

3D Tomogram 향상을 위한 필터링 기술의 활용

류근용, 조혜진, 채희수, 제아름, 정현석, 권희석
한국기초과학지원연구원 전자현미경연구부
e-mail : kyryu, hjcho0603, hschae, areum83, hyunsukjung
hskweon@kbsi.re.kr

Filtering Techniques Application for Improvement on 3D Tomogram

Keun Yong Ryu, Hye-Jin Cho, Hee-Su Chae
A-Reum Je, Hyun Suk Jung, Hee-Seok Kweon
Division of Electron Microscopic Research, Korea Basic Science Institute

요 약

본 연구는 이미지 필터링 효과를 적용한 이미지들을 3D tomogram으로 만들었을 때 어느 정도의 효과적인 복원이 가능하고 또 어떤 해상도의 필터를 사용했을 때 더 나은 결과를 얻어 낼 수 있는 지 확인하기 위해 진행하였다. 전자현미경으로 2D tilted image들을 찍는 과정에는 고전압의 사용으로 인한 다소의 오류들이 발생한다. 따라서 이러한 오류를 상쇄시키고 3D tomogram의 질적 향상을 위하여 Gaussian low-pass filtering을 사용하였다. 또한 Gaussian low-pass filtering 내에서도 어떤 해상도 값의 필터링을 사용해야 더 나은 결과를 얻을 수 있는 지 확인하였다.

1. 서론

Electron tomography는 3D 재구성을 위한 전자현미경 분석법으로, 실험대상으로부터 관찰된 2차원 정보값을 계산하여, 3차원 영상으로 변환시키기 위해 고안되었다. 이 분석법은 관찰대상의 한 축은 고정시킨 채 그 축을 기준으로 각도를 일정하게 변화시켜 전자현미경으로 부터 2차원 이미지를 얻어 3차원 구조로 복원 시킨다. 고전압에 의해 투영된 2차원 이미지에는 실험대상의 단편적인 형태만이 시각화되어 관찰되지만, 실제로 이 2차원 이미지 내에는 3차원적 구조복원에 필요한 데이터와 불필요한 데이터를 동시에 보유하고 있다. 즉 육안으로 구분하기 불가능한 부분 중에는 대상물의 실제 signal이 존재하는 반면에 noise 또한 포함하고 있다. 따라서 최대한 실제 구조와 가깝게 3D로 재구성하기 위해서는 signal 과 noise의 구분이 필요하다.

본 연구에서는 전자현미경에서 고전압으로 고해상도의 이미지를 얻을 때 발생하는 noise를 제거하기 위해서 Gaussian low-pass filtering을 사용하였고, Gaussian low-pass filtering의 값을 변화시켜 관찰 대상의 각각 다른 tomogram을 재구성하여 그 대상에 알맞은 resolution filter가 존재하는 지 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 실험 방법

전자현미경의 고배율(15,000배) 상에서 획득한 2차원 이

미지들을 원본데이터 그리고 35 Å 과 50 Å의 Gaussian low-pass filtering^[1]을 사용하여 만들어진 세 개의 독립된 데이터 그룹으로 분리한 뒤 각각을 IMOD^[2] 3D 프로그램을 이용하여 tomogram으로 재구성하였다. 다음으로 원본 데이터로 부터 재구성한 3D tomogram과 필터링 된 데이터로부터 재구성한 3D tomogram을 Chimera^[3] software를 통해 비교 분석하였다. 그리고 Gaussian low-pass filtering의 데이터 연산은 SPIDER^[4] software의 FQ script을 통해 수행하였다.

3. 실험결과 및 분석

실험 대상으로는 전자현미경을 통해 관찰한 Cyano bacteria의 이미지들과 이 원본 이미지들에 대해 35Å 와 50Å의 Gaussian low-pass filtering을 적용한 이미지들을 토대로 진행하였다.

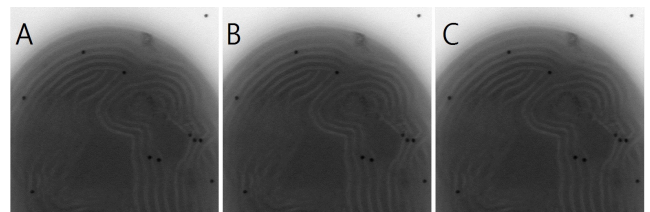


그림 1. 원본 이미지(A)와 35Å(B)과 50Å(C)으로 필터링 된 이미지

그림1 에서 확인할 수 있듯이 2차원 이미지 상에서는 원본 이미지와 필터링 된 이미지 간의 차이점이 육안으로 뚜렷하게 관찰되지 않았다.

다음 과정으로 앞서 비교한 세 가지 이미지를 대상으로 IMOD software를 활용하여 electron tomogram을 재구성 해보았다. 그림 2에서 보듯이 원본보다는 35Å에서 더 선명하게 보이고, 원본과 35 Å에 비하여 50 Å Gaussian low-pass filtering을 사용한 데이터로 부터 보다 나은 tomogram을 얻을 수 있었다. 따라서 tomogram을 만들기 전에 필터링 된 이미지만으로는 필터링의 효과를 명확히 확인 할 수 없었지만 tomogram으로 재구성 했을 경우에는 확연한 차이를 보였다.

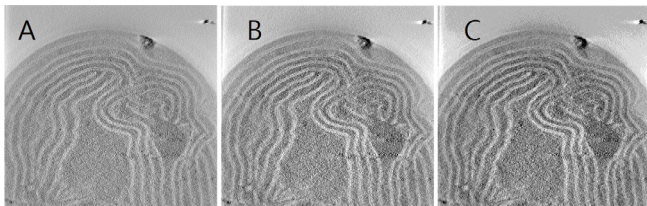


그림 2. 원본이미지(A)와 35Å(B)과 50Å(C)으로 필터링된 이미지들로부터 재구성한 electron tomogram의 2차원 이미지

표 1은 각 데이터별 tomogram을 재구성하는 과정에서 생산된 shift alignment 값들의 차이점을 보여준다. 효과적인 tomogram으로 시각화가 가능했던 50 Å 데이터와 다른 데이터(원본과 35 Å 데이터)를 비교하였을 때, 원본 데이터와 필터링 된 데이터 간에 다소 차이가 있다는 점을 확인할 수가 있다. 이는 이미지 상에서는 육안으로 그 차이를 확인하기 어렵지만 tomogram 재구성과정에서는 그 차이를 분명히 확인할 수 있다는 것을 알 수 있으며, 또 고해상도 상의 noise가 이미지에 상당한 영향을 준다는 점을 나타내는 것이다.

표 1. Electron tomography 과정에서 생성된 shift alignment 값의 비교

Micrographs #	원본		Filtered at 30 Å		Filtered at 50 Å	
	Shift X	Shift Y	Shift X	Shift Y	Shift X	Shift Y
32	14.39	2.97	14.36	2.93	14.33	2.90
33	10.10	5.65	9.94	5.60	9.83	5.55
34	9.12	5.37	8.79	5.31	8.56	5.26
35	9.56	5.23	9.13	5.17	8.82	5.12
36	9.83	5.34	9.31	5.29	8.93	5.24
37	10.29	5.24	9.62	5.14	9.13	5.10
38	8.28	4.99	7.52	4.88	6.95	4.83
39	4.67	4.54	3.79	4.43	3.13	4.38
40	7.49	4.48	6.45	4.37	5.68	4.31
41	6.20	4.18	5.05	4.06	4.19	4.00
42	5.85	3.96	4.58	3.83	3.65	3.76
43	4.08	4.18	2.75	4.06	1.75	3.99
44	3.00	4.03	1.55	3.90	0.45	3.83
45	0.34	4.48	-1.12	4.35	-2.23	4.27
46	-1.27	4.95	-2.78	4.81	-3.95	4.73
47	-3.87	5.20	-5.44	5.08	-6.68	5.00
48	-6.09	5.35	-7.76	5.22	-9.07	5.12
49	-9.74	5.88	-11.53	5.75	-12.93	5.63
50	-12.99	6.96	-14.83	6.82	-16.27	6.69
51	-19.41	7.30	-21.29	7.16	-22.76	7.05
52	-17.58	7.03	-19.61	6.89	-21.17	6.77
53	-22.93	7.30	-24.99	7.16	-26.58	7.05
54	-26.09	8.12	-28.21	7.97	-29.83	7.84
55	-30.63	6.99	-32.84	6.84	-34.49	6.72
56	-34.53	6.33	-36.72	6.20	-38.38	6.09
57	-38.19	6.03	-40.47	5.88	-42.17	5.80
58	-41.02	5.11	-43.28	4.98	-44.95	4.92
59	-46.62	5.42	-48.80	5.31	-50.41	5.26
60	-51.92	5.34	-54.04	5.25	-55.60	5.21
61	-56.57	4.71	-58.57	4.64	-60.04	4.62

그림 3은 원본 데이터와 50 Å 필터링 데이터로부터 만든 tomogram의 3D 구조를 Chimera에서 동일한 각도로 관찰한 모습이다. 그림에서 보듯이 50 Å의 tomogram은 세포내 구조만 남고 noise가 제거되어 세부 구조가 정확하게 보이지만, 좌측의 원본이미지의 tomogram 내에는 불필요한 데이터들로 인한 많은 noise들이 존재하여 구조를 정확하게 확인하기 힘들다.

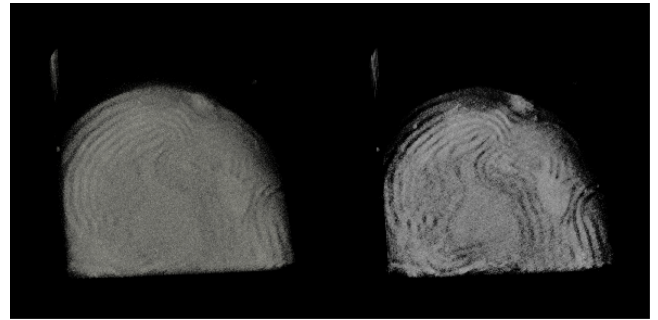


그림 3. 원본이미지의 tomogram(좌)과 50Å 필터링 이미지로부터 재구성한 tomogram(우)의 3D 결과

4. 결론

Gaussian low-pass filtering은 이미지 필터링 기법 중 하나로 원본 이미지로부터 더 선명한 이미지를 얻는 방법으로 사용되고 있다. 하지만 서로 다른 대상과 다른 조건 하에서 얻은 이미지 임에도 불구하고 동일한 resolution을 적용하여 필터링을 하는 것이 일반적이다. 따라서 본 연구에서는 filtering resolution값을 변화시켜 tomogram을 만들었을 때 확연히 다른 결과를 얻을 수 있다는 사실을 확인하였고, 또 대상에 따라 filtering resolution의 적정값도 차이가 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

- [1] S. M. Nixon, A. S. Aguado, "Feature Extraction and Image Processing" Academic Press, pp. 88, May, 2008.
- [2] J. R. Kremer, D. N. Mastrorade, J. R. McIntosh, "Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD" J. Struct. Biol. Vol. 116, pp. 71-76, Jan. 1996.
- [3] E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, T. E. Ferrin, "UCSF Chimera: a visualization system for exploratory research and analysis. J. Comput. Chem. Vol. 25, pp. 1605-1612, Oct. 2004.
- [4] J. Frank, M. Radermacher, P. Penczek, J. Zhu, Y. Li, M. Ladjadj, A. Leith, "SPIDER and WEB: processing and visualization of images in 3D electron microscopy and related field". J. Struct. Biol. Vol. 116, pp. 190-1999, Jan. 1996.