

# 基于深度学习的低信噪比下的快速超分辨 荧光显微成像

肖康<sup>1</sup>, 田立君<sup>1\*</sup>, 王中阳<sup>2\*\*</sup>

<sup>1</sup>上海大学理学院物理系, 上海 200444;

<sup>2</sup>中国科学院上海高等研究院宏观量子中心, 上海 201210

**摘要** 超分辨荧光成像实验的分辨率和成像质量与实验过程中收集到的荧光分子光子数和背景噪声有着密切的关系。为了实现低光子数、高背景光下的快速超分辨荧光显微成像, 利用所提卷积神经网络算法实现了对极低信噪比信号的恢复, 并结合重构网络进行了超分辨成像。结果表明: 利用该方法可以实现荧光信号在低信噪比下的有效恢复, 峰值信噪比可达 27 dB, 明显优于同类的其他两种算法。该方法还可以配合 Deep-STORM 重构网络在低信噪比下实现快速的超分辨成像。重构结果的归一化均方误差为 7.5%, 分辨率相较其他算法有明显提升。实验条件下的重构结果验证了该方法的能力, 为弱信号下的荧光快速超分辨成像提供了可行方案。

**关键词** 显微; 超分辨; 深度学习; 弱信号

中图分类号 O439

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.1007002

## Fast Super-Resolution Fluorescence Microscopy Imaging with Low Signal-to-Noise Ratio Based on Deep Learning

Xiao Kang<sup>1</sup>, Tian Lijun<sup>1\*</sup>, Wang Zhongyang<sup>2\*\*</sup>

<sup>1</sup>Physics Department, College of Science, Shanghai University, Shanghai 200444, China;

<sup>2</sup>Research Center of Quantum Engineering and Technology, Shanghai Advanced Research Institute,  
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China

**Abstract** The resolution and imaging quality of super-resolution fluorescence imaging significantly depend on the number of fluorescent molecular photons collected during the experiment, as well as the background noise. To obtain fast super-resolution fluorescence microscopy imaging under low photon count and high background light conditions, the proposed convolutional neural network is employed to restore the signal with extremely low signal-to-noise ratio (SNR) and combined with the reconstruction network to perform super-resolution imaging. The results show that the fluorescence signal can be effectively recovered under the condition of low signal-to-noise ratio, the peak signal-to-noise ratio can reach 27 dB, which is significantly better than the other two algorithms. The proposed method can also cooperate with Deep-STORM reconstruction network to obtain fast super-resolution imaging under low SNR conditions. The normalized mean square error of the reconstructed result is 7.5%, and the resolution is significantly improved compared to the other similar algorithms. Additionally, the reconstruction results under experimental conditions verify the ability of the proposed method and provide a feasible solution for fast super-resolution fluorescence imaging under weak signals.

**Key words** microscopy; super-resolution; deep learning; weak signal

**OCIS codes** 170.2520; 100.6640; 100.3020

## 1 引言

荧光显微镜因具有无损、非接触、高特异性、高

灵敏等特点而在生命科学领域应用广泛。然而由于光学衍射极限的存在, 传统的荧光显微镜不能观察到近似半波长以下细胞中的精细结构。近些年来,

收稿日期: 2020-04-28; 修回日期: 2020-05-31; 录用日期: 2020-06-09

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC0100600)

\* E-mail: tianlijun@shu.edu.cn; \*\* E-mail: wangzy@sari.ac.cn

随着科学技术的发展,光学衍射极限逐渐被打破。其中,基于单分子定位技术的随机光学重构显微镜<sup>[1]</sup>(STORM)和光敏定位显微镜<sup>[2]</sup>(PALM)是目前应用最为广泛的超分辨显微成像器件。STORM和PALM技术主要利用荧光分子自身的固有性质或光诱导来获得荧光信号的随机闪烁,并利用单分子拟合算法分别对单个荧光分子进行定位,最后采用多帧叠加实现超分辨。上述器件的分辨率与收集到的光子数、背景噪声有关,在极高的信噪比下可以达到20 nm。为了使单分子定位算法实现精准定位,基于单分子定位的技术在单帧采集时往往只能采集到极低密度的荧光分子,因此,在成像过程中往往需要采集成千上万帧图像进行重构,漫长的采集过程大大降低了成像速度。为了缩短STORM等技术的采样帧数,Huang课题组<sup>[3]</sup>提出了将压缩感知与STORM相结合的CS-STORM技术,该技术利用凸优化算法实现压缩采样,采样帧数可以从几万帧缩短到几百帧,单帧重构的分子密度可达 $7.8 \mu\text{m}^{-2}$ 。2018年,Nehme等<sup>[4]</sup>利用卷积神经网络(Deep-STORM)实现了 $6 \mu\text{m}^{-2}$ 的单帧重构密度。然而,利用上述算法精准重构超分辨图像需要采集到具有高信噪比的荧光信号<sup>[5]</sup>。由于用于特定标记的荧光分子在每个闪烁周期内发出的光子数有限<sup>[6]</sup>,加之细胞中背景噪声和探测器本身噪声的影响,上述算法无法适用于不同的染料分子和复杂的噪声实验。

深度学习作为一种数据驱动算法被广泛应用于图像处理、文字识别等人工智能领域<sup>[7]</sup>。它利用大量的数据通过特定的学习算法对复杂神经网络中的神经元进行训练,使代价函数收敛,并利用训练好的网络对未知的输入进行预测。卷积神经网络(CNN)作为一种前馈型神经网络,在图像处理方面被广泛应用。随着图形处理单元的发展,深度学习方法已被广泛应用于超分辨成像<sup>[8-9]</sup>、弱信号成像<sup>[10]</sup>和图像去噪<sup>[11-12]</sup>等领域。

本文利用深度学习的方法消除超分辨荧光显微成像采集过程中存在的背景噪声,以获取高质量的超分辨重构结果,克服Deep-STORM重构算法在低信噪比下无法重构的缺点。仿真结果表明,本文所提方法可以在低信噪比条件下实现精确重构,且重构的超分辨图像的分辨率相较于同类算法有明显提升。

## 2 方法与原理

### 2.1 超分辨荧光显微镜噪声模型

若要实现弱光成像的高效恢复,降低成像过程

中存在的噪声,首先要分析噪声模型。超分辨显微镜信号采集过程中的噪声主要来自五部分<sup>[13]</sup>。第一部分噪声来源于光源发出的光子。由于光子发射时间具有随机性,因此在固定的曝光时间内探测器收集到的光子数也具有随机性。探测器收集到的光子数 $n_p$ 服从泊松分布,即

$$p(n_p; I) = P(n_p; \lambda = I), \quad (1)$$

式中: $I$ 为打在探测器上的光子的平均强度; $n_p$ 为光子数; $P(n_p; \lambda = I)$ 代表 $n_p$ 服从期望值为 $I$ 的泊松分布。第二部分噪声来源于光子打到探测器时随机产生的光电子。概率由量子效率 $q$ 决定。该随机过程可表示为

$$p(n_{pe}; I, q) = \sum_{n_p=0}^{+\infty} (n_p; I) B(n_{pe}; n_{ph}, q) = P(n_{pe}; I, q), \quad (2)$$

式中: $n_{pe}$ 代表这一随机过程中的光电子数; $B(n_{pe}; n_{ph}, q)$ 代表伯努利分布。第三部分噪声来源于乱真电荷。这部分噪声主要有两个来源:1)来自于探测器的电子转化为电极的电压这一过程。该过程会引入不必要的电子,这些电子被称为钟感生电荷 $C_{cic}$ 。2)暗电流噪声。这部分噪声主要来自探测器在过高的温度下产生的电荷 $C_{dark}$ 。乱真电荷的随机过程服从泊松分布,其概率密度函数可表示为

$$p(n_{ie}; I, q, c) = \sum_{m=0}^{n_{ie}} P(m; Iq) P(n_{ie} - m; c) = P(n_{ie}; Iq + c), \quad (3)$$

式中: $c = tC_{dark} + C_{cic}$ ,  $t$ 为曝光时间; $n_{ie}$ 为输入的光电子个数。第四部分噪声来源于电子倍增(EM)寄存器。EM寄存器用于放大收集到的光电子,使其远大于读出噪声。这部分的随机过程可表示为<sup>[14]</sup>

$$\gamma(\xi; n_{ie}, \theta) = \xi^{n_{ie}-1} \frac{\exp\left(-\frac{\xi}{\theta}\right)}{\Gamma(n_{ie})\theta^{n_{ie}}}, \quad (4)$$

式中: $\xi = n_{oe} - n_{ie} + 1$ ,  $n_{oe}$ 为通过电子倍增寄存器输出的光电子个数; $\theta = g - 1 + \frac{1}{n_{ie}}$ ,  $g$ 为电子倍增CCD的增益系数; $\gamma(\xi; n_{ie}, \theta)$ 为伽马分布; $\Gamma(\cdot)$ 为伽马函数。

最后一部分噪声被称作量化噪声,这部分噪声主要是由数模(A/D)转换导致的。A/D转换器将光电子转化为灰度值。该部分的随机过程服从正态分布,可以表示为

$$p(n_{ic}; n_{oe}, r) = N(fn_{ic}; n_{oe}, r), \quad (5)$$

式中: $f$ 为探测器的放大灵敏度; $r$ 为EM寄存器输

出的光电子的方差。

上述噪声模型可以用图 1 表示。可以看出,在成像过程中采集到的荧光信号中的噪声由多种成分组成。因此,传统的基于滤波和图像降噪的方法均

很难有效抑制噪声,使得重构算法无法精准地重构超分辨率图像。同时,对分析成像过程中的噪声成分进行分析可以为后续低信噪比下荧光图像训练集的制作提供理论依据。

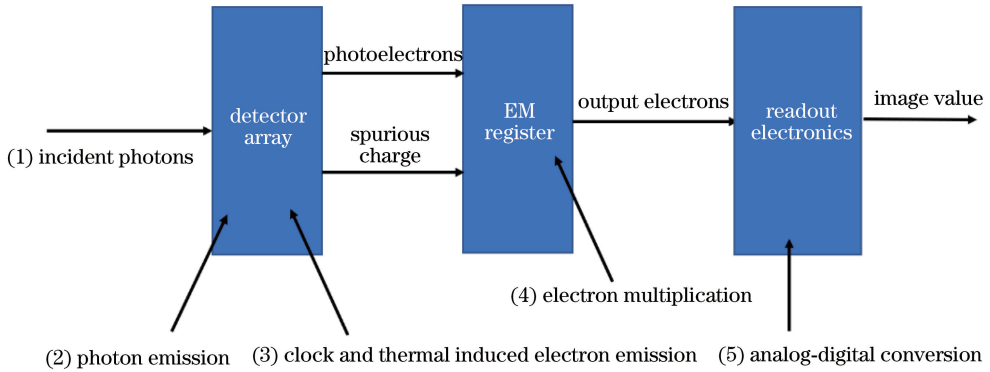


图 1 超分辨荧光显微镜噪声模型

Fig. 1 Noise model of super-resolution fluorescence microscopy

## 2.2 所提卷积神经网络

卷积神经网络本质上是借助卷积核在待处理图像上的滑动来提取待处理图像的局域信息,被卷积核处理后的图像称为特征图。特征图通过后续的池化层和激活函数进行特征的选取和保留,最后通过连续卷积操作来提取图像的局域特征和全局特征,最终完成整幅图像的降噪。

本实验采用的基于 DenseNet<sup>[15]</sup>改进的 U 型卷积神经网络如图 2 所示。该网络在弱信号成像<sup>[16]</sup>和散射成像领域应用广泛<sup>[17-18]</sup>。其原因在于,与其他卷积神经网络相比,DenseNets 中的 DenseBlock

在同等参数规模下可以提取更多特征信息,并在最大程度上保留了由浅到深的各个特征,在接下来的网络层中实现特征的重用。该网络在 DenseBlock 的前端引入新的卷积层和激活函数 ReLU<sup>[19]</sup>,后端采用 Dropout<sup>[20]</sup>来防止训练过程中过拟合现象的出现。此外,该网络采用了 U 型对称结构,并利用跳跃连接<sup>[21]</sup>(skip connection)的方式来改善梯度消失的问题。所有卷积层和反卷积层的卷积核大小均为  $3 \times 3$ ,滑动步长为 1,上采样和下采样的滑动步长均为 2。所有层输出的特征图数量和特征图尺寸都在图 2 中表示出来。

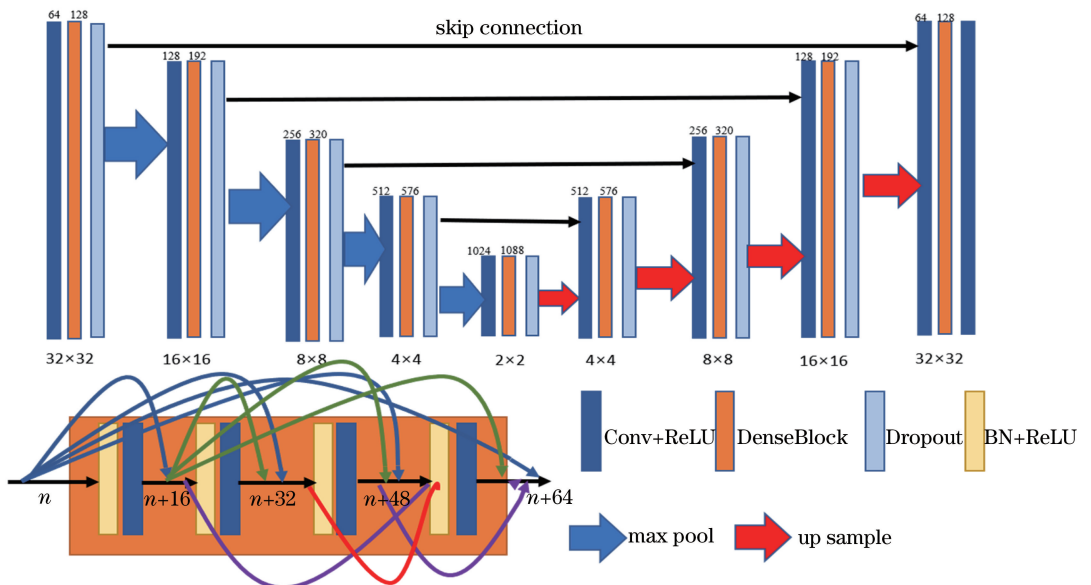


图 2 所提卷积神经网络的结构示意图

Fig. 2 Structure of proposed convolutional neural network

### 2.3 数据集的制作

由于通过实验无法采集到无噪声的荧光信号,因此必须采用仿真的方法来获取足够的数据,以保证模型的泛化能力。首先需要获取无噪声情况下的荧光信号。设置仿真的视场大小为  $5.12 \mu\text{m} \times 5.12 \mu\text{m}$ ,在该视场中随机生成荧光分子坐标  $\theta_x$ 、 $\theta_y$  和荧光分子的光子数  $\theta_N$ ,根据显微系统的条件确定荧光分子衍射受限导致的艾里斑的大小  $\theta_\sigma$ ,则无噪声的宽场图像可以由对称的二维高斯函数描述<sup>[22]</sup>,即

$$P_{\text{sf}}(x, y | \theta) = \theta_N E_x E_y, \quad (6)$$

式中:  $x$  和  $y$  对应着探测器的像素坐标;  $\theta$  为待估计的参数;  $E_x$ 、 $E_y$  的表达式分别为为

$$E_x = \frac{1}{2} \operatorname{erf} \left( \frac{x - \theta_x + \frac{1}{2}}{\sqrt{2} \theta_\sigma} \right) - \frac{1}{2} \operatorname{erf} \left( \frac{x - \theta_x - \frac{1}{2}}{\sqrt{2} \theta_\sigma} \right), \quad (7)$$

$$E_y = \frac{1}{2} \operatorname{erf} \left( \frac{y - \theta_y + \frac{1}{2}}{\sqrt{2} \theta_\sigma} \right) - \frac{1}{2} \operatorname{erf} \left( \frac{y - \theta_y - \frac{1}{2}}{\sqrt{2} \theta_\sigma} \right). \quad (8)$$

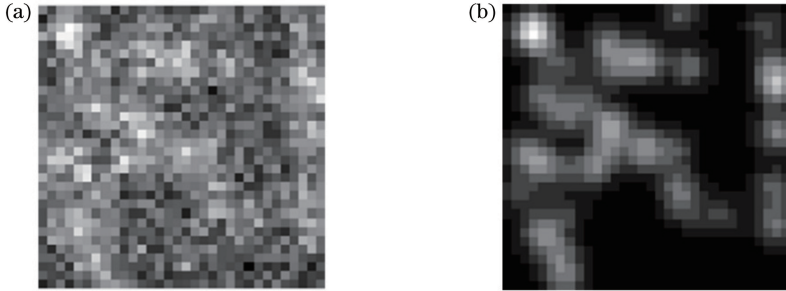


图3 仿真生成的噪声图片和无噪声图片。(a)仿真生成的低信噪比宽场荧光信号(背景光 500 光子,信号光 400 光子);(b)无噪声的宽场荧光信号

Fig. 3 Simulated noise picture and noise-free picture. (a) Simulated low signal-to-noise ratio wide-field fluorescence signals with 500 photons of background and 400 photons of signal; (b) noise-free wide-field fluorescence signal

### 2.4 模型的训练

将上述生成的 50000 张图片分批次放入模型中进行训练,每个批次随机选取 100 张噪声和无噪声图片,将它们分别作为网络的输入和标签。损失函数  $L$  定义为

$$L = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \| y_i - f(x_i | \mu) \|_2^2, \quad (11)$$

式中:  $x_i$  为归一化的噪声图像数据;  $y_i$  为归一化无噪声图像数据;  $\mu$  表示网络中需要训练的参数。反向传播算法采用的是 Adam<sup>[23]</sup>,学习率为  $5 \times 10^{-4}$ , Dropout rate 设置为 0.2。模型的搭建依托于 Tensorflow 框架<sup>[24]</sup>,整个训练过程采用的 GPU 型

$N$  个荧光分子产生的无噪声的宽场图像  $I_{\text{img}}(x, y)$  可以由每个荧光分子产生的宽场图像叠加而成,即

$$I_{\text{img}}(x, y) = \sum_{i=1}^N P_{\text{sf}_i}(x, y). \quad (9)$$

由上述过程仿真得到的无噪声荧光信号如图 3(b)所示。考虑到实验过程中不可避免地会有背景光的影响,因此在仿真噪声图片时需要在(6)式中引入背景光,即

$$P_{\text{sf}}(x, y | \theta) = \theta_N E_x E_y + \theta_{\text{bg}}, \quad (10)$$

式中:  $\theta_{\text{bg}}$  表示背景光的光子数。将实验中的各种噪声通过 2.1 节所述的超分辨荧光显微镜的噪声模型引入到上述仿真过程获取的宽场图像中,获得噪声图片,如图 3(a)所示。

为了使模型适应不同的显微镜和不同的信噪比条件,仿真得到的宽场图像中的荧光分子密度在  $0.15 \sim 7.8 \mu\text{m}^{-2}$  内随机产生,信号光与背景光的光子数之比在 0.2~10 范围内选择,点扩散函数模型中的  $\theta_\sigma$  在 270~700 nm 范围内选取。仿真生成的数据集为 50000 张图片。

号为 Telsa K80,显存为 12 GB。训练过程约持续 1 h。

## 3 模拟数据的分析和讨论

### 3.1 网络降噪能力分析

为验证所提卷积神经网络对宽场荧光图像的降噪能力,本文利用训练好的网络对低信噪比图片进行预测,并将预测结果与当前在图像降噪领域广泛采用的 BM3D 算法<sup>[25]</sup>以及多分子拟合中常用的高斯滤波算法<sup>[26]</sup>进行对比。图 4 所示为荧光分子信号光的光子数为 500、背景光的光子数为 200 时,不同算法对仿真荧光图像降噪能力的对比。



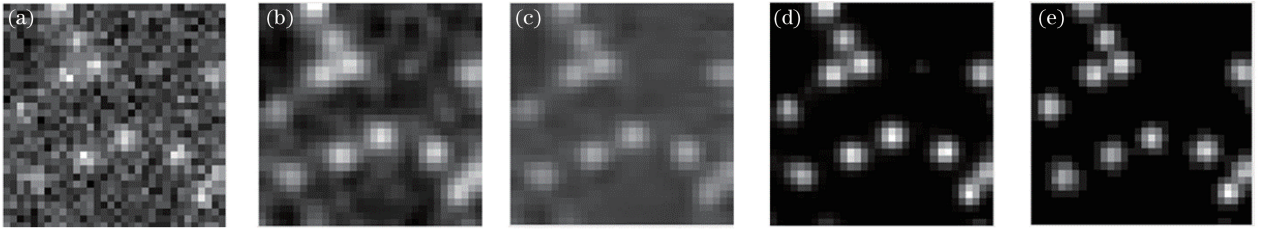


图 4 不同算法对仿真荧光图像降噪能力的对比。(a)仿真得到的低信噪比荧光图像;(b)高斯滤波算法降噪后的荧光图像;(c) BM3D算法降噪后的荧光图像;(d)所提卷积神经网络算法降噪后的荧光图像;(e)无噪荧光图像

Fig. 4 Comparison of noise reduction capabilities of different algorithms on simulated fluorescence images. (a) Simulated fluorescence image with low signal-to-noise ratio; (b) fluorescence image after noise reduction by Gaussian filter algorithm; (c) fluorescence image after noise reduction by BM3D algorithm; (d) fluorescence image after noise reduction by proposed convolutional neural network algorithm; (e) noise-free fluorescence image

通过对比可以发现,训练过后的所提卷积神经网络能够有效捕捉低信噪比下的荧光信号,保留了图像的细节信息。从降噪结果可以看出:基于高斯滤波降噪的方法会导致许多背景噪声信息无法被滤除而保留下来,保留下来的噪声信息会影响后续的重构结果;而 BM3D 降噪算法在荧光图像降噪过程中造成了过多的平滑,使图像的对比度有所下降;所提卷积神经网络算法能够有效滤除背景光和探测过程中带来的噪声,在极大程度上保留了原有荧光信号

的细节信息。  
峰值信噪比(PSNR)常被用作图像降噪领域内信号重建质量的重要指标,其值越高说明重建结果越好。在背景光的光子数为 500 的条件下,信号光的光子数从 100 逐渐变化到 900 时,经上述三种算法降噪后的荧光图像的峰值信噪比如图 5(a)所示。

可见:随着光子数逐渐增加,三种算法的恢复效果越来越好;噪声图片对应的峰值信噪比为 12.98 dB,所提卷积神经网络算法恢复得最好,峰值信噪比最高为 25.68 dB,其次为 BM3D 算法(峰值信噪比最高为 18.20 dB),之后为高斯滤波降噪算法(峰值信噪比最高可达 16.23 dB)。

在信号光的光子数为 500 的条件下,背景光的光子数从 100 逐渐变化到 900 时,不同算法降噪后荧光图像的峰值信噪比如图 5(b)所示。对比三种降噪算法可以看出:恢复的荧光图像的峰值信噪比随着背景信号的增强而逐渐减小,三种算法的恢复效果整体成线性相关;所提卷积神经网络算法、BM3D 算法、高斯滤波算法降噪后荧光图像的峰值信噪比最高分别可达 27.13 dB, 19.32 dB, 16.82 dB,噪声图片对应的峰值信噪比为 14.50。

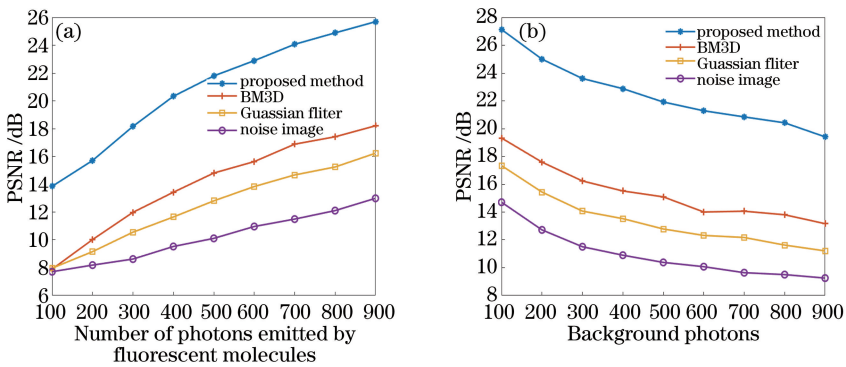


图 5 不同算法恢复的荧光图像的峰值信噪比。(a)在背景光的光子数为 500 的条件下,信号光的光子数从 100 逐渐变化到 900 时,不同算法恢复的荧光图像的峰值信噪比;(b)在信号光的光子数为 500 的条件下,背景光的光子数从 100 逐渐变化到 900 时,不同算法恢复的荧光图像的峰值信噪比

Fig. 5 Peak signal-to-noise ratio of fluorescence images recovered by different algorithms. (a) Peak signal-to-noise ratio of fluorescence images recovered by different algorithms when the number of signal photons gradually changes from 100 to 900 under the condition that the number of background photons is 500; (b) peak signal-to-noise ratio of fluorescence images recovered by different algorithms when the number of background photons gradually changes from 100 to 900 under the condition that the number of signal light photons is 500

### 3.2 超分辨成像结果的分析

信噪比的提升对于超分辨图像的重构有着重要意义。在高密度重构算法中,信噪比的提升意味着重构图像的误差降低。高密度重构算法中的 Deep-STORM 网络具有计算速度快、成像质量高、无需调参等特点。它将高密度的荧光分子宽场图像输入到

训练好的卷积神经网络中重构出荧光分子的超分辨图像,它可配合本文所提卷积神经网络实现低信噪比下的超分辨成像,如图 7 所示。利用所提卷积神经网络实现低信噪比下荧光信号的恢复后,将降噪后的荧光图像输入到 Deep-STORM 网络中就可以实现超分辨成像。

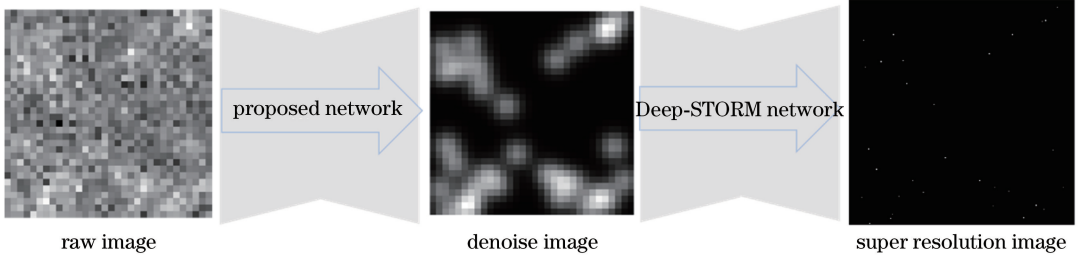


图 6 所提卷积神经网络与 Deep-STORM 配合重构的示意图

Fig. 6 Schematic of the reconstruction method using proposed convolutional neural network and Deep-STORM

为了得到低信噪比条件下不同算法对 Deep-STORM 重构结果的影响,本文采用仿真实验进行对比。图 7(a)是仿真得到的超分辨图像,白色条纹之间的间距分别为 25, 50, 75, 100, 125, 150,

175 nm。超分辨图像的衍射受限如图 7(b)所示,仿真的荧光分子在成像面上的艾里斑半宽为 345 nm,探测器的像素为 100 nm。图 7(c)所示为 Deep-STORM 算法对无噪声荧光图像的重构结果。

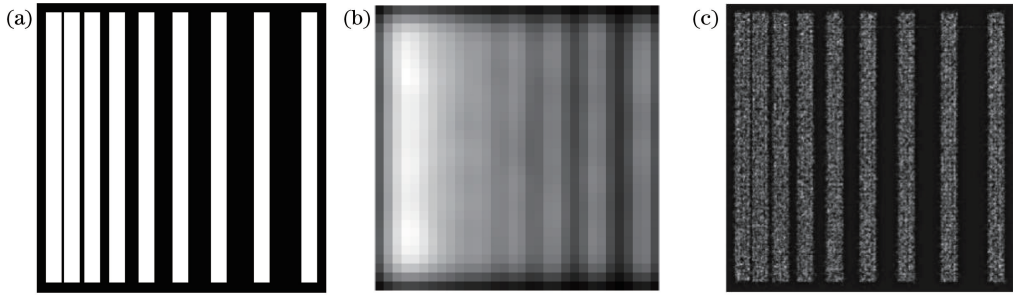


图 7 仿真得到的成像目标和重构结果。(a)仿真得到的原图;(b)衍射受限的宽场图;  
(c)无噪声条件下 Deep-STORM 重构的超分辨图

Fig. 7 Simulated imaging target and reconstruction image. (a) Original image obtained by simulation; (b) diffraction-limited wide-field image; (c) Deep-STORM reconstructed super-resolution image under noise-free condition

为了对比所提卷积神经网络、高斯滤波和 BM3D 算法降噪能力对超分辨重构结果的影响,本文仿真得到了信号光光子数为 900、背景光光子数为 500、激发密度为  $3 \mu\text{m}^{-2}$  的低信噪比的荧光图像 5000 张,并分别利用上述三种算法降噪后配合 Deep-STORM 重构网络进行重构。不同算法的降噪结果如图 8 所示,其中图 8(a)为仿真得到的低信噪比荧光图像,图 8(b)为无噪声的荧光图像,图 8(c)~(e)分别对应所提卷积神经网络、BM3D 和高斯滤波算法恢复的荧光图像。其中,所提卷积神经网络、BM3D 和高斯滤波算法恢复后的图像的峰值信噪比分别为 24.33 dB, 16.01 dB, 14.04 dB, 噪声图片对应的峰值信噪比为 10.64 dB。

数据进行重构,重构结果如图 9 所示。其中,图 9(a)为所提卷积神经网络重构的超分辨图像,图 9(b)是利用高斯滤波方法降噪后重构的超分辨图像,图 9(c)是利用 BM3D 算法降噪后重构的超分辨图像。图 9(d)是未经过降噪直接重构的图像。对比图 9(a)~(d)可以看出,未经降噪处理的荧光图片无法重构超分辨图像,而经过降噪处理后的图像基本能够得以恢复,其中经所提卷积网络降噪后重构的超分辨图像最清晰。利用归一化均方误差 ( $N_{\text{MSE}}$ ) 对重构超分辨图像进行量化评价,其定义为

$$N_{\text{MSE}} = \frac{\|\hat{x} - x\|_2^2}{\|x\|_2^2}, \quad (12)$$

式中: $\hat{x}$ 为经不同算法降噪后重构的超分辨图像; $x$

利用 Deep-STORM 算法对不同算法降噪后的

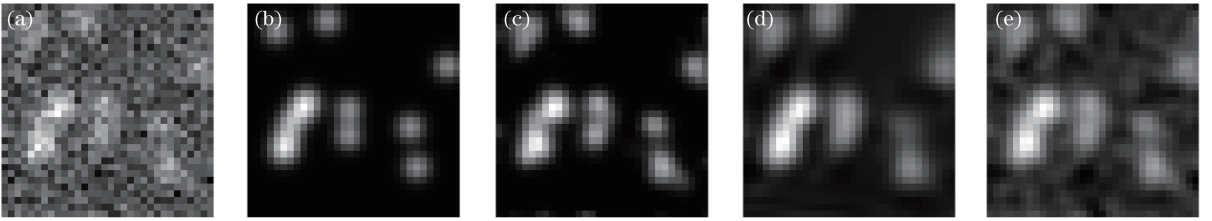


图 8 不同降噪算法恢复的荧光图像。(a)仿真得到的低信噪比荧光图像;(b)仿真得到的无噪声荧光图像;(c)所提卷积神经网络算法恢复的荧光图像;(d) BM3D算法恢复的荧光图像;(e)高斯滤波算法恢复的荧光图像

Fig. 8 Fluorescence images recovered by different noise reduction algorithms. (a) Simulated fluorescence images with low signal-to-noise ratio; (b) simulated noise-free fluorescence image; (c) fluorescence image recovered by proposed convolution neural network algorithm; (d) fluorescence image restored by BM3D algorithm; (e) fluorescence image recovered by Gaussian filter algorithm

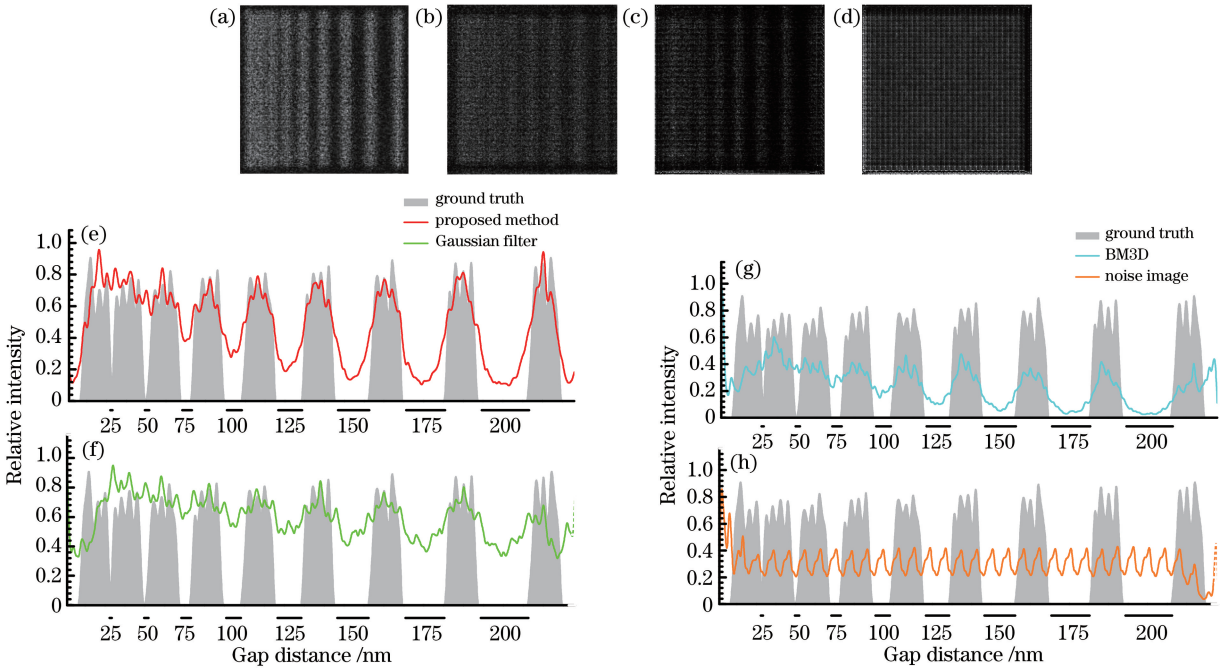


图 9 不同算法降噪后重构的超分辨图像及其相对强度分布。(a)所提卷积神经网络算法降噪后重构的超分辨图像;(b)高斯滤波算法降噪后重构的超分辨图像;(c) BM3D算法降噪后重构的超分辨图像;(d)未经降噪直接重构的超分辨图像;(e)~(h)相对强度分布的对比

Fig. 9 Reconstructed super-resolution images by different denoise algorithms and relative intensity distribution. (a) Reconstructed super-resolution image after noise reduction with proposed convolutional neural network algorithm; (b) reconstructed super-resolution image after noise reduction with Gaussian filter algorithm; (c) reconstructed super-resolution image after noise reduction with BM3D algorithm; (d) directly reconstructed super-resolution image; (e)-(h) relative intensity

为无噪声荧光图像重构的超分辨图像。对于经所提卷积神经网络、高斯滤波、BM3D算法降噪后的图像,采用 Deep-STORM 算法重构超分辨图像,超分辨图像的归一化均方误差分别为 7.5%、24.5%和 19.72%。对经过上述三种算法降噪后再采用 Deep-STORM 重构的超分辨图像的归一化均方误差进行对比,可以看到,Deep-STORM 算法配合所提所提卷积神经网络可以达到更小的重构误差。重

构误差的降低可以带来图像分辨率的提升。图 9 (e)~(h)分别对应着图 9(a)~(d)在 X 方向上的相对强度分布与图 7(c)相对强度分布(灰色)的对比。通过对比可以看到:经所提卷积神经网络算法降噪后重构的超分辨图像可以明显分辨出 75 nm 的间隙,勉强可以分辨出 50 nm 的间隙;而经过高斯滤波算法降噪后重构的超分辨图像仅仅能勉强分辨 100 nm 的间隙;经 BM3D 算法降噪后重构的超分



辨图像也能分辨 75 nm 的间隙,但图像的对比度相较于所提卷积神经网络算法降噪后重构的超分辨图像明显下降。

#### 4 实验应用分析

图 10(a)是采用 ER Tracker<sup>[27]</sup>染料分子标记

的内质网结构,单帧激发密度为  $5 \mu\text{m}^{-2}$ ,一共采集 3020 帧图像。荧光分子的发射波长为 660 nm,显微镜的数值孔径为 1.49。内质网的标记需要特定的荧光染料,因此导致信噪比在 STORM 实验中处于非常低的水平。图 10 为低信噪比实验条件下的荧光图像和内质网的宽场图像。

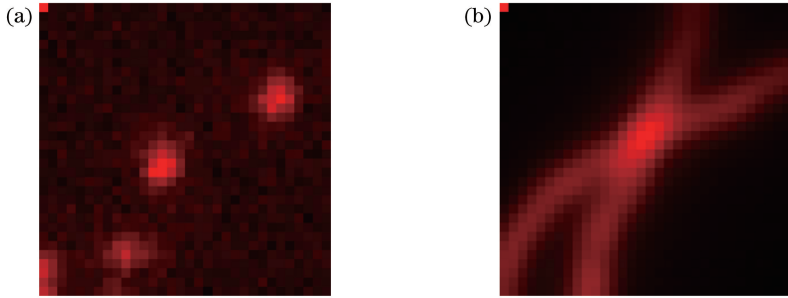


图 10 实验采集的低信噪比荧光图像和内质网宽场图像。(a) 荧光图像;(b) 内质网的宽场图像

Fig. 10 Low signal-to-noise ratio fluorescence image and wide field image of endoplasmic reticulum collected in experiment. (a) Fluorescence image; (b) wide-field image of endoplasmic reticulum

图 11(a)~(c)所示为经不同算法降噪后的低信噪比图片的对比图。通过对比可以看到:所提卷积神经网络算法基本能够滤除背景光的影响,而 BM3D 和高斯滤波算法无法有效地滤除背景光。图

11(d)~(f)所示为 Deep-STORM 算法重构结果的对比,可见:经所提卷积神经网络算法降噪后重构的超分辨图像最为清晰,更接近成像目标的真实结构;而经高斯滤波算法降噪后重构的荧光图像由于未能

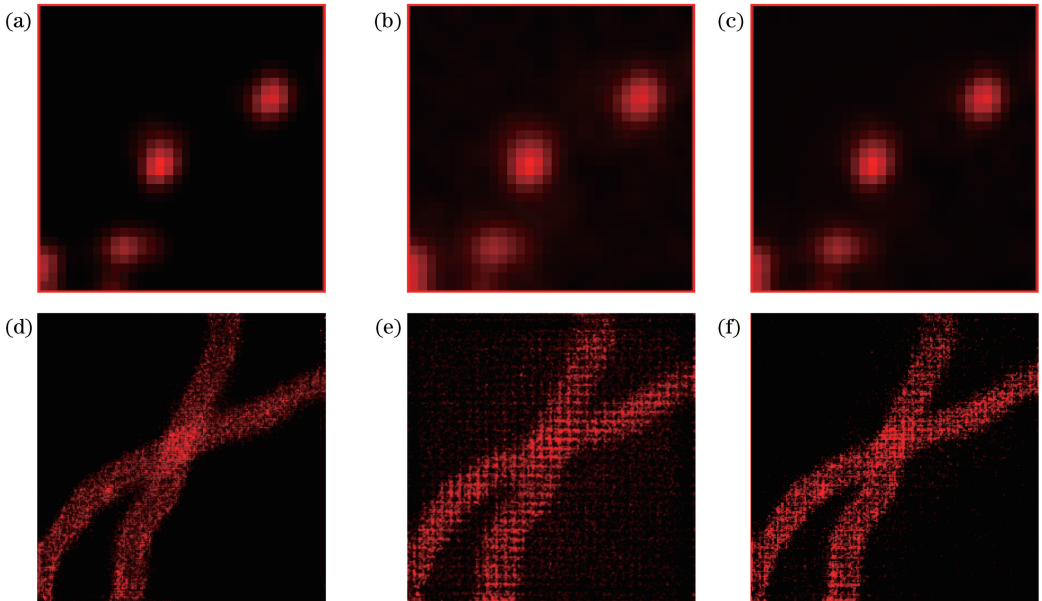


图 11 不同算法降噪后的荧光图像及降噪后重构的超分辨图像。(a) 所提卷积神经网络算法对荧光图像的恢复图;(b) BM3D 算法对荧光图像的恢复图;(c) 高斯滤波算法对荧光图像的恢复图;(d) 经所提卷积神经网络算法降噪后重构的超分辨图像;(e) 经高斯滤波算法降噪后重构的超分辨图像;(f) 经 BM3D 算法降噪后重构的超分辨图像

Fig. 11 Fluorescence images denoised by different algorithms and reconstructed super-resolution images after noise reduction. (a) Restoration of fluorescence image obtained by proposed convolutional neural network; (b) restoration of fluorescence image obtained by BM3D algorithm; (c) restoration of fluorescence image obtained by Gaussian filter algorithm; (d) reconstructed super-resolution image after noise reduction with proposed convolutional neural network algorithm; (e) reconstructed super-resolution image after noise reduction with Gaussian filter algorithm; (f) reconstructed super-resolution image after noise reduction with BM3D algorithm



完全滤除背景光,内质网周围存在大量无用的噪声信息。通过对比图 11(d)与图 11(f)可以看出,对于经 BM3D 算法降噪后重构的超分辨图像,其内质网周围存在很多噪点。

为验证分辨率的提升,利用 mEos2 荧光蛋白标记细胞微管,收集到的荧光图像和宽场图像如图 12 (a)和图 12(b)所示。由图 12(a)可以看到,荧光蛋白本身的发光特性使得采集过程中收集不到足够的

光子,导致图像信噪比过低。

不同降噪算法降噪后的荧光图像如图 13(a)所示,可以看到:BM3D 算法无法恢复较弱的荧光分子信号,如图 13(a)中虚线圆圈所示;高斯滤波和所提卷积神经网络算法能够有效提取荧光信号,但高斯滤波无法完全滤除背景光噪声,导致降噪后的荧光图像中保留了较多的背景光信息,从而使后续重构的超分辨图像中产生了较多噪点。

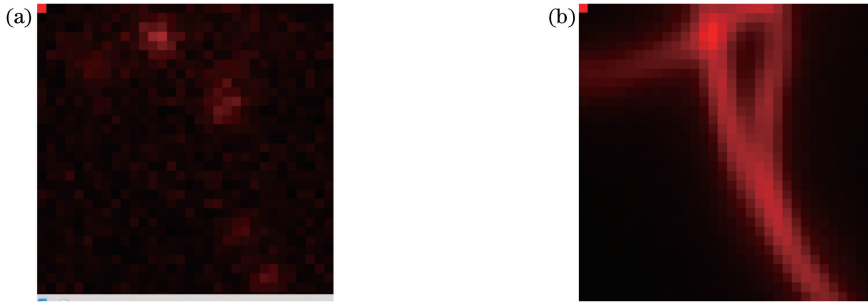


图 12 低信噪比荧光图像以及细胞微管的宽场图像。(a)低信噪比荧光图像;(b)细胞微管的宽场图像

Fig. 12 Fluorescence image with low signal-to-noise and wide field images of microtubules. (a) Fluorescence image with low signal-to-noise; (b) wide-field image of microtubules

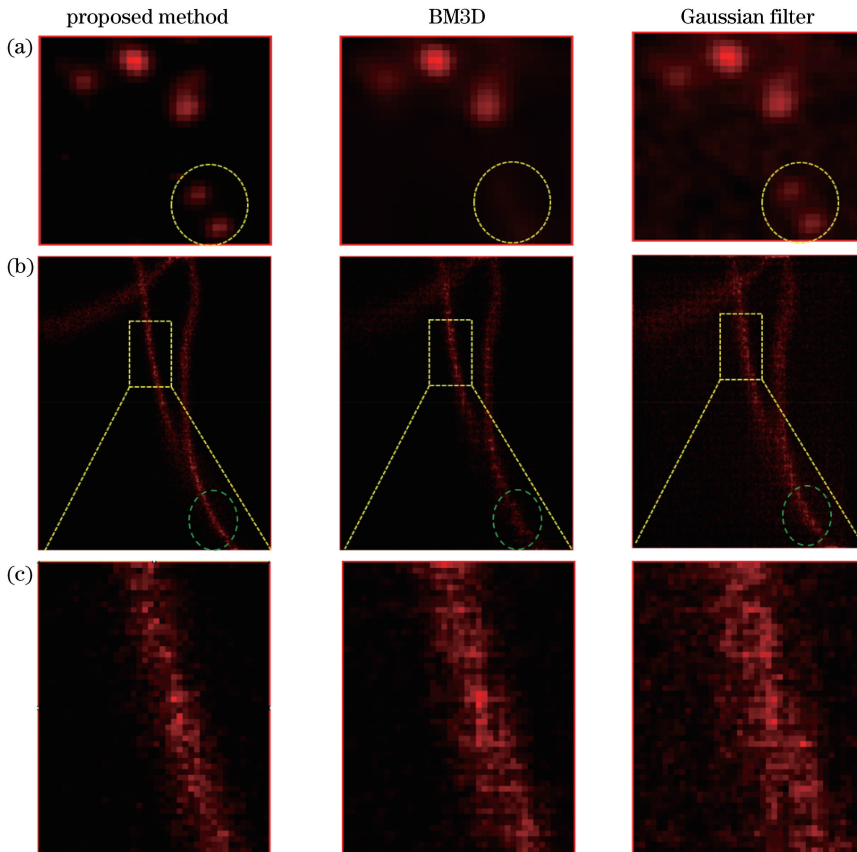


图 13 不同算法对细胞微管降噪后的荧光图像及其超分辨图像。(a)不同算法降噪后的荧光图像;(b)不同算法降噪后重构的超分辨图像;(c)放大的微管细节

Fig. 13 Fluorescence images of microtubules after noise reduction by different algorithms and their super-resolution images. (a) Fluorescence images after noise reduction by different algorithms; (b) super-resolution images reconstructed after noise reduction by different algorithms; (c) enlarged microtubules

不同算法降噪后重构的超分辨图像如图 13(b) 所示。对比图 13(b) 中虚线方框中的微管可以看出:经所提卷积神经网络算法降噪后重构的微管纤维结构相较于 BM3D 算法降噪后重构的结果更加清晰,经高斯滤波算法降噪后重构的微管纤维附近出现了许多噪点,降低了图像质量。图 13(b) 方框区域的放大图如图 13(c) 所示,对比不同算法对应的图 13(c) 中的纤维结构可以明显看到,经所提卷积神经网络算法降噪后重构的微管更加精细,其他算法降噪后重构的微管的分辨率出现了不同程度的降低。

## 5 结 论

本文提出了一种用于高密度、低信噪比荧光图像降噪的卷积神经网络。通过对 STORM 实验中存在的噪声成分进行分析,利用仿真方法生成了用于降噪的数据集,并采用该数据集对网络进行了训练。训练的网络可以对不同信噪比下的荧光图像进行降噪。结果表明:所提卷积神经网络算法对荧光图像的降噪能力明显优于 BM3D 算法和高斯滤波算法;该算法配合 Deep-STORM 算法可以在极低信噪比和高激发密度条件下实现超分辨图像的重构。实验条件下的数据表明,在特定的染料分子标记造成的低信噪比成像条件下,该算法配合 Deep-STORM 能够实现更好的超分辨成像结果。

本文结果对极低信噪比条件下超分辨图像的重构具有参考意义。

## 参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] Zhu L, Zhang W, Elnatan D, et al. Faster STORM using compressed sensing [J]. *Nature Methods*, 2012, 9(7): 721-723.
- [4] Nehme E, Weiss L E, Michaeli T, et al. Deep-STORM: super-resolution single-molecule microscopy by deep learning [J]. *Optica*, 2018, 5(4): 458.
- [5] Pan W H, Chen B L, Zhang J G, et al. Compressed sensing STORM super-resolution image

reconstruction based on noise correction-principal component analysis preprocessing algorithm [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2020, 47(2): 0207024.

潘文慧, 陈秉灵, 张建国, 等. 基于噪声校正主成分分析的压缩感知 STORM 超分辨图像重构[J]. *中国激光*, 2020, 47(2): 0207024.

- [6] Dempsey G T, Vaughan J C, Chen K H, et al. Evaluation of fluorophores for optimal performance in localization-based super-resolution imaging [J]. *Nature Methods*, 2011, 8(12): 1027.
- [7] Zuo C, Feng S J, Zhang X Y, et al. Deep learning based computational imaging: status, challenges, and future [J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(1): 0111003.  
左超, 冯世杰, 张翔宇, 等. 深度学习下的计算成像: 现状、挑战与未来[J]. *光学学报*, 2020, 40(1): 0111003.
- [8] Wang H, Rivenson Y, Jin Y, et al. Deep learning enables cross-modality super-resolution in fluorescence microscopy[J]. *Nature Methods*, 2019, 16(1): 103.
- [9] Li S M, Lei G Q, Fan R. Depth map super-resolution reconstruction based on convolutional neural networks [J]. *Acta Optica Sinica*, 2017, 37(12): 1210002.  
李素梅, 雷国庆, 范如. 基于卷积神经网络的深度图超分辨率重建 [J]. *光学学报*, 2017, 37(12): 1210002.
- [10] Zhu Y, Shi J H, Wu X Y, et al. Photon-limited non-imaging object detection and classification based on single-pixel imaging system [J]. *Applied Physics B*, 2020, 126(1): 21.
- [11] Zhang K, Zuo W M, Chen Y J, et al. Beyond a Gaussian denoiser: residual learning of deep CNN for image denoising [J]. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2017, 26(7): 3142-3155.
- [12] Zhou W J, Zou S, He D K, et al. Speckle noise reduction of holograms based on spectral convolutional neural network [J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(5): 0509001.  
周文静, 邹帅, 何登科, 等. 频谱卷积神经网络实现全息图散斑降噪 [J]. *光学学报*, 2020, 40(5): 0509001.
- [13] Hirsch M, Wareham R J, Martin-Fernandez M L, et al. A Stochastic model for electron multiplication charge-coupled devices-from theory to practice [J]. *Plos One*, 2013, 8(1): e53671.
- [14] Plakhotnik T, Chennu A, Zvyagin A V. Statistics of single-electron signals in electron-multiplying charge-coupled devices [J]. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 2006, 53(4): 618-622.

- [15] Huang G, Liu Z, Laurens V D M, et al. Densely connected convolutional networks [C] // 2017 IEEE conference on Computer Vision and Pattern Recognition. July 21-26, 2017. Honolulu, Hi, USA. New York: IEEE Press, 2017: 17355312.
- [16] Sun L, Shi J H, Wu X Y, et al. Photon-limited imaging through scattering medium based on deep learning[J]. Optics Express, 2019, 27(23): 33120-33134.
- [17] Li Y Z, Xue Y J, Tian L. Deep speckle correlation: a deep learning approach toward scalable imaging through scattering media[J]. Optica, 2018, 5(10): 1181-1190.
- [18] Li S, Deng M, Lee J, et al. Imaging through glass diffusers using densely connected convolutional networks[J]. Optica, 2018, 5(7): 803-813.
- [19] Salakhutdinov R, Mnih A, Hinton G. Restricted Boltzmann machines for collaborative filtering [C] // Proceedings of the 24th international conference on Machine learning-ICML'07. June 20-24, 2007. Corvallis, Oregon. New York: ACM Press, 2007: 791-798.
- [20] Hinton G E, Srivastava N, Krizhevsky A, et al. Improving neural networks by preventing co-adaptation of feature detectors[Z/OL]. 2012: arXiv: 1207.0580 [2020-04-28]. <https://arxiv.org/abs/1207.0580>.
- [21] He K M, Zhang X Y, Ren S Q, et al. Deep residual learning for image recognition [J]. 2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), 2016: 770-778.
- [22] Huang F, Schwartz S L, Byars J M, et al. Simultaneous multiple-emitter fitting for single molecule super-resolution imaging [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2(5): 1377-1393.
- [23] Kingma D P, Ba J. Adam: a method for stochastic optimization[Z/OL]. 2014: arXiv:1412.6980 [2020-04-28]. <https://arxiv.org/abs/1412.6980>.
- [24] Abadi M, Agarwal A, Barham P, et al. TensorFlow: large-scale machine learning on heterogeneous distributed systems[J]. 2016: arXiv: 1603.04467 [2020-04-28]. <https://arxiv.org/abs/1603.04467>.
- [25] Hou Y K, Zhao C X, Yang D Y, et al. Comments on “image denoising by sparse 3-D transform-domain collaborative filtering” [J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2011, 20(1): 268-270.
- [26] Holden S J, Uphoff S, Kapanidis A N. DAOSTORM: an algorithm for high-density super-resolution microscopy[J]. Nature Methods, 2011, 8(4): 279-280.
- [27] Cole, Davies, Hyde, et al. ER-Tracker dye and BODIPY-brefeldin A differentiate the endoplasmic reticulum and Golgi bodies from the tubular-vacuole system in living hyphae of *Pisolithus tinctorius* [J]. Journal of Microscopy, 2000, 197(3): 239-249.