

基于主成分分析的补充MATLAB工具箱结构照明 显微镜

钱家明1、2、3、于曹1、2、3、英碧1、2、3、吴洪军1、2、3、刘永涛1、2、3、钱陈3、**、
赵左1、2、3、*

1南京科技大学智能计算成像（SCI）实验室，南京，江苏省，210094

2南京科技大学智能计算成像研究所（SCIRI），江苏省南京，210094

3江苏省南京科技大学光谱成像与智能感知重点实验室，江苏省南京，210094

*zuochao@njust.edu.cn

**chenqian@njust.edu.cn

摘要

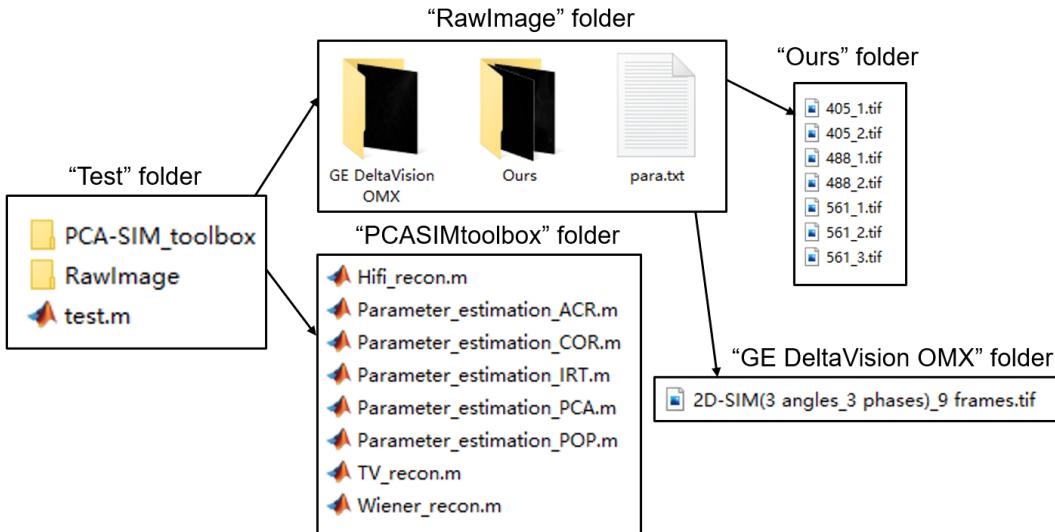
本文档介绍了开源的MATLAB工具箱——pCASIM工具箱和相关的数据集，以及相应的用户指南和演示结果。

内容：

- A. PCA-SIM MATLAB工具箱概述
- B. 正在安装PCA-SIM MATLAB工具箱
- C. 第一次测试演示的用户指南
- D. 更多的模拟和实验演示

A . PCA-SIM MATLAB工具箱概述

补充代码和数据集包含两个折叠文件（“测试”文件夹，“模拟”文件夹）和一个文本文件 (*.txt)。“测试”文件夹包括两个子折叠（“RawImage”文件夹，“PCASIM工具箱”文件夹）和1个MATLAB文件 (*.m)：



图S1。“测试”目录。

文件夹“PCASIMtooxk”包含一套开源的模块化MATLAB函数结构化照明显微镜(SIM)，它提供了五种不同的参数估计方法(峰值相位(POP)1、非迭代自相关(ACR)2、图像重组变换(IRT)3、互相关方法(COR)4和基于主成分分析(PCA))，以及三种图像重建方法(Wiener重建5、TV-SIM6和HiFi-SIM7)。主要功能文件包括：

- Para估计POP.m：基于POP的参数估计的代码，wi hch参照文献1实现。
- Para估计ACR.m：基于ACR的参数估计的代码，wi hch参照文献2实现。
- Para估计IRT.m：基于IRT的参数估计代码，wi hch参照文献3实现。
- Para估计COR.m：基于COR的参数估计的代码，并遵循fairSIM8中的程序。
- PCA.m：基于PCA的参数估计方法的代码。

-维纳侦察。m：维纳重建的代码，它改编自HiFi-SIM7。

- HiFi侦察。m：基于HiFi-SIM的重建算法的代码，它改编自HiFi-SIM7。

- TV_recon.m：基于TV-SIM的重建算法的代码，改编自Hessian-SIM9。

文件“test.m”：实现整个SIM超分辨率过程的演示代码，包括原始SIM图像的预处理、实验参数估计和图像重建。

文件夹“RawImage”提供了由我们自制的SIM显微镜和商用SIM显微镜捕获的原始SIM图像，以及一个描述这些数据的文本文件（“para.txt”）：

“-“Ours”的文件夹包含了我们自制的显微镜收集的原始SIM图像，分辨率为 1024×1024 ：

405_1.tif, 488_1.tif和561_1.tif：原始猿猴7(COS-7)细胞样本的原始DAPI标记的细胞核，AlexaFluorTM568标记的肌动蛋白和TM绿色fm标记的SIM图像。405_1.tif为405 nm激光激发的细胞核的原始SIM图像，488_1.tif为488 nm激光激发的线粒体图像，561_1.tif是由561 nm激光激发的肌动蛋白。这些图像是通过一个 $100\times$ 的物镜(PlanSApo100 \times /1.40oil，奥林巴斯，日本)捕获的，是正文中图3的原始数据。

405_2.tif, 488_2.tif和561_2.tif：通过 $100\times$ 物镜捕获的COS-7细胞样本的原始SIM图像(PlanSApo100 \times /1.40油，奥林巴斯，日本)。

561_3.tif：用561 nm激光激发COS-7细胞肌动蛋白的原始SIM图像。这些数据是由一个 $60\times$ 的物镜(PlanXAp60 \times /1.420il，奥林巴斯，日本)获得的，是补充图8的原始数据。

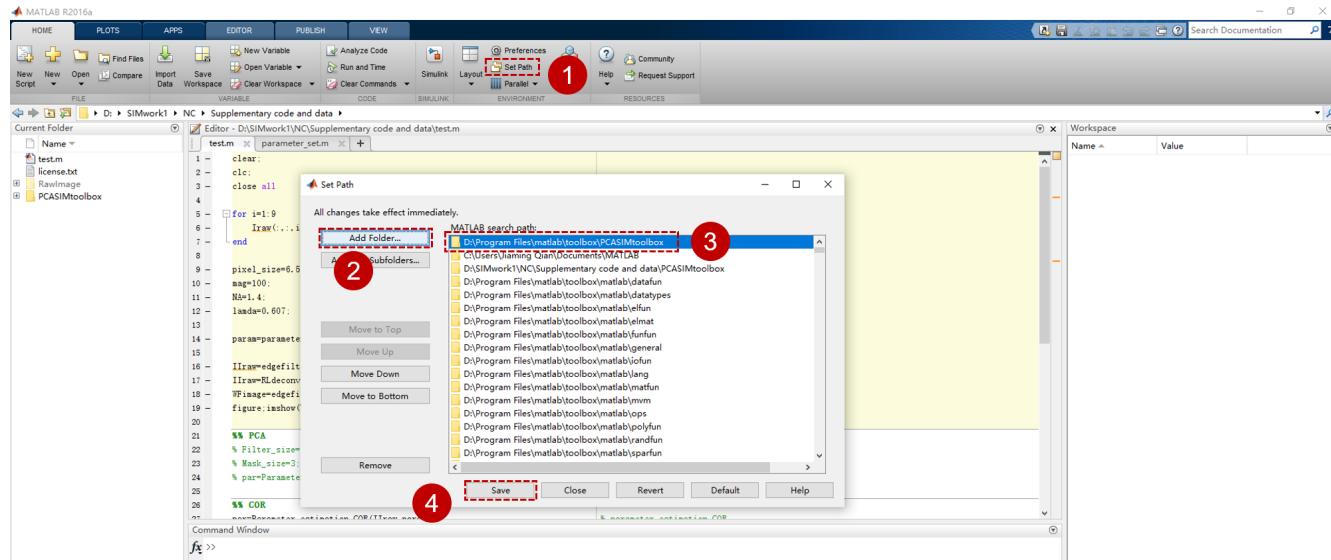
-“GE-”OMX”文件夹包含-“OMX在传统2D-SIM模式下收集的原始SIM图像，分辨率为 512×512 ：

2D-SIM(3角3相)_9帧.tif：488nm激光激发COS-7细胞中微管的原始SIM图像，由文献7提供，为补充图11的原始数据。

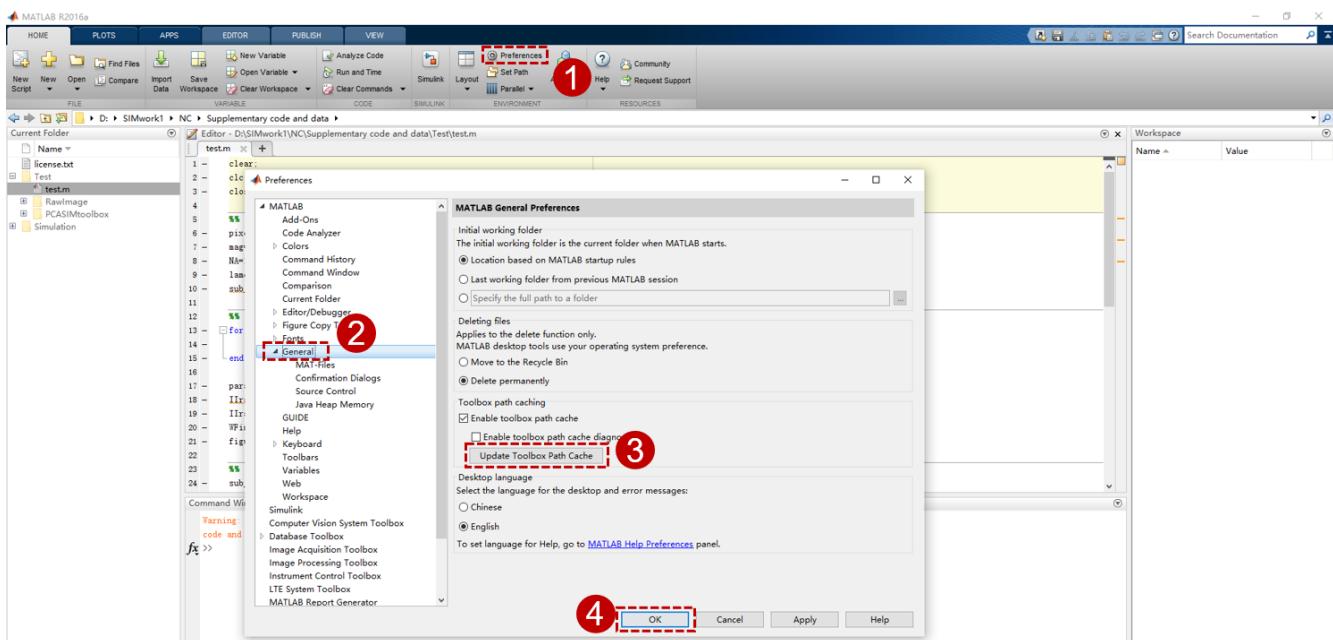
“模拟”文件夹包含了用于模拟不同SIM算法在不同信噪比(SNRs)下的性能的代码和数据。文件“License.txt”是我们对数据代码的版权声明。

B . 正在安装PCA-SIM MATLAB工具箱

首先，解压缩下载的工具箱文件，并将其复制到MATLAB安装目录下的“工具箱”文件夹中，例如，“D:\Pogramm文件\matlab\工具箱”。然后点击MATLAB中的“设置路径”按钮，找到PCASIM工具箱并添加其路径，如图所示。S2 . 在添加路径后，按照图中所示的步骤进行操作。请使用S3来更新工具箱文件的路径。最后，在命令窗口中输入“参数估计弹出键”，如果在命令窗口中显示该函数的源代码，则工具箱安装成功。



图S2。添加PCASIM工具箱的路径到Matlab的步骤。



图S3。更新工具箱文件路径的步骤。

C. 第一次测试演示的用户指南

c1 . 系统和样本参数设置

在运行演示代码（“Test.m”）之前，需要设置系统参数，其中包括[图]。S4：

沙痴目标放大率

客观数值孔径 (NA)

沙桂校照相机像素大小

激发荧光的波长

%% Set internal parameter	
pixel_size=6.5;	% Pixel size
mag=100;	% Magnification
NA=1.4;	% NA
lamda=0.607;	% Fluorescent wavelength

图S4。用于设置系统参数的代码。

所提供的实验数据的系统参数列在文本文件“para.txt”上。通过这些参数，可以用“参数集”函数计算出显微镜的近似点扩散函数 (PSF) 或光学传递函数 (OTF)，如图所示。S5 . 用户可以更改这些参数。

c2 . 实验参数估计

当运行演示代码“test.m”时，将首先读取原始的SIM卡图像。以“RawImage/Ours/561_1.tif”(COS-7细胞的肌动蛋白图像)为例，读取的9个原始结构照明模式如图所示。S6 . 从图中放大的区域可知。S6我们可以看到密集的干涉条纹。为了预防与边缘相关的伪影，原始图像被“边缘过滤器”的功能进行了轻微的边缘衰减4。应用理查森-露西反褶积10，用“RLdenconv”函数去除某些失焦的背景和噪声。然后通过傅里叶变换得到预处理后的SIM图像的傅里叶光谱，其中样本的高频信息被调制到通带[图]。S7]

为了解调光谱中的高频信息，以进行高质量的超分辨率重建，必须估计可靠的实验参数，其中包括：

沙痴波矢量

沙痴初始阶段

```

function [out]=parameter_set(Iraw,Pixelsize,NA,lambda,mag)
    NPixel=size(Iraw,1);
    param.imgSize = NPixel;
    param.micronsPerPixel = Pixelsize/mag;
    param.cyclesPerMicron = 1/(NPixel*param.micronsPerPixel);
    param.NA = NA;
    param.lambda = lambda*1000;
    param.cutoff = 1000/(0.5*param.lambda/param.NA);
    param.sampleLateral = ceil(param.cutoff/param.cyclesPerMicron)+1;
    param.nrBands = 2;
    param.phaOff=0;
    param.fac=ones(1,param.nrBands);
    param.attStrength = 0;
    param.OtfProvider = SimOtfProvider(param, param.NA, param.lambda, 1);
    PSF = abs(otf2psf((param.OtfProvider.otf)));
    param.OTF=param.OtfProvider.otf;
    param.psf=abs(otf2psf((param.OtfProvider.otf)));
    out=param;
end

```

图S5。计算近似PSF或OTF的代码（函数“参数集”）。

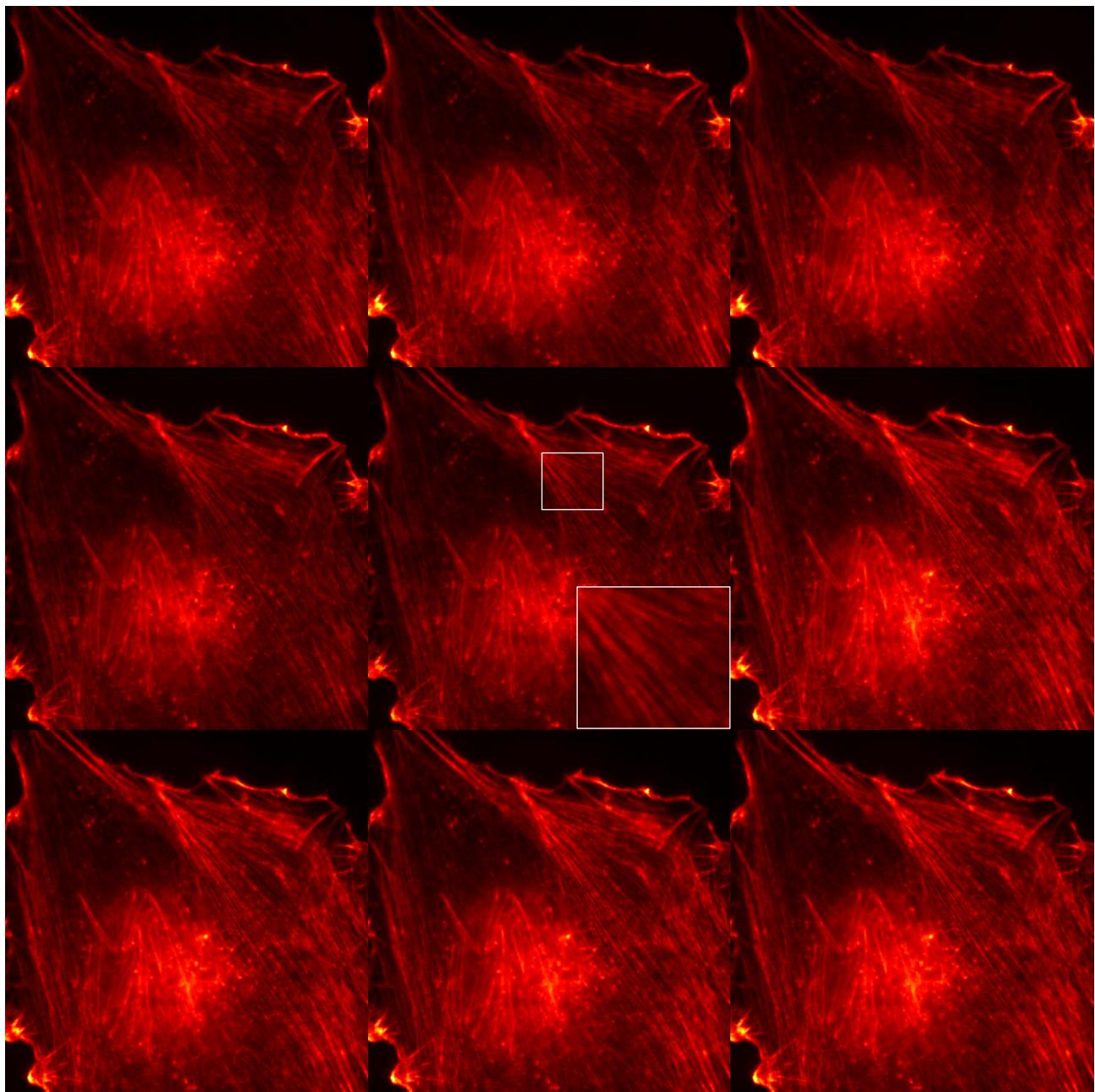
Subark调制深度

用户可以选择将这些函数称为“参数估计POP.m”、“参数估计ACR.m”、“参数估计IRT.m”、“参数估计COR.m”和“参数估计PCA.m”来基于相应的算法进行参数估计。特别是，COR和PCA能够以亚像素精度估计波矢量，并在此基础上估计初始相位和调制深度：

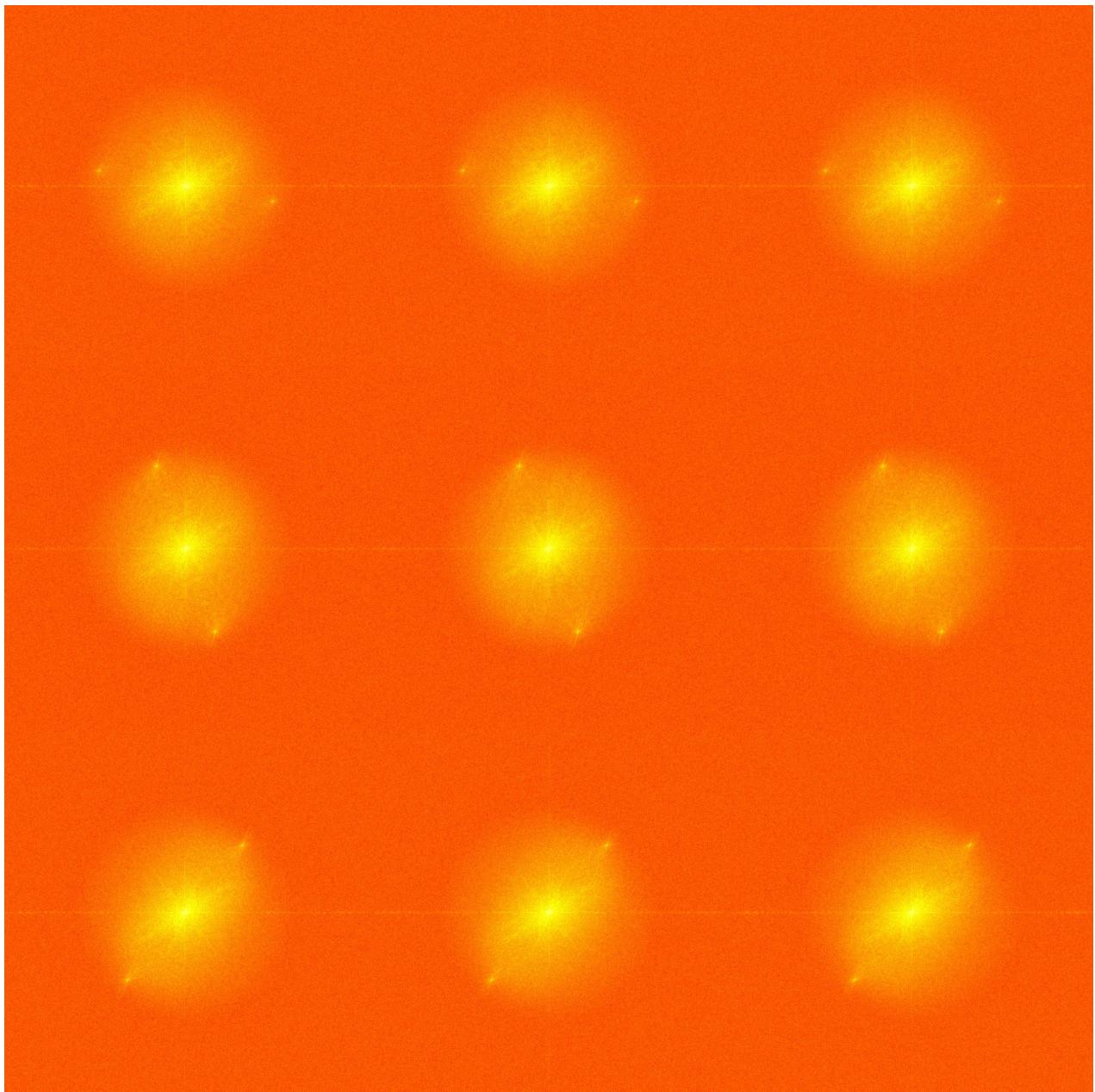
基于cor的方法的关键是以实空间相位梯度的形式进行的亚像素优化，而亚像素优化的步长可以通过变量“搜索”来控制。

PCA-SIM算法的关键是利用奇异值分解(SVD)对一阶谱中心进行主成分分析。我们还引入了一个掩蔽算子，它包括一个信号窗口和一个填充窗口，以进一步优化PCA结果。信号窗口和填充窗口的大小分别由变量“掩码大小”和“过滤器大小”进行调整。

在运行“参数估计COR.m”或“参数估计PCA”之后，MATLAB的命令窗口将输出相应算法的运行时间。



图S6。读取9个原始结构化的照明模式。



图S7。预处理后的SIM图像的傅里叶光谱。

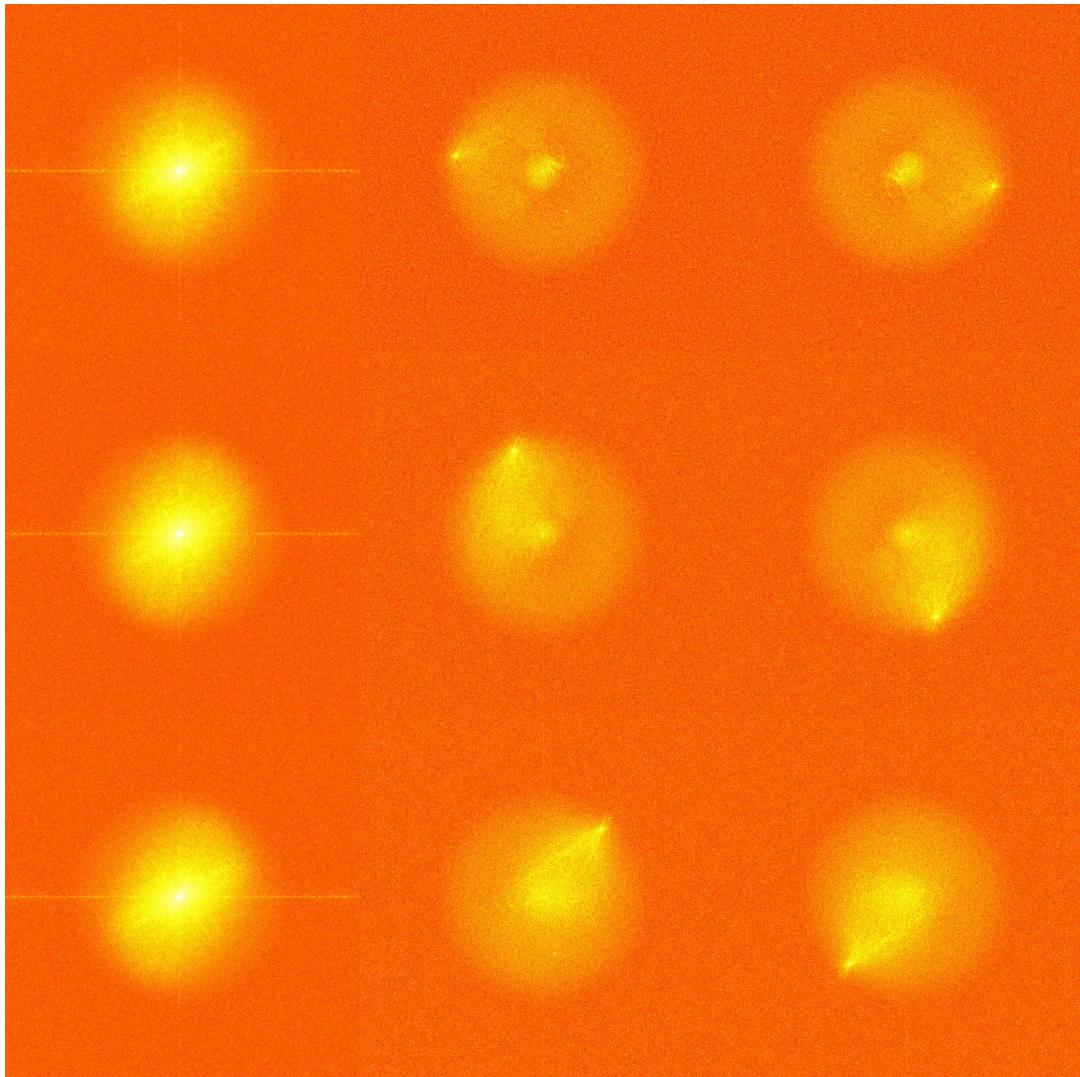
C3 . 图像重建

利用估计的实验参数（波矢量、初始相位和调制深度），可以准确地分离出0阶和 \pm 一阶谱。然后，高频频谱可以被带到它们应该在的位置，并合并[图]。S8] . 图S9为分离的光谱，和图。S10显示了广域图像的频谱和具有高频信息的合并频谱。

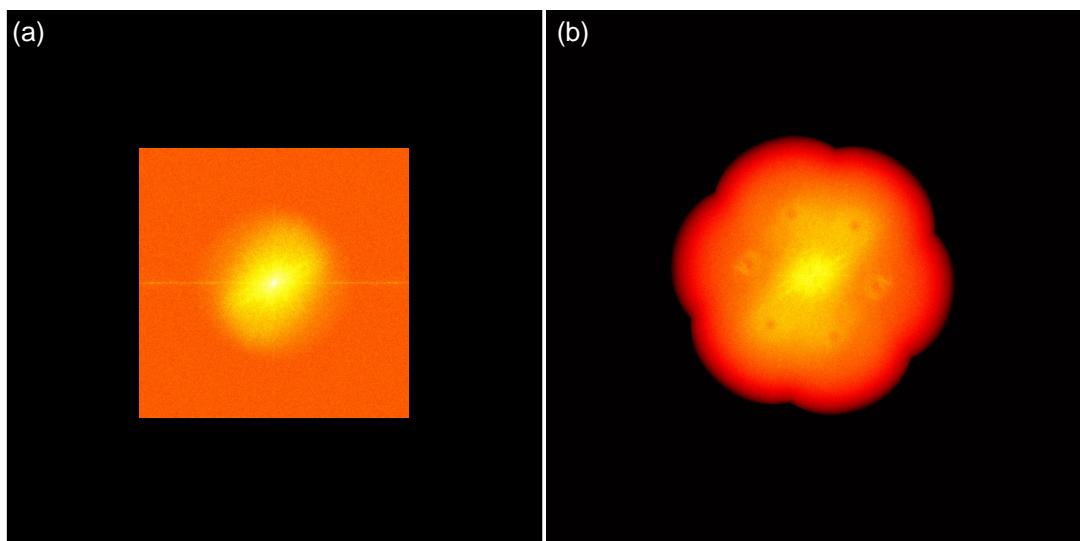
Separate=separateBands(IIrawFFT(:,:, (I-1)*3+... 1:I*3), par(I).phaOff, param.nrBands, param.fac);	% Spectrum separation
Shifted=zeros(NPixel*2,NPixel*2,3); Shifted(:,:,1)=placeFreq(Separate(:,:,1)); Shifted(:,:,2)=placeFreq(Separate(:,:,2)); Shifted(:,:,3)=placeFreq(Separate(:,:,3)); Shifted(:,:,2)=NfourierShift(Shifted(:,:,2), -(2-1)*par(I).px,... -(2-1)*par(I).py); Shifted(:,:,3)=NfourierShift(Shifted(:,:,3), (2-1)*par(I).px,... (2-1)*par(I).py); Coarse_frequency=Coarse_frequency+Shifted(:,:,1)+Shifted(:,:,2)+... +Shifted(:,:,3);	% Separated spectrum with double size % Spectrum shift % Spectrum shift % Spectrum merging
Shifted(:,:,1)=otfToVector(Shifted(:,:,1), param.OtfProvider, 1, 0, 0, 1, 0); Shifted(:,:,2)=otfToVector(Shifted(:,:,2), param.OtfProvider, 2,... -(2-1)*par(I).px, -(2-1)*par(I).py, 1, 0); Shifted(:,:,3)=otfToVector(Shifted(:,:,3), param.OtfProvider, 2,... (2-1)*par(I).px, (2-1)*par(I).py, 1, 0); Fine_frequency=Fine_frequency+Shifted(:,:,1)+Shifted(:,:,2)+... Shifted(:,:,3);	% Deconvolution % Deconvolution % Deconvolution % Deconvolved spectrum merging

图S8。有关频谱分离和合并的代码。

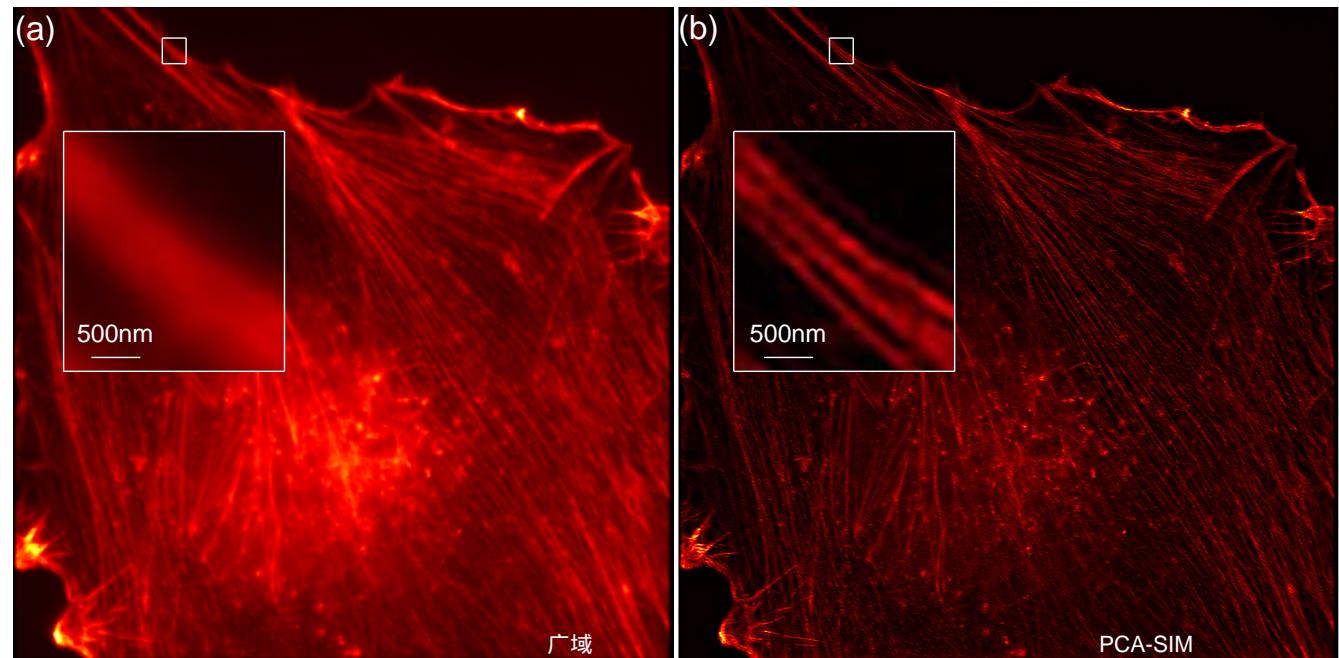
为了抑制噪声干扰，实现更高质量的超分辨率重建，采用维纳重建[维纳侦察。[m](#)]来实现最终的图像重建。我们还提供TV-SIM和Hi Fi -SIM的重建功能，用户可以通过呼叫“电视侦察”或“Hi Fi 侦察”功能来使用它们。图S11显示了由PCA-SIM获得的宽视场图像和超分辨率图像。



图S9。分离的0阶和 \pm 一阶傅里叶谱。



图S10。广域图像(a)的光谱和合并后的光谱(b)与高频信息。请注意，光谱图的大小是原始图像大小的两倍大。

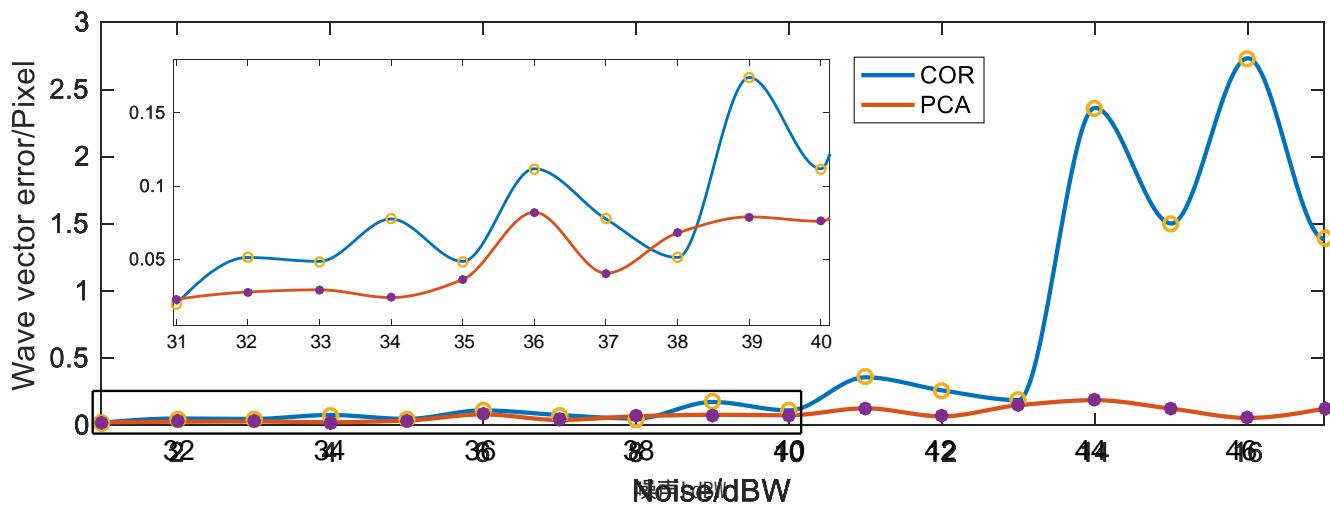


图S11。PCA-SIM通过运行主程序(b)获得的广角视场图像(a)和超分辨率图像。比例尺：500 nm。

D. 更多的模拟和实验演示

d1 . 演示，以再现正文中如图1所示的仿真结果

我们提供了仿真代码和数据，以便在主文本中再现了图1（PCA-SIM和COR在不同噪声条件下的性能比较）。相关的代码和数据都在“模拟”文件夹中。所提供的数据是牛肺动脉内皮细胞（BPAE）的图像，它们被人工乘以结构化照明图像，并与低截止频率的模拟点扩散函数进行卷积。在仿真代码“仿真.m”中，我们使用wgn函数在模拟的SIM数据中添加不同功率的高斯噪声，并分别使用PCA-SIM和COR进行参数估计。运行仿真代码后，结果如图所示。可以得到S12。由于噪声是随机添加的，所以单次运行的结果可能与正文中的图1a略有不同。

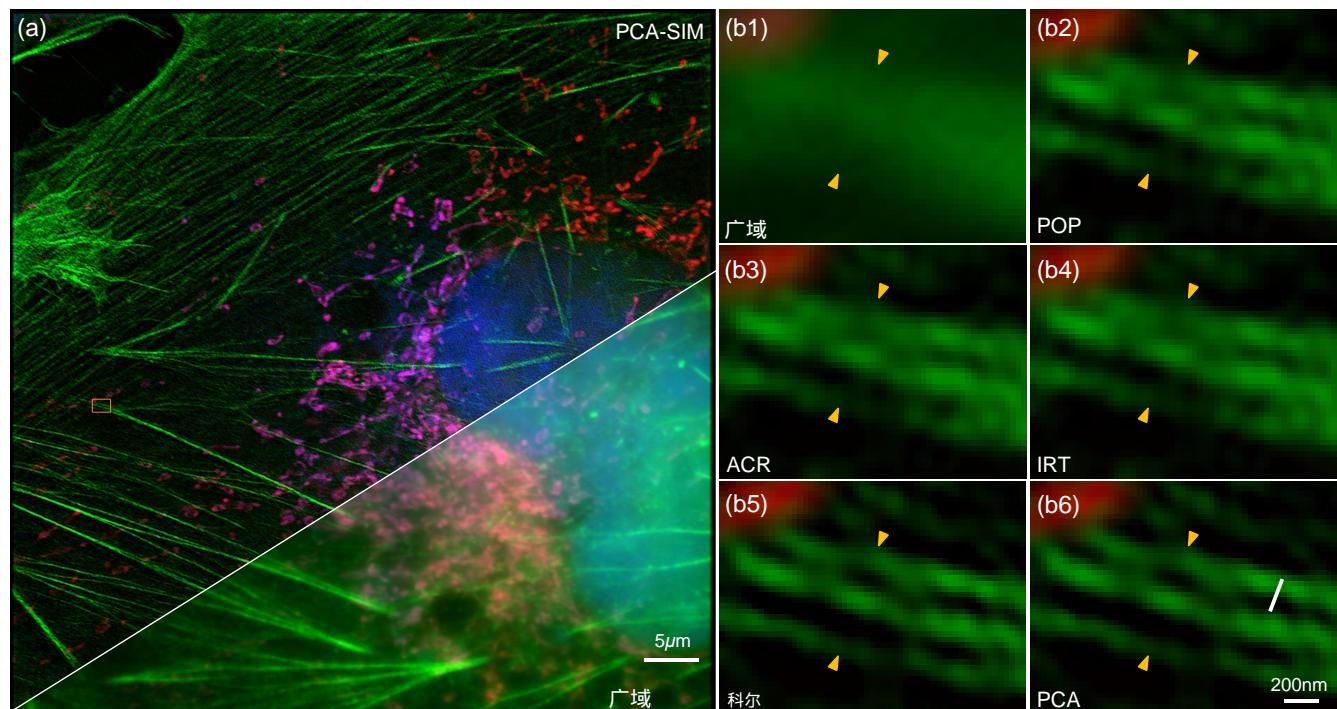


图S12。利用PCA-SIM和COR估计的波矢量的误差分布

运行模拟程序后的不同信噪比。

d2 . 演示，以再现如图中所示的结果。3的正文和补充图。S7和S10

通过选择不同的算法函数并运行演示代码，可以得到相应方法重建的超分辨率结果。图S13显示了通过处理数据得到的不同方法的结果的组合[“405 2.tif”、“488 2.tif”和“561 2.tif”]。特别是，处理数据[“405 1.tif”、“488 1.tif”和“561 1.tif”]、[“561 2.tif”]和[“2D-SIM(3角3相)9帧.tif”]可以在正文和补充图中再现图3。分别为7和10。



图S13。用不同的方法 ($100\times/1.40\text{ OIL}$) 对COS-7细胞样品的超分辨率结果进行了比较实验。
 (a)通过PCA-SIM获得的宽视场图像和超分辨率图像。(b)放大了通过不同方法获得的超分辨率图像。比例尺：
 $5\mu\text{m}$ (a) ; 200nm (b)。

参考文献

1. 施罗夫 , S. A. , 菲恩纳普 , J. R. &威廉姆斯 , D. 在横向超分辨率的正弦照明图像中的相移估计。J. 选择。社会是A 26, 413 – 424 (2009) .
2. 在傅里叶空间中使用自相关的结构照明显微镜中模式相位的非迭代确定。选择快递 21, 24692-24701 (2013年)。
3. 周 , X. 等。超分辨率结构照明显微镜的图像重组变换算法。J. 生物医学。选择21, 096009 (2016) .
4. 古斯塔夫松 , M. G. 等人。通过结构照明使宽视场荧光显微镜下的三维分辨率加倍。生物生理学。J. 94, 4957 – 4970 (2008) .
5. 使用结构照明显微镜 , 超过了横向分辨率限制的两倍。J. Microsc. 198, 82 – 87 (2000) .
6. Chu , K. 等。具有低信号电平的结构照明显微镜的图像重建。选择快递22, 8687-8702 (2014 年)。
7. 温 , G. 等人。通过点扩展功能工程的高保真结构照明显微镜。灯科学的科学。& Appl . 10, 1 – 12 (2021) .
8. 李 , 李 , 李 , 李 , 李。图像ej 中超分辨率结构照明显微镜数据的开源图像重建。Nat。通信。7, 1 – 6 (2016) .
9. 黄 , X. 等。快速 , 长期 , 超分辨率成像与黑森结构照明显微镜。Nat。生物技术公司。36, 451 – 459 (2018) .
10. 佩雷斯 , 张 , 张。& Stelzer , 利用理查森 - 露西反褶积。科学。报告6、1-11日 (2016 年)。