
下一代荧光物理保真反卷积技术

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/29103.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

下一代荧光物理保真反卷积技术。

ISSN 2662-8643(online)

CN 22-1427 / 04

ISSN 2097-1710(print)

eLight



Aug 2024 · Volume 4 · Issue 33

光：快讯

elicht.springeropen.com



Multi-resolution analysis enables fidelity-ensured deconvolution for fluorescence microscopy

ISSN 2097-1710



中国科学院长春光机所
CIOMP

SPRINGER NATURE

近日，北京大学席鹏教授团队提出了一种用于荧光成像的多分辨率分析正则化约束的反卷积算法

，着重解决了反卷积算法的保真性问题并进一步提高了其噪声鲁棒性。基于多分辨率分析反卷积算法，可以在保真前提下以更低光子预算获得高质量图像，提高了荧光成像的速度以及成像时程，有望助力新生物现象的发现。

该文章以Multi-resolution analysis enables fidelity-ensured deconvolution for fluorescence microscopy为题发表在eLight。该研究工作得到了国家自然科学基金区域联合重点项目、面上项目等项目的大力支持。北京大学博士生侯宜伟为论文的独立第一作者。北京大学席鹏教授、李美琪博士为该论文的共同通信作者。论文主要贡献者还包括北京大学博士生付允哲以及北京艾锐精仪公司工程师王文熠、盖希川。该工作由北京大学未来技术学院生物医学工程系作为第一单位完成。

荧光显微镜是活细胞成像中的重要工具。超分辨率显微镜的提出进一步打破了荧光显微镜的衍射极限，使得观察更为精细的细胞结构成为可能。然而，成像过程中的随机噪声以及光学模糊影响了荧光成像质量。在活细胞成像中，高光子剂量会对细胞状态造成影响，并且会导致光漂白。在超快成像中，曝光时间不足也制约着高信噪比图像的获得。综合而言，荧光成像中的成像速度、持续时间和分辨率等关键参数受到了极大的相互制约。

反卷积算法（Deconvolution）在荧光成像领域得到了很大应用，因为它们具有通过以低光子预算从噪声中恢复荧光信号来提高成像持续时间和时空分辨率的潜力。尽管算法补偿在增强荧光成像的这些关键方面显示出了巨大的潜力，但其保真度，尤其是在提升分辨率方面的可信度仍然受到质疑。开发能够工作在更低信噪比的高保真反卷积算法，可以进一步提高成像时程以及速度，为发现新生物现象提供更多可能。

为了解决上述问题，本文重塑了荧光成像反卷积算法的噪声控制模型以及分辨率提升机制，提出了多分辨率（Multi-resolution analysis, MRA）反卷积算法。该方法有效提高了反卷积算法可以恢复的最低信噪比极限，并解决了传统反卷积算法在分辨率提高时容易产生伪影的缺陷。

作者首先分析了传统的基于空间变化的全变分（Total variation, TV）以及海森（Hessian）正则的缺陷，认为虽然其提取的连续性特征部分符合荧光成像的特点，但其也会混淆荧光信号与背景边缘，并且难以从极高噪声中提取信号。根据荧光成像特异性标记以及生物结构的特点，作者首次提出两个基本属性来区分荧光信号和噪声：（1）跨边缘的高对比度，以及（2）沿边缘的高连续性。在数学实现上，作者利用多尺度Framelet以及Curvelet变换来提取荧光信号中的这两个关键特征，称为MRA正则化方法。通过多种成像条件的高低信噪比对图像恢复实验，作者验证了MRA正则化方法相较基于空间变化的正则方法可以将信噪比进一步提高2-10dB。

在分辨率提升机制方面，作者首先通过模拟实验证明了Richardson-Lucy迭代由于其统计估计特性会自发产生伪影。基于物理模型的迭代逆滤波虽然可以在无噪声情况下完美复原模糊图像，但其高频细节恢复需要大量迭代次数，容易被噪声淹没且与基于空间变化的噪声控制正则相容较差。而作者所提出的MRA正则化方法由于提供了更精确的荧光噪声模型，可以有效控制逆滤波迭代中的噪声并保留其推断的高频细节。作者进一步提出了一种加速FISTA迭代的策略，可以在短计算时间内完成上千次约束逆滤波迭代来恢复高频细节。

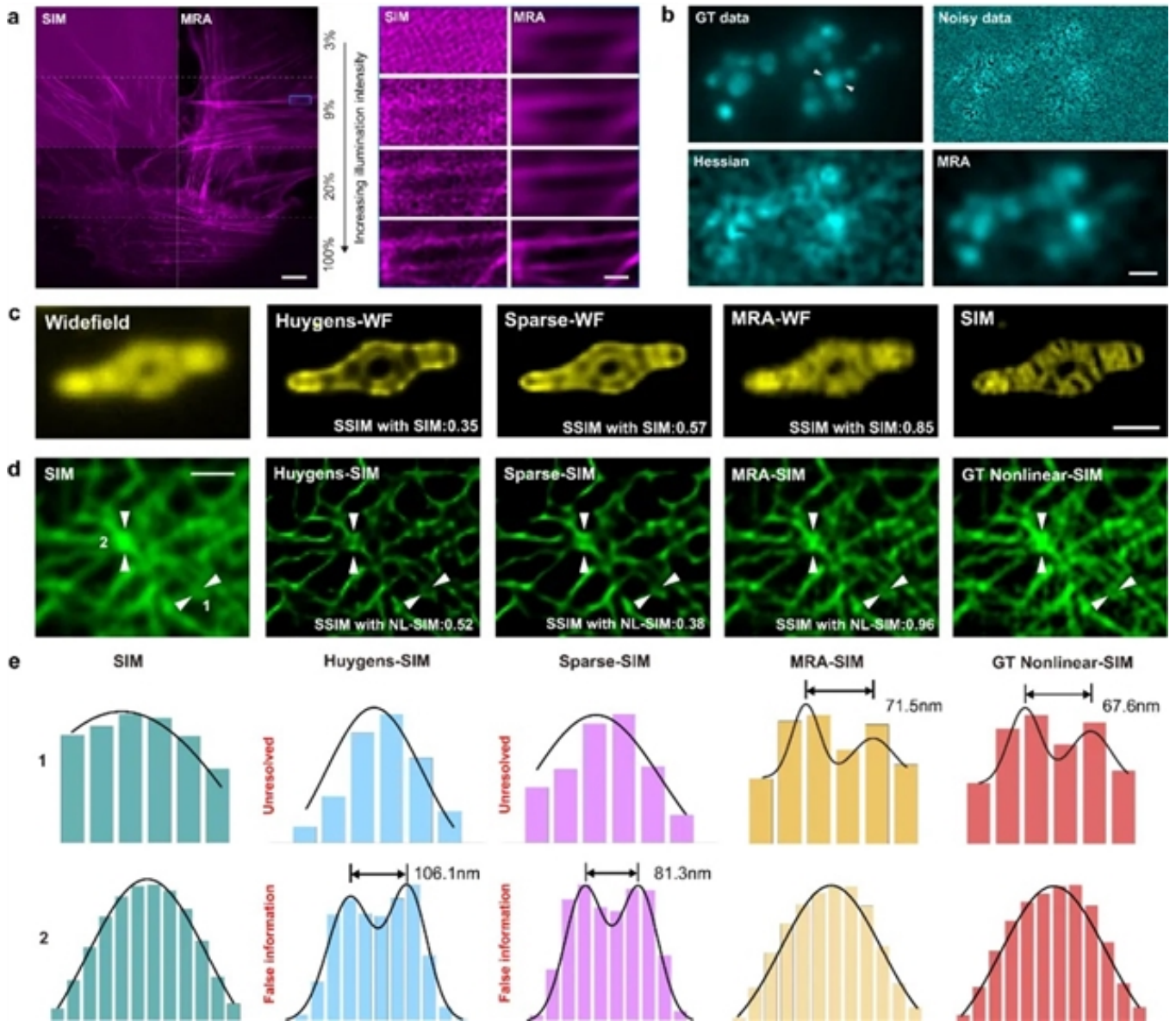


图1：MRA反卷积实现更优的噪声控制和保真分辨率提升。a. 利用SIM高低信噪比对MRA噪声控制的验证。b. MRA与Hessian正则连续帧图像处理中的对比。c. U2OS细胞线粒体的宽场图像、Huygens、Sparse以及MRA解卷积结果和作为真值参考的SR-SIM结果。d. 从开源BioSR数据集中获得的线性非线性SIM图像对。非线性SIM作为Huygens、Sparse以及MRA对线性SIM解卷积结果的对比真值。e. 沿d中两个白色箭头指示的线的强度分布。

评判反卷积算法分辨率提升真实性，需要使用物理超分辨显微镜进行严格验证。利用宽场-SIM，线性SIM-非线性SIM，Confocal-SoRa以及Confocal-STED多种低-高分辨率数据对，作者验证了MRA反卷积相较于Richardson-Lucy为分辨率提升机制的反卷积算法具有显著优越的保真性，解析的高频细节结构与对应的高分辨参考图像甚至超分辨显微镜几乎一致。

作者进一步提出了层切多分辨率分析反卷积算法（SecMRA），引入了全新设计的偏置稀疏正则，该方法可以有效地提高在强背景图像处理中的表现。SecMRA反卷积后的宽场图像可以达到类似共聚焦显微镜的层切效果，可以在提供高质量图像的同时进一步降低活细胞成像的光毒性。作者在宽场、Lightsheet、Confocal、SoRa、SIM、STED和Expansion显微镜等多种成像模态中验证了

该方法的有效性。

作者展示了利用MRA反卷积算法来支持低光照低毒性荧光成像以研究细胞活动的实例。利用MRA反卷积，作者实现了对微管和溶酶体共标的长时程超分辨成像，观察到了溶酶体运动与微管结构的紧密联系。作者还利用宽场显微镜实现了细胞核周半小时以上的线粒体和内质网共标成像，观察到了线粒体迅速延伸后收缩最后绑定在内质网上的现象。

为了推广该技术，作者还提出了解决正则化反卷积算法中超参数调整的方案。通过用曲线波系数稀疏度来估计噪声强度，实现了自动确定参数。同时，为了方便同行研究者，作者开源了所有源代码以及荧光图像原始数据，并且编写了易于交互的GUI软件，以便于用户和开发者使用。作者希望MRA可以为成为生物学家和显微学家广泛使用的新一代高保真反卷积工具。

同时，对于蓬勃发展的模型计算超分辨和深度学习超分等领域，作者希望该工作所提出的物理真值判定能够成为广泛使用的真实性判断工具，并通过开源相关的低-高分辨率物理成像数据集，为进一步提升不同算法的表现提供客观评价标准。（来源：中国光学微信公众号）

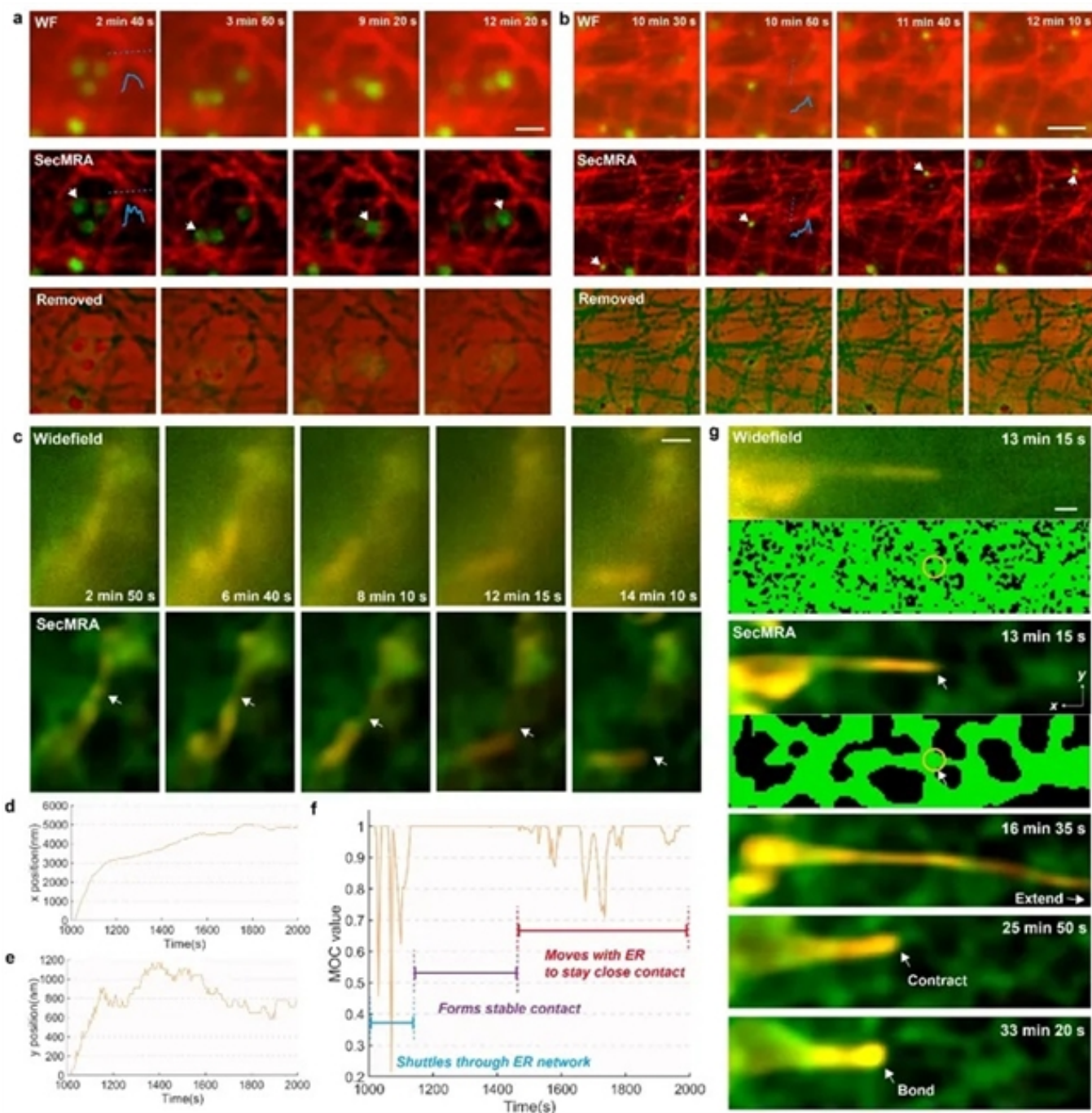


图2：SecMRA反卷积助力长时程活细胞成像。a-b.微管溶酶体双色成像。SecMRA反卷积有效去除图像中的噪声、离焦背景并提高分辨率。c-g. SecMRA反卷积实现内质网与线粒体互作成像。

相关论文信息：<https://doi.org/10.1186/s43593-024-00073-7>

作者：席鹏等 来源：eLight

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发