

基于深度学习的荧光显微成像技术及应用

李浩宇, 曲丽颖, 华子杰, 王新伟, 赵唯淞, 刘俭*

哈尔滨工业大学仪器科学与工程学院, 现代显微仪器研究所, 黑龙江 哈尔滨 150080

摘要 近年来, 荧光显微成像技术由于良好的特异性、高的对比度和信噪比等性能优势, 被广泛应用于生物物理学、神经科学、细胞学、分子生物学等生命科学研究的各个领域。然而, 传统的荧光显微镜仍然存在分辨率、成像速度、成像视场、光毒性和光漂白等的相互限制, 使其在亚细胞结构观测、活体生物超精密成像和分子结构研究领域的应用受到了极大阻碍。由于传统荧光显微镜的局限性, 研究人员将目光投向了由数据驱动的深度学习方法。基于深度学习的显微镜的出现, 丰富了现有的光学显微成像技术, 大数据量的训练突破了传统光学显微镜所能够达到的功能和性能的疆界。本文聚焦基于深度学习的荧光显微成像技术, 首先对深度学习的基本原理以及发展过程进行简要概述, 随后针对深度学习在荧光显微成像领域近年来的国内外最新成果进行总结, 之后通过与传统显微成像系统进行对比, 阐述了深度学习在解决荧光显微成像问题上的优越性, 最后对深度学习在显微成像技术上的应用前景进行了展望。

关键词 显微; 深度学习; 荧光显微镜; 超分辨; 光学成像

中图分类号 O436

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202158.1811007

Deep Learning Based Fluorescence Microscopy Imaging Technologies and Applications

Li Haoyu, Qu Liying, Hua Zijie, Wang Xinwei, Zhao Weisong, Liu Jian*

Advanced Microscopy and Instrumentation Research Center, School of Instrumentation Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150080, China

Abstract In recent years, fluorescence microscopy has been commonly applied in various fields of scientific research, such as biophysics, neuroscience, cell biology, and molecular biology, owing to its specificity, high contrast, and high signal-to-noise ratio. However, traditional fluorescence microscopes have limitations regarding spatial resolution, imaging speed, field of view, phototoxicity, and photobleaching; these limitations compromise their applications in subcellular observation, *in vivo* imaging, and molecular structure profiling. To moderate such limitations, researchers have adopted data-driven deep learning methods, which can enrich the existing fluorescence microscopy technologies and boost the performance boundary of traditional fluorescence microscopy. This article focuses on the technologies and applications of deep learning based fluorescence microscopy. First, we briefly summarize the basic principle and development path of deep learning technologies; then, we introduce the latest domestic and global progress of deep learning based fluorescence microscopy. Compared with the traditional microscopic imaging system, we show the superiority of deep learning in solving fluorescence microscopy problems. Finally, the future potential of developing deep learning based microscopy is highlighted.

Key words microscopy; deep learning; fluorescence microscope; super-resolution; optical imaging

OCIS codes 180.2520; 100.4996; 170.3880

收稿日期: 2021-06-01; 修回日期: 2021-07-22; 录用日期: 2021-08-09

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(51975159、61805057)、中国科协青年托举项目(2018QNRC001)

通信作者: *liujian@hit.edu.cn

1 引言

2014 年诺贝尔化学奖授予了在超分辨荧光显微技术领域取得杰出成就的三位科学家,他们开创性的成就使得通过光学显微镜可以窥探纳米世界,这标志着光学显微镜的分辨率由亚微米级进入了纳米级。荧光显微镜是生命科学领域研究细胞、组织和生物体时空动力学行为不可或缺的工具。现有的荧光显微镜^[1-8]将成像分辨率从几百纳米提高至几纳米,实现了生物精细结构与精细动态过程的高分辨率成像^[9-19]。然而,记录生物过程的质量不仅取决于光学设备的空间分辨率^[20],还取决于时间分辨率、实验总持续时间、成像深度、可达到的荧光团密度、光漂白性和光毒性等^[20-29]。而受样本健康和最大光子预算的限制,上述因素存在相互制约关系,不可能同时优化。例如,通过减少曝光时间提高成像速度的同时会牺牲信噪比。因此,荧光显微镜在亚细胞结构观测、活体生物超精密成像和分子结构研究领域的应用上仍存在一定局限性。目前,针对上述局限性主要有两类解决方法:第一类方法是优化显微镜硬件^[30-36];第二类方法是使用提高显微图像质量的算法以及优化光路硬件,提高提取信息的效率^[37-42]。由于物理条件的限制,光路硬件优化很难突破,因此,计算算法成为实现高质量图像重建的重要组成部分。图像重建算法的突破不仅能提高图像质量,还能为开发新的成像模式提供思路^[43]。

常见的图像重建算法包括基于荧光分子物理特性的统计超分辨算法^[44-49]、基于相应成像模型的反卷积算法^[50-54]、基于形态学模型的表面投影算法^[55-56]和基于数据驱动的深度学习方法^[57-58]等。上述算法均可以巧妙地绕过物理限制,在一定程度上克服荧光显微镜的缺陷,更好地恢复生物信息。与其他算法相比,深度学习能够更充分地利用现有数据的先验知识,针对特定任务的信息恢复能力更强^[43];深度学习利用神经网络进行数据驱动的统计推断,不需要对成像过程进行数值建模或估计点扩散函数;深度学习可以实现端到端的图像转换,不需要显式的分析建模;深度学习预训练好的深层网络无需任何迭代或参数搜索即可快速实现高性能显微功能。基于上述优势,深度学习已成为弥补荧光显微镜缺点的一种有效方法。

本文聚焦于深度学习荧光显微成像技术,旨在帮助研究人员了解深度学习荧光显微成像技术的基本知识、应用和发展趋势,为该领域科学研究提供参

考。本文首先简要介绍了深度学习的基本原理;然后分析了几种典型荧光显微镜的主要缺陷,并通过举例方式阐述了深度学习在解决荧光显微成像问题上的优越性;最后总结了深度学习仍然存在的问题,并对深度学习显微成像领域未来的发展趋势进行了展望。

2 深度学习的原理

2.1 深度学习的基本概念及其发展历程

深度学习是隶属于机器学习算法的一项新兴技术,其发展是由仿照人脑分析学习的神经网络的建立和仿真所推动的。传统的学习算法大多属于简单学习,只具有浅层结构,一般仅包含一两层非线性特征变换层,很难解决一些复杂的自然信号处理问题^[59-63]。深度学习通过学习深度非线性网络结构来表征输入数据,能够实现对复杂函数的逼近,具有直接从样本集学习整体数据集本质特征的强大能力,更加适用于计算机视觉领域,能够用于解决荧光显微成像领域中传统荧光显微镜无法解决的问题。

深度学习的发展迄今为止经历了三次浪潮,跌宕起伏,总的来说可以分为三个阶段:1943—1969 年为起源阶段,在此期间各种人工智能的概念被相继提出^[64-68];1974—2006 年为发展阶段,具有代表性的技术,如反向传播算法、循环神经网络、CNN 等深度生成架构逐步成形^[69-79];2006 年至今为爆发阶段,深度学习在科学与技术的各个领域开始广泛应用^[80-86]。

起源阶段:1943 年,随着 McCulloch & Pitts 神经元模型的提出^[64],人工神经网络的研究由此开始。随后,“感知器”的提出^[66]掀起了第一次神经网络研究的热潮。然而,美国数学家 Minsky 等^[68]于 1969 年提出了单层感知器无法解决线性不可分问题的论断,自此,人工神经网络的发展陷入了停滞。

发展阶段:1986 年,Hinton 教授提出了适用于多层感知器的反向传播算法(BP 算法)^[76],有效解决了非线性分类和学习的问题,使得人工神经网络进入发展阶段,多种模型被陆续提出。然而,1991 年 BP 算法被指出存在梯度消失的问题,这一问题阻碍了其有效地学习数据分布,因此,人工神经网络的发展陷入了二次停滞。

爆发阶段:2006 年,Hinton 教授等^[80]针对深层神经网络训练中梯度消失的问题提出了解决方案,并正式提出“深度学习”的概念。随后,2012 年提出的

AlexNet 模型以及 2015 年提出的 ResNet 模型^[83] 由于在 ImageNet 竞赛中的优异表现,得到了人们的广泛关注,自此,深度学习进入爆发阶段。

深度学习的不断发展使其在各个领域被广泛应用,深度学习显微成像技术应运而生。

2.2 深度学习的方法

2.2.1 监督学习

监督学习是目前最常见的机器学习类型^[87],其输入是有人工标注的样本,通过调整分类器的参数,可以实现从输入数据到已知目标输出的映射。监督学习主要包括分类和回归。在分类问题中,深度学习网络预测离散值并将输入变量与离散类别关联;在回归问题中,深度学习网络使用连续函数将输入与输出关联起来。

2.2.2 无监督学习

无监督学习是指在没有人工标注(标签)的情况下,通过计算机学习去自动寻找输入数据间的关系^[88]。目前,无监督学习主要用于数据可视化、数据压缩以及数据去噪。其中,降维和聚类是目前最流行的两种无监督学习方法。

2.2.3 强化学习

强化学习^[89]使用奖惩系统预测学习模型的下一步,用于解决智能体在与环境交互过程中通过学习策略达成回报最大化或实现特定目标的问题。强化学习的常见模型是标准的马尔可夫决策过程,主要用于解决游戏和机器人常见的决策问题。强化学习可以分为基于模式的强化学习和无模式强化学习,以及主动强化学习和被动强化学习。求解强化学习问题所使用的算法可以分为策略搜索算法和值函数算法两类。

2.3 深度学习架构

随着近年来深度学习的发展,人工神经网络也取得了重大发展,出现了丰富的深度学习架构。在众多的深度学习框架中,深度学习荧光显微成像领域沿用了许多在计算机视觉领域表现出色的网络架构,并对其进行了优化与创新。

2.3.1 卷积神经网络

卷积神经网络(CNN)是计算机视觉领域应用最广泛的网络^[70],具有权重共享、局部区域感知,以及可在空间或时间上池化、下采样三大特点;因此,CNN 模型在结构上更加简单,大大减少了网络中的权值数量。上述特点也使得 CNN 在面对数据量庞大的图像识别问题时,可以通过降维的方法解决问

题,因此在视觉识别任务中表现出色,被广泛应用于显微成像领域^[90-96]。

2.3.2 U-Net

U-Net 是 Ronneberger 等^[97]提出的对 CNN 体系结构进行修改和扩展的网络。U-Net 具有 U 型结构和跳层连接两个特点,如图 1(a)所示。U 型结构由一组对称的收缩路径和扩张路径组成,U-Net 在收缩路径与扩张路径上的采样次数相同,可将得到的高尺度特征图恢复到原图片的分辨率。跳层连接得到的输出特征图融合了低层特征,可以进行多尺度预测,使得分割图中恢复的边缘等信息更加精细。近年来,U-Net 在显微成像领域应用广泛,能够用更少的训练图像,产生更精确的图像分割效果^[98-104]。

2.3.3 条件生成对抗网络

生成对抗网络(GAN)通过生成器和判别器的博弈,得到一个自动学习原始真实数据集分布的生成器,可以生成接近真实的图像^[84]。条件生成对抗网络(CGAN)是 GAN 的一种改进网络^[105],通过给原始 GAN 的生成器和判别器添加额外的条件信息,实现条件生成模型,如图 1(b)所示。CGAN 解决了 GAN 生成图像的随机性问题,更适用于显微成像领域观测复杂的生物行为^[102,106-111]。

2.3.4 深度残差通道注意力网络

深度残差通道注意力网络(RCAN)的主要特点是使用了残差结构和通道注意力机制(CA),使得网络更深,并提高了网络的表征能力^[112]。

注意力机制起源于“Transformer”架构^[113],被用于解决机器翻译任务中的长期依赖问题。Transformer 中的自注意机制(self attention)是一种将单个序列的不同位置联系起来以计算序列表示的注意力机制。Transformer 使用多个注意力头,而不是单一的注意力函数,即由实际的“单词”本身来控制注意力。在一个多头注意力中,输入表示的每一部分都与输入表示的其他部分进行交互,以获得更好的上下文含义。

RCAN 将注意力机制应用于 CNN 以及计算机视觉领域,更好地解决了随着深度神经网络层数的堆叠,网络对数据表征能力提升不足的问题。在超分辨任务中,不同通道捕捉的网络特征不同,对高频特征恢复的贡献也不同。RCAN 的 CA 机制通过对特征通道之间的相互依赖性建模来自适应地重新缩放每个通道的特征,如图 1(c)所示,能更好地恢复图像的高频细节^[114]。

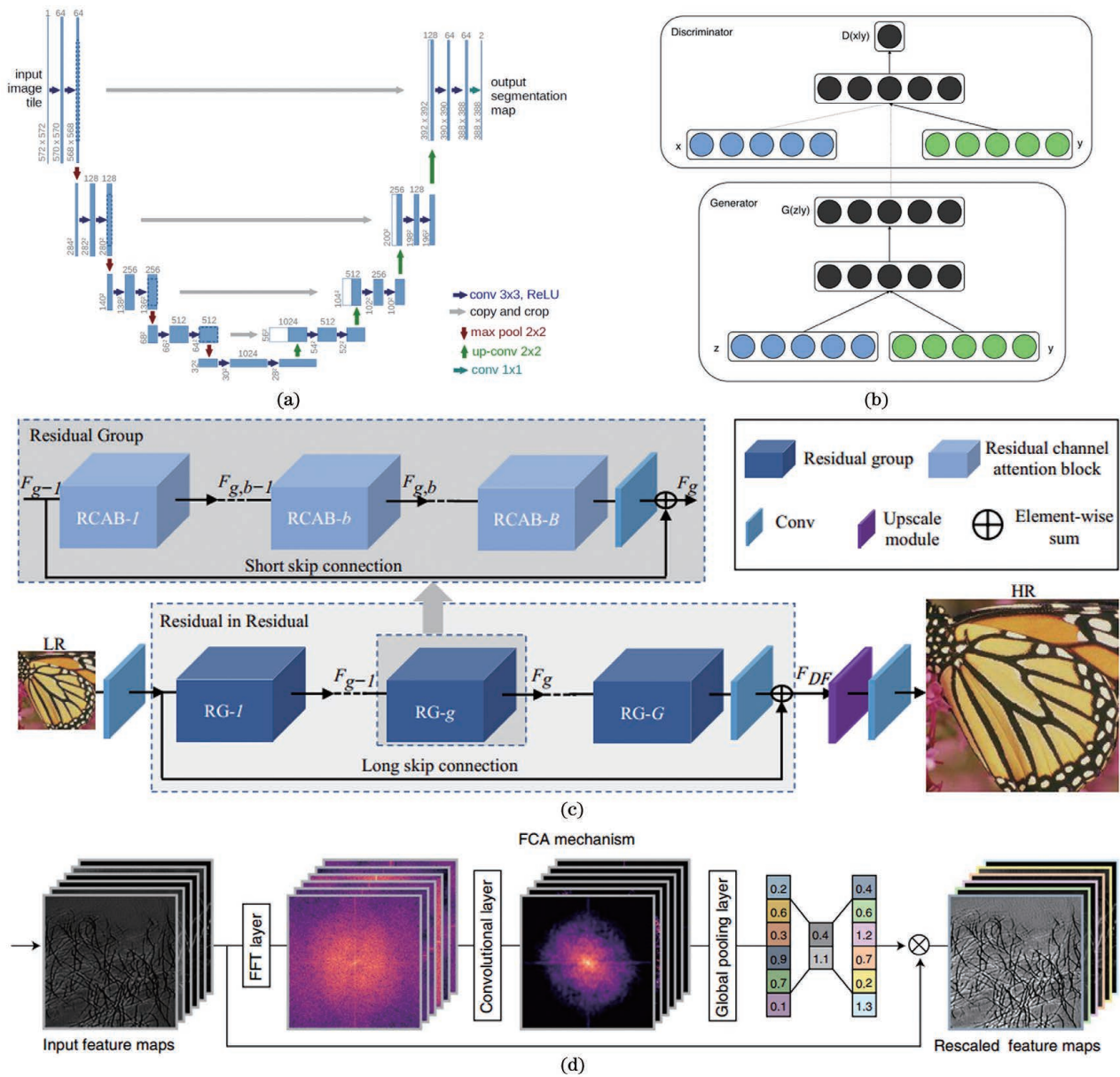


图 1 深度学习架构原理图。(a)U-Net 网络结构图^[97]；(b)CGAN 原理图^[105]；(c)RCAN 原理图^[112]；(d)FCA 原理图^[110]

Fig. 1 Schematics of deep learning architecture. (a) U-Net network architecture^[97] ; (b) schematic of CGAN^[105] ; (c) schematic of RCAN^[112] ; (d) schematic of FCA^[110]

2.3.5 深度傅里叶通道注意力网络/DFGAN

深度傅里叶通道注意力网络(DFCAN)^[110]利用图 1(d)所示的傅里叶通道注意力机制(FCA),即傅里叶域中不同特征映射的功率谱差异,自适应地重新调整每个特征映射。相比之下,空间通道注意力机制(SCA)只利用了傅里叶域特征映射的平均强度(相当于零频率分量)。DFGAN(Deep Fourier Channel Attention Network Trained with Generative Adversarial Network)是使用了 GAN 架构的傅里叶通道注意力网络,将 DFGAN 应用在荧光显微成像领域,能够利用不同特征之间的频率

含量差异来学习不同结构的高频信息,从而有效提升图像质量,更清晰地观察生物结构。

3 深度学习在荧光显微成像中的应用

光学显微成像技术本身具有高分辨率、高通量(高速)、非侵入、低毒性等特点,将其与荧光蛋白以及荧光染料等标记物在细胞中的定位与表达技术相结合,研究人员可以特异性地分辨生物体乃至细胞内部不同的结构与成分,并且能够在生命体和细胞仍具有活性的状态下对其功能进行动态观察。典型的荧光显微成像主要有基于扫描照明的光片荧光显

微成像、共聚焦荧光显微成像、基于宽场照明(非扫描)的宽场荧光显微成像、光场荧光显微成像、采用超分辨技术的结构光照明荧光显微成像、受激发射损耗显微成像、单分子定位荧光显微成像。2017年,美国加州大学洛杉矶分校的 Ozcan 课题组^[115]在 *Optica* 上发表文章,第一次将深度学习技术应用于宽场显微图像转换中,并用 CNN 训练数据集,显著改善了宽场显微镜的性能,提高了宽场显微镜在大视场、大景深范围内的空间分辨率,开启了将深度学习与显微成像相结合的新时代。

3.1 共聚焦荧光显微成像

共聚焦荧光显微镜^[116]利用高度聚焦的激光束对样品逐点扫描成像,荧光信号经探测针孔滤波后被光电倍增管收集。针孔结构只允许激光焦点处激发的荧光通过探测针孔,有效滤除了离焦信号;而且,共聚焦荧光显微镜通过逐层扫描样品,可以实现三维成像。与普通宽场或点扫描荧光显微镜相比,共聚焦显微镜具有更高的信噪比和分辨率。然而,共聚焦荧光显微镜采用点扫描方式成像,需要逐像素扫描,理论上速度较慢;并且,共聚焦荧光显微镜采用大功率激发光聚焦照明,在获得高信噪比图像的同时相比于传统显微镜的光漂白性和光毒性更加严重。

与传统的点扫描共聚焦荧光显微镜相比,转盘共聚焦荧光显微镜采用的是多点并行的扫描方式,速度快,但信噪比较低,分辨率不如点扫描共聚焦荧光显微镜,且仍存在光漂白性和光毒性严重的问题。Weigert 等^[98]在 2018 年提出了基于深度学习的内容感知图像恢复网络(CARE),更好地解决了转盘共聚焦荧光显微镜光漂白性和光毒性严重的问题。

CARE 使用 U-Net 类三维网络,在采集过程中的光子数量减少为原来 1/60 的情况下,将低信噪比转盘共聚焦荧光显微图像恢复为高分辨显微图像,实现了生物样本在活体状态下的成像。

鉴于监督学习方法不仅费力而且存在容易出错的数据注释过程,清华大学的戴琼海课题组^[106]于 2021 年提出了无监督图像变换模型 UTOM (Unsupervised Content-Preserving Transformation for Optical Microscopy),更好地解决了共聚焦显微镜光漂白性严重的问题。UTOM 使用 Cycle-GAN 类网络,能够在不需要配对训练数据的情况下学习两个图像域之间的映射,在不同成像条件和不同模式下实现了稳定和高保真的图像转换。他们在共聚焦涡虫图像上进行了验证,如图 2(a)所示,并通过与相应的“真值”进行比较定量评估了转换图像的质量,证明了 UTOM 具有与一些最新的监督方法相当的性能。可以预见,无监督学习方法消除了对成对训练数据的依赖,使深度学习光学显微镜的更多应用成为可能。

传统共聚焦显微镜固有的点扫描机制意味着在足够空间分辨率和信噪比下对动态对象的捕获速度太慢,不适用于对高分辨率动态生物样本(例如线粒体、溶酶体等细胞器)成像。为了解决上述问题,生物学家不得不扫描更少的点来获取动态图像,但是更小的视场或更低分辨率的扫描会限制生物学家对精细动态过程的分析。基于深度学习的单幅图像超分辨(SISR)方法能够更好地解决共聚焦荧光显微镜的上述缺陷,且已经引起了研究人员的广泛关注。在共聚焦显微镜中,深度学习将获得的低扫描密度图像重建为高扫描密度图像,可以在获得相同

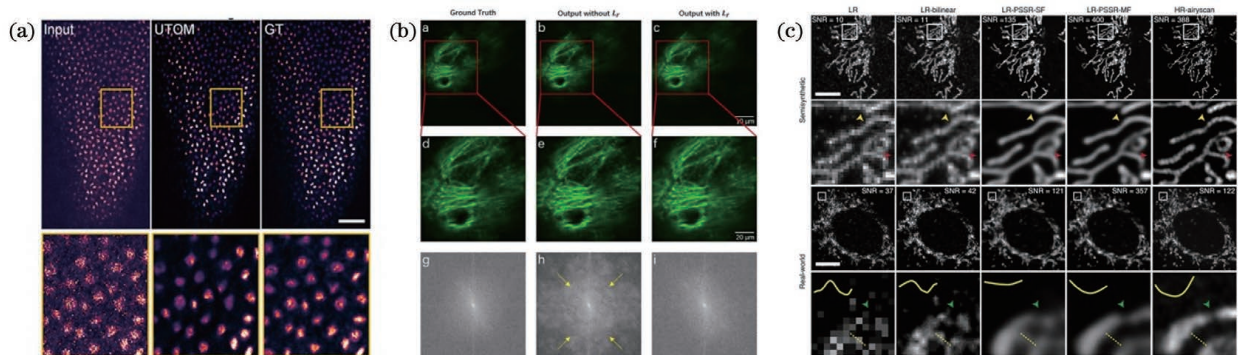


图 2 基于深度学习的共聚焦显微成像结果。(a) UTOM 算法的图像恢复结果^[106],标尺为 $50 \mu\text{m}$; (b) BPGAN 算法的超分辨成像结果^[107],标尺为 $10 \mu\text{m}$ 和 $20 \mu\text{m}$; (c) PSSR 算法在神经元线粒体上的成像结果^[99],标尺为 $10 \mu\text{m}$

Fig. 2 Confocal microscopy results based on deep learning. (a) Restored images using the UTOM algorithm^[106], where the scale bar represents $50 \mu\text{m}$; (b) super-resolution imaging using BPGAN^[107], where the scale bars are $10 \mu\text{m}$ and $20 \mu\text{m}$; (c) imaging on neuronal mitochondria using PSSR^[99], where the scale bar represents $10 \mu\text{m}$

质量高扫描密度图像的同时加快低扫描密度共聚焦显微成像的扫描过程。2020 年,清华大学深圳国际研究生院的 Li 等^[107]提出了基于深度学习的高分辨率共聚焦荧光显微算法(BPGAN),很好地解决了共聚焦荧光显微镜成像速度慢的问题。BPGAN 使用基于 GAN 的网络,能够获得与高分辨率共聚焦扫描相似的质量,而成像速度却提高了 64 倍。Li 等人在人乳腺上皮复苏培养细胞共聚焦图像上对所提算法进行了验证[图 2(b)]。

采用深度学习超分辨算法获得用于训练的高质量 and 低质量图像对十分困难,且活细胞无法准确获得完全对准的图像对。2021 年 3 月,Fang 等^[99]在 *Nature Methods* 上发表文章,提出了基于深度学习的点扫描显微成像超分辨算法(PSSR),该算法能够有效地对欠采样的点扫描显微图像进行超采样。在大量已存在的具有高信噪比、高像素分辨率的“真值”图像中加入噪声模拟低信噪比、低分辨率的图像,PSSR 用这些图像进行训练,无需获取任何新训练数据。PSSR 使用基于 ResNet 的 U-Net 网络,利用相邻视频帧的信息来减少闪烁伪影,成功恢复出了真实欠采样共聚焦荧光显微图像,如图 2(c)所示。

3.2 光片荧光显微成像

光片荧光显微成像^[117-118]是一种新型的三维体成像荧光显微技术,它利用片状光束照明样品并对照明平面进行二维成像,接着扫描光片在样品中的轴向位置,以此实现三维体成像。由于每帧二维图像对应的照明区域仅为光片覆盖的数微米薄层,因此可以有效抑制离焦杂散光对成像结果的干扰,有效提升成像结果的信噪比。然而,光片荧光显微镜仍然存在一些缺陷。当样品中含有的光密度较高的结构(如色素等)阻挡了激发光,或样品中包含的具有微透镜特性的物质(如脂质)导致光散射时,光片显微成像就会产生伪影;并且光片厚度与三维视场大小及轴向分辨率之间亦存在矛盾。

光片荧光显微镜进行快速体积成像时的轴向采样率较低,因此光片荧光显微镜的轴向分辨率远远低于横向分辨率,这种各向异性影响了精确测量属性(例如细胞的形状或体积)的能力。为了恢复各向同性的图像分辨率,Weigert 等^[98]提出了基于深度学习的内容感知图像恢复网络(CARE),成功恢复出了低信噪比的果蝇光片荧光显微三维投影图像。CARE 使用 U-Net 类三维网络,在轴向欠采样率为径向欠采样率 10 倍的情况下实现了接近

各向同性的分辨率。

虽然压缩盲反卷积去噪互补光束减法(CBS-CBDD)能够用于提高光片荧光显微镜的轴向分辨率,但其需要双重扫描,且计算量大。2019 年,中国科学院的 Bai 等^[90]提出了基于深度学习的光片显微成像方法(CBS-Deep)。CBS-Deep 使用 CNN 网络,通过一次扫描直接从传统的贝塞尔光束光片成像结果中重建出高质量图像,如图 3(c)所示,图像重建速度大约是 CBS-CBDD 方法的 100 倍,不仅解决了光片视场大小与分辨率之间的矛盾,还提高了图像的重建速度。

此外,受厚组织、光散射、视场等的限制,三维光片荧光显微镜的分辨率不足,导致其在一定时间内所能提供的光学信息(光子通量)不足,难以从三维生物样本中提取更多的空间信息,不能观测许多毫秒级的动态细胞过程。深度学习超分辨方法可以在不增加成像时间的情况下有效提高三维光片荧光显微镜的分辨率,从而提高吞吐量。2020 年,华中科技大学的费鹏课题组^[91]在 *Optica* 上发表文章,提出了提高三维光片荧光图像分辨率的快速计算方法 DVSR (Deep Learning Based Voxel-Super-Resolution),实现了高分辨率、高通量成像。DVSR 基于 CNN 网络对光片荧光显微图像[斑马鱼心脏,如图 3(a)所示]进行成像,在 $22\text{ mm} \times 22\text{ mm} \times 22\text{ mm}$ 视场内实现了 $1\text{ }\mu\text{m}^3$ 的体像素分辨率。接着,该课题组^[100]进一步设计了一种基于深度学习的附加光片荧光显微镜 Deep-SLAM (Deep-Learning Super-Resolution Light-Sheet Add-on Microscopy)。Deep-SLAM 附加一路垂直方向的照明在倒置宽场荧光显微镜的基座上,以此构成光片荧光显微镜。Deep-SLAM 使用 U-Net 类网络,成功实现了微小时间尺度上的小鼠大脑单个神经元成像,如图 3(b)所示,视场范围为 $10\text{ mm} \times 3\text{ mm} \times 5\text{ mm}$,证明了其具有将商业化二维显微镜转换为高通量三维光片荧光显微镜的能力。

3.3 光场荧光显微成像

光场荧光显微成像技术能够通过一次拍摄捕捉到目标物体位置、角度共 4 个维度的信息,通过后期处理即可达到图像三维重建的目的,在科研、工业及市场应用等方面具有巨大的应用潜力,为计算成像开辟了另一个方向。光场荧光显微镜^[119]的基本结构及原理如图 4 所示^[120],微透镜阵列及相机记录物体的空间与角度信息,由此,便可通过单帧图像解卷积得到物体的三维信息。

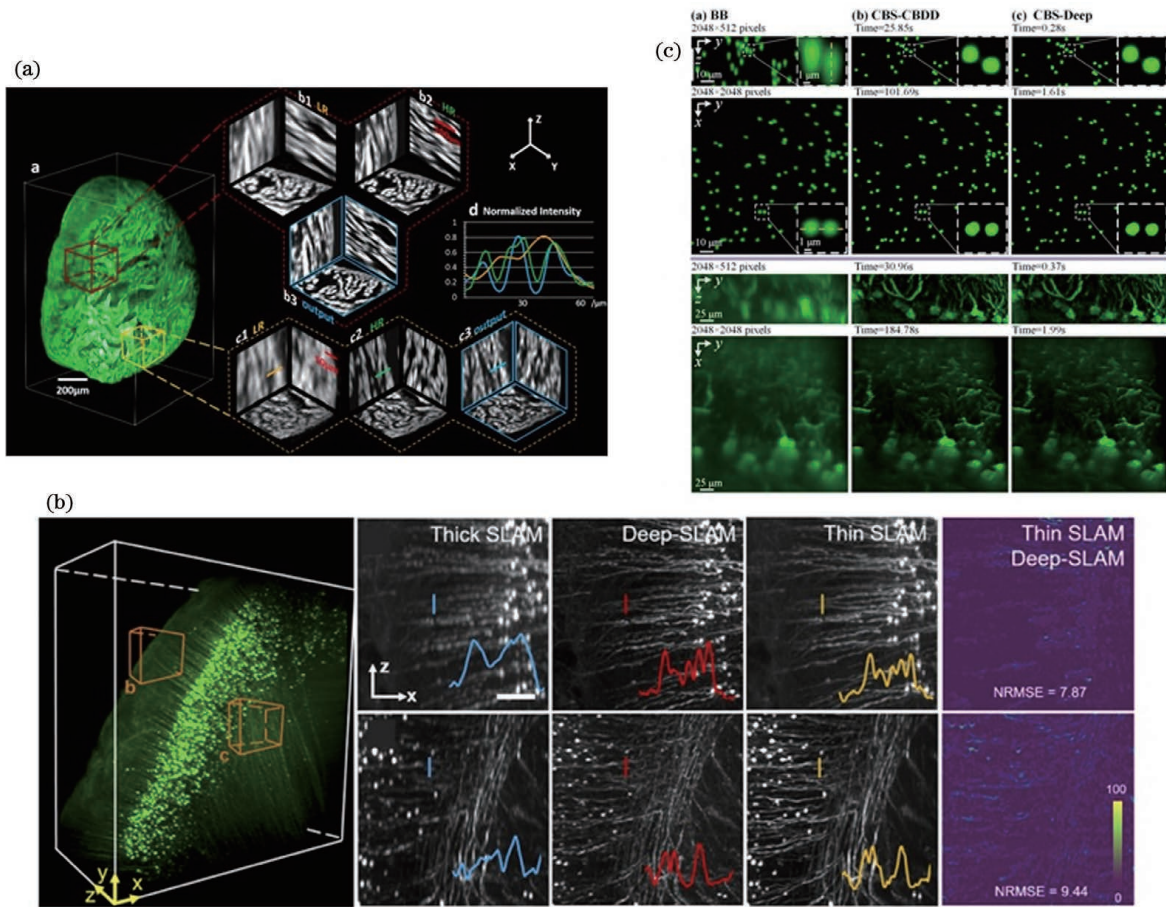


图 3 深度学习在光片荧光显微成像中的成像结果。(a)DVSR 算法在斑马鱼心脏上的重构效果^[91]；(b)Deep-SLAM 算法在小鼠大脑神经元/核上的重构结果^[100]，标尺为 100 μm；(c)使用 CBS-Deep 算法获得的荧光微球/小鼠脑切片图像^[90]

Fig. 3 Imaging results of deep learning in light-sheet fluorescence microscopy. (a) Reconstruction result of zebrafish hearts using DVSR algorithm^[91] ; (b) neural/nuclear reconstruction of the Deep-SLAM algorithm in mouse brain^[100] , where the scale bar is 100 μm ; (c) fluorescent microspheres/mouse brain slice images obtained using CBS-Deep algorithm^[90]

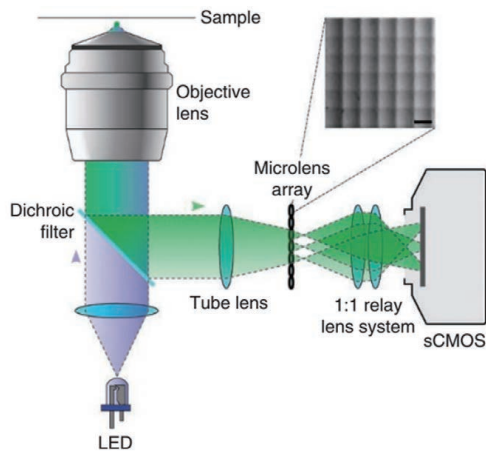


图 4 光场荧光显微镜示意图^[120]

Fig. 4 Schematic of light field fluorescence microscope^[120]

然而,光场荧光显微镜仍然存在一些问题:1)其空间分辨率和角度分辨率的采样存在矛盾,使得其空间分辨率普遍低于普通宽场荧光显微镜的空间分

辨率;2)其横向分辨率在轴向存在不均匀性;3)光场荧光显微镜在三维重构时存在伪影,会影响成像质量;4)三维解卷积过程需要大量的计算成本,限制了光场荧光显微镜的进一步应用。

许多活细胞动态成像任务(例如捕捉大脑神经元活动或者分析小动物心脏跳动)都要求在毫秒和数百微米尺度上解析这些动态过程。光场荧光显微镜存在的伪影、分辨率不均匀和重建速度慢的问题限制了它对样本中动态时空信息的全面提取能力(光吞吐量不足)。费鹏课题组^[101]于 2021 年在 *Nature Methods* 上发表文章,提出了视道深度神经网络光场荧光显微镜(VCD-LFM),该显微镜能够产生具有均匀空间分辨率和高视频率重建光通量的无伪影三维图像序列,解决了光场荧光显微镜空间分辨率不足的问题。VCD-LFM 使用 U-Net 架构学习合成光场图像,并通过训练的 VCD-Net 从记录

的光场图像中推断三维图像,能够以高达 200 Hz 的体积成像频率对斑马鱼心脏进行光场荧光显微成像,成像结果如图 5(a)所示。Wagner 等^[92]于 2021 年 5 月在 *Nature Methods* 上提出了基于光场荧光显微镜和光片显微镜的深度学习方法

(HyLFM),该方法使用 CNN 类网络,能够以视频级光通量提供高质量的三维重建;Wagner 等在光场荧光显微图像(青鳉心脏和斑马鱼神经活动)上对所提方法进行了验证,并进一步将体成像频率提高到了 100 Hz,如图 5(b)所示。

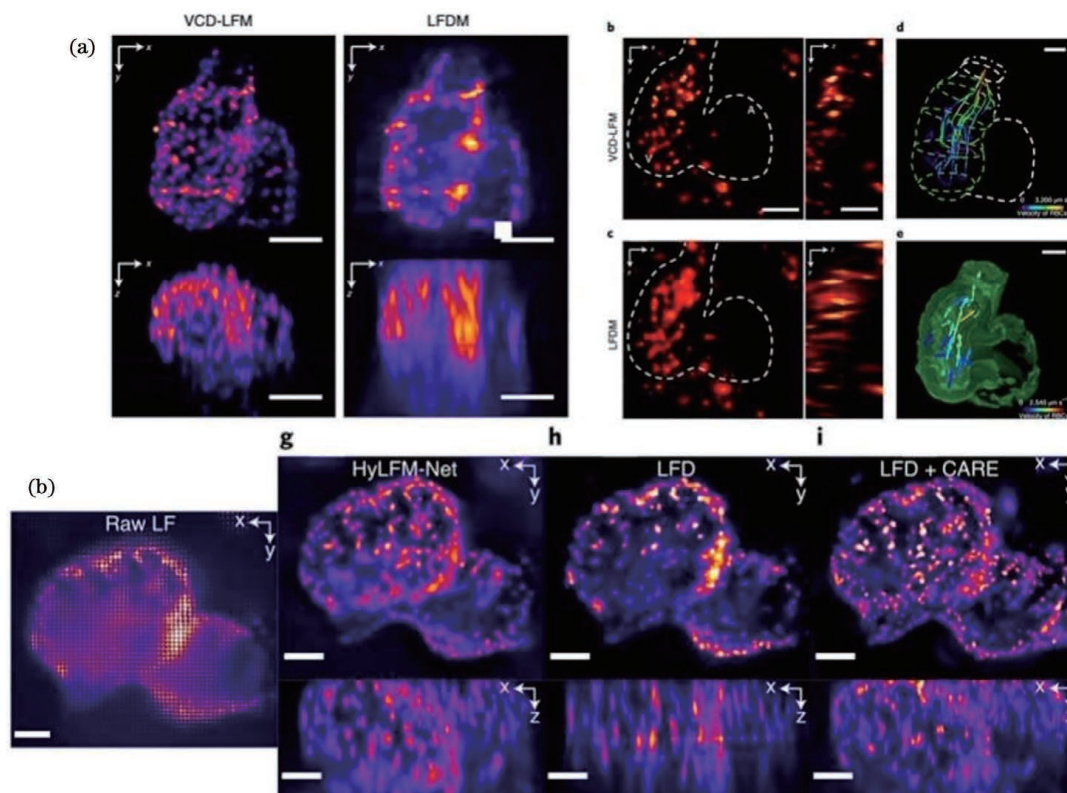


图 5 深度学习在光场荧光显微成像中的成像结果。(a)VCD-LFM 对斑马鱼心脏跳动时的成像结果^[101],标尺为 $50 \mu\text{m}$;
(b)HyLFM 算法对青鳉心脏的成像结果^[92],标尺为 $50 \mu\text{m}$

Fig. 5 Imaging results of deep learning in light-sheet fluorescence microscopy. (a) Imaging results of various cardiac dynamics in beating zebrafish heart using VCD-LFM^[101], where the scale bar is $50 \mu\text{m}$; (b) imaging results of HyLFM algorithm on medaka heart^[92], where the scale bar is $50 \mu\text{m}$

3.4 结构光照明荧光显微成像

结构光照明显微成像(SIM)^[121]利用包含条纹的调制光束照明样品,通过改变照明图案的方向和相位,得到多张成像结果,然后依靠图像重建算法获得超分辨图像。SIM 系统具有两倍于普通宽场显微镜的空间分辨率,能在低照度的情况下对活细胞进行长时间成像,因此是活体生物成像领域应用最广泛的超分辨显微系统。传统 SIM 系统的原理如图 6 所示^[122]。普通宽场荧光显微镜受衍射极限的限制,频谱覆盖范围为中心圆形的有限区域。如果将均匀的照明光转换成具有特定空间结构的结构光,就相当于在空间上对样本进行了调制,也就是莫尔条纹效应。这种调制作用可使激发出的荧光信号的频谱发生移动,进而使得被显微物镜滤除的高频

信号能够被接收。最后通过特定的重构算法将多张图像重组,就可以得到空间分辨率提高两倍的图像。然而,SIM 系统需要复杂昂贵的光路硬件进行调制照明,且需要多次测量重构一张超分辨图像,还会受到伪影的限制。为了解决这些不足,基于深度学习的 SIM 超分辨显微成像方法应运而生。

2019 年,Ozcan 团队^[108]在 *Nature Methods* 上提出了基于 GAN 的跨模态超分辨成像框架,该框架能够将衍射受限的图像转换为超分辨图像,更好地克服了 SIM 需要昂贵的光路硬件进行调制照明的缺陷,并实现了超分辨显微镜的大众化。该团队展示了从 TIRF 到 TIRF-SIM 的跨模态成像结果,如图 7(a)所示。针对 SIM 需要多次测量的缺陷,Hahn 课题组^[102]于 2020 在 *Nature Communications*

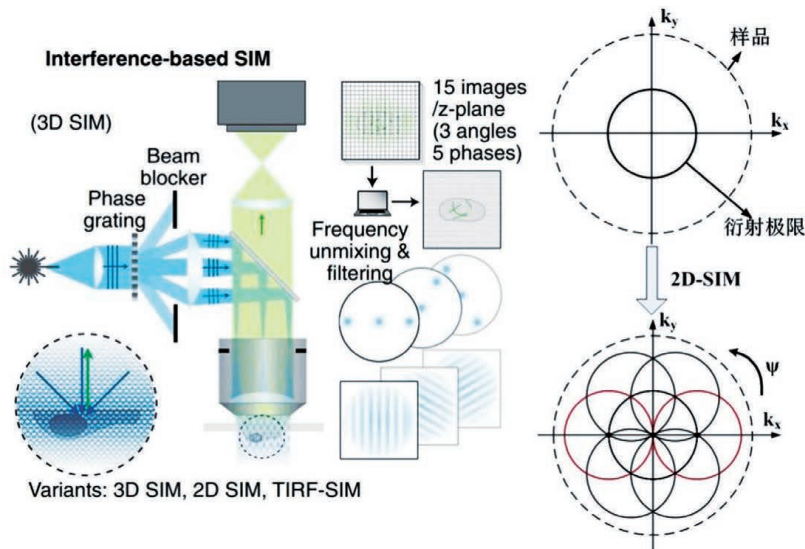


图 6 SIM 系统结构及原理示意图^[122]

Fig. 6 Structure and principle of SIM system^[122]

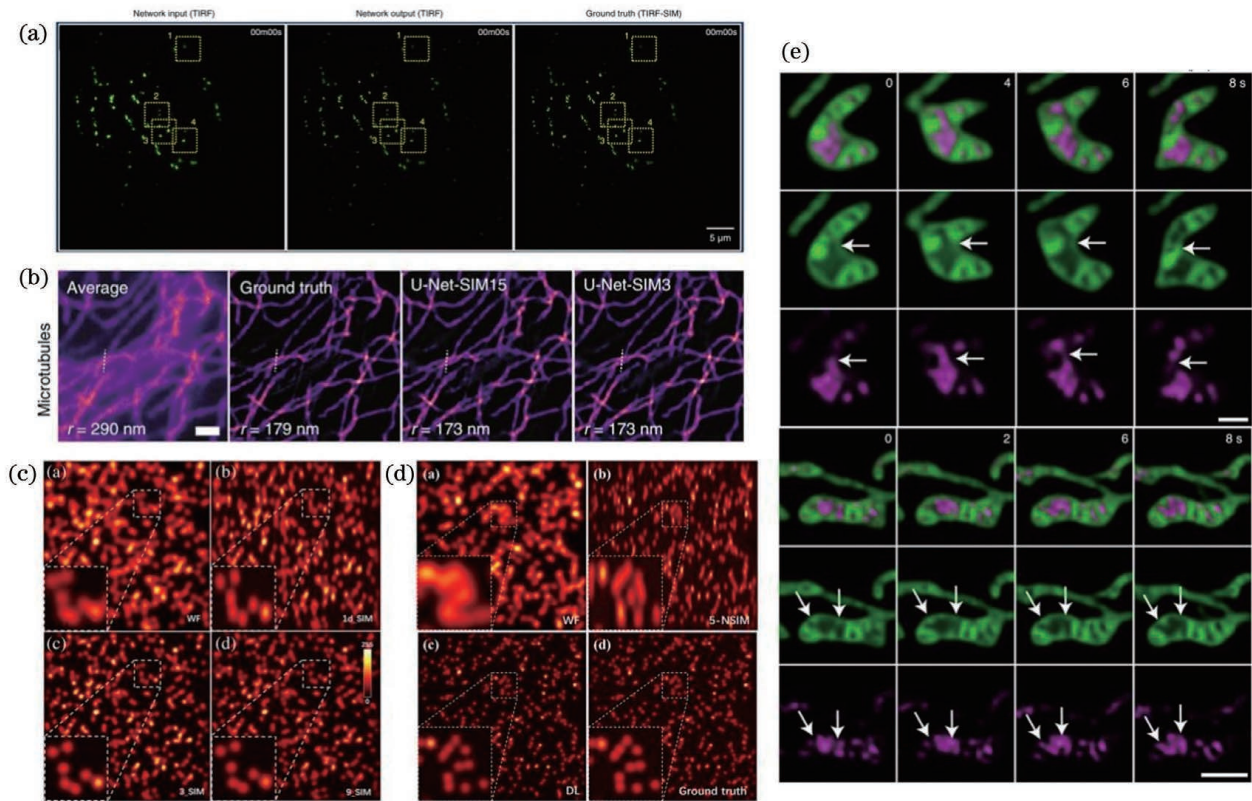


图 7 基于深度学习的 SIM 成像结果。(a) TIRF 到 TIRF-SIM 的跨模态成像结果^[108]；(b) 低光照 U-Net-SIM3 超分辨显微成像效果^[102]，标尺为 $1 \mu\text{m}$ ；(c) 3_SIM 成像结果^[93]；(d) 5_NSIM 成像结果^[109]；(e) DFCAN/DFGAN 成像结果^[110]，标尺为 $2 \mu\text{m}$

Fig. 7 SIM imaging results based on deep learning. (a) Cross-modal imaging results from TIRF to TIRF-SIM^[108]；(b) U-Net-SIM3 super-resolution imaging effect under extreme low-light conditions^[102]，where the scale bar is $1 \mu\text{m}$ ；(c) 3_SIM imaging results^[93]；(d) 5_NSIM imaging results^[109]；(e) imaging results of DFCAN/DFGAN^[110]，where the scale bar is $2 \mu\text{m}$

上发表文章，提出了使用 U-Net 对 SIM 成像效果进行改进的方法，他们采用该方法将 SIM 重建超分辨

图像所需的原始图像帧数由 9 帧减少到 3 帧，如图 7(b) 所示。类似地，深圳大学的 Ling 等^[93] 于

2020 年提出了基于 CNN 的快速 SIM 方法,该方法将所需的原始图像帧数减少至原来的 1/5,如图 7(c)所示。

与结构光照明显微镜相比,非线性结构光照明显微镜(NSIM)需要极高的光强以及多次采集来激发荧光的非线性效应,这会加速光漂白,更容易损伤活体组织。深度学习能够改善非线性结构照明显微镜的性能,有效减小光漂白性和光毒性。2020 年,深圳大学的 Ling 等^[109]使用 CycleGAN 将 NSIM 重建超分辨图像的原始图像帧数由 25 帧减少到 5 帧,实现了更温和的超分辨成像,有效减小了 NSIM 成像过程中的光毒性,如图 7(d)所示。

清华大学的戴琼海团队和中国科学院物理所的李栋团队合作,于 2021 年在 *Nature Methods* 上发表了题为“Evaluation and development of deep neural networks for image super-resolution in optical microscopy”的文章^[110]。该团队使用自制的多模态数据集(BioSR)评估了基于深度学习的超分辨(DLSR)图像所传达的信息在多大程度上可以用于定量分析,以及在什么条件下 DLSR 方法优于传统的超分辨显微成像方法;他们提出了深度傅里叶通道注意力网络(DFCAN)和基于 GAN 的深度傅里叶通道注意力网络(DFGAN),并在不同的成像条件下实现了高信噪比 SIM 重构;他们还成功观测到了线粒体内脊、线粒体拟核、内质网、微丝骨架等生物结构及其生物动力学行为,如图 7(e)所示。此外,SIM 重建过程往往比较复杂,需要调整多个参数来反映不同的硬件或实验条件。基于上述不足,Christensen 等^[114]于近期在 *Biomedical Optics Express* 上提出了一种通用的 SIM 重建方法 ML-SIM (Machine Learning Structured Illumination Microscopy)。ML-SIM 基于 RCAN 架构,利用迁移学习获得 SIM 重建无参数模型,更具有通用性和对噪声的鲁棒性,实现了 SIM 图像的高质量重建。

3.5 受激发射损耗荧光显微镜

受激发射损耗(STED)荧光显微镜^[123]作为主要的超分辨显微成像工具,在生物成像领域起着重要作用。该显微镜在共聚焦显微系统高斯分布光束照明的基础上增加了一束环形损耗光(抑制激发光外围的荧光分子),通过受激发射来淬灭激发态的荧光分子,从而达到超分辨的目的。STED 显微成像的原理及系统光路示意图如图 8 所示。凭借受激发射损耗显微技术,该系统的分辨率能从共聚焦显微镜的 $\lambda/(2NA)$ 提高到

$$\sigma = \lambda / (2NA \sqrt{1 + I_{\text{STED}}^{\text{max}}/I_s}), \quad (1)$$

式中: NA 为物镜的数值孔径; I_s 代表荧光饱和光强; $I_{\text{STED}}^{\text{max}}$ 为损耗光光强。理论上,可以通过不断增强损耗光的光强来实现无限小的空间分辨率,但考虑到光毒性等,STED 显微技术存在淬灭时损耗光强度往往远超激发光强度,导致荧光基团快速漂白,分辨率达不到理论值的问题^[86]。

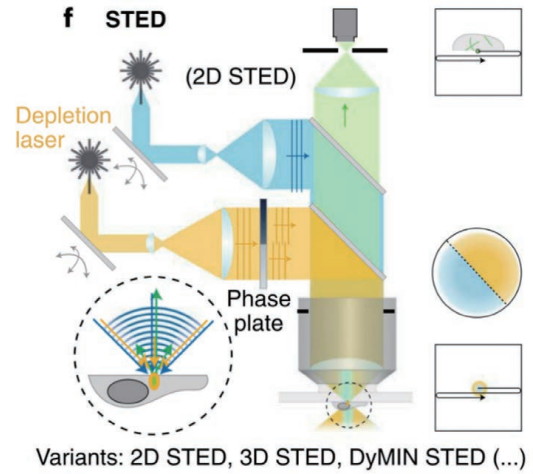


图 8 STED 显微成像的原理^[122]

Fig. 8 Principle of STED microscopy imaging^[122]

2018 年, Ozcan 团队^[108]提出了基于 GAN 的跨模态超分辨成像框架,实现了显微镜的多模态成像。该框架能够将共聚焦成像得到的低分辨率图像转换为 STED 超分辨图像,如图 9(b)所示,更好地解决了 STED 淬灭时易漂泊的问题;而且,跨模态成像方法允许直接用常规衍射受限显微镜上获取的图像生成超分辨图像,无需事先了解样品和/或成像过程,实现了超分辨显微镜的大众化。针对 STED 易淬灭导致的标签数据不易获得性,美国伦斯勒理工大学的 Li 等^[111]于 2020 年提出了 SRDAN (Super-resolution with Deep Adversarial Network) 方法,利用解析点扩散函数生成的仿真数据训练深度网络,增强了 STED 在实际应用中的空间分辨率,更好地解决了 STED 易淬灭、分辨率不足的问题。SRDAN 基于 WGAN 架构,能够将分辨率为 60 nm 的 STED 图像转换成分辨率为 30 nm 的图像,在缩短淬灭时间的同时有效提升了分辨率,如图 9(a)所示。

3.6 单分子定位超分辨显微成像技术

与基于照明光调制的 SIM 和 STED 等超分辨技术不同,单分子定位超分辨显微技术基于荧光分子自身的随机激发和淬灭对分子进行定位而非直接成像。单分子定位超分辨显微镜(SMLM)^[124]分为

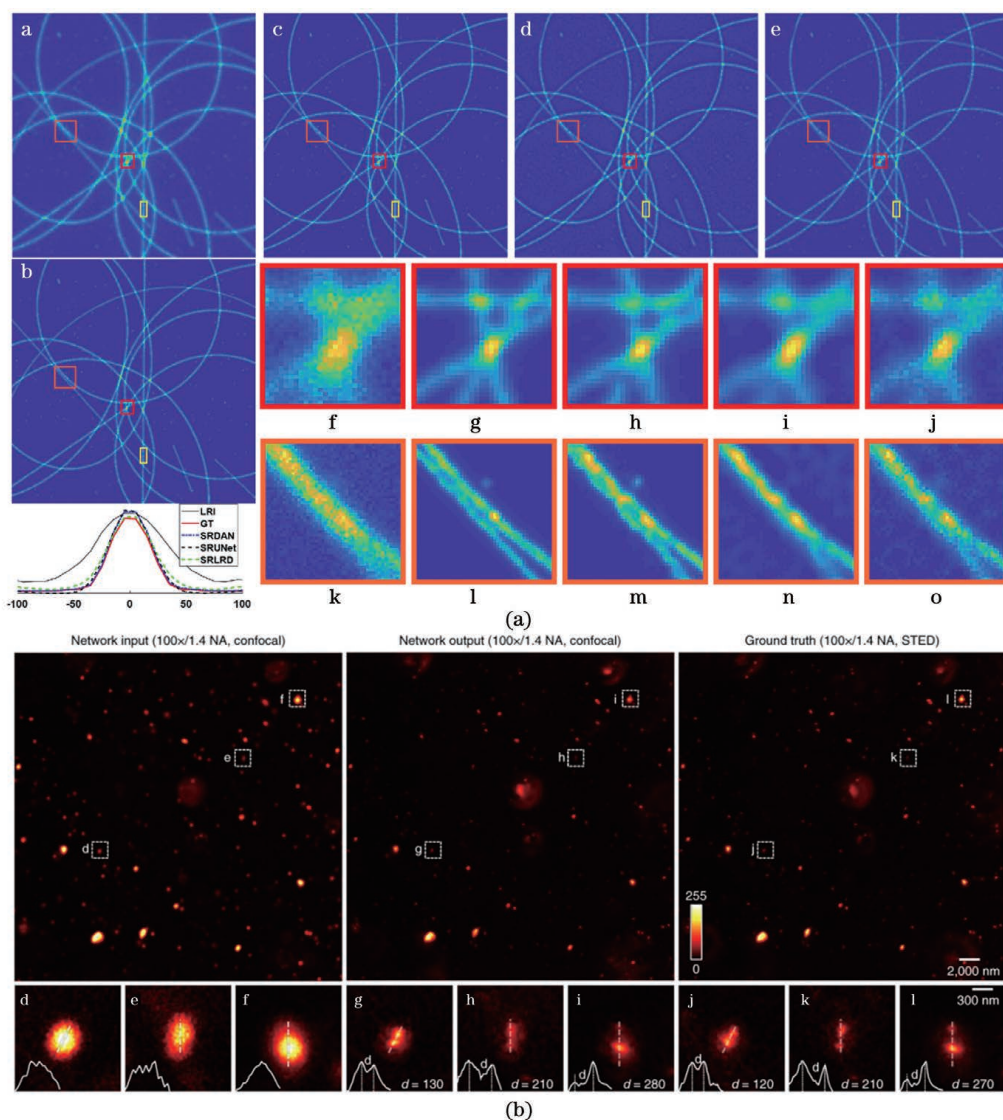


图 9 基于深度学习的 STED 成像结果。(a)SRDAN 超分辨成像结果^[111];(b)共聚焦图像到 STED 超分辨图像的多模态成像结果^[108]

Fig. 9 STED imaging results based on deep learning. (a) Super-resolution imaging results using SRDAN^[111]; (b) multimodal imaging results from confocal images to STED super-resolution images^[108]. Scale bar of first row: 2000 nm. Scale bar of second row: 300 nm

随机光学重构显微镜(STORM)^[7]和光敏定位显微镜(PALM)^[90]两种。PALM于2006年由Bezig课题组^[125]提出,其基本原理是利用低能量的405 nm激光激活PA-GFP标记蛋白,一次仅激活稀疏分布的几个荧光分子,并用488 nm激光照射(激发荧光)进行分子定位,再用488 nm激光长时间照射样品进行漂白。将此过程重复数次,每次激发不同的荧光分子,进行定位后再将它们漂白,并进行图像重构,最终获得超分辨定位结果^[6,125]。理论上,PALM可达到1 nm的定位分辨率。然而,该技术只能用于分辨外源表达蛋白质,缺乏对细胞内源蛋白质的定位能力^[126]。STORM在概念上与PALM

一致,但可以对蛋白质内源进行成像定位。2006年,美国哈佛大学的庄小威研究团队^[7]首次提出了STORM的概念。STORM基于荧光染料的闪烁特点,利用两种波长的激发光交替照明、控制部分荧光染料闪烁,每次成像仅获得小部分激发的荧光分子图像,然后对荧光分子进行定位,再通过大量成像周期进行图像重建。STORM能够达到20 nm的横向分辨率,但是存在光漂白与光毒性问题,并且成像时间过长,不适用于动态活细胞成像。2008年,庄小威课题组^[127]提出了三维随机光学重构显微技术,利用迭代随机激活的荧光开关探针使每个探针实现高精度三维定位,从而在不扫描样本的情况下

重构出三维图像。该方法可以获得 20~30 nm 的横向分辨率和 50~60 nm 的轴向分辨率,能够对细胞中微管结构的三维形态进行观察。然而,无论是 PALM 还是 STORM,为了获得超分辨成像结果,需要数百至数千帧重复测量的图像,成像速率受到严重限制,阻碍了单分子定位显微镜在活体成像中的应用^[128]。

针对估计单分子定位显微镜单帧图像中荧光团数量和位置时速度慢的问题,Boyd 等^[94]于 2018 年利用基于 CNN 的神经网络(Deep Location, DeepLoco)对该过程进行加速,很好地解决了 SMLM 成像速度慢的问题。DeepLoco 凭借基于拉普拉斯卷积核的损失函数使单个 SMLM 帧生成模型贝叶斯风险最小化,将帧直接映射到荧光团位置,使每帧荧光分子密度增加。使用训练好的神经网络对三维单分子定位显微成像数据集进行分析的速度可以达到 2000 frame/s。2018 年,法国巴斯德研究所的 Ouyang 等^[103]构建了基于 GAN 和 U-Net 的

深度神经网络 ANNA-PALM(Artificial Neural Network Accelerated PALM),该网络通过学习稀疏荧光分子定位结果重建出了密集荧光分子定位结果,在不降低分辨率的情况下将单分子定位所需要的帧数减少了两个数量级。ANNA-PALM 使用基于 pix2pix 的 CGAN 架构并引入了一个额外的 U-Net 网络来评估重建图像和宽视场输入图像之间的一致性。ANNA-PALM 成像效率的提高缓解了高分辨率和高通量显微镜之间的不兼容性,使数千个细胞能够在几小时甚至更短的时间内实现超分辨成像。

此外,当荧光分子的分布过于密集时,单分子定位显微镜现有的密集定位方法存在数据处理时间过长以及参数调整复杂的缺陷。针对这一缺陷,Nehme 等^[95]研究人员于 2018 年构建了一个快速、精确、无参数的 STORM 系统(DeepSTORM)。DeepSTORM 基于 CNN 架构,实现了二维单分子显微重构,如图 10(a)所示。在此基础上,Nehme 等

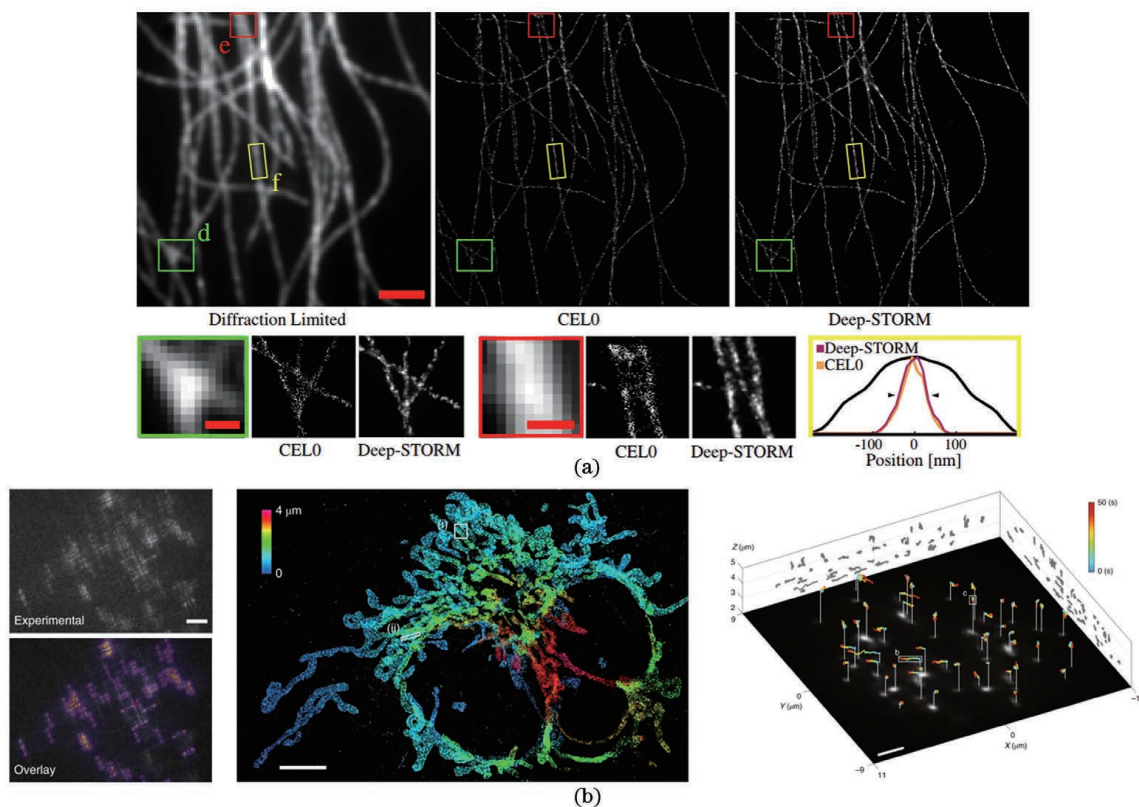


图 10 深度学习算法提升单分子定位显微镜的成像性能。(a)Deep-STORM 在微管图像上的重构结果^[95],标尺为 0.5 μm; (b)DeepSTORM3D 的超分辨三维成像结果^[96],标尺为 5 μm; (c)使用 DeepSTORM3D 对活体小鼠胚胎成纤维细胞端粒的体积跟踪结果^[96],标尺为 2 μm

Fig. 10 Improved imaging performance of single molecular positioning microscope by the deep learning algorithm. (a) Reconstructed microtubule images using Deep-STORM^[95], where the scale bar is 0.5 μm; (b) super-resolution three-dimensional imaging using DeepSTORM3D^[96], where the scale bar is 5 μm; (c) volume tracking results of telomeres in living mouse embryonic fibroblast (MEF) cells using DeepSTORM3D^[96], where the scale bar is 2 μm

将工作扩展到三维,提出了改进的 DeepSTORM3D 系统。基于 CNN 的 DeepSTORM3D 引入了 PSF 方法,将普通高斯分布的 PSF 通过神经网络变换为随轴向变化的四角锥体状 PSF,有效拓展了 z 轴范围,并对 z 轴信息进行了编码,使其能在三维空间定位荧光分子^[96],如图 10(b)和图 10(c)所示。

4 深度学习显微成像的发展趋势

深度学习显微镜的出现丰富了现有的光学显微成像技术,解决了很多传统光学显微镜在物理限制下无法轻易解决甚至不能解决的问题,然而这仅仅是实现革命性成像技术大工程中的一小步。目前,深度学习显微成像仍然存在一些问题:1)训练数据的获取与标注成本高;2)电子硬件芯片资源昂贵且落地灵活性差;3)单纯依靠数据导致特定网络训练后缺乏泛化能力;4)学习器的拓扑结构设计与学习的内在过程的可解释性不足。上述问题均限制了深度学习显微镜的进一步发展^[129-131]。

4.1 深度学习方法的突破

为了进一步提升深度学习显微镜的性能,需要重新思考光学设计或图像的后处理。通过进一步优化图像的后处理来提升显微镜的性能更为容易,因此深入开发机器学习在显微镜领域的潜能是突破当前瓶颈的首选。在此基础上,研究人员从深度学习方向、数据科学方向继续突破,无疑是一条捷径。深度学习技术包括无监督学习^[132]、迁移学习、自动化机器学习等。上述技术都可在一定程度上保证数据的利用率,同时也减小了人为标注的成本,并能更好地提升神经网络的性能,已被广泛应用。在探索革命性的成像技术过程中,必然需要非常大的成像数据集。随着大数据时代的到来,上述技术的优点将会被逐渐放大,应进一步推动其在光学成像领域中的应用。

4.2 先进的光学硬件芯片

在过去的十年中,由电子驱动的计算处理器被广泛应用,深度神经网络等都是在 CPU/GPU 上运行的。然而,由于摩尔定律的限制,电子硬件的性能即将触到“天花板”。光学计算使用光子代替电子进行计算,能克服电子学的固有限制,将能效、处理速度和计算吞吐量提高几个数量级。目前的光学处理器^[30-36,133]利用全光网络有效地实现了神经元的功能,为解决上述问题提供了另一个可行途径。但是,现有的光学处理器只能为特定的神经网络体系结构或特定任务定制单一功能,不具有通用性,并且目前

的光神经网络的模型复杂度和实验性能都较低,导致网络性能(如分类精度)与最先进的电子神经网络相比存在较大差距。其主要原因是光学网络设计空间的灵活性有限,难以集成理想的非线性运算,难以灵活控制复杂的数据流。为了解决性能受限的问题,同时针对任务的通用性,清华大学戴琼海教授团队^[134]于 2021 年 4 月在 *Nature Photonics* 上发表文章,提出了一种光电可重构计算方法。他们构造了一个衍射处理器,该处理器可以有效地支持不同的神经网络,并实现了数百万个神经元的高模型复杂度。所提方法的测试精度与电子计算方法相当,这一技术无疑给实现更高性能的神经形态光电计算处理器带来了更多进展。因此,如果将全光网络以及新型衍射处理器应用于显微成像领域并加以改进,就有可能获得比电子神经网络更好的效果。

4.3 深度学习云计算平台

近年来,随着生物图像的数量和种类呈指数级增长,深度学习显微镜的优势逐渐凸显,越来越多地被用于高性能的图像分析任务,如目标检测^[135-136]、图像分割^[137-138]和图像恢复(图像分辨率的提高或图像去噪)^[139]等。其中,深度学习在自动识别图像中的对象和特征(例如活检样本中的癌细胞)等任务中效果突出,已彻底改变了临床样本的分析方式(数字病理学)^[140]。然而,到目前为止,对于大多数没有计算机科学背景的研究人员来说,将深度学习技术应用到具体领域解决问题仍有一定难度。这是由于深度学习需要在训练数据集上训练计算机算法,以生成能够执行特定任务的“模型”。训练步骤至关重要,决定着模型的特殊性和性能。训练人工网络的计算成本很高,而且通常需要研究人员具有编码和计算专业知识。然而,对于许多生物医学研究人员来说,这两个要求都是难以实现的,从而阻碍了许多有应用潜力的深度学习方法在生物领域的应用。一个解决方案是使用预先训练过的深度学习模型。这些预先训练好的模型可以集成到网络界面或 Image J 插件^[137-138]中,通过界面或插件就可以预测。使用预先训练的模型减轻了对训练的计算要求,因此在细胞和细胞核等任务中被广泛使用。然而,考虑到训练模型的泛化能力,如果将模型用在与训练数据相似性不足的新数据上,便会存在预测错误和人工伪影的风险。鉴于上述因素,深度学习显微镜领域需要一种能够使用户针对各种图像分析任务无缝地训练、验证和试验的深度学习工具,且不受昂贵资源和预先训练模型潜在缺陷的限制。

2021 年, von Chamier 等^[141]开发了深度学习云计算平台 ZeroCostDL4Mic, 如图 11(a) 所示, 它作为一个入门级的基于云的深度学习计算平台, 集成了一系列强大的深度学习显微图像分析任务, 如图 11(b) 所示, 包括几个监督和自监督的深度学习网络: 图像分割和目标检测 (U-Net、StarDist 和 YOLO)、图像去噪和恢复 (CARE 和 N2V)、超分辨率显微成像 (Deep-STORM) 和图像到图像转换 (fnet、

pix2pix 和 CycleGAN)。ZeroCostDL4Mic 具有易于使用的图形用户界面 (GUI), 用户只需要一个网络浏览器和一个 Google 账户就可以实现上述深度学习荧光显微成像任务, 如图 11(c) 所示。深度学习云计算平台的出现简化了深度学习工具在显微成像实验中的使用。期待出现更多的集成了更多功能、泛化能力更强的深度学习云平台, 从而有助于研究人员进一步开展生物医学研究。

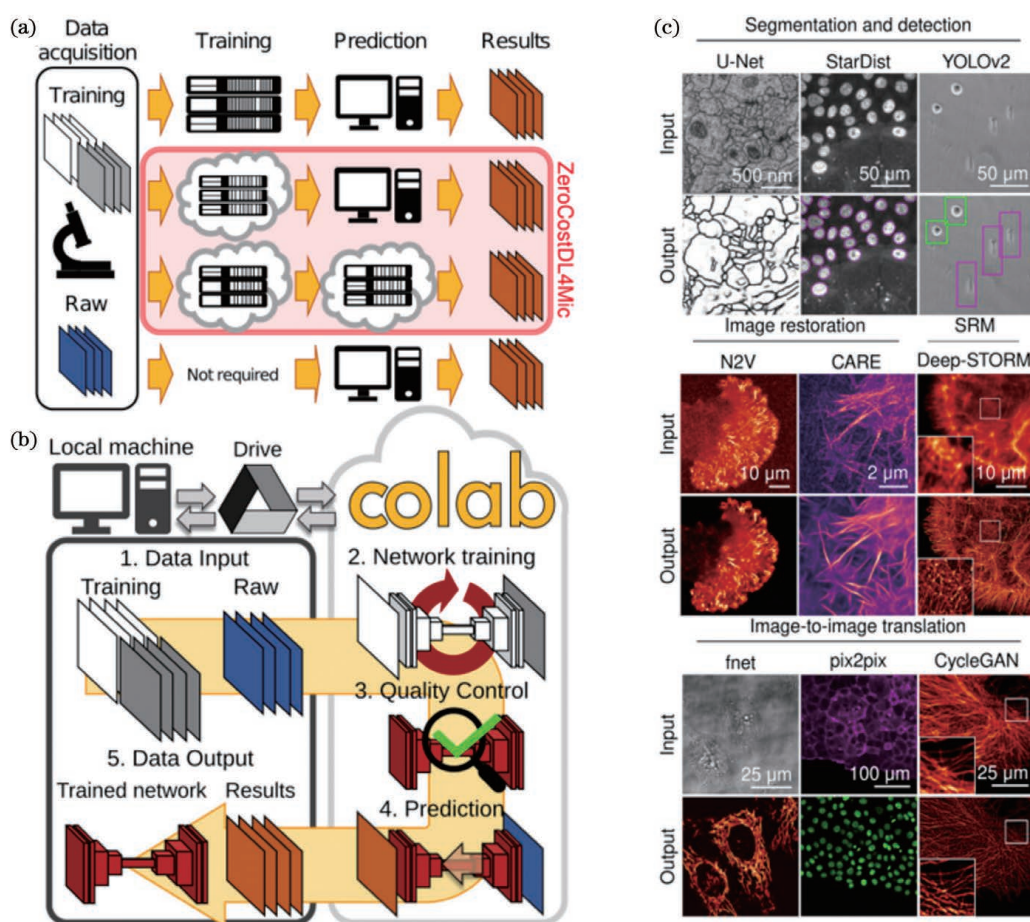


图 11 ZeroCostDL4Mic 深度学习云计算平台^[141]。(a)ZeroCostDL4Mic 的原理图;(b)ZeroCostDL4Mic 的工作流程图;
(c)使用 ZeroCostDL4Mic 平台进行生物图像分析任务

Fig. 11 Deep learning cloud computing platform ZeroCostDL4Mic^[141]. (a) Schematic of ZeroCostDL4Mic; (b) workflow of ZeroCostDL4Mic; (c) bioimage analysis tasks implemented with the ZeroCostDL4Mic platform

4.4 深度学习的可解释性

目前,人们对深度学习在原理上的理解仍存在许多“黑匣子”^[129-131],对学习器的拓扑结构与学习的内在过程仍处于未知状态,想实现革命性的成像技术突破,仅仅依靠深度学习技术的搬移是不够的,还应当了解神经网络究竟提取了原始输入信号中的哪些信息,是基于什么形式的运算得到了这个结果。此外,脑神经科学的研究有利于启发深度学习原理性探究的新思路。

5 结束语

本文介绍了深度学习荧光显微成像技术的基本概念,列举了共聚焦显微镜、光片显微镜、光场显微镜、结构光显微镜、受激发射损耗显微镜以及单分子定位显微镜与深度学习结合的一系列应用实例,最后对深度学习显微成像的发展趋势进行了展望。深度学习的发展虽然比较曲折,但深度学习的出现为许多领域带来了众多令人瞩目的开创性研究成果。

有理由相信人工智能未来的发展将会迎来更好的时代。现在正处于深度学习的第三次发展浪潮中,应致力于深度学习技术和显微成像技术的结合应用。此外,深度学习也还有很长的路要走。当下,深度学习技术在光学显微成像领域所面临的挑战也是需要面对和解决的问题,同时也应当注重光学原理以及硬件的创新和提升。未来显微镜的发展必将依靠新型光学系统与高效深度学习算法的融合。期待出现更多革命性的显微成像技术!

参 考 文 献

- [1] Lichtman J W, Conchello J A. Fluorescence microscopy[J]. *Nature Methods*, 2005, 2(12): 910-919.
- [2] Huisken J, Swoger J, del Bene F, et al. Optical sectioning deep inside live embryos by selective plane illumination microscopy[J]. *Science*, 2004, 305(5686): 1007-1009.
- [3] Chen B C, Legant W R, Wang K, et al. Lattice light-sheet microscopy: imaging molecules to embryos at high spatiotemporal resolution[J]. *Science*, 2014, 346(6208): 1257998.
- [4] Broxton M, Grosenick L, Yang S, et al. Wave optics theory and 3-D deconvolution for the light field microscope[J]. *Optics Express*, 2013, 21(21): 25418-25439.
- [5] 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.
- [6] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, et al. Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution[J]. *Science*, 2006, 313(5793): 1642-1645.
- [7] Rust M J, Bates M, Zhuang X. Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM)[J]. *Nature Methods*, 2006, 3(10): 793-795.
- [8] 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.
- [9] Sigal Y M, Zhou R B, Zhuang X W. Visualizing and discovering cellular structures with super-resolution microscopy[J]. *Science*, 2018, 361(6405): 880-887.
- [10] Nixon-Abell J, Obara C J, Weigel A V, et al. Increased spatiotemporal resolution reveals highly dynamic dense tubular matrices in the peripheral ER[J]. *Science*, 2016, 354(6311): aaf3928.
- [11] Valm A M, Cohen S, Legant W R, et al. Applying systems-level spectral imaging and analysis to reveal the organelle interactome[J]. *Nature*, 2017, 546(7656): 162-167.
- [12] Hess S T, Gould T J, Gudheti M V, et al. Dynamic clustered distribution of hemagglutinin resolved at 40 nm in living cell membranes discriminates between raft theories[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2007, 104(44): 17370-17375.
- [13] Shroff H, Galbraith C G, Galbraith J A, et al. Live-cell photoactivated localization microscopy of nanoscale adhesion dynamics[J]. *Nature Methods*, 2008, 5(5): 417-423.
- [14] Westphal V, Rizzoli S O, Lauterbach M A, et al. Video-rate far-field optical nanoscopy dissects synaptic vesicle movement[J]. *Science*, 2008, 320(5873): 246-249.
- [15] Shin W, Ge L H, Arpino G, et al. Visualization of membrane pore in live cells reveals a dynamic-pore theory governing fusion and endocytosis[J]. *Cell*, 2018, 173(4): 934-945.
- [16] Godin A G, Lounis B, Cognet L. Super-resolution microscopy approaches for live cell imaging[J]. *Biophysical Journal*, 2014, 107(8): 1777-1784.
- [17] Huang X, Fan J, Li L, et al. Fast, long-term, super-resolution imaging with Hessian structured illumination microscopy[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(5): 451-459.
- [18] 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.
- [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] Jacquemet G, Carisey A F, Hamidi H, et al. The cell biologist's guide to super-resolution microscopy[J]. *Journal of Cell Science*, 2020, 133(11): jcs.240713.
- [21] Icha J, Weber M, Waters J C, et al. Phototoxicity in live fluorescence microscopy, and how to avoid it[J]. *BioEssays*, 2017, 39(8): 1700003.
- [22] Laissue P P, Alghamdi R A, Tomancak P, et al. Assessing phototoxicity in live fluorescence imaging[J]. *Nature Methods*, 2017, 14(7): 657-661.
- [23] Mortensen K I, Churchman L S, Spudich J A, et al. Optimized localization analysis for single-molecule tracking and super-resolution microscopy

- [J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 377-381.
- [24] 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): 1027-1036.
- [25] Helmerich D A, Beliu G, Matikonda S S, et al. Photobleuing of organic dyes can cause artifacts in super-resolution microscopy [J]. *Nature Methods*, 2021, 18(3): 253-257.
- [26] Erdélyi M, Sinkó J, Kákonyi R, et al. Origin and compensation of imaging artefacts in localization-based super-resolution microscopy [J]. *Methods*, 2015, 88: 122-132.
- [27] 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.
- [28] Demmerle J, Innocent C, North A J, et al. Strategic and practical guidelines for successful structured illumination microscopy [J]. *Nature Protocols*, 2017, 12(5): 988-1010.
- [29] Mo Y, Feng F, Mao H, et al. Structured illumination microscopy artefacts caused by illumination scattering [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 2021, 379 (2199): 20200153.
- [30] Gwosch K C, Pape J K, Balzarotti F, et al. MINFLUX nanoscopy delivers 3D multicolor nanometer resolution in cells [J]. *Nature Methods*, 2020, 17(2): 217-224.
- [31] Bodén A, Pennacchietti F, Coceano G, et al. Volumetric live cell imaging with three-dimensional parallelized RESOLFT microscopy [J]. *Nature Biotechnology*, 2021, 39(5): 609-618.
- [32] Hao X, Allgeyer E S, Lee D R, et al. Three-dimensional adaptive optical nanoscopy for thick specimen imaging at sub-50-nm resolution [J]. *Nature Methods*, 2021, 18(6): 688-693.
- [33] Liu T L, Upadhyayula S, Milkie D E, et al. Observing the cell in its native state: imaging subcellular dynamics in multicellular organisms [J]. *Science*, 2018, 360(6386): 1-15.
- [34] Lin R Z, Kipreos E T, Zhu J, et al. Subcellular three-dimensional imaging deep through multicellular thick samples by structured illumination microscopy and adaptive optics [J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 3148.
- [35] Mahecic D, Gambarotto D, Douglass K M, et al. Homogeneous multifocal excitation for high-throughput super-resolution imaging [J]. *Nature Methods*, 2020, 17(7): 726-733.
- [36] Douglass K M, Sieben C, Archetti A, et al. Super-resolution imaging of multiple cells by optimized flat-field epi-illumination [J]. *Nature Photonics*, 2016, 10(11): 705-708.
- [37] Yu J Y, Becker S R, Folberth J, et al. Achieving superresolution with illumination-enhanced sparsity [J]. *Optics Express*, 2018, 26(8): 9850-9865.
- [38] Tenne R, Rossman U, Rephael B, et al. Super-resolution enhancement by quantum image scanning microscopy [J]. *Nature Photonics*, 2019, 13(2): 116-122.
- [39] Masullo L A, Bodén A, Pennacchietti F, et al. Enhanced photon collection enables four dimensional fluorescence nanoscopy of living systems [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3281.
- [40] Dreier J, Castello M, Coceano G, et al. Smart scanning for low-illumination and fast RESOLFT nanoscopy *in vivo* [J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 556.
- [41] Zhang Y, Schroeder L K, Lessard M D, et al. Nanoscale subcellular architecture revealed by multicolor three-dimensional salvaged fluorescence imaging [J]. *Nature Methods*, 2020, 17(2): 225-231.
- [42] Zhang Z, Kenny S J, Hauser M, et al. Ultrahigh-throughput single-molecule spectroscopy and spectrally resolved super-resolution microscopy [J]. *Nature Methods*, 2015, 12(10): 935-938.
- [43] Belthangady C, Royer L A. Applications, promises, and pitfalls of deep learning for fluorescence image reconstruction [J]. *Nature Methods*, 2019, 16(12): 1215-1225.
- [44] Gustafsson N, Culley S, Ashdown G, et al. Fast live-cell conventional fluorophore nanoscopy with ImageJ through super-resolution radial fluctuations [J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12471.
- [45] Dertinger T, Colyer R, Iyer G, et al. Fast, background-free, 3D super-resolution optical fluctuation imaging (SOFI) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2009, 106 (52): 22287-22292.
- [46] Agarwal K, Macháň R. Multiple signal classification algorithm for super-resolution fluorescence microscopy [J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13752.
- [47] Cox S, Rosten E, Monypenny J, et al. Bayesian localization microscopy reveals nanoscale podosome dynamics [J]. *Nature Methods*, 2011, 9(2): 195-200.
- [48] Zhao W S, Liu J, Kong C Q, et al. Faster super-resolution imaging with auto-correlation two-step

- deconvolution [EB/OL]. (2018-09-19) [2021-07-21]. <https://arxiv.org/abs/1809.07410>.
- [49] Yahiatene I, Hennig S, Müller M, et al. Entropy-based super-resolution imaging (ESI): from disorder to fine detail[J]. ACS Photonics, 2015, 2(8): 1049-1056.
- [50] Richardson W H. Bayesian-based iterative method of image restoration [J]. Journal of the Optical Society of America, 1972, 62(1): 55-59.
- [51] Arigovindan M, Fung J C, Elnatan D, et al. High-resolution restoration of 3D structures from widefield images with extreme low signal-to-noise-ratio[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 2013, 110(43): 17344-17349.
- [52] Preibisch S, Amat F, Stamataki E, et al. Efficient Bayesian-based multiview deconvolution[J]. Nature Methods, 2014, 11(6): 645-648.
- [53] Hafi N, Grunwald M, van den Heuvel L S, et al. Fluorescence nanoscopy by polarization modulation and polarization angle narrowing[J]. Nature Methods, 2014, 11(5): 579-584.
- [54] Aspelmeier T, Egner A, Munk A. Modern statistical challenges in high-resolution fluorescence microscopy[J]. Annual Review of Statistics and Its Application, 2015, 2(1): 163-202.
- [55] Blasse C, Saalfeld S, Etournay R, et al. PreMosa: extracting 2D surfaces from 3D microscopy mosaics [J]. Bioinformatics, 2017, 33(16): 2563-2569.
- [56] Shihavuddin A, Basu S, Rexhepaj E, et al. Smooth 2D manifold extraction from 3D image stack [J]. Nature Communications, 2017, 8: 15554.
- [57] LeCun Y, Bengio Y, Hinton G. Deep learning[J]. Nature, 2015, 521(7553): 436-444.
- [58] Waller L, Tian L. Machine learning for 3D microscopy[J]. Nature, 2015, 523(7561): 416-417.
- [59] Cortes C, Vapnik V. Support-vector networks[J]. Machine Learning, 1995, 20(3): 273-297.
- [60] Reynolds D A, Quatieri T F, Dunn R B. Speaker verification using adapted Gaussian mixture models [J]. Digital Signal Processing, 2000, 10(1/2/3): 19-41.
- [61] Alam F I, Zhou J, Liew A W C, et al. Conditional random field and deep feature learning for hyperspectral image classification[J]. IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing, 2019, 57(3): 1612-1628.
- [62] Rabiner L R. A tutorial on hidden Markov models and selected applications in speech recognition[J]. Proceedings of the IEEE, 1989, 77(2): 257-286.
- [63] Hosmer D W, Jr, Lemeshow S, Sturdivant R X. Applied logistic regression [M]. Hoboken: John Wiley & Sons, 2013.
- [64] McCulloch W S, Pitts W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity[J]. The Bulletin of Mathematical Biophysics, 1943, 5(4): 115-133.
- [65] Turing A M. Computing machinery and intelligence [M]//Epstein R, Roberts G, Beber G. Parsing the Turing test. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007: 23-65.
- [66] Rosenblatt F. The perceptron: a probabilistic model for information storage and organization in the brain [J]. Psychological Review, 1958, 65(6): 386-408.
- [67] Widrow B. Adaptive sampled-data systems [J]. IFAC Proceedings Volumes, 1960, 1(1): 433-439.
- [68] Minsky M, Papert S A. Perceptrons: an introduction to computational geometry[M]. Cambridge: MIT Press, 2017.
- [69] Werbos P. Beyond regression: new tools for prediction and analysis in the behavioral sciences [D]. Cambridge: Harvard University, 1974.
- [70] Fukushima K, Miyake S. Neocognitron: a self-organizing neural network model for a mechanism of visual pattern recognition[M]//Amari S I, Arbib M A. Competition and cooperation in neural nets. Lecture notes in computer science. Heidelberg: Springer, 1982, 45: 267-285.
- [71] Kohonen T. Self-organized formation of topologically correct feature maps [J]. Biological Cybernetics, 1982, 43(1): 59-69.
- [72] Hopfield J J. Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1982, 79(8): 2554-2558.
- [73] Hinton G E, Sejnowski T J. Learning and relearning in Boltzmann machines [J]. Parallel Distributed Processing: Explorations in the Microstructure of Cognition, 1986, 1(2): 282-317.
- [74] Rumelhart D E, McClelland J L, PDP Research Group. Parallel distributed processing[M]. Cambridge: MIT Press, 1986.
- [75] Jordan M I. Serial order: a parallel distributed processing approach [J]. Advances in Psychology, 1997, 121: 471-495.
- [76] Rumelhart D E, Hinton G E, Williams R J. Learning internal representations by error propagation[M]//Readings in cognitive science: a perspective from psychology and artificial intelligence. Amsterdam: Elsevier, 1988: 399-421.
- [77] LeCun Y, Bottou L, Bengio Y, et al. Gradient-based learning applied to document recognition[J]. Proceedings of the IEEE, 1998, 86(11): 2278-

- 2324.
- [78] Hochreiter S, Schmidhuber J. Long short-term memory[J]. *Neural Computation*, 1997, 9(8): 1735-1780.
- [79] Schuster M, Paliwal K K. Bidirectional recurrent neural networks[J]. *IEEE Transactions on Signal Processing*, 1997, 45(11): 2673-2681.
- [80] Hinton G E, Osindero S, Teh Y W. A fast learning algorithm for deep belief nets[J]. *Neural Computation*, 2006, 18(7): 1527-1554.
- [81] Salakhutdinov R, Hinton G E. Deep Boltzmann machines [J]. *Journal of Machine Learning Research*, 2009, 5: 448-455.
- [82] Nair V, Hinton G E. Rectified linear units improve restricted Boltzmann machines[C]//*Proceedings of the 27th Annual International Conference on Machine Learning (ICML-10)*, June 21-24, 2010, Haifa, Israel. [S.l.:s.n.], 2010: 807-814.
- [83] Chen T, Borth D, Darrell T, et al. DeepSentiBank: visual sentiment concept classification with deep convolutional neural networks[EB/OL]. (2014-10-30) [2021-05-29]. <https://arxiv.org/abs/1410.8586>.
- [84] Goodfellow I J, Pouget-Abadie J, Mirza M, et al. Generative adversarial networks[EB/OL]. (2014-06-10) [2021-05-29]. <https://arxiv.org/abs/1406.2661>.
- [85] Silver D, Huang A, Maddison C J, et al. Mastering the game of Go with deep neural networks and tree search[J]. *Nature*, 2016, 529(7587): 484-489.
- [86] Sabour S, Frosst N, Hinton G E. Dynamic routing between capsules[EB/OL]. (2017-10-26) [2021-05-29]. <https://arxiv.org/abs/1710.09829>.
- [87] Bengio Y. Deep learning of representations: looking forward[C]//*International Conference on Statistical Language and Speech Processing (SLSP)*, July 29-31, 2013, Tarragona, Spain. Spain: SLSP, 2013: 1-37.
- [88] Deng L, Yu D. Deep learning: methods and applications[J]. *Foundations and Trends® in Signal Processing*, 2014, 7(3/4): 197-387.
- [89] Szepesvári C. Algorithms for reinforcement learning [J]. *Synthesis Lectures on Artificial Intelligence and Machine Learning*, 2010, 4(1): 1-103.
- [90] Bai C, Liu C, Yu X H, et al. Imaging enhancement of light-sheet fluorescence microscopy via deep learning[J]. *IEEE Photonics Technology Letters*, 2019, 31(22): 1803-1806.
- [91] Zhang H, Zhao Y X, Fang C Y, et al. Exceeding the limits of 3D fluorescence microscopy using a dual-stage-processing network[J]. *Optica*, 2020, 7(11): 1627-1640.
- [92] Wagner N, Beuttenmueller F, Norlin N, et al. Deep learning-enhanced light-field imaging with continuous validation[J]. *Nature Methods*, 2021, 18(5): 557-563.
- [93] 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.
- [94] Boyd N, Jonas E, Babcock H, et al. Deeploco: fast 3D localization microscopy using neural networks [EB/OL]. (2018-02-16) [2021-05-29]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/267096v1>.
- [95] Nehme E, Weiss L E, Michaeli T, et al. Deep-STORM: super-resolution single-molecule microscopy by deep learning[J]. *Optica*, 2018, 5(4): 458-464.
- [96] Nehme E, Freedman D, Gordon R, et al. DeepSTORM3D: dense 3D localization microscopy and PSF design by deep learning [J]. *Nature Methods*, 2020, 17(7): 734-740.
- [97] 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.
- [98] Weigert M, Schmidt U, Boothe T, et al. Content-aware image restoration: pushing the limits of fluorescence microscopy [J]. *Nature Methods*, 2018, 15(12): 1090-1097.
- [99] Fang L, Monroe F, Novak S W, et al. Deep learning-based point-scanning super-resolution imaging[J]. *Nature Methods*, 2021, 18(4): 406-416.
- [100] Zhao F, Zhu L X, Fang C Y, et al. Deep-learning super-resolution light-sheet add-on microscopy (Deep-SLAM) for easy isotropic volumetric imaging of large biological specimens[J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(12): 7273-7285.
- [101] Wang Z, Zhu L, Zhang H, et al. Real-time volumetric reconstruction of biological dynamics with light-field microscopy and deep learning [J]. *Nature Methods*, 2021, 18(5): 551-556.
- [102] Jin L, Liu B, Zhao F, et al. Deep learning enables structured illumination microscopy with low light levels and enhanced speed[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1934.
- [103] Ouyang W, Aristov A, Lelek M, et al. Deep learning massively accelerates super-resolution localization microscopy[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(5): 460-468.

- [104] Speiser A, Müller L R, Matti U, et al. Deep learning enables fast and dense single-molecule localization with high accuracy[EB/OL]. (2020-10-26) [2021-05-29]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.10.26.355164v1>.
- [105] Mirza M, Osindero S. Conditional generative adversarial nets[EB/OL]. (2014-11-06) [2021-07-13]. <https://arxiv.org/abs/1411.1784>.
- [106] Li X, Zhang G, Qiao H, et al. Unsupervised content-preserving transformation for optical microscopy[J]. *Light, Science & Applications*, 2021, 10(1): 44.
- [107] Li X, Dong J Y, Li B W, et al. Fast confocal microscopy imaging based on deep learning[C]//2020 IEEE International Conference on Computational Photography (ICCP), April 24-26, 2020, St. Louis, MO, USA. New York: IEEE Press, 2020: 1-12.
- [108] Wang H D, Rivenson Y, Jin Y Y, et al. Deep-learning enables cross-modality super-resolution in fluorescence microscopy[J]. *Nature Methods*, 2019, 16(1): 103-110.
- [109] Ling C, Du L P, Yuan X C. Deep learning approach for nonlinear structured illumination microscopy[J]. *Proceedings of SPIE*, 2020, 11565: 115650P.
- [110] Qiao C, Li D, Guo Y, et al. Evaluation and development of deep neural networks for image super-resolution in optical microscopy[J]. *Nature Methods*, 2021, 18(2): 194-202.
- [111] Li M Z, Shan H M, Pryshchep S, et al. Deep adversarial network for super stimulated emission depletion imaging[J]. *Journal of Nanophotonics*, 2020, 14(1): 016009.
- [112] Zhang Y L, Li K P, Li K, et al. Image super-resolution using very deep residual channel attention networks[M]//Ferrari V, Hebert M, Sminchisescu C, et al. *Computer vision-ECCV 2018. Lecture notes in computer science*. Cham: Springer, 2018, 11211: 294-310.
- [113] Vaswani A, Shazeer N, Parmar N, et al. Attention is all you need[C]//*Advances in Neural Information Processing Systems(NIPS)*, December 4-9, 2017, Long Beach, Canada. Canada: NIPS, 2017: 5998-6008.
- [114] 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.
- [115] Rivenson Y, Göröcs Z, Günaydin H, et al. Deep learning microscopy[J]. *Optica*, 2017, 4(11): 1437-1443.
- [116] Jonkman J, Brown C M, Wright G D, et al. Tutorial: guidance for quantitative confocal microscopy[J]. *Nature Protocols*, 2020, 15(5): 1585-1611.
- [117] Santi P A. Light sheet fluorescence microscopy: a review[J]. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2011, 59(2): 129-138.
- [118] Yu X H, Liu C, Bai C, et al. Progress in light-sheet fluorescence microscopy and applications[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(10): 100001.
于湘华, 刘超, 柏晨, 等. 光片荧光显微成像技术及应用进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2020, 57(10): 100001.
- [119] Levoy M, Ng R, Adams A, et al. Light field microscopy[C]//*ACM SIGGRAPH 2006 Papers on-SIGGRAPH'06*, July 30-August 3, 2006. Boston, Massachusetts. New York: ACM Press, 2006: 924-934.
- [120] Prevedel R, Yoon Y G, Hoffmann M, et al. Simultaneous whole-animal 3D imaging of neuronal activity using light-field microscopy[J]. *Nature Methods*, 2014, 11(7): 727-730.
- [121] Saxena M, Eluru G, Gorthi S S. Structured illumination microscopy[J]. *Advances in Optics and Photonics*, 2015, 7(2): 241-275.
- [122] Schermelleh L, Ferrand A, Huser T, et al. Super-resolution microscopy demystified[J]. *Nature Cell Biology*, 2019, 21(1): 72-84.
- [123] Wang Y, Zhao W, Wang K, et al. Fluorescent nanoparticles for stimulated emission depletion microscopy[J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2020, 20(4): 2308-2315.
- [124] Deschout H, Zanicchi F C, Młodzianoski M, et al. Precisely and accurately localizing single emitters in fluorescence microscopy[J]. *Nature Methods*, 2014, 11(3): 253-266.
- [125] Manley S, Gillette J M, Patterson G H, et al. High-density mapping of single-molecule trajectories with photoactivated localization microscopy[J]. *Nature Methods*, 2008, 5(2): 155-157.
- [126] Annibale P, Vanni S, Scarselli M, et al. Quantitative photo activated localization microscopy: unraveling the effects of photoblinking[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22678.
- [127] Huang B, Wang W, Bates M, et al. Three-dimensional super-resolution imaging by stochastic optical reconstruction microscopy[J]. *Science*, 2008, 319(5864): 810-813.
- [128] Yang J Y, Dong H, Xing F L, et al. Single-

- molecule localization super-resolution microscopy and its applications [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2021, 58(12): 1200001.
- 杨建宇, 董浩, 邢福临, 等. 单分子定位超分辨率成像技术进展及应用 [J]. *激光与光电子学进展*, 2021, 58(12): 1200001.
- [129] 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.
- [130] Wang F, Wang H, Bian Y M, et al. Applications of deep learning in computational imaging [J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(1): 0111002.
- 王飞, 王昊, 卞耀明, 等. 深度学习在计算成像中的应用 [J]. *光学学报*, 2020, 40(1): 0111002.
- [131] Shao X P, Liu F, Li W, et al. Latest progress in computational imaging technology and application [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(2): 020001.
- 邵晓鹏, 刘飞, 李伟, 等. 计算成像技术及应用最新进展 [J]. *激光与光电子学进展*, 2020, 57(2): 020001.
- [132] Xie Q, Dai Z, Hovy E, et al. Unsupervised data augmentation for consistency training [EB/OL]. (2019-04-29) [2021-05-29]. <https://arxiv.org/abs/1904.12848>.
- [133] Rahman M S S, Li J, Mengu D, et al. Ensemble learning of diffractive optical networks [J]. *Light, Science & Applications*, 2021, 10(1): 14.
- [134] Zhou T K, Lin X, Wu J M, et al. Large-scale neuromorphic optoelectronic computing with a reconfigurable diffractive processing unit [J]. *Nature Photonics*, 2021, 15(5): 367-373.
- [135] Redmon J, Farhadi A. YOLO9000: better, faster, stronger [C] // 2017 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), July 21-26, 2017. Honolulu, HI. New York: IEEE Press, 2017: 6517-6525.
- [136] 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.
- [137] Schmidt U, Weigert M, Broaddus C, et al. Cell detection with star-convex polygons [M] // Frangi A F, Schnabel J A, Davatzikos C, et al. Medical image computing and computer assisted intervention-MICCAI 2018. Lecture notes in computer science. Cham: Springer, 2018, 11071: 265-273.
- [138] Weigert M, Schmidt U, Haase R, et al. Star-convex polyhedra for 3D object detection and segmentation in microscopy [C] // 2020 IEEE Winter Conference on Applications of Computer Vision (WACV), March 1-5, 2020, Snowmass, CO, USA. New York: IEEE Press, 2020: 3655-3662.
- [139] Krull A, Buchholz T O, Jug F. Noise2Void-learning denoising from single noisy images [C] // 2019 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), June 15-20, 2019, Long Beach, CA, USA. New York: IEEE Press, 2019: 2124-2132.
- [140] Araújo T, Aresta G, Castro E, et al. Classification of breast cancer histology images using convolutional neural networks [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0177544.
- [141] von Chamier L, Laine R F, Jukkala J, et al. Democratizing deep learning for microscopy with ZeroCostDL4Mic [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 2276.