

ЯКІСНА ОЦІНКА МЕТАХРОМАТИЧНОЇ РЕАКЦІЇ ВОЛЮТИНОВИХ ГРАНУЛ ДРІЖДЖІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ НЕЙРОННИХ МЕРЕЖ

Калініченко Є.О.¹, Громозова О.М.², Грецький І.О.², Горго Ю.П.¹

¹КПІ ім. Ігоря Сікорського, yugorgo@ukr.net

²Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Явище метахромазії проявляється в характерній зміні кольору в процесі фарбування, що відбувається в біологічних тканинах чи окремих клітинах, завдяки йому барвник може поглинати світло на різних довжинах хвиль залежно від його концентрації та середовища. Метахроматичне забарвлення волютинових гранул характерне як для прокариотів, так і еукаріотичних мікроорганізмів. Встановлено, що метахроматична реакція волютинових гранул є потенційним біоіндикатором геофізичних подій, проте сучасні методи моніторингу метахроматичної реакції не здатні до швидкої, автоматичної обробки даних [1]. Застосування методів нейронних мереж дозволить в автоматичному режимі ефективно проводити оцінку кількості клітин та інтенсивності їх забарвлення для моніторингових досліджень впливу геофізичних факторів на метахроматичну реакцію волютинових гранул дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Одним із важливих завдань, пов'язаних з масштабними сучасними дослідженнями метахромазії волютинових гранул, є розробка інструментальних методів обліку реакції. На жаль, ступінь метахромазії не можна виміряти колориметричними методами, оскільки водні розчини барвника (метиленового синього) не підкоряються закону Бера. Тому точна оцінка кількісних та якісних проявів метахроматичної реакції волютинових гранул дріжджів *S. cerevisiae* є актуальною задачею для моніторингових досліджень метахроматичної реакції для визначення впливу на цю реакцію геофізичних факторів.

Метою роботи було створення програмних засобів за допомогою мови програмування Python, із застосування методів нейронних мереж, для оцінки кількості клітин та інтенсивності їх забарвлення в препаратах при дослідженнях впливу геофізичних факторів на метахроматичну реакцію волютинових гранул дріжджів *S. cerevisiae* УКМ Y-517. Для досягнення поставленої мети використовували наступні методи визначення загальної кількості клітин дріжджів *S. cerevisiae* автоматичним та ручним методами; методи програмування на мові Python; методи нейронних мереж. Використання нейронних мереж дає значну кількість переваг для досліджень метахроматичної реакції, тому що дозволяє значно скоротити тривалість та збільшити якість таких досліджень. Однак, на даний час не існує єдиної технології нейронних мереж, яка б успішно справлялася з такою задачею. Тому нейронні мережі постійно змінюють відповідно до задач досліджень і в залежності від типу вхідних даних.

У роботі використовувався датасет з двадцяти фотознімків клітин *S. cerevisiae* УКМ Y-517 забарвлених метиленовим синім по Лефлеру. Для побудови нейронної мережі використовувалась мова програмування Python та

відкрита нейромережева бібліотека – Keras. В якості архітектури нейромережі були взяті моделі Inception v3 та Unet. Модель Inception v3 розроблялася для задач класифікації та сегментації об'єктів на зображенні. Модель Unet була розроблена для сегментації клітин на медичних зображеннях. В роботі було визначено програмний код нейромережі на основі архітектури Inception v3 та програмний код на основі архітектури Unet для сегментації і класифікації клітин дріжджів *S. cerevisiae* при метахроматичній реакції [2].

Встановлено, що архітектура штучних нейронних мереж Inception v3 не здатна ефективно виконувати завдання сегментації клітин, а оптимальною є архітектура – Unet. Остаточний підрахунок класифікованих і сегментованих клітин здійснювався нерекурсивним алгоритмом розмітки. Для автоматичного підрахунку клітин була створена модель регресії, яка визначає залежність між клітинами з ознаками наявності та відсутності реакції метахромазії, з точністю визначення в задачах сегментації на рівні 89,9%, а в задачі виявлення метахроматичної реакції – 86,7%.

Застосовуючи методи математичної статистики встановлено, що відносна похибка роботи створеного програмного забезпечення не перевищує 4.53% та в середньому складала 3.85%. Зважаючи на результат робіт обох архітектур, U-net має нижче значення похибки при визначенні клітин. Нейронна мережа на основі архітектури Unet здатна більш ефективно і оптимально, порівняно з архітектурою Inception v3, виконувати завдання сегментації і класифікації клітин дріжджів *S. cerevisiae* при метахроматичній реакції.

Архітектура згорткової нейронної мережі ResNet є оптимальною для створення програмного засобу для аналізу структурних і світлових змін в клітинах із показником ефективності >80%, що свідчить про достатній рівень навченості нейронної мережі.

Отриманні результати можуть бути застосовані у подальших глобальних моніторингових досліджень впливу геофізичних факторів на метахроматичну реакції волютинових гранул дріжджів. Програмне забезпечення, створене із врахуванням властивостей навчання нейронних мереж, можна використовувати для вивчення особливостей кількісних та якісних змін клітинних процесів у різних мікроорганізмів. Використання нейронних мереж дає значну кількість переваг для біотехнології, так як дозволяє значно скоротити тривалість досліджень та їх оцінки.

Список використаної літератури:

1. Gromozova E.N. [та ін.]. Research of Metachromatic Reaction of *Saccharomyces cerevisiae* // Mikrobiolohichniy zhurnal (Kiev, Ukraine : 1993). 2016.
2. Xue & Yao Ray, Nilanjan Hugh, Judith Bigras, Gilbert. Cell Counting by Regression Using Convolutional Neural Network. 9913–2016. p.274-290.