ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ОБРАБОТКИ ИЗОБРАЖЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА.

Миронов С.В., Дудкин К.Н., Самойлов М.О.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Для обработки результатов электрофоретического анализа была модифицирована информационная система для автоматического анализа цитогенетических изображений, разработанная ранее. С этой целью разработан метод ввода гель электрофоретических изображений в компьютер, и созданы новые алгоритмы для измерения оптической плотности и пространственных координат (молекулярного веса) полипептидных фракций (белков), выделенных посредством электрофореза, а также алгоритмы для организации базы данных измерений.

С целью изучения процессов продукции и выделения пептидов из нервных клеток использовали метод электрофореза в полиакриламидном геле по стандартной методике [3] с последующим окрашиванием полипептидов серебром. Для обработки результатов электрофоретического анализа была модифицирована информационная система (ИС) для автоматического анализа цитогенетических изображений, разработанная ранее [1, 2]. С этой целью был разработан метод ввода гель электрофоретических изображений в компьютер и созданы новые алгоритмы для измерения оптической плотности и пространственных координат (молекулярного веса) полипептидных фракций (белков), выделенных посредством гель электрофореза. Были разработаны алгоритмы, позволившие на основе полученных измерений создать базу электрофоретических данных. Таблицы базы данных содержат не только результаты измерений оптической плотности и пространственных координат фракций полипептидов, но и результаты их математической обработки, для которой были использованы различные статистические программы, в частности, многофакторный дисперсионный анализ (MANOVA).

Изображение геля в этих сериях эксперимента представляло собой рисунок PCX с 256 градациями яркости, полученный при помощи сканера Scan Jet 4c. Изображение содержало обычно 15 столбцов (рис. 1) – три из них являлись стандартными, остальные двенадцать – результатами экспериментов (окраской в состоянии нормы и трех серий измерений, разделенных во времени). Изображение загружалось с помощью соответствующей кнопки ВЫБОР РИС на управляющей панели программы. Далее происходил ввод исходных экспериментальных данных для обработки изображения, состоящий из двух этапов. Первый заключался в расстановке на рисунке точек (рис. 2), соответствующих определенной молекулярной массе в соответствии с окраской столбцов стандарта. Посредством этой процедуры вводилась количественная весовая шкала для вертикальной координатной оси рисунка. На втором этапе (рис. 3) осуществлялось разделение рисунка на столбцы, соответствующие экспериментальным временным выборкам измерений) и ввод «строчек» (областей геля с одинаковой молекулярной массой, необходимых для проведения анализа).

Таблица 1 содержит пример обработки результатов электрофоретического анализа, полученных в эксперименте при изучении эффекта прекондиционирующей кратковременной аноксии на процессы продукции и выделения пептидов из нейронов обонятельной коры мозга крыс вслед за долговременной аноксией и влияния на эти процессы блокады NMDA-рецепторов. Результаты обработки и анализа содержатся в следующих иллюстрациях:

обработанное изображение геля с расширением BMP (рис. 4), содержащее пятнадцать столбцов – экспериментальных выборок, полученных в определенные интервалы времени, разделенных по соответствующим «строчкам» (области окрашены на рисунке в соответствии с их оптической плотностью);

вектор молекулярных масс геля с расширением MAS;

матрица параметров столбцов геля с расширением STB (табл. 2);
пятнадцать файлов (по числу столбцов геля) с расширениями 001, 002 и т.д. с параметрами для каждой «строчки» (табл. 3).
После завершения этапа обработки гелей формируются сводные файлы данных для одинаковых опытов с целью их дальнейшей статистической обработки и многофакторного дисперсионного анализа посредством экспорта их в специализированные программы (Statistica 7.0, Statgraphics 5). На рис. 5 приведен пример такой обработки для опыта с десятиминутной аноксией. С помощью этого математического метода на срезах обонятельной коры мозга крыс при воздействии на них таких экспериментальных факторов, как аноксия и блокатор NMDA-рецепторов (APV), были выявлены изменения по сравнению с контролем. Специфика модификаций белковых фракций зависела от того и другого фактора: длительности аноксии и от воздействия APV.
Разработанная ИС, создает возможности для выявления новых данных о генетических и молекулярно-клеточных механизмах физиологических систем. Результаты, полученные с ее помощью, имеют теоретическое и практическое значение для проблем, входящих в научные направления по изучению физиологических механизмов адаптации организмов. Они обеспечивают новое понимание структурно-функциональных перестроек клеточного генетического аппарата и систем внутриклеточной регуляции нейронов в условиях стресса.

| Литература

1. *Дудкин К.Н., Миронов С.В., Дюжикова Н.А., Лопатина Н.Г.* Информационная система для автоматической обработки цитогенетических данных: анализ интерфазного хроматина нервных клеток мозга эмбрионов крыс с различной возбудимостью нервной системы. Цитология. 41(3): 237-249. 1999.
2. *Дудкин К.Н., Миронов С.В.* Использование модели зрительной сегментации изображений в информационной системе для автоматической обработки, накопления и статистического анализа цитогенетических данных. Информационно-вычислительные технологии в решении фундаментальных научных проблем и прикладных задач химии, биологии, фармацевтики, медицины. 2002 1-10. http://www.ncgroup.ru/conference/enter/r_pdf/dok-038.pdf
3. *Остерман Л.А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. 1981.

Обработка электрофоретических гелей

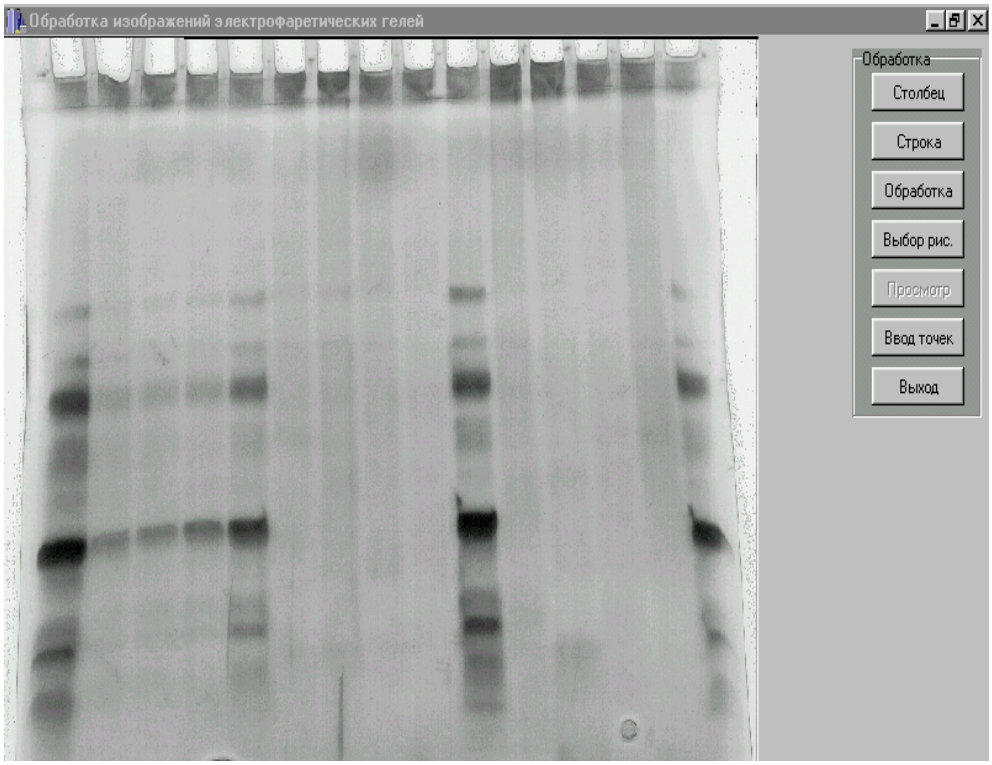


Рис. 1. Исходное изображение геля. Остальные пояснения в тексте.

Обработка электрофоретических гелей

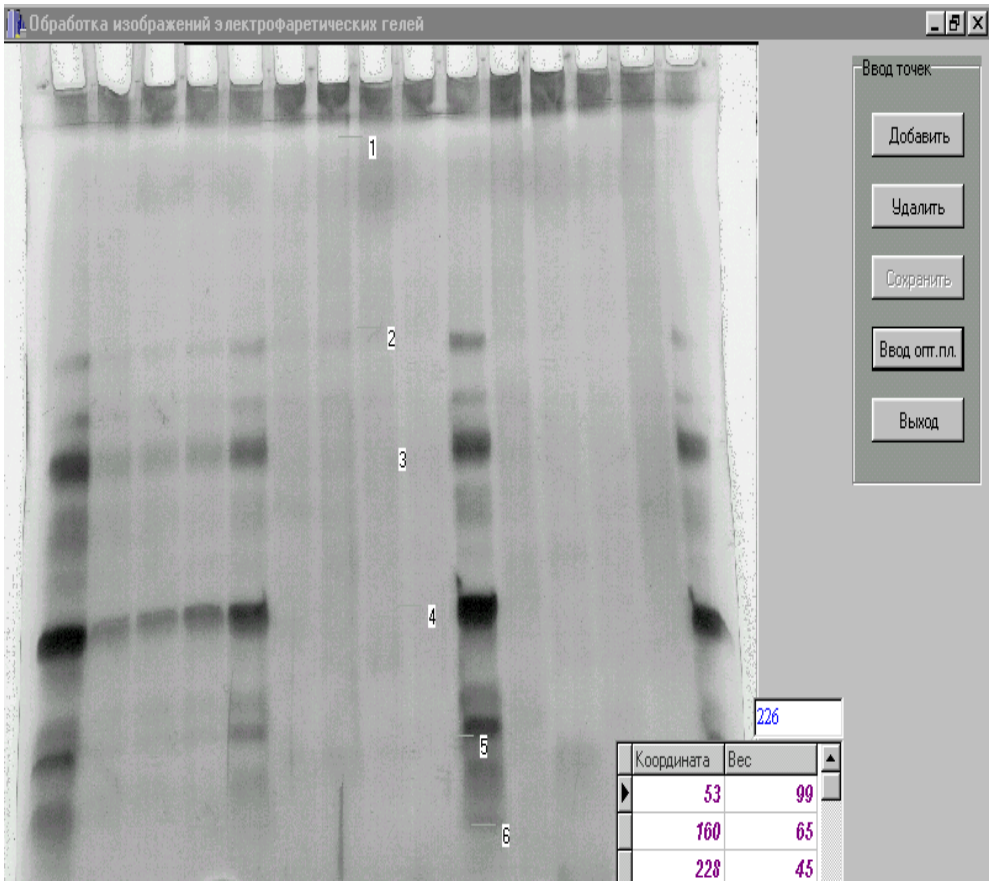


Рис. 2. Ввод весовой шкалы для столбцов геля. Пояснения в тексте

Обработка электрофоретических гелей

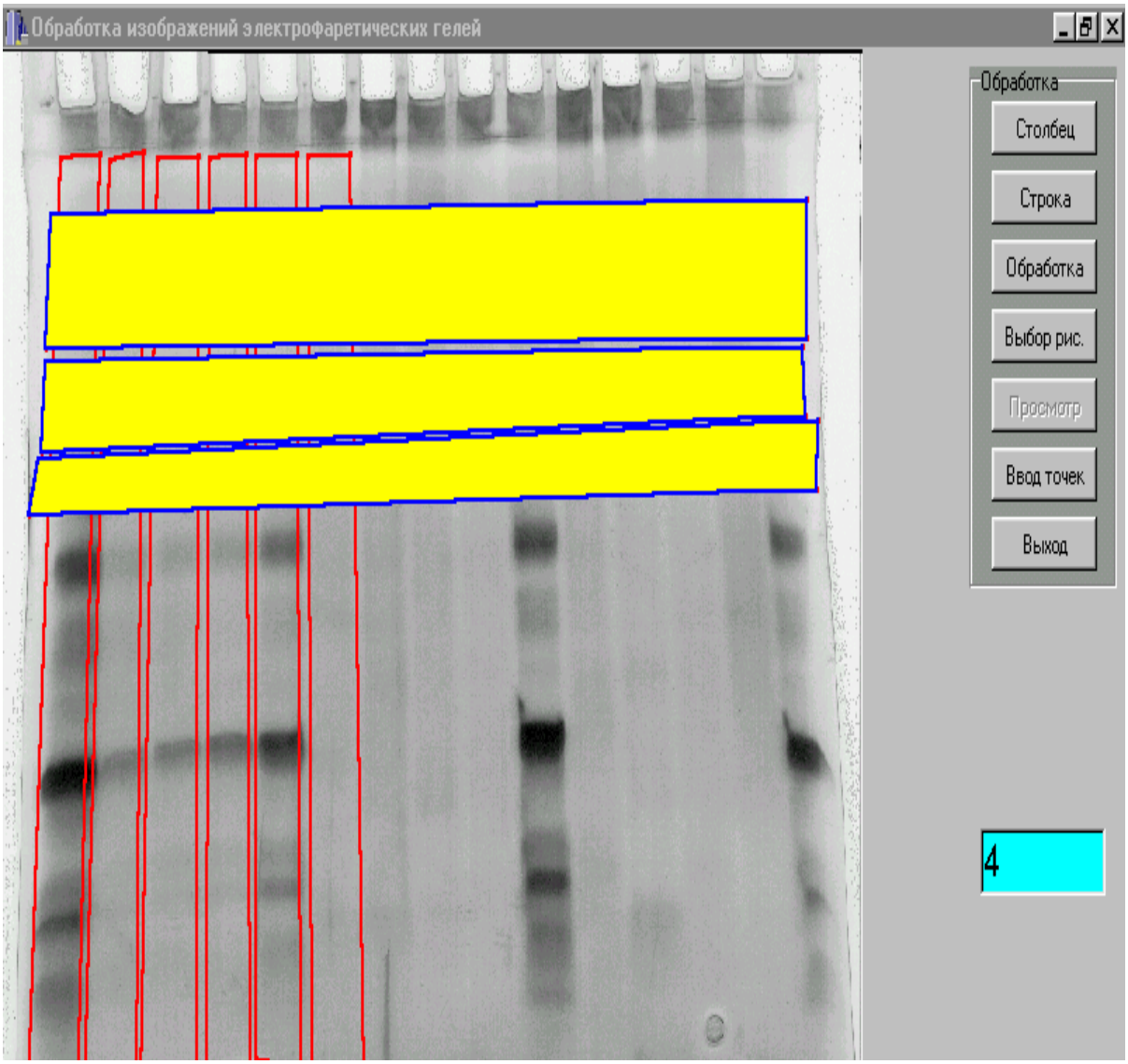
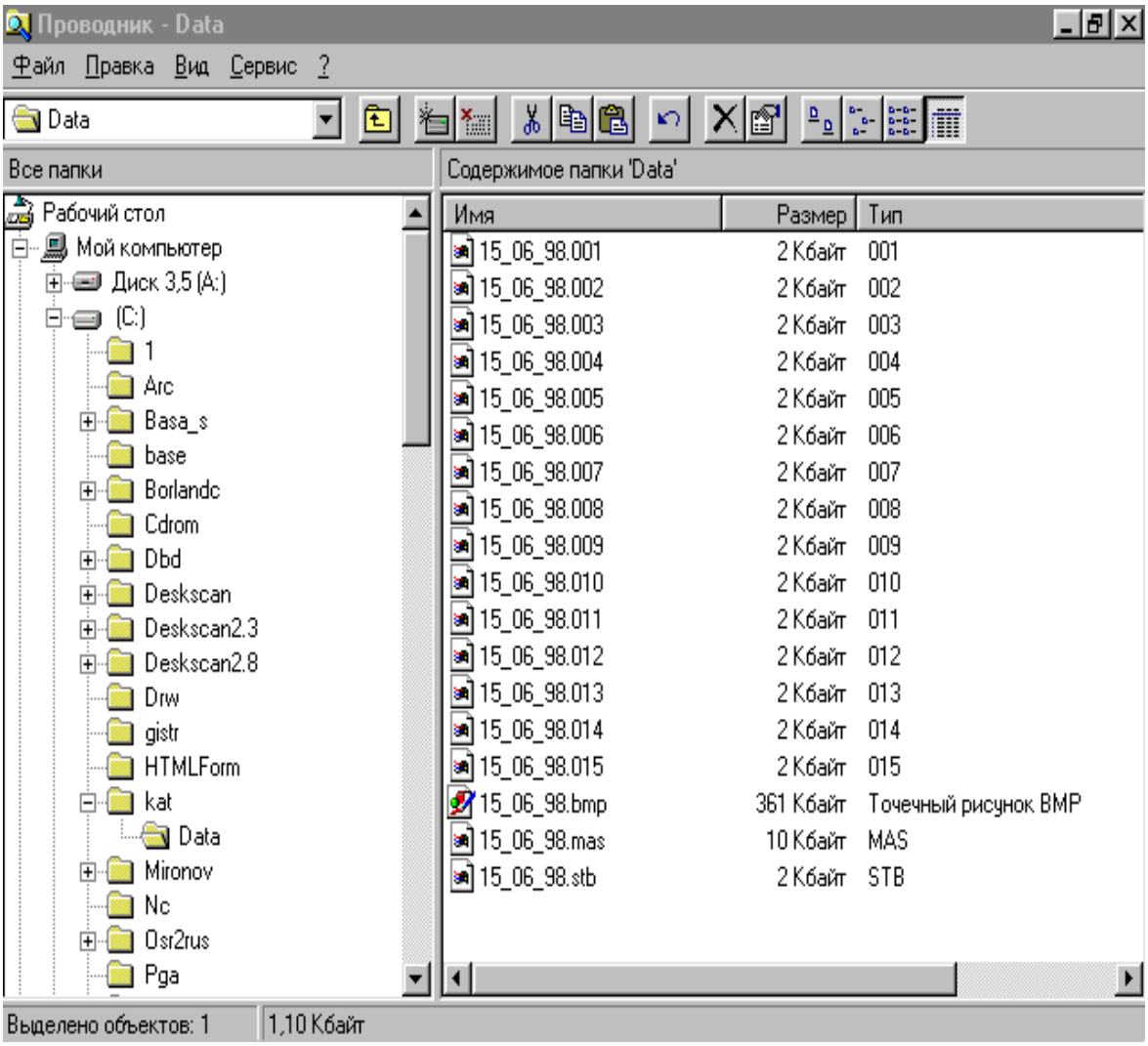


Рис. 3. Разделение изображения на столбцы и «строчки». Пояснения в тексте.

Таблица 1

Обработка электрофоретических гелей



Структура файлов – результатов работы программы. Остальные пояснения в тексте

Обработка электрофоретических гелей

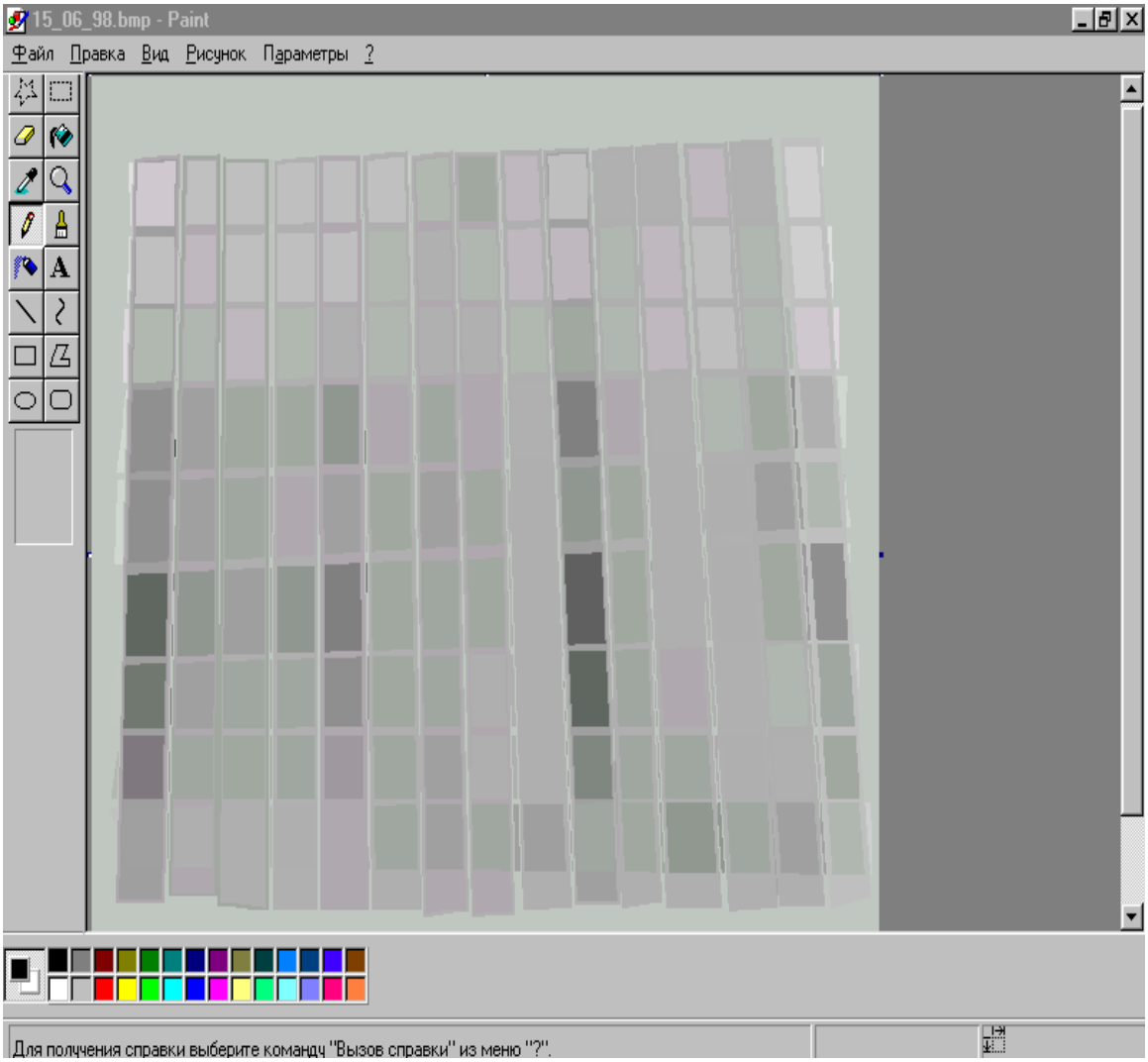


Рис. 4. Изображение всех областей геля. Остальные пояснения в тексте.

Таблица 2

Обработка электрофоретических гелей

15_06_98.stb - WordPad

Файл Правка Вид Вставка Формат ?

AREA	y1	y2	x1	x2	y0	x0	OPT_D	OPT_R	MIN_D	MAX_D	LEN_D	koef_D	odvar	odskew	odkurt
15340	52	518	21	66	330	42	0.6600	0.6600	0.0043	1.0086	1.0043	0.6838	0.0495	-0.1813	0.8084
13640	52	514	62	97	325	81	0.7343	0.7343	0.2318	0.8884	0.6567	0.7712	0.0082	-0.8309	3.9882
15914	54	523	100	135	334	118	0.7514	0.7514	0.4936	0.9013	0.4077	0.6526	0.0030	0.0728	1.7928
14340	53	523	143	173	335	158	0.7503	0.7503	0.3777	0.9270	0.5494	0.7031	0.0036	-0.5226	4.2123
14386	52	523	179	212	339	194	0.7074	0.7074	0.2060	0.9185	0.7124	0.7530	0.0099	-0.7205	3.0563
15611	50	523	213	254	337	233	0.7533	0.7533	0.5365	0.9313	0.3948	0.5543	0.0027	0.2631	1.6532
14035	50	527	251	290	335	270	0.7338	0.7338	0.5193	0.9356	0.4163	0.5258	0.0029	0.2178	1.8918
14304	50	527	284	326	334	306	0.7449	0.7449	0.4378	0.8927	0.4549	0.6698	0.0024	-0.0331	1.8265
14682	49	523	320	370	330	345	0.7588	0.7588	0.3176	0.9056	0.5880	0.7299	0.0060	-0.6918	3.6757
14822	48	519	353	408	313	382	0.6420	0.6420	0.0601	0.9442	0.8841	0.7282	0.0251	-0.4435	1.2963
13047	46	521	391	440	311	416	0.7489	0.7489	0.6652	0.8841	0.2189	0.4118	0.0018	0.2388	0.8894
16434	44	521	424	487	323	455	0.7504	0.7504	0.5837	0.8927	0.3090	0.5278	0.0046	-0.0071	0.7558
15348	44	524	462	530	320	497	0.7708	0.7708	0.3605	0.9013	0.5408	0.7540	0.0030	-0.4013	3.4564
14816	42	520	497	567	309	533	0.7484	0.7484	0.6309	0.8670	0.2361	0.4909	0.0036	0.0576	0.7158
12949	41	521	537	602	295	570	0.7861	0.7861	0.1416	1.0043	0.8627	0.7811	0.0177	-0.8714	3.8266

Для вывода справки нажмите клавишу F1

Файл параметров столбцов геля. Пояснения в тексте.

Таблица 3

Обработка электрофоретических гелей

15_06_98.001 - WordPad

Файл Правка Вид Вставка Формат ?

AREA	y1	y2	x1	x2	y0	x0	ves1	ves2	ves	OPT_D	OPT_R	MIN_D	MAX_D	LEN_D	koef_D	odvar	odskew	odkurt
1199	53	93	35	65	73	50	97.16	86.67	91.80	0.8798	1.3330	1.0994	1.4224	0.3230	0.5385	0.0027	0.3556	1.3619
1266	100	142	33	64	121	48	84.84	73.82	79.19	0.8369	1.2680	1.0994	1.3727	0.2733	0.4091	0.0017	0.4754	1.5720
1382	147	192	32	62	169	47	72.51	58.34	66.00	0.7983	1.2095	0.8820	1.3416	0.4596	0.5946	0.0050	-0.2380	1.2891
1570	197	249	30	61	223	45	56.54	40.56	47.68	0.6266	0.9494	0.2981	1.3292	1.0311	0.5904	0.0949	-0.1202	0.3113
1613	254	306	28	60	280	44	39.44	27.89	33.64	0.6137	0.9299	0.6149	1.2857	0.6708	0.4074	0.0356	0.1627	0.3419
1621	313	365	27	58	338	42	26.33	19.16	22.51	0.4378	0.6633	0.0062	1.2484	1.2422	0.5050	0.2579	-0.0289	0.0758
1274	370	410	25	57	390	41	18.52	12.76	15.72	0.5236	0.7933	0.3354	1.2484	0.9130	0.4626	0.0576	0.0502	0.1951
1230	416	454	24	56	435	39	11.92	8.82	10.36	0.5365	0.8128	0.5590	1.0435	0.4845	0.4487	0.0128	0.0571	0.2185
1168	461	498	23	54	479	39	8.24	5.22	6.76	0.6953	1.0534	0.6770	1.1801	0.5031	0.6543	0.0029	-0.1363	1.3994

Для вывода справки нажмите клавишу F1

Файл параметров первого столбца геля. Пояснения в тексте.

Обработка электрофоретических гелей

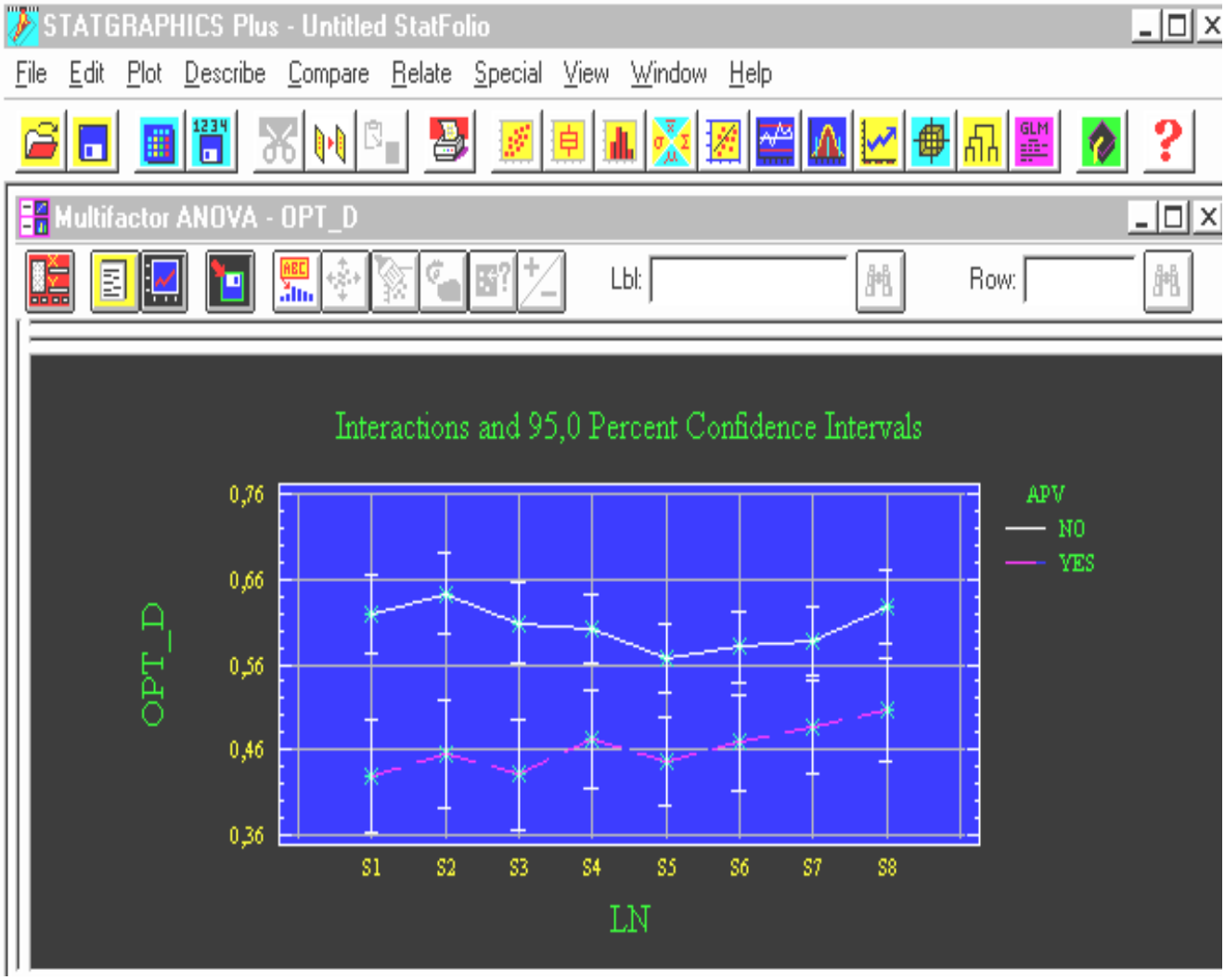


Рис. 5. Пример многофакторного дисперсионного анализа. Зависимость оптической плотности от молекулярной массы вещества после воздействия APV (YES) и без APV (NO). По оси абсцисс: молекулярная масса вещества; по оси ординат: оптическая плотность в отн. ед.