

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-13

**NUCLEPHASER: ГЛУБОКОЕ ОБУЧЕНИЕ ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОГО МОНИТОРИНГА
КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ*****NUCLEPHASER: DEEP LEARNING FOR REAL-TIME CELL POPULATIONS MONITORING**

Н. С. Волошин¹, Е. В. Путляев^{1,2}, Е. С. Чечехина¹, В. А. Усачёв¹, М. Н. Карагяур¹,
К. Д. Бозов¹, О. А. Григорьева¹, П. А. Тюрин-Кузьмин¹, К. Ю. Кулебякин¹

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

²Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Москва

N. S. Voloshin¹, E. V. Putlyaev^{1,2}, E. S. Chechekhina¹, V. A. Usachev¹, M. N. Karagyaour¹,
K. D. Bozov¹, O. A. Grigorieva¹, P. A. Tyurin-Kuzmin¹, K. Y. Kulebyakin¹

¹Lomonosov Moscow State University

²N. M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow

✉ voloshinns@my.msu.ru

Аннотация

NuclePhaser — инструмент обнаружения ядер клеток на микроскопных изображениях в проходящем свете. С его помощью возможно без фиксации и окрашивания оценить скорость роста клеточной популяции или автоматически отследить одиночные клетки. Преимуществом метода является быстрая калибровка и оценка точности на конкретных изображениях. NuclePhaser опубликован в открытом доступе в формате плагина к Napari (<https://github.com/nikvo1/napari-nuclephaser>).

Abstract

NuclePhaser is a tool for detecting cell nuclei on brightfield microscopic images. With its help, it is possible to estimate the growth rate of a cell population without fixation and staining, or to automatically track single cells. The advantage of this method is the rapid calibration and evaluation of accuracy on specific images. NuclePhaser is an open-source tool published in the format of a plugin to Napari (<https://github.com/nikvo1/napari-nuclephaser>).

Микроскопия является широко распространенным подходом в биологических исследованиях. Однако большинство методов микроскопии требуют фиксации или окрашивания образцов, что может нарушить динамику клеточных процессов и повлиять на результаты эксперимента. В свою очередь, микроскопия в проходящем свете (например, фазово-контрастная микроскопия) позволяет наблюдать за клетками с минимальным внешним воздействием, однако она создает изображения с низким контрастом, которые затруднительно анализировать автоматически.

Для решения этой проблемы создана система NuclePhaser, основанная на алгоритмах обнаружения объектов YOLO. Модели NuclePhaser детектируют клеточные ядра на микроскопных изображениях в проходящем свете, что позволяет решать такие задачи, как мониторинг роста клеточной популяции или автоматический трекинг одиночных клеток.

Для обучения моделей был создан обширный датасет, включающий более 100 000 изображений размером 640 × 640 пикселей и более 3 миллионов размеченных ядер. Большое количество изображений было получено с помощью вспомогательной модели обнаружения ядер на изображениях с флуоресцентной окраской, которая позволила автоматически разметить данные. Датасет охватывает четыре типа клеточных культур: CHO, HEK293, iPSC и MCK. Для повышения генерализации моделей были использованы различные условия съемки (разные микроскопы, камеры, увеличения) и аугментации, имитирующие различные настройки и артефакты микроскопа (неидеальный фокус, шум, изменяющееся освещение и др.)

С помощью полученного большого датасета были обучены модели YOLOv5 и YOLOv11. Лучшие показатели продемонстрировала модель YOLOv5l: mAP 0.5 — 0,8776, максимальный F1 — 0,8349, precision при максимальном F1 — 0,8732, recall при максимальном F1 — 0,7998.

Важным параметром применения моделей обнаружения объектов является порог достоверности (confidence threshold), от которого напрямую зависит, сколько объектов на изображении будет обнаружено. Мы разработали

* Исследование выполнено при поддержке Некоммерческого фонда поддержки науки и образования «Интеллект».

© Н. С. Волошин, Е. В. Путляев, Е. С. Чечехина, В. А. Усачёв, М. Н. Карагяур, К. Д. Бозов, О. А. Григорьева, П. А. Тюрин-Кузьмин, К. Ю. Кулебякин, 2025

несколько вариантов алгоритмов калибровки данного параметра, с помощью которого можно подстраивать модели под конкретный набор изображений. При наличии большого размеченного изображения возможно также оценить точность модели после калибровки, что позволяет быть уверенным при использовании алгоритма на конкретном наборе данных.

Для проверки того, как модели справляются на реальных данных, мы использовали датасет LIVECell, состоящий из изображений 8 типов клеток, отличающихся от клеток в обучающем датасете и снятых на другом микроскопе. Мы протестировали способность моделей определять количество клеток на изображении, что используется при решении задачи оценки скорости роста клеточной популяции. Минимальная точность (определенная как 100 — средняя абсолютная процентная ошибка) среди 8 типов клеток составила 85,1 %, в то время как для клеток SK-BR-3 точность составила 96,9 %.

Мы также проверили, как модели справляются с трекингом одиночных клеток при помощи датасетов CellTrackingChallenge. На датасетах с фазово-контрастными изображениями клеток U373 в 3 из 4 фильмах достигнута точность трекинга 100 %, в то время как в оставшемся фильме точность составила 71,43 %.

Для повышения доступности наших разработок для широкого круга пользователей мы опубликовали NuclePhaser в формате плагина для Napari (<https://github.com/nikvo1/napari-nuclephaser>). В нем исследователи могут применить обученные модели к своим изображениям без использования кода, а также откалибровать и оценить точность моделей с использованием готовых алгоритмов.

Основными преимуществами NuclePhaser являются:

- способность применения к изображениям любого размера (за счет использования методов sliced inference);
- возможность калибровки и оценки точности на конкретных случаях;
- высокая генерализация за счет использования различных клеток и условий съемки на этапе создания датасета, а также аугментаций на этапе обучения моделей;
- высокая скорость работы без использования графических процессоров.

Таким образом, NuclePhaser (<https://github.com/nikvo1/napari-nuclephaser>) — удобный и надежный инструмент, позволяющий решать задачи мониторинга клеточных популяций по изображениям микроскопии в проходящем свете.