

# 一种多尺度图像融合的冷冻电镜颗粒挑选方法

何睦 钮焱 李军\*

(湖北工业大学计算机学院 湖北 武汉 430068)

**摘要** 当前主流的冷冻电镜颗粒挑选方法往往需要大量人工生成的训练集或者优质颗粒模板,或者颗粒挑选过程极为复杂。为了提高冷冻电镜颗粒挑选的效率,简化颗粒挑选流程,提出一种自动挑选颗粒方法,在图像预处理阶段使用基于 Lanczos 采样图像融合方法提高图像质量,随后使用基于最大类间方差的图像阈值分割方法分离颗粒与背景,实现颗粒挑选。在 EMPAIR 公共数据集的实验结果表明,该方法与其他方法相比,具有更高的召回率与精确率。

**关键词** 冷冻电镜 颗粒挑选 Lanczos 采样 图像融合 阈值分割

中图分类号 TP391

文献标志码 A

DOI:10.3969/j.issn.1000-386x.2024.09.036

## A METHOD FOR SINGLE PARTICLE SELECTION IN CRYO-EM BASED ON MULTI-SCALE IMAGE FUSION

He Mu Niu Yan Li Jun\*

(School of Computer Science, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei, China)

**Abstract** The current mainstream particle selection methods for Cryo-EM often require massive artificially generated training sets or high-quality particle templates, or the particle selection process is extremely complicated. In order to improve the efficiency of cryo-electron microscopy particle selection and simplify the particle selection process, this paper proposes an automatic particle selection method. In the image preprocessing stage, the Lanczos sampling image fusion method was used to improve the image quality, and the image threshold segmentation method based on the maximum inter-class variance was used to separate the particles and the background to achieve particle selection. The experimental results on the EMPAIR public data set show that the proposed method has a higher recall rate and accuracy rate compared with other methods.

**Keywords** Cryo-EM Particle selection Lanczos sampling Image fusion Threshold segmentation

## 0 引言

冷冻电子显微镜 (Cryogenic Electron Microscopy, Cryo-EM) 技术是目前测定生物大分子结构的强有力手段及主流方法之一<sup>[1]</sup>。使用冷冻电镜技术重构生物分子三维结构的总体步骤大致可分为四步:样本纯化与制备、数据采集与分析、二维颗粒图像挑选与分类、三维结构重构。由于生物样本的制备技术和电子显微镜硬件系统的限制,使得冷冻电镜采集到的图像信噪

比极低,且存在部分非样本颗粒干扰,使得自动挑选冷冻电镜图像中的样本颗粒较为困难<sup>[2]</sup>。

目前比较流行的颗粒挑选方法根据挑选过程是否需要颗粒图像作为参考信息,颗粒挑选方法大致分为两类:(1) 需要颗粒图像,这些颗粒图像可以来自手动选择的颗粒图像、相似分子的颗粒图像或者根据三维模型合成的颗粒图像,这种方法将颗粒图像作为模板或数据集来实现颗粒的自动拾取;(2) 不需要颗粒图像作为参考模板,其中大部分方法需要一些先验知识。第一类方法和一些需要先验知识的方法都不是完全自

动的,它们需要人工选取部分颗粒图像做模板或者选取部分参数确定颗粒的大致形状。

使用颗粒图像参考信息的方法有两种类型,第一种典型的类型是模板匹配方法。模板匹配是指计算候选区域与一组参考颗粒图像之间的互相关分数<sup>[3]</sup>。模板匹配方法通常对背景噪声很敏感,由于伪相关峰的存在,可能会拾取许多假阳性颗粒。另一种需要参考模板的方法是使用一组颗粒图像作为数据集来训练分类器。APPLE picker (Automatic Particle Pickers with Low user Effect) 基于模板匹配的方法,需要一组颗粒图像和一组噪声图像来训练分类器<sup>[4]</sup>。DeepPicker 应用卷积神经网络(CNN)来获取颗粒的本质特征,并使用跨分子训练策略来摆脱人工干预<sup>[5]</sup>。此外,还有基于 Fast R-CNN 和 FastParticlePicker 的快速方法, FastParticlePicker 继承了 DeepPicker 的跨分子训练方案,同时提高了挑选速度与精度<sup>[6]</sup>。DeepEM 重新设计一个 CNN 结构,在训练过程中加入了非颗粒区域图像<sup>[7]</sup>。DeepConsensus 对不同算法挑选的结果作交集,以此交集的颗粒图像作为训练集训练神经网络可获得较好结果<sup>[8]</sup>。Topaz 将 positive-unlabeled (PU) learning 引入进来,利用少量标记的颗粒图像和未标记图像来训练分类器<sup>[9]</sup>。SPHIRE-crYOLO 使用深度学习目标检测框架 YOLO,使用数百或数千颗粒图片作训练集,实现高效率挑选颗粒<sup>[10]</sup>。

不需要颗粒图像参考信息的挑选方法较少,颗粒拾取方法不需要手动选择或标记任何颗粒图像。KLT picker 需要颗粒的尺寸参数,使用基于 Karhunen-Loeve 变换的多变量统计分析方法来完成电镜图像中的目标颗粒挑选<sup>[11]</sup>,但该方法计算方式很繁琐,时间复杂度很高。AutoCryoPicker 是一种基于聚类的方法<sup>[12]</sup>,该方法对低信噪比的显微图像进行预处理,然后应用聚类算法来区分颗粒簇和非颗粒簇,最后利用图像清洗算法和颗粒检测算法对图像进行清洗和颗粒定位,但使用聚类算法需要人工选定颗粒所在的像素簇。

综上所述,如今主流的颗粒挑选方法存在着以下缺点:1) 需要大量的人工生成的训练集或者优质颗粒模板,适应范围较窄,只对特定的颗粒图像有效;2) 时间复杂度高,难以复现和推广。为了提高冷冻电镜颗粒挑选的效率,简化颗粒挑选流程,本文提出一种基于 Lanczos 采样多尺度图像融合和阈值分割算法的颗粒挑选方法,其中,基于 Lanczos 采样多尺度图像融合的方法为创新性提出,用于增强电镜图像的质量,降低噪

声对颗粒区域的影响,并使得边缘更加明晰。随后使用图像阈值分割算法对融合图像进行分割,以区分背景与颗粒,最终得到颗粒的位置坐标。

## 1 冷冻电镜颗粒挑选流程与方法

本文提出的一种基于 Lanczos 采样多尺度图像融合和阈值分割算法的冷冻电镜图像颗粒挑选方法主要流程如图 1 所示,本流程大致可以分为两个部分,第一部分为对冷冻电镜图像的预处理阶段,此阶段主要包括归一化处理和多尺度图像融合处理;第二部分为颗粒挑选阶段,此阶段可分为图像分割处理与异常区域处理。经过对冷冻电镜图像的预处理与颗粒挑选后,最终得到挑选的冷冻电镜图像中颗粒的坐标。

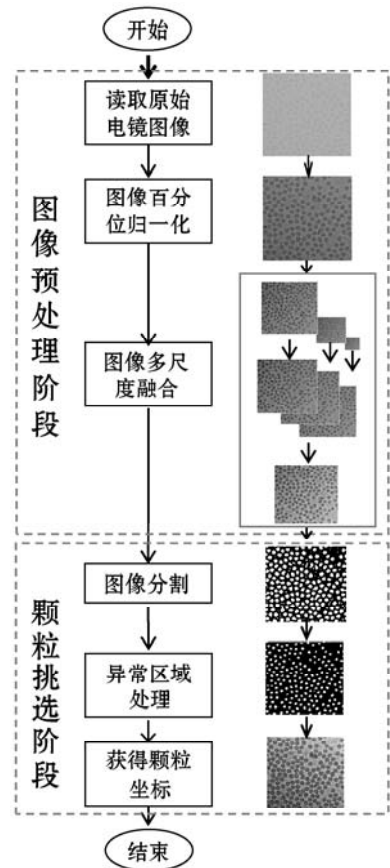


图 1 冷冻电镜颗粒挑选流程

### 1.1 图像预处理

对冷冻电镜原始图像进行预处理的目的是提高图像的对比度与信噪比,从而提高边缘的识别度。虽然原始电镜颗粒图像中包含关于颗粒结构的细节信息,但对于颗粒挑选而言,最重要的是先确定颗粒的位置信息,所以本文使用的图像融合的方法在去除图像噪声、增强图像质量的同时,会丢失颗粒结构等细节信息,但这些细节可从原始图像中恢复。

### 1.1.1 归一化

冷冻电镜原始图像数据以 mrc (mixed raster content) 格式存储,为了便于对图像的处理,首先将 .mrc 格式图像转换成常见的 .jpg 格式文件。 .jpg 格式图像的像素点常用无符号 8 bit 整型数值存储,而原始电子显微镜像素值一般是无符号 16 bit 整型、32 bit 浮点型数值等数值类型,因此在图像格式转换过程中需使用归一化处理。

对于一幅尺寸为  $m \times n$  图像,归一化方式如下:

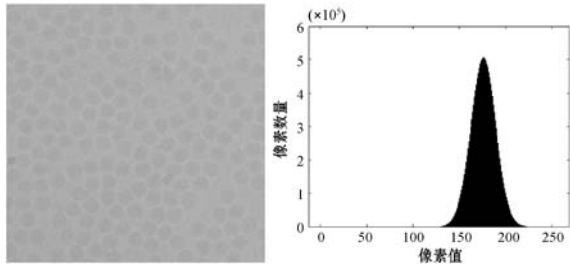
$$y'[i,j] = \begin{cases} 0 & y[i,j] < y_{\text{lowfra}} \\ \text{round}\left(\frac{y[i,j] - y_{\text{lowfra}}}{y_{\text{highfra}} - y_{\text{lowfra}}} \times 255\right) & y_{\text{lowfra}} \leq y[i,j] < y_{\text{highfra}} \\ 255 & y[i,j] \geq y_{\text{highfra}} \end{cases} \quad (1)$$

式中: $y[i,j]$ 表示图像第*i*行第*j*列像素值; $y'[i,j]$ 表示归一化后像素值, $0 \leq i \leq m, 0 \leq j \leq n$ ;  $y_{\text{lowfra}}$ 与  $y_{\text{highfra}}$ 分别表示图像累积分布函数 (Cumulative Distribution Function, CDF) 的  $\alpha$  分位点像素值和  $1 - \alpha$  分位点像素值。

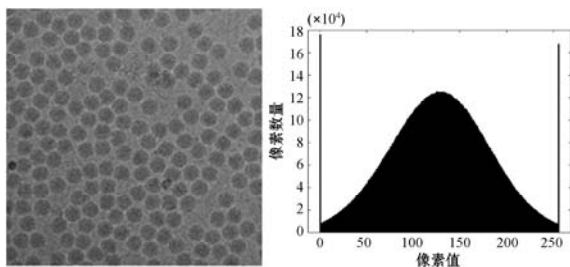
$$F(y_{\text{lowfra}}) = \int_0^{y_{\text{lowfra}}} f(x) dx = \alpha \quad (2)$$

$$F(y_{\text{highfra}}) = \int_0^{y_{\text{highfra}}} f(x) dx = 1 - \alpha$$

式中: $f(x)$ 为图像的概率密度函数 (Probability Density Function, PDF);  $F(x)$  图像累积分布函数 (CDF)。当  $\alpha = 0$  时,归一化方式为最小最大值归一化;当  $0 \leq \alpha < 0.5$  时,归一化方式为百分位归一化<sup>[13]</sup>,归一化图像如图 2 所示。



(a) 最大最小值归一化的结果 (b) 图 2(a) 的灰度直方图



(c) 百分位归一化的结果 (d) 图 2(c) 的灰度直方图

图 2 归一化图像及灰度直方图

通过分析大量原始电镜图像文件,我们发现. mrc 文件存储了大量的细节信息,使得其像素点强度值范围分布极广。以如图 2(a) 中的电镜原始图像为例, .mrc 文件中该图像最小值为 2 302. 008 8,最大值为 89 751. 79,而 98% 的数值都位于 64 602. 643 3(1% 分位点数值)到 77 450. 776 7(99% 分位点数值)之间,即 98% 的数值仅分布于最小值与最大值之间 14. 7% 区域的范围内,因此使用分位值  $\alpha = 0.01$  的百分位归一化能够使 98% 的数据得以延展分布,从而有效地提高图像的对比度。用百分位归一化与最大最小值归一化结果如图 2 所示,通过对比图 2(a) 与图 2(c) 可知,使用百分位归一化的图像比最大最小值归一化的图像具有更高的对比度。数据转换过程与百分位归一化算法如算法 1 所示。

#### 算法 1 数据转换与归一化算法

输入: Cryo-EM file  $I_{\text{em}}$ 。

输出: Normalized image  $I_{\text{nom}}$ 。

1. Read Cryo-EM file  $I_{\text{em}}$
2. Get image data  $I_{\text{data}}$  from  $I_{\text{em}}$  /\* 读取像素点数值 \*/
3. Calculate image histogram  $Hist$  from image data  $I_{\text{data}}$  /\* 统计像素值分布 \*/
4. Calculate probability density function CFD from  $Hist$  /\* 根据图像像素分布计算图像累积分布函数 \*/
5. Set percentile factor  $\alpha$  /\* 设置归一化参数 \*/
6. Calculate low fraction valve  $y_{\text{lowfra}}$  /\* 计算下  $\alpha$  分位点 \*/
7. Calculate high fraction valve  $y_{\text{highfra}}$  /\* 计算上  $\alpha$  分位点 \*/
8. Initialize Normalized image  $I_{\text{nom}}$
9. **for** each pixel  $i$  in  $I_{\text{data}}$  **do** /\* 归一化计算过程 \*/
10.  $i' \leftarrow (i.\text{value} - y_{\text{lowfra}}) / (y_{\text{highfra}} - y_{\text{lowfra}})$  /\* 根据分位点对每个像素点进行归一化计算 \*/
11.  $i' \leftarrow \text{round}(i' * 255)$  /\* 将像素值转化为无符号 8 bit 整形数值 \*/
12.  $I_{\text{nom}}[i.\text{position}] \leftarrow i'$  /\* 将归一化后数值存入相应位置 \*/
13. **end for**

### 1.1.2 基于 Lanczos 采样的多尺度图像融合

图像融合是信息融合的一种方式,指的是将单幅或多幅图像经过一些处理后按照某种规则融合成一幅新的图像,主要用于实现对场景的更准确全面的描述或者实现对图像质量的增强<sup>[14-15]</sup>。对于同一图像下采样得到的不同尺度图像可以得到不同尺度的图像信息,同时图像经过下采样函数处理后可以使得图像噪声得到抑制<sup>[16]</sup>。与高斯滤波、中值滤波等常见的一些图像去噪方法和直方图均衡化、图像灰度变换等图像

增强方法相比,多尺度图像融合方法能够同时做到降低图像噪声和增强图像对比度。

经过第一步归一化处理,图像仍然存在大量噪点,且对比度不高,为了抑制图像中的噪声和进一步增强图像对比度,本文提出基于 Lanczos 采样多尺度图像融合的方式。采用的多尺度图像融合方法过程是将图像依次缩小为原图的  $1/2$ 、 $1/4$ 、 $1/8$ 、 $1/16$  等,然后将一系列缩小后的图像使用内插值的方式恢复到原图大小,最后将恢复的图像通过累加取均值的方式融合为一幅图像。本文中使用的多尺度图像融合方法过程可分为三步:获取多尺度图像、从多尺度图像恢复图像和图像融合。

1) 获取多尺度图像。多尺度图像通常由一些插值方法对原始图像处理得到<sup>[16]</sup>,本文通过对原图使用下采样插值的方式获取一系列缩小后图像。综合考虑降低图像锯齿、混叠和振铃效应,Lanczos 算法是一种较好的采样插值方法<sup>[17]</sup>。

Lanczos 采样主要包括一个 Lanczos 核和一个插值公式<sup>[18]</sup>。Lanczos 核如下:

$$L(x) = \begin{cases} 1 & x = 0 \\ \frac{a \sin(\pi x) \sin(\pi x/a)}{\pi^2 x^2} & -a \leq x \leq a, x \neq 0 \\ 0 & \text{其他} \end{cases} \quad (3)$$

对于一维样本序列  $S_i$ ,插值函数为:

$$S(x) = \sum_{i=\lfloor x \rfloor - a + 1}^{\lfloor x \rfloor + a} s_i L(x - i) \quad (4)$$

对于二维插值函数:

$$S(x, y) = \sum_{j=\lfloor y \rfloor - a + 1}^{\lfloor y \rfloor + a} \left[ \sum_{i=\lfloor x \rfloor - a + 1}^{\lfloor x \rfloor + a} [s(i, j) L(x - i, y - j)] \right] \quad (5)$$

式中: $L(x, y) = L(x)L(y)$ ;  $a$  是一个正整数,用于确定采样窗口大小,前期研究中  $a$  的值取 2 时即可取得较好结果,  $a = 2$  有助于减少混叠,保持清晰度,并将振铃效果降低到更低的水平<sup>[19]</sup>;  $i$  和  $j$  为样本序列坐标;  $x$  和  $y$  为待插值点的位置坐标。对于尺寸为  $m \times n$  的图像  $I$ ,缩放系数为  $r$ ,采样窗口为  $win(a)$ ,图像经过缩放后形成尺寸为  $(m \cdot r) \times (n \cdot r)$  的新图像  $I'$ ,对于新图像中的每一点  $[i', j']$  在原图中插值的坐标为  $[x, y]$ ,那么对图像的下采样过程为:

$$I'[i', j'] = S(x, y) \quad \forall i', \forall j' \quad (6)$$

式中: $x = i'/r, y = j'/r$ 。为了便于叙述,记  $I' = \text{subsampling}(I)$  为使用 Lanczos 采样对图像  $I$  下采样得到新的图像  $I'$ 。对于未进行下采样的初始电镜图像  $I$ ,其尺寸为  $m \times n$ ,用  $I_0$  表示未缩小的图像,  $I_1, I_2, \dots, I_t$  分别表示第 1 次、第 2 次、 $\dots$ 、第  $t$  次下采样图像,其尺寸依

次为  $(m/2) \times (n/2)$ 、 $(m/4) \times (n/4)$ 、 $\dots$ 、 $(m/2^t) \times (n/2^t)$ ,多级下采样获得多尺度图像的过程为:

$$I_k = \text{subsampling}(I_{k-1}) \quad k \in [1, 2, \dots, t] \quad (7)$$

式中: $I_k$  表示第  $k$  次下采样得到的图像; $I_{k-1}$  为上级下采样的结果图像。

2) 从多尺度图像恢复图像。为了实现后续图像的融合,图像的尺寸需相同。此处恢复图像指的是将上述获得的多尺度图像放大到同一尺寸,通过在不同尺度图像的像素点之间通过内插值算法计算放大图像中每个像素点的值,即可得到  $t$  幅由多尺度图像放大后得到的图像。图像放大过程使用的插值函数依旧为 Lanczos 算法,记  $I' = \text{upsampling}(I)$  为使用 Lanczos 算法对图像  $I$  上采样得到新的图像  $I'$ 。记  $I'_1, I'_2, \dots, I'_t$  分别表示  $I_1, I_2, \dots, I_t$  放大的图像,其尺寸均为  $m \times n$ ,则由多尺度图像恢复图像的过程为:

$$I'_k = \text{upsampling}(I_k) \quad k \in [1, 2, \dots, t] \quad (8)$$

式中: $I_k$  表示第  $k$  次下采样得到的图像; $I'_k$  为由  $I_k$  直接上采样(放大)得到的图像。

3) 图像融合。对于冷冻电镜图像,原始图像中的噪点极多,使用下采样方法,能够降低噪声的干扰,同时能够获得电镜图像的主要信息。使用内插值的方式再次将缩小后的电镜图恢复为原图大小,并与原图叠加融合,则可以达到削弱噪声峰和增强主要特征区域信号的目的。图像融合的方式如下:

$$I_d = (I_0 + \sum_{k=1}^t I'_k) / (t + 1) \quad (9)$$

式中: $I_d$  表示最终的融合图像; $I_0$  为进行下采样的初始电镜图像,  $t$  为下采样总次数。

基于 Lanczos 采样的多尺度图像融合算法如算法 2 所示。

## 算法 2 多尺度图像融合算法

输入: Normalized image  $I_{\text{nom}}$ 。

输出: Fusion image  $I_{\text{fusion}}$ 。

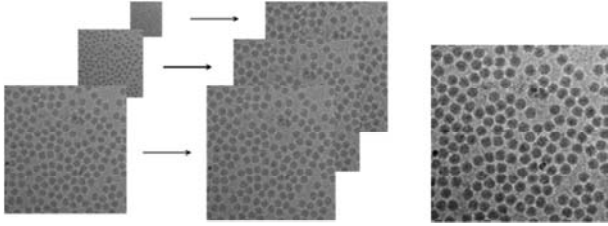
1. Read Normalized image  $I_{\text{nom}}$
2. Get image row and column number  $m, n$  /\* 获取图像尺寸 \*/
3. Calculate Lanczos kernel  $K$   
/\* 根据 Lanczos 核函数生成采样核  $K$  \*/
4. Set sampling number  $t \leftarrow \log_2(m) - 5$  /\* 计算采样数  $t$  \*/
5. Initialize fusion image  $I_{\text{fusion}} \leftarrow I_{\text{nom}}$
6. Set  $\text{img} \leftarrow I_{\text{nom}}$
7. **for**  $i \leftarrow 0$  **to**  $t$  **do** /\* 逐级采样融合 \*/
8.      $\text{img\_down} \leftarrow \text{subsampling}(\text{img})$  /\* 下采样 \*/
9.      $\text{img\_up} \leftarrow \text{upsampling}(\text{img\_down})$  /\* 上采样 \*/
10.      $I_{\text{fusion}} \leftarrow \text{add}(I_{\text{fusion}}, \text{img\_up})$  /\* 融合 \*/
11.     set  $\text{img} \leftarrow \text{img\_down}$

```

12. end for
13. for each pixel  $i$  in  $I_{\text{fusion}}$  do /* 更新融合图像像素值 */
14.      $i \leftarrow \text{round}(i/t)$ 
        /* 将像素值转化为无符号 8 bit 整形数值 */
15. end for

```

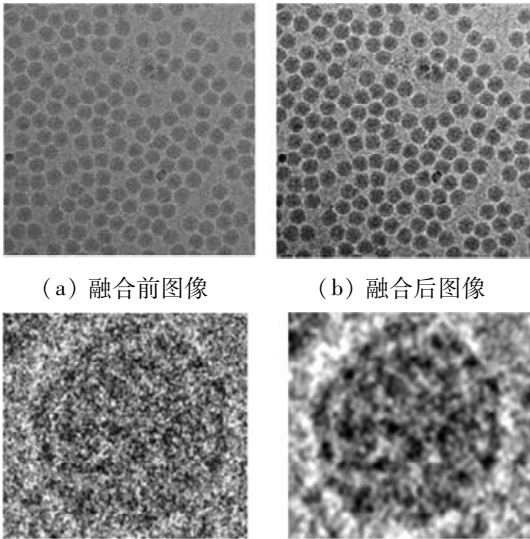
多尺度图像的融合过程如图 3 所示,图 3(a)展示了通过多次 Lanczos 采样获得多尺度图像的过程,图 3(b)展示了由多尺度图像恢复图像的结果,图 3(c)为最终得到的融合图像结果。



(a) 下采样的图像 (b) 恢复后的图像 (c) 融合后的图像

图 3 图像融合过程

图像融合前后对比如图 4 所示,图 4(a)为融合前图像,图 4(b)为融合后图像,图 4(c)为融合前一个颗粒的细节结构图像,图 4(d)为融合后相同位置的颗粒细节结构图像。对比图 4(a)和图 4(b)可知,融合后图像的对比度有明显提升,对比图 4(c)和图 4(d)颗粒细节结构图像可知,融合后图像中的噪声也得到明显抑制。



(a) 融合前图像

(b) 融合后图像

(c) 融合前颗粒细节结构图像 (d) 融合后颗粒细节结构图像

图 4 融合前后图像对比

## 1.2 颗粒挑选

经过图像融合的处理,图像中的噪声对颗粒图像的影响明显降低,同时图像对比度也明显提升。为了便于分割图像,我们将图像下采样后恢复原图大小,虽然图像丢失了细节信息,但可以明确区分颗粒与背景。图像恢复原图大小后,便对该图像进行分割

处理。

### 1.2.1 融合图像的分割

对融合图像的分析可以发现颗粒区域的像素值低于背景,像素值最低的点几乎都分布于颗粒图像中心或者边缘。所以,使用低阈值分割图像即可得到大部分颗粒区域,并且大部分颗粒都会存在至少一个低于阈值的像素团。使用低阈值分割图像后,得到颗粒碎片区域为白色,背景为黑色。此步得到的是一个二值图,图中白色区域为众多颗粒的一部分或几部分。

最大类间方差的 Otsu 方法是一种重要的阈值分割方式,在多个场景中得到了较好的应用,使用该方法能够自动选取阈值,无须人工设定参数,可以得到客观的分割结果。此外与其他方法相比,最大类间方差具有良好的分割性能、操作简单<sup>[20]</sup>。设图像有  $K$  个类  $c_1, c_2, \dots, c_k$ , 类间方差可归纳如下:

$$\sigma_B^2 = \sum_{k=1}^K P_k (m_k - m_G)^2 \quad (10)$$

$$P_k = \sum_{i \in c_k} p_i, m_k = \frac{1}{P_k} \sum_{i \in c_k} ip_i \quad (11)$$

式中:  $p_i$  为灰度值  $i$  在图像中出现的频率;  $m_G$  为全局灰度平均值。  $K$  个类由  $K-1$  个阈值分割, 这些阈值  $k_1^*, k_2^*, \dots, k_{K-1}^*$  使得类间方差最大。

$$\sigma_B^2(k_1^*, k_2^*, \dots, k_{K-1}^*) = \max_{0 < k_1 < k_2 < \dots < k_{K-1} < L-1} \sigma_B^2(k_1, k_2, \dots, k_{K-1}) \quad (12)$$

式中:  $L-1$  为最大灰度值。本文采用了单阈值分割,将图像分为两类,即背景和颗粒。对图像阈值分割后的图像如图 5(b) 所示。



(a) 分割前图像 (b) 分割后图像 (c) 异常区域处理后图像

图 5 图像分割及异常区域处理

### 1.2.2 异常区域处理

对图像分割后,有些点颗粒则保留了几个小区域或者部分颗粒粘连到一起。为了将属于同一颗粒的几个小区域合并在一起,可以使用点融合的方式进行处理。首先对分割图进行形态学处理<sup>[21]</sup>,目的是去除背景中被分割出来的噪点,并且可以融合距离较近的小区域,如图 5(c) 所示。然后使用寻找轮廓的算法,找到所有不连通的区域,并且计算每个区域的中心坐标。根据设定的颗粒尺寸,若几点之间的距离小于颗粒尺

寸,则取它们的中心作为新坐标。最后判断颗粒中心距离图像边缘距离,若小于颗粒直径则舍弃该坐标。最终形成的点集即是初步颗粒挑选得到的颗粒中心坐标集。

## 2 实验及结果分析

本文实验使用的冷冻电镜数据集为 EMPIAR-10033<sup>[22]</sup>,可从电子显微镜公共图像档案馆 EMPAIR (the Electron Microscopy Public Image Archive) 网页 (<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/emdb/empair/>) 上下载得到。实验使用的电镜图像为对齐平均后的电镜图,图像尺寸为  $4\,096 \times 4\,096$  像素,像素点的存储格式为 32 位浮点型数据。

常见的评价电镜图像颗粒挑选的方法有两种,一种是使用算法挑选出来的颗粒用于后续的三维重构,对比不同方法得到的颗粒图像最终达到的三维分辨率,最终分辨率越高者或者达到相同分辨率使用图像最少者的算法较好;另一种评价方法则是以人工挑选出来的颗粒为基准,计算不同算法挑选出来颗粒中正确颗粒占人工挑选颗粒的比例(或者称为召回率, Recall),计算算法挑选出的颗粒中正确颗粒所占的比例(或者称为精确率, Precision)。第一种评价方法结果更为明确,但三维重构计算量太大,第二种评价方法更加简单,且人工选择的结果往往可以达到较好的分辨率结果,所以本文采用的是第二种评价方法。

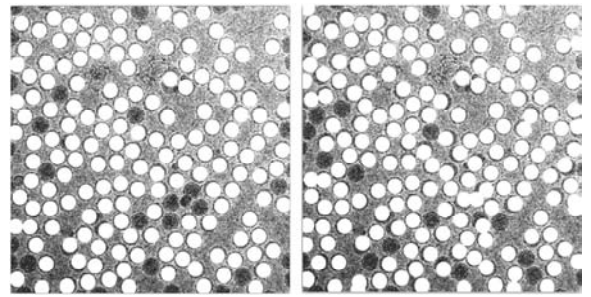
召回率 (Recall) 与精确率 (Precision) 的计算如下:

$$R_{\text{recall}} = \frac{T_p}{N_m} \quad (13)$$

$$P_{\text{precision}} = \frac{T_p}{T_p + F_p}$$

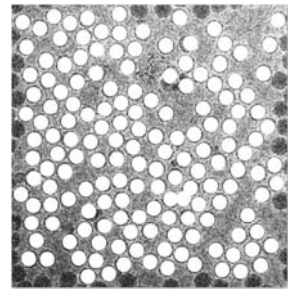
式中:  $T_p$  表示算法正确挑选的颗粒的数目;  $F_p$  为错误颗粒数目;  $N_m$  为人工挑选颗粒数目。

本实验以人副肠孤病毒 (Human Parechovirus 3, HPeV3) 的病毒颗粒衣壳电镜图像 (图像数据 ID 为 EMPIAR-10033) 为例,实验结果如图 6 所示。除了使用本文方法用于颗粒挑选外,还将电镜图像作为 Auto-cryopicker<sup>[12]</sup> 中两个算法的输入数据进行对比。Auto-cryopicker 的作者对图像预处理后,使用聚类算法 (即本文实验时作为对比使用的 IBC 与 K-means 算法) 对电镜图像的像素聚类,最终从聚类结果中选出颗粒图像所在的类别,该方法是无需模板的冷冻电镜颗粒最优挑选方法。



(a) IBC 挑选结果

(b) K-means 挑选结果



(c) 本文方法挑选结果

图 6 三种方法挑选的颗粒

本文算法的编写与调试均使用的是 Python3.8,其中对图像数据的处理主要使用到 numpy、opencv、PIL 等数据或图像处理库。使用对比方法的作者提供的 MATLAB 代码,运行的软件为 MATLAB 2016a。硬件配置为 intel i5-9400F 六核处理器,16 GB 内存,英伟达 1650 图像处理器。

三种方法对实验电镜图像进行颗粒挑选的结果如图 6 与表 1 所示。

表 1 三种方法结果

方法	$N_m$	自动挑选颗粒数			召回率 /%	精确率 /%
		总数	$T_p$	$F_p$		
本文方法	155	159	151	8	97.4	94.9
IBC	155	160	148	18	95.5	92.5
K-means	155	174	142	32	91.6	81.6

图 6 展示了三种方法挑选出来的颗粒与人工挑选颗粒的位置,表 1 展示了三种方法挑选的正确颗粒数目、错误颗粒数目、三种方法的召回率与精确率。实验图像中人工挑选的颗粒数据为本文作者标注。

从表 1 的结果可以看出,本文采用的颗粒挑选方法达到的召回率与精确率是最高的,其中本文方法召回率为 97.4%,比 IBC 方法高 1.9 百分点,比 K-means 方法高 5.8 百分点。从精确率上来看,本文方法的精确率为 94.9%,比 IBC 方法高 2.4 百分点,比 K-means 方法高 13.3 百分点。由颗粒挑选的结果对比可知,本文使用的基于 Lancozs 采样的图像融合方法与基于最大类间方差图像阈值分割方法能够在冷冻电镜颗粒挑

选中获得更优的结果。

### 3 结 语

本文针对冷冻电镜颗粒挑选问题,提出一种基于 Lanczos 采样的多尺度图像融合与基于最大类间方差图像阈值分割的自动颗粒挑选方法。多尺度图像融合过程使图像的质量得以进一步提高,噪声得到明显的抑制,对比度也得到明显的提高,使用基于最大类间方差方法的阈值分割方法能够自适应选取最佳分割阈值,使得颗粒与背景得到有效的分离,最终取得较好的颗粒挑选结果。

本文方法仍有一些可以改进的方向,在图像融合阶段,采用不同的权重融合图像可能可以达到更佳的效果。本文方法及对比的方法都存在将重叠颗粒和杂质挑选为颗粒的情况,并且使用 K-means 聚类算法的结果中还存在一个颗粒被多次识别的情况,将图像经过不同步骤处理后的图像进行分割,最后使用图像融合的方式分割结果合并,也可能得到更好的图像分割效果。

本文方法可以对研究更加高效的颗粒挑选算法提供一定的参考价值。并且本文提出的颗粒挑选流程无须人工挑选颗粒作为模板,根据需求更改步骤后可以为深度学习方法提供候选点,一定程度上可以提高挑选颗粒的速度。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] 张晓凯,张丛丛,刘忠民,等. 冷冻电镜技术的应用与发展[J]. 科学技术与工程,2019,19(24):9-17.
- [ 2 ] White H, Ignatiou A, Clare D, et al. Structural study of heterogeneous biological samples by cryoelectron microscopy and image processing[J]. BioMed Research International, 2017,2017:1032432.
- [ 3 ] Huang Z, Penczek P. Application of template matching technique to particle detection in electron micrographs[J]. Journal of Structural Biology,2004,145(1):29-40.
- [ 4 ] Heimowitz A, Andén J, Singer A. APPLE picker: Automatic particle picking, a low-effort cryo-EM framework[J]. Journal of Structural Biology,2018,204(2):215-227.
- [ 5 ] Wang F, Gong H, Liu G, et al. DeepPicker: A deep learning approach for fully automated particle picking in cryo-EM[J]. Journal of Structural Biology,2016,195(3):325-336.
- [ 6 ] Xiao Y, Yang G. A fast method for particle picking in cryo-electron micrographs based on fast R-CNN[J]. American Institute of Physics Conference Series,2017,1836(1):020080.
- [ 7 ] Zhu Y, Qi O, Mao Y. A deep convolutional neural network approach to single-particle recognition in cryo-electron microscopy[J]. BMC Bioinformatics,2017,18:348.
- [ 8 ] Sanchez-Garcia R, Segura J, Maluenda D, et al. Deep consensus, a deep learning-based approach for particle pruning in cryo-electron microscopy[J]. IUCrJ,2018,5(6):854-865.
- [ 9 ] Bepler T, Morin A, Rapp M, et al. Positive-unlabeled convolutional neural networks for particle picking in cryo-electron micrographs[J]. Nature Methods,2019,16(11):1153-1160.
- [ 10 ] Wagner T, Merino F, Stabrin M, et al. SPHIRE-crYOLO is a fast and accurate fully automated particle picker for cryo-EM[J]. Communications Biology,2019,2:218.
- [ 11 ] Eldar A, Landa B, Shkolnisky Y. KLT picker: Particle picking using data-driven optimal templates[J]. Journal of Structural Biology,2020,210(2):107473.
- [ 12 ] Al-Azzawi A, Ouadou A, Tanner J, et al. AutoCryoPicker: An unsupervised learning approach for fully automated single particle picking in Cryo-EM images[J]. BMC Bioinformatics,2019,20:326.
- [ 13 ] Yelmanov S, Romanyshyn Y. A new approach to image enhancement by Non-Linear contrast stretching[C]//2020 IEEE 3rd International Conference on Data Stream Mining and Processing,2020:178-184.
- [ 14 ] 荣传振,贾永兴,杨宇,等. 基于红外目标特征提取的图像融合方法[J]. 信号处理,2019,35(7):1141-1151.
- [ 15 ] Ancuti C O, Ancuti C. Single image dehazing by multi-scale fusion[J]. IEEE Transactions on Image Processing,2013,22(8):3271-3282.
- [ 16 ] 廖斌,刘驾. 基于多尺度灰度变换的图像增强研究[J]. 量子电子学报,2015,32(5):550-554.
- [ 17 ] Turkowski K. Filters for common resampling tasks[M]//Graphics Gems. Academic Press Inc,1990:147-165.
- [ 18 ] Burger W, Burge M. Principles of digital image processing: Core algorithms[M]. Springer,2010.
- [ 19 ] Madhukar B, Narendra R. Lanczos resampling for the digital processing of remotely sensed images[C]//International Conference on VLSI, Communication, Advanced Devices, Signals and Systems and Networking,2013:403-411.
- [ 20 ] 范九伦. 灰度图像阈值分割法[M]. 北京:科学出版社,2019:21-31.
- [ 21 ] Rafael C, Richard E. 数字图像处理[M]. 4版. 阮秋琦,阮宇智,译. 北京:电子工业出版社,2020:454-496.
- [ 22 ] Shakeel S, Westerhuis B, Domanska A, et al. Multiple capsid-stabilizing interactions revealed in a high-resolution structure of an emerging picornavirus causing neonatal sepsis[J]. Nature Communications,2016,7(1):11387.