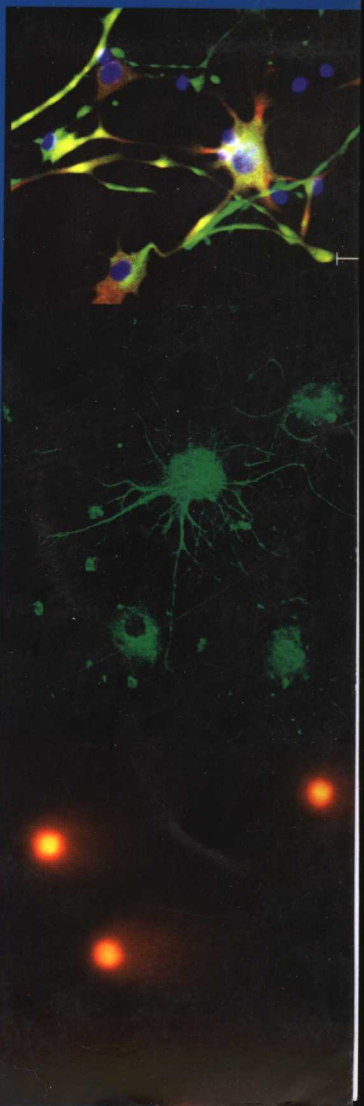


生物科学图像 处理与分析

● 汤乐民 丁 斐 编著



科学出版社
www.sciencep.com



生物科学图像处理与分析

汤乐民 丁 斐 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书从生物科学领域应用的数字图像处理与分析的整体知识框架出发,以光学显微镜成像过程的描述为基本出发点,主要介绍了数字图像处理技术在生物科学领域的具体应用。本书主要分为三大部分。第一部分(第1~第3章)为图像基础、生物图像分析系统软硬件和生物图像处理基本方法。第二部分(第4~第10章)从光学显微成像到原子力显微成像,从结构显微成像到功能显微成像等各分支,叙述了图像处理与分析方法的具体应用。第三部分为附录,收录了 QWin 图像分析软件简介、英汉生物图像技术常用词汇表和生物图像技术常用网址。

本书适合作为高年级生物技术专业本科生和基础、临床医学研究生的生物图像处理与分析课程的教材,同时也适用于从事生物科学研究的不同层面的读者参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物科学图像处理与分析/汤乐民,丁斐编著. —北京:
科学出版社,2005
ISBN 7-03-016527-6

I. 生... II. ①汤... ②丁... III. 生物学-数字图
像处理 IV. Q-334

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 140292 号

责任编辑:陈 露 张 臻/责任校对:连秉亮
责任印制:刘 学 /封面设计:一 明

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

南京理工出版信息技术有限公司照排

常熟市华通印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 11 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2005 年 11 月第一次印刷 印张:25 3/4 图版 12

印数:1—3 500 字数:611 000

定价:58.00 元

序

科学技术发展的历史表明,技术往往超前于基础研究,成为理论突破的先导。由汤乐民和丁斐教授撰写的《生物科学图像处理与分析》一书,是反映科技前沿的信息科学和生命科学中涉及技术性很强的专著。当前特别重视自主创新能力,因为这是国家科技事业发展的决定因素、国家竞争力的核心、国家安全的重要保证。但是创新也必须“温故知新”,要对已有的先进技术真正加以掌握,能综合各家的长处,想方设法克服其短处,做出前人没有想到、没有做成功的原创性业绩来。

理论上的创新是我们的追求目标。但是“临渊羡鱼,不如退而结网”,因为只有把捕鱼的工具搞好了,才有可能抓到鱼。这部专著就是在信息技术与生物技术交汇点上,运用计算机数字化图像处理技术,比较全面地介绍了生物科学领域显微成像过程的物理学原理,比较准确地叙述了图像处理分析技术,特别有针对性地与当代生物显微成像技术相融合,为生物科学的理论发展提供了良好的技术条件。

该书在保持图像处理与分析理论固有的系统性的同时,更着重从技术应用的角度介绍生物图像处理与分析的方法。其叙述语言简洁易懂,图像资料翔实,具有很强的可读性和实用性。

我祝愿并相信,该书不仅会受到广大读者,尤其是生物科学领域读者的欢迎,而且还会为生物科学图像处理与分析的教学、科研起到很好的促进和推动作用。

中国工程院院士
南方医科大学临床解剖学研究所所长

鍾世镇

2005年9月20日于广州

前 言

近几十年来,数字图像处理与分析在计算机技术发展的推动下获得了飞速的发展,并且已经成为生物科学研究领域中不可或缺的重要手段。本书是在总结教学与科研实践的基础上,参考了国内外生物医学数字图像处理方面的最新著作和科技文献编写而成。本书的编写原则是,既保持数字图像处理与分析理论固有的系统性,更着重从技术应用的角
度介绍数字图像处理的方法;尽可能地以简洁易懂的语言配合翔实的图像资料进行叙述,省略对应用产生较少影响的数学推导和论证过程,突出可读性和实用性。本书将常用的生物图像处理常用英文词汇列于书尾,并给出中文对照和简要注解,方便读者在实际工作中参考使用。

本书与医学图像处理与分析的教材或专著相比,在很多方面具有显著的区别。本书从生物科学领域应用的数字图像处理与分析的整体知识框架出发,以光学显微镜成像过程的描述为基本出发点,伴随对当代各种先进的生物显微成像系统的介绍,较全面地叙述了数字图像处理技术在生物科学领域的具体应用。在每一章节中都包含了图像处理的基础概念和原理以及在生物科学方面的应用实例,以使读者更容易理解应用于生物科学领域成像的各种方法与技术。

本书的第1至第3章介绍了图像的视觉基础、图像的基本概念、生物显微图像分析系统的软、硬件结构和生物图像处理的基本方法。第4章介绍了生物光学显微镜的成像技术,主要包括显微镜的通用照明技术、显微镜图像反差增强技术和落射荧光显微镜。第5章从目标表达与描述的角度介绍了细胞(组织)图像分析技术的主要内容,包括形态学参数及其测量和光度学参数及其测量,并重点介绍了图像处理在生物图像分析中的应用。第6章介绍了生物化学图像分析,特别对双向电泳图像分析和单细胞凝胶电泳图像分析作了较为深入的讨论。第7章介绍了对厚生物样品显微图像的处理,主要包括激光扫描共聚焦显微镜成像和数字去卷积显微镜成像。在第8章和第9章中介绍了许多当代先进的生物科学成像技术,如生物单分子成像与光镊技术、全内反射荧光显微镜成像技术、原子力显微镜成像技术、活体分子成像等,特别是小动物 SPECT、小动物 PET 和小动物 MRI,对在分子水平上利用小动物活体进行基因表达监控和基因治疗研究、观察疾病发生

和发展过程、开发新的药物以及观察新药疗效具有十分重要的意义。第 10 章介绍了生物图像处理与多媒体制作方法,目的是使读者对商业图像图形软件在生物图像处理与多媒体制作方面的应用有一个整体的了解,以帮助读者使用这些软件完成相应的任务。在书的最后收录了 QWin 图像分析软件简介、英汉生物图像技术常用词汇表和生物图像技术常用网址,方便读者在实际工作中参考使用。

本书的内容深度与表述形式兼有教材与专著的特征,适合作为高年级生物技术专业本科生和基础、临床医学研究生的生物图像处理与分析课程的教材,同时也适用于从事生物科学研究的不同层面的读者参考。

在本书出版之际,作者特别要感谢中国工程院院士钟世镇教授为本书作序。感谢《数字图像处理学》(K. W. 普拉特)一书的主译高荣坤教授,他对该书数字图像处理与分析部分编写大纲和内容提出了许多宝贵的意见。感谢江苏省神经再生重点实验室的王晓冬教授、张天一副研究员、刘梅副教授以及研究生为本书所作的贡献,感谢王娟老师为本书绘制了所有的插图。另外,还要感谢姜声扬教授对本书编写过程中的帮助。最后也要感谢家人在本书编写过程中对作者所给予的关怀和支持。

在编写本书的过程中,作者参考了大量国内外生物医学数字图像处理方面的最新著作、论文以及相关资料,分别在各章末一一列出,在此对所有被引用文献的作者表示感谢。由于本书所涉及的资料范围较广,加上案头工作繁杂,在编写过程中参考过的一些资料也许未在参考文献中逐一列出,在此谨向相关文献的作者表示谢意。

生物科学图像处理与分析是一门不断发展的学科,新方法、新技术以及新成果不断出现,加上作者学识水平及时间有限,错误和疏漏之处在所难免,敬请读者不吝指正。

汤乐民 丁 斐

2005 年 9 月

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 人的视觉系统及其特性	1
1.1.1 视觉系统的基本结构	1
1.1.2 视觉现象	3
1.1.3 视觉模型	6
1.2 光度学与色度学的基础知识	8
1.2.1 光度学	8
1.2.2 色度学	9
1.3 模拟图像	14
1.3.1 图像的形成与记录	14
1.3.2 图像函数	15
1.4 数字图像	15
1.4.1 数字图像的获取途径	16
1.4.2 数字图像的特点	17
1.4.3 数字图像的基本类型	20
1.4.4 常用的数字图像格式	21
1.4.5 数字图像的质量评价	25
1.5 图像的统计参量	27
1.5.1 灰度最大值	27
1.5.2 灰度最小值	28
1.5.3 灰度均值	28
1.5.4 灰度方差	28
1.5.5 图像的熵	28
1.5.6 灰度直方图	29
参考文献	31
第 2 章 生物显微图像分析系统	32
2.1 概述	32
2.2 生物显微图像分析系统的硬件组成	33
2.2.1 图像输入设备	33
2.2.2 图像输出设备	52
2.2.3 图像数据存储介质	60

2.2.4	生物显微图像分析系统的主机	62
2.3	图像处理与分析软件	62
2.3.1	图像处理与分析软件的设计要求	62
2.3.2	生物显微图像分析系统的软件结构	63
2.4	图像分析的主要技术流程	65
	参考文献	66
第3章	生物图像处理的基本方法	67
3.1	数字图像处理的数学知识	67
3.1.1	信号	67
3.1.2	信号的运算	69
3.1.3	点源与冲激函数	71
3.1.4	卷积	71
3.1.5	线性移不变系统	74
3.2	图像信号的数字化	75
3.2.1	信号的采样	75
3.2.2	信号的量化	77
3.3	图像运算	78
3.3.1	图像的点运算	78
3.3.2	图像的代数运算	80
3.3.3	图像的几何运算	81
3.3.4	图像的数学形态学运算	85
3.4	图像变换	91
3.4.1	傅里叶变换	91
3.4.2	离散余弦变换	94
3.4.3	小波变换	96
3.5	空间域图像增强	99
3.5.1	直方图增强	100
3.5.2	图像平滑	104
3.5.3	锐化增强	108
3.5.4	空间域伪彩色增强	111
3.5.5	真彩色增强	113
3.6	变换域图像增强	113
3.6.1	低通滤波器	114
3.6.2	高通滤波器	115
3.6.3	变换域伪彩色增强	117
3.6.4	同态滤波器	117

3.7 图像分割	118
3.7.1 图像分割的定义	119
3.7.2 经典图像分割方法	119
3.7.3 彩色图像分割	126
3.7.4 现代图像分割方法	127
3.7.5 细胞图像分割	129
参考文献	134
第4章 生物光学显微镜成像技术	135
4.1 概论	135
4.1.1 显微镜的成像原理	135
4.1.2 显微镜的基本结构	135
4.1.3 显微镜的技术指标	136
4.2 显微镜的通用照明技术	139
4.2.1 透射式照明	139
4.2.2 落射式照明	140
4.3 应用反差增强技术的显微镜	140
4.3.1 暗视野照明	141
4.3.2 相差显微镜	141
4.3.3 微分干涉差显微镜	143
4.4 落射荧光显微镜	145
4.4.1 荧光及其光谱	146
4.4.2 荧光显微镜的基本结构	148
4.5 光学系统的成像缺陷及其校正方法	150
4.5.1 单色像差及其校正方法	151
4.5.2 色差及其校正方法	153
参考文献	154
第5章 细胞(组织)图像分析	155
5.1 目标表达与描述	155
5.1.1 边界表达与描述	155
5.1.2 区域表达与描述	157
5.2 形态学参数及其测量方法	158
5.2.1 二维几何参数	158
5.2.2 三维结构参数	161
5.2.3 体视学参数	163
5.3 光度学参数及其测量方法	166
5.3.1 显微分光光度技术	166

5.3.2	流式细胞光度技术	170
5.3.3	图像细胞光度技术	173
5.4	图像细胞光度技术的实现	174
5.4.1	图像细胞光度技术的必要条件	175
5.4.2	光度技术的主要评价参数	175
5.4.3	光密度与灰度的关系	176
5.4.4	图像细胞光度技术与流式细胞光度技术的比较	177
5.5	图像处理在细胞(组织)图像分析中的应用	177
5.5.1	背景校正	177
5.5.2	滤波	179
5.5.3	对比度增强	179
5.5.4	二值图像运算	179
5.5.5	数学和逻辑运算	181
5.5.6	图像缩放与图像存储	182
5.6	图像分析的误差及其控制	182
5.6.1	图像分析的误差因素	182
5.6.2	图像分析误差的计算	184
5.6.3	图像分析的误差控制	185
参考文献		186
第6章	生物化学图像分析	187
6.1	电泳原理	187
6.1.1	Kohlaush 公式	187
6.1.2	带电粒子和等电点	188
6.1.3	影响电泳速度的外界因素	188
6.2	电泳技术的分类	190
6.2.1	电泳技术分类 I (原理)	190
6.2.2	电泳技术分类 II (固体支持介质)	191
6.2.3	电泳技术分类 III (其他)	191
6.3	凝胶电泳及凝胶图像分析系统	192
6.3.1	聚丙烯酰胺凝胶电泳	192
6.3.2	凝胶图像分析技术的发展	192
6.3.3	凝胶图像分析系统	193
6.3.4	凝胶图像分析原理	195
6.3.5	凝胶图像分析系统的选型	197
6.4	检测蛋白质的主要方法	198
6.4.1	Lowry 法及其改良方法	198

6.4.2 紫外吸收光度法	198
6.4.3 染色法	199
6.4.4 免疫印迹法	201
6.5 双向电泳	201
6.5.1 IEF/SDS-PAGE	201
6.5.2 双向电泳设备	203
6.6 双向电泳图像分析	206
6.6.1 双向蛋白电泳图像分析的实现	207
6.6.2 双向电泳图像分析小结	209
6.6.3 双向荧光差异凝胶电泳及其图像分析	209
6.7 单细胞凝胶电泳图像分析	211
6.7.1 SCGE 原理	211
6.7.2 彗星图像分析系统	212
6.7.3 SCGE 图像分析实例	214
参考文献	215
第7章 厚生物样品显微图像处理	217
7.1 激光扫描共聚焦显微镜	217
7.1.1 激光的基本性质	217
7.1.2 激光的特点	220
7.1.3 共聚焦的概念	221
7.1.4 激光扫描共聚焦显微镜原理	222
7.1.5 激光扫描共聚焦显微镜的主要应用	223
7.2 激光扫描共聚焦显微镜的结构	224
7.2.1 常用激光器	224
7.2.2 扫描单元	225
7.2.3 荧光显微镜	229
7.2.4 图像数据采集与转换单元	230
7.2.5 计算机系统	230
7.3 激光扫描共聚焦显微镜的系统软件	230
7.3.1 扫描方式	231
7.3.2 激光扫描共聚焦显微镜的软件模块	232
7.3.3 激光扫描共聚焦显微镜图像处理实例	234
7.4 科学计算可视化与共聚焦图像三维重建原理	236
7.4.1 科学计算可视化的基本概念	237
7.4.2 三维数据场的可视化方法	237
7.4.3 获得高质量的三维重建图像的方法	240

7.5	数字去卷积显微成像原理	241
7.5.1	影响光学显微镜成像的若干因素	241
7.5.2	光学显微镜成像的数学模型	245
7.5.3	光学切片	245
7.5.4	去卷积算法	246
7.5.5	数字去卷积技术与共聚焦技术的比较	249
7.6	多光子激发荧光显微成像技术	251
7.6.1	多光子激发原理	251
7.6.2	多光子激发显微镜的结构	252
7.6.3	多光子激发成像与单光子激发成像的比较	252
	参考文献	255
第8章	生物单分子成像与光镊技术	256
8.1	扫描探针显微成像技术和光镊技术的物理基础	256
8.1.1	电子的德布罗意波长	256
8.1.2	隧道效应和隧道电流	257
8.1.3	原子力	258
8.1.4	光阱力	258
8.2	扫描探针显微成像技术	259
8.2.1	扫描探针显微镜的分类	260
8.2.2	扫描隧道显微镜系统	260
8.2.3	扫描隧道显微镜的图像模式	261
8.3	原子力显微成像技术	262
8.3.1	原子力显微镜的结构	262
8.3.2	原子力显微镜的底物	266
8.3.3	原子力显微镜的工作模式	267
8.3.4	原子力显微镜的免费学习软件	269
8.3.5	原子力显微镜与其他成像技术的比较	270
8.3.6	原子力显微镜在生物科学研究中的应用	271
8.4	光镊技术	275
8.4.1	光镊系统的构成	275
8.4.2	光镊的特性	276
8.5	单分子检测技术	277
8.5.1	单分子成像技术	277
8.5.2	单分子纳米操作技术	282
8.5.3	单分子成像与纳米操作技术的结合	283
	参考文献	283

第9章 活体分子成像	284
9.1 活体分子成像的基本概念	284
9.1.1 放射性核素与放射性核素标记	284
9.1.2 分子探针与靶分子	285
9.1.3 结构成像与功能成像	287
9.1.4 活体分子成像技术	287
9.2 发射型计算机断层成像的技术基础	288
9.2.1 单光子发射与正电子发射	288
9.2.2 γ 光子探测	295
9.3 单光子发射计算机断层成像	297
9.3.1 SPECT 的结构	297
9.3.2 SPECT 数据衰减校正	298
9.3.3 小动物 SPECT 及其应用	298
9.4 正电子发射断层成像	302
9.4.1 PET 探测	302
9.4.2 PET 与 SPECT 主要性能的比较	305
9.4.3 小动物 PET 及其应用	305
9.5 磁共振成像和磁共振谱分析	313
9.5.1 MRI 基本原理	314
9.5.2 化学位移	316
9.5.3 小动物 MRI 系统的特点	316
9.5.4 MRI 活体分子成像的应用	318
9.6 光学成像	320
9.6.1 生物发光成像系统	321
9.6.2 绿色荧光蛋白基因表达成像	322
9.6.3 萤光素酶基因表达成像	323
9.6.4 生物发光成像与绿色荧光蛋白表达成像的比较	326
参考文献	327
第10章 生物图像处理与多媒体制作	329
10.1 图像图形软件简介	329
10.1.1 Photoshop	329
10.1.2 Fireworks	330
10.1.3 Illustrator 和 CorelDraw	330
10.2 Photoshop 的操作界面	330
10.2.1 标题、菜单及属性栏	331
10.2.2 工具箱	331

10.2.3	调板.....	334
10.2.4	状态栏和图像窗口.....	336
10.3	图像文件操作.....	336
10.3.1	新建文件和打开文件.....	337
10.3.2	存储文件和恢复文件.....	337
10.3.3	置入文件.....	338
10.4	图像的编辑.....	339
10.4.1	创建规则选区或不规则选区.....	339
10.4.2	移动和复制选区.....	340
10.4.3	存储和载入选区.....	340
10.4.4	定位选区.....	341
10.5	图层的应用.....	341
10.6	图像调整与图像处理.....	342
10.6.1	图像调整.....	342
10.6.2	图像处理基础.....	344
10.6.3	图像处理.....	346
10.7	用 Photoshop 处理激光扫描共聚焦显微镜图像实例.....	349
10.8	用于生物科学的多媒体制作.....	358
10.8.1	幻灯片演示.....	358
10.8.2	视频和动画制作.....	359
	参考文献.....	361
附录 1	QWin 图像处理与分析软件.....	362
附录 2	英汉生物图像技术常用词汇表.....	373
附录 3	生物图像技术常用网址.....	383

第1章 绪 论

细胞和组织在发挥功能和进行代谢时,都会伴随信息的产生。一般说来,信息是对人们有用的数据,可以用数字、符号、文字、曲线、图表、声音、图像等形式来表达。人类视觉具有完善的感知能力,而且图像所提供的直观作用远不是其他方式的描述所能达到的,因此许多生物科学研究的中间或最后的结果都要以可视的图像形式表示,以利于人们对其理解、分析和应用。图像的主观感受与视觉系统的特性有着密切的联系。了解图像最基本的性质和视觉系统的特性,有助于合理地选择图像处理方法,进而从图像中获得更多的有用信息。

1.1 人的视觉系统及其特性

人的视觉系统不仅具有获得信息的能力,还具备对信息进行处理与分析的功能。从基本结构来看,视觉可以分为较低层次的视感觉和较高层次的视知觉;从因果关系来看,视感觉与视觉系统的物理特性相联系,而视知觉则更加依赖于人的自然和社会知识以及心理因素。

1.1.1 视觉系统的基本结构

1. 眼球和视神经传导机制

完整的视觉系统由眼的屈光系统、光阑系统、感光系统、视觉冲动传导系统和视觉中枢组成(图 1-1,彩图 1)。眼的屈光系统是一个复杂的光学系统,其组织构成为角膜、房水、晶状体和玻璃体。它们的屈光指数不同,由角膜的前、后表面和晶状体的前、后表面构成了 4 个曲率半径不同的折射面。眼的光阑系统由瞳孔、虹膜、睫状体、脉络膜和巩膜组成。瞳孔的大小可由瞳孔括约肌和瞳孔开大肌调节,从而改变进入眼内的光通量。从某种意义上讲,感光系统主要就是视网膜。将经过眼的屈光系统在视网膜上形成的视觉形象转变成视神经纤维的神经冲动,这一光电转换过程在视网膜内进行。视网膜正对瞳孔处的小块黄色区域称为黄斑,黄斑中央的凹陷是对光线最为敏感的中央凹。视网膜上的双极细胞和神经节细胞参与神经冲动的传递过程。视觉冲动传导系统包括视神经、视交叉、视束、外侧膝状体、视放射(图 1-2,彩图 2)。视觉中枢位于大脑枕叶皮质纹状区。

2. 视网膜的感光功能和色觉

视网膜的结构非常复杂,在组织学上将其分为 10 层,但其主要的功能细胞有 3 层(图 1-3),从靠近脉络膜的一侧算起,依次为感光细胞层、双极细胞层和神经节细胞层。

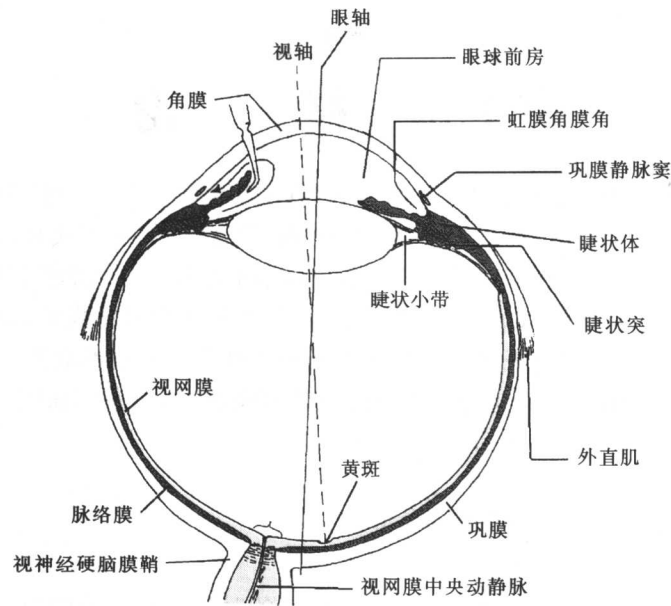


图 1-1 眼球的水平切面(右侧)(引自顾晓松 2004)

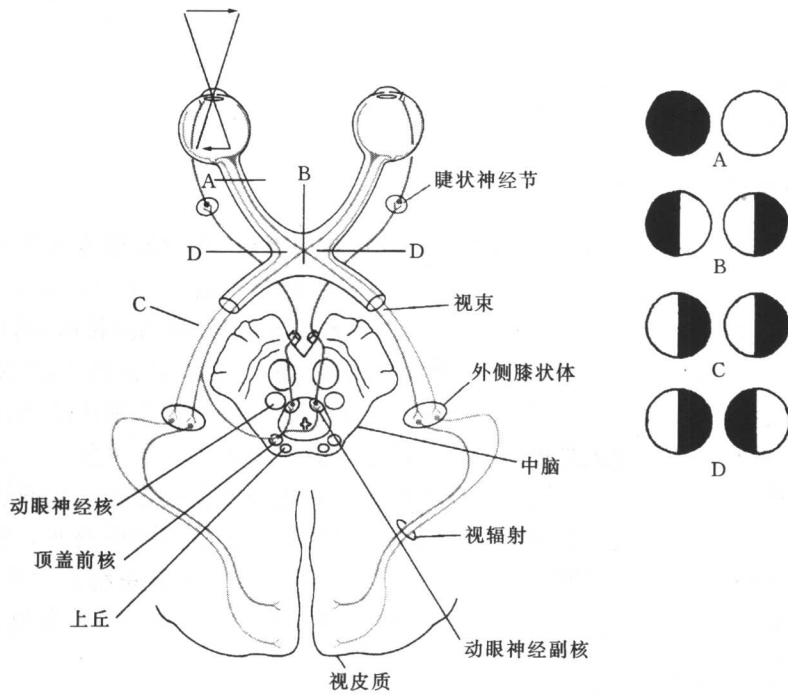


图 1-2 视觉神经传导机制(引自顾晓松 2004)

感光细胞层中包含两类感光细胞:视杆细胞和视锥细胞。一个眼球的视网膜上约有1.2亿个视杆细胞和600万个视锥细胞。视杆细胞主要分布在视网膜周边部,视锥细胞主要分布在视网膜近中心部。在黄斑中心的中央凹处只有视锥细胞而无视杆细胞。

视觉的二元理论指出,人的视网膜中存在两种感光换能系统:由视杆细胞和与其有关的双极细胞、神经节细胞构成的视杆系统或称暗视觉系统;由视锥细胞和与其有关的传递细胞构成的视锥系统或称明视觉系统。视杆细胞具有较高的光敏感度,能在低照度下感受光刺激而产生视觉响应,但只能辨别景物的明暗和较粗略的轮廓,不具备分辨颜色的能力。视锥细胞则对光的敏感性差,只有在高照度下才能引起兴奋,但成像空间分辨率高,能看清景物表面的细节和轮廓境界,具有辨别颜色的能力。正常视网膜可分辨370~740 nm之间大约150种颜色,每种颜色都与一定波长的光波相对应。在可见光谱范围内,光的波长只要改变3~5 nm,视锥系统就能分辨出对应的颜色。

总之,视觉的形成既要通过特定的光学系统,又要经历信息传递、能量转换、视觉辨认、图像识别等一系列相互作用的过程,并且要依赖周围到中枢的广泛的神经网络。

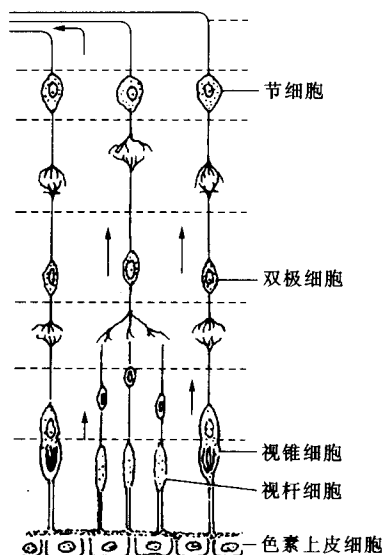


图 1-3 视网膜的神经细胞示意图
(引自顾晓松 2004)

1.1.2 视觉现象

人眼除了一般的视觉功能外,还具有一些其他特性。了解这些特性对于图像处理是非常有益的,因为处理后获得的图像是否达到预期目的,最终仍要由人眼来进行判断。这里仅叙述与图像处理有关的若干视觉现象。

1. 亮度适应和颜色适应

亮度适应指的是人眼的视觉敏感度对外界光线亮度发生变化时所作的顺应性改变的特性。由于这种适应性,人眼所感觉到的亮度范围很宽。相关的实验表明,从暗视阈值到强闪光之间的光强度差别约达到 10^{10} 级。

处在明亮环境下的人的视觉系统,由于已经产生了对明亮环境的适应,一旦进入黑暗环境时,最初会感到一团漆黑,无法辨认周围的景物,经过一段时间后视觉敏感度逐渐恢复,才能够辨认暗淡环境下的景物。人眼的这种对光敏感度逐渐增加并达到最佳状态的过程称为暗光适应。暗光适应产生的机制与视网膜中感光色素在暗处合成增强即感光色素的绝对量增加有关。暗光适应的时间大约需要10 min。类似地,从黑暗环境突然来到明亮环境时,人眼最初的感觉是眩光,无法辨认景物,大约1 min后才开始适应,这一过程称为明光适应。

由于存在亮度适应性,当人的视觉系统适应了某一平均亮度时,能够同时鉴别出光强