

深度学习驱动的结构光照明超分辨显微技术(特邀)

黄馨怡¹, 姚云华^{1**}, 成泊璋¹, 何宇¹, 郭梦迪¹, 曹骏彤¹, 齐大龙¹, 沈乐成¹, 邓联忠¹,
马红梅¹, 孙真荣¹, 张诗按^{1,2,3*}

¹华东师范大学物理与电子科学学院精密光谱科学与技术高等研究院, 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, 上海 200241

摘要 超分辨显微技术突破了传统光学显微镜的光学衍射限制,为实现亚细胞器尺度的高分辨率光学成像提供了重要工具,显著推动了细胞生物学、神经科学和病理学等前沿学科的研究进展。在多种超分辨显微技术中,结构光照明超分辨显微(SIM)技术凭借其快速成像能力、低光毒性以及良好的荧光探针兼容性等显著优势,成为活细胞精细结构动态观测研究的重要技术手段。随着人工智能技术的迅猛发展,深度学习为SIM技术注入了新的创新动力。基于深度学习的SIM技术在降低光毒性、提升成像速度、增强分辨能力以及拓展功能等方面取得了突破性进展,极大地提升了成像性能,扩展了应用范围。本文系统综述了近年来深度学习驱动的SIM技术的主要研究进展,并对该领域的未来发展方向进行前瞻性展望。

关键词 结构光照明显微; 超分辨显微; 深度学习; 图像重构

中图分类号 O436

文献标志码 A

DOI: 10.3788/AOSOL250486

Structured Illumination Super-Resolution Microscopy Driven by Deep Learning (Invited)

Huang Xinyi¹, Yao Yunhua^{1**}, Cheng Bozhang¹, He Yu¹, Guo Mengdi¹, Cao Juntong¹,
Qi Dalong¹, Shen Yuecheng¹, Deng Lianzhong¹, Ma Hongmei¹, Sun Zhenrong¹,
Zhang Shian^{1,2,3*}

¹State Key Laboratory of Precision Spectroscopy, School of Physics and Electronic Science, 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, Shanghai 200241, China

Abstract Super-resolution microscopy has broken through the diffraction limit of conventional optical microscopy, providing a crucial tool for high-resolution optical imaging at the sub-cellular scale. This breakthrough has significantly advanced research in frontier disciplines such as cell biology, neuroscience, and pathology. Among various super-resolution techniques, structured illumination super-resolution microscopy (SIM) technology has emerged as a vital method for studying the dynamics of fine structures in live cells, owing to its rapid imaging capability, low phototoxicity, and excellent compatibility with fluorescent probes. With the rapid development of artificial intelligence, deep learning has injected new momentum into SIM technology. Deep learning-enhanced SIM has achieved groundbreaking progress in reducing phototoxicity, increasing imaging speed, improving resolution, and expanding functional applications, greatly broadening its scope. This review systematically summarizes recent advances in deep learning-driven SIM technology and provides a perspective on future developments in the field.

Key words structured illumination microscopy; super-resolution microscopy; deep learning; image reconstruction

收稿日期: 2025-06-28; 修回日期: 2025-07-15; 录用日期: 2025-07-16; 网络首发日期: 2025-07-17

基金项目: 国家自然科学基金(12325408, 12274129, 12374274, 12274139, 62175066, 92150102, 62475070, 12474404, 12471368)、上海市教育委员会(2024AI01007)、中央高校基础研究基金

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

1 引言

光学显微镜为人类开启了微观世界的大门,改变了人类对生命本质的认知。作为探索生命微观结构的重要工具,光学显微镜经历了数百年的持续革新,其成像性能不断提升,推动了细胞结构、医学诊断、病理分析等学科的发展^[1-3]。然而,光学衍射效应的存在为光学显微镜的空间分辨能力施加了一道枷锁,在显微系统有限孔径的条件下,光学显微镜的空间分辨率仅能达到200 nm左右,这一分辨极限严重制约了人们对于精细生物结构及动态过程的观察研究,例如细胞器内部结构及动力学机制^[4-6]。与之相对,电子显微镜技术利用电子作为成像媒介,具有高达亚纳米的空间分辨率^[7-9],远超光学显微镜的分辨极限,但其较低的成像速度、高昂的设备成本以及繁琐的制样流程,限制了其在生物医学研究中的广泛应用,光学显微镜仍然是生物医学研究的首选工具。面对光学显微镜的光学衍射极限,超分辨显微技术应运而生,将光学分辨率推至纳米量级,推动了生命科学领域的进一步发展。最具代表性的3种超分辨显微技术包括:利用荧光分子的非线性效应缩小成像系统有效点扩散函数的受激辐射损耗显微(STED)技术^[10-12]、利用单分子定位累积替代强度分布测量的单分子定位显微(SMLM)技术^[13-15],以及利用频谱搬移与恢复的结构光照明超分辨显微(SIM)技术^[16-18]。

在众多超分辨显微技术中,SIM凭借其高成像速度、低光毒性以及广泛的荧光探针适用性等优势,在生物成像领域获得了广泛应用,尤其是在活细胞成像观测方面,例如线粒体与内质网相互作用^[19]、细胞骨架动态演化^[20]以及神经元动力学^[21]等。SIM利用结构光场照明生物样品实现空间频谱的调制,将样品的高频信息搬运至显微镜的可探测频率域内,并通过采集多帧包含不同方向与相移图案的照明图像,恢复出传统显微镜无法探测的高频信息,实现超越衍射极限的分辨率。SIM技术虽然实现了成功应用,但仍然面临一些技术挑战:为了获得高质量的超分辨率图像,在图像采集过程中需要足够长的曝光时间,容易产生光漂白和光毒性,限制了对于激发光高度敏感的生物结构动力学观测;获取一幅超分辨率图像需采集多帧(通常为9帧或15帧)不同结构光照明的图像,这就限制了整体超分辨成像的速度,使其难以捕捉高速动态事件;重建算法复杂耗时,且对噪声、参数误差、样本引起的像差及散射敏感,易产生伪影,影响结果的准确性与可信度;线性照明的SIM仅能将分辨率提升2倍,难以分辨更加精细的结构。上述因素共同限制了SIM的进一步应用^[22-23]。

近年来,作为人工智能领域的革新性技术,深度学习在自然语言处理^[24-25]、计算机视觉^[26-27]、自动驾驶^[28-29]、医疗诊断^[30-31]等领域取得了巨大的成功。深度

学习能从海量数据中学习复杂的特征表示与非线性关系,为成像领域长期存在的复杂逆问题(如图像重建^[32-33]、图像去噪^[34-35]、图像增强^[36-37])提供了新的解决方案,为新一代成像技术的发展奠定了基础。深度学习的引入为SIM突破性能瓶颈、克服技术挑战提供了新的机会。例如:在减少拍摄帧数或降低激发光强的条件下,重建出高质量的超分辨率图像,从而提升成像速度、减轻光毒性、延长活细胞观测时间;克服复杂样本引起的像差和散射,实现像差校正、伪影抑制的超分辨成像;突破传统线性SIM分辨率极限、拓展探测信息维度以及开展智能分析等^[38-40]。

本文首先简要介绍结构光照明超分辨显微成像原理;然后,从性能提升的角度分别介绍深度学习驱动的结构光照明超分辨显微技术的研究进展,包括降低光学毒性、提高成像速度、提升分辨能力以及拓展功能特性4个方面,如图1所示;最后,阐述该显微技术的未来发展趋势与应用前景。

2 结构光照明超分辨显微原理

由于光的衍射效应以及光学系统的有限通光孔径,光学显微镜的分辨率受到限制。这一限制在空间域上表现为点光源经过显微系统后成为具有一定尺寸的光斑(点扩散函数),无法从采集图像中区分间距小于分辨极限的两个点光源;在频域中则表现为成像系统接收的频谱范围有限[光学传递函数(OTF)],无法收集高于频谱边界的高频信息。SIM技术的原理如图2所示。SIM技术利用结构光照明的方式对待测目标的空间信息进行调制,将待测目标超出频谱边界的高频信息部分搬运至低频位置,使其得以被显微系统收集,随后利用图像重构将高频信息恢复到原频谱位置,实现空间频谱范围拓展,也就是分辨率提升^[41]。该技术的核心是结构光照明与计算重构。结构光与样品的高频特征相互作用产生低频的叠栅条纹。此现象的本质是将样品无法直接探测的高频信息与照明频率信息混合,将其编码至显微镜可探测的低频范围内。通过采集不同方向与相位的多帧结构光照明原始图像,并进行计算解码,即可提取这些高频信息,获得超越衍射极限的细节。从频域角度来看,光学成像系统可视为一个低通滤波器,其特性由OTF $H(\mathbf{k})$ 描述。OTF的截止频率 f_c 决定了分辨率极限;任何空间频率 $|\mathbf{k}| > f_c$ 的样品信息在常规宽场成像中会被OTF滤除。SIM的核心思想是扩展系统的有效OTF范围。在频域,空间卷积对应频谱乘积。假设样品频谱为 $S(\mathbf{k})$,对于均匀照明[照明频谱 $I_{\text{ex}}(\mathbf{k})$ 仅在 $|\mathbf{k}|=0$ 处有解],探测图像的频谱 $D(\mathbf{k}) \approx S(\mathbf{k}) \cdot H(\mathbf{k})$ 。由于 $H(\mathbf{k})$ 在 $|\mathbf{k}| > f_c$ 时趋近于0,高频信息在此过程中丢失。而对于正弦分布的结构光,其强度可表示为

$$I_{\text{ex}}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} [1 + m \cdot \cos(2\pi \mathbf{k}_0 \cdot \mathbf{r} + \varphi)] \quad (1)$$

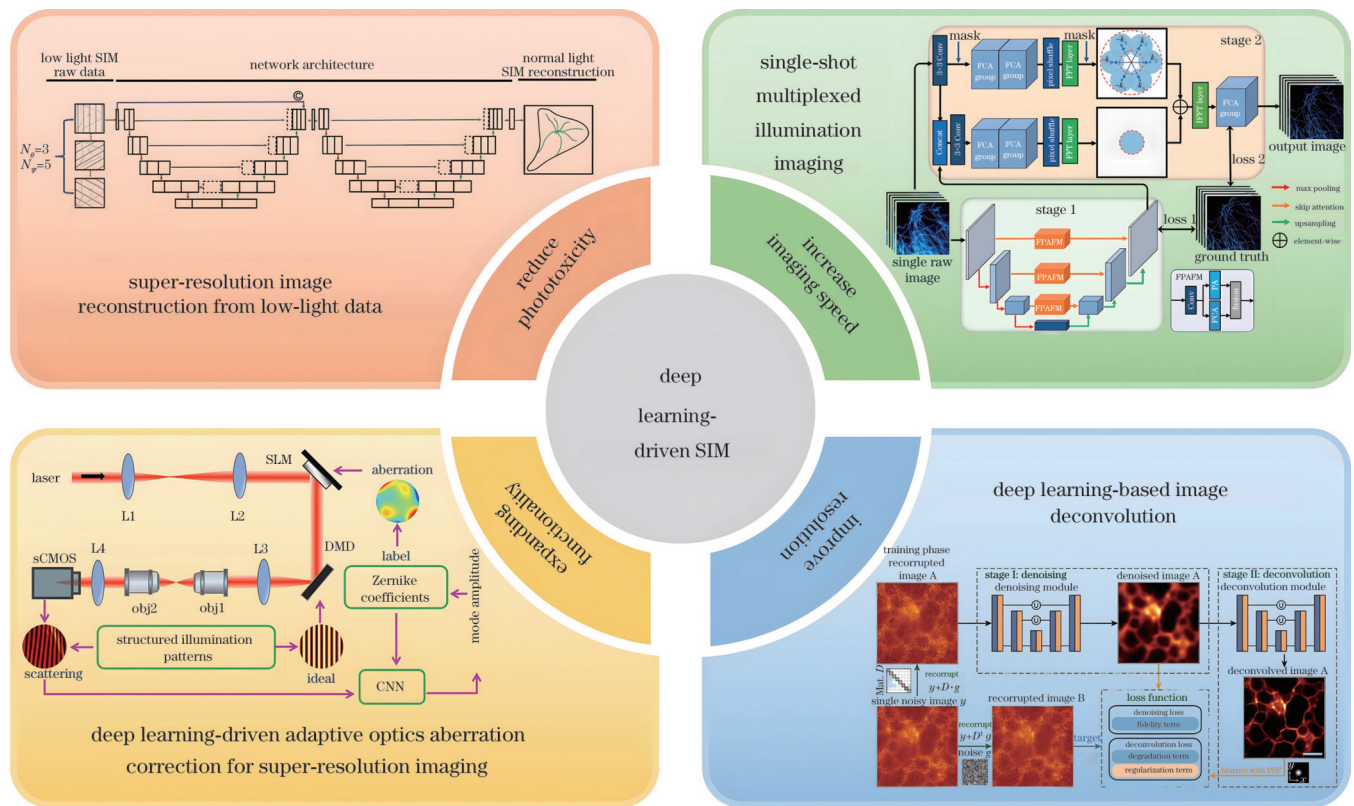


图1 深度学习驱动的SIM技术研究进展

Fig. 1 Development of SIM technology driven by deep learning

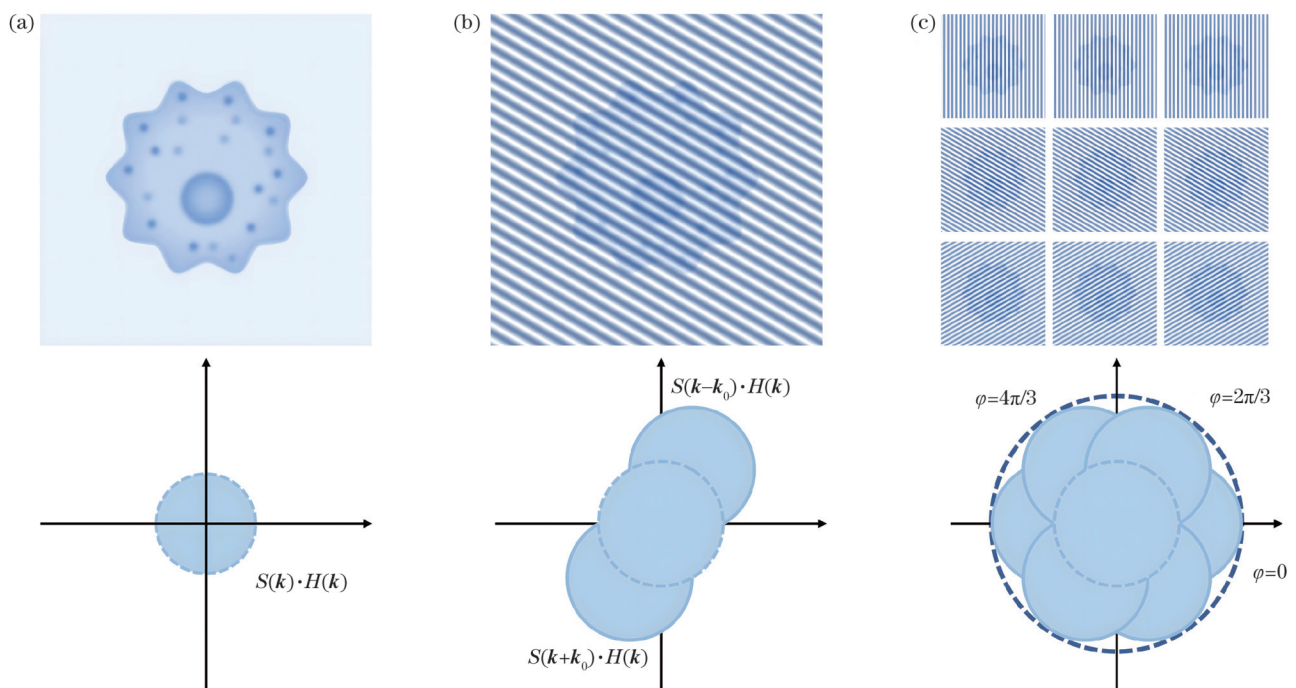


图2 SIM技术原理。(a)宽场照明下的样品图像及对应频谱;(b)结构光照明下的样品图像及频谱搬移示意图;(c)在不同方向、不同相移的结构光照明下样品图像及重构获得的超分辨率图像的频谱

Fig. 2 Principle of SIM technology. (a) Image of a sample illuminated by wide-field mode and its spatial spectra; (b) image of a sample illuminated by a structured pattern and the spatial spectra shifting; (c) images of a sample illuminated by structured patterns with various orientations and phase shifts, and the spatial spectra of the reconstructed super-resolution image

式中: $\mathbf{k}_0$ 为照明空间频率矢量; m 为调制深度; φ 为初始相位。其频谱 $I_{\text{ex}}(\mathbf{k})$ 包含零频分量及位于 $\pm \mathbf{k}_0$ 的两个

旁瓣。根据卷积定理,照明光频谱与样品荧光频谱相乘后,在 OTF 滤波前,样品频谱 $S(\mathbf{k})$ 与 $I_{\text{ex}}(\mathbf{k})$ 卷积,所

得信息包含3个部分:中心分量 $S(\mathbf{k})$ 及两个旁瓣分量 $S(\mathbf{k} \pm \mathbf{k}_0)$ 。所采集的图像频谱 $D(\mathbf{k})$ (特定方向和相位)近似为

$$D_{\mathbf{k}_0, \varphi}(\mathbf{k}) \approx \left[S(\mathbf{k}) + \left(\frac{m}{2} \right) \cdot e^{i\varphi} \cdot S(\mathbf{k} - \mathbf{k}_0) + \left(\frac{m}{2} \right) \cdot e^{-i\varphi} \cdot S(\mathbf{k} + \mathbf{k}_0) \right] \cdot H(\mathbf{k}) \quad (2)$$

式(2)揭示了SIM实现超分辨成像的原理:旁瓣分量 $S(\mathbf{k} \pm \mathbf{k}_0)$ 将位于 $[f_c, f_c + |\mathbf{k}_0|]$ 区间内的高频信息平移至OTF可通过的区域 $(|\mathbf{k}| < f_c)$ 。虽然三部分频谱线性叠加,但是通过采集同一方向($\mathbf{k}_0$ 固定)下3帧相位 φ 分别为 $0, 2\pi/3, 4\pi/3$ 的图像,可构建线性方程组,精确分离这3个携带不同频率信息的通道: $S(\mathbf{k}) \cdot H(\mathbf{k})$ 、 $S(\mathbf{k} - \mathbf{k}_0) \cdot H(\mathbf{k})$ 和 $S(\mathbf{k} + \mathbf{k}_0) \cdot H(\mathbf{k})$ 。需要指出的是,本文中的结构光照明显微技术是指条纹结构光照明模式的超分辨显微技术,不包含多焦点结构光照明、散斑结构光照明等广义的结构光照明显微技术。

传统的SIM重构过程通常包含以下步骤:从采集图像中估计照明结构光的调制频率与初始相位;从采集的多步相移结构光照明图像中分离基频信息和频谱搬移的旁瓣信息;将分离出的旁瓣信息移回其原始频率位置,并与中心带融合;通过去卷积如广义维纳滤波校正OTF衰减,提升高频对比度;使用切趾函数平滑频谱边缘以抑制伪影;经傅里叶逆变换生成最终的超分辨率图像^[42-43]。单一方向的结构光照明仅能提升单一方向的分辨率,要想实现各向同性分辨率增强,必须采集至少3个不同方向的结构光照明图像。

随着实验条件日益严苛以及性能需求不断提升,传统SIM方法面临着严峻的挑战。例如,线粒体等细胞器的结构对光照极为敏感,为了捕捉其真实的动态过程,必须将激发光强度降低到较低水平,以避免光损伤。然而,这样做会导致采集图像的信噪比降低,所估计的结构光参数在SIM重构过程中出现较大误差,进而产生严重的图像伪影。此外,高速超分辨观测对SIM的图像采集速度提出了更高的要求。传统的SIM方法需要至少9帧结构光照明图像才能重构出1帧超分辨率图像,这一问题限制了SIM整体的超分辨成像速度。对于激发光和荧光共用物镜的线性结构光照明显微系统,照明频率接近系统的截止频率,最多只能实现约2倍的空间分辨率提升。要想获得更为精细的结构细节,必须突破SIM固有的空间分辨率限制。此外,厚样本或折射率不匹配等因素引起的复杂光学像差,也严重影响了SIM的成像效果。人们对于SIM成像维度的拓展以及超分辨结构信息的分析识别需求也不断增长。深度学习的出现为解决传统SIM技术面临的诸多问题提供了理想的技术工具。

3 深度学习驱动的结构光照明超分辨显微

3.1 降低光毒性

SIM图像重构过程中需要对结构光的频谱和相位进行估计,以便后续的频谱恢复,因此SIM对采集结构光照明图像的信噪比有较高的要求。信噪比降低使得结构光参数估计误差增大,会导致重构的超分辨率图像出现严重伪影,甚至无法实现超分辨效果。为了获得足够高的信噪比,在实验中一般会采用提高激发光功率或者延长曝光时间的方法。激发光剂量的增加不仅会加速荧光分子漂白,导致信号衰减,还会产生光毒性效应,对细胞造成不可逆的损伤。如何最大限度地降低激发光剂量,并从低信噪比图像中恢复出高质量的超分辨率图像,成为SIM技术发展亟待解决的关键问题。本节主要介绍利用深度学习在低信噪比条件下实现高质量SIM成像的方法,包括基于级联U-Net的scU-Net、基于傅里叶通道注意力的DFCAN、基于物理模型的TDV-SIM以及基于像素重排的自监督去噪PRS-SIM。

针对极低光照条件下的SIM重建,2020年Jin等^[44]创新性地设计了scU-Net架构,实现了在光子数降低2个数量级的极端弱光条件下的SIM重建。U-Net作为一种在生物医学图像处理领域广泛应用的卷积神经网络,凭借对称的编码器-解码器结构以及关键的跳跃连接,能够有效融合图像的浅层细节信息和深层语义信息,非常适用于图像恢复^[45-46]。scU-Net巧妙地将两个U-Net串联起来,其中一个U-Net负责从极低信噪比的15帧原始SIM数据中恢复出相对干净的信号以及被噪声严重干扰的照明模式信息,其输出随后被送入另一个预先训练好的、用于标准SIM重建的U-Net,以实现高质量重建。scU-Net的结构如图3(a)所示,在完成解耦信号恢复与超分辨重建两个任务后,每个子网络都专注于一个定义更清晰的优化目标,从而避免误差累积和模型难以收敛的问题。2021年,Qiao等^[47]提出一种基于傅里叶通道注意力(FCA)的深度学习网络DFCAN,以更直接地解决SIM重建问题。SIM重建的本质是在频域中实现频谱的搬移,而传统的卷积神经网络在空间域进行卷积,无法直接处理频率关系。DFCAN则引入傅里叶通道注意力模块,该模块使网络能够在傅里叶空间中对不同卷积通道所代表的特征图进行自适应加权,从而更高效地学习被噪声淹没的有利于超分辨重构的高频信息,其原理如图3(b)所示。实验证明,DFCAN能够在低信噪比和强背景条件下稳健地恢复高质量的超分辨率图像,其效果在多种生物结构上优于传统方法及其他基于深度学习的重建方法。

纯数据驱动方法虽然能在极低光照条件下有效地抑制噪声,但是其端到端的处理方式使得重建过程被

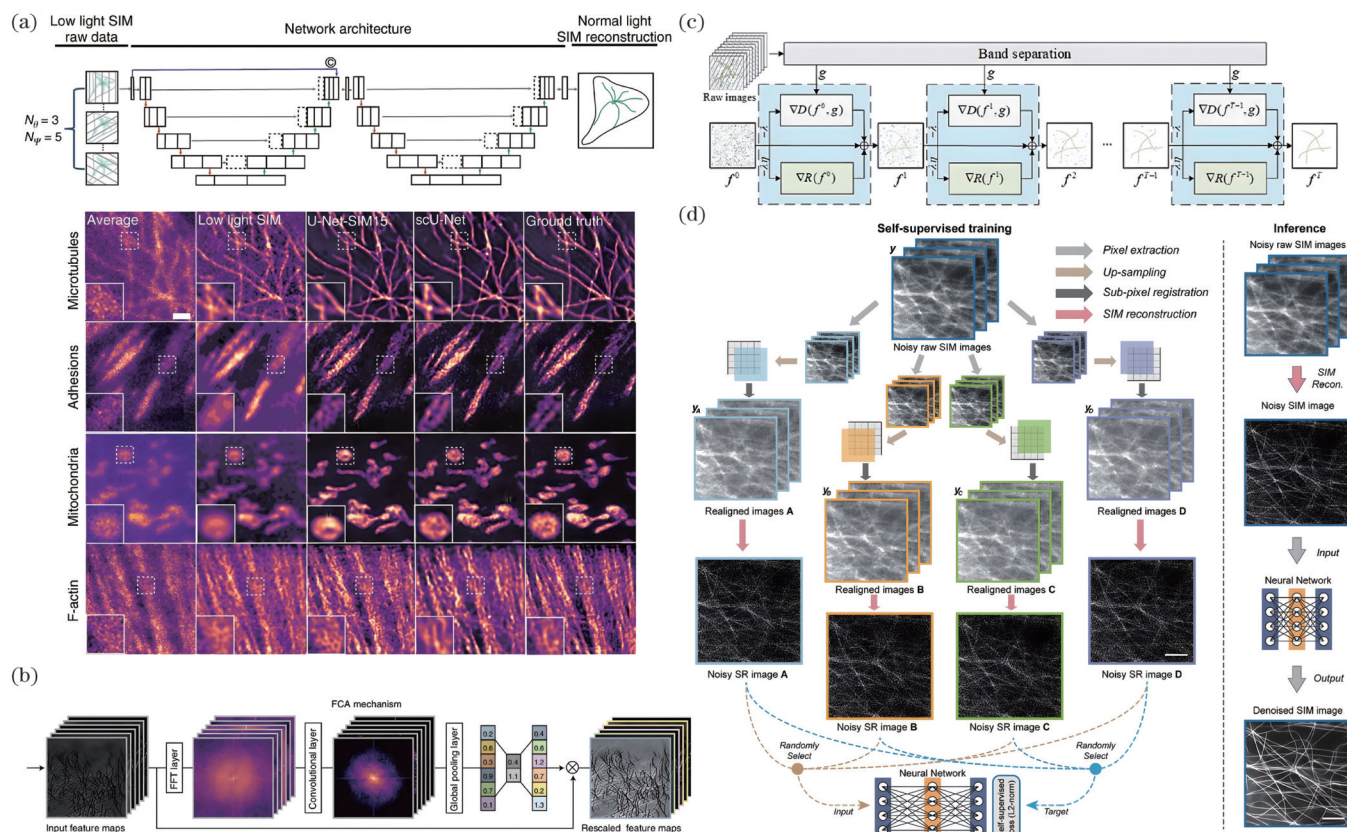


图3 基于深度学习降低SIM光毒性的方法。(a)利用两个级联U-Net分别进行图像去噪和超分辨率重建的scU-Net架构及其在极低光照条件下的成像结果^[44];(b)DFCAN原理图^[47],通过傅里叶通道注意力机制从频域优化高频信息;(c)TDV-SIM原理图^[48],结合物理模型和全变分深度正则化抑制图像伪影;(d)PRS-SIM原理图^[49],通过像素重排策略,从一组原始数据中生成四组空间上存在亚像素位移但包含相同场景信息的图像进行自监督去噪重构

Fig. 3 Phototoxicity reduction methods of SIM based on deep learning. (a) scU-Net architecture and its imaging results under extremely low light conditions^[44], two cascaded U-Nets are utilized for denoising and super-resolution reconstruction, respectively; (b) schematic diagram of DFCAN^[47], Fourier channel attention mechanism is utilized to optimize the high-frequency information in the frequency domain; (c) schematic diagram of TDV-SIM^[48], the image artifacts are suppressed by combining the physical model with total deep variation regularization; (d) schematic diagram of PRS-SIM^[49], through the pixel rearrangement strategy, four groups of images with sub-pixel displacements in space but containing the same scene information are generated from a set of original data for self-supervised denoising and reconstruction

视为一个黑箱映射,直接从原始数据生成最终图像,缺乏可解释性和泛化性。2023年,Wang等^[48]提出了TDV-SIM,通过将物理模型与深度学习结合,物理模型确保结果遵循基本的物理规律,TDV网络则通过大量学习高质量图像,获得对自然图像或特定生物结构的先验知识,通过TDV正则化项惩罚不符合逻辑的解,引导图像朝着伪影更少的方向重建,其网络结构如图3(c)所示。实验证明:相比于物理模型方法Hessian-SIM,TDV-SIM在处理低信噪比原始图像时,能更有效地抑制背景噪声放大所带来的伪影;相比于纯深度学习方法如scU-Net、DFCAN,TDV-SIM能提升图像的保真度,是实现低光毒性、高保真度、长时程活细胞超分辨成像的理想方案。

scU-Net、DFCAN、TDV-SIM等基于监督学习的方法普遍面临一个关键的应用瓶颈:它们严重依赖于大量的、高质量的配对训练数据。这意味着在训练阶

段,必须同时拥有低光照条件下采集的原始图像,以及与之严格对应的在高光照条件下采集并重建得到的高质量超分辨率图像作为真值,而获取这样的完美配对数据集本身就是一项艰巨的任务。为了降低监督学习方法对配对真值数据的依赖性,2024年Chen等^[49]提出一种基于像素重排的自监督去噪框架PRS-SIM。PRS-SIM巧妙地利用了图像中相邻像素在空间上的局部相似性以及散粒噪声在不同像素间统计上的独立性。PRS-SIM仅需要一组在低光照条件下采集的噪声SIM原始图像,首先通过像素重排策略,从这一组原始数据中生成4组空间上存在亚像素位移但包含相同场景信息的伪原始图像。由于噪声具有随机性,这4组图像中的噪声在对应像素上是统计独立的。然后,使用传统的SIM重建算法分别处理这4组伪原始图像,得到4幅噪声水平相近但噪声模式不同的低质量超分辨率图像。最后,在训练神经网络时,从这4幅

图像中随机选取两幅,一幅作为网络输入,另一幅作为重建目标,其网络结构如图3(d)所示。由于输入图像和真实图像的信号内容相同,而噪声是统计独立的,网络在优化损失函数的过程中,会被迫学习到如何区分并去除噪声,同时保留和恢复真实的信号结构。实验结果表明,PRS-SIM能够在光子数比常规SIM低约20倍的条件下,重建出几乎无重建伪影、图像质量和分辨率都接近高光照条件的高保真超分辨率图像。此外,PRS-SIM框架具有模式兼容性,能够应用于包括TIRF-SIM^[50]、GI-SIM^[51]、3D-SIM^[52]、LLS-SIM^[53]甚至非线性SIM^[54]在内的多种SIM平台,同时支持迁移训练,提高了其在面对不同样本和实验条件时的性能。

3.2 提升成像速度

SIM的重建需要采集多帧原始图像,并且重建算法复杂、重建过程耗时,虽然相比于基于点扫描的STED和依赖大量图像累积的SMLM,SIM在活细胞观测中具有显著的优势,但其成像速度仍难以满足高速的生物动力学过程。深度学习能够利用原始图像之间的信息冗余来减少采集图像的数量,并利用其强大的非线性映射能力和并行化计算来提高SIM的成像速度。本小节主要介绍利用深度学习减少SIM重构所需图像数量以及缩短重构运算时间的方法,包括基于三帧图像的U-Net-SIM3和CycleGAN,基于单帧图像的FLSN、SF-SIM和eDL-cSIM,基于压缩采集方案的CECI-SIM,以及基于并行计算加速的ML-SIM和VDL-SIM。

首先,深度学习能够实现从远少于常规数量的原始SIM图像中重建出高质量的超分辨率图像,从而间接地提升超分辨成像速度。2020年,Jin等^[44]开发的U-Net-SIM3仅使用3个方向的结构光照明图像作为输入,在由3帧输入数据到对应15帧数据的过程中,在传统算法重建得到的高质量图像组成的数据集上进行监督学习,U-Net-SIM3能够从欠采样的数据中推断出缺失的相位信息和高频成分,并重建出接近于使用完整15帧重建结果的超分辨率图像。U-Net-SIM3所需的原始图像采集数量减少到原来的1/5,直接带来了5倍的成像速度提升,其网络结构如图4(a)所示。Ling等^[55]开发的CycleGAN仅用单一方向的三步相移结构光照明图像作为输入,重建出具有各向同性分辨率提升的图像。CycleGAN由两对生成器和判别器构成,生成器通过对大量生物样本进行学习,根据单一方向的完整频谱信息推断出其他方向的频谱信息;判别器则负责判断生成器生成的图像是不是具有各向同性的超分辨率图像,CycleGAN利用循环一致性损失确保图像在单方向和各个方向之间往返转换后仍能保持其原始结果,驱动生成器不断优化,进而实现图像高质量的各向同性重建。此外,研究者们进一步将超分辨成像速度提升至相机帧率。Cheng等^[56]开发出快速轻量化网络FLSN,该网络利用深度学习抑制0级和±1

级频谱混叠的叠栅条纹伪影,自适应地学习不同频带的权重,从而增强有效的高频信号,实现了基于单帧结构光照明图像的超分辨率重构。2024年,Wu等^[57]提出了SF-SIM方法,先将六边形晶格照明图案照射在样品上进行单次曝光,使得单次拍摄就能获得各个方向的超分辨信息,再利用一个傅里叶增强-频移阶梯网络(FESTN),通过结合先验知识在空间和傅里叶域协同重建出超分辨率图像,其原理如图4(b)所示。2025年,Qian等^[58]提出eDL-cSIM方法,同样先采用单次曝光下的复合结构光照明,利用六光束干涉生成复合照明图案,再通过深度学习网络实现了单帧超分辨成像,其原理如图4(c)所示。

其次,压缩感知理论与深度学习的结合为进一步提升SIM成像速度提供了新的思路。例如,Huang等^[59-60]提出的互补编码压缩成像SIM(CECI-SIM),利用数字微镜器件对结构光照明图像进行互补编码压缩,将顺序采集的9帧原始SIM图像压缩到3帧测量图像中,在物理层面实现了3倍的采集速度提升,其原理如图4(d)所示。随后,在计算重建阶段,他们采用一种基于交替方向乘子法(ADMM)的迭代算法PnP-ADMM进行图像重构。这个框架将传统基于物理模型的重建部分与一个可以灵活替换的“去噪先验”模块分离。他们利用深度学习预训练了一个高效的图像去噪网络,并将其作为PnP-ADMM框架中的去噪模块。这样,重建过程既利用了物理模型的精确性,又发挥了深度学习在去除噪声和恢复复杂结构方面的强大能力。实验结果表明,CECI-SIM能够在实现3倍硬件采集加速的同时,保持与传统9帧采集SIM相当的图像质量。值得一提的是,基于压缩成像的SIM技术还能够压缩采集多帧相邻时刻的结构光照明图像,结合基于深度学习的图像重构算法,有望获得超越相机帧率的超分辨成像速度^[61-63]。

最后,传统SIM重建算法的计算相对耗时。基于傅里叶域分析的迭代优化方法,如FairSIM和OpenSIM,单次重建的处理时间需要数十秒,这使得SIM的实时观测变得困难^[64-65]。2021年,Christensen等^[66]提出了ML-SIM方法,采用一种深度残差通道注意力网络的变体,能够在GPU上实现低于200 frame/ms的SIM图像重建速度,对应于5~6 frame/s的超分辨率图像输出速率;2024年,Ye等^[67]提出了VDL-SIM框架,利用一个轻量化的残差U-Net平衡了U-Net的多尺度特征捕获能力与残差网络的深度理解和训练效率,并将高效的神经网络模型与底层的C++硬件加速和精确的系统时序控制紧密结合,形成一套完整的端到端重建流程,实现了47 frame/s的视频帧率超分辨成像,其原理如图4(e)所示。

3.3 提升分辨率

传统的线性SIM能够将空间分辨率提升约2倍(横向分辨率为100~120 nm),但相较于其他超分辨

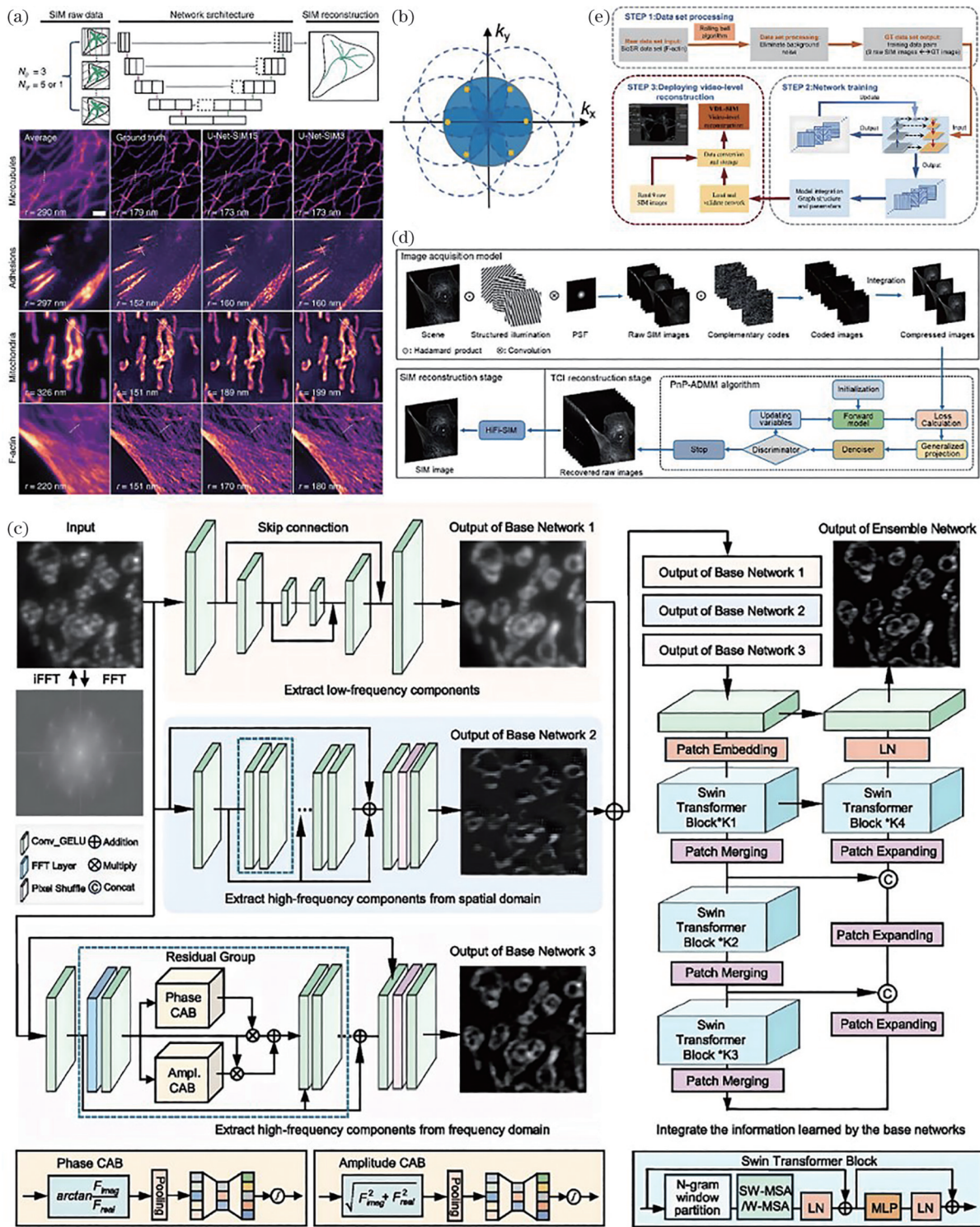


图4 基于深度学习的SIM成像速度提升方法。(a) U-Net-SIM3网络结构及成像效果^[44],通过配对数据训练,从3帧输入图像中推断出超分辨率信息;(b) 复合结构光照明频谱示意图^[57];(c) eDL-cSIM原理图^[58],利用复合结构光照明,在单次曝光中捕获多个方向频移的超分辨率信息,并利用集成深度学习网络进行超分辨率重建;(d) CECI-SIM原理图^[59-60],对多帧结构光照明图像进行压缩采集以降低采样帧数;(e) VDL-SIM原理图^[67],通过轻量化网络设计与硬件加速实现视频帧率的实时重建

Fig. 4 Imaging speed improvement of SIM based on deep learning. (a) Structure of U-Net-SIM3 and its imaging result^[44], and the super-resolution information is inferred from three input images by training with paired data; (b) schematic diagram of the spectrum of composite structured illumination^[57]; (c) principle of eDL-cSIM^[58], by using composite structured light illumination, super-resolution information with frequency shifts in multiple directions is captured in a single exposure, and super-resolution reconstruction is carried out using an ensemble deep learning network; (d) principle of CECI-SIM^[59-60], it reduces the number of acquired frames by compressing multi-frame structured light illumination images; (e) schematic diagram of VDL-SIM^[67], it achieves video-level real-time reconstruction by combining lightweight network design and hardware acceleration

显微技术,其分辨能力相对较低。非线性效应的引入,能够显著提升SIM的分辨率,但会带来更严重的光毒性并降低成像速度^[54,68]。为了在不改变硬件的前提下进一步分辨更精细的亚细胞结构,研究人员利用计算方法,特别是深度学习,来挖掘和推断线性SIM重建过程中丢失的高频空间信息。其核心思路是利用神经网络学习到的隐式或显式先验知识,通过高效抑制噪声和伪影实现高保真的去卷积,从而提高了SIM成像的有效分辨率。本小节主要介绍利用深度学习提升SIM成像分辨率的方法,包括利用匹配数据训练提升轴向分辨率的RCAN、基于深度图像先验提升纵向分辨率的DRE-SIM和基于零样本学习提升纵向分辨率的ZS-DeconvNet-SIM。

早期的探索证明了深度学习在计算层面提升SIM分辨率的潜力。例如,Boland等^[69]使用了一种改进的残差通道注意力网络RCAN,以2D-SIM采集数据为网络输入,以短波照明获取的高分辨共聚焦图像为训练目标,通过监督学习训练网络,其原理如图5(a)所示。结果显示,该方法在保持与传统SIM重建相当的横向分辨率的同时,实现了比传统SIM高一倍的轴向分辨率。该方法不仅解决了常规2D-SIM在轴向分辨率上相较于横向分辨率的显著不足,还避免了直接使用复杂的3D-SIM获得各向同性分辨率提升所带来的

系统成本和像差校正问题。

在超分辨显微成像中,人们更加关注横向的空间分辨率提升。监督学习方法在追求超越衍射极限分辨率时常常面临训练数据集构建难题,即难以通过实验手段获取更高分辨率的真值图像。为了克服这一问题,He等^[70]发展了一种基于物理模型驱动的自监督分辨率增强方法DRE-SIM。该方法无需预先训练,而是利用深度神经网络作为图像先验信息,对SIM重建图像进行优化,从而达到分辨率提升的效果。在DRE-SIM中,一个未经训练的U-Net直接处理常规SIM图像,其优化目标在于生成高分辨率图像,该图像经过一个模拟的SIM成像退化模型(即与SIM等效点扩散函数进行卷积)后,根据其原始输入的偏差更新网络参数,迭代收敛后网络即可输出分辨率提升的图像。网络自身的结构充当了隐性先验,引导输出趋向于符合自然图像的统计分布,最终实现了约1.4倍的分辨率提升。为了进一步解决真实实验环境中强背景噪声和低信噪比带来的伪影和失真问题,该团队将此方法发展为更稳健的ADMM-DRE-SIM框架^[71],其原理如图5(b)所示。该框架采用包含背景噪声估计的图像退化模型约束神经网络参数的迭代过程,以保持保真度和减少伪影。通过交替方向乘子法引入图像连续性先验,进一步提升图像重构质量。实验结果表明,

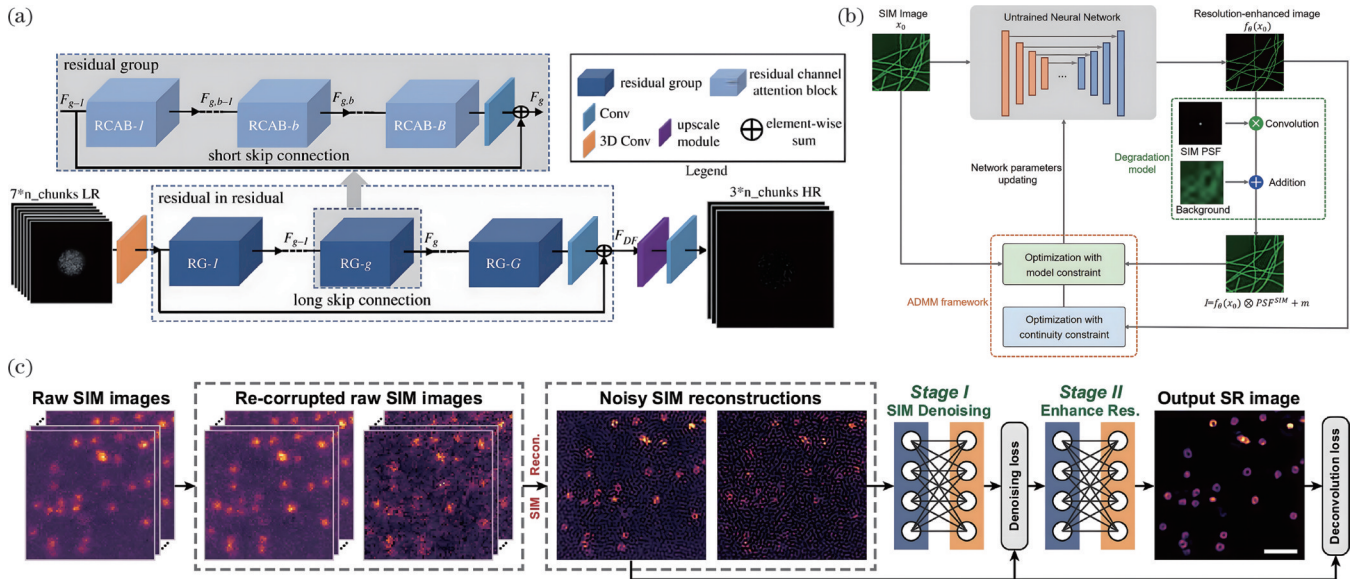


图 5 基于深度学习的SIM分辨率提升方法。(a) RCAN原理图^[69],利用SIM图像及相应的高分辨共聚焦图像训练残差网络,SIM轴向分辨率提升1倍;(b) ADMM-DRE-SIM原理图^[71],采用基于交替方向乘子法的无训练神经网络结合SIM系统的退化模型进行迭代优化,实现分辨率提升;(c) ZS-DeconvNet-SIM原理图^[72],通过对原始数据添加噪声获得两组噪声退化SIM图像,对它们进行SIM重构后,利用网络分步进行去噪和分辨率增强

Fig. 5 Resolution improvement methods of SIM based on deep learning. (a) Schematic diagram of the RCAN^[69], and the residual network is trained by SIM images and the corresponding high-resolution confocal images to double the axial resolution of SIM; (b) schematic diagram of ADMM-DRE-SIM^[71], and the resolution improvement is achieved through iterative optimization of the untrained neural network based on the alternating direction multiplier method combined with the degradation model of the SIM system; (c) schematic diagram of ZS-DeconvNet-SIM^[72], two groups of noise-degraded SIM images are obtained by adding noise to the original data, and after SIM reconstruction of them, denoising and resolution enhancement are carried out step by step using the network

ADMM-DRE-SIM在处理低信噪比的微管蛋白和肌动蛋白图像时,能够将分辨率从约140 nm优化至85 nm左右,最终实现了约1.6倍的分辨能力增强。

Qiao等^[72]提出了基于零样本学习的ZS-DeconvNet-SIM框架。该网络通过串联两个U-Net进行处理任务解耦,第一个网络通过图像退化策略获取两幅噪声退化SIM图像用于网络的无监督训练,以实现SIM图像去噪,而第二个网络根据无监督反卷积损失函数提升图像分辨率,其原理如图5(c)所示。实验结果表明,ZS-DeconvNet-SIM能够清晰地解析网格蛋白包被小窝的空心轮廓及致密细胞骨架等精细结构,这为进一步提升SIM系统的分辨能力以及将其应用范围扩展到精细生物过程的观测提供了工具。

3.4 拓展成像功能

SIM的核心优势在于其超分辨成像能力,但其潜力远不止于此。通过与先进的计算方法相结合,可以在SIM的空间超分辨成像基础上,进一步拓展其成像功能维度,例如实现自适应成像、高光谱成像和自动分类等。本小节主要介绍利用深度学习拓展SIM成像功能的工作,包括基于深度学习的自适应SIM成像、高光谱SIM成像以及基于SIM超分辨显微的形态分类。

3.4.1 自适应超分辨显微

深度学习也被应用于发展自适应结构光照明超分辨显微技术。发展这类技术的目的是赋予SIM系统智能感知和实时响应能力,以应对复杂生物样本带来的光学像差或动态变化,从而在复杂样品条件下依然能够获得最佳成像质量。光学像差,尤其是对厚样本成像时产生的像差,会导致照明图案畸变,严重影响SIM的重建质量和分辨率。传统的自适应光学(AO)系统通常依赖波前传感器或复杂的迭代优化算法,存在速度较慢及稳健性不足的问题。深度学习的应用为厚样本的超分辨成像提供了高效的工具。

2021年,Zheng等^[73]在空间光调制器(SLM)上主动加载大量已知像差(由Zernike多项式定义),并采集相应的畸变照明图像,从而构建了一个庞大的配对数据集。利用此数据集训练的卷积神经网络能够实现从畸变图案到像差系数的快速回归,在约10.1 ms内便可准确预测像差,相关指数高达0.9986。一旦像差被预测,其共轭相位便可实时施加到SLM上,从而高效校正波前,显著提升了在折射率失配等场景下的SIM成像质量,其原理如图6(a)所示。由Hu等^[74]发展的MLAO方法则构建了一种对于多种模态显微系统普适的自适应成像框架。MLAO利用一个基于物理模型设计的紧凑型神经网络,可从少量图像中快速、准确地推断波前畸变,其成功应用于3D-SIM系统并实现了对多色标记样品的高质量三维超分辨成像。

这些基于深度学习的自适应SIM成像方法,通过学习图像退化与潜在像差之间的复杂映射关系,实现

了比传统方法更快速、更稳健的自适应控制与校正。这对于在厚组织等强像差环境中实现稳健的超分辨成像至关重要。

3.4.2 高光谱超分辨成像

将光谱维度信息融入超分辨成像对于理解细胞内复杂的化学环境和分子相互作用至关重要。2025年,Huang等^[75]提出一种光谱压缩结构光照明显微技术(SC-SIM),巧妙地将光谱压缩感知成像与SIM相结合。在该方案中,首先将样品标记为多种荧光探针或具有环境敏感荧光特性的探针,利用结构光进行照明;随后,对样品的荧光图像在空间上进行随机编码,并在光谱上进行色散偏转;最后,在探测器上积分形成压缩后的图像。这一过程将多个光谱通道的图像信息进行压缩采集,其原理如图6(b)所示。他们设计了一种两步重建算法:第一步,利用压缩图像重建算法,例如包含深度学习去噪网络DRUNet的ADMM迭代算法,从压缩图像中恢复出不同光谱通道下的条纹图像;第二步,使用常规SIM重建算法,从恢复出的条纹图像中分别提取出不同光谱通道的超分辨率图像。仿真结果验证了SC-SIM的可行性,展示了在多达10个光谱通道的情况下,其依然能够获得与传统SIM质量相当的超分辨率图像。最关键的是,SC-SIM通过快照式的光谱信息采集,突破了传统光谱扫描的速度瓶颈,原则上可以在不损失SIM成像速度的前提下实现超分辨成像,为研究亚细胞结构的动态过程和复杂化学环境提供了新的技术途径。

3.4.3 基于超分辨显微的形态分类

SIM能够提供远超常规光学显微镜的结构细节分辨能力,这些高分辨率的形态特征信息为利用机器学习进行自动化、高通量的样本分类提供了坚实基础。

2018年,He等^[76]率先探索了将SIM结合机器学习用于细菌快速鉴定,其原理如图6(c)所示。他们首先使用SIM对3种模型细菌(大肠杆菌MG1655、耻垢分枝杆菌MC155、铜绿假单胞菌PAO1)进行成像,以获取高分辨率的形态图像;然后,通过图像分割提取单个细菌区域,并利用主成分分析提取其代数特征作为分类依据;最后,他们比较了3种经典机器学习分类器(支持向量机、K-近邻、随机森林)对这些特征的分类效果。结果显示,在优化参数后,3种分类器均能实现高达98%的细菌种类鉴定准确率。这项工作展示了SIM提供的高分辨率形态信息结合机器学习的自动特征提取与分类能力,为实现快速、低成本、高准确度的细菌鉴定提供了一种有前景的新途径,特别是在应对传统生化或测序方法耗时较长、成本较高的问题上。

2018年,Laine等^[77-78]将类似策略应用于病毒结构的分析与分类,开发了名为MiLeSIM的工作流程,其原理如图6(d)所示。他们使用全内反射结构光照明显微TIRF-SIM,对生物制药过程中产生的病毒[如新城疫病毒(NDV)和减活流感病毒(LAIV)]进行高通

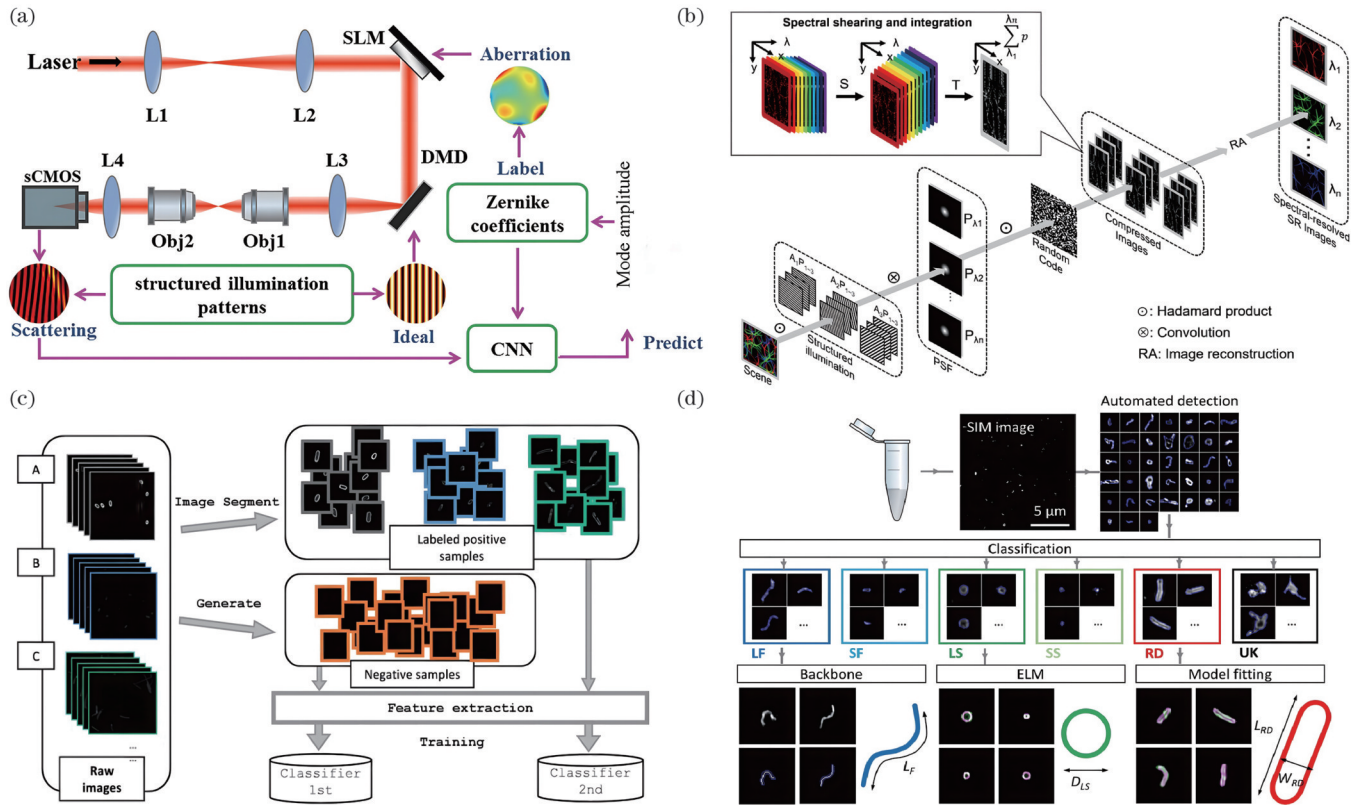


图6 基于深度学习的SIM功能拓展。(a)基于深度学习的自适应SIM原理图^[73],通过CNN实时预测并校正像差;(b)SC-SIM原理图^[75],对结构光照明图像进行空间编码、色散偏转后压缩采集;(c)基于SIM图像的机器学习细菌分类流程^[76];(d)基于TIRF-SIM图像的病毒自动分类流程^[77-78]

Fig. 6 Function extension of SIM based on deep learning. (a) Principle of adaptive SIM based on deep learning^[73], it enables real-time aberration prediction and correction via CNN; (b) schematic diagram of SC-SIM^[75], the structured light illumination images are spatially encoded, deflected by dispersion, and then compressed for acquisition; (c) workflow for machine learning-based classification of bacteria using SIM images^[76]; (d) workflow for automated classification of viruses using TIRF-SIM images^[77-78]

量成像,该方法每秒内可对约220个病毒颗粒进行成像。通过自动分割识别单个病毒颗粒后,他们提取了一系列形态学特征(包括基本形状特征、旋转和平移不变的Hu矩,以及利用预训练卷积神经网络AlexNet和加速稳健特征SURF提取的深度学习特征)作为预测因子,利用随机森林监督学习方法对这些特征进行训练,实现了对病毒异质群体(例如,区分长丝状、短丝状、大球状、小球状、杆状及未知结构)的自动分类,准确率达到约88.4%。该方法不仅能够量化不同形态病毒的比例,还能对特定类别(如杆状)进行模型拟合以获取精确的尺寸参数(长度、宽度)。更重要的是, MiLeSIM能够直接分析来自生产线的、未纯化的病毒样本,极大地简化了样品制备流程,为生物制药过程中病毒产品的实时质量控制和结构异质性研究提供了强大的工具。

SIM的高分辨成像能力为下游的结构分析提供了高质量的输入数据。深度学习的引入能够将SIM从一个单纯的成像工具转变为一个具有智能分析与分类功能的平台,显著提升其在微生物鉴定、病毒学研究及生物制药等领域的应用价值。通过将机器学习、压缩

感知、自适应光学等先进计算与智能方法深度融合入SIM技术,可以极大地拓展其应用范围。这不仅使SIM能够提供超高的空间分辨率,还能实现自动化高通量分析、获取多维度光谱信息、实时适应复杂成像环境,为生命科学和材料科学等领域的研究注入更为强大的活力。

4 总结与展望

本文系统介绍了深度学习驱动的结构光照明超分辨显微技术的研究进展,重点阐述了其在降低光毒性、提高成像速度、改善空间分辨率以及拓展功能等方面取得的突出进展。深度学习凭借其强大的非线性映射和特征学习能力,通过创新的网络架构设计、训练策略以及物理模型的结合,显著提升了结构光照明超分辨显微技术的成像性能,降低了图像采集的条件要求,并赋予其多功能探测能力。这些进展不仅提升了结构光照明超分辨显微技术在现有活细胞超分辨成像应用中的性能,更为其在更广泛的生物医学研究领域的应用开辟了新的可能。

尽管深度学习为超分辨成像带来了突破性进展,

但将这些赋能技术转化为广泛应用、性能稳定可靠的智能成像工具时仍面临诸多挑战。目前,深度学习-SIM模型在泛化能力方面仍显不足,面对训练数据之外的样本类型、成像条件或仪器平台的变化时,其性能显著下降,甚至产生误导性“幻觉”。此外,模型的“黑箱”特性限制了其在需要高置信度定量分析场景中的应用,其可解释性亟待加强。高质量、大规模、精确配准的训练数据集的获取依然是一个瓶颈,因此发展高效的无监督、自监督和少样本学习方法,以及高保真度的物理仿真数据生成策略至关重要。

展望未来,深度学习与SIM的深度融合将在以下几个方面展现巨大潜力,推动智能化SIM技术迈向新高度:发展具备在线学习与自适应优化能力的智能SIM系统,利用深度学习实时评估成像质量^[79]、预测像差或样本动态^[80],动态调整照明参数、优化重建算法参数^[81],甚至闭环控制自适应光学元件进行波前校正,实现从“离线处理”到“实时优化”的跨越,使SIM系统智能适应复杂多变的实验条件;探索深度学习驱动的SIM重建与下游图像智能分析任务的深度融合,构建端到端的智能分析流水线,直接从低质量原始数据中快速提取高精度定量生物信息;利用深度学习强大的信息融合能力,将SIM提供的高分辨率结构信息与其他成像模态提供的功能信息(如荧光寿命^[82]、单分子追踪^[83]、力学成像^[84]、电生理记录^[85]等)或非成像信息(如基因组学^[86]、蛋白质组学数据^[87])进行多维度、多尺度联合分析,通过深度学习模型挖掘不同模态信息间的复杂关联,实现超越单一模态能力的深度生物学机制探索。此外,提升模型的可解释性与不确定性量化能力、开发轻量化模型,以适应边缘计算和实时系统集成、探索物理模型与神经网络更深层次的融合等,也将是未来研究的重要方向^[88]。

总之,深度学习正以前所未有的力量重塑SIM技术,在揭示生命奥秘、推动精准医学发展的征程中扮演愈发重要的角色,将为基础生物学研究和未来临床应用带来深刻变革。

参 考 文 献

- [1] Pawley J. *Handbook of biological confocal microscopy* [M]. New York: Springer, 2006.
- [2] Lancaster C. A focus on the history of light microscopy for cell culture[J]. *Kaleidoscope*, 2014, 6(1): 24-47.
- [3] Mertz J. *Introduction to optical microscopy* [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2019.
- [4] Oheim M. *Advances and challenges in high-throughput microscopy for live-cell subcellular imaging* [J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2011, 6(12): 1299-1315.
- [5] Zhu Y, Akkaya K C, Ruta J, et al. *Cross-link assisted spatial proteomics to map sub-organelle proteomes and membrane protein topologies* [J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 3290.
- [6] Sheppard C J R. *The development of microscopy for super-resolution: confocal microscopy, and image scanning microscopy* [J]. *Applied Sciences*, 2021, 11(19): 8981.
- [7] Ruska E. *The development of the electron microscope and of electron microscopy* [J]. *Bioscience Reports*, 1987, 7(8): 607-629.
- [8] Oikonomou C M, Jensen G J. *Cellular electron cryotomography: toward structural biology in situ* [J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2017, 86: 873-896.
- [9] Ross F M. *Opportunities and challenges in liquid cell electron microscopy* [J]. *Science*, 2015, 350(6267): aaa9886.
- [10] Hell S W, Wichmann J. *Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy* [J]. *Optics Letters*, 1994, 19(11): 780-782.
- [11] Vicidomini G, Bianchini P, Diaspro A. *STED super-resolved microscopy* [J]. *Nature Methods*, 2018, 15(3): 173-182.
- [12] 王佳林, 严伟, 张佳, 等. *受激辐射损耗超分辨显微成像系统研究的新进展* [J]. *物理学报*, 2020, 69(10): 108702. Wang J L, Yan W, Zhang J, et al. *New advances in the research of stimulated emission depletion super-resolution microscopy* [J]. *Acta Physica Sinica*, 2020, 69(10): 108702.
- [13] Hess S T, Girirajan T P K, Mason M D. *Ultra-high resolution imaging by fluorescence photoactivation localization microscopy* [J]. *Biophysical Journal*, 2006, 91(11): 4258-4272.
- [14] Rust M J, Bates M, Zhuang X W. *Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM)* [J]. *Nature Methods*, 2006, 3(10): 793-796.
- [15] Xu J Q, Ma H Q, Liu Y. *Stochastic optical reconstruction microscopy (STORM)* [J]. *Current Protocols in Cytometry*, 2017, 81(1): 1-7.
- [16] Gustafsson M G. *Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy* [J]. *Journal of Microscopy*, 2000, 198(2): 82-87.
- [17] Shao L, Kner P, Rego E H, et al. *Super-resolution 3D microscopy of live whole cells using structured illumination* [J]. *Nature Methods*, 2011, 8(12): 1044-1046.
- [18] Samanta K, Joseph J. *An overview of structured illumination microscopy: recent advances and perspectives* [J]. *Journal of Optics*, 2021, 23(12): 123002.
- [19] 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.
- [20] Li D, Shao L, Chen B C, et al. *Extended-resolution structured illumination imaging of endocytic and cytoskeletal dynamics* [J]. *Science*, 2015, 349(6251): aab3500.
- [21] Xu J Q, Sun X J, Chen Z G, et al. *Super-resolution imaging of T lymphocyte activation reveals chromatin decondensation and disrupted nuclear envelope* [J]. *Communications Biology*, 2024, 7: 717.
- [22] Ströhl F, Kaminski C F. *Frontiers in structured*

- illumination microscopy[J]. Optica, 2016, 3(6): 667-677.
- [23] Schaefer L H, Schuster D, Schaffer J. Structured illumination microscopy: artefact analysis and reduction utilizing a parameter optimization approach[J]. Journal of Microscopy, 2004, 216(2): 165-174.
- [24] Deng L, Liu Y. Deep learning in natural language processing[M]. Cham: Springer, 2018.
- [25] Otter D W, Medina J R, Kalita J K. A survey of the usages of deep learning for natural language processing [J]. IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems, 2021, 32(2): 604-624.
- [26] Voulodimos A, Doulamis N, Doulamis A, et al. Deep learning for computer vision: a brief review[J]. Computational Intelligence and Neuroscience, 2018, 2018: 7068349.
- [27] Chai J Y, Zeng H, Li A M, et al. Deep learning in computer vision: a critical review of emerging techniques and application scenarios[J]. Machine Learning with Applications, 2021, 6: 100134.
- [28] Grigorescu S, Trasnea B, Cocias T, et al. A survey of deep learning techniques for autonomous driving[J]. Journal of Field Robotics, 2020, 37(3): 362-386.
- [29] Muhammad K, Ullah A, Lloret J, et al. Deep learning for safe autonomous driving: current challenges and future directions[J]. IEEE Transactions on Intelligent Transportation Systems, 2021, 22(7): 4316-4336.
- [30] Ker J, Wang L P, Rao J, et al. Deep learning applications in medical image analysis[J]. IEEE Access, 2017, 6: 9375-9389.
- [31] Litjens G, Kooi T, Bejnordi B E, et al. A survey on deep learning in medical image analysis[J]. Medical Image Analysis, 2017, 42: 60-88.
- [32] Wang G, Ye J C, De Man B. Deep learning for tomographic image reconstruction[J]. Nature Machine Intelligence, 2020, 2(12): 737-748.
- [33] Koetzier L R, Mastroiaca D, Szczykutowicz T P, et al. Deep learning image reconstruction for CT: technical principles and clinical prospects[J]. Radiology, 2023, 306(3): e221257.
- [34] Kim K, Ye J C. Noise2score: tweedie's approach to self-supervised image denoising without clean images[EB/OL]. (2021-06-13) [2025-02-05]. <https://arxiv.org/abs/2106.07009>.
- [35] Tian C W, Fei L K, Zheng W X, et al. Deep learning on image denoising: an overview[J]. Neural Networks, 2020, 131: 251-275.
- [36] Chen Z L, Pawar K, Ekanayake M, et al. Deep learning for image enhancement and correction in magnetic resonance imaging: state-of-the-art and challenges[J]. Journal of Digital Imaging, 2023, 36(1): 204-230.
- [37] Kaur A, Kaur G. A review on image enhancement with deep learning approach[J]. ACCENTS Transactions on Image Processing and Computer Vision, 2018, 4(11): 16-20.
- [38] 陆青霜, 金璐红, 许迎科. 深度学习在超分辨显微成像中的应用研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(24): 2400007.
- Lu Q S, Jin L H, Xu Y K. Progress on applications of deep learning in super-resolution microscopy imaging[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2021, 58(24): 2400007.
- [39] 鲁心怡, 黄昱, 张梓童, 等. 深度学习在超分辨显微成像中的研究进展(特邀)[J]. 激光与光电子学进展, 2024, 61(16): 1611002.
- Lu X Y, Huang Y, Zhang Z T, et al. Advances in deep learning for super-resolution microscopy (invited)[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2024, 61(16): 1611002.
- [40] 黎昕然, 陈嘉杰, 王美婷, 等. 深度学习赋能的结构光照明超分辨显微技术: 原理与应用[J]. 中国激光, 2024, 51(21): 2107103.
- Li X R, Chen J J, Wang M T, et al. Advancement in structured illumination microscopy based on deep learning [J]. Chinese Journal of Lasers, 2024, 51(21): 2107103.
- [41] Heintzmann R, Huser T. Super-resolution structured illumination microscopy[J]. Chemical Reviews, 2017, 117(23): 13890-13908.
- [42] Chen X, Zhong S Y, Hou Y W, et al. Superresolution structured illumination microscopy reconstruction algorithms: a review[J]. Light: Science & Applications, 2023, 12: 172.
- [43] Saxena M, Eluru G, Gorthi S S. Structured illumination microscopy[J]. Advances in Optics and Photonics, 2015, 7(2): 241-275.
- [44] Jin L H, Liu B, Zhao F Q, et al. Deep learning enables structured illumination microscopy with low light levels and enhanced speed[J]. Nature Communications, 2020, 11: 1934.
- [45] 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 International Publishing, 2015, 9351: 234-241.
- [46] Wagner F H, Sanchez A, Tarabalka Y, et al. Using the U-Net convolutional network to map forest types and disturbance in the Atlantic rainforest with very high resolution images[J]. Remote Sensing in Ecology and Conservation, 2019, 5(4): 360-375.
- [47] 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.
- [48] Wang J Y, Fan J C, Zhou B, et al. Hybrid reconstruction of the physical model with the deep learning that improves structured illumination microscopy [J]. Advanced Photonics Nexus, 2023, 2(1): 016012.
- [49] Chen X Y, Qiao C, Jiang T, et al. Self-supervised denoising for multimodal structured illumination microscopy enables long-term super-resolution live-cell imaging[J]. Photonix, 2024, 5(1): 4.
- [50] Roth J, Mehl J, Rohrbach A. Fast TIRF-SIM imaging of dynamic, low-fluorescent biological samples[J]. Biomedical Optics Express, 2020, 11(7): 4008-4026.
- [51] Ortkrass H, Wiebusch G, Linnenbrügger J, et al. Grazing incidence to total internal reflection fluorescence

- structured illumination microscopy enabled by a prism telescope[J]. Optics Express, 2023, 31(24): 40210-40220.
- [52] Schermelleh L, Carlton P M, Haase S, et al. Subdiffraction multicolor imaging of the nuclear periphery with 3D structured illumination microscopy[J]. Science, 2008, 320(5881): 1332-1336.
- [53] Chang B J, Tang W C, Liu Y T, et al. Two-beam interference lattice lightsheet for structured illumination microscopy[J]. Journal of Physics D, 2020, 53(4): 044005.
- [54] Gustafsson M G L. Nonlinear structured-illumination microscopy: wide-field fluorescence imaging with theoretically unlimited resolution[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(37): 13081-13086.
- [55] Ling C, Zhang C L, Wang M Q, et al. Fast structured illumination microscopy via deep learning[J]. Photonics Research, 2020, 8(8): 1350-1359.
- [56] Cheng X, Li J, Dai Q, et al. Fast and lightweight network for single frame structured illumination microscopy super-resolution[J]. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 2022, 71: 5007711.
- [57] Wu H M, Li Y M, Sun Y L, et al. Single-frame structured illumination microscopy for fast live-cell imaging[J]. APL Photonics, 2024, 9(3): 036102.
- [58] Qian J M, Wang C Y, Wu H J, et al. Ensemble deep learning-enabled single-shot composite structured illumination microscopy (eDL-cSIM) [J]. Photonix, 2025, 6(1): 13.
- [59] 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): 740-749.
- [60] 黄正齐. 编码孔径压缩结构光照明超分辨显微成像[D]. 上海: 华东师范大学, 2025.
- Huang Z Q. Coded aperture compressive structured illumination super-resolution microscopy[D]. Shanghai: East China Normal University, 2025.
- [61] 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.
- [62] 何一林. 基于压缩感知的高速超分辨显微成像技术[D]. 上海: 华东师范大学, 2023.
- He Y L. High-speed super-resolution microscopy based on compressed sensing[D]. Shanghai: East China Normal University, 2023.
- [63] 成泊璋, 姚云华, 何一林, 等. 差分压缩成像型结构光照明超分辨显微技术研究(特邀)[J]. 激光与光电子学进展, 2024, 61(20): 2011003.
- Cheng B Z, Yao Y H, He Y L, et al. Research on differential compressed imaging-based structured illumination super-resolution microscopy technique (invited)[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2024, 61(20): 2011003.
- [64] 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.
- [65] Müller M, Mönkemöller V, Hennig S, et al. Open-source image reconstruction of super-resolution structured illumination microscopy data in ImageJ[J]. Nature Communications, 2016, 7: 10980.
- [66] Christensen C N, Ward E N, Lu M, et al. ML-SIM: universal reconstruction of structured illumination microscopy images using transfer learning[J]. Biomedical Optics Express, 2021, 12(5): 2720-2733.
- [67] Ye H C, Ye Z T, Chen Y B, et al. Video-level and high-fidelity super-resolution SIM reconstruction enabled by deep learning[J]. Advanced Imaging, 2024, 1(1): 011001.
- [68] Rego E H, Shao L, Macklin J J, et al. Nonlinear structured-illumination microscopy with a photoswitchable protein reveals cellular structures at 50-nm resolution[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(3): E135-E143.
- [69] Boland M A, Cohen E A K, Flaxman S R, et al. Improving axial resolution in structured illumination microscopy using deep learning[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society A, 2021, 379(2199): 20200298.
- [70] He Y, Yao Y H, He Y L, et al. Surpassing the resolution limitation of structured illumination microscopy by an untrained neural network[J]. Biomedical Optics Express, 2022, 14(1): 106-117.
- [71] He Y, Yao Y H, He Y L, et al. Untrained neural network enhances the resolution of structured illumination microscopy under strong background and noise levels[J]. Advanced Photonics Nexus, 2023, 2(4): 046005.
- [72] Qiao C, Zeng Y M, Meng Q, et al. Zero-shot learning enables instant denoising and super-resolution in optical fluorescence microscopy[J]. Nature Communications, 2024, 15: 4180.
- [73] Zheng Y, Chen J J, Wu C X, et al. Adaptive optics for structured illumination microscopy based on deep learning [J]. Cytometry: Part A, 2021, 99(6): 622-631.
- [74] Hu Q, Hailstone M, Wang J Y, et al. Universal adaptive optics for microscopy through embedded neural network control[J]. Light: Science & Applications, 2023, 12: 270.
- [75] Huang Z Q, Yao Y H, He Y L, et al. Spectral compressive structured illumination microscopy[J]. Optics and Lasers in Engineering, 2025, 190: 108985.
- [76] He Y C, Xu W Z, Zhi Y, et al. Rapid bacteria identification using structured illumination microscopy and machine learning[J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2018, 11(1): 1850007.
- [77] Laine R F, Goodfellow G, Young L J, et al. Structured illumination microscopy combined with machine learning enables the high throughput analysis and classification of virus structure[J]. eLife, 2018, 7: e40183.
- [78] Touizer E, Sieben C, Henriques R, et al. Application of super-resolution and advanced quantitative microscopy to the spatio-temporal analysis of influenza virus replication [J]. Viruses, 2021, 13(2): 233.
- [79] Liu S Y, Thung K H, Lin W L, et al. Real-time quality

- assessment of pediatric MRI via semi-supervised deep nonlocal residual neural networks[J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2020, 29: 7697-7706.
- [80] Zhou Y, Jin Z Y, Zhao Q H, et al. Aberration modeling in deep learning for volumetric reconstruction of light-field microscopy[J]. Laser & Photonics Reviews, 2023, 17(10): 2300154.
- [81] Gu S H, Guo S, Zuo W M, et al. Learned dynamic guidance for depth image reconstruction[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2019, 42(10): 2437-2452.
- [82] Mannam V, Zhang Y D, Yuan X T, et al. Machine learning for faster and smarter fluorescence lifetime imaging microscopy[J]. Journal of Physics: Photonics, 2020, 2(4): 042005.
- [83] Nguyen T D, Chen Y I, Chen L H, et al. Recent advances in single-molecule tracking and imaging techniques[J]. Annual Review of Analytical Chemistry, 2023, 16(1): 253-284.
- [84] Ward E N, Hecker L, Christensen C N, et al. Machine learning assisted interferometric structured illumination microscopy for dynamic biological imaging[J]. Nature Communications, 2022, 13: 7836.
- [85] Lu M, Hui E, Brockhoff M, et al. Graphene microelectrode arrays, 4D structured illumination microscopy, and a machine learning spike sorting algorithm permit the analysis of ultrastructural neuronal changes during neuronal signaling in a model of Niemann-pick disease type C[J]. Advanced Science, 2024, 11(44): e2402967.
- [86] Panayides A S, Amini A, Filipovic N D, et al. AI in medical imaging informatics: current challenges and future directions[J]. IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics, 2020, 24(7): 1837-1857.
- [87] Wen B, Zeng W F, Liao Y X, et al. Deep learning in proteomics[J]. Proteomics, 2020, 20: 1900335.
- [88] Zhang H, Zhu Y Q, Jin L H, et al. Recent advances in structured illumination microscopy: from fundamental principles to AI-enhanced imaging[J]. Small Methods, 2025, 9(5): e2401616.