

电子显微镜图象处理与分析中的几个问题

杜林芳 党连凯 陈传涓

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

提 要

在进行细胞的超微结构研究中,有时因操作不慎,使电子显微镜拍摄的照片出现了污染、局部干扰和线条不清晰等问题,致使一些极为珍贵的图象失去了或有损于应有的研究价值。为了解决这些问题,作者根据用户的需求,对上述情况在以 IBM/AT 为主机的图象采集处理系统上作了处理。得到了满意的效果。

一、系统结构与功能简介

以 IBM/AT 为主机,内插一块帧捕捉器。外设有 RCA 单色摄像机、Sharp 14 吋单色显示器和一块鼠标器等部件组成的图象采集处理系统。软件可分为图象采集(文件名为 Pcvision)和处理(文件名为 Iris 4)两部分。采集到的图象大小为 512 × 512 个象元。采集部分为 BASIC 编程。处理部分没有源程序。而且采集图象文件与处理图象文件的存贮方式不一致。处理程序中有不少功能不齐全,甚至没有图象的存贮功能。在解决了这些问题的基础上,才作了以下图象处理和图象分析。

本文用到系统的处理功能是:点分析(坐标 x, y 及其象元值)、增强反差、图象锐化、二值化。其余的方法均由作者用 FORTRAN-77 程序来完成。

二、处理的步骤、方法与结果

1. 去掉图象上的污点

这是图象处理中经常遇到的问题。本例中所要去掉的污点,既非白噪声,也不是其它高频成份。而是只有用户才能识别的特定干扰。其处理步骤为:用鼠标器控制的功能测定污点的范围大小和污点的邻近点^[1]的象元值。由邻近

点的象元值代替污点值进行局部修改。设一幅图象是由离散化的函数

$$0 \leq f(x, y) < +\infty \quad m_1 \leq x \leq m_2, \\ n_1 \leq y \leq n_2 \quad (1)$$

来定义的^[2]。

污点部分的象元值可表示为

$$f_1(x, y) \quad m_3 \leq x \leq m_4, \quad n_3 \leq y \leq n_4 \quad (2)$$

污点邻近点的象元值亦可表示为

$$f_2(x, y) \quad m_3 - \Delta m \leq x \leq m_4 + \Delta m \\ n_3 - \Delta n \leq y \leq n_4 + \Delta n \quad (3)$$

令

$$f_1(x, y) = f_2(x, y) \quad m_3 \leq x \leq m_4, \\ n_3 \leq y \leq n_4 \quad (4)$$

当对(4)中的 x, y 的取值范围有不同的限制后,就能进行点、线、块的局部修改。局部修改视污点部分的形状可一次完成或分步逼近。最后可达到去掉污点的目的。处理结果见封 2 的图 1。

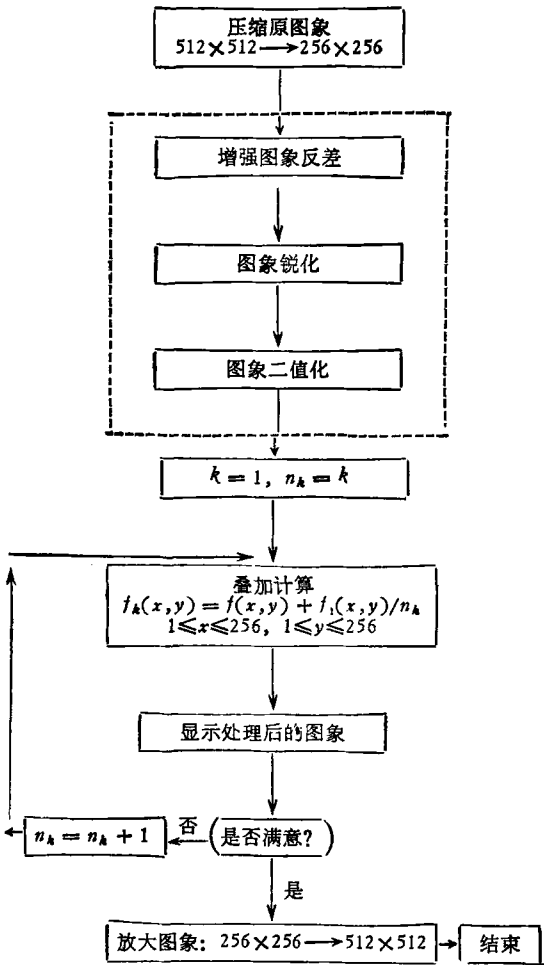
2. 增强图象纹理

有些图象虽说比较完好。但图象的纹理不清晰,需要增强图象纹理特征。其处理步骤为:增强反差、锐化、二值化。然后对二值化图象除以某一适当的正整数 n_k ,并叠加在原图象上,就能获得较为理想的处理结果。对 n_k 的取值范围一般是在最大象元值和最小象元值之间。

即 $G_{\min} < n_k \leq G_{\max}$, n_k 可以是有限序列。当 n_k 取不同的数值时, 图象纹理特征效果就有所不同。从中选择一个较好的作为最后的处理结果。上述两种图象的叠加表达式为

$$f_k(x, y) = f(x, y) + f_1(x, y)/n_k \quad 1 \leq x \leq m \\ 1 \leq y \leq n \quad (5)$$

其中 $f(x, y)$ 为原图, $f_1(x, y)$ 为二值化的图象。 $G_{\min} = 0$, $G_{\max} = 252$, $n = m = 256$ 。取 $n_k = 4$ 时的处理结果见封 2 图 2。程序框图如下:



框图中用虚线围起来的是系统原有的功能。

3. 去掉图象的局部干扰

对于有干扰的图象, 去掉干扰使之呈现出原有的图象。这显然不同于去掉污点的处理方法, 否则就将原图象改头换面了。它的处理步骤为: 用鼠标器控制的功能测定局部干扰的范

围, 将该范围的象元值除以一整数 n_k , 然后叠加在原图象上。每次叠加之后, 范围逐步缩小, 再进行下一次叠加。如此经过若干次叠加之后, 局部干扰将会去掉。这种局部干扰逐步收缩范围的叠加过程是:

假设测定局部干扰的大致范围是: 行从 m_1 到 m_2 , 列从 n_1 到 n_2 。对这四条边界的象元值求平均值。

$$\left. \begin{aligned} L_{k,1} &= \frac{1}{m_2 - m_1 + 1} \sum_i f_k(i, n_1) \\ L_{k,2} &= \frac{1}{m_2 - m_1 + 1} \sum_i f_k(i, n_2) \\ L_{k,3} &= \frac{1}{n_2 - n_1 + 1} \sum_i f_k(m_1, i) \\ L_{k,4} &= \frac{1}{n_2 - n_1 + 1} \sum_i f_k(m_2, i) \end{aligned} \right\} (6)$$

再计算边界内侧的四条边的象元平均值。

$$\left. \begin{aligned} R_{k,1} &= \frac{1}{m_2 - m_1 + 1} \sum_i f_k(i, n_1 + 1) \\ R_{k,2} &= \frac{1}{m_2 - m_1 + 1} \sum_i f_k(i, n_2 - 1) \\ R_{k,3} &= \frac{1}{n_2 - n_1 + 1} \sum_i f_k(m_1 + 1, i) \\ R_{k,4} &= \frac{1}{n_2 - n_1 + 1} \sum_i f_k(m_2 - 1, i) \end{aligned} \right\} (7)$$

比较两者的平均值来确定其是否叠加。

$$\text{若 } R_{k,n} > L_{k,n} \quad n = 1, 2, 3, 4, \quad k = 1, 2, 3, \dots, \quad (8)$$

则进行如下叠加

$$f_k(x, y) = f_{k-1}(x, y) + f_{k-1}(x, y)/n_k \\ m_1 + 1 \leq x \leq m_2 - 1 \\ n_1 + 1 \leq y \leq n_2 - 1 \quad (9)$$

当 $k = 1$ 时, 即第一次叠加时, $f_0(x, y)$ 为局部干扰的原图象。其中 $n_k = 4, 8, \dots, 252$ 。 n_k 取正值时就相当于在局部干扰范围内薄薄地剥去一层。需要下一次叠加时, 令 $m_1 = m_1 + 1$, $m_2 = m_2 - 1$, $n_1 = n_1 + 1$, $n_2 = n_2 - 1$ 。之后重复上述进行的过程。

若至少存在一 m 使得

$$R_{k,m} \leq L_{k,m} \quad \begin{matrix} 1 \leq m \leq n \\ n = 1, 2, 3, 4 \end{matrix} \quad (10)$$

假定 $m = 1$, 则令 $L_{k,i} = R_{k,i}$, 和 $m1 = m1 + 1$ 。按(7)式中计算 $R_{k,i}$ 。如计算结果仍是 $R_{k,i} \leq L_{k,i}$ 时, 则重复这一计算过程。否则按(9)式叠加。

当 $k = j$ 时, 即第 j 次叠加之后, 使得 $m1 = m2$ 或 $n1 = n2$ 时叠加结束。否则, 令 $m1 = m1 + 1$, $m2 = m2 - 1$, $n1 = n1 + 1$, $n2 = n2 - 1$ 。重复以上叠加过程。

这里处理的具体对象是如图 5 中呈阴暗的部分。当 n_k 取较大的正整数时, 用上述平排边界收缩叠加的方法可以避免叠加边界与边界邻近象元值的明显差异。而且对图象中较阴暗的部分进行了多次叠加, 使整幅图象有其完好的效果。

应该指出: 如果局部干扰呈太亮时, 只要将(8)式中的 $R_{k,n} > L_{k,n}$ 改作 $R_{k,n} < L_{k,n}$ 和(9)式中 $n_k = -4, -8, \dots -252$ 即可。照此叠加一次的效果就相当于在局部干扰范围内

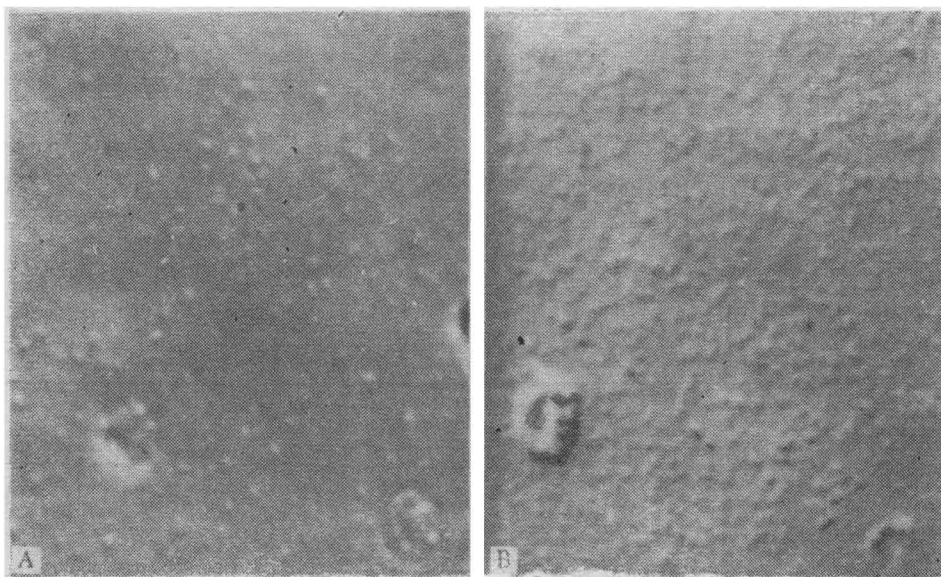


图 4 A: 原图象 B: 原图象

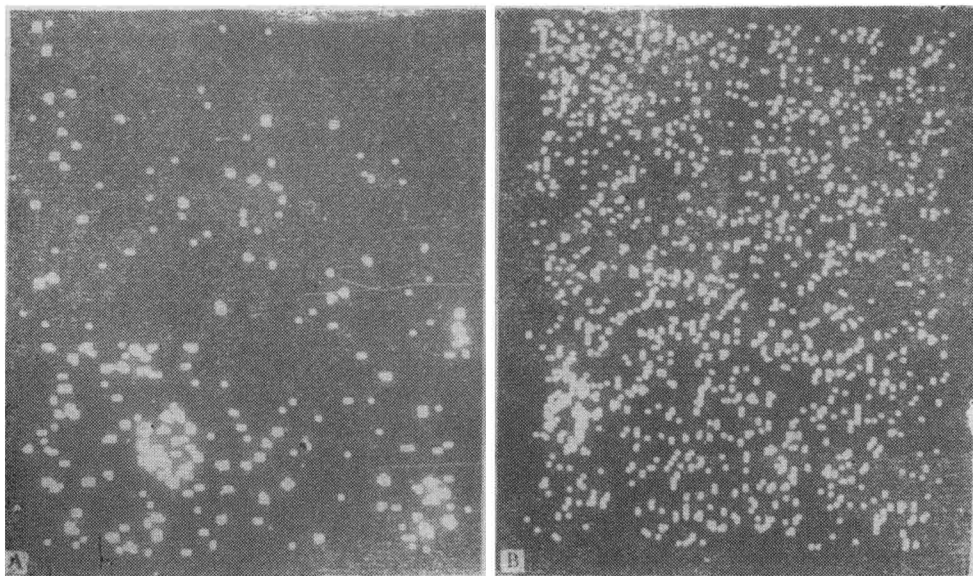


图 5 A: 图 4(A)中有 187 个蛋白颗粒 B: 图 4(B)中有 781 个蛋白颗粒

人血浆 LCAT 活力测定方法的探讨——自身底物法

彭 腾 刘秉文

(华西医科大学生物化学教研室, 成都)

提 要

本文介绍了一种简单快速的人血浆 LCAT 活力测定方法。本方法以血浆本身为底物, 用酶法测定游离胆固醇的降低来反映 LCAT 活力大小。在 37°C 反应 60 分钟, LCAT 活性可达 100nmole/ml/hr 左右。方法测定的灵敏度较高, 重复性好。

卵磷脂胆固醇脂酰转移酶(简称 LCAT)能催化血浆卵磷脂 β 位的不饱和脂酰基转移至游离胆固醇, 生成胆固醇酯和溶血卵磷脂。LCAT 在脂蛋白(简称 HDL)的代谢及胆固醇逆向转运中起重要作用^[1,2]。LCAT 由肝实质细胞制造并分泌入血中发挥作用。测定血浆 LCAT 活力对探讨脂蛋白代谢, 以及与脂蛋白代谢障碍有关的疾病有一定参考意义。

材 料 和 方 法

1. 材料 人血浆, 胆固醇氧化酶 (Boehringer), 辣根过氧化物酶 (Sigma), 胆固醇 (Serva), ApoA₁ 本室制备。

2. Nagasaki 显色剂 由 0.27% 4-氨基氨基替比林-0.4% Triton X-100:0.68% 苯酚: 胆固醇氧化酶: 辣根过氧化物酶按 30ml:30ml:

薄薄地贴了一层。

下面是 $n_k = 64$ 时, 处理前后的二幅图象见封 2 图 3。

4. 一个图象分析的实例

分析的对象是: 在一个细胞分裂为两部分相对应的部位上, 取同样大小的面积。对该面积上蛋白颗粒的计数, 以确定这两部分的蛋白颗粒的分布密度比。

处理和步骤的步骤为: 增强反差、锐化、二值化。对补洞后的二值图象计算其欧拉数^[3,4]。用 8 点邻域来补洞。分析结果: 图 4A 有蛋白颗粒数 187 个, 对应的图 4B 有 781 个。两者蛋白颗粒数的比为 $P = \frac{781}{187} = 4.2$ 。这一分析结果给有关研究者提供了定量分析细胞结构的依据。

三、讨 论

用这种被称为启发式的方法来处理和析超微结构的图象具有一定的灵活性。可以在逐步处理和析的过程中得到较为满意的结果。但是, 受人因素为影响。有待简化人机对话

的过程以提高处理速度。

以上处理和析的结果均为室内自然光象输入。光线的不均匀将影响图象的清晰度, 以致有损于处理和析的结果。但是, 对同等条件下处理和析一对进行比较的图象来说, 仍不失其可靠性。

在图象分析实例中, 有众多的蛋白颗粒堆积在一起时, 现在还无法将其分开。本文只将其算作一个颗粒。为了精确起见, 仍可用常规的统计方法, 以蛋白颗粒的平均面积去除堆积在一起的面积就得到了它的颗粒数。或者干脆将它剔除掉, 再进行计数。

参 考 文 献

- [1] Rosenfeld, A. et al.: 《数字图象处理》, (余英林等译), 人民邮电出版社, 北京, 1982 年。
- [2] Gonzalez, R. C. et al.: 《数字图象处理》, (李淑梁等译), 科学出版社, 北京, 1982 年。
- [3] Serra, J.: *Image Analysis And Mathematical Morphology*, London, Academic Press, 1982.
- [4] Duda R. O. et al.: *Pattern Classification and Scene Analysis*, Wiley, New York, 1973.

[本文于 1987 年 5 月 15 日收到]

杜林芳等：“电子显微镜图象处理与分析中的几个问题”一文中的图 1—3

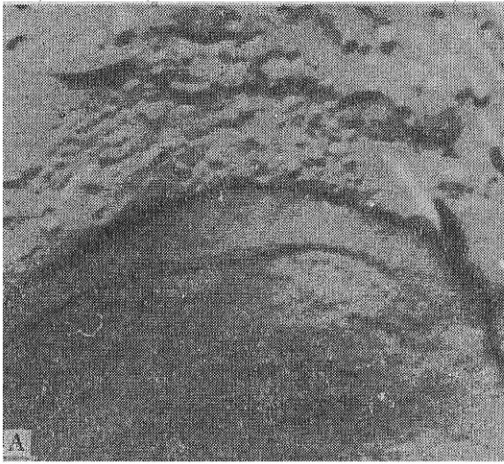
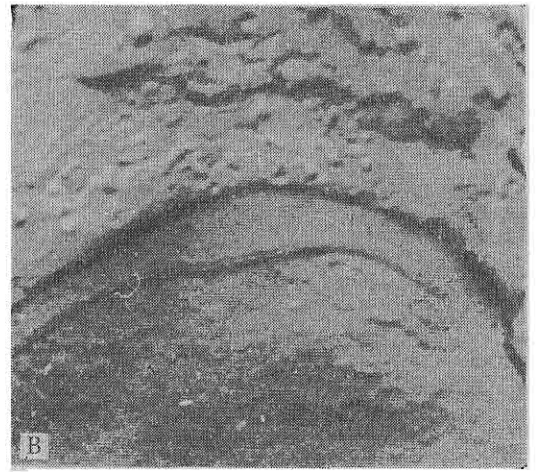


图 1 A: 右上方呈黑白污点的原图



B: 经过修改后的图象

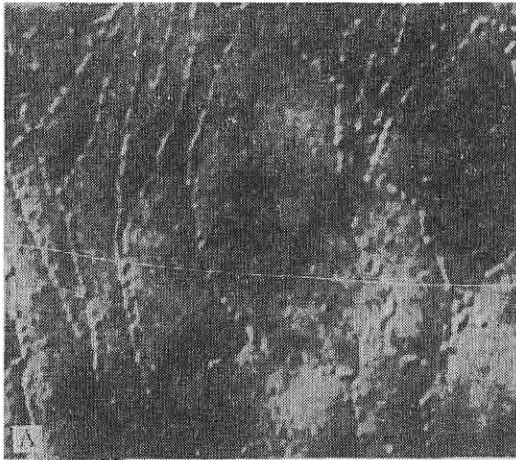
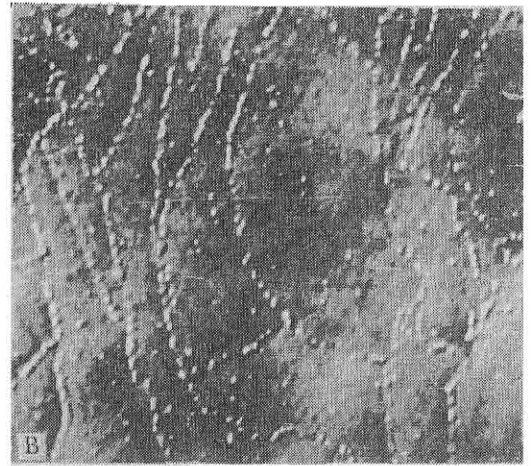


图 2 A: 原图象



B: 处理后的图象

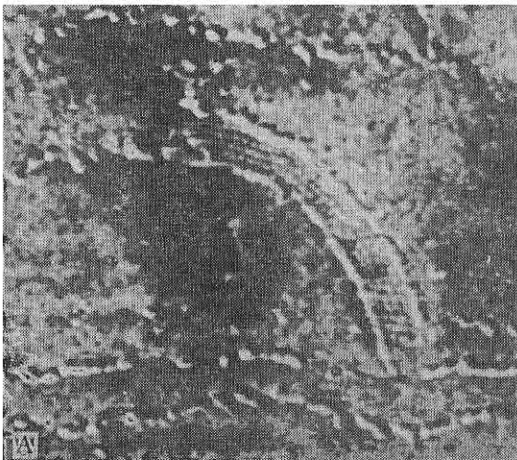
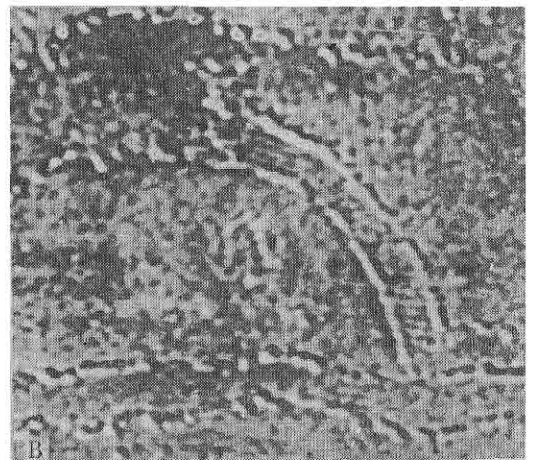


图 3 A: 原图象



B: 叠加处理后的图象