

Автоматизированный анализ фаз клеточного цикла раковых клеток по микроскопическим изображениям с использованием глубокого обучения

Михайлов Г. Н.¹

Научный руководитель – канд. техн. наук, Борисова Ю. И.¹

¹Университет ИТМО

mikhaylov@niuitmo.ru

Введение

Эффективность радиотерапии колоректального рака во многом зависит от киназы CDK8, ингибирование которой значительно повышает радиочувствительность клеток [2]. Традиционная оценка клеточного цикла методом проточной цитометрии ресурсозатратна, поэтому для ускорения исследований активно внедряется анализ микроскопических изображений методами глубокого обучения [1, 7]. Это открывает новые пути для персонализированной онкологии [3, 4]. Однако базовые ИИ-модели часто не справляются с сильными радиационно-индуцированными морфологическими аномалиями клеток, что требует разработки специализированных алгоритмических решений для корректного анализа таких экспериментов.

Основная часть

В работе предложен комплексный подход к автоматической классификации фаз клеточного цикла раковых клеток линии HCT116 дикого типа и с нокаутом гена CDK8. Экспериментальная модель включала облучение клеток дозами 0, 2, 4, 6, 8 и 10 Гр с последующим анализом через 24 и 48 часов. Разработанный программный конвейер состоит из трех основных этапов: сегментация клеток с использованием нейросетевой модели Cellpose [6], извлечение морфометрических признаков и классификация фаз клеточного цикла методами машинного обучения.

Для сегментации ядер клеток применена предобученная модель Cellpose 2.0 [6] — универсальный алгоритм клеточной сегментации, демонстрирующий высокую точность на разнородных типах изображений. Модель адаптирована для анализа флуоресцентных микроскопических снимков с оптимизированными параметрами потоковых порогов, что обеспечило точное выделение более 12 тысяч отдельных клеток из экспериментальных изображений. Для каждой сегментированной клетки извлечено 30 морфометрических параметров, включая площадь ядра, периметр, форм-фактор, эксцентриситет и текстурные характеристики интенсивности ДНК-специфичного окрашивания [7].

Классификация фаз SubG1, G1, S и G2M реализована на основе комбинированного подхода. Базовое разделение выполняется путем анализа интегральной яркости пикселей в области ядра, которая прямо коррелирует с количеством ДНК в клетке. Для автоматического нахождения пороговых значений между фазами использовался метод сглаживания гистограммы распределения яркости (Kernel Density Estimation), позволяющий выделить пики, соответствующие наборам хромосом 2n (фаза G1) и 4n (фаза G2/M). Дополнительно применяется сверточная нейронная сеть для уточнения классификации в спорных случаях, что минимизирует шум в предсказаниях [1].

Валидация разработанного метода проведена путем сопоставления с данными проточной цитометрии. Для клеток дикого типа при дозе облучения 4 Гр алгоритм детектировал 22,9 процента клеток в фазе SubG1, что полностью соответствует результатам проточной цитометрии. Для клеток с нокаутом CDK8 при дозе 10 Гр доля клеток в фазе SubG1 составила 48,1 процента по обоим методам. Анализ продемонстрировал, что нокаут CDK8 приводит к значительному увеличению доли клеток в фазе SubG1 после облучения — с 36,3 процента у дикого типа до 48,1 процента

у мутанта при дозе 10 Гр, что свидетельствует о повышенной радиочувствительности клеток с выключенным геном CDK8.

Выводы

Разработанная система автоматической детекции фаз клеточного цикла демонстрирует высокую согласованность с эталонным методом проточной цитометрии [5] и может быть применена для высокопроизводительного анализа радиобиологических экспериментов [3]. Программный комплекс реализован на языке Python с использованием библиотек Cellpose [6], PyTorch, OpenCV и scikit-image, что обеспечивает его воспроизводимость и возможность адаптации для других клеточных линий. Практическое применение включает ускоренный скрининг соединений, модулирующих радиочувствительность опухолевых клеток. Дальнейшее развитие предполагает расширение обучающей выборки с использованием публичных датасетов [9], интеграцию дополнительных биомаркеров для повышения точности классификации и разработку модуля анализа в реальном времени для встраивания в автоматизированные микроскопические системы [4, 5].

Литература

1. He Y. R., Mei L., Gundlach IV J. H., et al. Cell Cycle Stage Classification Using Phase Imaging with Computational Specificity // ACS Photonics. 2022. Vol. 9, no. 3. P. 819–830.
2. Zhao J., Zheng Z., Wang T., et al. Antagonizing CDK8 Sensitizes Colorectal Cancer to Radiation Through Potentiating the Transcription of e2f1 Target Gene apaf1 // Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2020. Vol. 8. Article 423.
3. Pozzi P., Sirianni R. W., Jorgenson K. W., et al. Artificial intelligence in imaging flow cytometry // Frontiers in Bioinformatics. 2023. Vol. 3. Article 1229052.
4. Wang Y., Huang B., Chen H., et al. Real-time fluorescence imaging flow cytometry enabled by deep learning // Lab on a Chip. 2023. Vol. 23, no. 15. P. 2933–2945.
5. Zhou J., Li Y., Chen Y., et al. Imaging flow cytometry with a real-time throughput beyond 10^6 events per second // Light: Science & Applications. 2025. Vol. 14. Article 54.
6. Pachitariu M., Stringer C. Cellpose 2.0: how to train your own model // Nature Methods. 2022. Vol. 19, no. 12. P. 1634–1641.
7. Matsuoka Y., Tanaka T., Nangaku M. Robust classification of cell cycle phase and biological feature extraction by image-based deep learning // Molecular Biology of the Cell. 2020. Vol. 31, no. 13. P. 1346–1354.
8. Caicedo J. C., Goodman A., Karhohs K. W., et al. Nucleus segmentation across imaging experiments: the 2018 Data Science Bowl // Nature Methods. 2019. Vol. 16, no. 12. P. 1247–1253.
9. Ljosa V., Sokolnicki K. L., Carpenter A. E. Annotated high-throughput microscopy image sets for validation // Nature Methods. 2012. Vol. 9, no. 7. P. 637.

_____ / Михайлов Г. Н.

_____ / Борисова Ю. И.