

## Совмещение изображений флуоресцентной микроскопии для компенсации движения живых клеток: обзор

Д.В. Сорокин<sup>1,2</sup>  
dsorokin@cs.msu.ru

<sup>1</sup>Лаборатория математических методов обработки изображений, факультет вычислительной математики и кибернетики, Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Centre for Biomedical Image Analysis, Faculty of Informatics, Masaryk University, Brno, Czech Republic

*Совмещение изображений является базовой задачей в области обработки и анализа микроскопических изображений живых клеток. С помощью совмещения изображений решается задача компенсации движения живых клеток, необходимая для изучения локального движения клеточных субструктур. В последнее время было предложено большое количество разнообразных методов совмещения микроскопических изображений. Однако, все методы имеют свои особенности и границы применимости, а выбор метода для реальных приложений обусловлен особенностями биологического эксперимента, и как следствие, полученных данных. В данной работе проведен обзор методов совмещения микроскопических изображений, обсуждены их достоинства и недостатки, а также границы применимости в реальных приложениях.*

**Ключевые слова:** анализ микроскопических изображений, совмещение изображений, микроскопия живых клеток.

### 1. Введение

В последние десятилетия, одним из наиболее бурно развивающихся направлений биомедицины является клеточная биология. Для проведения экспериментов в этой области используются все более сложные приборы, такие, как флуоресцентные микроскопы. С появлением технологии флуоресцентных белков (Нобелевская премия по химии в 2008 году) расширились возможности проведения прижизненных наблюдений, что кардинально расширило возможности световой микроскопии. Бурно развивалась и микроскопическая техника. Особенное значение имело появление конфокального микроскопа и его вариантов (лазерный сканирующий, спиннинговый и т.п.). Недавно начала бурно развиваться микроскопия сверх-высокого разрешения (Нобелевская премия по химии в 2014 году). На данный момент мало какое исследование в области клеточной биологии обходится без экспериментов, связанных с микроскопией.

Среди различных методов микроскопии отдельно можно выделить микроскопию живых клеток, или прижизненные наблюдения за клеточными структурами. Данный метод исследования позволяет изучать протекание молекулярных процессов в живых клетках, что стимулирует развитие разных областей клеточной биологии, в том числе связанных с изучением механизмов онкогенеза и поиска новых лекарств.

Одной из наиболее актуальных задач в микроскопии живых клеток является анализ движения клеточных субструктур. Данная задача возникает при изучении механизмов восстановления молекулы ДНК [5], механизмов формирования и разбора ядрышек [13], вирусной защиты [9], и прочих процессов, необходимых для понимания природы функционирования клеток. Однако, анализ движения клеточных субструктур является сложной проблемой, т.к. в процессе получения данных живая клетка движется и деформируется.

Таким образом, наблюдаемое движение субструктур представляет собой суперпозицию локального движения субструктур и глобального движения клетки, включающего движение и деформацию клетки. Для того, чтобы определить чистое локальное движение субструктур, необходимо компенсировать глобальное движение клетки. Это делается с помощью алгоритмов совмещения изображений. А именно, все изображения из последовательности совмещаются с изображением, соответствующим начальному моменту времени.

В литературе представлено большое количество методов совмещения микроскопических изображений предназначенных для компенсации движения и деформации живых клеток. Данные методы можно разделить на две основные группы: методы, напрямую *использующие интенсивность изображения*, и методы, *не использующие напрямую интенсивность изображения* (такие методы используют результат сегментации изображения - бинарные маски). Также, в каждой из данных групп можно выделить алгоритмы, осуществляющие *жесткое совмещение* (клетка представляется, как жесткое тело, в результате чего компенсируется только движение — смещение, поворот, масштабирование), и алгоритмы осуществляющие *нежесткое совмещение* (клетка представляется, как нежесткое тело, в результате чего, помимо движения, компенсируется и деформация клетки). К сожалению, на данный момент не существует универсального метода, подходящего для любых данных и любой постановки задачи. Каждый из представленных подходов имеет свои достоинства и недостатки, а выбор подходящего метода обусловлен конкретной биологической проблемой, требующей решения.

В данной работе представлен обзор современных методов совмещения микроскопических изображений клеточных структур, используемых для компенсации движения и деформации клеток в задачах анализа движения клеточных субструктур. Рассмотрены достоин-

ства и недостатки данных методов. Проведен сравнительный анализ их эффективности и применимости в различных типовых постановках задачи.

## 2. Методы, использующие интенсивность изображения

Большинство методов совмещения изображений, представленных в литературе, используют значения интенсивности пикселей изображений напрямую для их совмещения.

### 2.1. Жесткие методы

В работе [24] был предложен метод совмещения изображений, основанный на фазовой корреляции. Другой корреляционный метод, позволяющий компенсировать сдвиги изображений был предложен в статье [7]. Baheerathan и соавторы [1] впервые предложили использовать фазовую корреляцию совместно с ключевыми точками, что позволило компенсировать движения соответствующие аффинному преобразованию. В подходе, предложенном в работе [16] был использован тензор инерции, который вычислялся с помощью окрашенных белков. Данный метод позволяет компенсировать поворот и смещение клетки. В работе [23] авторы использовали модель фотообесцвечивания для компенсации жесткого движения клеток при проведении FLIP (Fluorescence loss in photobleaching) экспериментов. Другой подход, использующий разбиение изображения на блоки с последующим поблочным совмещением был предложен в работе [15].

### 2.2. Нежесткие методы

Помимо методов жесткого совмещения, также был предложен ряд методов нежесткого совмещения. В работе [14] авторами была представлена параметрическая модель движения клетки, которая была использована для компенсации этого движения. Полуавтоматический метод, основанный на использовании ключевых точек и сплайнов тонкой пластинки, был предложен в работе [10]. Основанный на использовании ключевых точек метод был описан в работе [12], однако он был использован для коррекции движения клетки, соответствующего аффинному преобразованию изображения.

Отдельно стоит отметить семейство методов, основанных на модификации классического алгоритма оптического тока Lucas-Kanade. В работе [8] предложена базовая, двухкадровая версия данного подхода, где поле деформаций  $\vec{u}(I_k, I_{k-1})$  между изображениями  $I_k$  и  $I_{k-1}$  последовательности, определяется с помощью итерационного алгоритма следующим образом:

$$\vec{u}_i(I_k, I_{k-1}) = G_D * (\vec{u}_{i-1}(I_k, I_{k-1}) + G_U * d\vec{u}_i(I_k^*, I_{k-1})), \quad (1)$$

где  $\vec{u}_{i-1}(I_k, I_{k-1})$  — поле деформаций с предыдущей итерации,  $d\vec{u}_i(I_k^*, I_{k-1})$  — изменение поля деформаций, а  $I_k^* = I_k(\vec{x} + \vec{u}_{i-1}(I_k, I_{k-1}))$ . Вектор  $\vec{x}$  обозначает пространственные координаты изображения, а  $G_D$  и

$G_U$  — ядра свертки с Гауссианами ( $\sigma_D = \sigma_U = 2$ ), с помощью которых проводится сглаживание полученного поля деформаций. Начальное поле деформаций  $\vec{u}_{i-1}(I_k, I_{k-1}) \equiv 0$ . Итерационный процесс останавливается, когда  $\|I_{k-1} - I_k^*\| < \varepsilon$ , где  $\varepsilon$  задается в качестве параметра алгоритма. При этом, изменение поля деформации определяется как:

$$d\vec{u}_i(I_k^*, I_{k-1}) = \min_{\vec{U} \in \mathbb{R}^2} \sum_{\vec{x} \in \Omega} [I_k(\vec{x} + \vec{U}) - I_{k-1}(\vec{x})]^2, \quad (2)$$

где  $\Omega$  — некоторая окрестность точки  $\vec{x}_c$  изображения,  $\vec{U}$  — вектор поля деформации  $\vec{u}_i(I_k, I_{k-1})$  в точке  $\vec{x}_c$ . Также, в работе [8] предложены более совершенные варианты данного базового двухкадрового алгоритма, полученные с помощью внесения изменений в минимизируемый функционал в (2), таких как симметричная модификация функционала, и симметричная взвешенная модификация функционала [8].

В работе [21] авторы развили данный подход, представив его многокадровую модификацию. Основная идея заключается в использовании нескольких кадров до текущего для построения поля деформаций между последовательными изображениями. Основным отличием данного подхода является иное определение изменения поля деформаций  $d\vec{u}$  в (1), где вместо изображений  $I_k$  и предыдущего  $I_{k-1}$ , используется  $N_l + 1$  изображений  $I_k, \dots, I_{k-N_l}$ :

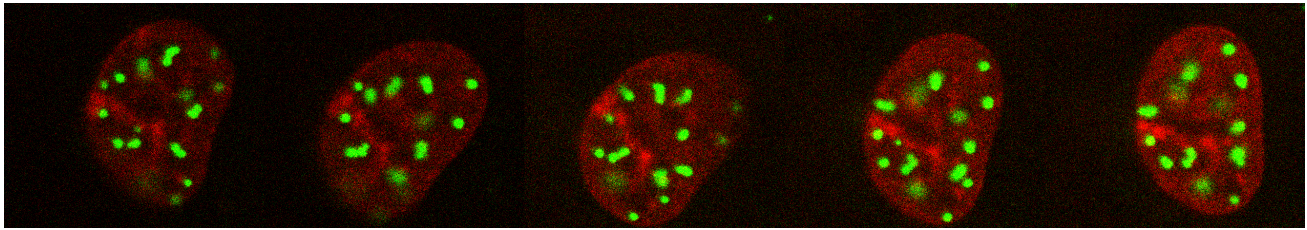
$$d\vec{u}_i(I_k^*, I_{k-1}) = \min_{\vec{U} \in \mathbb{R}^2} \sum_{\vec{x} \in \Omega} \frac{1}{N_l} \sum_l [I_k(\vec{x} + \vec{U}) - I_l^*(\vec{x})]^2,$$

где  $I_l^* = I_l(\vec{x} + \vec{u}(I_l, I_{k-1}))$  — изображение  $I_l$ ,  $l = k - N_l, \dots, k - 1$ , преобразованное в систему координат изображения  $I_{k-1}$ , а  $N_l$  обозначает количество предыдущих кадров, используемых для совмещения.

Метод получил дальнейшее развитие в работе [22], в которой была представлена версия многокадрового алгоритма, где итоговое преобразование между соседними кадрами является диффеоморфизмом.

### 2.3. Достоинства и недостатки использования методов, основанных на интенсивности

Методы совмещения изображений, использующие интенсивность, являются достаточно эффективными, т.к. в данных подходах используется вся информация, содержащаяся в изображениях. Однако, данные методы демонстрируют меньшую эффективность (а иногда и вовсе неприменимость) в случаях, когда интенсивность изображений последовательности подвержена значительным изменениям с течением времени, например, в случае высокого уровня шума или резкого движения клетки между кадрами, что является достаточно характерным для большого числа практических случаев. Например, методы, основанные на принципе вычисления оптического потока [8, 21] или сопоставления блоков изображений [17], допускают лишь незначительные изменения интенсивности объектов между кадрами. Нарушение этого условия может привести к



**Рис. 1.** Пример последовательности изображений флуоресцентной микроскопии, полученной в двух каналах, где в красном канале представлено клеточное ядро, а в зеленом канале представлены изучаемые клеточные субструктуры.

нестабильности метода. Стоит также отметить, что в ряде биологических приложений, данное условие заведомо невыполнимо, т.к. полученные последовательности изображений содержат резкие скачки интенсивности. В работе [14] был предложен подход для преодоления данной проблемы резкого изменения интенсивности, однако, данный метод использует аффинную модель движения и не может компенсировать сильные локальные деформации клетки. Алгоритмы основанные на ключевых точках [3, 10, 12] требуют наличия стабильных ключевых точек у движущихся клеток, что также является невыполнимым требованием для многих биологических приложений, где в изображениях движущейся клетки отсутствуют (либо не видны) заведомо стабильные структуры. Также, в случае изучения локального движения клеточных субструктур, методы, основанные на интенсивности, помимо компенсации глобального движения и деформации клетки, могут внести ошибку и в локальное движение изучаемых субструктур. Такое может произойти, т.к. основанные на интенсивности методы стремятся полностью компенсировать движение ярких объектов на изображениях, не делая различий между субструктурами и самой клеткой. Данная проблема может быть решена с помощью получения изображений в двух каналах [8, 21], где изучаемые субструктуры представлены в одном канале, а некоторые стабильные структуры, соответствующие движению клетки (например, хроматин), представлены в другом канале (см. Рис. 1). Однако, во многих биологических экспериментах данные возможно получить лишь в одном канале, что делает основанные на интенсивности подходы неприменимыми для таких данных. Это приводит к необходимости использования в таких случаях методов, не использующих интенсивность изображения.

### 3. Методы, не использующие интенсивность изображения

В литературе представлен ряд методов совмещения микроскопических изображений живых клеток, не использующих интенсивность изображения напрямую.

#### 3.1. Жесткие методы

Среди этих методов можно выделить небольшое количество подходов, использующих жесткую модель. В работе [18] авторами был предложен подход, где клетка

дрожжей приближалась эллипсом. Далее было произведено совмещение полученных эллипсов для компенсации смещений и поворотов. В работе [11] был предложен оригинальный метод совмещения изображений клеток, основанный на жестком совмещении облаков точек. Облако точек определялось как положение исследуемых субструктур в каждом кадре. При этом, чтобы избежать "перерегистрации" (внесение ошибок в локальное движение самих субструктур, описанное в предыдущем разделе), была выбрана жесткая модель. Также в данной работе было показано, что применение некоторых ограничений по оси Z существенно увеличивает скорость работы метода, не оказывая большого влияния на качество результата. Еще одним жестким методом, не использующим интенсивность напрямую, является подход, предложенный в работе [4]. Данный метод основан на использовании предварительной сегментации клетки в изображениях последовательности, с последующим представлением формы клетки в виде специальной функции, определенной с помощью дискретного евклидова преобразования. Строго говоря, данный метод является нежестким, т.к. для совмещения используется минимизация функционала, где невязка параметризует сдвиг и поворот клетки, а регуляризатор позволяет параметризовать небольшие деформации. Однако, вклад нежесткой компоненты в данном методе незначительный, и его принято относить к жестким подходам.

#### 3.2. Нежесткие методы

Помимо жестких методов, в литературе представлено несколько нежестких подходов. Все они используют в качестве входных данных сегментацию изображения, т.е. последовательность бинарных изображений, представляющих собой маски движущейся клетки. В работе [25] авторами был предложен подход, основанный на улучшенном алгоритме совмещения "демонов" (demons-based), который был применен непосредственно к бинарным маскам. Данный алгоритм позволил компенсировать незначительные движения и деформации клетки. Другой подход, предложенный в [2], направлен на компенсацию значительных перемещений клетки (более 30 пикселей) и значительных деформаций. Этот подход основан на поиске соответствия между контурами клетки в последовательных кадрах с помощью использования дескрипторов контуров, представляющих собой одномерные функции, и алгоритма

digital time warping для их совмещения. После нахождения соответствия между точками контуров, на контурах клетки задаются вектора смещения, которые затем интерполируются в остальных областях изображения с помощью метода интерполяции разреженных данных. В работе [20] авторами был предложен метод, который также использует контуры клетки. Однако в данном методе, для интерполяции разреженного поля деформации на контурах клетки, была использована физически обоснованная модель, основанная на теории упругости. А именно, клетка представляется как упругое тело, где деформация задана на границе объекта (с помощью совмещения контуров), а деформация внутри клетки моделируется с помощью уравнения Навье-Коши:

$$\begin{aligned} \mu \Delta \mathbf{u}(\mathbf{x}) + (\mu + \lambda) \nabla(\nabla \mathbf{u}(\mathbf{x})) &= 0, & \mathbf{x} \in Q, \\ \mathbf{u}(\mathbf{x}) &= \mathbf{u}_0, & \mathbf{x} \in \partial Q, \end{aligned} \quad (3)$$

где  $\mathbf{u}$  — это поле деформаций,  $\mathbf{x}$  — пространственная координата,  $\mu$  и  $\lambda$  — константы Ламе,  $Q$  — область, соответствующая клетке, а  $\partial Q$  — граница клетки.

Данный подход был развит в работе [19]. В этой работе была использована более сложная нелинейная динамическая упругая модель, которая может быть описана вторым законом Ньютона для упругого тела:

$$\begin{aligned} M \vec{a} &= \vec{f}_{int} + \vec{f}, \\ \vec{f}_{int} &= \mu \Delta \vec{u} + (\mu + \lambda) \nabla(\nabla \cdot \vec{u}), \end{aligned} \quad (4)$$

где  $M$  — масса клетки,  $\vec{a}$  — ускорение,  $\vec{u}$  — поле деформаций, а  $\vec{f}$  представляет собой силы, действующие на границу клетки, которые приводят к совмещению изображений. В статическом методе [20] уравнение (3) по сути соответствует  $\vec{f}_{int} = 0$  в уравнении (4), и задача решается в квази-статическом сценарии, когда для каждой пары последовательных изображений с помощью определения соответствия точек контуров клетки на этих изображениях, задается деформация на границе клетки, а затем решается уравнение Навье-Коши. В динамической модели (4) не требуется отдельного шага сопоставления контуров клетки в последовательных кадрах. Совмещение контуров происходит за счет определения внешних сил  $f$  специальным образом в ходе итерационного решения (4). Динамическая модель, использованная в [19], позволила улучшить результаты алгоритма совмещения [20], а также сделать метод значительно более устойчивым к параметрам. Стоит отметить, что оба метода [20] и [19] являются достаточно эффективными с вычислительной точки зрения, т.к. они основаны на методе конечных элементов.

### 3.3. Достоинства и недостатки использования методов, не использующих интенсивность изображений

Подходы, не использующие интенсивность изображений, как описано выше, часто используют в качестве входных данных результат сегментации клетки в последовательности изображений, а именно, после-

довательность бинарных изображений, представляющих собой маски клетки в различные моменты времени. Эффективность данных подходов была продемонстрирована как на реальных микроскопических данных, так и на синтетических данных. Данные методы являются применимыми как к изображениям, полученным в одном цветовом канале, так и к изображениям, полученным в двух и более цветовых каналах. Однако, у описанных методов существует ряд недостатков. Так, в работах [4, 11, 18] алгоритмы могут компенсировать только "жесткое" движение, а именно поворот и смещение клетки. В работе [25] авторы описывают нежесткий алгоритм совмещения, однако он основан на алгоритме "демонов" (demons algorithm), который не использует никакую физическую модель движения клетки. Метод, предложенный в [2] был специально разработан для компенсации сильных деформаций, однако использованная модель сплайнов тонкой пластинки является достаточно грубой аппроксимацией деформации клетки. Помимо этого, в данной работе используется равномерная сетка для дискретизации контуров клетки, что приводит к появлению и накоплению ошибки при поиске поля деформации для некоторых наборов данных. В работе [6] авторами предложен алгоритм преобразования клетки к некоторому сферическому объекту, что пригодно для части биологических приложений (где клетка зафиксирована, а изображение статично), однако неприменимо в случае изучения локального движения клеточных субструктур. Наиболее эффективными на данный момент являются методы, основанные на теории упругости [20] и [19], показывающие сравнимые результаты с методами, основанными на интенсивности, которые используют значительно больше информации. Однако данные подходы также не лишены недостатков. Во-первых, в случае невозможности точного определения границ клеток, точность данных подходов значительно падает. Также, в случае совмещения двухканальных изображений, где в одном из каналов представлены стабильные структуры, использование методов основанных на интенсивности является более надежным.

## 4. Заключение

В данной работе представлен обзор существующих на сегодняшний день методов совмещения микроскопических изображений, применяемых для компенсации движения и деформации клеток в последовательности двумерных или трехмерных изображений. Рассмотрены жесткие и нежесткие методы совмещения двух семейств: методы, использующие интенсивность изображения напрямую, и методы, не использующие интенсивность изображений напрямую. Обсуждены достоинства и недостатки описанных в литературе методов, а также границы их применимости.

## 5. Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 17-11-01279.

## 6. Литература

- [1] Baheerathan, S., Albrechtsen, F., and Danielsen, H. Registration of serial sections of mouse liver cell nuclei. *J. of Microscopy* 192, 1 (1998), 37–53.
- [2] De Vylder, J., De Vos, W. H., Manders, E. M., and Philips, W. 2d mapping of strongly deformable cell nuclei-based on contour matching. *Cytometry Part A* 79, 7 (2011), 580–588.
- [3] Du, T., and Wasser, M. 3d image stack reconstruction in live cell microscopy of drosophila muscles and its validation. *Cytometry Part A* 75, 4 (2009), 329–343.
- [4] Dzyubachyk, O., Essers, J., van Cappellen, W. a., Baldeyron, C., Inagaki, A., Niessen, W. J., and Meijering, E. Automated analysis of time-lapse fluorescence microscopy images: from live cell images to intracellular foci. *Bioinformatics* 26, 19 (2010), 2424–30.
- [5] Foltánková, V., Matula, P., Sorokin, D., Kozubek, S., and Bártoňová, E. Hybrid detectors improved time-lapse confocal microscopy of pml and 53bp1 nuclear body colocalization in dna lesions. *Microscopy and Microanalysis* 19, 02 (2013), 360–369.
- [6] Gladilin, E., Goetze, S., Mateos-Langerak, J., Van Driel, R., Eils, R., and Rohr, K. Shape normalization of 3d cell nuclei using elastic spherical mapping. *J. of Microsc.* 231, 1 (2008), 105–114.
- [7] Goobic, A. P., Tang, J., and Acton, S. T. Image stabilization and registration for tracking cells in the microvasculature. *IEEE Trans. Biomedical Engineering* 52, 2 (2005), 287–299.
- [8] Kim, I.-H., Chen, Y.-C. M., Spector, D. L., Eils, R., and Rohr, K. Nonrigid registration of 2-d and 3-d dynamic cell nuclei images for improved classification of subcellular particle motion. *IEEE Trans. Im. Proc.* 20, 4 (2011), 1011–1022.
- [9] Liu, S.-L., Zhang, Z.-L., Tian, Z.-Q., Zhao, H.-S., Liu, H., Sun, E.-Z., Xiao, G. F., Zhang, W., Wang, H.-Z., and Pang, D.-W. Effectively and efficiently dissecting the infection of influenza virus by quantum-dot-based single-particle tracking. *ACS Nano* 6, 1 (2012), 141–150.
- [10] Mattes, J., Nawroth, J., Boukamp, P., Eils, R., and Greulich-Bode, K. M. Analyzing motion and deformation of the cell nucleus for studying colocalizations of nuclear structures. In *Proc. IEEE Int. Symp. Biomed. Imag. (ISBI'06)* (2006), pp. 1044–1047.
- [11] Matula, P., Matula, P., Kozubek, M., and Dvořák, V. Fast point-based 3-d alignment of live cells. *IEEE Trans. Im. Proc.* 15, 8 (2006), 2388–2396.
- [12] Medioni, C., Besse, F., Descombes, X., and Malandarne, G. Motion compensation in two-photon microscopy temporal series. In *Proc. IEEE Int. Symp. Biomed. Imag. (ISBI'15)* (2015), pp. 1584–1587.
- [13] Musinova, Y. R., Lisitsyna, O. M., Sorokin, D. V., Arifulin, E. A., Smirnova, T. A., Zinovkin, R. A., Potashnikova, D. M., Vassetzky, Y. S., and Sheval, E. V. Rna-dependent disassembly of nuclear bodies. *J. of Cell Sci.* 129, 24 (2016), 4509–4520.
- [14] Ozere, S., Bouthemy, P., Spindler, F., Paul-Gilloteaux, P., and Kervrann, C. Robust parametric stabilization of moving cells with intensity correction in light microscopy image sequences. In *Proc. IEEE Int. Symp. Biomed. Imag. 2013 (ISBI'13)* (2013), pp. 468–471.
- [15] Raza, S.-E.-A., Humayun, A., Abouna, S., Nattkemper, T. W., Epstein, D. B. A., Khan, M., and Rajpoot, N. M. Ramtab: Robust alignment of multi-tag bioimages. *PLoS ONE* 7, 2 (2012), e30894.
- [16] Rieger, B., Molenaar, C., Dirks, R., and Van Vliet, L. Alignment of the cell nucleus from labeled proteins only for 4d in vivo imaging. *Microscopy Research and Technique* 64, 2 (2004), 142–150.
- [17] Saalfeld, S., Fetter, R., Cardona, A., and Tomancak, P. Elastic volume reconstruction from series of ultra-thin microscopy sections. *Nature Methods* 9, 7 (2012), 717–720.
- [18] Sage, D., Neumann, F. R., Hediger, F., Gasser, S. M., and Unser, M. Automatic tracking of individual fluorescence particles: application to the study of chromosome dynamics. *IEEE Trans. Im. Proc.* 14, 9 (2005), 1372–83.
- [19] Sorokin, D. V., Peterlik, I., Tektonidis, M., Rohr, K., and Matula, P. Non-rigid Contour-Based Registration of Cell Nuclei in 2D Live Cell Microscopy Images Using a Dynamic Elasticity Model. *IEEE Transactions on Medical Imaging* (2017), accepted for publication 31 July 2017, DOI: 10.1109/TMI.2017.2734169.
- [20] Sorokin, D. V., Tektonidis, M., Rohr, K., and Matula, P. Non-rigid contour-based temporal registration of 2D cell nuclei images using the Navier equation. In *Proc. IEEE Int. Symp. Biomed. Imag. (ISBI'14)* (2014), pp. 746–749.
- [21] Tektonidis, M., Kim, I.-H., Chen, Y.-C. M., Eils, R., Spector, D. L., and Rohr, K. Non-rigid multi-frame registration of cell nuclei in live cell fluorescence microscopy image data. *Med. Im. Anal.* 19, 1 (2015), 1–14.
- [22] Tektonidis, M., and Rohr, K. Diffeomorphic multi-frame non-rigid registration of cell nuclei in 2d and 3d live cell images. *IEEE Transactions on Image Processing* 26, 3 (March 2017), 1405–1417.
- [23] van de Giessen, M., van der Laan, A., Hendriks, E. A., Vidorreta, M., Reiber, J. H., Jost, C. R., Tanke, H. J., and Lelieveldt, B. P. Fully automated attenuation measurement and motion correction in flip image sequences. *IEEE Trans. Med. Imag.* 31, 2 (2012), 461–473.
- [24] Wilson, C. A., and Theriot, J. A. A correlation-based approach to calculate rotation and translation of moving cells. *IEEE Trans. Im. Proc.* 15, 7 (2006), 1939–1951.
- [25] Yang, S., Kohler, D., Teller, K., Cremer, T., Le Baccon, P., Heard, E., Eils, R., and Rohr, K. Nonrigid registration of 3-d multichannel microscopy images of cell nuclei. *IEEE Trans. Im. Proc.* 17, 4 (2008), 493–9.