

## **Dr. rer. nat. Maik Herbig**

### **Real-time image-based cell identification**

Kurzbeschreibung Abschlussarbeit:

Die Identifizierung verschiedener Zellarten ist ein unabdingbarer Bestandteil in der biomedizinischen Forschung und klinischen Anwendung. Während der vergangenen Jahrzehnte bestand ein verstärktes Interesse an der molekularen Charakterisierung und viele Zellarten können nun mit bewährten Markern identifiziert werden. Der notwendige Färbeprozess ist eine langwierige und kostspielige Behandlung, welche Änderungen zellulärer Eigenschaften hervorrufen, die Probe kontaminieren und daher den Nutzen der Probe einschränken kann. Zum Beispiel werden für Photorezeptortransplantationen reine Proben von Photorezeptoren benötigt, welche gegenwärtig nur mithilfe molekularer Labels hergestellt werden können, was allerdings die Probe für den klinischen Anwendungsbereich unbrauchbar macht. Eine vielversprechende Alternative zu molekularen Markern ist die label-freie Identifizierung von Zellen durch mechanische oder morphologische Eigenschaften. Real-time deformability cytometry (RT DC) ist eine Technik, basierend auf Mikrofluidik, welche beiderlei Information gleichzeitig auf Einzellzellbasis mit hohem Durchsatz messen kann. In dieser Arbeit führe ich Machine Learning Methoden ein, welche es erlauben, basierend auf Hellfeldbildern von RT DC, unterschiedliche Zelltypen zu unterscheiden. Insbesondere werde ich Algorithmen aufzeigen, welche während des Experiments in Echtzeit (>1000 Zellen/s) und somit auch für bildbasierte Zellsortierung verwendet werden könnten. Die Genauigkeit dieser Algorithmen wird für die Erkennung von Vorläuferzellen von Stäbchen-Photorezeptoren in Retina-Proben gezeigt. Die bildbasierte Sortierung mit diesen Algorithmen zeigt die konkrete Möglichkeit auf, Proben von Photorezeptoren herzustellen, deren Reinheit für Transplantationszwecke geeignet ist.

Botschaft und Begründung der Bewerbung:

Die Identifizierung verschiedener Zellarten ist ein essentieller Bestandteil der biomedizinischen Forschung und klinischen Anwendung, da es eine differenzierte Analyse heterogener Proben sowie die Sortierung einzelner Zellarten ermöglicht. Deshalb bestand in den letzten Jahrzehnten ein verstärktes Interesse an der molekularen Charakterisierung und viele Zellarten können bereits mit bewährten Markern identifiziert werden. Der notwendige Färbeprozess ist eine langwierige und kostspielige Behandlung, welche Änderungen zellulärer Eigenschaften hervorrufen, die Probe kontaminieren und daher den Nutzen der Probe einschränken kann. Zum Beispiel werden für Photorezeptor-transplantationen reine Proben von Photorezeptoren benötigt, welche gegenwärtig nur mithilfe molekularer Färbestoffe hergestellt werden können, was allerdings für den klinischen Anwendungsbereich nicht optimal ist.

Eine vielversprechende Alternative zum molekularen Färbeprozess ist die markerfreie Identifizierung von Zellen durch morphologische Eigenschaften. Real-time deformability cytometry (RT-DC) ist eine Technik, basierend auf Mikrofluidik, bei welcher biologische Zellen durch einen engen Kanal fließen und dort mit einer

Hochgeschwindigkeitskamera fotografiert werden. Die Aufnahmen werden dann in Echtzeit (>1000 Zellen/Sekunde) ausgewertet, um Zelleigenschaften wie Größe, Helligkeit oder Deformation zu bestimmen. Eine Zell-Sortiereinheit direkt hinter dem Kanal sortiert dann ausgesuchte Zellen, die bestimmte Parameterwerte aufweisen, heraus.

Um optimale Entscheidungskriterien für diese Zellauswahl zu finden, wurden in der vorliegenden Dissertation Machine-Learning-Methoden entwickelt. Des Weiteren wurden die Fortschritte im Bereich künstliche Intelligenz ausgenutzt, um neuronale Netze (NN) anhand von Beispielbildern zu trainieren, bestimmte Zelltypen zu unterscheiden. Diese NN können dann benutzt werden, um aufgenommene Bilder in Echtzeit auszuwerten und eine Sortierentscheidung zu treffen. Um die Praxistauglichkeit der Methode zu evaluieren habe ich ein NN zur Erkennung von Retinazellen trainiert und dieses anschließend benutzt, um Photorezeptoren aus dissozierten Mausretinae zu isolieren. Weiterhin habe ich ein NN für die Unterscheidung verschiedener Blutzellen trainiert und dieses verwendet um humane Neutrophile, eine Art weißes Blutkörperchen, aus Vollblut zu isolieren. NN können für die Unterscheidung beliebiger Zelltypen trainiert werden, solange Beispielbilder verfügbar sind. Aus dem Grund kann die Methode vielfältig in der biomedizinischen Forschung zum Einsatz kommen. Entsprechend positiv war die Resonanz der wissenschaftlichen Community auf die entsprechende Publikation im namhaften Journal „Nature Methods“.

Die Entwicklung neuronaler Netze erfordert besondere Programmierkenntnisse, was einen fachübergreifenden Zugang zur markerfreien Sortiertechnologie einschränkt. Deshalb habe ich die Software „AIDeveloper“ entwickelt, die es Wissenschaftlern weltweit ermöglicht, ohne Programmierkenntnisse NN zu trainieren. AIDeveloper wird als Open-Source-Software angeboten und kommt derzeit in mehreren Forschungsprojekten zum Einsatz.

Des Weiteren habe ich ein statistisches Verfahren entwickelt, welches erlaubt robuste Signifikanztests für RT-DC Daten durchzuführen. Die Methode wurde in zwei Publikationen der Öffentlichkeit vorgestellt und bereits sehr häufig verwendet und zitiert. Die aus der TU Dresden ausgegründete Firma „Zellmechanik Dresden“ hat dieses Verfahren in die (Open Source) Analyse-Software „ShapeOut“ übernommen.

Die Auszeichnung meiner Arbeit würde unterstreichen, dass sich Dresden für interdisziplinäre Forschung und Zukunftstechnologien im Bereich des maschinellen Lernens stark macht.

Nächste Ziele und Vorhaben:

Durch einen erfolgreichen Projektantrag bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) setze ich mit weiteren Forschern das Projekt zur bildbasierten Isolation von Photorezeptorzellen für Transplantationszwecke am Zentrum für regenerative Therapien Dresden (CRTD) fort. Für die Technologie des bildbasierten Sortierens mittels künstlicher Intelligenz wurde ein Patent angemeldet. Nach dem Abschluss meiner Promotion habe ich die Software AIDeveloper weiterentwickelt, sodass nun nicht nur Bilder aus RT-DC Experimenten, sondern viele weitere Bildformate genutzt werden können. Des Weiteren habe ich moderne Methoden für ein effizienteres

Trainieren, aber auch zur Evaluierung der Performance von neuronalen Netzen hinzugefügt. Durch diese Neuerungen ist AIDeveloper nun ein relevanter Bestandteil von laufenden Forschungsprojekten in Dresden und auch in nationalen Kooperationen geworden.

Ich sehe in biomedizinischen Forschung ein großes Potential für die Anwendung moderner Datenanalysemethoden und Verfahren des maschinellen Lernens. Mit meinen bisherigen Arbeiten konnte ich wesentliche Beiträge in dieses innovative Forschungsfeld einbringen und ich hoffe auch in Zukunft bei der Etablierung des anwendungsorientierten maschinellen Lernens am Standpunkt Dresden mitzuwirken.