



(19)

österreichisches
patentamt

(10)

AT 501 961 B1 2007-03-15

(12)

Patentschrift

(21) Anmeldenummer: A 1026/2002

(51) Int. Cl.⁸: G06T 7/40 (2006.01)
G06T (1N27/447) (2006.01)

(22) Anmeldetag: 2002-07-08

(43) Veröffentlicht am: 2007-03-15

(56) Entgegenhaltungen:
DE 4409211A1 US 5949899A

(73) Patentanmelder:
ARC SEIBERSDORF RESEARCH GMBH
A-1010 WIEN (AT)

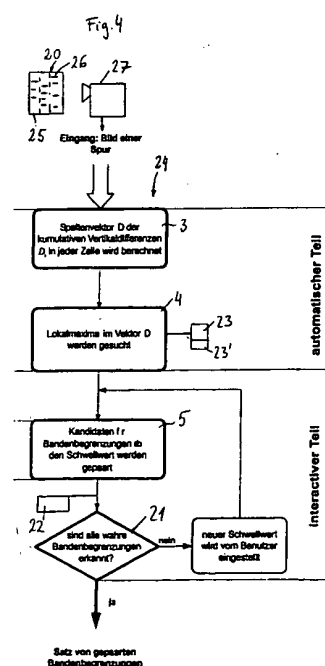
(72) Erfinder:
BAJLA IVAN
EBREICHSDORF (AT)
HOLLÄNDER IGOR
HIMBERG B. WIEN (AT)

(54) VERFAHREN UND EINRICHTUNG ZUR AUSWERTUNG VON BILDERN

(57) Die Erfindung betrifft Verfahren und eine Anordnung zur Auswertung von Gelbildern.

Erfindungsgemäß ist vorgesehen, dass

- a) zur Bestimmung von Grenzen der in einer Spur enthaltenen Banden längs der Spur die absoluten Differenzen der Intensitätswerte von aufeinanderfolgenden Matrixpunkten ermittelt und zeilenweise zu den Werten eines Summenvektors (D) summiert werden,
- b) die lokalen Maxima dieses Summenvektors ermittelt werden,
- c) Repräsentativwerte für die Intensitäten der zwischen benachbarten Bandenbegrenzungskandidaten liegenden Flächenbereiche der Spur ermittelt werden,
- d) die Flächenbereiche mit lokalem Maximalwert der Repräsentativwerte der Intensität mit den durch die lokalen Maxima des Summenvektors (D) bestimmten Bandenbegrenzungskandidaten korreliert werden,
- e) die lokalen Maxima des Summenvektors und die lokalen Maximalwerte der Repräsentativwerte der Intensitäten angezeigt werden.



AT 501 961 B1 2007-03-15

DVR 0078018

Die Erfindung betrifft ein Verfahren gemäß dem Oberbegriff des Patentanspruches 1 sowie eine Einrichtung gemäß dem Oberbegriff des Anspruches 9.

Die Erfindung betrifft vor allem ein Verfahren zur Bandenerkennung, gegebenenfalls mit folgender Mobilitätsdistanz- und Bandendichteberechnung für digitalisierte Bilder von Gelen, welche insbesondere mit Hilfe molekularbiologischer Methoden bzw. DNS-Elektrophorese gewonnen und mit Bildaufnahme- und/oder Bildverarbeitungseinrichtungen erstellt werden. Die Bilder liegen damit in digitaler Form vor. Die annähernd rechteckigen Bandenstrukturen befinden sich in senkrechten Spuren des Bildes und sind überwiegend waagrecht ausgerichtet (ein typisches Beispiel für ein Ethidiumbromid und Silber gefärbtes Gelbild ist in Fig. 1 abgebildet). Das Bild veranschaulicht die angehäuften Ablagerungen von DNS-Fragmenten, die von speziellen Restriktionsenzymen zu Makromolekülen verschiedener Größe aufgespaltet wurden. Die vertikalen Positionen der Banden (elektrophoretische Mobilitätsdistanzen) entsprechen dem Molekulargewicht (Basenpaare) der aufgespaltenen DNS-Fragmente.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann sowohl für Routine-Gelanalysen von gentechnischen und molekularbiologischen Forschungslabors, als auch für industrielle Anwendungen eingesetzt werden. Die Algorithmen des Verfahrens können auch für Antidoping- und forensische Testlabors eingesetzt werden. Prinzipiell lassen sich beliebige bandenähnliche Strukturen auswerten, z.B. auch Spektralbanden.

Für Molekularbiologen gehört die DNS-Analyse mit elektrophoretischen Gelen zur alltäglichen Routine, wofür benutzerfreundliche und zuverlässige Software Verfahren und Einrichtungen benötigt werden, um Ergebnisse mit größtmöglicher Genauigkeit und vernünftigem Zeitaufwand zu erhalten, kleine und kontrastarme Banden des Gelbildes zu erkennen und Artefakte nicht als korrekte Banden zu werten.

Fig. 1 zeigt als Beispiel ein typisches Gelbild, welches nach der Digitalisierung einer Filmaufnahme eines elektrophoretischen Experiments erhalten wurde. Es gibt drei grundlegende Begriffe bezüglich der Gelbilder: (i) *Spuren*, womit vertikale Streifen bezeichnet werden, von denen jeder eindeutig zuordenbare Informationen über die Molekülaufspaltung einer DNS-Probe darstellt, (ii) *Banden*, womit horizontal ausgerichtete Bildbereiche in jeder Spur bezeichnet werden, welche DNS-Molekül-Ablagerungen im Gel darstellen, und (iii) *Mobilitätsdistanzen*, deren Werte die Bandenpositionen in passenden Einheiten (Molekulargewichte oder Basenpaare) angeben.

Die digitalisierten Gelbilder leiden in der Praxis unter einer Vielzahl von Schäden und Beeinträchtigungen, die wie folgt zusammengefasst werden können:

1. komprimierte dynamische Größenverhältnisse
2. Inhomogenität der räumlichen Helligkeit
3. Rauschen:
 - nach Gauß
 - Impulsrauschen
4. lokale Flecken (Artefakte) von extrem hohen oder niedrigen Intensitäten
5. geometrische Verzerrungen der senkrechten Spuren (abgeschrägte oder gebogene Spuren)
6. geometrische Verzerrungen der Bandenpositionen (sogenannte smiles)
7. geometrische Verzerrungen von einzelnen Banden (z.B. geneigte Banden)
8. verlaufende oder verschwommene Banden entlang der Spuren.

Manche dieser Fehler können in üblichen Gelbild-Analyse-Systemen (GIA-Systemen) korrigiert werden, jedoch verursachen einige davon - im besonderen niedriger Kontrast und nicht einheitliche Bandendichte - grundlegende Probleme bei deren sauberer Erkennung. Das Scheitern der Standard-Software, die bei perfekten Gelbildern zufriedenstellend arbeitet, begründet sich in den Eigenschaften der 1D-Signal-Dekonvolutionsoperation, die üblicherweise in solchen

Systemen Verwendung findet. Diese Gründe können anhand des theoretischen Gerüsts der 1D-Signal-Dekonvolution beschrieben werden. Die Operation ist herkömmlicherweise als Lösung eines linearen Fredholm-Integrals erster Ordnung mit Faltungskern $K(s, t)$ definiert:

$$\int_0^1 K(s, t) f(t) dt = g(s), \quad 0 \leq s \leq 1. \quad (1)$$

In bekannten Verfahren werden die 2D-Bandenstrukturen einer Spur durch ein gemittelt 1D-Profil $g(s)$ der Intensitäten entlang der Spur dargestellt. Die Lösung $f(t)$ der Gleichung (1) wird als eine 1D-Gauß-Dekonvolution, angewandt auf das Profil $g(s)$, gesucht. Die Dekonvolution von Signalen, welche durch Rauschen und andere Schäden gestört wurden, stößt auf die folgenden kritischen Probleme: (i) schlechte Voraussetzungen für dieses inverse Problem, (ii) die Funktion $K(s, t)$ ist nicht bekannt und kann nur mit geeigneten Funktionsklassen geschätzt werden. Darüber hinaus kann diese Funktion im Fall der Gelbilder nicht als Model für Unschärfemechanismen dienen und das eigentliche 2D-Problem der Gelbild-Analyse wird auf ein vereinfachtes 1D-Problem reduziert.

Der nächste Nachteil von GIA-Systeme ist das eingebundene Multiparameter-Interaktionsmodell. Infolge der hohen Veränderlichkeit der Qualität von Gelen, ist es nicht möglich, einen universellen Bandenerkennungsalgorithmus zu entwerfen, der im Stande wäre, alle praktischen Situationen vollautomatisch und ohne Eingreifen des Benutzers zu lösen.

Deshalb wurden in bestehenden Softwaresystemen spezielle Hilfsprogramme eingebaut, welche interaktive Einstellungen der Parameter des Bandenerkennungsalgorithmus vornehmen. Diese Hilfsprogramme basieren auf dem Multiparameter-Interaktionsmodell: (i) Der Benutzer wird im Regelfall dazu aufgefordert drei elementare Parameter einzustellen, minimales Profil, minimale Fläche und Randempfindlichkeit, um die Gauß'sche Dekonvolutionsoperation zu kontrollieren, (ii) wird ein komplexes Ergebnis der wiederholten Bandenerkennungsversuche (ein wiederhergestelltes Spurprofil und das Bild mit graphischen Markierungen, welche die einzelnen Bandenpositionen zeigen) dargestellt. Wenn der Benutzer manche Erkennungen als falsch und/oder einige korrekte Erkennungen als fehlerhaft erachtet, so muss der vorangegangene Schritt wiederholt werden. Der Benutzer hat keine Möglichkeit, den Bandenerkennungsvorgang, in bezug auf ein oder zwei kritische Arten von Fehlern, separat zu kontrollieren. Die Suche nach einer optimalen Kombination der numerischen Parameter stellt dadurch einen beschwerlichen Prozess dar. Die einzige Alternative zur unterstützten Gesamterkennung ist das manuelle Kennzeichnen jeder einzelnen Bande, was sehr mühsam und ungenau ist.

Erfindungsgemäß ist ein Verfahren der eingangs genannten Art durch die Merkmale des Anspruches 1 charakterisiert. Eine Einrichtung der eingangs genannten Art ist erfindungsgemäß durch die Merkmale des Anspruches 9 charakterisiert. Die Erfindung ermöglicht vor allem eine automatische Erkennung einer Maximalanzahl korrekter Bandenbegrenzungen, ohne irgendeinen numerischen Parameter einstellen zu müssen und ermöglicht gegebenenfalls eine anschließende, vorläufige Löschung von als unrichtig gewerteten Bandenbegrenzungen sowie eine Darstellung aller Bandenbegrenzungskandidaten, die vor einem Ausscheiden interaktiv geprüft werden können. In allen Schritten können zweidimensionale Bildverarbeitungsoperatoren eingesetzt werden.

Erfindungsgemäß ergeben sich ein erhöhter Durchsatz und eine erhöhte Verlässlichkeit der Bandenerkennung, eine verbesserte Positionsgenauigkeit, eine verringerte Notwendigkeit von Benutzereingriffen, ein geradliniges, graphisches, einparametriges Interaktionsmodell sowie zuverlässige Operationen auch für stark verrauschte und beschädigte Gelbilder.

Im folgenden wird die erfindungsgemäße Vorgangsweise näher erläutert.

Es ist zweckmäßig, wenn vor der Bestimmung der Bandenbegrenzungen zur Entfernung von lokalen Artefakten auf die Bildmatrix ein Rauschfilter, vorzugsweise ein auf einer geometrisch-

gesteuerten Diffusion (GDD) basierter Rauschfilter, angewendet wird. Diese Regulierung des originalen Gelbildes mit Hilfe eines nichtlinearen 2D-Rauschfilters, der auf geometrischgesteuerten Diffusion von Bildern basiert, kann z.B. durch folgende partielle Differentialgleichung beschrieben wird:

$$\frac{\partial}{\partial t} I(x, y, t) = \text{div} [c(\|\nabla I(x, y, t)\|) \nabla I(x, y, t)], \quad (2)$$

Dabei ist $I(x, y, t)$ der Gradient einer Bildintensitätsfunktion $I(x, y, t)$, der Leitwert $c(\bullet)$ ist eine Funktion in räumlichen Koordinaten x, y und der Zeit t , die der diskreten Implementierung des Index für den Iterationsschritt entspricht.

Es ist zweckmäßig, wenn vor der Bestimmung der Bandenbegrenzungen eine Bildkorrektur, z.B. durch Entzerren, Verschieben und/oder Größenänderung, des Intensitätsbildes bzw. der Bildmatrix vorgenommen wird.

Als wesentlicher weiterer Schritt ist vorgesehen, dass

- a) zur Bestimmung von Grenzen der in einer Spur enthaltenen Banden längs der Spur bzw. spaltenweise die absoluten Differenzen der Intensitätswerte von aufeinanderfolgenden Matrixpunkten ermittelt und zeilenweise zu den Werten eines Summenvektors D summiert werden, und
- b) die lokalen Maxima dieses Summenvektors ermittelt werden, indem nur solche Werte des Summenvektors als lokales Maximum anerkannt werden, bei denen zu beiden Seiten kleinere Werte des Summenvektors auftreten, welche derart ermittelten lokalen Maxima als Bandenbegrenzungskandidaten bzw. vorläufige Lage einer Bandenbegrenzung angesehen werden.

In diesem Schritt der Analyse einer Spur erfolgt die Berechnung der Werte eines vertikalen Summenvektors bzw. -operators entlang jeder Zeile des Spurbildes gefolgt von der Suche nach lokalen Maxima dieses Operators, welche eine Anfangsauswahl bzw. die Lage von Bandenbegrenzungs-(BB)kandidaten repräsentieren.

Vorrangiges Ziel der Erfindung ist es, die Anzahl der automatisch erkannten, korrekten Bandenbegrenzungen BB zu maximieren, jedoch ohne Rücksicht auf falsche Bandenbegrenzungserkennungen. Da sich die Bandenbegrenzungen hauptsächlich horizontal ausgerichtet zeigen, ist ein Operator in Form eines Summenvektors D , der die vertikalen Helligkeitsunterschiede ermittelt, vorteilhaft für die Bandenbegrenzungserkennung.

Ein derartiger Operator bzw. linearer Bandenbegrenzungsdetektor ist für Zeile i als kumulativer Zeilendifferenz-Operator $D_i = \sum_j \text{Diff}_i^j$ anzusehen, wobei j den Spaltenindex bezeichnet. Die

vertikale Differenz der Helligkeiten I_{ij} in der Spur ist durch

$$\text{Diff}_i^j = |I_{i+1,j} - I_{ij}| \text{ gegeben.}$$

Obwohl dies relativ einfacher Operator ist, verhält er sich, insbesondere dann, wenn das verwendete Gelbild zuerst mit einem Rausch- bzw. GDD-Filter behandelt wurde. Die BB-Erkennungen werden in Bereichen (Zeilenindizes) als lokale Maxima des Operators D_i bzw. des Summenvektors D gefunden. Ein effektiver Operator kann die erhaltenen Erkennungen miteinander verbinden, wozu auf den in Fig. 2 dargestellten Verlauf verwiesen wird.

Als weiterer Schritt zur Beurteilung der Banden ist vorteilhafterweise vorgesehen, dass

- c) Repräsentativwerte für die Intensitäten der zwischen benachbarten Bandenbegrenzungskandidaten liegenden Flächenbereiche der Spur ermittelt werden, indem der Flächenbereich in an die Bandenbegrenzungskandidaten angrenzenden, insbesondere gleich große Teilflächen, vorzugsweise jeweils Hälften, geteilt wird, die Mediane der Intensitätswerte der

Matrixpunkte der jeweiligen Teilflächen gebildet werden, der kleinere Median als Repräsentativwert herangezogen wird, und lokale Maximalwerte für diese Repräsentativwerte längs der Spur ermittelt werden, indem nur solche Repräsentativwerte als lokale Maximalwerte anerkannt werden, bei denen zu beiden Seiten kleinere Repräsentativwerte auftreten, und

5 d) die Flächenbereiche mit lokalem Maximalwert der Repräsentativwerte der Intensität mit den durch die lokalen Maxima des Summenvektors bestimmten Bandenbegrenzungskandidaten korreliert bzw. einander zugeordnet werden, und Bandenbegrenzungskandidaten die an den Grenzen eines Flächenbereiches mit einem lokalen Maximalwert der Repräsentativwerte der Intensität gelegen sind, als bevorzugte Bandengrenze definiert bzw. angesehen werden.

10 Die ermittelte bzw. in Fig. 2 dargestellte Zahn-Funktion bzw. die Folge der Repräsentativwerte dient zur besseren Unterscheidung von falschen und korrekten Erkennungen. Fig. 2 zeigt eine vertikale Spur in horizontaler Position (die Banden sind vertikal ausgerichtet). Für die Eliminierung von falschen Erkennungen (Kreuze in Fig. 2), die an manchen Stellen mit ziemlich inhomogenem Hintergrund auftreten, wird ein passender Mechanismus für die Verbindung der

15 lokalen Maxima $\{d_k\}$ zu Maxima-Paaren (Dubletten) benötigt. Solche Paare würden die Banden selbst verkörpern und die verbleibenden (einzelnen) Erkennungen könnten dann als falsch interpretiert werden. Zu diesem Zweck kann eine schrittweise konstante Funktion S_j eingesetzt werden, die wie folgt definiert ist. Für jedes Paar von benachbarten Bandenbegrenzungserkennungen werden zwei symmetrische, rechteckige Flächenbereiche eingeführt. Für diese Bereiche werden die Mediane (Repräsentativwerte) der Intensitätswerte der Pixel berechnet. Anschließend wird der entsprechende konstante bzw. zwischen Bandenbegrenzungskandidaten

20 liegende Wert dieser Funktion S_j durch das Minimum bzw. den kleineren Wert der beiden Mittelwerte angegeben und die lokalen Maximalwerte dieser Funktion ermittelt. Auf diese Art können korrekte Bandenbegrenzungskandidaten von falschen unrichtigen Kandidaten, durch das Kriterium der Maxima-Paare, welche den positiven „Zähnen“ der Funktion S_j (vgl. Fig. 2) entsprechen, unterschieden werden.

30 Diese Schritte verbinden, wie aus Fig. 2 ersichtlich, passende Bandenbegrenzungskandidaten miteinander; verbleibende, einzelne BB-Kandidaten können damit als falsch erkannt und gelöscht werden. Die erhaltenen Kandidaten können verwendet oder noch weiter überprüft werden.

Für eine weitere Überprüfung kann vorteilhafterweise vorgesehen sein, dass

- 35 a) für die beiden erkannten Grenzen einer Bande, die durch einander zugeordnete lokale Maxima des Summenvektors und lokale Maximalwerte der Repräsentativwerte der Intensitäten definiert sind, eine Pixelumgebung definiert wird, insbesondere durch Vorgabe einer, vorzugsweise gleichen, Anzahl von Zeilen der Matrix beidseits der jeweiligen ermittelten Bandenbegrenzung,
- 40 b) in der Pixelumgebung spaltenweise für diese Zeilen der maximale Intensitätsgradient ermittelt wird und für diese Spalte die Lage des dem maximalen Gradienten entsprechenden Pixels als korrigierte Bandenbegrenzung angesehen wird,
- 45 c) in der Pixelumgebung die Intensitätswerte aller Pixel auf jeder Seite des jeweiligen Maximums des Intensitätsgradienten ermittelt werden und
- d) für diese beiden Pixelgruppen jeweils der Mediane gebildet, die, insbesondere absolute, Differenz der beiden Mediane errechnet und als Indikator oder Wahrscheinlichkeitswert für das Vorliegen einer Bandenbegrenzung, z.B. durch einen Vergleich mit einem vorgegebenen Istwert, herangezogen bzw. ausgewertet wird.

50 Gemäß Fig. 3 wird für jede einzelne ermittelte Bandenbegrenzung einer Reihe von paarweisen Erkennungen eine rechteckige Pixelumgebung definiert, umfassend die gleiche Anzahl von Zeilen, vorzugsweise 2 bis 4, beidseits der vorgegebenen Bandenbegrenzung.

55 Das Größenfeld der Helligkeitsgradienten (kurz Gradienten) wird für diese Umgebung spalten-

weise berechnet. Es wird vorausgesetzt, dass jede Bandenbegrenzung als einfache Kurve auftritt, die jede Spalte der Umgebung nur in einem Punkt schneidet. Daher gilt für jede Spalte der Umgebung (als vertikale Linie gezeichnet), dass die Position des maximalen Intensitäts-Gradienten eine vernünftige Schätzung eines Bandenbegrenzungspunktes repräsentiert.

5 Nach Errechnung des Helligkeitsmedianwertes für alle Umgebungspixel oberhalb der Begrenzung und der Helligkeitsmedianwert für alle darunter liegenden Bildpunkte wird die Absolutdifferenz der Mediane als Indikator B für die Exaktheit der ermittelten Lage der Bandenbegrenzungen angesehen.

10 Dieser Algorithmus ermöglicht eine Abschätzung bzw. Unterscheidung der BB-Kandidaten, indem Schätzungen der Intensitäts-Inhomogenitäten der Bereiche oberhalb und unterhalb gegebener BB-Kandidaten ermittelt und eingesetzt werden. Als Ergebnis können die Paare von BB-Erkennungen, vorteilhaft in aufsteigender Ordnung, mit dem Wert der Median-Differenz angezeigt werden. Z.B. können BB-Kandidaten, die mit hoher Wahrscheinlichkeit falsch sind, 15 zuerst geprüft werden. Diese Prüfung kann durch Vergleich mit einem wählbaren Schwellen- bzw. Grenzwert erfolgen.

20 Für die Darstellung der ermittelten Bandenbegrenzungen kann ein grafisches Interface, bestehend aus einem speziellen Fenster mit drei Tafeln für die grundlegende Kommunikation mit dem Benutzer vorgesehen werden. In diesen Tafeln werden die originale Spur und die gefilterten bzw. ermittelten Versionen der Spur dargestellt. Weiters können grafische Hilfsinformationen, die für die Kontrolle und Steuerung der Gelbildanalyse benötigt werden, bereitgestellt werden.

25 Sofern infolge von Fluktuationen der Helligkeitshomogenität des Hintergrundes in den Spuren noch falsche Erkennungen vorhanden sein können, so kann es vorteilhaft sein, Schätzungen von kurvenförmigen Bandenbegrenzungen zu generieren, die verbesserte Schätzungen der Begrenzungen zulassen. Der Benutzer kann entscheiden, ob es notwendig ist, die Prozedur 30 fortzusetzen, oder ob alle vorhandenen Erkennungen akzeptiert werden sollen. Die verbesserten BB-Indikatoren können vor allem zur exakteren Berechnung der Mobilitätsdistanzen herangezogen werden.

35 Fig. 4 und 5 zeigen schematisch eine Einrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens.

Gemäß Fig. 4 wird ein erstelltes Gelbild 20, das in seinen Spuren 25 eine Mehrzahl von Banden 26 aufweist, mit einer Aufnahmeeinheit 27 aufgenommen und auf diese Weise digitale Bilder, insbesondere Grauwertbilder bzw. Intensitätsmatrixen zur Verfügung gestellt, die im Weiteren 40 ausgewertet werden sollen. Für die Auswertung derartiger Gelbilder 20 werden diese Bilder, insbesondere spurweise, ausgewertet. Die Auswertung erfolgt unter der Steuerung einer Steuereinheit in einer Einrichtung 24, die schematisch in Fig. 4 und 5 wiedergegeben ist. Dieser Einrichtung 24 werden die Spuren der Gelbilder 20 zugeführt bzw. kann diese Einrichtung 24 45 entsprechende Speicher zum Ablegen von angefertigten Gelbildern aufweisen, um diese, je nach Bedarf, zur Auswertung abrufen zu können.

50 Diese Einrichtung 24 umfasst Einheiten zur Bestimmung der Bandenbegrenzungen bzw. zur Durchführung einer Bildkorrektur bzw. zur Festlegung und Abgrenzung der Spuren 21, in denen sich die Banden 26 befinden. Im Weiteren ist es vorteilhaft, wenn eine Einheit vorgesehen ist, mit der vor Bestimmung der Bandenbegrenzungen auf die auszuwertende Bildmatrix ein Rauschfilter angewendet wird. Diese Einheiten befinden sich zwischen der Aufnahmeeinheit 23 und der Einrichtung 24 bzw. können der Einrichtung 24 zugeordnet sein. Die Einrichtung 24 umfasst eine Einheit 3 zur Bestimmung eines Summenvektors D sowie eine Einheit 4, in der die 55 lokalen Maxima dieses Summenvektors D ermittelt werden.

Die entsprechende Vorgangsweise wurde im Zusammenhang mit Fig. 2 erläutert.

In einer weiteren Einheit 5 werden Repräsentativwerte der Intensitäten von zwei zwischen benachbarten Begrenzungskandidaten liegenden Flächenbereichen gebildet. Dazu werden die Mediane der Intensitäten der einzelnen Matrixpunkte dieser beiden Flächen gebildet und mit den lokalen Maxima des Summenvektors D korreliert.

Es können Anzeigeeinrichtungen 22 für die Werte der lokalen Maxima bzw. die Repräsentativwerte, insbesondere in Form von Funktionen bzw. Kurven vorgesehen sein und diese Kurven bzw. Funktionen den originalen Spuren der Gelbilder 20 zugeordnet werden. Es stehen dem Benutzer entsprechende Gerätschaften und Einrichtungen 21 zur Verfügung, um als ordnungsgemäß gewertete Bandenbegrenzungen erkennen bzw. als nicht ordnungsgemäß empfundene Bandenbegrenzungen auszuschneiden.

Um eine derartige Erkennung bzw. Ausscheidung exakter vornehmen zu können, kann vorgesehen sein, dass der Einheit 3 ein Speicher 23 und/oder eine Eingabeeinheit 23' für einen Schwellenwert und ein Vergleicher zugeordnet sind, in dem die lokalen Maxima des Summenvektors D mit dem vorgegebenen Schwellenwert verglichen werden.

Wie in Fig. 4 dargestellt, erhält man nach Anwendung dieser beiden Funktionen einen Satz von gepaarten Bandenbegrenzungen, die gegebenenfalls noch weiter ausgewertet werden können, um die gewünschte Genauigkeit zu erhöhen.

Dazu kann die erfindungsgemäße Einrichtung 24 eine Einheit 7 zur Ermittlung eines maximalen Intensitätsgradienten für die einzelnen Spalten der Bildmatrix aufweisen. Dieser Pixelbereich wird definiert durch eine vorgegebene Anzahl von Zeilen benachbart einer ermittelten bzw. durch die lokalen Maxima des Summenvektors D vorgegebenen Bandenbegrenzungen. Mit einer Einheit 8 werden die Mediane zu beiden Seiten des Pixels mit dem maximalen Intensitätsgradienten ermittelt und als Entscheidungshilfe für die Beurteilung der Wahrscheinlichkeit herangezogen wird, dass die vorliegende Bandenbegrenzung als korrekte Bandenbegrenzung zu werten ist. In einer Einheit 9 können die Paare von erhaltenen Bandenbegrenzungen mit ihren zugeordneten Wahrscheinlichkeitswerten angezeigt bzw. aufgelistet werden, und so dem Benutzer die Möglichkeit zur Beurteilung und Ausscheidung zu geben. Ein entsprechendes Instrumentarium ist mit der Bezugsziffer 10 bezeichnet.

Nach Durchführung dieser Beurteilung der in den Gelbildern 20 enthaltenen Banden mit der erfindungsgemäßen Vorrichtungsweise kann der Benutzung die von ihm erkannten bzw. ausgewählten Bandenbegrenzungen einer weiteren Auswertung zuführen oder diese für eine weitere Verwendung abspeichern; die als unrichtig erkannten Bandenbegrenzungen können aus diesen Datensätzen entfernt werden oder ebenfalls als unrichtig bezeichnet gespeichert und einer späteren allfälligen Überprüfung zugeführt werden.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Auswertung bzw. Rektifizierung von in Form einer digitalen Intensitäten (Helligkeiten)-Matrix vorliegenden Bildern, insbesondere Grauwertbildern, von Banden, insbesondere von Gelbildern bzw. Gel-Elektrophorese-Bildern von DNA-Analysen, *dadurch gekennzeichnet, dass*
 - a) zur Bestimmung von Grenzen der in einer Spur enthaltenen Banden längs der Spur bzw. spaltenweise die absoluten Differenzen der Intensitätswerte von aufeinanderfolgenden Matrixpunkten ermittelt und zeilenweise zu den Werten eines Summenvektors (D) summiert werden,
 - b) die lokalen Maxima dieses Summenvektors ermittelt werden, indem nur solche Werte des Summenvektors als lokales Maximum anerkannt werden, bei denen zu beiden Sei-

ten kleinere Werte des Summenvektors auftreten, welche derart ermittelten lokalen Maxima als Bandenbegrenzungskandidaten bzw. vorläufige Lage einer Bandenbegrenzung angesehen werden,

c) Repräsentativwerte für die Intensitäten der zwischen benachbarten Bandenbegrenzungskandidaten liegenden Flächenbereiche der Spur ermittelt werden, indem der Flächenbereich in an die Bandenbegrenzungskandidaten angrenzenden, insbesondere gleich große Teilflächen, vorzugsweise jeweils Hälften, geteilt wird, die Mediane der Intensitätswerte der Matrixpunkte der jeweiligen Teilflächen gebildet werden, der kleinere Median als Repräsentativwert herangezogen wird, und lokale Maximalwerte für diese Repräsentativwerte längs der Spur ermittelt werden, indem nur solche Repräsentativwerte als lokale Maximalwerte anerkannt werden, bei denen zu beiden Seiten kleinere Repräsentativwerte auftreten,

d) die Flächenbereiche mit lokalem Maximalwert der Repräsentativwerte der Intensität mit den durch die lokalen Maxima des Summenvektors (D) bestimmten Bandenbegrenzungskandidaten korreliert bzw. einander zugeordnet werden, und Bandenbegrenzungskandidaten die an den Grenzen eines Flächenbereiches mit einem lokalen Maximalwert der Repräsentativwerte der Intensität gelegen sind, als bevorzugte Bandenbegrenzung definiert bzw. angesehen werden, und

e) die lokalen Maxima des Summenvektors und die lokalen Maximalwerte der Repräsentativwerte der Intensitäten gegebenenfalls in Form einer Funktion bzw. eines Kurvenzuges, insbesondere gemeinsam bzw. nebeneinander, angezeigt und/oder gespeichert und/oder zur weiteren Auswertung herangezogen werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet*, dass die anerkannten lokalen Maxima des Summenvektors mit einem vorgegebenen bzw. wählbaren Schwellenwert verglichen werden und nur die diesen Schwellenwert übersteigenden lokalen Maxima als Bandenbegrenzungskandidaten weiterausgewertet werden.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, *dadurch gekennzeichnet*, dass bei Ermittlung der lokalen Maxima des Summenvektors bei Auftreten einer Anzahl von aufeinanderfolgenden gleich großen Werten diese Werte auf einen einzigen Wert reduziert werden und dieser einzige Wert der Beurteilung bzw. Auffindung von lokalen Maxima zugrundegelegt wird.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, *dadurch gekennzeichnet*, dass vor der Bestimmung der Bandenbegrenzungen eine Bildkorrektur, z.B. durch Entzerren, Verschieben und/oder Größenänderung, des Intensitätsbildes bzw. der Bildmatrix vorgenommen wird.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, *dadurch gekennzeichnet*, dass vor der Bestimmung der Bandenbegrenzungen zur Entfernung von lokalen Artefakten auf die Bildmatrix ein Rauschfilter, vorzugsweise ein auf einer geometrisch gesteuerten Diffusion basierender Rauschfilter, angewendet wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, *dadurch gekennzeichnet*, dass vor Bestimmung der Bandenbegrenzungen die Spuren mit den in ihnen aufscheinenden Banden festgelegt bzw. abgegrenzt und definiert werden.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, *dadurch gekennzeichnet*, dass aus den ermittelten lokalen Maxima des Summenvektors diejenigen Maxima bzw. diejenigen Bandenbegrenzungskandidaten ausgeschieden werden, die nicht als zusammengehöriges Paar an den beiden Grenzen einer Fläche mit einem lokalen Maximalwert der Repräsentativwerte der Intensität liegend erkannt bzw. beurteilt werden.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, *dadurch gekennzeichnet*, dass

a) für die beiden erkannten Grenzen einer Bande, die durch einander zugeordnete lokale Maxima des Summenvektors und lokale Maximalwerte der Repräsentativwerte der In-

intensitäten definiert sind, eine Pixelumgebung definiert wird, insbesondere durch Vorgabe einer, vorzugsweise gleichen, Anzahl von Zeilen der Matrix beidseits der jeweiligen bereits ermittelten bzw. angenommenen Bandenbegrenzung,

- b) in der Pixelumgebung spaltenweise für diese Zeilen der maximale Intensitätsgradient ermittelt wird und für diese Spalte die Lage des dem maximalen Gradienten entsprechenden Pixels als korrigierte Bandenbegrenzung angesehen wird,
- c) in der Pixelumgebung die Intensitätswerte aller Pixel auf jeder Seite des jeweiligen Maximums des Intensitätsgradienten ermittelt werden und
- d) für diese beiden Pixelgruppen jeweils der Median gebildet, und sodann die, insbesondere absolute, Differenz der beiden Mediane errechnet und als Indikator oder Wahrscheinlichkeitswert für das Vorliegen einer Bandenbegrenzung, z.B. durch einen Vergleich mit einem vorgegebenen Istwert, herangezogen bzw. ausgewertet wird.

9. Einrichtung zur Auswertung bzw. Rektifizierung von in Form einer digitalen Intensitäts(Helligkeits-)Matrix vorliegenden Bildern, insbesondere Grauwertbildern, von Banden, insbesondere von Gelbildern bzw. Gel-Elektrophoresebildern von DNA-Analysen, insbesondere zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 8, *dadurch gekennzeichnet*, dass

- die Einrichtung eine Einheit (3) zur Bestimmung eines Summenvektors (D) umfasst, dessen Werte durch zeilenweises Summieren der absoluten Differenzen der Intensitätswerte für in einer Spalte der Bildmatrix direkt aufeinanderfolgende Matrixpunkte gebildet werden,
- der Einheit (3) eine Einheit (4) zur Ermittlung von lokalen Maxima des Summenvektors (D) zugeordnet ist,
- die Einrichtung eine Einheit (5) zur Bildung von Repräsentativwerten der Intensitäten von zwei zwischen benachbarten Bandenbegrenzungskandidaten liegenden Flächenbereichen umfasst, in der die Mediane der Intensitäten der Matrixpunkte für die beiden Flächenbereiche ermittelt und der kleinere Median als Repräsentativwert für die gesamte zwischen den beiden Bandenbegrenzungskandidaten liegende Fläche herangezogen werden, und in der die lokalen Maximalwerte der Repräsentativwerte der Intensitäten der aufeinanderfolgenden Flächen ermittelbar sind, und
- eine Anzeigeeinheit für die ermittelten lokalen Maxima des Summenvektors und/oder für die lokalen Maximalwerte der Repräsentativwerte der Intensitäten vorgesehen ist und/oder dass die ermittelten lokalen Maxima des Summenvektors und/oder die lokalen Maximalwerte der Repräsentativwerte der Intensitäten einer Auswerteeinheit zugeführt sind.

10. Einrichtung nach Anspruch 9, *dadurch gekennzeichnet*, dass der Einheit (3) ein Speicher (23) und/oder eine Eingabeeinheit (23') für einen Schwellenwert und ein Vergleichsorgan zugeordnet sind, in dem die lokalen Maxima des Summenvektors (D) mit dem vorgegebenen Schwellenwert verglichen werden.

11. Einrichtung Anspruch 9 oder 10, *dadurch gekennzeichnet*, dass

- eine Einheit (7) zur Ermittlung des maximalen Intensitätsgradienten in einer Spalte von Pixeln in einer vorgegebenen Anzahl von Zeilen benachbart einer ermittelten bzw. durch lokale Maxima des Summenvektors (D) vorgegebenen Bandenbegrenzung gelegen vorgesehen ist,
- eine Einheit (8) zur Ermittlung der Mediane für die in den definierten Bereichen beidseits der Pixel mit dem jeweils maximalen Intensitätsgradienten ermittelten Intensitätswerte vorgesehen ist, und
- ein Differenzbildner vorgesehen ist, in dem die, insbesondere absolute, Differenz zwischen den beiden Medianwerten gebildet wird,
- und gegebenenfalls ein Diskriminator vorgesehen ist, in dem ein Vergleich des ermittelten Absolutwertes der beiden Mediane mit einem vorgegebenen Sollwert erfolgt.

12. Einrichtung nach einem der Ansprüche 9 bis 11; *dadurch gekennzeichnet*, dass die Einrichtung eine Steuereinheit aufweist, mit der die einzelnen Einheiten kontrollierbar bzw. steuerbar sind, und dass gegebenenfalls die einzelnen Einheiten von Recheneinheiten gebildet sind, in denen die Funktionen der Einheiten mit Rechnerprogrammen verwirklicht sind.

13. Einrichtung nach einem der Ansprüche 9 bis 12, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Einrichtung Anzeigeeinheiten für die als überprüft bzw. als verifiziert geltenden Bandenbegrenzungen aufweist, wobei die graphische Darstellung der Bandenbegrenzungen vorteilhafterweise gemeinsam mit einer graphischen Darstellung der ursprünglich aufgenommenen Spur eines Gelbildes erfolgt.

Hiezu 3 Blatt Zeichnungen

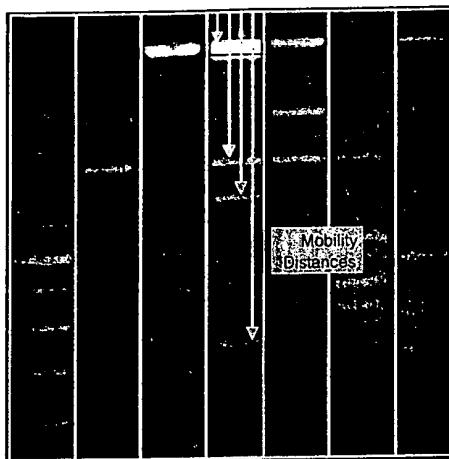


Fig. 1

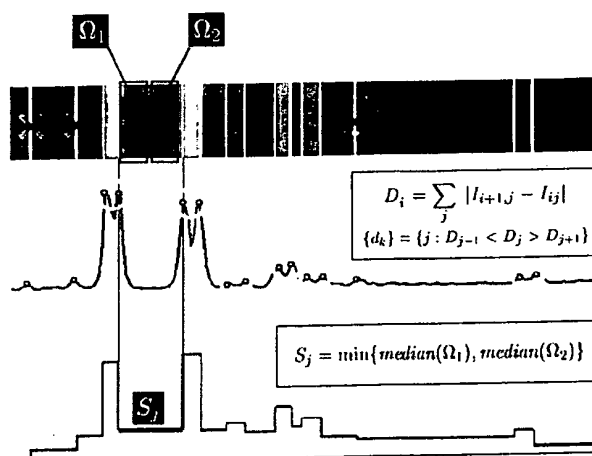
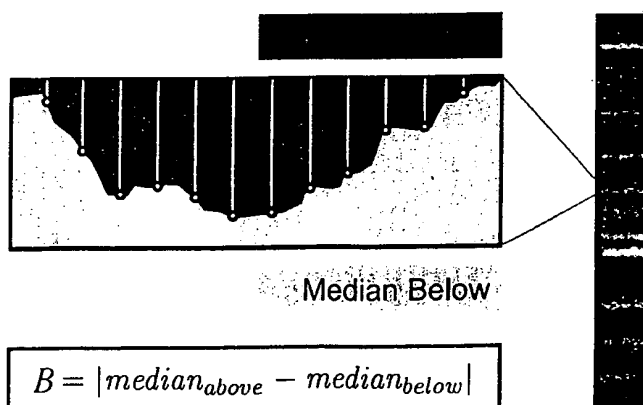


Fig. 2

Fig. 3



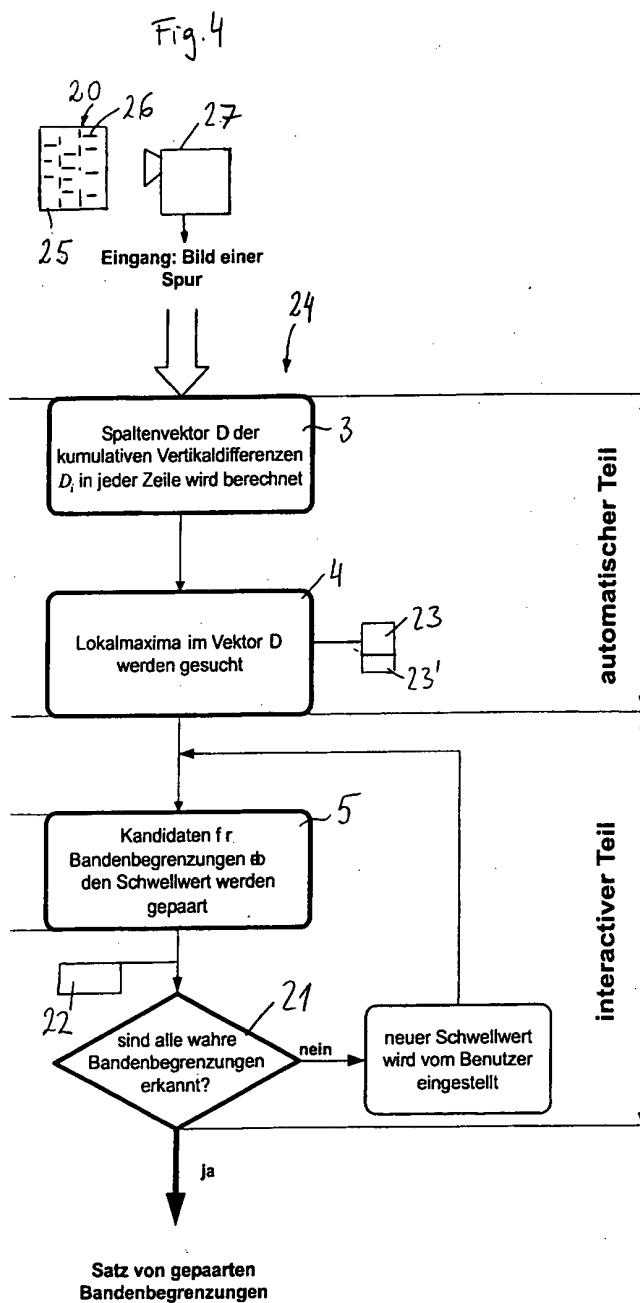




Fig. 5

