

# Fiche de données imagerie

L'analyse d'image en biologie permet d'extraire des informations quantitatives d'objet d'intérêt marqués généralement par fluorescence. Les échelles observées peuvent avoir une grande étendue allant de la plante entière aux loci dans le noyaux en passant par les compartiments sub-cellulaires. L'échelle temporelle peut être associée à l'échelle spatiale. Les mesures quantitatives permettent :

- le dénombrement d'objets d'intérêts (comptage, densité, ...)
- le positionnement absolue de l'objet ou la position relative en regard d'un autre objet (position, distance)
- extraction de paramètres morphométriques (formes, orientations, taille, photométrie, ...)

D'autres données comme les images "résultats" issues de l'analyse d'image et les reconstructions maillées (maillage) apportent un complément aux données quantitatives. Les données résultantes de l'analyse sont associées à des méta-données. Ces méta-données décrivent le contexte biologique de l'expérimentation (condition de culture, génotypes, marqueurs, date, ...) ainsi que les conditions d'acquisitions ( microscope, paramètres d'acquisition, résolution, longueur d'ondes, ...). Ces méta-données doivent aussi décrire les méthodes algorithmiques mis en œuvre, la version du code et de ses paramètres.

Les données d'imagerie étant une modalité relativement récente, il n'existe pas véritablement de standards adoptés par l'ensemble de la communauté, et par conséquent peu de bases de données communes recensant des données (notamment traitées) et bien identifiées. Par ailleurs, les conventions utilisées pour nommer les gènes, les identités cellulaires ou les zones tissulaires ne sont pas standardisées et sont très fortement dépendantes de l'organisme considéré, voire de l'organe. A la différence d'autres données \*-omiques\*, il n'existe pas à l'heure actuelle de données de référence sur lesquelles réaliser un mapping d'un jeu de données (à la manière de génomes de référence en génomique). Les méthodes pour effectuer ce type de mapping sont encore de l'ordre du problème de recherche.

## Workflows d'analyse autour des données d'imagerie

Quelques bibliothèques et logiciels permettent de traiter un grand nombre d'image à travers un workflow :

- [ImageJ/Fidji](#) : par l'écriture de macro
- [Bip](#) (Biological Image Processing) : en développement disponible en 2021

## Dépôts internationaux de données d'imagerie

à l'échelle de la cellule

- [The Image Data Resource](#) (2016-2020 University of Dundee & Open Microscopy Environment)
- [MorphoNet](#) - A novel concept of web-based morphodynamic browser.

## Projets d'intégration concernant des données d'imagerie

- Intégration de la base de données [Aniseed](#) d'expression génétique d'embryons d'Ascidies (dont \*Phallusia mammillata\*) à travers le navigateur [MorphoNet](#).
- \*(en développement)\* Intégration d'un atlas d'expression génétique du méristème floral d'*Arabidopsis thaliana* (au sein du projet ERA-CAPS [Genes2Shape](#))

## Références

- Andrey, P., & Maurin, Y. (2005). Free-D : an integrated environment for three-dimensional reconstruction from serial sections. *Journal of neuroscience methods*, 145(1-2), 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.01.006>

- Barbier de Reuille, P., Routier-Kierzkowska, A. L., Kierzkowski, D., Bassel, G. W., Schüpbach, T., Tauriello, G., Bajpai, N., Strauss, S., Weber, A., Kiss, A., Burian, A., Hofhuis, H., Sapala, A., Lipowczan, M., Heimlicher, M. B., Robinson, S., Bayer, E. M., Basler, K., Koumoutsakos, P., Roeder, A. H., Smith, R. S. (2015). MorphoGraphX : A platform for quantifying morphogenesis in 4D. *eLife*, 4, 05864. <https://doi.org/10.7554/eLife.05864>
- Biot, E., Crowell, E., Burguet, J., Höfte, H., Vernhettes, S. and Andrey, P. (2016), Strategy and software for the statistical spatial analysis of 3D intracellular distributions. *Plant J*, 87 : 230-242. <https://doi.org/10.1111/tpj.13189>
- Biot, E., Cortizo, M., Burguet, J., Kiss, A., Oughou, M., Maugarny-Calès, A., ... & Laufs, P. (2016). Multiscale quantification of morphodynamics : MorphoLeaf software for 2D shape analysis. *Development*, 143(18), 3417-3428. <https://doi.org/10.1242/dev.134619>
- Burel, J. M., Besson, S., Blackburn, C., Carroll, M., Ferguson, R. K., Flynn, H., Gillen, K., Leigh, R., Li, S., Lindner, D., Linkert, M., Moore, W. J., Ramalingam, B., Rozbicki, E., Tarkowska, A., Walczysko, P., Allan, C., Moore, J., & Swedlow, J. R. (2015). Publishing and sharing multi-dimensional image data with OMERO. *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society*, 26(9-10), 441-447. <https://doi.org/10.1007/s00335-015-9587-6>
- Leggio, B., Laussu, J., Carlier, A., Godin, C., Lemaire, P., & Faure, E. (2019). MorphoNet : an interactive online morphological browser to explore complex multi-scale data. *Nature communications*, 10(1), 2812. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10668-1>

## Données d'exemple

Il est difficile d'être exhaustif dans l'illustration des sorties d'analyse d'image. En effet, les sorties résultantes peuvent être de différentes natures (données quantitatives, données qualitatives, représentations iconiques, représentations géométriques, graphes, ...). Ces trois exemples à des échelles et à des dimensions différentes (organe, tissus, cellules, organistes, 2D+temps, 3D) essayent de refléter au mieux la nature de ses sorties.

### → Étude la morphogenèse foliaire et de ces déterminants génétiques

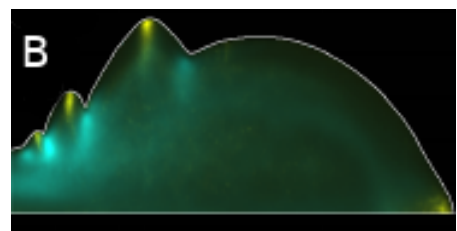
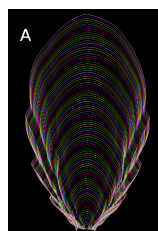
Comprendre les mécanismes et déterminants génétiques impliqués dans la morphogenèse des feuilles d'une rosette d'*Arabidopsis thaliana*. Un défi majeur en morphométrie est d'analyser des formes biologiques complexes formées par des structures à différentes échelles. Les feuilles illustrent ce défi car elles combinent des différences dans leur forme générale avec des variations de forme plus petites à leur marge, conduisant à des lobes ou des dents. Ce projet illustre une intégration de la données image sous forme d'une représentation moyenne de l'évolution de la forme du limbe durant la morphogenèse foliaire. Les sorties sont de trois types : une analyse morphométrique, un ensemble de courbe représentant la trajectoire de croissance moyenne à différents âges du limbe et des cartographies d'expression de gènes intégrées dans cette trajectoire de croissance. Les analyses sont effectuées à l'aide du logiciel Free-D et du plug-in [MorphoLeaf](#).

### Analyse morphométrique

Slice_Name	Calibration	Blade_Length	Age.day	Age.hours	Blade_Width.BB.	Blade_Width.IS.	Blade_Area	Blade_Perimeter	Petiole_Width
Col_JC_09_mp_avec_dent1_corrige_norm_sa_sinus_p...	0.292688	234.151	6.33852	152.124	160.689	NaN	30253.6	707.937	110.343
Col_JC_09_mp_avec_dent1_corrige_norm_sa_sinus_p...	0.295276	236.221	6.36218	152.692	162.110	NaN	30779.0	715.926	110.728
Col_JC_09_mp_avec_dent1_corrige_norm_sa_sinus_p...	0.299280	239.723	6.40180	153.643	164.309	NaN	31608.6	725.653	111.632
Col_JC_09_mp_avec_dent1_corrige_norm_sa_sinus_p...	0.303353	242.986	6.43825	154.518	167.148	154.705	32457.6	736.850	111.938
Col_JC_09_mp_avec_dent1_corrige_norm_sa_sinus_p...	0.303353	242.986	6.43825	154.518	167.148	154.705	32457.6	736.850	111.938
Col_JC_09_mp_avec_dent1_corrige_norm_sa_sinus_p...	0.307494	246.303	6.47488	155.397	169.432	156.509	33321.0	745.248	112.851
Col_JC_09_mp_avec_dent1_corrige_norm_sa_sinus_p...	0.307494	246.303	6.47488	155.397	169.432	156.509	33321.0	745.248	112.851

### Trajectoire de croissance et cartographie d'expression de gènes

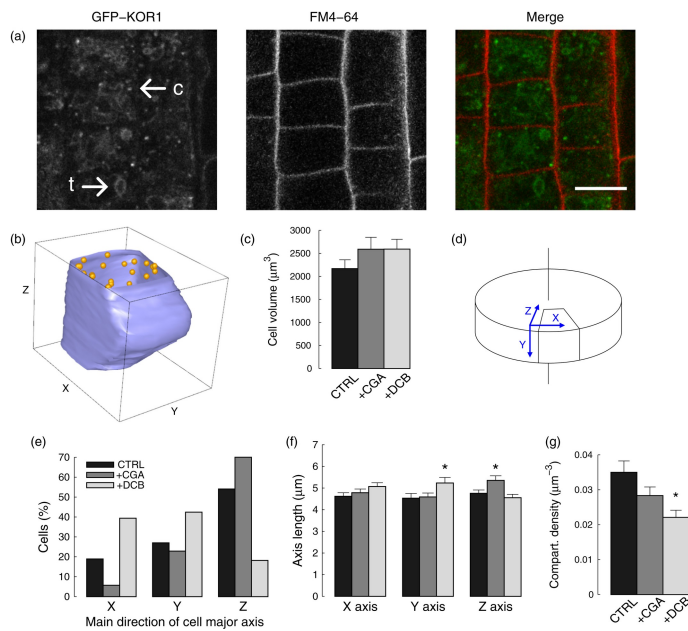
Cartographie de l'expression de différents gènes (B) (cyan : *CUC2* et jaune : *DR5*) projetée dans une trajectoire moyenne de croissance (A)



## → Étude de distribution spatiale d'un gène

La localisation des protéines dans des domaines ou des compartiments spécifiques de l'espace cellulaire 3D est essentielle pour de nombreux processus fondamentaux dans les cellules eucaryotes. Décrypter les principes d'organisation spatiale au sein des cellules est une tâche difficile, en particulier en raison des grandes variations morphologiques entre les cellules individuelles. Une approche pour normaliser les variations de la morphologie cellulaire et pour analyser statistiquement les distributions spatiales des compartiments intracellulaires à partir de collections d'images 3D sont illustrées dans cet exemple. Les analyses sont effectuées à l'aide du logiciel **Free-D**.

### Analyse morphométrique des cellules individuelles



### Imagerie cellulaire, reconstruction et quantification dans les groupes témoins et traités par un inhibiteur de cellulose.

(a) Coupes optiques uniques de cellules de racine exprimant GFP-KOR1 (vert) et marquées par FM4-64 (rouge). Les flèches indiquent les compartiments (c) et le tonoplaste (t) marqués par la GFP. Barre d'échelle =  $10 \mu\text{m}$ .

(b) Cellule reconstruite en 3D (bleu : surface cellulaire; orange : positions des compartiments GFP-KOR1).

(c) Volumes des cellules.

(d) Cadre de coordonnées pour orienter les cellules dans les racines. Les directions des axes sont X = tangentielle, Y = longitudinale, Z = radiale.

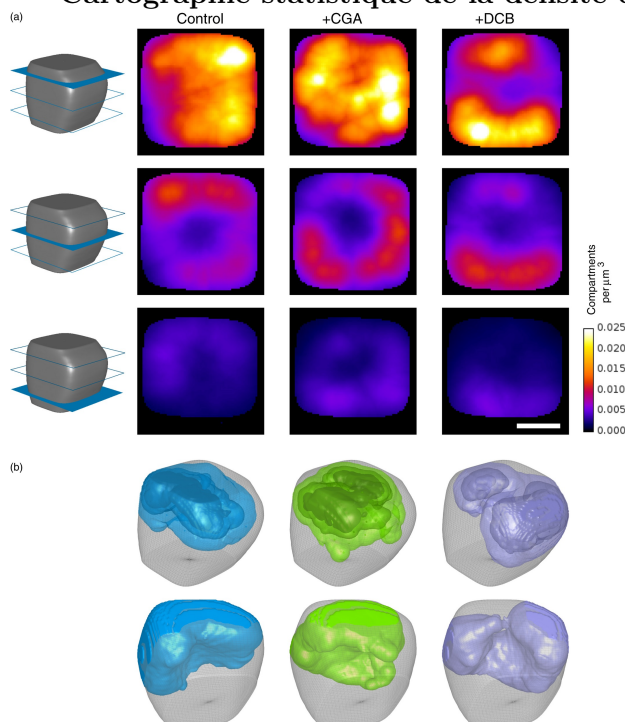
(e) Distribution de la direction de l'axe majeur des cellules dans chaque groupe expérimental.

(f) Extensions de cellules le long des directions principales des racines dans chaque groupe expérimental.

(g) Densité des compartiments par cellule dans les trois groupes.

Barres : erreur standard de la moyenne (SEM).

### Cartographie statistique de la densité des compartiments GFP – KOR1 en 3D



(a) Vues en coupe pseudo-couleur. Pour chaque groupe expérimental, trois sections longitudino-tangentielles (XY) à travers la carte de densité 3D correspondante sont présentées. La colonne de gauche montre les positions de section (bleu) dans la cellule moyenne (gris). Barre d'échelle :  $2,5 \mu\text{m}$ .

(b) Surfaces d'isodensité. Les lignes du haut et du bas affichent deux orientations arbitraires.

Les surfaces ont été calculées aux 50e, 75e et 90e percentiles de la distribution de densité dans chaque groupe. Seule la surface du 50e centile est affichée dans la rangée du bas.

→ **Mesures phénotypiques et/ou de signal à l'échelle de la cellule**

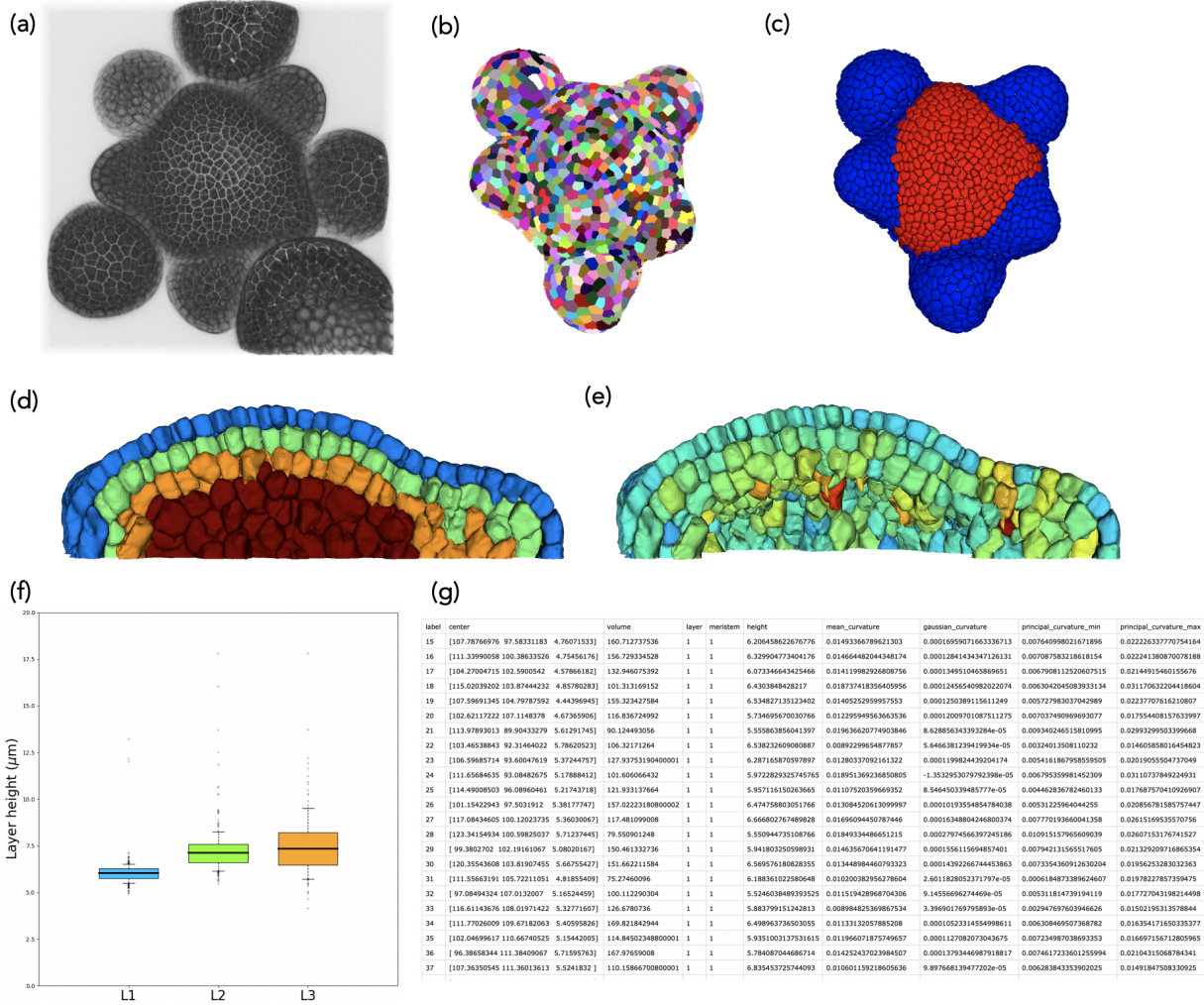
L'analyse de processus biologiques à partir de données de microscopie, notamment en biologie du développement, passe généralement par la quantification de divers paramètres morphométriques à l'échelle des cellules. Cela suppose l'utilisation de méthodes permettant de localiser les objets "cellules" dans l'image ou dans la séquence d'images et de leur assigner un identifiant unique. Sur cette base il est alors possible de calculer pour chaque cellule un certain nombre de variables, dépendant de la question biologique étudiée.

La donnée résultante prend alors la forme suivante :

- Une table à colonnes nommées par échantillon
- Une colonne correspond à un identifiant ou à une variable calculée
- Une ligne correspond à une cellule de l'échantillon
- Possibilité de valeurs manquantes pour certaines colonnes

Colonne	Type	Description	Remarques
<b>Identifiant</b>	UINT	Identifiant unique associé à chaque cellule détectée dans l'image	Permet implicitement le comptage des cellules
<b>Position spatiale</b> ex : <i>center</i> (image)	VECTOR (FLOAT)	Coordonnées spatiales (2D, 3D, éventuellement temporelles) de la cellule	Toujours exprimées dans un <b>référentiel spatial</b> , indispensable à leur interprétation (par défaut, celui de l'image)
<b>Mesure phénotypique</b> ex : <i>volume</i> ( $\mu\text{m}^3$ ) ex : <i>mean_curvature</i> ( $\mu\text{m}^{-1}$ )	FLOAT	Mesure quantitative d'une grandeur physique/géométrique associée à la cellule	Mesure absolue, exprimée dans une unité physique
<b>Grandeurs spatialisées</b> ex : <i>normal_vector</i> ex : <i>growth_tensor</i>	FLOAT VECTOR TENSOR (FLOAT)	Mesure géométrique (généralement vectorielle ou tensorielle) associée à la cellule	Mesure physique, mais dont la valeur dépend du référentiel spatial considéré (par défaut, celui de l'image)
<b>Intensité de fluorescence</b> ex : <i>DR5</i> (16bit) ex : <i>normalized_CUC2</i>	FLOAT	Mesure quantitative d'intensité (moyenne) de signal d'un canal de l'image à l'échelle de la cellule	Mesure relative (dépendante des paramètres d'acquisition), brute (à valeur sur l'échelle de l'image, 8bit, 16bit, etc.) ou normalisée (généralement entre 0 et 1, mais relativement à ? un individu ? une population ?)
<b>Label d'identité cellulaire / tissulaire</b> ex : <i>zone</i> (text) ex : <i>organ_boundary</i> (bool)	INT TEXT BOOL	Variable catégorielle associant chaque cellule à une identité donnée (ou à aucune, valeur manquante possible)	Labels textuels ou entiers (identifiant d'un tissu), ou bien colonne booléenne dont le nom est l'identité

## Hauteur des couches cellulaires dans le méristème apical d'*Arabidopsis thaliana*



(a) Méristème dont les parois cellulaires ont été marquées au *Propidium Iodide* (PI) imagé au microscope confocal. (b) Segmentation des cellules obtenue à partir de l'image de microscopie et où chaque cellule est identifiée. (c) Séparation de la zone méristématique (rouge) des organes floraux (bleu) (d) Détermination des couches cellulaires L1 (bleu), L2 (vert) et L3 (orange) et (e) estimation de la hauteur des cellules le long de la direction normale à la surface du méristème. (f) Comparaison des distributions de hauteurs de cellule par couche cellulaire au sein du tissu méristématique. (g) Extrait de la table de données générée pour l'image analysée.