

3D Tomogram 향상을 위한 Band-pass Filtering 기술의 활용

류근용, 김수진, 정현석, 권희석
한국기초과학지원연구원 전자현미경연구부
e-mail : kyryu, sjkim97, hyunsukjung, hskweon@kbsi.re.kr

Application of band-pass filtering techniques for improvement on 3D tomogram

Keun Yong Ryu, Soo Jin Kim, Hyun Suk Jung, Hee-Seok Kweon
Division of Electron Microscopic Research, Korea Basic Science Institute

요 약

초고전압 투과전자현미경으로부터 생산된 2D 이미지들에는 고전압(1250 kV)의 사용으로 인한 다양한 노이즈가 발생한다. 따라서 2D 이미지로부터 3D tomogram으로 재구성시 선명도 향상을 위하여 2D 이미지의 노이즈 제거 과정은 필수적이다. 본 연구에서는 band-pass filtering 기법을 활용하여 노이즈를 상당 부분 제거하였고, 필터링된 이미지로부터 3D tomogram으로 재구성한 경우 band-pass filtering의 효과가 2D 이미지에서 뿐만 아니라 3D tomogram으로 재구성 했을 경우에 어떤 대역의 filter radius를 적용해야 더욱 효과가 크다는 사실을 확인하였다.

1. 서론

Electron tomography는 3D 재구성을 위한 전자현미경 분석법으로, 실험대상으로부터 관찰된 2차원 정보값을 계산하여, 3차원 영상으로 재구성하기 위해 고안되었다. 이 분석법은 관찰대상의 한 축(x축 혹은 y축)은 고정시킨 채 그 축을 기준으로 각도를 일정하게 변화시켜 2D 이미지로부터 일련의 과정을 거쳐 3D 구조로 재구성 하는 방법을 말한다.

실험에 사용된 초고전압 투과 전자현미경은 고배율과 고투과력을 가능하게 하기위해 고전압(1250 kV)을 사용한다. 하지만 고전압의 사용으로 인해 이미지 내에는 다양한 노이즈가 발생한다. 따라서 2D 이미지를 최대한 실제 구조와 가깝게 3D로 재구성하기 위해서는 노이즈의 제거 과정이 반드시 필요하다. 본 연구에서는 노이즈를 제거하기 위한 방법으로 band-pass filtering^[1]을 사용하여 그 효과를 확인하고, 또 band-pass filtering에서 어떤 대역의 filter radius값을 사용해야 더 선명한 3D tomogram을 얻을 수 있는지 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 실험 방법

실험에 사용된 재료는 소의 신장 내 chromaffin cell이며, 이 시료를 500 nm 두께로 잘라 초고전압 투과 전자현미경의 고배율(20,000배)상에서 ±60°로 각 2°씩 tilting하여 총 60장의 2차원 원본 이미지를 획득하였다. 또 이 원본 데이터를 0.01~0.02/pixel filter radius 대역으로 band-pass filtering을 적용한 데이터, 그리고 0.1~0.2/pixel filter radius 대역으로 band-pass filtering을 적용한 데이터로 3

개의 그룹으로 분리한 뒤 각각을 IMOD^[2]를 이용하여 tomogram으로 재구성하였다. 그리고 band-pass filtering의 데이터 연산은 SPIDER^[3]의 FQ routine을 통해 수행하였다.

다음으로 원본 데이터로부터 재구성한 tomogram과 필터링된 이미지로부터 재구성한 tomogram을 Chimera^[4]를 통해 3D 영상으로 비교하였다.

3. 실험결과 및 분석

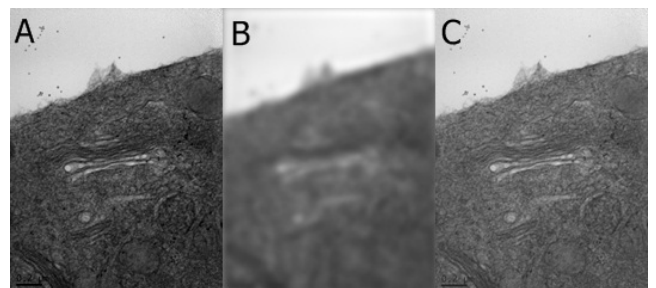


그림 1. 원본 이미지(A)와 필터링된 이미지들(B,C)의 비교

그림 1은 원본 이미지와 band-pass filter를 적용한 이미지들을 비교한 그림이다. 그림 A는 전자현미경에서 직접 찍은 원본이미지이고, 그림 B는 0.01~0.02/pixel filter radius의 대역값으로 band-pass filtering을 적용한 이미지이며, 그림 C는 0.1~0.2/pixel filter radius의 대역값으로 band-pass filtering을 적용한 이미지이다. 그림 1에서 확인할 수 있듯이 원본 이미지와 필터링 된 두 개의 이미지 간의 명암차와 선명도의 차이가 관찰되었다. 그러나 그림 C는 필터링에 의해 노이즈가 제거 되었지만, B는 오히려

이미지가 너무 흐려져서 세포내 구조를 파악할 수가 없었다. 따라서 B는 제외하고 A와 C를 선택하여 3D tomogram으로 재구성하였다. Tomogram을 재구성하는 과정에서는 IMOD software를 사용하였다.

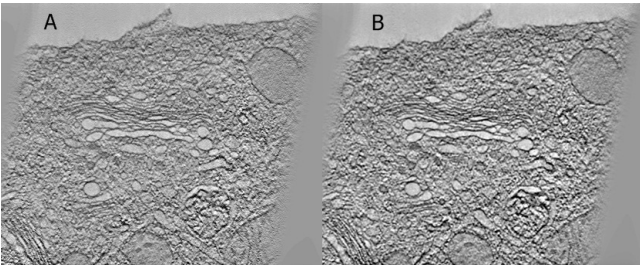


그림 2. 원본 이미지의 tomogram(A)과 0.1~0.2/pixel filter radius 로 band-pass filtering한 이미지로부터 재구성한 tomogram(B)

그림 2는 원본 데이터로부터 재구성한 tomogram보다 band-pass filtering을 적용하여 재구성한 tomogram에서 명암차와 선명도가 더 증가했다 것을 보여주고 있다. 즉 tomogram을 만들기 전 필터링 된 이미지에서도 명암차에 있어서 필터링의 효과를 다소 확인할 수 있었지만, tomogram으로 재구성한 경우에 더 확실한 차이를 확인할 수 있었으며, 이러한 명암차를 통해 세포내 구조를 더욱 선명하게 관찰할 수 있었다.

표 1과 2는 필터링 전후를 비교했을 때 각각의 이미지에 대한 픽셀의 음영값도 증가하였고 이미지 전체에 대한 음영의 평균값 또한 약 95.5에서 101.2만큼 증가했다는 사실을 수치상으로 보여준다. 이러한 음영값의 증가가 이미지의 명암차와 선명도의 증가로 나타나는 것이다.

표 1. 원본데이터에 대한 이미지들의 각 픽셀의 음영값

view	min	(x, y)	max	(x, y)	mean	std dev.
1	0.0000	(1, 0)	254.0000	(1194.75, 20.94)	106.4123	78.5669
2	0.0000	(1, 0)	254.0000	(437.77, 1236.88)	109.6827	84.4651
3	0.0000	(1, 0)	254.0000	(211.00, 253.98)	95.0861	82.3025
4	0.0000	(14, 0)	254.0000	(1158.00, 1.26)	83.9525	75.5640
5	0.0000	(5, 0)	254.0000	(253.07, 1102.18)	90.4030	82.3898
56	0.0000	(1, 0)	254.0000	(1190.00, -1.00)	93.6734	77.1251
57	0.0000	(1, 0)	254.0000	(1183.00, -1.00)	97.4769	79.1280
58	0.0000	(1, 0)	254.0000	(1183.00, -1.00)	97.1139	82.1227
59	0.0000	(1, 0)	254.0000	(1171.00, -1.00)	100.7315	83.7618
60	0.0000	(11, 0)	254.0000	(1119.00, -1.00)	103.3607	85.9959
all	0.0000	(@ z= 0)	254.0000	(@ z= 0)	95.4982	72.3295

표 2. band-pass filtering을 적용한 데이터에 대한 각 픽셀의 음영값

view	min	(x, y)	max	(x, y)	mean	std dev.
1	0.0000	(3, 4)	255.0000	(1195.54, 1557.05)	110.7097	77.8462
2	0.0000	(3, 4)	255.0000	(1041.73, 1595.57)	113.7632	81.8269
3	0.0000	(78, 60)	255.0000	(1055.11, 1595.58)	98.4573	80.5346
4	0.0000	(78, 60)	255.0000	(1055.84, 1595.56)	87.3255	73.9334
5	0.0000	(172, 37)	255.0000	(1193.79, 1511.40)	94.3389	82.4997
56	0.0000	(23, 4)	255.0000	(1173.40, 1542.43)	100.0132	77.9290
57	0.0000	(79, 61)	255.0000	(1194.62, 1511.90)	102.6484	78.8940
58	0.0000	(36, 37)	255.0000	(1195.93, 1544.88)	101.8846	83.4943
59	0.0000	(36, 36)	255.0000	(1195.72, 1414.10)	105.0480	84.6134
60	0.0000	(4, 319)	255.0000	(1194.92, 1422.20)	108.9473	86.0653
all	0.0000	(@ z= 0)	255.0000	(@ z= 0)	101.2562	71.0509

그림 3은 원본 데이터와 band-pass filtering을 적용한 데이터로부터 재구성한 tomogram의 3D 구조를 Chimera software를 통해 동일한 각도에서 관찰한 모습이다. 그림 A는 노이즈에 의해 세부 구조를 정확하게 확인하기 힘들지만, 그림 B는 노이즈가 상당히 제거되어 세포내 세부 구조를 더 정확하게 관찰할 수 있다.

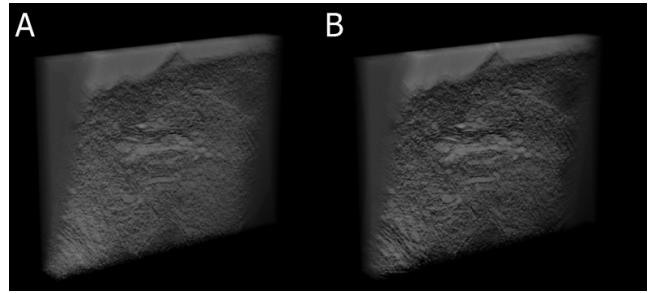


그림 3. 원본 데이터의 3D volume(A)과 0.1~0.2/pixel filter radius로 band-pass filtering을 적용한 데이터로부터 얻어진 3D volume

4. 결론

Band-pass filtering은 이미지 필터링 기법 중 하나로 원본 이미지로부터 일정한 대역을 정하여 노이즈를 상쇄함으로써 더욱 선명한 이미지를 얻는 방법으로 사용되고 있다. 본 연구에서는 이러한 효과가 2D 이미지에서 뿐만 아니라 3D로 재구성했을 경우에 선명도가 더욱 향상된다는 것을 증명하였다. 또한 0.1~0.2/pixel filter radius 대역으로 band-pass filtering을 적용한 경우에 가장 선명한 tomogram을 얻을 수 있음을 확인하였다.

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. Mastrorarde, J. R. McIntosh, "Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD" J. Struct. Biol. Vol. 116, pp. 71-76, Jan. 1996.
- [3] 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.
- [4] 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.