

Marcin Skoczylas<sup>1,2</sup>, Roberto Cherubini<sup>1</sup>, Silvia Gerardi<sup>1</sup>

## AUTOMATIC DETECTION OF UNSTAINED VIABLE CELLS IN PHASE-CONTRAST MICROSCOPE IMAGES

**Abstract:** Irradiation of cultured mammalian cells one-by-one with a known number of ions, down to one-ion per single-cell, is a useful experimental approach to investigate the low-dose ionizing radiation exposure effects and to contribute to a more realistic human cancer risk assessment. Mammalian cells (specifically, Chinese hamster V79 cells) are seeded and grown as a monolayer on a mylar surface used as bottom of the special designed holder, having as cover an other mylar foil and allowing the cell culture to be in wet and sterile conditions. Manual recognition of unstained cells in bright-field is a time consuming procedure, therefore a parallel algorithm has been conceived and developed in order to speed-up this step of the irradiation protocol and increase the number of cells that can be irradiated during an accelerator run. Many technical problems have been faced to overcome the complexity of the images to be analyzed. The unstained cells have to be discriminated in an inhomogeneous background, among many disturbing bodies mainly due to the mylar surface roughness and culture medium. Additionally, cells can have various shapes depending on how they attach on the surface, which phase of the cell cycle they are in and on cell density, thus making the detection task more difficult.

**Keywords:** unstained cell recognition, charged-particle microbeam, image analysis

---

<sup>1</sup> Laboratorio di Radiobiologia, INFN-Laboratori Nazionali di Legnaro, Legnaro-Padova, Italy

<sup>2</sup> Faculty of Computer Science, The Białystok Technical University, Białystok, Poland

## **AUTOMATYCZNA DETEKcja ŻYWYCH KOMÓREK NIEBARWIONYCH W OBRAZACH WYKONANYCH MIKROSKOPEM FAZOWO-KONTRASTOWYM**

**Streszczenie:** Precyzyjne napromieniowywanie żywych komórek biologicznych z użyciem znanej liczby jonów (z dokładnością do pojedynczej cząstki) pozwala na badanie efektów niskiej dawki promieniowania oraz dostarcza unikalnych danych służących ocenie ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej jako konsekwencji ekspozycji na niskie dawki promieniowania jonizującego. Komórki ssaka (dokładniej chomika chińskiego, komórki V79) są hodowane w jednej warstwie na powierzchni folii wykonanej z cienkiego mylaru, użytej jako dolna część specjalnie do tego celu zaprojektowanej szalki, posiadającej jako przykrycie kolejną, wierzchnią warstwę folii, umożliwiając komórkom przebywanie w sterylnym otoczeniu. Płytkę z komórkami jest skanowana pod mikroskopem, komórki są identyfikowane przez operatora oraz zapisywane są ich współrzędne; po tej procedurze próbka jest przesuwana z mikroskopu pod wiązkę i komórki są automatycznie napromieniowywane. Ręczne rozpoznawanie komórek niebarwionych w obrazach uzyskanych mikroskopem fazowo-kontrastowym jest bardzo czasochłonną procedurą, dlatego został zaprojektowany oraz zaimplementowany równoległy algorytm, aby przyspieszyć ten krok protokołu radiacji oraz by zwiększyć ilość komórek które mogą zostać napromieniowane w pojedynczym eksperymencie, którego czas powinien być skrócony do minimum. Napotkano wiele problemów w przewyciężeniu trudności analizy tego rodzaju obrazów. Komórki niebarwione muszą zostać rozróżnione na niejednorodnym tle, pośród wielu dodatkowych obiektów, pochodzących głównie ze struktury folii mylar oraz środowiska w którym żyją komórki. Dodatkowo, kształty komórek są bardzo zróżnicowane, w zależności od sposobu w jaki przyczepiają się do powierzchni, w jakim cyklu komórkowym aktualnie przebywają oraz ich gęstości, powodując iż rozwiązanie problemu rozpoznawania ich jest trudnym zadaniem.

**Słowa kluczowe:** rozpoznawanie komórek niebarwionych, mikrowiązka jonowa, analiza obrazu

Artykuł zrealizowano w ramach grantu MRTN-CT-2003-503923.