledky pamatuje (ukládá do textového konfiguračního souboru), takže jej není nutné znovu zadávat při dalším spuštění programu, pokud jej nechceme změnit.



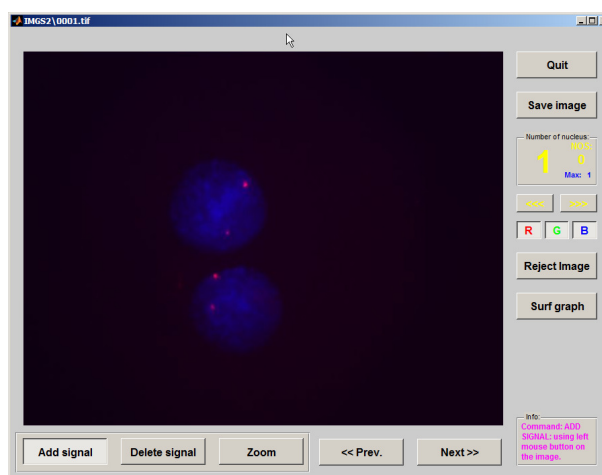
Obrázek 6 Result file: Dodatečný dotaz pro přepis či přidání výsledků do souboru

## 4. Pracovní plocha programu SST

Po zadání adresáře s obrázky a souboru pro výsledky, se aktivuje tlačítko *Start processing* (Obr. 3c). Po jeho stisknutí se zobrazí pracovní plocha (Obr. 7) umožňující označit křížkem hledané objekty v obrázku. Zde jsou hledanými objekty signály obarvené fluorescenčním barvivem pomocí metody FISH. Vlastní jádra buněk jsou obarvena barvivem jiné barvy, aby byla na obrázku viditelná.

### 4.1 Přidávání a mazání signálů (11)

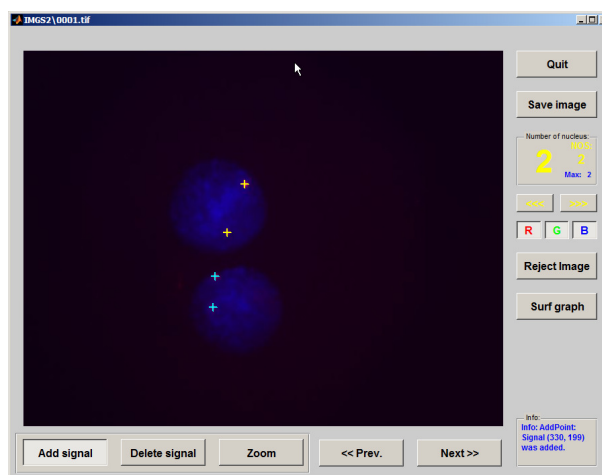
Po stisku tlačítka *Start processing* (Obr. 3c) se zobrazí první nezpracovaný obrázek (obrázek ke kterému v souboru výsledků .csv nebyly nalezeny žádné přidružené signály) nebo poslední obrázek v adresáři (pokud již mají všechny obrázky přidružené signály).



Obrázek 7 Pracovní plocha po startu

Pracovní plocha obsahuje několik tlačítek a informačních oblastí (Obr. 2). Nejdůležitější částí SST je přidávání a mazání signálů v daném obrázku. Pro zapnutí této funkce jsou určena tlačítka *Add signal* (Přidat signál) a *Delete signal* (Vymazat signál) (tlačítka 11 Obr. 2.).

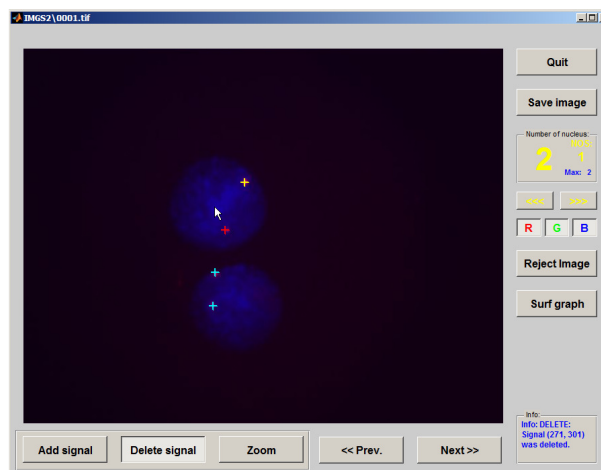
Po aktivaci funkce přidávání možné kliknutím myši do obrázku signál přidat a obdobně při aktivaci funkce mazání je možné signál z obrázku vymazat. Přidávání a mazání signálů je vždy možné pouze do/z aktuální skupiny signálů, pro jejíž změnu slouží tlačítka 6 Obr. 2 viz. dále.



Obrázek 8 Přidávání signálů

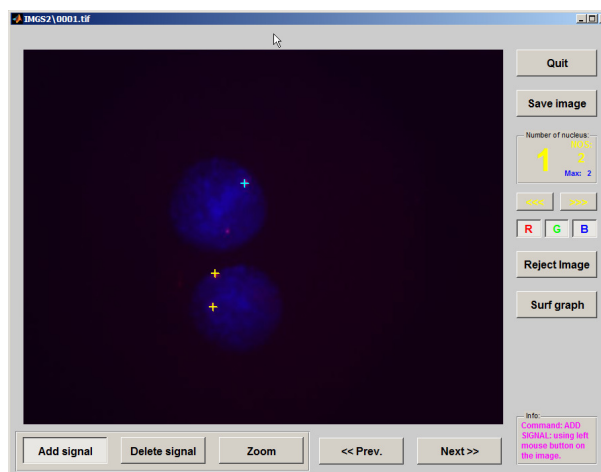
Signály aktuální skupiny jsou v obrázku zobrazeny žlutým křížkem, ostatní signály v obrázku jsou zobrazeny křížkem modrozeleným (Obr. 8).

Vymazané signály jsou v aktuálním obrázku označeny červeným křížkem (Obr. 9). Vymazaný signál zůstává viditelný pouze bezprostředně po vymazání z daného obrázku, pokud přejdeme na další obrázek a zpět (pomocí tlačítek 13 Obr. 2.), vymazané signály již zobrazené nejsou (Obr. 10).



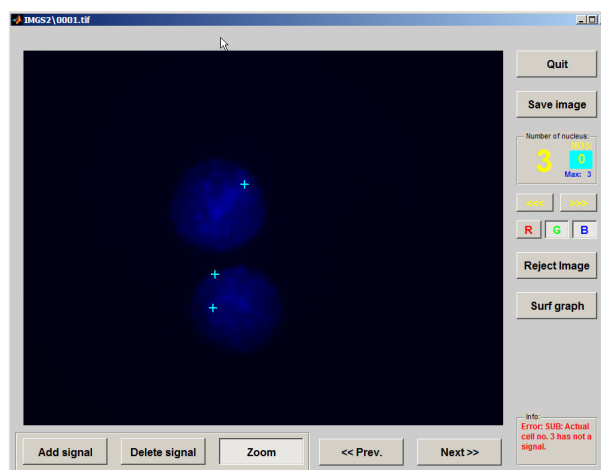
Obrázek 9 Vymazání signálu

K tlačítkům pro přidávání a mazání signálu je přidružena informační oblast v pravé části obrazovky (oblast 3, 4, 5 Obr. 2.). Ta zobrazuje aktuální číslo skupiny signálů (oblast 4 Obr. 2.), počet signálů v dané skupině (*NOS* - oblast 3 Obr. 2.) a celkový počet skupin v obrázku (*Max* - oblast 5 Obr. 2.).



Obrázek 10 Vymazaný signál

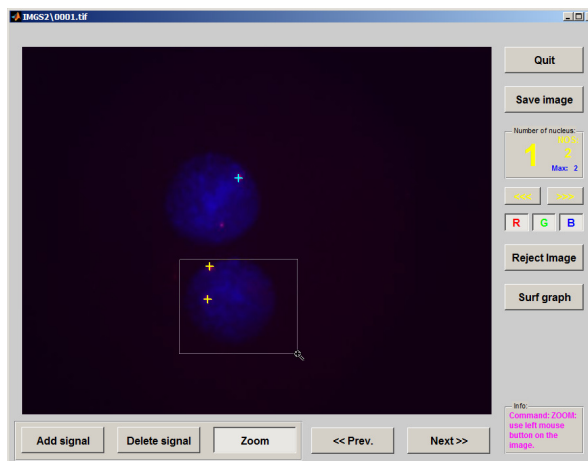
Mezi jednotlivými skupinami signálů je pak možné přepínat pomocí malých tlačítek pod vlastní informační oblastí (tlačítka 6 Obr. 2.). Pokud oblast (jádro) s nejvyšším číslem neobsahuje žádný signál, pak tlačítko >>> neumožní zvětšit číslo skupiny a informační oblast pro počet signálů aktuální skupiny se podbarví modrozeleně (Obr. 11). Tím program SST uživatele upozorní, že není nutné zvyšovat číslo skupiny, protože aktuální skupina neobsahuje žádný signál.



Obrázek 11 Změna čísla jádra, pokud nejvyšší číslo jádro nemá přidělené signály

Pro přechod mezi jednotlivými obrázky slouží tlačítka << Prev. a Next >> (tlačítka 13 Obr. 2.).

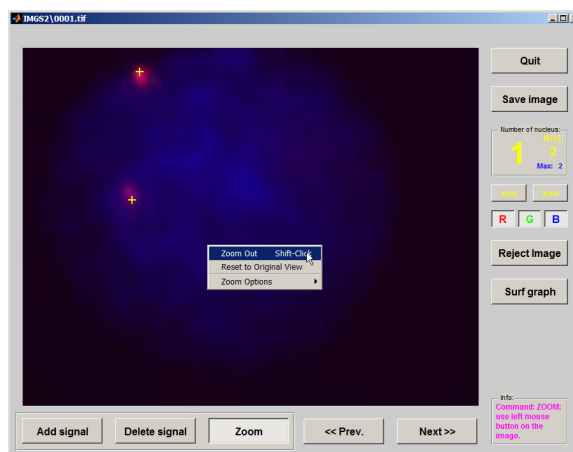
Program SST obsahuje několik doplňkových funkcí pro optimalizace práce, což je *Zoom*, *Surf graf* a možnost zobrazit pouze některé barevné kanály (vrstvy) z *RGB* obrázku.



Obrázek 12 Zoom: výběrové okno

## 4.2 Zoom (12)

*Zoom* je standardní nástroj používaný v grafických programech pro zvětšení části obrazovky. Po aktivaci funkce tlačítkem *Zoom* (tlačítko 12 Obr. 2.) program čeká na zadání obdélníkové oblasti obrázku. Oblast pro zvětšení vybereme stlačením levého tlačítka myši, tažením myši do protilehlého rohu obdélníku a uvolněním tlačítka myši (Obr. 12).



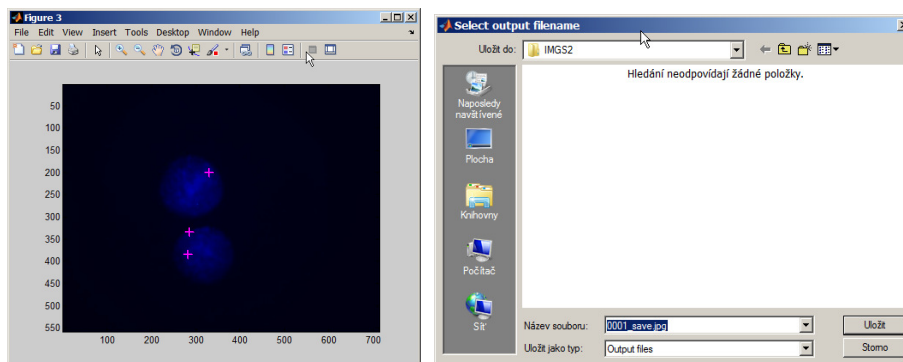
Obrázek 13 Zoom: kontextové menu (pravé tlačítko myši)

Po aktivaci funkce *Zoom* je také dostupné kontextové menu (Obr. 13), které se zobrazí kliknutím na pravé tlačítko myši, je-li myš aktuálně v oblasti obrázku. Kontextové menu umožňuje zmenšit aktuální zobrazení (*Zoom Out*), návrat k původní velikosti obrázku (*Reset to Original View*) a několik voleb funkce *Zoom*.

Po aktivaci funkce *Zoom* je dále možné velikost zobrazení měnit pomocí kolečka myši. Točením kolečkem na myši je tak možné obrázek přiblížit či oddálit vzhledem ke středu aktuálního zobrazení obrázku. Maximální oddálení je však omezeno vlastní velikostí obrázku.

### 4.3 R / G / B (7)

Tlačítka *R / G / B* (tlačítka 7 Obr. 2.) umožňují zobrazit pouze jednu či několik barevných hladin RGB obrázku (červená, zelená, modrá). Jednoduchým kliknutím na dané tlačítko zobrazíme či vypneme danou barevnou vrstvu obrázku. Tlačítka *R / G / B* jsou zobrazena pouze v případě, že aktuální obrázek obsahuje RGB barevné vrstvy. Například na obrázku 11 nejsou vidět červené barevné signály, protože je červená vrstva (*R*) vypnuta.



Obrázek 14 Uložení aktuálního obrázku do JPG

### 4.4 Save Image (3)

Tlačítko *Save Image* (tlačítko 3 Obr. 2.) umožňuje uložení aktuálního zobrazení obrázku (zvětšeného, se signály) do souboru .jpg.

Po stisku tlačítka se zobrazí náhled ukládané obrázku a standardní dialogové okno k zadání jména cesty pro uložení obrázku (Obr. 14).

Tato funkce může být v některých případech užitečná, potřebujeme-li si například některou část či celý obrázek rychle uschovat pro další práci bez nutnosti zpracovávat .cvs soubor s výsledky.

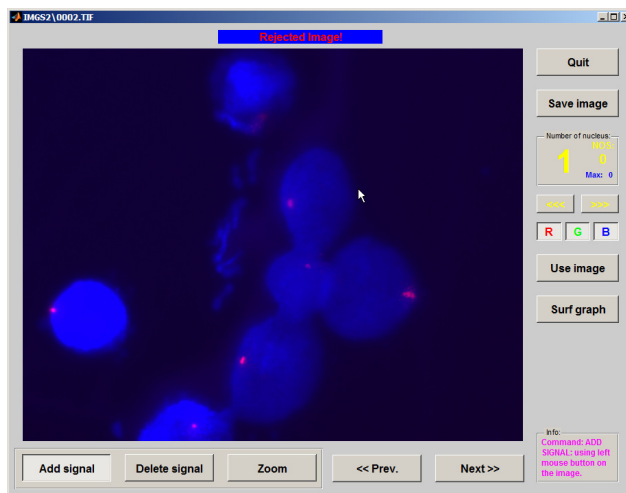
### 4.5 Reject Image (Use Image) (8)

Další užitečnou funkcí je označení daného souboru jako nevhodného pro zpracování. Tlačítko *Reject Image* (tlačítko 8 Obr. 2.) umožňuje do výstupního souboru .cvs zapsat informaci, že daný obrázek je nevhodný pro zpracování a nejdete tedy o chybu, že v daném obrázku nejsou označeny žádné signály.



Obrázek 15 Zamítnou obrázek (Reject Image)

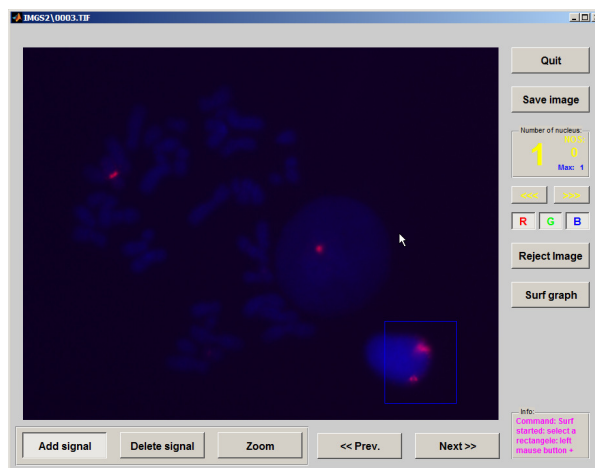
Po stisku tlačítka *Reject Image* se zobrazí okno s dotazem, zda má být daný obrázek zamítnut pro další zpracování (Obr. 15) a program přejde při zpracování na další obrázek.



Obrázek 16 Zamítnutý obrázek v SST

Pokud si zamítnutý obrázek zobrazíme pomocí tlačítek pro přechod mezi obrázky (tlačítka 13 Obr. 2.), bude obrázek v horní části okna programu SST označen červeným nápisem „Rejected Image!“ v modrém poli (Obr. 16) a tlačítko *Reject Image* se změní na *Use Image* (Použít obrázek) pro případ, že k zamítnutí obrázku došlo nedopatřením.

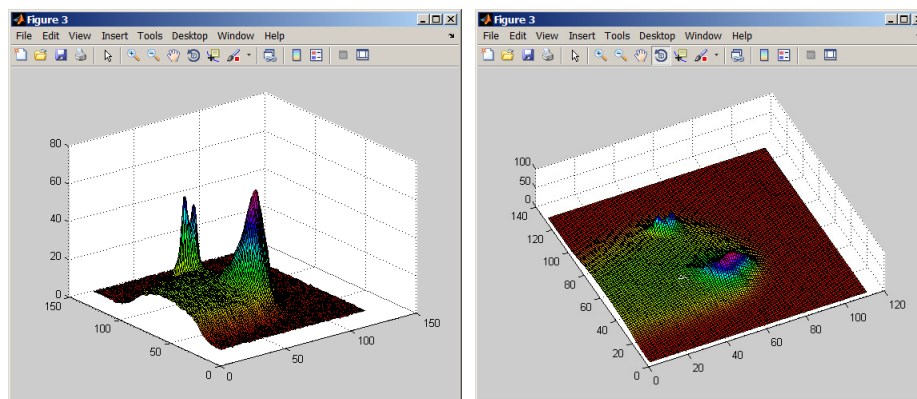
Jestliže tedy chceme zamítnutý obrázek znovu použít a označit v něm nějaké signály, je to možné provést pomocí tlačítka *Use Image*. Po jeho stisku je možné s obrázkem znovu pracovat, jako kdyby nebyl nikdy zamítnut.



Obrázek 17 Výběr oblasti pro Surf graf

#### 4.6 Surf Graph (9)

*Surf Graph* (tlačítko 9 Obr. 2.) umožňuje vykreslit vybranou oblast obrázku jako 3D plochu (Obr. 18). Obarvení a výška plochy odpovídá intenzitě a barvě bodů původního obrázku.



Obrázek 18 Surf graf s různým natočením

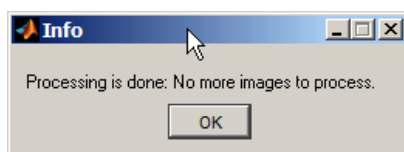
Na obrázku 18 je zobrazena ukázkou *Surf grafů* z části obrázku (viz. Obr. 17). Po aktivaci příkazu *Surf Graph* (tlačítko 9 Obr. 2.) program čeká na zadání obdélníkové oblasti v obrázku. Oblast zadáme výběrem jednoho rohu oblasti, stiskem levého tlačítka myši a tažením myši do protilehlého rohu zvolené oblasti (Obr. 17 modrý obdélník vpravo dole). Po uvolnění tlačítka myši se vykreslí Surf graf v novém okně (Obr. 18). Vykreslenou plochu je možné libovolně otáčet, přibližovat či oddalovat.



## 4.7 Prev. / Next (13)

Tlačítka *Prev.* / *Next* (tlačítka 13 Obr. 2.) umožňují přecházet mezi jednotlivými obrázky v zadaném adresáři pomocí úvodní obrazovky programu. Po startu programu SST se zobrazí první nezpracovaný obrázek, nebo poslední obrázek (ať již byl či nebyl zpracován).

Pokud uživatel dojde na poslední obrázek a stiskne tlačítko *Next >>*, pak se zobrazí hlášení o ukončení zpracování (Obr. 19), okno pro zpracování obrázku se zavře a zobrazí se úvodní obrazovka programu.



Obrázek 19 Ukončení zpracování obrázků

## 4.8 Info (10)

V Pravém dolním rohu okna pro zpracování obrázku je malá informační oblast (oblast 10 Obr. 2.), kde se zobrazují krátké informace o aktuální činnosti programu, krátká chybová hlášení a eventuální návody k jednotlivým funkcím programu, které vyžadují činnost uživatele (výběr oblasti pomocí myši, výběr bodu v obrázku, atd.).

## 4.9 Quit (1)

Tlačítko *Quit* (tlačítka 1 Obr. 2.) umožňuje předčasné ukončení práce s oblastí pro zpracování obrázku. Všechny výsledky jsou uloženy do souboru *.csv*.

## 5. Použité softwarové nástroje

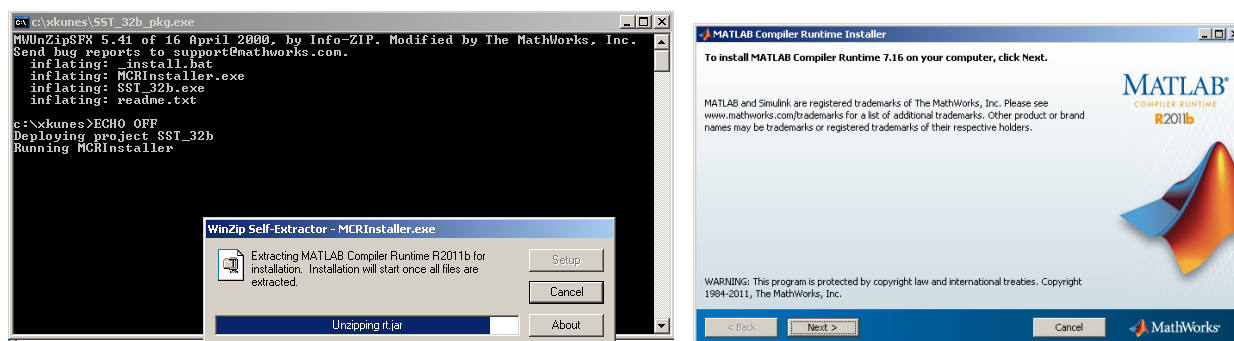
Program vychází se softwarového nástroje *Colony Counter*, který vytvořil Jan Schier v rámci projektu 1M0567 (Ministretvo vzdělávání, mládí a sportu) a později projektu TA01010931 (Technologická agentura České republiky) (dostupné na <http://zoi.utia.cas.cz/YeastColonyCounter>). Z programu bylo převzato ovládací rozhraní a bylo upraveno pro potřeby nového projektu.

Program SST je vytvořen pomocí programu Matlab 2011b a jeho balíčků pro práci s obrázky. Program SST je zkompileován do spustitelného kódu, aby pro jeho využití nebylo nutné vlastnit licenci programu Matlab. Pro spuštění programu je pouze nutné nainstalovat MATLAB Compiler Runtime 7.16 (Matlab R2011b), která umožňuje spouštět programy vytvořené v prostředí Matlabu, bez nutnosti vlastnit licenci programu Matlab. Distribuční balíček programu SST obsahuje vše potřebné pro instalaci MATLAB Compiler Runtime 7.16 a spuštění programu SST.

## 6. Obsah a popis přiloženého balíku

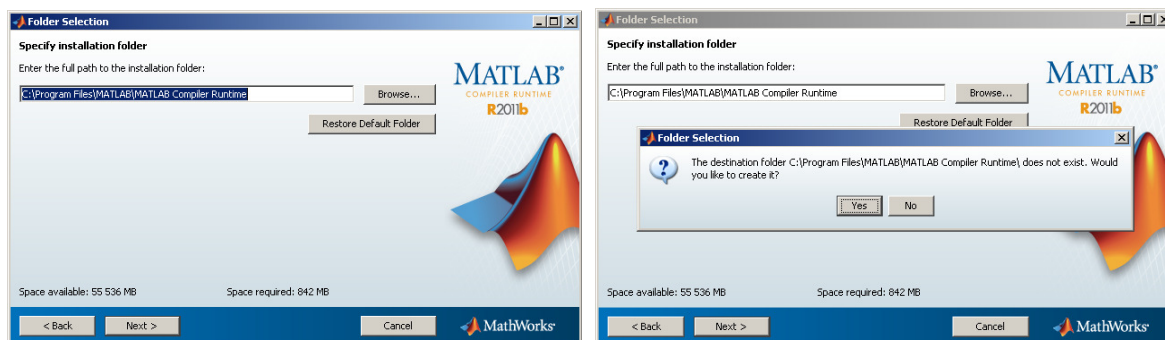
Program SST je dostupný jako spustitelný balíček *SST\_pkg.exe*.

Po puštění se balíček rozpakuje a nainstaluje vše potřebné: Nejprve se rozpakuje balíček obsahující *MCRInstaller.exe* (Matlab compiler runtime) a program SST.

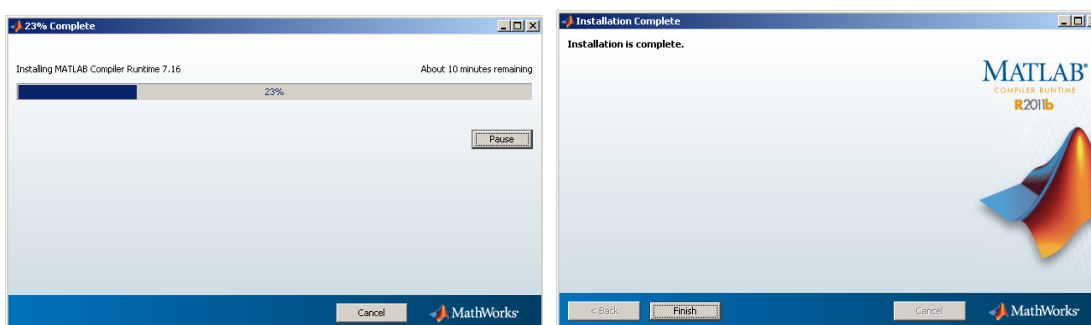


Pokud je potřeba, nainstaluje se Microsoft Visual C++ 2005 runtime library (pokud není nainstalována) a pak se instaluje vlastní MATLAB Compiler Runtime:

Spustí se instalační průvodce pro instalaci MATLAB Compiler Runtime 7.16 (Matlab R2011b), který se zeptá na zadání adresáře pro instalaci.



Je vyžadováno potvrzení pro vytvoření adresáře, pokud adresář neexistuje a spustí se vlastní instalace MATLAB Compiler Runtime 7.16 (Matlab R2011b).



Závěrečný dialog oznámí ukončení instalace. Po nainstalování všeho potřebného, je možné spustit program SST bez nutnosti vlastnit licenci programu Matlab.

## 7. Závěr

Nástroj SST je jednoduchý program umožňující v obrázcích označit křížkem předměty zájmu a zároveň je zařadit do očíslovaných skupin. Výstupem programu je textový .csv soubor obsahující na jednotlivých řádcích jméno obrázku, číslo skupiny a souřadnice aktuálního křížku (značky). Jednotlivé hodnoty na řádku jsou odděleny středníkem a na jednom řádku jsou umístěny údaje týkající se jednoho křížku.

Program byl vytvořen pro označování signálů vznikajících při testování vlastností lidské DNA pomocí metody FISH (Fluorescence In Situ Hybridization). Pro přiřazení jednotlivých signálů (označených částí DNA) k odpovídající buňce je určeno zařazení do jednotlivých skupin.

Program lze využít všude tam, kde je třeba označit určité objekty a případně je zařadit do oddělných skupin. Následné zpracování výsledků je pak možné provádět automaticky a může jej provádět i osoba nedisponující znalostmi potřebnými pro vyhodnocování původních obrázků.

## 8. Literatura

[1] UTIA ZOI, [online], URL : < <http://zoi.utia.cas.cz/> > [citováno 12. září 2012]

[2] MathWorks, [online], URL : < <http://www.mathworks.com/> > [citováno 12. září 2012]