

Revoir l'article

L'intelligence artificielle pour la microscopie: ce que vous devriez savoir

 Lucas von Chamier¹,  Romain F. Laine^{1,2,3} et  Ricardo Henriques^{1,2,3,4}

¹MRC-Laboratory for Molecular Cell Biology, University College London, Londres, Royaume-Uni; ²Département de biologie cellulaire et développementale, University College London, Londres, Royaume-Uni; ³Le Francis Crick Institute, Londres, Royaume-Uni; ⁴Institute for the Physics of Living Systems, University College London, Londres, Royaume-Uni

Correspondance: Romain F. Laine (r.laine@ucl.ac.uk) et Ricardo Henriques (r.henriques@ucl.ac.uk)



Artificial intelligence basée sur le Deep Learning (DL) ouvre de nouveaux horizons dans la recherche biomédicale et promet de révolutionner la microscopie. Il passe désormais des mains d'experts en informatique à des chercheurs biomédicaux. Ici, nous présentons les développements récents en DL appliquée à la microscopie, d'une manière accessible aux non-experts. Nous donnons un aperçu de ses concepts, capacités et limites, présentant des applications dans la segmentation d'image, classification et restauration. Nous discutons de la façon dont DL montre un potentiel exceptionnel pour repousser les limites de la microscopie, en améliorant la résolution, le signal et le contenu d'information dans les données acquises. Ses écueils sont discutés, ainsi que les orientations futures attendues dans ce champ.

Introduction

Une caractéristique de l'intelligence humaine est la capacité d'adapter les connaissances antérieures à de nouvelles situations et de reconnaître le sens des modèles. La réplication de ces capacités chez des agents non humains est l'objectif principal d'Intelligence artificielle (IA). L'apprentissage automatique fait référence à un sous-ensemble de méthodes d'IA basées sur l'extraction de fonctionnalités utiles à partir de grands ensembles de données bien comprises et l'application de ces informations pour faire des prédictions ou des décisions sur des données invisibles [1,2]. Au début des années 2010, un type d'apprentissage automatique, le Deep Learning (DL), basé sur les réseaux de neurones (NN), est devenu de plus en plus important en tant qu'outil de classification d'images avec des capacités surhumaines [3].

Contrairement aux algorithmes classiques qui utilisent un ensemble de règles conçues spécifiquement pour transformer une entrée en une nouvelle sortie (par exemple, une valeur médiane filtre pour la réduction du bruit de l'image) (Figure 1a), un NN est initialement présenté avec un grand ensemble d'entrée appariée et de sortie souhaitée (respectivement image bruitée et de haute qualité, par exemple) appelé l'ensemble de données d'apprentissage, à partir duquel il apprend à mapper chaque entrée dans sa sortie souhaitée correspondante (Figure 1b-je). Par conséquent, une différence centrale avec les algorithmes conventionnels est que la fonction exécutée par un NN est essentiellement déterminée par l'ensemble de données d'apprentissage lui-même. Une fois formé, le réseau peut ensuite être utilisé pour traiter des données d'entrée invisibles afin d'obtenir la sortie souhaitée dans un processus appelé inférence (Figure 1b-ii). Bien que les NN aient été envisagés pour la première fois dans les années 1950 [4], cela a pris des décennies et l'introduction de la rétropropagation [5,6] jusqu'à ce que le premier NN atteigne des performances négatives dans les tâches de reconnaissance de formes à la fin des années 80 [7-9]. Bien que l'inférence avec des réseaux formés soit généralement rapide, le processus de formation peut être intensif en calcul, prenant des heures voire des jours, en particulier pour les réseaux complexes. Le succès des NN dans la reconnaissance d'images est donc étroitement lié à l'augmentation exponentielle de la puissance de calcul des unités de traitement, notamment des unités de traitement graphique (GPU) et à la croissance rapide de la disponibilité de grands ensembles de données depuis les années 2000 [1,dix]. En 2012, le premier NN compatible GPU appelé AlexNet [3] a largement surpassé la concurrence à la classe d'image ImageNet définitive, une avancée décisive pour l'IA en champ.

Depuis lors, les NN se sont développés, déjouant les humains dans des jeux de société tels que Go [11], activation des voitures autonomes [12,13] et avoir une analyse d'image biomédicale nettement améliorée [2,14-17]. Dans ce dernier champ, leurs applications incluent des classifications automatisées et précises et segmentation de la cellule

Reçu: 19 février 2019

Révisé: 9 juillet 2019

Accepté: 11 juillet 2019

Version du dossier publiée:

31 juillet 2019

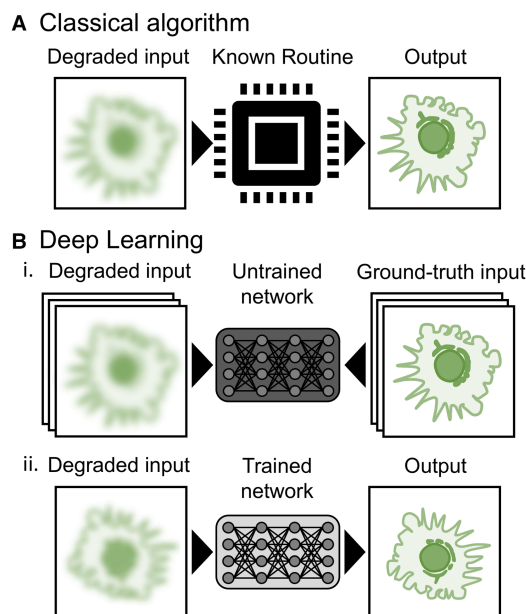


Figure 1. Apprentissage profond par rapport au calcul classique.

(une) Les programmes informatiques classiques convertissent une entrée (par exemple une image bruitée d'une cellule) en une sortie souhaitée (par exemple une image nette) via un algorithme avec des règles et des paramètres connus ('routine connue'). D'autre part, les NN sont entraînés avec des paires d'images corrompues et de vérité terrain, par exemple une image bruitée et son équivalente de haute qualité d'une cellule. Pendant l'entraînement (b-i), le réseau non entraîné (gris foncé) apprend à transformer les entrées (à gauche) en sortie (à droite) en observant un grand nombre d'exemples appariés de l'ensemble de données d'apprentissage. Après l'entraînement (b-ii), le réseau formé (gris clair) peut être utilisé pour exécuter la tâche de manière similaire à un algorithme conventionnel sur de nouvelles données, fournissant ainsi la sortie de nouvelles données d'entrée. Les grandes pointes de flèches noires représentent les donnéesflow.

images [18,19], extraction de structures à partir de l'imagerie microscopique sans étiquette (artificiellement étiquetage spécial) [20,21] et plus récemment la restauration d'image (par exemple, réduction du bruit et amélioration de la résolution) [22-24]. En outre, comme l'imagerie quantitative se révèle de plus en plus puissante pour la recherche, le besoin de méthodes capables d'analyser les mégadonnées avec une précision (sur-) humaine est devenu un objectif hautement souhaitable. Ainsi, bien que la DL en microscopie ne soit pas encore largement disponible, la croissance actuelle des efforts de recherche laisse entrevoir une technologie ayant le potentiel de changer fondamentalement la façon dont les données d'imagerie sont analysées et la façon dont la microscopie est réalisée.

Ici, nous donnons aux lecteurs non spécialistes un aperçu des potentiels des NN dans le contexte de certains des défis majeurs de la microscopie. Nous discutons également de certaines de leurs limites actuelles et donnons un aperçu des applications futures possibles en microscopie. Pendant que nous briefly couvrir les principes mathématiques de base utilisés dans les NN, nous renvoyons le lecteur à la revue de Lecun et al. [1], qui donne une perspective étendue sur l'apprentissage automatique et les NN et leur évolution historique. En outre, nous recommandons des revues qui traitent de manière approfondie de l'application de l'IA dans les sciences biomédicales et la biologie computationnelle [16,25-27].

Comment un réseau de neurones apprend-il?

Les NN sont des réseaux complexes de 'les neurones' disposés en 'couches', une nomenclature inspirée du cortex visuel animal [4]. Un neurone peut être interprété comme une fonction mathématique avec des paramètres ajustables. Une couche est généralement constituée d'un groupe de neurones qui prend les mêmes données d'entrée et transfère sa sortie à la couche suivante du réseau. Chaque couche fournit ensuite une nouvelle représentation des données à la couche suivante avec des niveaux d'abstraction croissants. La transformation effectuée ici peut contenir des opérations non linéaires, telles qu'un rectifi unité linéaire (ReLU) qui a été particulièrement réussie pour les tâches d'extraction de caractéristiques [28] car il permet de modéliser des représentations de données beaucoup plus complexes que des opérations linéaires plus simples. La sortie de la dernière couche constitue la sortie du réseau. Plus le réseau possède de couches, plus il est profond et plus complexe les informations qu'il peut extraire [1,3].

Les réseaux de neurones convolutifs (CNN) sont une forme importante de NN, en particulier pour les tâches impliquant la reconnaissance de caractéristiques dans les données d'image [1,9]. Ici, les neurones extraient les caractéristiques de l'image en effectuant des convolutions sur l'entrée

image. Ces couches convolutives sont souvent suivies de couches dites de pooling qui réduisent le nombre de pixels dans l'image et simplifient donc les représentations de caractéristiques à partir des couches convolutives. Cette combinaison d'extraction de caractéristiques successives et de réduction des données conduit à une simplification de l'image d'entrée, similaire à un code-barres, que le réseau apprend à associer à la sortie souhaitée [9,27]. Ici, le NN apprend à cartographier de l'entrée à la sortie en ajustant de manière itérative ses neurones' paramètres de manière à minimiser la différence entre sa propre sortie et la sortie souhaitée à l'aide de l'ensemble de données d'apprentissage. Il s'agit d'une tâche non triviale, en particulier pour les réseaux profonds, car cela peut nécessiter une estimation itérative de l'effet de milliers ou de millions de paramètres. Ce problème était efficacement adressé par la méthode de rétropropagation qui permet de projeter les erreurs du réseau vers chaque neurone's contribution individuelle [5,6]. Ajuster le neurone's paramètres est alors obtenu par une méthode appelée descente de gradient, c'est-à-dire en modifiant les paramètres de telle sorte que l'erreur diminue le plus rapidement. La descente de gradient stochastique, en utilisant de manière itérative un exemple aléatoire de l'ensemble de données d'entraînement pour estimer ce changement de paramètre au lieu d'évaluer sur l'ensemble de l'ensemble de données d'entraînement, est désormais la méthode la plus courante [5,29,30]. Après cette étape d'apprentissage itératif, le réseau formé peut être appliqué à de nouvelles données pour lesquelles les résultats ne sont pas disponibles (Figure 1b-ii).

Un problème avec les réseaux profonds est leur capacité potentielle à imprimer l'ensemble de données de formation, un processus appelé surfitting, par opposition à l'apprentissage de fonctionnalités généralisables sur les données. Cela peut se produire si le jeu de données d'apprentissage est trop petit ou si le réseau est trop profond (par exemple, trop de couches). Dans ce cas, le réseau fonctionnera extrêmement bien sur l'ensemble de données d'entraînement mais généralisera très mal avec de nouvelles données invisibles. Par conséquent, pendant la formation, les performances du réseau sont surveillées à l'aide d'un ensemble de données de validation invisible. La comparaison des performances de validation et de formation est essentielle pour la sélection du modèle, c'est-à-dire le choix d'une architecture réseau qui convient à l'ensemble de données et qui ne fit. Dans l'étape finale, le réseau est testé sur un ensemble de données invisible qui n'était ni contenu dans des ensembles de formation ni dans des ensembles de validation pour établir ses performances.

En règle générale, l'ensemble de données de formation doit contenir de nombreux exemples différents des résultats souhaités. Par exemple, un réseau conçu pour catégoriser un animal doit être formé avec des images montrant l'animal dans différentes positions ou environnements. Alors que l'augmentation des données peut être un moyen puissant de compléter les ensembles de données d'entraînement [15], la génération et la conservation de l'ensemble de données de formation est souvent le principal obstacle à l'application de DL. Classifieurs de cations tels qu'AlexNet [3] ont été formés sur des millions d'instances de formation annotées [dix], et bien que ce ne soit pas universel [20,22,31], les réseaux utilisés pour les applications de microscopie sont souvent formés avec des milliers d'exemples pour atteindre une précision de prédiction élevée [24,32].

Ces dernières années, d'importants développements techniques ont amélioré ou accéléré la phase d'apprentissage. Cela inclut les réseaux pré-formés (apprentissage par transfert [33-35], ce qui permet d'utiliser des ensembles de données d'entraînement beaucoup plus petits), mettant deux NN en concurrence (tels que les réseaux d'adversaire génératifs, les GAN, où un réseau apprend à générer de faux ensembles de données et un autre apprend à distinguer les faux du réel) [24,36] ou en permettant l'utilisation directe de très grands ensembles de données non organisés (auto-apprentissage ou apprentissage non supervisé) [37-42].

Réseaux de neurones et microscopie

Les chercheurs en sciences de la vie sont confrontés à plusieurs défis lors de l'imagerie d'échantillons biologiques: comment la phototoxicité et le blanchiment des filaments fluorescents sont-elles équilibrées avec un bon signal ou une bonne résolution? Combien de filaments fluorescents peuvent-ils être imagés de manière fiable? Et comment extraire des informations pertinentes et complexes à partir de grands ensembles de données d'images, sans annotations manuelles fastidieuses et sans biais humain? Grâce à la disponibilité croissante de l'imagerie à haut débit, la nouvelle génération de méthodes DL en microscopie a le potentiel de résoudre certains de ces problèmes.

Dans les sections suivantes, nous présenterons un aperçu de plusieurs développements récents passionnants en IA et comment ils pourraient répondre à certaines des limitations actuelles de la microscopie mentionnées ci-dessus. Malgré quelques chevauchements conceptuels entre les méthodes présentées ici, nous les avons séparées en quatre catégories: détection d'objets et classification (facilitant l'extraction d'informations), la segmentation d'image (permettant une analyse à haut débit de grande taille et potentiellement impartiale), l'étiquetage spécial (s'attaquer aux limites du nombre maximal de marqueurs fluorescents et celui de la phototoxicité) et de la restauration d'image (réduction de la phototoxicité, amélioration du débruitage ou de la résolution).

Détection d'objets et classification

Un objectif important de l'analyse d'images microscopiques est de reconnaître et d'attribuer des identités aux caractéristiques pertinentes d'une image (Figure 2). Ici, les objets sur une image peuvent être identifiés et classifiés basés sur l'analyse NN. Par exemple, l'identification des cellules mitotiques dans un échantillon de tissu peut être essentielle pour le diagnostic du cancer. Cependant, manuel

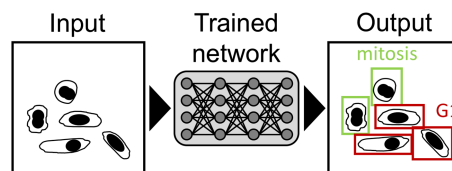


Figure 2. Détection d'objets et classification.

Schéma d'un NN formé qui détecte et classifie des cellules de différents types ou stades, par exemple pour identifier les cellules mitotiques. Une carte de catégorisation (à droite) peut être obtenue à partir d'un image du champ (à gauche). Ici, le stade du cycle cellulaire de chaque cellule est prédit. Au cours de la formation, le réseau a été présenté avec un ensemble d'images représentatives de cellules à différentes étapes des cycles cellulaires qui ont été annotées manuellement.

L'annotation est fastidieuse, limitée en débit, et les experts peuvent introduire un biais dans de telles annotations en décidant quelles caractéristiques d'image sont importantes tout en ignorant les autres. Bien que plusieurs méthodes de calcul aient été introduites pour accélérer la détection ou la classification de tâches de cations [43-45], ceux-ci reposent encore souvent sur des paramètres artisanaux, choisis par les chercheurs. L'avantage des NN est leur capacité à apprendre les caractéristiques d'image pertinentes de manière autonome. Les NN catégoriques ont donc été largement utilisés dans l'imagerie biomédicale, en particulier pour la détection du cancer, d'autant plus que de grands ensembles de données sont devenus plus disponibles [15,46-50] ou appliqués à des écrans à haut débit et à contenu élevé où il a montré une reconnaissance de niveau expert des caractéristiques subcellulaires [32,51-54]. Une nouvelle approche dans ce domaine consiste à utiliser l'apprentissage non supervisé pour identifier les localisations de protéines sous-cellulaires [38]. Lu et coll. a montré que le regroupement non supervisé des protéines fluorescentes permet des études exploratoires sur les données de localisation des protéines (car il n'y a pas de biais de l'utilisateur dans les données d'entrée) et supprime également l'exigence d'étiquetage manuel d'un ensemble de données d'entraînement [38].

Les NN ont également montré leur capacité à identifier avec précision les états cellulaires à partir de données de lumière transmise, par exemple en différenciant les cellules en fonction du stade du cycle cellulaire [39], cellules affectées par la phototoxicité [55] ou cellules endothéliales dérivées de cellules souches [56]. La détermination de ces identités cellulaires nécessitait auparavant l'introduction d'un marqueur intracellulaire, avec le risque associé d'affecter la physiologie de la cellule. Ces exemples montrent comment l'utilisation des NN pourrait être une méthode moins invasive pour identifier le destin ou l'identité des cellules.

Segmentation d'image

La segmentation est l'identification des régions d'image qui font partie de structures cellulaires ou subcellulaires et est souvent une étape essentielle dans l'analyse d'image (figure 3). Dans ce cas, contrairement à l'approche catégorique, l'identifiant NN est si chaque pixel appartient à une catégorie de structure, typiquement définie comme l'arrière-plan par rapport au signal. Un inconvénient de certaines plates-formes de segmentation existantes [43,45,57] est leur besoin de fine-tuning et suppression manuelle des erreurs, nécessitant du temps et de l'expertise ou ajoutant des préjugés humains [58]. Dans plusieurs études, les CNN ont surpassé les approches classiques en termes de précision et de généralisation [18,58-61], en particulier lors de la segmentation cellulaire dans des co-cultures de plusieurs types cellulaires [58]. Dans le contexte de l'histopathologie, les CNN ont été utilisés avec succès pour segmenter les glandes du côlon [62-66], tissus mammaires [67,68] et noyaux [69] surpassant les approches non DL. Naturellement, il y a chevauchement entre les défis de classification et de segmentation, par conséquent, la segmentation est souvent utilisée avec la classification et peut même améliorer la précision de la classification [49,70].

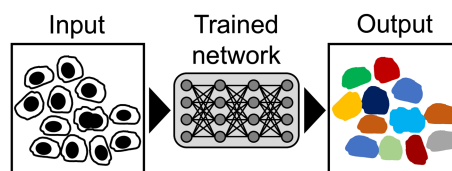


Figure 3. Segmentation de l'image.

Schéma d'un NN formé qui produit des masques de segmentation à partir d'images de champ. Étant donné un image d'entrée de champ des cellules (à gauche), le réseau attribue des valeurs de pixels au masque de segmentation correspondant à des cellules individuelles sur l'arrière-plan (à droite). Au cours de la formation, le réseau a reçu un ensemble d'images de champ qui ont été segmentées manuellement.

La segmentation d'images a également lancé une architecture de réseau appelée U-net [18] avec une importance plus grande en microscopie, en particulier lorsque l'entrée et la sortie du NN sont une image (algorithme image-image). Cette architecture U-net utilise de nombreuses couches de convolution / mise en commun (le codeur), suivies de nombreuses couches de déconvolution / suréchantillonnage (le décodeur) [18,59]. L'encodeur apprend les principales caractéristiques de l'image et le décodeur les réaffecte à différents pixels de l'image. Bien qu'initialement utilisées pour des tâches de segmentation, ces architectures peuvent être adaptées à d'autres transformations image-image (par opposition à de simples classifications d'images), ce qui en fait l'un des réseaux les plus importants pour les applications de microscopie aujourd'hui [17,20,22,69,71].

Artifiétiquetage spécial

L'observation directe de structures cibles dans les cellules à l'aide de la microscopie optique nécessite généralement l'introduction de marqueurs, soit par marquage génétique, soit par coloration chimique, qui peuvent perturber le système biologique. Additionnellement, la microscopie par fluorescence, en particulier lors de l'utilisation d'un éclairage laser, est intrinsèquement plus phototoxique pour les cellules que l'imagerie en lumière transmise [72,73]. Pour remédier à ces limites, deux études utilisant des CNN ont montré que les structures cellulaires, telles que la membrane nucléaire, les nucléoles, les membranes plasmiques et les mitochondries, peuvent être extraites par les NN à partir d'images sans étiquette [20,21]. Alors que la tâche d'artifiétiquetage spécial est similaire à la segmentation, la principale différence dans cette approche réside dans la création de l'ensemble de données de formation qui ne nécessite pas d'être étiqueté à la main. Au lieu de cela, l'ensemble d'entraînement contient des images appariées obtenues à partir d'un champ de vision et de modalités de fluorescence des mêmes cellules. Les réseaux apprennent alors à prédire un signal de fluorescence à partir d'images de lumière transmise ou d'images électromagnétiques, ce qui réduit la nécessité d'acquérir les images de fluorescence (Figure 4). Cette capacité est particulièrement utile lors de la réalisation d'une imagerie de cellules vivantes à long terme où les acquisitions à faible phototoxicité sont très avantageuses. Fait intéressant, les réseaux ont atteint une grande précision en utilisant un ensemble de données de formation de seulement 30-40 images [20] et ont pu identifier les cellules mourantes ou distinguer différents types de cellules et structures subcellulaires [21]. Christiansen et coll. [21] ont également démontré leur capacité de transfert d'apprentissage, permettant d'appliquer un réseau pré-formé entre différents microscopes et étiquettes, mettant en évidence la polyvalence de ces réseaux. Cependant, le manque de bonne compréhension de l'origine des fonctionnalités que les réseaux sont capables de produire à partir des modalités sans étiquette a généré un certain scepticisme et alimenté le débat autour de l'artifiétiquetage spécial.

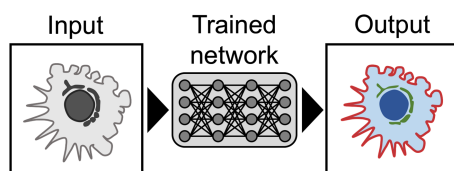


Figure 4. Artifiétiquetage spécial.

Schéma d'un NN formé qui marque les structures cellulaires à partir d'images de cellules non colorées, par exemple des cellules imagées en clair-obscur. Étant donné une entrée d'une seule cellule imagée sous, par exemple, la lumière transmise (à gauche), le réseau prédit le signal de fluorescence pour des structures de la cellule (à droite) telles que la membrane (en rouge), le noyau (en bleu foncé) ou le réticulum endoplasmique (en vert). Cette prédiction de structures est rendue possible en présentant au réseau des images de cellules marquées avec des marqueurs fluorescents et leurs brillants respectifs d'images de champ pendant l'entraînement.

Restauration d'image: résolution et signal

La quantité et la qualité des caractéristiques qui peuvent être extraites d'une image microscopique sont limitées par des contraintes fondamentales inhérentes à toutes les configurations optiques: rapport signal sur bruit (SNR) et résolution. Surmonter ces limitations constitue un objectif central de la microscopie. En particulier, la microscopie à super-résolution (SRM) [74-78] permet désormais l'imagerie des structures cellulaires à l'échelle nanométrique à l'aide de la microscopie optique. Cependant, la phototoxicité, le blanchiment et la faible résolution temporelle limitent toujours la capacité à obtenir une imagerie à haute résolution à long terme dans des spécimens vivants. Récemment, plusieurs groupes de recherche ont proposé des méthodes CNN pour résoudre certains de ces problèmes [22,23].

Pour de tels réseaux, les ensembles de données d'apprentissage se composent, par exemple, d'images appariées acquises à un SNR faible et élevé, respectivement et le réseau apprend à prédire une image débruitée (SNR élevé) à partir d'une entrée bruitée (SNR faible). Cette approche a été démontrée par Weigert et al. [22] avec leur méthodologie de restauration d'image sensible au contenu (CARE), sur l'organisme hautement photosensible *Schmidtea mediterranea* qui a permis une diminution de 60 fois de la dose d'éclairage, permettant ainsi une observation plus longue et plus détaillée de cet organisme *in vivo*. SOYEZ aussi

ont démontré le succès de la restauration de la résolution axiale dans des coupes de microscopie profonde, plus performantes que les approches de reconstruction conventionnelles, telles que la déconvolution. En outre, CARE a pu reconstruire des images SRM à partir d'images à diffraction limitée, en utilisant la méthode de la fluctuation radiale à super-résolution (SRRF) comme référence [78-80]. De même, des images SRM peuvent être obtenues à partir d'images de microscopie confocale conventionnelle en utilisant la microscopie STIMULATED EMISSION DEPLETION (STED) pour acquérir l'ensemble de données de formation à haute résolution [24]. Compte tenu du difficile accès à la création de grands ensembles d'apprentissage annotés, différentes méthodes d'apprentissage non supervisé pour la restauration d'image ne nécessitant aucune donnée d'apprentissage étiquetée ont récemment été explorées [41,42]. Ici, un réseau apprend le débruitage d'image uniquement sur un ensemble de données d'images bruitées. Bien que ces méthodes n'atteignent pas toujours les performances des réseaux formés avec des données de vérité terrain [41], cela représente une avenue intéressante pour les tâches où les grands ensembles de données de formation sont difficiles ou impossibles à assembler.

Utilisation des réseaux de neurones dans la microscopie de localisation de molécule unique

Les CNN ont également récemment suscité un intérêt pour la microscopie de localisation à molécule unique (SMLM) *live*. Toutes les études disponibles ont été publiées l'année dernière, par des groupes indépendants, suggérant que le potentiel de l'IA pour les MRS est de plus en plus reconnu dans la communauté [23,81-84]. Application d'architectures de réseau sophistiquées, avec des combinaisons de données *live* et SMLM comme entrées [23,81], les réseaux sont capables de cartographier directement les données SMLM clairsemées des microtubules, des mitochondries ou des pores nucléaires directement dans leurs images de sortie SRM. Cela démontre la force des CNN pour la reconnaissance de formes dans les données redondantes, comme les données SMLM où seules quelques images peuvent suffire pour reconstruire une image SRM. Fait intéressant, certains de ces algorithmes ne nécessitent aucun réglage de paramètre ou aucune connaissance des structures imagées [81]. En particulier, pour une densité d'émetteurs élevée, cela est avantageux par rapport aux algorithmes de reconstruction SMLM conventionnels qui peuvent prendre du temps. Cependant, les moyens par lesquels un NN peut apprendre à produire des images SRM à partir de données de terrain restent un sujet très débattu dans le domaine de la microscopie et de l'IA.

D'autres études ont utilisé une approche différente de la reconstruction SMLM en utilisant les propriétés intrinsèques des données SMLM [82,83]. Ici, les réseaux sont formés pour détecter les positions spatiales de fluorophores des images d'entrée SMLM, similaires à un algorithme SMLM typique. Cette approche contourne en partie la controverse car les images reconstruites sont donc plus proches des reconstructions SMLM standard rendant l'amélioration de la résolution plus facile à interpréter. Tout en atteignant une précision similaire à celle des algorithmes SMLM de pointe [85], l'une des principales réalisations de DL pour SMLM est la vitesse de reconstruction avec laquelle des images super-résolues peuvent être produites. Dans plusieurs études, cela a été amélioré de plusieurs ordres de grandeur par rapport aux algorithmes de reconstruction conventionnels [23,81,82,84].

Discussion

L'IA transforme la microscopie à la fois en permettant des performances humaines ou surhumaines pour de nombreuses tâches d'analyse d'images et en tant qu'outil automatisé haute performance pour l'analyse de Big Data [32,53,58] (Tableau 1). Cependant, alors que les performances, la polyvalence et la vitesse de DL sont susceptibles de continuer à augmenter, il y a des défis qui ne seront pas résolus par des unités de traitement améliorées.

Fondamentalement, la tâche effectuée par le NN ainsi que ses performances sont déterminées par la qualité de l'ensemble de données de formation. Ainsi, tout biais présent dans l'ensemble de données de formation (couramment introduit par l'utilisateur au niveau de la sélection) sera par la suite incorporé dans le réseau. Cela met en évidence la nécessité d'une curation détaillée des données qui dépend fortement de la tâche à accomplir. Par exemple, dans le cas d'un classificateur de cation, les populations sous-représentées pourraient être classées avec moins de précision qu'un mannequin pourrait aux exemples de formation. Pour que l'ensemble de données de formation couvre un ensemble représentatif, il est souvent important qu'il contienne des milliers, voire des millions d'exemples. En l'absence d'un ensemble de données de formation robuste, un utilisateur devrait envisager de sélectionner une architecture de modèle différente ou même des alternatives à DL qui existent sous la forme d'autres approches d'apprentissage automatique ou de programmes informatiques classiques [27].

Une autre préoccupation fréquemment soulevée dans la communauté de la microscopie par rapport à DL est la quantité de sorties réseau pouvant être fiables pour représenter les données sous-jacentes. C'est une réelle préoccupation car on a observé que les CNN provoquaient des hallucinations d'image [86] ou échouaient de façon catastrophique simplement en raison de changements infimes dans l'image [87]. Pour résoudre ce problème, plusieurs groupes ont évalué la présence d'artefacts dans leurs images de sortie réseau, notamment en utilisant l'approche SQUIRREL (Super-resolution QUantitative Image Rating and Reporting of Error Locations) [22-24,80,84,88]. Bien que cela puisse identifier la présence d'artefacts, cela ne répond pas aux

Tableau 1 Sélection de publications des dernières années appliquant ou développant un apprentissage profond de la microscopie

Auteurs	An	Des détails	Référence
Segmentation / classification			
Ning et coll.	2005	Classification et segmentation des tissus par étapes de <i>C. elegans</i> développement	[61]
Ciresan et coll.	2012	Segmentation des membranes neuronales en EM	[60]
Ciresan et coll.	2013	Détection de la mitose dans le cancer du sein	[15]
Long et coll.	2015	Introduction de réseaux entièrement convolutifs (fCNN) pour les tâches de	[59]
Ronneberger et coll.	2015	segmentation U-net: augmentation significative de l'efficacité du réseau image-image	[18]
Kainz et coll.	2015	Segmentation de la glande du côlon, le réseau surpasse la détection des fonctionnalités	[62]
Kraus et coll.	2016	artisanales Classification et segmentation à haut débit chez la levure	[52]
Xu et coll.	2016	Détection accélérée des cellules dans de très grandes images et des images avec un grand nombre de	
Dürr et coll.	2016	cellules [46] Phénotypage de plus de 40 000 images unicellulaires traitées avec des médicaments [54]	
Van Valen et coll.	2016	Cellule efficace-segmentation cellulaire en imagerie de cellules vivantes [58]	
Richmond et coll.	2017	Identification des cellules présentant des dommages dus à la phototoxicité [55]	
Kraus et coll.	2017	Identification des souches et mutants de levure et des localisations de protéines sous-cellulaires [53]	
Esteva et coll.	2017	Classification de niveau expert des lésions cutanées avec un téléphone portable applicable CNN [14]	
Pärnamaa et pièces	2017	Classification à haut débit de la localisation des protéines chez la levure [32]	
Godinez et coll.	2017	Phénotypage des cellules après traitement médicamenteux, identification des organites [51]	
Eulenberg et coll.	2017	Identification des phases du cycle cellulaire et des différences dans les stades de la maladie [39]	
Kusumoto et coll.	2018	Détection des cellules épithéliales dérivées des iPSC [56]	
Naylor et coll.	2018	Application de U-net pour la segmentation des noyaux dans les coupes d'histopathologie [69]	
Lu et coll.	2018	Apprentissage non supervisé pour la prédiction de la localisation des protéines, dans les cellules humaines et de levure [38]	
Falk et coll.	2018	U-net en tant que plugin ImageJ pour les non-experts, comprend un réseau pré-formé [19]	
Étiquetage artificiel			
Christiansen et coll.	2018	Prédiction d'étiquettes dans les cellules fixes et vivantes	[21]
Ounkomol et coll.	2018	Prédiction d'étiquettes 3D dans des images de cellules vivantes, IF et EM	[20]
Restauration d'image / super résolution			
Nehme et coll.		Images SMLM 2018 à partir d'une entrée limitée par diffraction	[81]
Boyd et coll.		2018 identifie la localisation des fluorophores à partir de trames individuelles STORM	[82]
Ouyang et coll.		Reconstruction SMLM 2018 en utilisant un très petit nombre d'images pour prédire l'image SR 2018	[23]
Nelson et Hess		Réseau de reconstruction PALM formé directement sur l'image à analyser 2018 Débruitage et	[83]
Weigert et coll.		amélioration de la résolution dans différents organismes et types de cellules 2018 Localisation SMLM par	[22]
Li et coll.		apprentissage en profondeur et élimination d'artefacts par inférence statistique 2018 Image débruitage	[84]
Krull et coll.		utilisant l'apprentissage non supervisé sur des images d'entrée purement bruyantes 2019 Conversion de	[41]
Wang et coll.		NA faible en NA élevé ou diffraction limitée aux images de résolution STED	[24]

Ce tableau couvre les quatre principaux thèmes pour lesquels l'IA a apporté des solutions à certaines des principales limites de la microscopie ces dernières années.

problème que c'est difficile pour interpréter comment les réseaux CNN produisent leur sortie à partir de l'entrée d'image, en particulier en raison de l'abstraction de la représentation des données dans les réseaux profonds. Ce manque d'interprétabilité des sorties du réseau est particulièrement préoccupant dans le cas de l'amélioration de la résolution, où il n'est pas clair quelles informations un CNN peut extraire d'une image à diffraction limitée pour obtenir une image non limitée par la diffraction et comment les algorithmes DL y parviennent sans produisant significativement plus d'artefacts que les algorithmes standards [22,24]. Des préoccupations similaires existent pour l'artificiel étiquetage spécial, car il peut s'avérer difficile d'interpréter la différence entre le signal et les hallucinations du réseau. Outre les problèmes d'interprétabilité, il existe d'autres exemples anecdotiques où les réseaux ont 'triché' leur chemin vers des performances élevées, p.ex. en utilisant des caractéristiques indésirables telles qu'un espace vide pour identifier les cellules mortes [55] ou en identifiant des modèles dans l'ordre de l'ensemble d'apprentissage, mais pas

dans les images elles-mêmes [89]. Cela montre à quel point les performances des méthodes DL dépendent du choix et de la conservation des ensembles de données de formation.

En outre, la conception des architectures CNN a été appelée 'notoire comme une entreprise empirique' [21]. Choix d'hyperparamètres de réseau tels que la profondeur du réseau, le nombre de connexions neuronales, le taux d'apprentissage et d'autres fonctionnalités codées à la main des NN [32,83,90,91] et le matériel nécessaire nécessitent souvent un savoir-faire technique approfondi, ce qui limite l'accessibilité pour de nombreux utilisateurs potentiels des sciences de la vie.

Néanmoins, l'IA a un grand potentiel habilitant pour la microscopie, étant donné les performances surhumaines en classification et reconstruction d'image. Par conséquent, les questions discutées ci-dessus ne doivent pas décourager l'utilisation des NN comme outil de recherche mais être un motif de prudence lors de l'interprétation des performances des NN, comme pour tout outil d'analyse computationnelle.

Perspectives

Un nombre rapidement croissant de publications utilisant DL en microscopie suggère que cette technologie peut être un outil polyvalent et puissant pour répondre à certains problèmes de défis en imagerie biomédicale. Cependant, le délai entre les développements et leurs applications signifie que certains domaines de la recherche en IA n'ont pas encore été largement traduits en microscopie. Par exemple, l'apprentissage par transfert est un domaine qui sera probablement plus largement étudié, permettant l'utilisation de réseaux pré-formés pour mener à bien une nouvelle tâche, dont les formes commencent seulement à être disponibles [19]. Trouver des méthodes pour réutiliser les NN de manière robuste sur plusieurs tâches différentes, différentes tailles d'image ou des images prises sur différents microscopes ferait de DL un plus proche flexible et utilisable pour l'analyse d'images que ce qui est actuellement possible. Surtout, cela réduirait le besoin de grands ensembles de données de formation et réduirait le temps de formation nécessaire pour les nouvelles tâches. Cela pourrait donc abaisser la barrière d'accessibilité de l'approche et minimiser la nécessité pour les utilisateurs de se familiariser pleinement avec les spécifications NN. À son tour, cela permettrait à DL de devenir un outil plus largement utilisé dans les sciences de la vie, plutôt qu'une méthode qui nécessite des connaissances d'experts. De plus, nous nous attendons à ce que l'IA développe des outils pour inspecter et détecter les pannes de réseau qui renforceraient la confiance et établiraient le rôle que l'IA peut et ne peut pas jouer dans la recherche moderne. Nous pouvons également envisager de nouvelles technologies basées sur l'IA qui permettent des plates-formes de microscopie intégrées [92] à contrôler par un agent artificiel spécial, optimisant ainsi la microscopie au niveau de l'acquisition d'images.

Points de vue

- Importance de la formation. Le domaine du Deep Learning (DL) appliqué à la microscopie montre des promesses incroyables pour transformer la façon dont nous acquérons et analysons nos données microscopiques. Développé historiquement pour automatiser la segmentation et la classification des images biomédicales, il commence à être utilisé dans de nombreuses tâches d'imagerie, l'identification des caractéristiques subcellulaires, permettant la récupération d'images de haute qualité à partir de données bruitées ou spécifiques des étiquettes cellulaires provenant d'échantillons non étiquetés.
- État actuel du champ. Des applications de DL sont actuellement développées par des informaticiens experts qui peuvent déployer les importantes ressources informatiques nécessaires à la formation de ces réseaux. Cependant, ces ressources sont extrêmement polyvalentes car les architectures typiques de réseau (telles que les architectures U-net) peuvent être utilisées pour de nombreuses tâches. Par conséquent, une nouvelle limitation est apparue et réside dans la génération et la conservation des ensembles de données nécessaires à la formation des réseaux.
- Directions futures. La conception, la mise en œuvre et l'utilisation de la DL à la microscopie sont vouées à se démocratiser en grande partie grâce à la disponibilité de packages matériels et logiciels les rendant accessibles. Il reste cependant des inquiétudes concernant les biais intégrés dans les réseaux dus, par exemple, à la conservation des données de formation, aux pannes catastrophiques du réseau, qui restent à étudier en détail. Le champ subit toujours un développement exponentiel et de nombreuses approches développées pour la robotique ou la vision par ordinateur imprégneront probablement la recherche biomédicale, créant de nouvelles opportunités pour les chercheurs en sciences de la vie.

Abréviations

AI, Artifiintelligence civile; CARE, restauration d'image sensible au contenu; CNN, réseaux de neurones convolutifs; DL, apprentissage en profondeur; GPU, unités de traitement graphique; NN, réseaux de neurones; ReLU, Rectified Unité linéaire; SMLM, microscopie de localisation de molécule unique; SNR, rapport signal / bruit; SRM, microscopie à super-résolution; SRRF, Fluctuations radiales à super-résolution; STED, appauvrissement des émissions stimulées.

Financement

Ce travail a été financé par des subventions du UK Biotechnology and Biological Sciences Research Council [BB / M022374 / 1; BB / P027431 / 1; BB / R000697 / 1; BB / S507532 / 1] (RH et RFL), le UK Medical Research Council [MR / K015826 / 1] (RH), le Wellcome Trust [203276 / Z / 16 / Z] (RH), financement de base du laboratoire MRC pour la biologie cellulaire moléculaire, University College London [MC_UU12018 / 7]. LC soutenu par une bourse de recherche MRC de 4 ans.

Remerciements

Nous remercions Simon F. Nørrelykke (ETH Zürich, Suisse) et Alex Lu (Université de Toronto, Canada) pour avoir aimablement suggéré des corrections à ce manuscrit.

Intérêts concurrents

Les auteurs déclarent qu'il n'y a pas d'intérêts concurrents associés au manuscrit.

Les références

- 1 LeCun, Y., Bengio, Y. et Hinton, G. (2015) Apprentissage en profondeur. *Nature* 521, 436-444 <https://doi.org/10.1038/nature14539>
- 2 Chartrand, G., Cheng, PM, Vorontsov, E., Drozdal, M., Turcotte, S., Pal, CJ et al. (2017) Apprentissage en profondeur: une introduction pour les radiologues. *Radiographie* 37, 2113-2131 <https://doi.org/10.1148/rg.2017170077>
- 3 Krizhevsky, BA, Sutskever, I. et Hinton, GE (2012) Imagenet classification avec des réseaux de neurones convolutifs profonds. *Adv. Neural Inf. Traiter. Syst.* 25, <https://doi.org/10.1145/3065386>
- 4 Rosenblatt, F. (1958) Le perceptron: un modèle probabiliste pour le stockage et l'organisation de l'information. *Psychol. Tour.* 65 ans 386-408 <https://doi.org/10.1037/h0042519>
- 5 Rumelhart, DE, Hinton, GE et Williams, RJ (1986) Apprentissage des représentations par rétropropagation d'erreurs. *Nature* 323, 533-536 <https://doi.org/10.1038/323533a0>
- 6 Parker, D. (1985) Logique d'apprentissage: TR-47, MIT-Press, Cambridge
- 7 LeCun, Y. (1989) Généralisation et stratégies de conception de réseau. *Lien. Perspect.* 19, 143-155
- 8 Le Cun, Y., Boser, B., Denker, JS, Howard, RE, Habbard, W., Jackel, LD et al. (1990) Reconnaissance manuscrite de chiffres avec un réseau de rétro-propagation. *Adv. Neural Inf. Process Syst.* 396-404
- 9 LeCun, Y., Boser, B., Denker, JS, Henderson, D., Howard, RE, Hubbard, W. et al. (1989) Rétropropagation appliquée à la reconnaissance manuscrite du code postal. *Neural Comput.* 1, 541-551 <https://doi.org/10.1162/neco.1989.1.4.541>
- 10 Deng, JA, Dong, WI, Socher, R., Li, L.-J., Li, KI et Fei-Fei, L. (2009) ImageNet: une base de données d'images hiérarchiques à grande échelle. 2009 IEEE Conf. Comput. Vis. Reconnaissance de formes., 248-255 <https://doi.org/10.1109/CVPR.2009.5206848>
- 11 Silver, D., Schrittwieser, J., Simonyan, K., Antonoglou, I., Huang, A., Guez, A., et al. (2017) Maîtriser le jeu de Go sans connaissances humaines. *Nature* 550, 354-359 <https://doi.org/10.1038/nature24270>
- 12 Bojarski, M., Del Testa, D., Dworakowski, D., Firner, B., Flepp, B., Goyal, P. et al. (2016). Apprentissage de bout en bout pour les voitures autonomes. *arXiv Prepr. arXiv1604.07316*, 1-9
- 13 Maqueda, AI, Loquercio, A., Gallego, G., Garcia, N. et Scaramuzza, D. (2018). La vision basée sur les événements rencontre un apprentissage approfondi sur la prédiction de la direction pour les voitures autonomes. *Proc. IEEE Comput. Soc. Conf. Comput. Vis. Reconnaissance de modèle.* 5419-5427 <https://doi.org/10.1109/CVPR.2018.00568>
- 14 Esteve, A., Kuprel, B., Novoa, RA, Ko, J., Swetter, SM, Blau, HM, et al. (2017) Classi de niveau dermatologuefication du cancer de la peau avec des réseaux neuronaux profonds. *Nature* 542, 115-118 <https://doi.org/10.1038/nature21056>
- 15 Ciresan, DC, Giusti, A., Gambardella, LM et Schmidhuber, J. (2013). Détection de la mitose dans les images histologiques du cancer du sein avec des réseaux neuronaux profonds. *Détection de mitose ICPR 2012. Compet.*
- 16 Litjens, G., Kooi, T., Bejnordi, BE, Setio, AAA, Ciompi, F., Ghafoorian, M. et al. (2017) Une enquête sur l'apprentissage profond dans l'analyse d'images médicales. *Med. Image Anal.* 42, 60-88 <https://doi.org/10.1016/j.media.2017.07.005>
- 17 Roth, HR, Shen, C., Oda, H., Oda, M., Hayashi, Y., Misawa, K. et al. (2018) L'apprentissage en profondeur et son application à la segmentation d'images médicales. *Med. Technologie d'imagerie.* 36, 63-71
- 18 Ronneberger, O., Fischer, P. et Brox, T. (2015). U-net: réseaux convolutifs pour la segmentation d'images biomédicales. Dans *Notes de cours en informatique (y compris la sous-série Notes de cours en Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*, 9351, 234-241
- 19 Falk, T., Mai, D., Bensch, R., Çiçek, Ö., Abdulkadir, A., Marrakchi, Y. et al. (2019) U-Net: apprentissage en profondeur pour le comptage, la détection et la morphométrie des cellules. *Nat. Méthodes* 16, 67 <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0261-2>
- 20 Ounkomol, C., Seshamani, S., Maleckar, MM et Collman, F. (2018) Prédiction sans étiquette de trois dimensions flimages uorescence issues de la microscopie à lumière transmise. *Nat. Méthodes* 15, 917-920 <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0111-2>
- 21 Christiansen, EM, Yang, SJ, Ando, DM, Javaherian, A., Skibinski, G., Lipnick, S., et al. (2018) Étiquetage in silico: prédire flétiquettes uorescentes dans les images non étiquetées. *Cellule* 173, 792-803. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.040>

- 22 Weigert, M., Schmidt, U., Boothe, T., Müller, A., Dibrov, A., Jain, A., et al. (2018) Restauration d'image sensible au contenu: repousser les limites de microscopie par fluorescence. *Nat. Méthodes* 15, 1090-1097 <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0216-7>
- 23 Ouyang, W., Aristov, A., Lelek, M., Hao, X. et Zimmer, C. (2018) L'apprentissage en profondeur accélère massivement la microscopie de localisation à super-résolution. *Nat. Biotechnol.* 36, 460-468 <https://doi.org/10.1038/nbt.4106>
- 24 Wang, H., Rivenson, Y., Jin, Y., Wei, Z. et Gao, R. (2019) L'apprentissage en profondeur atteint la super-résolution en microscopie par fluorescence. *Nat. Méthodes* 16, 103-110 <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0239-0>
- 25 Angermueller, C., Pärnamaa, T., Parts, L. et Stegle, O. (2016) Deep learning for computational biology. *Mol. Syst. Biol.* 12, 1-16 <https://doi.org/10.15252/msb.20156651>
- 26 Belthangady, C. et Royer, L.A. (2019) Applications, promesses et pièges de l'apprentissage profond pour la reconstruction d'image par fluorescence. *Nat. Méthodes* <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0458-z>
- 27 Nichols, J.A., Herbert Chan, H.W. et Baker, M.A.B. (2019) Apprentissage automatique: applications de l'intelligence artificielle à l'imagerie et au diagnostic. *Biophys. J.* 117, 111-118 <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0449-9>
- 28 Glorot, X., Bordes, A. et Bengio, Y. (2011). Rectified linear unit: a simple yet effective way for neural networks. *Proc. 14th Int. Conf. Artif. Intell. Stat.* 15, 315-323
- 29 Werbos, P. (1974). Au-delà de la régression: de nouveaux outils de prédiction et d'analyse en sciences du comportement. Ph.D. non publié. Dissertation, Harvard University, Department of Applied Mathematics, Cambridge, MA.
- 30 Bottou, L. (2010). Apprentissage automatique à grande échelle avec descente de gradient stochastique. *Proc. COMPSTAT'2010*, Physica-Verlag HD, 177-186 Weigert, M., Royer, L., Jug, F. et Myers, G. (2017) Reconstruction isotrope de la 3D d'images de microscopie fluorescence utilisant des réseaux de neurones convolutifs. *Int. Conf. Med. Image Comput. Comput. Interv.* 2, 126-134 Pärnamaa, T. and Parts, L. (2017) Classification de la localisation subcellulaire des protéines à partir d'images de microscopie à haut débit à l'aide de l'apprentissage en profondeur. *G3* 7, 1385-1392 <https://doi.org/10.1534/g3.116.033654>
- 33 Pan, S.J. et Yang, Q. (2010) Une enquête sur l'apprentissage par transfert. *IEEE Trans. Knowl. Data Eng.* 22, 1345-1359 <https://doi.org/10.1109/TKDE.2009.191>
- 34 Phan, H.T.H., Kumar, A., Kim, J. et Feng, D. (2016) Apprentissage par transfert d'un réseau de neurones convolutifs pour les classes d'images de cellules HEP-2. *IEEE 13th Int. Symp. Biomed. Imaging* 2012, 1208-1211
- 35 Segebarth, D., Griebel, M., Duerr, A., von Collenberg, C.R., Martin, C., Fiedler, D. et al. (2018) DeepFluor, un pipeline d'apprentissage en profondeur pour la segmentation d'images de fluorescence. *bioRxiv*, 473199 <https://doi.org/10.1101/473199>
- 36 Goodfellow, I.J., Pouget-Abadie, J., Mirza, M., Xu, B., Warde-Farley, D., Ozair, S. et al. (2014) Générateurs adversaires génératifs. *Adv. Neural Inf. Process. Syst.* 26, 2672-2680
- 37 Le, Q.V., Ranzato, M.A., Devin, M., Corrado, G.S. et Ng, A.Y. (2012). Création de fonctionnalités de haut niveau à l'aide d'un apprentissage non supervisé à grande échelle. *arXiv Prepr. arXiv* 1112.6209
- 38 Lu, A., Kraus, O.Z., Cooper, S. et Moses, A.M. (2018). Apprentissage de représentations non supervisées pour des images de microscopie à cellule unique avec une peinture de cellules appariées. *bioRxiv*, 395954 <https://doi.org/10.1101/395954>
- 39 Eulenberg, P., Köhler, N., Blasi, T., Filby, A., Carpenter, A.E., Rees, P., et al. (2017) Reconstruire le cycle cellulaire et la progression de la maladie à l'aide de l'apprentissage en profondeur. *Nat. Commun.* 8, 1-6 <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00623-3>
- 40 Cheplygina, V., De Bruijne, M. et Pluim, J.P.W. (2019) Not-so-supervised: a survey of semi-supervised, multi-instance, and transfer learning in medical image analysis. *Med. Image Anal.* 54, 280-296 <https://doi.org/10.1016/j.media.2019.03.009>
- 41 Krull, A., Buchholz, T.-O. et Jug, F. (2019) Noise2Void - Apprentissage du débruitage à partir d'images bruitées uniques. *Proc. IEEE Conf. Comput. Vis. Reconnaissance de formes*, 2129-2137
- 42 Batson, J., et Royer, L. (2019) Noise2Self: débruitage aveugle par auto-surveillance. *arXiv Prepr. arXiv* 1901.11365 Carpenter, A.E., Jones, T.R., Lamprecht, M.R., Clarke, C., Kang, I., Friman, O., et al. (2006) Cellprofiler: logiciel d'analyse d'images pour identifier et quantifier les phénotypes cellulaires. *Genome Biol.* 7, <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-10-r100>
- 44 Held, M., Schmitz, M.H.A., Fischer, B., Walter, T., Neumann, B., Olma, M.H. et al. (2010) Cellcognition: annotation phénotypique résolue dans le temps dans l'imagerie de cellules vivantes à haut débit. *Nat. Méthodes* 7, 747-754 <https://doi.org/10.1038/nmeth.1486>
- 45 Sommer, C., Straehle, C., Ullrich, K. et Hamprecht, F.A. (2011). ILASTIK: Boîte à outils d'apprentissage interactif et de segmentation. *IEEE Int. Symp. Biomed. Imaging* Du nano au macro. *IEEE*, 230-233 Xu, Z. et B. JH (2016) Détection de 10 000 cellules en une seconde. *Int. Conf. Med. Image Comput. Comput. Interv.* 676-684 Malon, C. et Cosatto, E. (2013) Classification de mitotiques avec des réseaux de neurones convolutifs et des fonctionnalités blob prédéfinies. *J. Pathol. Inform.* 4, 9 <https://doi.org/10.4103/2153-3539.112694>
- 48 Shkoliar, A., Gefen, A., Benayahu, D. et Greenspan, H. (2015) Détection automatique des divisions cellulaires (mitose) dans des images de microscopie d'imagerie en direct à l'aide de réseaux de neurones convolutifs. *Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. EMBS* 2015, 743-746
- 49 Wang, D., Khosla, A., Garg, R., Irshad, H. et Beck, A.H. (2016). Apprentissage en profondeur pour identifier le cancer du sein métastatique. *arXiv Prepr. arXiv* 1606.05718, 1-6 Xu, Y., Mo, T., Feng, Q., Zhong, P., Lai, M. et Chang, E.C. (2014). Apprentissage en profondeur de la représentation des fonctionnalités avec apprentissage d'instances multiples pour l'analyse d'images médicales. *ICASSP, IEEE Int. Conf. Acoust. Process. de signal vocal*. *Proc.* 1, 1626-1630
- 51 Godínez, W.J., Hossain, I., Lazic, S.E., Davies, J.W. et Zhang, X. (2017) Un réseau neuronal convolutif multi-échelle pour le phénotypage d'images cellulaires à haut contenu. *Bioinformatique* 33, 2010-2019 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx069>
- 52 Kraus, O.Z., Ba, J.L. et Frey, B.J. (2016) Classifier et segmenter des images de microscopie avec un apprentissage approfondi d'instances multiples. *Bioinformatique* 32, 52-59 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw252>
- 53 Kraus, O.Z., Grylls, B.T., Ba, J., Chong, Y., Frey, B.J., Boone, C., et al. (2017) Analyse automatisée des données de microscopie à haut contenu avec apprentissage en profondeur. *Mol. Syst. Biol.* 13, 1-15 <https://doi.org/10.1525/msb.20177551>
- 54 Dürr, O. et Sick, B. (2016) Classification phénotypique unicellulaire utilisant des réseaux de neurones convolutifs profonds. *J. Biomol. Écran*. 21, 998-1003 <https://doi.org/10.1177/1087057116631284>
- 55 Richmond, D., Jost, A.P.-T., Lambert, T., Waters, J. et Elliott, H. (2017). DeadNet: identification de la phototoxicité à partir d'images microscopiques sans étiquette de cellules à l'aide de ConvNets profonds. *arXiv Prepr. arXiv* 1701.06109, 1-19
- 56 Kusumoto, D., Lachmann, M., Kunihiro, T., Yuasa, S., Kishino, Y., Kimura, M., et al. (2018) Système automatisé basé sur l'apprentissage en profondeur pour identifier les cellules endothéliales dérivées de cellules souches pluripotentes induites. Représentant des cellules souches dix, 1687-1695 <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.04.007>

- 57 Arganda-Carreras, I., Kaynig, V., Rueden, C., Elceiri, KW, Schindelin, J., Cardona, A., et al. (2017) Segmentation Weka formable: un outil d'apprentissage automatique pour les classes de pixels de microscopie. *Bioinformatique* 33, 2424-2426 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx180>
- 58 Van Valen, DA, Kudo, T., Lane, KM, Macklin, DN, Quach, NT, DeFelic, MM, et al. (2016) L'apprentissage en profondeur automatise l'analyse quantitative de cellules individuelles dans des expériences d'imagerie de cellules vivantes. *PLoS Comput. Biol.* 12, 1-24 <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005177>
- 59 Long, J., Shelhamer, E. et Darrell, T. (2015) Réseaux entièrement convolutifs pour la segmentation sémantique. *Proc. IEEE Comput. Soc. Conf. Comput. Vis. Reconnaissance de formes*, 3431-3440
- 60 Ciresan, DC, Giusti, A., Gambardella, LM et Schmidhuber, J. (2012) Les réseaux de neurones profonds segmentent les membranes neuronales dans des images de microscopie électronique. *Nips*, 1-9
- 61 Ning, F., Delhomme, D., LeCun, Y., Piano, F., Bottou, L., Barbano, PE et al. (2005) Vers le phénotypage automatique des embryons en développement à partir de vidéos. *IEEE Trans. Processus d'image*, 14, 1360-1371 <https://doi.org/10.1109/TIP.2005.852470>
- 62 Kainz, P., Pfeiffer, M. et Urschler, M. (2017) Segmentation sémantique des glandes du côlon avec des réseaux de neurones convolutifs profonds et une segmentation de variation totale. *PeerJ* 5, e3874 <https://doi.org/10.7717/peerj.3874>
- 63 Bentaieb, A. et Hamarneh, G. (2016) Réseaux entièrement convolutifs sensibles à la topologie pour la segmentation des glandes histologiques. *Int. Conf. Med. Image Comput. Comput. Interv.*, 460-468
- 64 Chen, H., Qi, X., Yu, L. et Heng, P.-A. (2016) DCAN: réseaux sensibles aux contours profonds pour une segmentation précise des glandes. *Proc. IEEE Conf. Comput. Vis. Reconnaissance de formes*, 2487-2496
- 65 Li, W., Manivannan, S., Akbar, S., Zhang, J., Trucco, E. et McKenna, SJ (2016) Segmentation de la glande dans les images d'histologie du côlon à l'aide de caractéristiques artisanales et de réseaux de neurones convolutifs. *Proc. Int. Symp. Biomed. Imagerie*, 1405-1408
- 66 Xu, Y., Li, Y., Liu, M., Wang, Y., Lai, M. et Chang, EIC (2016). Segmentation d'instance de Gland par supervision approfondie du côté multicanal. *Lect. Notes Comput. Sci. (y compris Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatique)*, 9901 LNCS, 496-504
- 67 Xu, J., Luo, X., Wang, G., Gilmore, H., Madabhushi, A. et Reserve, CW (2017) Un réseau neuronal convolutif profond pour segmenter et classer les régions épithéliales dans les images histopathologiques. *Neuro-informatique* 191, 214-223 <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2016.01.034>
- 68 Litjens, G., Sánchez, CI, Timofeeva, N., Hermens, M., Nagtegaal, I., Kovacs, I., et al. (2016) L'apprentissage en profondeur comme outil pour une précision et une efficacité accrues du diagnostic histopathologique. *Sci. représentant* 6, 1-11 <https://doi.org/10.1038/srep26286>
- 69 Naylor, P., Laé, M., Reyat, F. et Walter, T. (2019) Segmentation des noyaux dans les images histopathologiques par régression profonde de la distance Map. *IEEE Trans. Med. Imagerie* 38, 448-459 <https://doi.org/10.1109/TMI.2018.2865709>
- 70 Chen, CL, Mahjoubfar, A., Tai, L., Blaby, IK et Huang, A. (2016) Deep learning in label-free cell classification. *Sci. représentant* 6, 1-16 <https://doi.org/10.1038/srep21471>
- 71 Chen, J., Yang, L., Zhang, Y., Alber, M. et Chen, DZ (2016) Combinant des réseaux de neurones entièrement convolutifs et récurrents pour la segmentation d'images biomédicales 3D. *Adv. Neural Inf. Trait. Syst.*, 3036-3044
- 72 Dixit, R. et Cyr, R. (2003) Dommages cellulaires et production d'espèces réactives de l'oxygène induites par fluorescence par uorescence: effet sur la mitose et lignes directrices pour les flmicoscopie par uorescence. *Usine J.* 36, 280-290 <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01868.x>
- 73 Hoebe, RA, Van Oven, CH, Gadella, TWJ, Dhonukshe, PB, Van Noorden, CJF et Manders, EMM (2007) La microscopie à exposition à la lumière contrôlée réduit le photoblanchiment et la phototoxicité dans l'imagerie de cellules vivantes par uorescence. *Nat. Biotechnol.* 25, 249-253 <https://doi.org/10.1038/nbt1278>
- 74 Wichmann, J. et Hell, SW (1994) Briser la limite de résolution de diffraction par émission stimulée: épuisement de l'émission stimulée flmicoscopie par uorescence. *Opt. Lett.* 19, 780-782 <https://doi.org/10.1364/OL.19.000780>
- 75 Betzig, E., Patterson, GH, Sougrat, R., Lindwasser, OW, Olenych, S., Bonifacio, JS et al. (2006) Imagerie intracellulaire de protéines uorescentes à résolution nanométrique. *La science* 313, 1642-1645 <https://doi.org/10.1126/science.1127344>
- 76 Rust, MJ, Bates, M. et Zhuang, X. (2006) Imagerie sous-diffraction-limite par microscopie de reconstruction optique stochastique (STORM). *Nat. Méthodes* 3, 793-795 <https://doi.org/10.1038/nmeth929>
- 77 Gustafsson, MGL (2005) Microscopie à illumination structurée non linéaire: large champ d'imagerie par fluorescence avec une résolution théoriquement illimitée. *Proc. Natl Acad. Sci. Etats-Unis* 102, 13081-6 <https://doi.org/10.1073/pnas.0406877102>
- 78 Gustafsson, N., Culley, S., Ashdown, G., Owen, DM, Pereira, PM et Henriques, R. (2016) Cellule vivante rapide conventionnelle flnanoscopie urophore avec image par radiale à super-résolution fluctuations. *Nat. Commun.* 7, 12471 <https://doi.org/10.1038/ncomms12471>
- 79 Culley, S., Tosheva, KL, Matos Pereira, P. et Henriques, R. (2018) SRRF: microscopie universelle à super-résolution de cellules vivantes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 101, 74-79 <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.05.014>
- 80 Laine, RF, Tosheva, KL, Gustafsson, N., Gray, RDM, Almada, P., Albrecht, D. et al. (2019) Nanoj: une boîte à outils de microscopie à super-résolution open source haute performance. *J. Phys. D. Appl. Phys.*
- 81 Nehme, E., Weiss, LE, Mchaeli, T. et Shechtman, Y. (2018) Deep-STORM: microscopie à molécule unique à super-résolution par apprentissage en profondeur. *Optica* 5, 458-464 <https://doi.org/10.1364/OPTICA.5.000458>
- 82 Boyd, N., Jonas, E., Babcock, H. et Recht, B. (2018) Deeploco: microscopie de localisation 3D rapide utilisant des réseaux de neurones. *bioRxiv* 267096 <https://doi.org/10.1101/267096>
- 83 Hess, ST et Nelson, AJ (2018) Imagerie moléculaire avec formation neuronale d'identification d'algorithme de cation (identification de localisation de réseau neuronalification). *Microsc. Res. Technologie* 81, 966-972 <https://doi.org/10.1002/jemt.23059>
- 84 Li, Y., Xu, F., Zhang, F., Xu, P., Zhang, M., Fan, M. et al. (2018) DLBI: inférence bayésienne guidée par apprentissage profond pour la reconstruction de structure de super-résolution flmicoscopie par uorescence. *Bioinformatique* 34, 284-294 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty241>
- 85 Sage, D., Pham, T.-A., Babcock, H., Lukes, T., Pengo, T., Chao, J., et al. (2019) Super-résolutionfight club: évaluation de logiciels de microscopie de localisation 2D et 3D mono-molécule. *Nat. Méthodes* 16, 387-395 <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0364-4>
- 86 Isola, P., Zhu, J.-Y., Zhou, T. et Efros, AA (2017) Traduction image-image avec des réseaux contradictoires conditionnels. *Proc. IEEE Conf. Comput. Vis. Reconnaissance de modèle*, 1125-1134
- 87 Azulay, A. et Weiss, Y. (2018) Pourquoi les réseaux convolutifs profonds se généralisent-ils si mal aux petites transformations d'image? *arXiv Prepr. arXiv* 1805.12177
- 88 Culley, S., Albrecht, D., Jacobs, C., Pereira, PM, Letierrier, C., Mercer, J., et al. (2018) Cartographie quantitative et minimisation des artefacts d'imagerie optique de super-résolution. *Nat. Méthodes* 15, 263-266 <https://doi.org/10.1038/nmeth.4605>

- 89 Lehman, J., Clune, J., Misevic, D., Adami, C., Beaulieu, J., Bentley, PJ et al. (2018) La surprenante créativité de l'évolution numérique: un recueil d'anecdotes du calcul évolutif et artificiel. Communauté de recherche sur la vie civile. arXiv Prepr. arXiv1803.03453
- 90 Lotter, W., Kreiman, G. et Cox, D. (2017) Réseaux de codage prédictif profond pour la prédiction vidéo et l'apprentissage non supervisé. arXiv Prepr. arXiv1605.08104, 1-18
- 91 Fisch, DH, Yakimovich, A., Clough, B., Wright, J., Bunyan, M., Howell, M. et al. (2018). Un artifice de renseignement cialflow pour définir des interactions hôte-pathogène. eLife 8, e40560 <https://doi.org/10.7554/eLife.40560>
- 92 Almada, P., Pereira, PM, Culley, S., Caillol, G., Boroni-Rueda, F., Dix, CL et al. (2019) Automatiser la microscopie multimodale avec nanoJ-Fluidics. Nat. Commun. dix, 1-9 <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09231-9>