

差分压缩成像型结构光照明超分辨显微技术研究(特邀)

成泊璋¹, 姚云华^{1*}, 何一林¹, 黄正齐¹, 何宇¹, 郭梦迪¹, 齐大龙¹, 沈乐成¹, 孙真荣¹, 张诗按^{1,2,3*}¹华东师范大学精密光谱科学与技术国家重点实验室, 上海 200241;²山西大学极端光学协同创新中心, 山西 太原 030006;³华东师范大学-山东师范大学光场调控科学与光子芯片器件联合研究中心, 华东师范大学, 上海 200241

摘要 压缩成像型结构光照明超分辨显微(CISIM)技术中不同相移结构的光照明图像的叠加压缩减小了频谱调制成分的占比,影响重构图像质量,针对该问题,发展一种差分压缩成像型结构光照明超分辨显微(DCISIM)技术,利用结构照明压缩图像与宽场图像的参考差分,增大高频图像信息占比,提升重构图像的质量。利用仿真实验验证DCISIM技术的性能优势,同时测试其在不同噪声条件下的成像性能,并简要讨论其技术特点与发展前景。结果表明,DCISIM技术能提升重构图像的精度与细节分辨能力,且能在噪声强度较低的情况下提供较好的超分辨成像效果。

关键词 荧光显微; 结构光照明显微; 超分辨显微; 压缩感知; 图像重构

中图分类号 O439

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP241570

Research on Differential Compressed Imaging-Based Structured Illumination Super-Resolution Microscopy Technique (Invited)

Cheng Bozhang¹, Yao Yunhua^{1*}, He Yilin¹, Huang Zhengqi¹, He Yu¹, Guo Mengdi¹, Qi Dalong¹, Shen Yuecheng¹, Sun Zhenrong¹, Zhang Shian^{1,2,3*}¹State Key Laboratory of Precision Spectroscopy, East China Normal University, Shanghai 200241, China;²Collaborative Innovation Center of Extreme Optics, Shanxi University, Taiyuan 030006, Shanxi, China;³Joint Research Center of Light Manipulation Science and Photonic Integrated Chip of East China Normal University and Shandong Normal University, East China Normal University, Shanghai 200241, China

Abstract Superposition compression of different phase-shift structured illumination images in compressed imaging-based structured illumination super-resolution microscopy (CISIM) technique reduces the proportion of spectral modulation components, thereby affecting image reconstruction quality. To address this issue, a differential CISIM (DCISIM) technique is developed. This technique utilizes the reference difference between the compressed structured illumination and wide-field images to enhance the information content of high-frequency components and improve the quality of reconstructed images. In this study, the advantages of DCISIM technique are verified through simulation experiments, its performance under different noise levels is tested, and its characteristics and development prospects are briefly discussed. Results indicate that DCISIM technique can improve the accuracy and detailed resolution of reconstructed images and can provide a better super-resolution imaging effect under the condition of low noise intensity.

Key words fluorescence microscopy; structured illumination microscopy; super-resolution microscopy; compressive sensing; image reconstruction

1 引言

超分辨荧光显微技术突破了光学衍射极限的限制,使研究人员能观测到更精细的结构和动力学过程,

极大地推动了生物医学领域的发展^[1-2]。在诸多超分辨荧光显微技术中,结构光照明显微(SIM)因其具有成像速度快、光损伤小、荧光标签适用性广等独特优势得到广泛的应用^[3-7],例如用于细胞骨架^[8]、线粒体^[9]、

收稿日期: 2024-06-28; 修回日期: 2024-07-27; 录用日期: 2024-08-01; 网络首发日期: 2024-08-20

基金项目: 国家自然科学基金(12325408, 12274129, 12274139, 12374274, 62175066, 62105101, 92150102, 12074121, 92150301, 12304338)、上海市科学技术委员会(21XD1400900)、中央高校基础研究基金

通信作者: *sazhang@phy.ecnu.edu.cn; **yhyao@lps.ecnu.edu.cn

溶酶体^[10]、内质网^[11]和高尔基体^[12]等细胞内精细结构的观测。SIM 的高成像速度的优势使其成为活细胞动态过程超分辨观测的首选技术。虽然目前 SIM 已经实现视频帧率的超分辨成像^[9,13],但仍无法观测高速的动态过程。用于 SIM 图像采集的相机需要具备足够的位深和像素数,但在目前的技术水平下难以获得更高的成像帧率,这一硬件条件限制了 SIM 成像速度的提高。为进一步提高 SIM 的超分辨率成像速度,研究人员提出多种解决方案。其中一种技术路线是减少 SIM 超分辨重建所需的图像数量,常规 SIM 重构需要 9 张图像,它们之间存在一定的信息冗余^[14],因此可以通过减少重构所需图像数量的方式来提高成像速度。例如,贝叶斯框架^[15]、最小二乘法^[16]和改进的非相干傅里叶叠层算法^[17]等方法仅使用 4 张图像即可实现 SIM 的超分辨图像重建。然而,这种减少图像数量的方案对图像噪声具有更高的敏感性,导致重建的超分辨图像的质量不佳。另一种技术路线是将压缩感知引入 SIM 中,在有限的图像采样速度下获得超分辨成像速度的提高。压缩成像型结构光照明超分辨显微(CISIM)将采集的多张结构光照明图像进行编码后再将其压缩为 1 张图像,从中重构出超分辨图像,该方法可提高最终的超分辨成像速度^[18]。通过互补编码方案和两步图像重构算法,CISIM 在实验上实现了成像验证,超分辨成像速度提高 3 倍^[19]。然而 CISIM 中三步相移的结构光照明图案相互叠加,导致图像中高频部分抵消,降低压缩图像中的高频成分占比,较难进行图像重构,重构获得的超分辨图像的质量较差。

为解决这一问题,提出一种差分压缩成像型结构光照明超分辨显微(DCISIM),利用压缩图像与宽场图像的参考差分,提高高频图像的信息占比,从而提升重构图像的质量。在图像压缩采集过程中,将 3 个方向相位差为 $2\pi/3$ 的两张相移结构光照明下的荧光图像进行编码并将其压缩为 1 张图像,再额外采集 1 张宽场图像。在图像重构过程中,利用压缩图像与宽场图像的差分,结合基于深度图像先验(DIP)和交替方向乘子法(ADMM)的重构算法实现超分辨图像重构。通过仿真实验验证 DCISIM 对超分辨图像重构效果的提升。DCISIM 的噪声仿真实验结果表明,在特定的噪声强度下,DCISIM 能实现较好的超分辨成像效果。DCISIM 为获得高质量的重构超分辨图像提供了一种高速超分辨成像显微技术手段,有望应用于细胞内的高速动力学过程观测以及潜在的过程机理的研究。

2 基本原理

2.1 DCISIM 图像采集模型

常规 SIM 中,需要依次采用 3 个方向、3 步相移的 9 个模式的条纹结构光对样品进行照明,采集相应的 9 张荧光图像并经图像重构算法处理获得 1 张超分辨率图像^[20]。其中 3 步相移的目的是求解结构光频谱搬

移的样品频谱信息,而 3 个方向的目的是提供空间均匀的超分辨效果。余弦条纹分布的结构光分布 $P(x, y, n)$ 可以表示为

$$P(x, y, n) = I_0 \{1 + a \cdot \cos[2\pi \mathbf{k}(n) \cdot \mathbf{r} + \phi(n)]\}, \quad (1)$$

式中: x 和 y 为样品的二维空间位置; n 为常规 SIM 的结构光模式编号,对应方向及相移不同的 9 种结构光模式; I_0 为照明光场的光强分布; a 为结构光场的调制因子; $\mathbf{k}(n)$ 和 $\phi(n)$ 为干涉条纹的空间频率矢量和相位; \mathbf{r} 为结构光场的空间矢量。当照明光的功率低于荧光分子的饱和吸收阈值时,即照明光处于线性吸收区域时,样品被结构光场激发产生的荧光光场图像 $E(x, y, n)$ 与照明光场分布 $P(x, y, n)$ 和荧光分子浓度分布 $D(x, y)$ 的乘积成线性关系:

$$E(x, y, n) = P(x, y, n) \times D(x, y). \quad (2)$$

样品发出的荧光图像经显微系统收集并被相机成像采集,此过程受到光学衍射极限的限制。采集到的衍射受限图像可表示为荧光光场图像 $E(x, y, n)$ 与显微系统点扩散函数 $H(x, y)$ 的卷积:

$$U(x, y, n) = E(x, y, n) * H(x, y) = [P(x, y, n) \times D(x, y)] * H(x, y). \quad (3)$$

利用常规 SIM 对 9 张不同照明模式下的荧光图像进行频谱的分离和恢复,最终获得 1 张超分辨图像。生物结构的荧光图像具备稀疏特性,而 SIM 采集的 9 张不同照明模式下的荧光图像之间包含冗余的信息,为压缩感知理论在 SIM 中的应用提供前提条件^[21]。对动态过程进行连续成像时,动态场景的时间相关性和连续性为多帧图像的压缩重构提供更多的先验条件。为在成像采集速度受限的条件下提高超分辨成像的速度,提出 CISIM 在采集的 SIM 图像基础上进行空间编码和时空压缩从而获得压缩图像,并从压缩图像中直接恢复出超分辨图像^[18-19]。为简化分析,CISIM 仅考虑单张图像压缩的情况,即将 9 张结构光照明荧光图像压缩为 1 张。CISIM 的图像采集模型如图 1(a) 所示,利用数字微镜器件对采集的 SIM 图像 $U(x, y, n)$ 进行伪随机二值编码 $C(x, y, n)$,且对不同照明模式下的图像进行编码的快速切换,多个时刻的编码图像累加后被相机采集。CISIM 采集的压缩图像可表示为

$$R_{\text{CISIM}}(x, y) = \sum_1^n C(x, y, n) \times U(x, y, n) = O_{\text{CISIM}} D(x, y), \quad (4)$$

式中: O_{CISIM} 为 CISIM 系统整体的图像采集操作。

由于 CISIM 在图像采集过程中对图像进行了随机编码操作,压缩图片的频谱成分受到调制,原本荧光图像中的结构光高频调制成分占比减小。此外 3 步相移的结构光照明荧光图像相互叠加,也会导致系统采集的压缩图像中结构光调制成分部分被抵消,最终采

集到的压缩图像中高频成分占比较小,使图像重构难度较大,重构结果图像的质量较差。为解决这一问题,将差分放大的思想引入 CISIM,通过差分的方式提高采集图像中高频信号的能量占比,提升待测动态场景的重构效果。将这种改进后的技术称为 DCISIM。

相比于 CISIM,DCISIM 包含 2 个图像采样通道,在原有压缩成像通道的基础上增加 1 个宽场成像通道,其作用是将编码叠加后的压缩图像与宽场图像进行差分放大,从而提高高频信号的能量占比。DCISIM 的压缩成像方式与 CISIM 不同,在 3 个方向上只采用两张相移量为 $2\pi/3$ 的条纹照明荧光图像进行编码压缩操作,即 DCISIM 压缩成像通道的压缩比为 6。而 CISIM 的压缩比为 9,在相机曝光时间固定的情况下,DCISIM 的压缩方式具有更高的信噪比。DCISIM 的图像采集模型如图 1(b)所示。DCISIM 的

成像采集分为两个通道:压缩成像通道和宽场成像通道。其中压缩成像通道采集的图像为 6 个结构光照明模式激发下的样品荧光图像经过显微系统点扩散函数卷积后,经过伪随机编码调制压缩后得到的图像,可以表示为

$$R_{cs}(x, y) = \sum_1^{n'} C(x, y, n') \times U(x, y, n') = \sum_1^{n'} C(x, y, n') \times [P(x, y, n') \times D(x, y)] * H(x, y) = O_{cs} D(x, y), \quad (5)$$

式中: n' 为 DCISIM 系统的结构光模式编号; O_{cs} 为压缩成像通道的图像采集操作。宽场成像通道采集的图像则可以用样品荧光分布与显微系统点扩散函数卷积表示:

$$R_{wf}(x, y) = D(x, y) * H(x, y) = O_{wf} D(x, y), \quad (6)$$

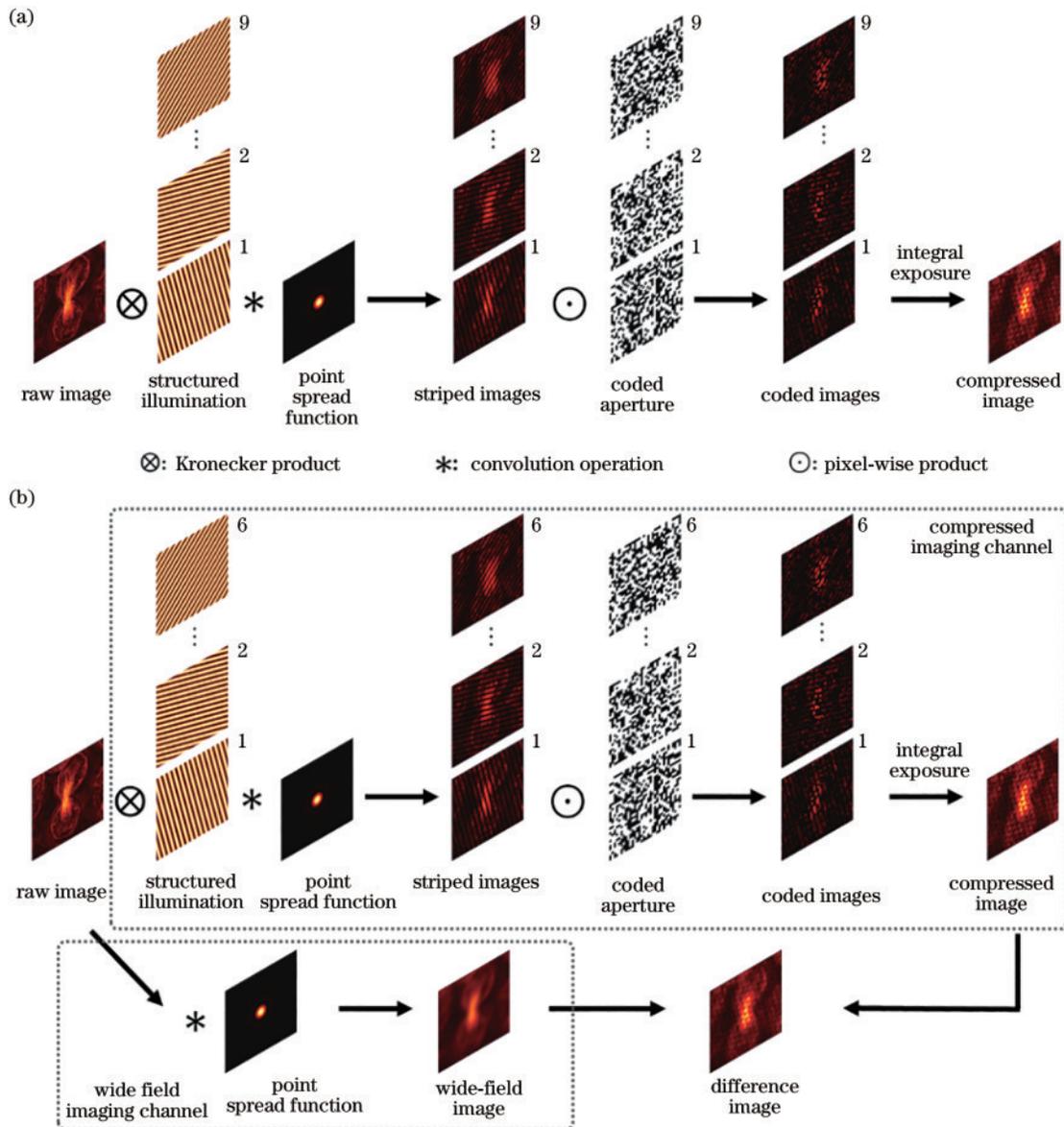


图 1 CISIM 和 DCISIM 的图像采集模型。(a)CISIM;(b)DCISIM
Fig. 1 Image acquisition models of CISIM and DCISIM. (a) CISIM; (b) DCISIM

式中： O_{WF} 为宽场成像通道的图像采集操作。用 O_{DCISIM} 表示 DCISIM 系统整体的图像采集操作，则 DCISIM 的差分图像为压缩成像通道和宽场成像通道采集的图像之差：

$$\begin{aligned} \mathbf{R}_{DCISIM}(x, y) &= \mathbf{R}_{CS}(x, y) - \\ &\frac{1}{2} \mathbf{R}_{WF}(x, y) = O_{DCISIM} \mathbf{D}(x, y)。 \end{aligned} \quad (7)$$

压缩图像包含原始图像中的低频成分和结构光调制搬运的高频成分，而宽场图像仅包含衍射受限的低频成分。DCISIM 利用压缩图像与宽场图像的差分，能在一定程度上减小低频成分的占比，增大高频成分的占比。虽然差分图像中高频噪声占比也会相应增大，但利用重构算法中的降噪器能有效地抑制高频噪声。为直观展示 DCISIM 采集的差分图像在保留高频成分方面的优势，将 1 张人脐静脉内皮细胞丝状肌动

蛋白荧光图像作为原始图像^[22]，模拟结构光照明调制、空间衍射受限以及编码压缩的过程，分别获得相应的 CISIM 压缩图像和 DCISIM 差分图像，并对其空间频谱分布进行对比。模拟中采用的荧光波长为 550 nm，物镜的数值孔径 (NA) 为 1.5，像素尺寸为 30 nm。原始图像、宽场图像、CISIM 压缩图像和 DCISIM 差分图像，以及各自对应的空间频谱分布如图 2 所示，其中图 2(h) 中的圆圈表示相对于图 2(g) 存在的较强的调制频谱。从图 2 中可以明显地看出，DCISIM 差分图像中的高频成分的占比明显大于 CISIM 压缩图像。由于不同相移结构照明分布的叠加抵消，CISIM 压缩图像中的高频成分占比显著减小。而 DCISIM 利用两张相移结构光照明的图像叠加，并与宽场图像进行差分，减小了低频成分的占比，增大了高频成分的占比，为超分辨图像的高质量重构提供了数据基础。

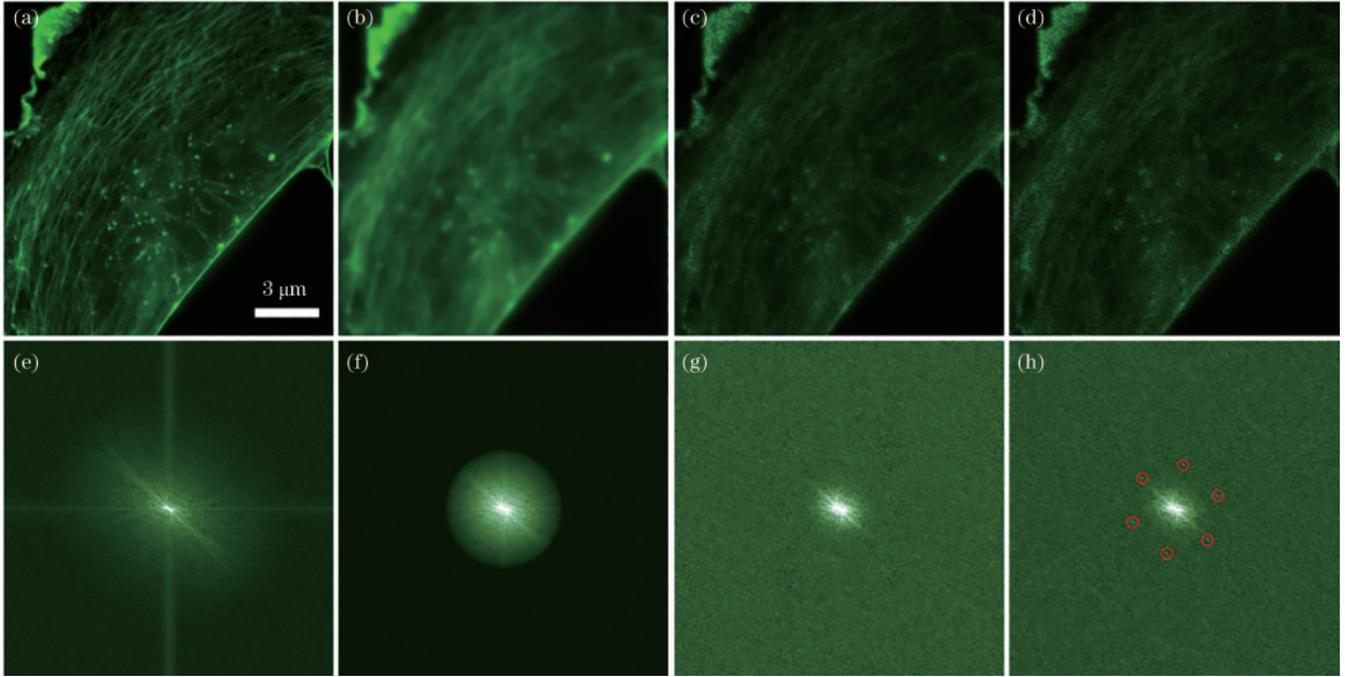


图 2 图像频谱对比。(a)原始图像；(b)宽场图像；(c)CISIM 采集的压缩图像；(d)DCISIM 的差分图像；(e)~(h)与(a)~(d)对应的空间频谱

Fig. 2 The comparison of spatial spectra of the images. (a) Origin image; (b) wide field image; (c) compressed image by CISIM; (d) differential image by DCISIM; (e)-(h) corresponding spatial frequency spectra of (a)-(d)

2.2 DCISIM 的图像重构

从 DCISIM 采集得到的差分图像中重构出原始的超分辨图像是一个欠定问题，可以将其转化为一个优化问题后再进行求解：

$$\mathbf{D} = \arg \min_{\mathbf{D}} \left\| O_{DCISIM} \mathbf{D} - \mathbf{R}_{DCISIM} \right\|_2^2 + \alpha \left\| \Phi \mathbf{D} \right\|_0, \quad (8)$$

式中： α 为正则化因子； Φ 为稀疏变换操作； $\|\cdot\|_2$ 为 L2 范数； $\|\cdot\|_0$ 为 L0 范数。式(8)中第一项为保真项，用来衡量求解结果与对应测量结果的偏差，第二项为正则项，利用原始图像满足的稀疏先验对求解过程进行约束。

采用 ADMM 的迭代框架^[23]求解式(8)。引入辅

助变量 $\bar{\mathbf{V}}$ 将式(8)中的优化求解问题分解为两个子问题，并通过交替迭代的方式进行求解：

$$\begin{aligned} \mathbf{D}_{(m+1)} &= \arg \min_{\mathbf{D}} \frac{1}{2} \left\| O_{DCISIM} \mathbf{D} - \mathbf{R}_{DCISIM} \right\|_2^2 + \\ &\frac{\rho}{2} (\mathbf{D} - \mathbf{V}_m + \boldsymbol{\lambda}_m)^2, \end{aligned} \quad (9)$$

$$\mathbf{V}_{m+1} = \arg \min_{\mathbf{V}} \alpha \left\| \Phi \mathbf{V} \right\|_0 + \frac{\rho}{2} (\mathbf{D}_{m+1} - \mathbf{V}_m + \boldsymbol{\lambda}_m)^2, \quad (10)$$

$$\boldsymbol{\lambda}_{m+1} = \boldsymbol{\lambda}_m + \rho (\mathbf{D}_{m+1} - \mathbf{V}_{m+1}), \quad (11)$$

式中： ρ 为增广拉格朗日正则项的正则因子； $\boldsymbol{\lambda}$ 为增广

拉格朗日乘子; m 为 ADMM 迭代框架的交替迭代次数。式(9)是一个最小二乘问题,将式(10)视为一个图像降噪问题,可以利用现有的图像降噪器进行求解,这里采用全变分降噪器^[24]。对于最小二乘问题的求解,常规算法需要使用测量矩阵的伪逆矩阵,但是 DCISIM 的测量过程较复杂,其伪逆矩阵的推导较困难。因此,采用基于 DIP 原理的非训练神经网络来进行图像重构^[25-26]。将非训练神经网络与 ADMM 结合从而规避逆矩阵的推导问题。这种算法与传统算法最大的不同是,其迭代优化的对象不是待求解的目标,而是神经网络中的网络参数,即将目标图像的求解问题转化为生成目标图像网络参数的求解问题。构建一个基于 U-Net 结构^[27]的神经网络 G_θ 用于从采集到的差分图像中重构出原始图像,其中 θ 为该网络的网络参

数,将差分图像 $\mathbf{R}_{\text{DCISIM}}$ 作为网络的输入。式(9)~(11)中的求解问题可转化为网络参数的迭代优化问题:

$$\theta_{m+1} = \arg \min_{\theta} \frac{1}{2} \left\| O_{\text{DCISIM}} G_{\theta}(\mathbf{R}_{\text{DCISIM}}) - \mathbf{R}_{\text{DCISIM}} \right\|_2^2 + \frac{\rho}{2} \left[G_{\theta}(\mathbf{R}_{\text{DCISIM}}) - \mathbf{V}_m + \boldsymbol{\lambda}_m \right]^2, \quad (12)$$

$$\mathbf{V}_{m+1} = \arg \min_{\mathbf{V}} \alpha \left\| \Phi \mathbf{V} \right\|_0 + \frac{\rho}{2} \left[G_{\theta_{m+1}}(\mathbf{R}_{\text{DCISIM}}) - \mathbf{V}_m + \boldsymbol{\lambda}_m \right]^2, \quad (13)$$

$$\boldsymbol{\lambda}_{m+1} = \boldsymbol{\lambda}_m + \rho \left[G_{\theta_{m+1}}(\mathbf{R}_{\text{DCISIM}}) - \mathbf{V}_{m+1} \right]. \quad (14)$$

利用随机梯度下降法对上述子问题进行迭代求解,即可获得满足优化条件的网络参数 θ 并获得目标超分辨率图像 $G_{\theta}(\mathbf{R}_{\text{DCISIM}})$, 重构算法的框架如图 3 所示。

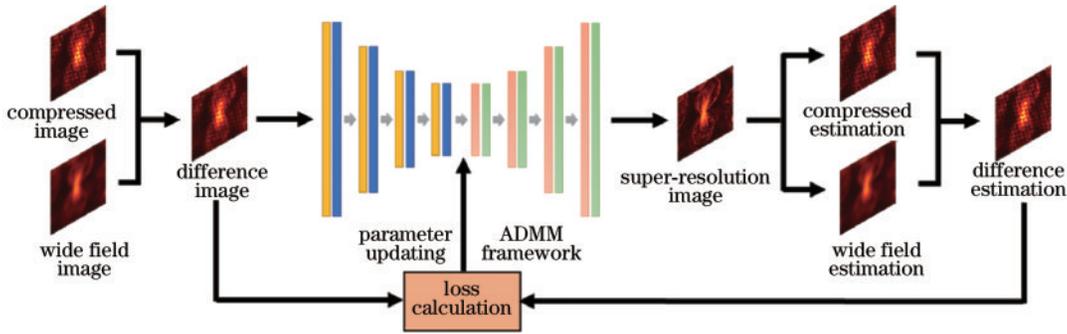


图 3 DCISIM 图像重构算法框架

Fig. 3 Framework of the image reconstruction algorithm for DCISIM

3 分析与讨论

3.1 生物图像的仿真重构

为进一步验证 DCISIM 在超分辨率成像效果上的优势,分别选取胚胎大鼠海马神经元微管结合蛋白^[28]、COS-7 细胞微管^[29]和 Swiss 3T3 细胞 Trio 蛋白^[30]这三种生物结构的荧光图像作为原始数据,分别按照 CISIM 和 DCISIM 的图像采集模型生成相应的测量图像,并利用相应的重构算法进行图像重构。模拟中采用的荧光波长为 550 nm,物镜的 NA 为 1.5,像素尺寸为 30 nm。重构程序的运行环境为 Python 3.7+PyTorch 1.8,在配置 Intel i9-10920X、RAM 192 G、GPU RTX3090-24 G 的计算服务器上运行。这些生物结构的原始图像、宽场图像、CISIM 重构图像以及 DCISIM 重构图像如图 4 所示。为更清晰地对比重构结果,选择图像中的方框标记区域进行放大并将其作为插图,并提取实线标记位置的强度分布进行作图,如图 4(b) 所示。从图 4 中可以直观地看出,CISIM 和 DCISIM 均能获得较好的超分辨率成像效果,能够区分出宽场图像中无法分辨的结构。相较于 CISIM,DCISIM 的重构结果与原始图像更加接近,且实线标记位置的强度分布也与原始图像的一致性更高,说明其重构效果优于 CISIM。

为定量地比较不同成像方式重构效果的优劣,采用两种图像质量评价方法对重构图像进行分析:峰值信噪比(PSNR)与结构相似度(SSIM)。PSNR 广泛用于判断重构图像的质量,其值越高则重构图像失真越小。SSIM 则从重构图像相比于原图像的亮度、对比度与整体结构出发,对图像质量进行评价,计算结果为 0~1,数值越高代表重构质量越好。表 1 记录了 3 组生物结构图像重构结果的图像质量评价指标。相较于 CISIM,DCISIM 重构图像的平均 PSNR 增大了 3.3 dB,平均 SSIM 增大了 0.0461,说明 DCISIM 能有效提升重构图像的质量。

为验证 DCISIM 在实际实验系统中对成像质量的提升,基于 BioSR 数据库^[31]中的 SIM 实验数据进一步开展仿真重构,选取 COS-7 细胞微管与内质网的 SIM 实验图像,利用 6 帧结构光照明图片进行编码压缩获得 DCISIM 压缩通道图像,利用 9 帧结构光照明图片的叠加获得 DCISIM 宽场图像。重构结果如图 5 所示,DCISIM 和 CISIM 均能获得较好的超分辨率成像效果。但 DCISIM 对细节的分辨能力优于 CISIM,这是由于 DCISIM 通过差分放大方式增大了高频信息的能量占比,在处理图像细节方面比 CISIM 更有优势。这与理论推导中 DCISIM 能高效地利用高频信号重构目标待测场景图像细节的结论吻合。另外从图 5 中可以

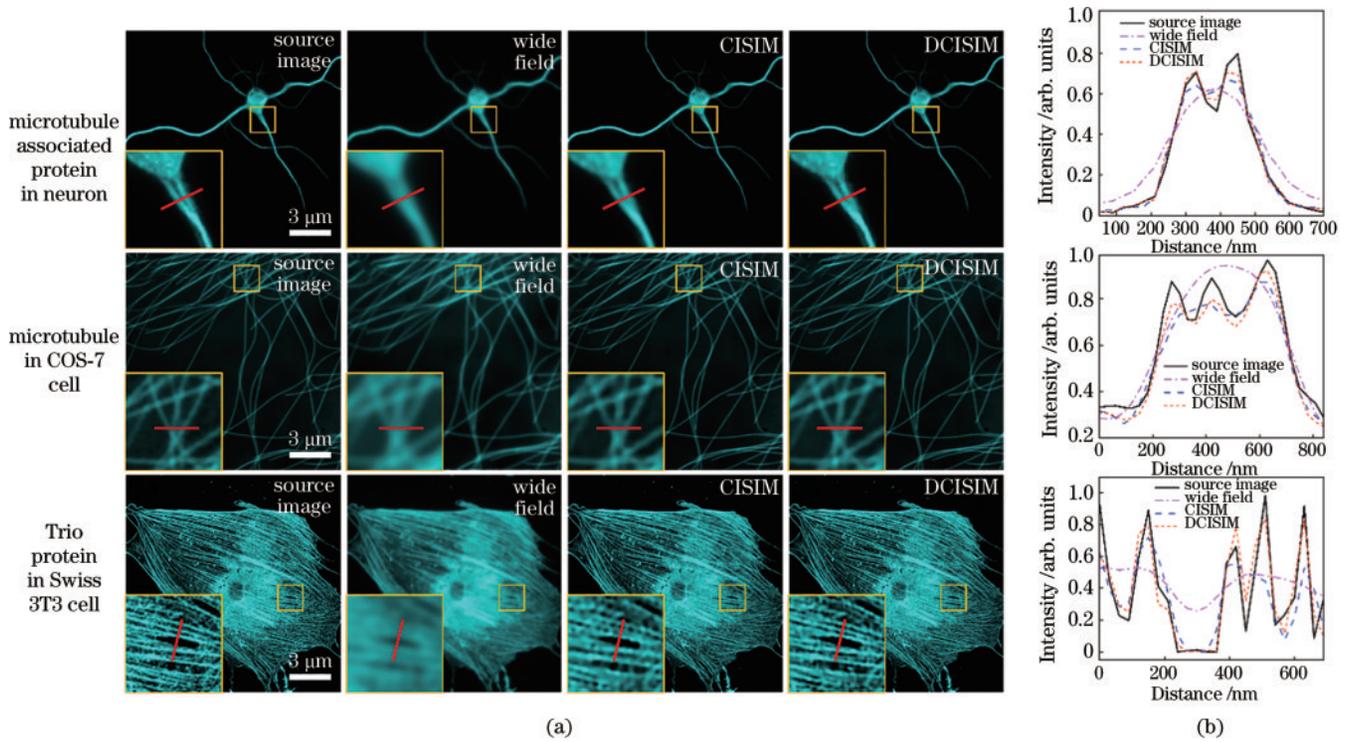


图 4 不同生物结构的 CISIM 与 DCISIM 重构结果对比。(a) 重构图像对比; (b) 不同图像的强度分布

Fig. 4 Comparison of CISIM and DCISIM reconstruction results for several biological structures. (a) Comparison of reconstruction images; (b) intensity distribution of different images

表 1 三组图像重构结果的图像质量评价指标

Table 1 Image quality evaluation indicators of three set reconstruction results

Indicator	Structure	Wide field	CISIM	DCISIM
PSNR /dB	Microtubule associated protein in neuron	27.73	37.63	41.39
	Microtubule in COS-7 cell	24.43	39.78	43.33
	Trio protein in Swiss 3T3 cell	15.51	17.97	20.56
SSIM	Microtubule associated protein in neuron	0.9227	0.9863	0.9939
	Microtubule in COS-7 cell	0.8803	0.9926	0.9935
	Trio protein in Swiss 3T3 cell	0.4778	0.7168	0.8466

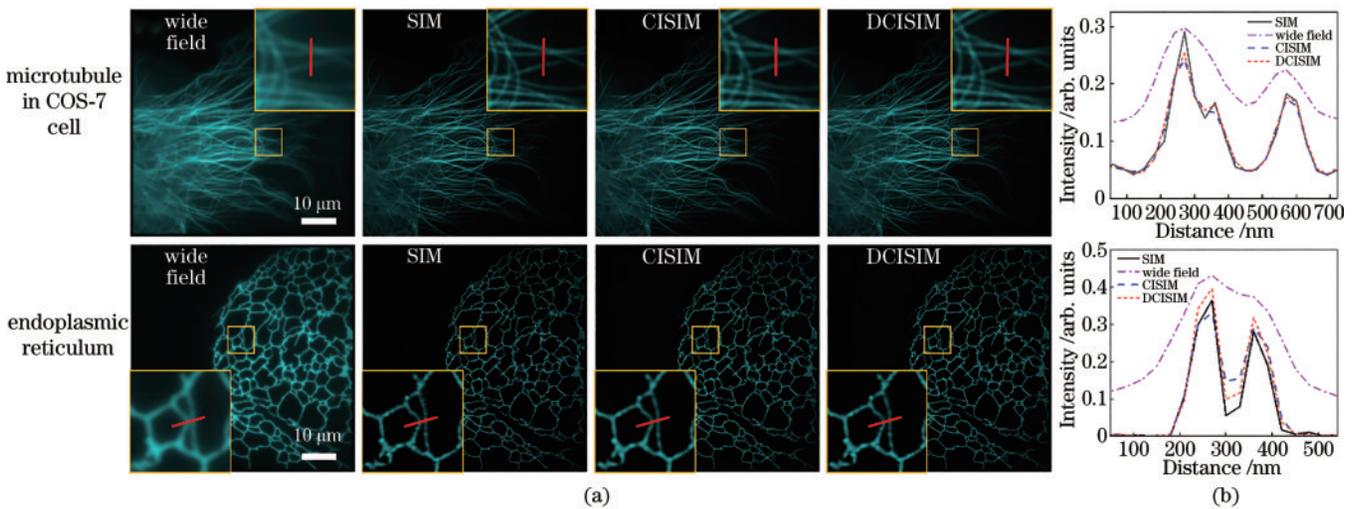


图 5 基于 SIM 实验数据的 CISIM 与 DCISIM 重构结果对比。(a) 重构图像对比; (b) 不同图像的强度分布

Fig. 5 Comparison of CISIM and DCISIM reconstruction results based on SIM experimental data. (a) Comparison of reconstruction images; (b) intensity distribution of different images

看出, DCISIM 重构结果略逊于 SIM, 这是因为 DCISIM 采用了额外的编码压缩操作, 采样过程中不可避免地存在一些信息损失。

3.2 DCISIM 抗噪性能测试

对于实验上的图像采集而言, 噪声是不可避免的。成像技术对噪声的敏感程度决定了其在实际实验应用中的效果。为测试 DCISIM 的图像重构过程对噪声的抵抗能力, 分别模拟添加不同程度高斯白噪声的 DCISIM 图像的重构过程。使用程序生成 1 张包含多根宽度为 30 nm 的曲线的图像, 并将其与半高宽为 60 nm 的点扩散函数进行卷积, 将获得的图作为原始待测图像。采用与 3.1 小节同样的参数模拟结构光照明、衍射受限和编码压缩的过程, 获得 DCISIM 的差分图像。分别在图像中添加均值为 0, 噪声强度 σ 为 0、0.01、0.02 和 0.03 的高斯白噪声, 测试不同噪声强度对重构效果的影响。重构的结果如

图 6 所示, 原始图像和宽场图像用于对重构结果进行对比。为更直观地进行比较, 对方框标记区域的图像进行放大并将其作为插图, 提取实线标记位置的强度分布, 如图 6(b) 所示, 计算不同噪声条件下 DCISIM 重构图像的 PSNR 和 SSIM, 如图 6(c) 所示。从图 6 中可以看出, 在设定的噪声强度下, DCISIM 均能获得较好的超分辨重构效果, 但随着噪声强度的不断增加, DCISIM 重构图像质量逐渐降低。当噪声强度达到 0.03 时, DCISIM 恢复的图像出现轻微的伪影, 但仍优于宽场图像。随着噪声强度的增加, DCISIM 重构过程中的计算误差也在增加, 一方面导致伪影的产生, 另一方面对系统的分辨率有一定的影响。DCISIM 抗噪性能测试结果表明, 在较低的噪声强度下, DCISIM 能获得较好的超分辨成像效果, 在实验条件下需要保持采集图像的信噪比, 以保证 DCISIM 的超分辨成像性能。

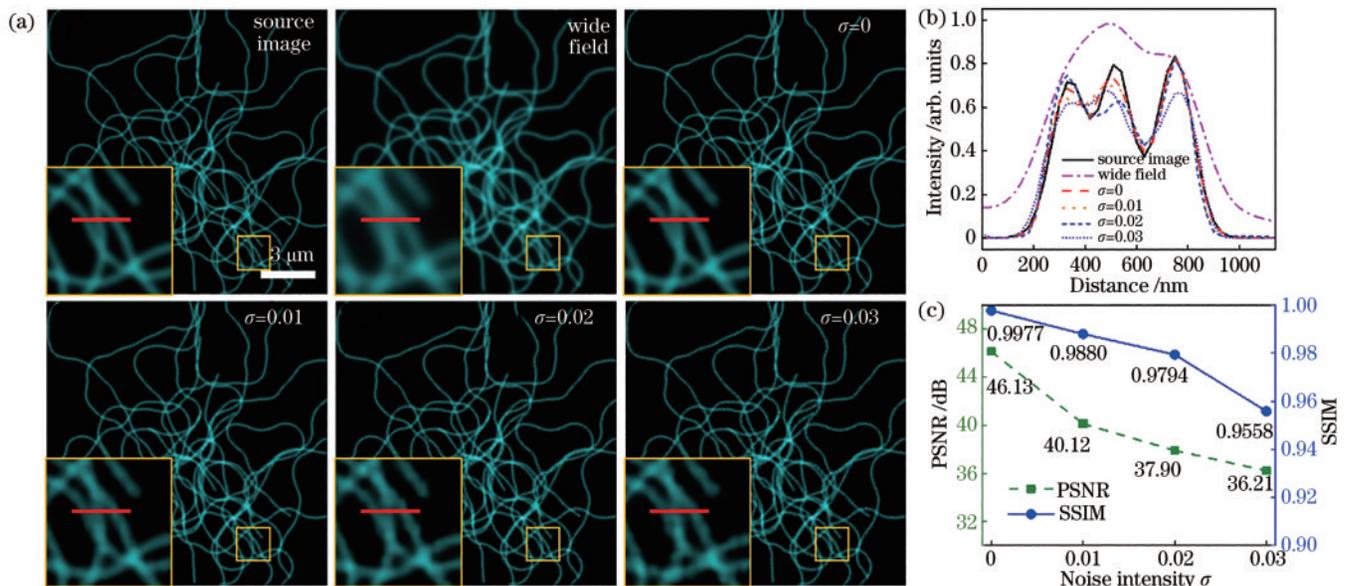


图 6 不同噪声强度下 DCISIM 图像重构质量对比。(a) 重构图像对比; (b) 不同图像的强度分布; (c) 重构图像的 PSNR 和 SSIM 随噪声强度的变化

Fig. 6 Comparison of image reconstruction quality for DCISIM under different noise intensities. (a) Comparison of reconstruction images; (b) intensity distribution of different images; (h) variation in PSNR and SSIM with noise intensity of reconstruction images

4 结 论

提出一种 DCISIM 方案, 采用结构光照明压缩成像和宽场成像双通道图像差分采集方式, 结合基于 DIP 的图像重构算法, 实现高质量的高速超分辨显微成像。相较于 CISIM, DCISIM 能利用 2 个通道采样收集的信号进行差分放大, 从而在差分信号中增大高频信号的能量占比, 提升重构图像的精度与细节分辨能力。对 3 种生物结构荧光图像的模拟成像与图像重构结果验证了 DCISIM 相对于 CISIM 的成像质量提升。抗噪性能测试结果表明, DCISIM 能在图像噪声强度较低的情况下提供较好的超分辨成像效果。宽场成像通道的引入使 DCISIM 系统更复杂, 在实验上的

实现还需要解决 2 个成像通道之间的图像配准等问题。DCISIM 兼具高成像速度和超分辨成像能力的特点, 有望应用于诸多高速精细过程动力学的观测, 例如细胞器相互作用^[32]、神经元放电^[33]、细胞器的光致损伤^[34]等, 为揭示这些精细动态过程的潜在机理提供重要工具。下一步将针对 DCISIM 的硬件搭建及重构算法的优化展开工作, 实现 DCISIM 的成像应用。

参 考 文 献

- [1] Schermelleh L, Heintzmann R, Leonhardt H. A guide to super-resolution fluorescence microscopy[J]. The Journal of Cell Biology, 2010, 190(2): 165-175.
- [2] Chojnacki J, Eggeling C. Super-resolution fluorescence

- microscopy studies of human immunodeficiency virus[J]. *Retrovirology*, 2018, 15(1): 41.
- [3] Heintzmann R, Huser T. Super-resolution structured illumination microscopy[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117(23): 13890-13908.
- [4] Gustafsson M G L. Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy[J]. *Journal of Microscopy*, 2000, 198(2): 82-87.
- [5] 马旺, 千佳, 王思颖, 等. 基于 DMD 调制的结构光照明超分辨和光切片显微技术研究进展(特邀)[J]. *激光与光电子学进展*, 2024, 61(6): 0618001.
Ma W, Qian J, Wang S Y, et al. Recent advances in super-resolution and optical sectioning of digital-micromirror device-based structured-illumination microscopy (invited)[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2024, 61(6): 0618001.
- [6] 吴寅, 梁永, 张洁, 等. 荧光原位杂交扩增探针的结构光照明超分辨成像与计数[J]. *激光与光电子学进展*, 2024, 61(4): 0411009.
Wu Y, Liang Y, Zhang J, et al. Imaging and enumeration of fluorescence *in situ* hybridization amplification probe using structured-light illumination super-resolution microscopy[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2024, 61(4): 0411009.
- [7] 雷云泽, 郜鹏, 刘星, 等. 稀疏结构光照明三维层析显微技术[J]. *激光与光电子学进展*, 2023, 60(8): 0811016.
Lei Y Z, Gao P, Liu X, et al. 3D optical sectioning microscopy with sparse structured illumination[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2023, 60(8): 0811016.
- [8] Li D, Shao L, Chen B C, et al. Extended-resolution structured illumination imaging of endocytic and cytoskeletal dynamics[J]. *Science*, 2015, 349(6251): eaab3500.
- [9] Huang X S, Fan J C, Li L J, et al. Fast, long-term, super-resolution imaging with Hessian structured illumination microscopy[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(5): 451-459.
- [10] Chen Q X, Shao X T, Hao M G, et al. Quantitative analysis of interactive behavior of mitochondria and lysosomes using structured illumination microscopy[J]. *Biomaterials*, 2020, 250: 120059.
- [11] Sandmeyer A, Lachetta M, Sandmeyer H, et al. Cost-effective live cell structured illumination microscopy with video-rate imaging[J]. *ACS Photonics*, 2021, 8(6): 1639-1648.
- [12] Weigel A V, Chang C L, Shtengel G, et al. ER-to-Golgi protein delivery through an interwoven, tubular network extending from ER[J]. *Cell*, 2021, 184(9): 2412-2429.
- [13] Markwirth A, Lachetta M, Mönkemöller V, et al. Video-rate multi-color structured illumination microscopy with simultaneous real-time reconstruction[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4315.
- [14] Ströhl F, Kaminski C F. Speed limits of structured illumination microscopy[J]. *Optics Letters*, 2017, 42(13): 2511-2514.
- [15] Orieux F, Sepulveda E, Loriette V, et al. Bayesian estimation for optimized structured illumination microscopy[J]. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2012, 21(2): 601-614.
- [16] Lal A, Shan C Y, Zhao K, et al. A frequency domain SIM reconstruction algorithm using reduced number of images[J]. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2018, 27(9): 4555-4570.
- [17] Dong S Y, Liao J, Guo K, et al. Resolution doubling with a reduced number of image acquisitions[J]. *Biomedical Optics Express*, 2015, 6(8): 2946-2952.
- [18] He Y L, Yao Y H, Qi D L, et al. High-speed super-resolution imaging with compressive imaging-based structured illumination microscopy[J]. *Optics Express*, 2022, 30(9): 14287-14299.
- [19] Huang Z Q, Yao Y H, He Y L, et al. Faster structured illumination microscopy using complementary encoding-based compressive imaging[J]. *Photonics Research*, 2024, 12(4): 740-748.
- [20] Lal A, Shan C Y, Xi P. Structured illumination microscopy image reconstruction algorithm[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2016, 22(4): 6803414.
- [21] Baraniuk R G, Cevher V, Duarte M F, et al. Model-based compressive sensing[J]. *IEEE Transactions on Information Theory*, 2010, 56(4): 1982-2001.
- [22] Pasapera A M, Waterman C M. CIL: 7440, Homo sapiens, primary cell line cell, endothelial cell. CIL. Dataset[EB/OL]. [2024-02-05]. <https://doi.org/doi:10.7295/W9CIL7440>.
- [23] Boyd S, Parikh N, Chu E, et al. Distributed optimization and statistical learning via the alternating direction method of multipliers[J]. *Foundations and Trends® in Machine Learning*, 2010, 3(1): 1-122.
- [24] Chambolle A. An algorithm for total variation minimization and applications[J]. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 2004, 20(1): 89-97.
- [25] Lempitsky V, Vedaldi A, Ulyanov D. Deep image prior [C]//2018 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, June 18-23, 2018, Salt Lake City, UT, USA. New York: IEEE Press, 2018: 9446-9454.
- [26] Sun Z D, Latorre F, Sanchez T, et al. A plug-and-play deep image prior[C]//ICASSP 2021-2021 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP), June 6-11, 2021, Toronto, ON, Canada. New York: IEEE Press, 2021: 8103-8107.
- [27] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-Net: convolutional networks for biomedical image segmentation [M]//Navab N, Hornegger J, Wells W M, et al. Medical image computing and computer-assisted intervention-MICCAI 2015. Lecture notes in computer science. Cham: Springer, 2015, 9351: 234-241.
- [28] Withers G. CIL: 36182, Rattus, multipolar neuron. CIL. Dataset[EB/OL]. [2024-02-05]. <https://doi.org/doi:10.7295/W9CIL36182>.
- [29] Qiao C, Li D, Guo Y T, et al. Evaluation and development of deep neural networks for image super-resolution in optical microscopy[J]. *Nature Methods*,

- 2021, 18(2): 194-202.
- [30] Lee C S, Choi C K, Shin E Y, et al. Myosin II directly binds and inhibits Dbl family guanine nucleotide exchange factors: a possible link to Rho family GTPases[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2010, 190(4): 663-674.
- [31] Qiao C, Li D. BioSR: a biological image dataset for super-resolution microscopy[EB/OL]. [2024-02-05]. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.13264793.v9>.
- [32] Guo Y T, Li D, Zhang S W, et al. Visualizing intracellular organelle and cytoskeletal interactions at nanoscale resolution on millisecond timescales[J]. *Cell*, 2018, 175(5): 1430-1442.
- [33] Turcotte R, Liang Y J, Tanimoto M, et al. Dynamic super-resolution structured illumination imaging in the living brain[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(19): 9586-9591.
- [34] Wäldchen S, Lehmann J, Klein T, et al. Light-induced cell damage in live-cell super-resolution microscopy[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 15348.