

Analyse d'images automatisée en imagerie cellulaire FIB-SEM : application à la compaction du génome et au réseau de mitochondries

Contexte

L'imagerie cellulaire dispose depuis peu d'une technologie de pointe qui permet d'atteindre une résolution spatiale isotropique de 3-5 nm grâce à l'action combinée d'un faisceau d'ion focalisé (FIB) destiné à décaper une tranche de l'échantillon de quelques nm d'épaisseur et d'un faisceau d'électron (SEM) consacré à l'imagerie (Bosch et al., 2015 ; De winter et al., 2009 ; Merchán-Pérez et al., 2009).

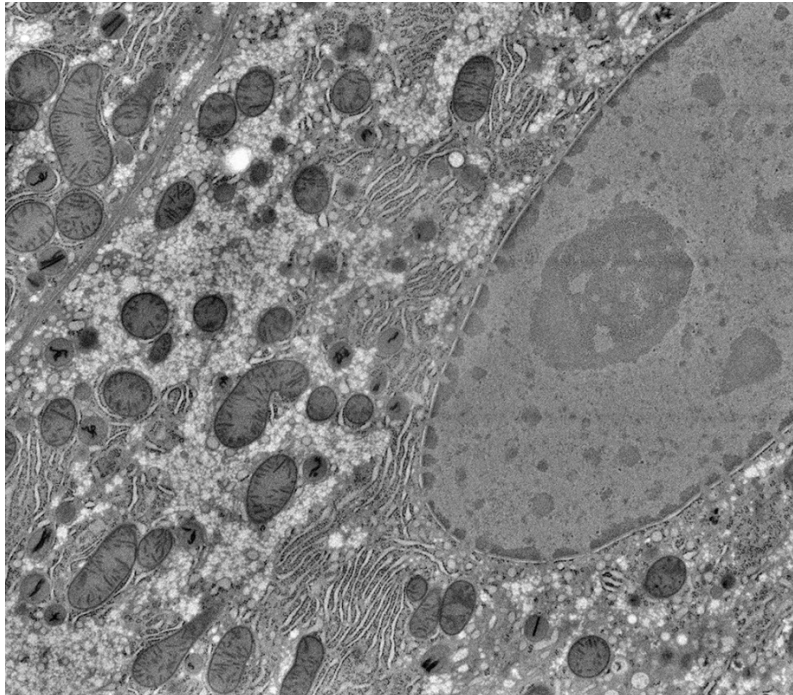


Figure 1 : Image bidimensionnelle d'un échantillon de foie de souris obtenue par la technologie FIB/SEM. Un ensemble d'organelles est visible sur l'image et leur structure tridimensionnelle est révélée par des images successives résolues en z

La technologie FIB/SEM ouvre de nouveaux horizons en biologie (Fig. 1) notamment par la possibilité de quantifier de nombreux paramètres morphologiques et de corréliser ces valeurs avec l'apparition et le développement de maladies humaines ou encore de suivre ces paramètres en fonction de l'administration de candidats médicaments.

Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire de segmenter le plus précisément possible des compartiments cellulaires tels que les mitochondries, le noyau, les différents degrés de compaction de l'information génétique sous forme de chromatine, l'enveloppe nucléaire et les pores nucléaires qui les traversent, et bien d'autres domaines fonctionnels de la cellule.

Au vu du volume important des données, un enjeu important est d'atteindre, par paliers, un haut degré d'automatisation afin que l'opérateur n'ait plus à intervenir dans la segmentation et l'annotation des tomogrammes.

Travail à effectuer

Les méthodes pressenties pour répondre à cette problématique se fondent d'une part sur des techniques de traitement bas-niveau des images, afin de corriger les défauts dus à l'acquisition et réduire le bruit, couplées à des techniques de segmentation qui pourront s'appuyer sur les avancées récentes de la morphologie mathématique (Najman and Talbot, 2010), d'autre part sur des méthodes de plus haut niveau capables d'automatiser l'analyse des images, qui

pourront reposer sur des techniques d'apprentissage supervisé, afin de pallier les inévitables variations morphologiques des objets à détecter.

Les méthodes d'apprentissage utilisées pourront s'appuyer sur les avancées récentes obtenues dans le domaine des réseaux de neurones convolutionnels (Farabet et al. 2013).

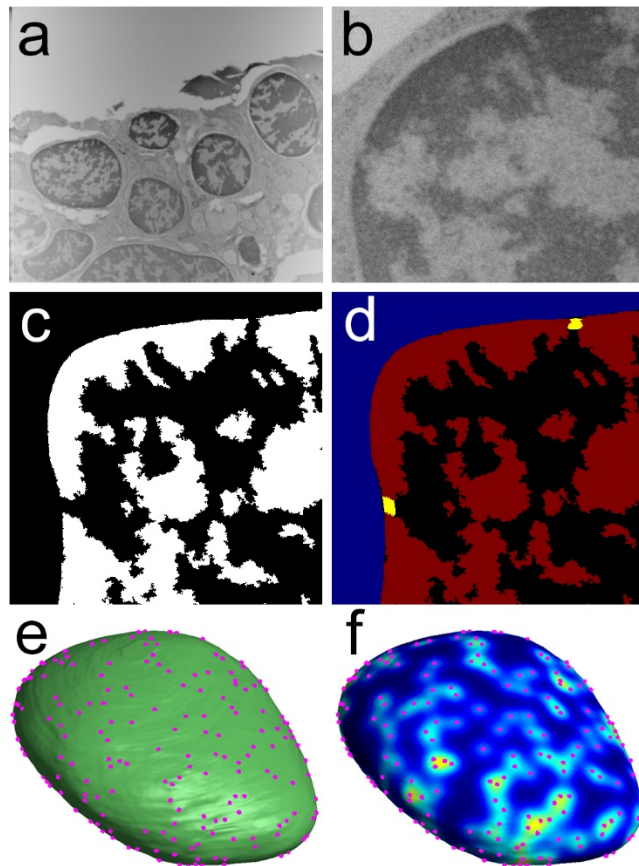


Figure 2 :

a) Image bidimensionnelle d'un échantillon de rétine de souris obtenue par la technologie FIB/SEM.

b) Image agrandie d'un noyau cellulaire montrant les régions compactées du génome (pixels sombres).

c) Segmentation des régions compactes du noyau (pixels blancs)

d) Localisation des pores nucléaires (en jaunes) qui régulent les échanges entre le noyau et le reste de la cellule

e) Représentation 3D du noyau segmenté et des pores nucléaires placés à la surface du noyau (points rose)

f) Modélisation de la distribution des pores nucléaires.

D'un point de vue informatique, l'un des objectifs de cette thèse sera de proposer et de rendre disponible à la communauté scientifique un ensemble d'outils logiciels spécifiques à l'analyse des images FIB/SEM. Les challenges suivants seront à relever :

- développer un ensemble de méthodes robustes, permettant d'automatiser au maximum le processus d'analyse des images. Ces développements pourront se fonder sur la bibliothèque Caffe (Jia 2014) , qui intègre plusieurs algorithmes à l'état de l'art dans le domaine de l'apprentissage profond ;

- développer des algorithmes efficaces capables de traiter des images de très grandes tailles, corollaire d'une résolution spatiale sans égale. A cette fin, l'accès à des ressources de calcul haute performance sera disponible ;

- évaluer la qualité des approches proposées, en les comparant avec les analyses effectuées par des experts.

Applications biologiques

Deux systèmes biologiques principaux seront étudiés : d'une part la compaction du génome dans les cellules. Cette compaction varie d'un type cellulaire à un autre et au cours de la différenciation cellulaire quand une cellule souche se spécialise en un type cellulaire

particulier. La compaction du génome est également affectée au cours de la transformation tumorale et un travail de recherche est engagé sur la transformation des mélanocytes dans les mélanomes. Par ailleurs nous étudierons le réseau de mitochondries dans les cellules normales et différentes lignées cellulaires dans lesquels les fonctions productrices d'énergie associées aux mitochondries sont affectées. Ceci est le cas dans de très nombreuses pathologies humaines regroupées sous le terme de maladies mitochondriales.

Bibliographie

Bosch, C., Martínez, A., Masachs, N., Teixeira, C.M., Fernaud, I., Ulloa, F., Pérez-Martínez, E., Lois, C., Comella, J.X., DeFelipe, J., Merchán-Pérez, A., Soriano, E. (2015). FIB/SEM technology and high-throughput 3D reconstruction of dendritic spines and synapses in GFP-labeled adult-generated neurons. *Front. Neuroanat.* 9, 60.

De Winter, D.A.M., Schneijdenberg, C.T.W.M., Lebbink, M.N., Lich, B., Verkleij, A.J., Drury, M.R., Humbel, B.M. (2009). Tomography of insulating biological and geological materials using focused ion beam (FIB) sectioning and low-kV BSE imaging. *J. Microsc.* 233, 372–383.

Merchán-Pérez, A., Rodríguez, J.-R., Alonso-Nanclares, L., Schertel, A., Defelipe, J. (2009). Counting Synapses Using FIB/SEM Microscopy: A True Revolution for Ultrastructural Volume Reconstruction. *Front. Neuroanat.* 3, 18.

Najman L., Talbot H. *Mathematical Morphology: from theory to applications.* (2010) Najman Laurent and Talbot Hugues ed. ISTE-Wiley, ISBN : 978-1-84821-215-2

Farabet C., Couprie C., Najman, L. LeCun, Y. (2013) Learning Hierarchical Features for Scene Labeling. *IEEE Pattern Analysis and Machine Intelligence.* 35(8), pp. 1915-1929

Jia Y., Shelhamer E., Donahue J. Karayev S. and Long J. Girshick, R., Guadarrama S. Darrell T. (2014) Caffe: Convolutional Architecture for Fast Feature Embedding *arXiv:1408.5093*