

人工智能驱动的高分辨率细胞分割及定量分析

Shuang Zhang^a, Carleton Coffin^b, Karyn L. Rogers^c, Catherine Ann Royer^{b,*},
Ge Wang^{a,*}

^aDepartment of Biomedical Engineering, Rensselaer Polytechnic Institute, USA 12180

^bDepartment of Biological Sciences, Rensselaer Polytechnic Institute, USA 12180

^cDepartment of Earth and Environmental Science, Rensselaer Polytechnic Institute, USA 12180

Abstract. 研究微生物的生长和代谢为了解它们对恶劣环境的进化适应提供了关键见解，这对于微生物研究和生物技术应用至关重要。在这项研究中，我们开发了一个由 AI 驱动的分析系统，以高效地分割单个细胞并对关键细胞特征进行定量分析。该系统包括四个主要模块。首先，一个去噪算法增强对比度并抑制噪声，同时保留细小的细胞细节。其次，任意分割模型（SAM）实现了无需额外训练就能准确、零样本分割细胞的功能。第三，后处理被应用于通过去除过度分割的掩码来细化分割结果。最后，定量分析算法提取关键的细胞特征，包括平均强度、长度、宽度和体积。结果显示，去噪和后处理显著提高了新领域中 SAM 的分割准确性。无需人工标注，由 AI 驱动的工作流程可以自动高效地勾勒出细胞边界，对它们进行索引，并高精度计算关键细胞参数。这一框架将实现对高分辨率荧光显微镜图像的有效自动化定量分析，从而推动研究微生物适应生长和代谢的机制，使极端环境生物能够在恶劣环境中繁盛。

*葛王, wangg6@rpi.edu; 凯瑟琳·安·罗伊尔, royerc@rpi.edu

1 介绍

地球微生物生物量的很大一部分——估计可达 90%——存在于深部生物圈中，尤其是在海底沉积物下的高压环境中¹⁻³。虽然这些压力微生物在高压环境中占据主导地位，但更广泛的极端环境生物栖息于由温度、pH 值、盐度和辐射等极端条件定义的多种生态位中^{4,5}。这些生物不仅对全球生物地球化学循环有重要贡献，还作为了解行星和天体生物学背景下的生命极限的重要模型。

尽管极端嗜极生物在生态学和科学上具有重要意义，但它们在单细胞水平上的特征描述仍然不足。几个长期存在的挑战阻碍了对它们的研究，包括培养困难、生长速度慢以及最关键的是缺乏可靠的遗传工具，这阻碍了使用传统的报告基因成像方法^{6,7}。因此，研究人员通常依赖代谢辅因子如 NADH 和 FAD 的自发荧光等内在信号来无创地评估细胞活性

⁸。同时，显微镜技术的进步现在使得可以获取极端嗜极生物现场的高分辨率图像，为定量分析它们的生理状态提供了新的机会⁹。

在通过成像可访问的关键参数中，细胞形态——特别是大小和形状——作为微生物生理学和对环境压力响应的敏感指标^{10,11}。为了从显微镜数据中提取这些信息，实例分割起着核心作用，它以像素级精度勾勒出单个细胞。然而，现有的分割工作流程通常依赖于手动标注，这既耗时又限制了可扩展性。为了解决这一问题，迫切需要稳健的自动化分割方法，以应对微生物成像的独特挑战，并支持极端生物中的高通量、定量单细胞分析及其应用。

多年来，深度学习在细胞分割领域占据了主导地位。编码器-解码器卷积神经网络(CNN)，尤其是 U-Net¹² 及其众多变体，由于其稳健性、可扩展性和准确划分单个细胞的能力，在微生物图像分割中仍然是基础架构，即使在复杂环境中也是如此。例如，注意力 U-Net 通过整合注意门增强了原始架构，使模型能够专注于相关的细胞区域并抑制显微镜图像中的背景噪声¹³。实例分割方法如 Mask R-CNN 已从自然图像分析中被改编过来，用于区分单个细胞，即使在拥挤的环境中，它们也会使用区域建议网络检测细胞提案，并生成精确的掩码，使其对于分割聚集或重叠的荧光图像中的细胞非常有用¹⁴。此外，基于变压器的模型如 Cell-DETR 已被引入，通过基于注意力的对象查询直接预测细胞实例，提供了强大的全局上下文理解能力¹⁵。最近，通用模型由于其在不同成像条件下具有卓越分割性能和泛化性而获得了关注。Cellpose 使用类似于 U-Net 的主干网络来段分类型多样的细胞类型，该网络预测引导像素向细胞中心的空间流场，在无需重新训练的情况下实现稳健的性能¹⁶。其继任者 Omnipose 使用距离场梯度改进了这种方法，在不规则形状和密集排列的细菌细胞上实现了高精度¹⁷。

尽管取得了这些进展，上述方法仍需要构建包含许多样本的特定领域分割数据集来训练分割模型，这对新的细胞成像研究来说既昂贵又耗时。分割基础模型的出现，如 Segment Anything Model (SAM)¹⁸，通过零样本学习能力实现了无需构建特定领域数据集或额外训

练的新范式。然而，在使用基础模型实现准确分割的过程中，噪声干扰、细胞结构重叠、边界模糊和计算效率低下等独特挑战仍然显著存在。为此，我们介绍了一个由基础模型驱动的细胞分割管道，该管道整合了去噪、分割和后处理以提高精度和定量分析。我们的方法通过一种去噪算法来增强图像质量，在抑制噪声的同时保持细胞细节。然后使用带有适当提示的 SAM 进行零样本实例分割，无需标注训练数据。最后，一个后处理管道优化分割掩模并提取有意义的定量参数，如细胞长度、宽度和体积。通过整合这些技术，我们的方法显著提高了分割精度，减少了人工干预的需求，增强了大规模生物图像分析的可扩展性，并加速了整体处理流程。以下各节详细介绍了我们的方法论，展示了实验结果，并讨论了我们方法在生物医学研究中的更广泛影响。

2 方法论

图 1 展示了在极端成像条件下用于自动化细胞分割和定量形态分析的 AI 驱动工作流。通过运行这个 AI 驱动的细胞成像系统，我们可以自动获得研究微生物生长和代谢所必需的详细细胞特征，为它们适应恶劣环境的进化机制提供关键见解。工作流每个组件的详细描述将在以下小节中给出。

2.1 数据采集

作为概念验证，使用了研究充分的模式生物大肠杆菌的 MG1655 菌株来评估 AI 驱动的工作流程是否能够准确地分割杆状微生物。图像通过 ISS Alba 快速扫描镜波动显微镜获得，该显微镜采用双光子激发结合高数值孔径物镜。在 750 纳米波长下以大约 40 毫瓦的功率进行激发，有效地激发 NADH 并生成具有清晰细胞边界的荧光图像，这是因为大肠杆菌中 NADH 均匀分布于胞内。这种成像设置还允许衍射极限分辨率，从而能够进行精确的形态分析。

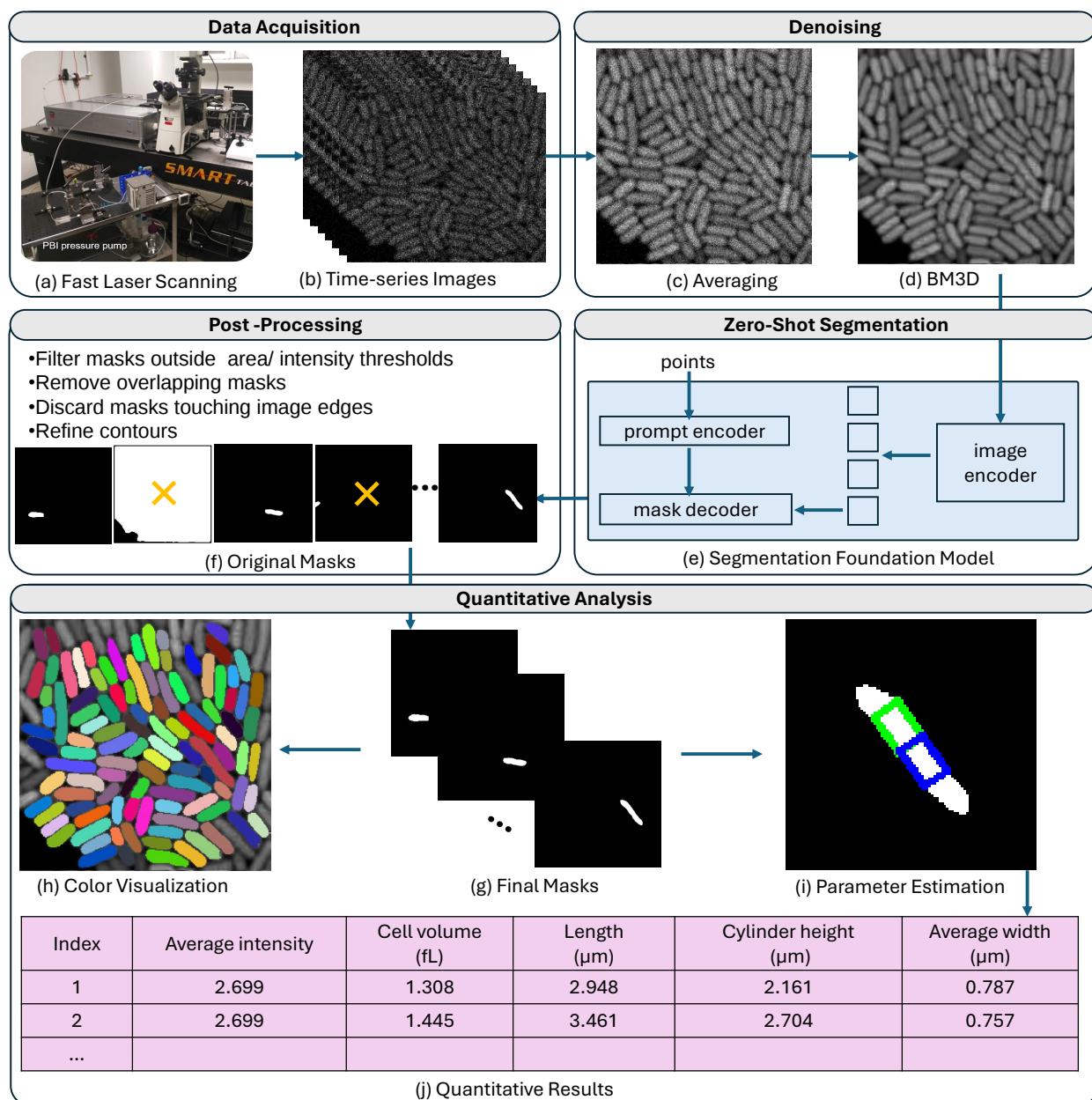


图 1 基础模型驱动的极端成像工作流程。 **数据采集：**一个受压力和温度调节的成像系统利用了双光子激发和激光扫描显微镜 (a) 来生成时间序列图像 (b)。**去噪：**这些图像被平均化以产生堆叠图像 (c)，增强了信噪比。然后使用 BM3D 算法对堆叠图像进行了去噪处理 (d)。**零样本分割：**去噪后的图像由分割一切模型 (SAM) 进行处理，这是一个基础模型，它利用点提示生成初始细胞掩模 (e)。**后处理：**应用了后处理步骤以优化这些掩模 (f)。**定量分析：**最终的掩模 (g) 被汇总 (h)，并用于定量分析 (i)，使能够提取诸如平均强度、细胞体积、长度、柱状高度和平均宽度等细胞特征 (j)。

为了最小化光漂白和光毒性——在诸如扫描数与亮度 (sN&B) 和荧光寿命成像显微镜 (FLIM) 等定量荧光显微技术中至关重要的因素，使用了 $40\ \mu$ 秒的像素驻留时间。每个视场 (FOV) 共收集了七个光栅扫描，其中扫描次数可以根据使用的荧光成像技术进行调整。每个 FOV 包含 256×256 个像素，对应于一个物理区域为 $20\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$ 。这个比例容纳了大约 30 个酵母细胞或 100-200 个细菌细胞每个 FOV，具体取决于细胞大小、形状和种类。虽然在极端条件下（如高压）成像会带来额外的挑战¹⁹，但成像过程依赖于相同的软件和硬件，使得基于 AI 的分割工作流程不仅适用于杆状极端微生物，而且广泛地适用于所有杆状微生物。

2.2 去噪

尽管快速扫描系统功能强大，但其速度导致每次扫描中的光子计数较低，这使得在荧光检测的下限处散粒噪声占主导地位。为了便于检测真正的细胞特征，如图 1(c) 所示，通过平均每个像素的单个栅格扫描的荧光强度来提高信噪比 (SNR)。虽然与单独的栅格扫描相比，平均图像的质量有所改善，但噪音仍然显著并影响了分割结果。因此，我们实施了一种去噪算法以进一步优化图像清晰度、抑制残余背景荧光波动，并提高下游分割和定量分析的准确性。

具体来说，我们采用了块匹配和三维滤波 (BM3D) 算法²⁰，这是一种利用变换域中的自相似性和稀疏性的图像去噪方法。BM3D 分为两个阶段操作：第一阶段执行块匹配并将类似的图像块分组成三维堆栈，然后通过变换域阈值处理进行协作滤波。在第二阶段，在变换域中应用维纳滤波器来细化第一步获得的估计结果。在我们的实现中，我们将标准差设置为 0.2。

2.3 零样本分割

准确的实例分割对于提取生物信息至关重要。为了在将传统手动过程转换为自动化过程时保持高准确性，我们采用了零样本分割方法——无需大量标记数据——包括 Segment Anything Model (SAM) 及其最新变体 SAM2，以探索它们实现高精度细胞分割的潜力，并评估其在后续分析中的适用性。

2.3.1 任何分割模型 (SAM)

SAM 是一个旨在实现通用分割的基础模型。它以提示为基础进行操作，根据用户提供的点、边界框或自由形式的文本描述等提示生成分割掩码。该模型由三个主要组件组成：图像编码器、提示编码器和掩码解码器。图像编码器是一个视觉变换器 (ViT)，接受一组不重叠的补丁作为输入，并输出表示输入图像的特征向量。提示编码器处理用户定义的提示，这些提示可以是掩码、点、框或文本，并输出提示嵌入向量。给定提取出的图像特征和编码后的提示，掩码解码器将预测分割掩码和交并比 (IoU) 分数。

SAM 可以有多种变体，这些变体在模型容量和性能上有所不同。SAM-B (基础版) 使用具有约 9100 万个参数的 ViT-B 主干网络，SAM-L (大型版) 使用具有 6.31 亿个参数的 ViT-L，而 SAM-H (巨大版) 则基于拥有大约 24 亿个参数的 ViT-H 构建。较大的变体如 SAM-H 在分割精度方面表现更好，特别是在复杂或嘈杂的数据集上，但需要更多的计算资源。在显微成像中——准确划分小型、低对比度和密集排列结构至关重要——更大的模型容量显著提升了分割质量。

SAM 的一个关键优势是其零样本学习能力，使其能够在无需特定任务微调的情况下对以前未见过的数据集中的对象进行分割。通过利用大规模预训练，SAM 在广泛的领域中表现出良好的泛化性能——包括自然图像和生物医学显微镜数据——展示了在不同视觉环境中的强大 versatility¹⁸。

2.3.2 增强的任意分割模型 (SAM2)

随着基础模型的持续发展, SAM2 作为 SAM 的增强版本被引入, 包含了几项旨在提高分割效率和适应不同应用领域能力的改进^{~21}。SAM2 的一项关键改进是优化了提示处理机制。这一改进使得模型能够更有效地解释分割线索, 从而在各种输入条件下实现更加一致且可靠的掩码预测。另一重大更新是对掩码选择进行了优化。SAM2 通过引入基于注意力的过滤机制来改善掩码生成过程, 确保物体边界划分更为高效和精确, 尤其是在复杂场景中。此外, SAM2 还提高了计算效率。该模型经过优化, 在减少推理时间的同时保持了高分割精度, 使其更适合在生物医学应用中的大规模处理。

像 SAM 一样, SAM2 也是基于 ViT 架构发布了多个模型变体, 具体为 SAM2-S (小)、SAM2-B (基础) 和 SAM2-L (大)。这些分别对应参数量约为 4600 万、8100 万和 2.24 亿的 ViT-S、ViT-B 和 ViT-L 主干网络。

通过在我们的分割管道中评估 SAM 和 SAM2, 我们旨在评估它们在显微镜图像分析中实现稳健、适应性和高精度分割的潜力。在我们的实现中, 我们使用了一个包含 32×32 个点的网格作为提示。

2.4 后处理

后处理是通过消除伪影、减少冗余和提高准确性来完善分割结果的关键步骤。SAM 和 SAM2 的原始分割输出可能包含小伪影、重复掩码、部分分割或接触边缘的对象, 需要在定量分析前进行额外处理。为了解决这些问题, 我们应用了一个结构化的后处理流水线, 该流水线过滤、优化并细化了分割后的掩码。后处理工作流程包括以下步骤。

基于区域和强度的初始掩码过滤: 我们设置了面积和强度的阈值以去除小的伪影和不相关的物体。小于 100 像素的掩码被丢弃作为噪声, 而超过 1250 像素的则会被移除, 因为它们可能是合并对象或背景伪影。此外, 我们应用了强度过滤来消除由错误分割导致的伪

影。所有选定细胞 ($\bar{I}$) 的平均强度被计算出来, 偏离该平均值显著的掩码, 定义为 $0.35\bar{I} < I_i < 1.6\bar{I}$, 则会被移除。

移除完全包含的掩码: 完全被较大掩码包围的掩码是多余的, 并可能导致对象计数过高。给定两个掩码 M_i 和 M_j , 如果 $M_i \subseteq M_j$, 则丢弃较小的掩码。这可防止同一对象的重复分割被多次计数。

重叠掩码的非极大值抑制 (NMS): 高度重叠的掩码可能导致过分割。为了解决这个问题, 我们通过计算每对掩码之间的交并比 (IoU) 来应用非极大值抑制 (NMS)。如果两个掩码 M_i, M_j 的 IoU 较高, 由

$$\text{IoU}(M_i, M_j) = \frac{|M_i \cap M_j|}{|M_i \cup M_j|}, \quad (1)$$

给出, 则移除较小的掩码以确保每个对象仅保留一个高置信度分割。在本研究中, IoU 阈值设置为 0.3。

基于侵蚀的部分重叠移除: 为了进一步细化重叠的掩码, 我们应用形态学腐蚀, 这会使先缩小较小的掩码, 然后再检查它是否包含在另一个掩码内。腐蚀后的掩码由

$$M'_i = M_i \ominus K, \quad (2)$$

给出, 其中 K 是一个结构元素。如果腐蚀后的掩码仍然完全被另一个分割所包围, 则将其移除, 防止对紧密重叠的对象进行多次分割。

边缘掩码移除: 与图像边界相交的掩码通常是不完整和不可靠的。为了确保仅保留完全可见的细胞, 我们移除任何包含在图像第一或最后两行/列内的像素的掩码 M_i 。更新后

的条件是：

$$\exists(x, y) \in M_i, \quad x \leq 1 \text{ or } x \geq W - 2 \text{ or } y \leq 1 \text{ or } y \geq H - 2. \quad (3)$$

此调整确保靠近边界、可能部分位于视野内的细胞被排除在进一步分析之外。

形态闭合以获得更平滑的轮廓：为了细化最终的分割结果，我们应用形态学闭合操作，该操作由膨胀后跟腐蚀组成。此过程平滑了锯齿状边缘并填充掩码中的小间隙，增强了分割对象的结构完整性。更新后的掩码计算公式为：

$$M' = (M \oplus K) \ominus K. \quad (4)$$

其中， $\oplus$ 表示膨胀， $\ominus$ 表示使用结构元素 K 的腐蚀。此操作确保了细胞形状表示更加精确。

通过集成此后期处理管道，我们实现了更可靠的分割结果、更加清晰的细胞边界、减少了冗余掩码，并提高了定量细胞分析的准确性。

为了评估我们方法的准确性，我们基于手动标注定义了一个错误率。我们手动标记细胞的位置，然后统计分割结果中不正确的检测数量，包括位置错误和漏检的细胞。错误率计算为不正确检测的数量与总细胞数的比例。

2.5 定量分析

定量分析算法被用于提取每个细胞的关键特征，包括平均强度、长度、平均宽度和体积。平均强度通过将细胞掩码叠加到堆叠图像上并计算掩码内的平均像素值来计算。为了估计细胞体积，我们为每个细胞构建了一个几何模型，假设其横截面由两个半圆和一个矩形组成——在三维空间中近似为两个半球体和一个圆柱体。

首先，为每个细胞掩码拟合了一个具有最大重叠的矩形边界框以估计细胞长度 L 。为了确定平均宽度 W ，沿着边界框的长度将其分为四个相等的部分。使用中间两个部分来更

好地表示细胞体，并用于计算平均宽度。利用这些测量值，根据几何模型计算出细胞体积 V 如下：

$$V = \pi \left(\frac{W}{2} \right)^2 (L - W) + \frac{4}{3} \pi \left(\frac{W}{2} \right)^3 .$$

提取的形态特征使细胞结构的精确表征成为可能，并了解细胞适应性提供了有价值的见解。

3 结果

3.1 去噪

图 2 展示了时间序列图像堆叠和 BM3D 去噪如何提升噪声细胞图像的质量。图 2(a) 代表单帧原始图像，由于光子散粒噪声和暗电流噪声水平高，使得个体细胞难以区分。图 2(b) 展示了通过平均多帧生成的堆叠图像，利用时间冗余有效降低了噪声。然而，尽管这种方法提高了可见性，残留噪声仍然存在，并且细胞边界仍然模糊。图 2(c) 显示了 BM3D 去噪后的图像，该方法在保持精细细胞结构和边界完整性的同时有效地减少了噪声。这将提高对比度，从而增强分割精度和下游定量分析。

这些结果突显了 BM3D 在显微图像预处理中的有效性，确保高保真细胞形态表示的同时最小化噪声相关伪影。通过 BM3D 去噪实现的改进信噪比 (SNR) 特别有利于后续处理步骤中的鲁棒细胞分割和特征提取。

3.2 分割结果

图 3 展示了三种 SAM 变体—SAM-B（基础版）、SAM-L（大号版）和 SAM-H（巨大版）在不同预处理配置下的分割性能。当对原始图像进行分割时，这些 SAM 变体之间出现了明显的差异。与 SAM-L 和 SAM-B 相比，SAM-H 能够检测到显著更多的细胞，这表明更大的视觉变换器架构增强了模型的泛化能力和适应具有挑战性的对象检测任务的能力—

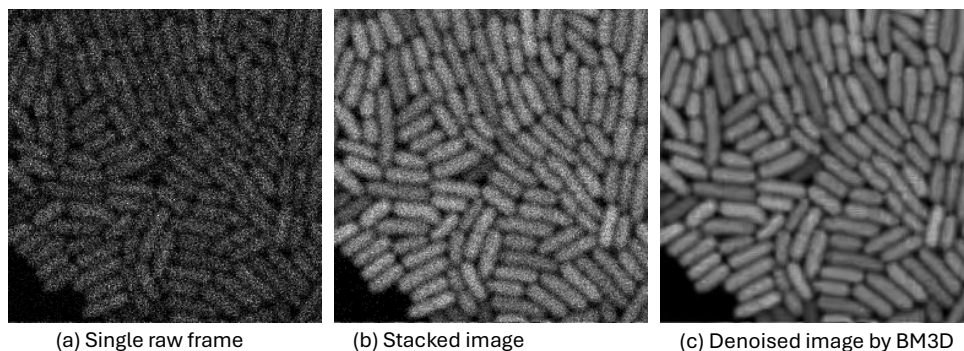


图 2 原始、堆叠和 BM3D 去噪的细胞图像比较。

即使在图像质量欠佳的情况下也是如此。然而，使用噪点图像作为输入时，某些细胞仍然未能被检测到，如图 3 (a) 中的白圈所示，这突显了极端噪音对最能干变体的限制。应用 BM3D 去噪技术显著提高了分割质量，特别是在 SAM-L 和 SAM-B 上。增强的对比度和减少的背景噪声使这些模型能够更好地解析细胞边界并生成更多的有效分割掩模。这些观察结果强调了输入质量的重要性：通过足够的去噪处理，所有 SAM 变体都表现出显著的性能提升，而 SAM-L 在分割准确性方面保持着适度的优势。

在所有测试条件下，SAM-H 一致产生最准确和完整的分割。相比之下，SAM-B 和 SAM-L 经常无法捕捉更精细的形态细节，如图 3(e) 和 (h) 中白色椭圆所示。然而，SAM-H 并非没有局限性。如图 4(b) 所示，它偶尔会出现过分割现象——将单个细胞分成多个掩模——正如白色圈出的示例所示，紧密相邻的细胞都被分割为两个重叠的对象。

后处理结果，如图 3(c) 所示，证明了过滤步骤在消除小的、重叠的或质量低的掩模方面的有效性。这种细化提高了分割精度，并生成了更清晰的细胞群表示。尽管在图 3(c) 中仍有一个细胞未被检测到，但总体漏检率仅为 0.9%，显示出强大的分割性能。

总结而言，此次评估表明高质量的输入图像和精心设计的后处理对于实现准确的细胞分割至关重要。虽然像 SAM-H 这样的大型视觉变换器提供了更优越的鲁棒性和检测能力，预处理和提示定位在最大化分割精度和一致性方面仍发挥着至关重要的作用。

图 4 展示了三种 SAM2 变体——SAM2-S (小)、SAM2-B (基础) 和 SAM2-L (大) 在

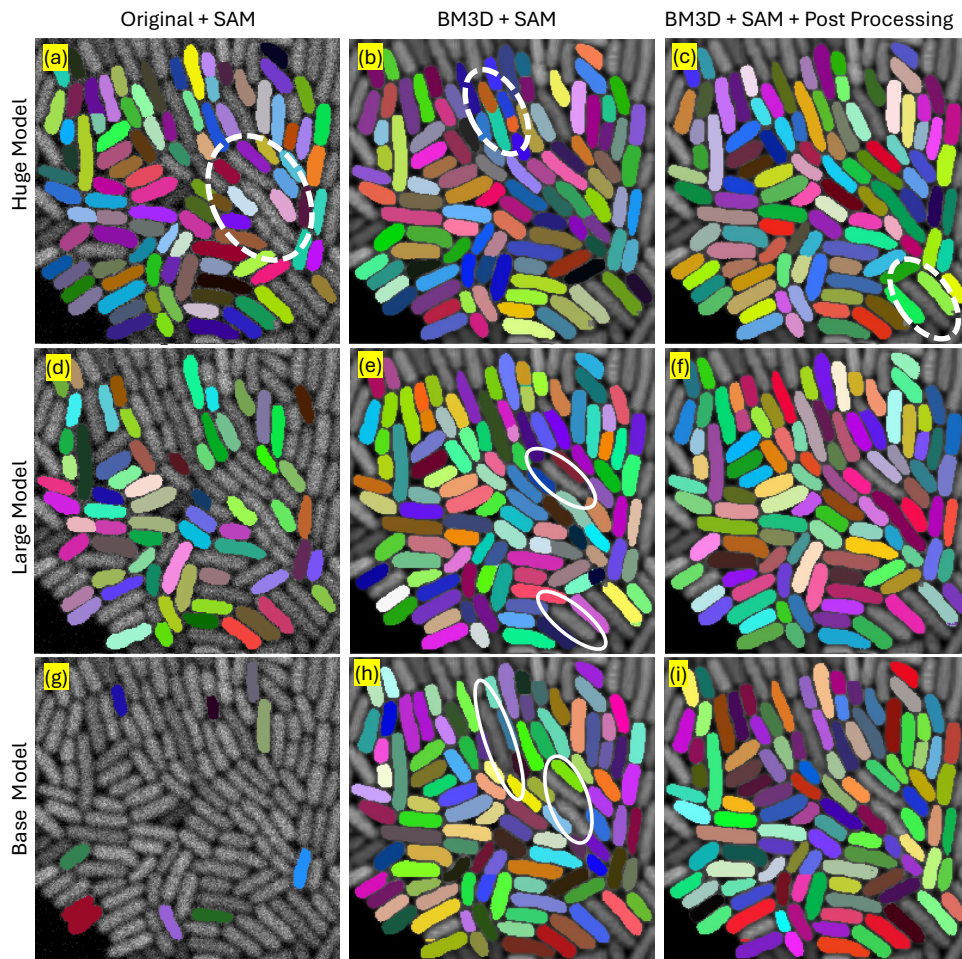


图 3 BM3D 去噪和后处理对 SAM 的影响。第一列 (a、d、g) 显示了原始显微镜图像的分割结果，其特点是噪声水平高且对比度差。第二列 (b、e、h) 展示了 BM3D 去噪后的输出，而第三列 (c、f、i) 则显示了经过额外后处理步骤的结果。

相同预处理条件下的分割性能。从图 4(b,e,h)，我们观察到 SAM2 产生了边界更清晰且重叠最小的掩码，这可能得益于架构改进。然而，在图 4(e, h) 中明显存在一个限制：某些细胞（用白色虚线标出）只被部分分割——大约捕捉到了半个细胞体——表明 SAM2 偶尔可能无法完全解析整个对象，特别是在具有挑战性的成像条件下。

与原始的 SAM 模型（图 3）相比，SAM2 在低对比度显微镜图像中的分割灵敏度普遍较低，这一缺点在 SAM2-L 变体中尤为明显。尽管其在边界清晰度方面有所改进，但 SAM2 未能识别许多细胞——尤其是在去噪和后处理输出中——导致整体掩码覆盖率降低。这种欠分割现象特别体现在密集排列的细胞区域，在图 3 (b) 中的绿色圆圈区域突出显示了这

一点。这些性能限制可能源于 SAM2 与原始 SAM 模型相比相对较小的模型尺寸和较低的

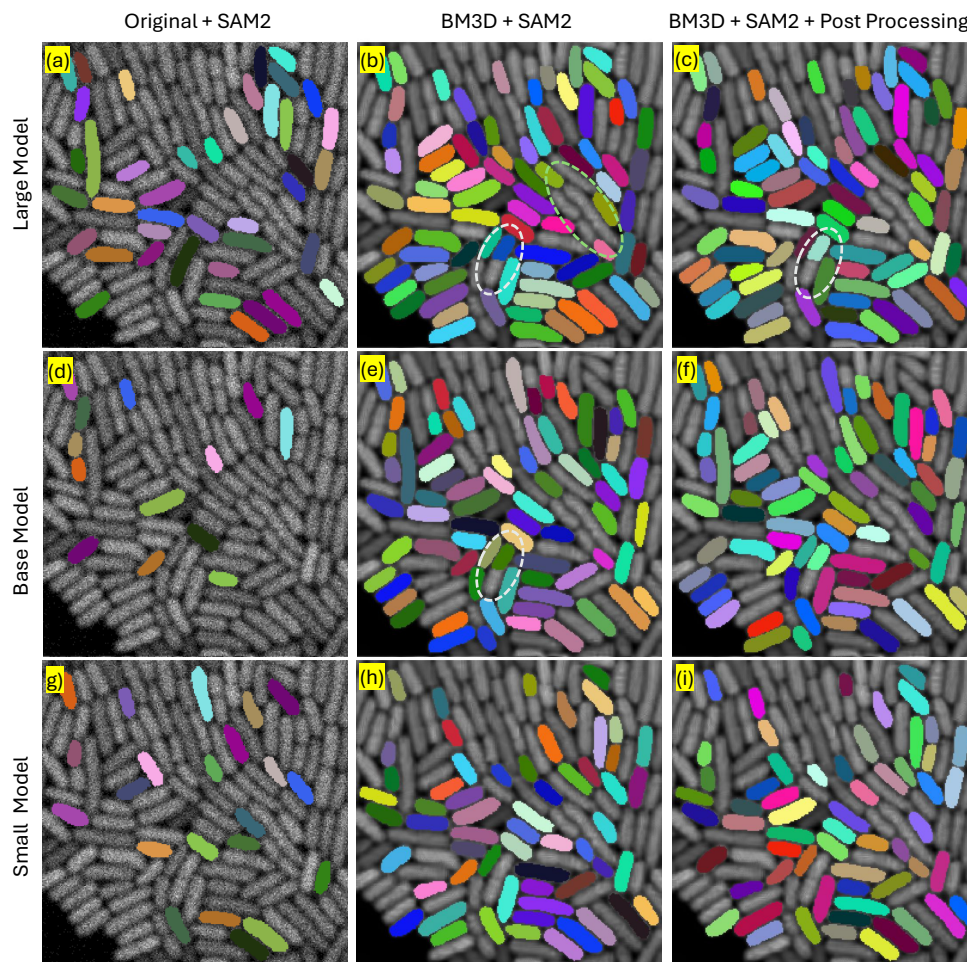


图 4 BM3D 降噪和后处理对 SAM2 的影响。第一列 (a、d、g) 显示了原始显微镜图像的分割结果，这些结果的特点是噪声水平高且对比度差。第二列 (b、e、h) 展示了经过 BM3D 降噪后的输出结果，而第三列 (c、f、i) 则显示了在额外后处理步骤之后的结果。

表现能力。虽然 SAM2 经过优化，但这种架构修改可能影响其在具有挑战性的生物医学成像环境中的泛化能力。对于细胞分割任务——尤其是那些需要在密集、低对比度环境中保持高保真的任务——原始 SAM，特别是其较大的变体，由于其更优越的能力来保留细微的结构细节并实现全面的掩码覆盖率而显得更为合适。这种行为与 Sengupta 等人²² 最近的研究结果一致，他们在多种医学成像模式中评估了 SAM 和 SAM2。他们的结果显示，SAM2 并不始终优于 SAM，特别是在低对比度生物医学图像方面。这些限制与我们在显微镜数据

中观察到的挑战相一致，在其中精确区分小而密集排列的细胞至关重要。

对于低对比度显微镜图像的细胞分割任务，原始的 SAM-H 模型表现出卓越的鲁棒性和准确性，使其成为评估模型中最合适的选择。这些结果表明，随着更先进的分割基础模型的出现，我们的 AI 系统具备良好的整合能力，从而进一步提升生物学图像分析的效果。

3.3 后处理

为了展示后处理管道如何影响分割结果，我们在单独的图像中展示了具有代表性的过滤后的掩码。figure 5 说明了基于异常区域或强度标准被移除的掩码示例。figure 5(a) 和 (c) 显示了两张不同的去噪细胞图像，用于指示图 figure 5(b) 和 (d) 中分别展示的已移除分割掩码的原始位置。具体而言，大的粉色掩码代表几乎覆盖整个图像的过度分割区域，并因面积过大而被排除。figure 5(a) 中用白色和绿色勾勒出的掩码对应于细胞之间的空隙空间。白色的圆圈掩码可以通过小面积和低强度过滤器移除，而绿色圆圈掩码则因为低强度被排除。此外，由于高亮度，黄色圆圈掩码也根据预定义的标准被移除。这些示例强调了结合基于强度和大小的过滤的重要性，以通过消除异常值并仅保留生物意义的细胞掩码来提高分割质量。

图 6(b) 说明了由于靠近图像边界或与其它掩码有显著重叠而被移除的掩码。具体来说，被图像边缘截断的细胞掩码会被排除以防止不完整或不准确的测量。通过应用这一步骤，分割流水线确保只保留包含良好且不重叠的掩码，从而导致更可靠的下游定量分析。

为了定量评估不同配置下的分割准确性，我们通过比较预测掩码与手动标注的真实值来计算错误率。总共在 10 张显微镜图像中手动标记了 1,162 个细胞。所得的准确度指标汇总于表 1 中。在所有评估设置中，BM3D 去噪和后处理相结合始终产生最低的错误率。特别是，带有预去噪和后处理的 SAM-H 平均错误率为仅 3.0%，显著优于所有其他变体。相比之下，SAM2-L 表现出明显更高的 16.0% 错误率。这些发现验证了我们提出的后处理管道

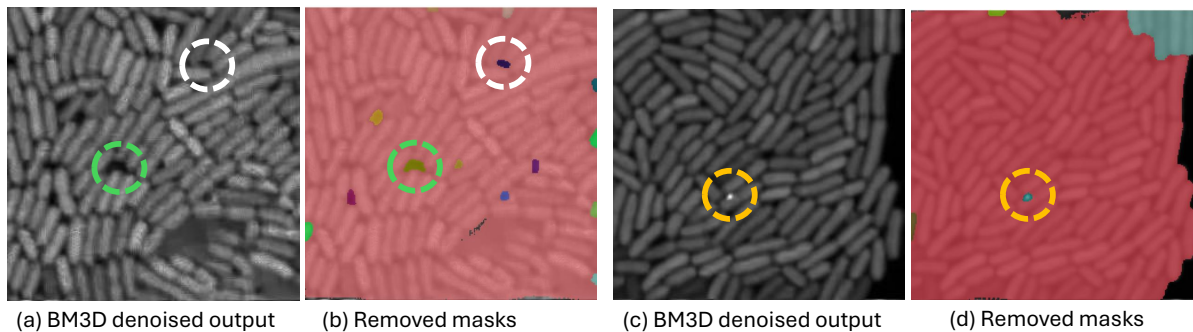


图 5 由于面积或强度异常而被移除的细胞掩模示例。(a) 和 (c) 显示了去噪后的输入图像，而 (b) 和 (d) 强调了覆盖在去噪图像上的移除掩模。大面积、小面积、低像素强度和高像素强度对应的掩模分别用大粉红色区域、白圈掩模、绿圈掩模和黄圈掩模表示。

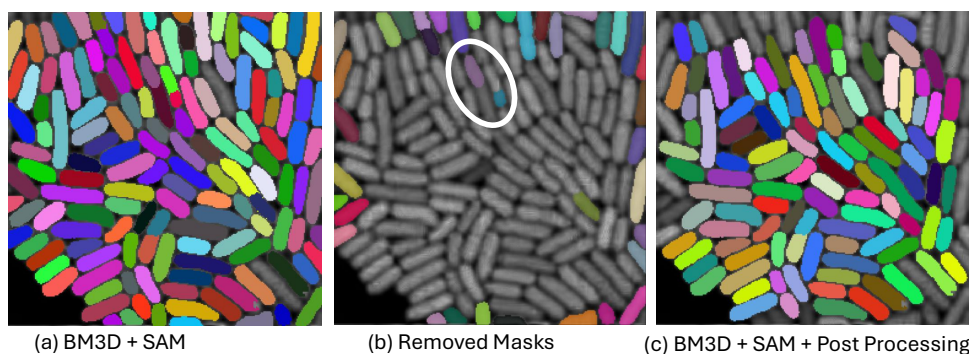


图 6 由于边缘接触或重叠区域而被移除的掩码示例。(a) 显示了使用 BM3D 去噪后跟随 SAM 获得的初始分割结果。(b) 展示了在去噪图像上叠加的已移除掩码。靠近图像边界的掩码被排除以避免部分细胞伪影，而白色圈出的掩码表示过度分割的细胞。(c) 提供了后期处理后的最终分割结果，经过优化的掩码排除了重叠或接触边缘的区域。

的有效性，并进一步强调了 SAM-H 在密集、低对比度细胞环境中的卓越分割精度。

4 定量特征

图 7 展示了单个细胞的定量特征提取。通过将细胞掩模叠加到堆叠图像上计算平均强度和长度，如图 7(a) 所示，结果得到平均强度为 2.698，长度为 3.215 μm 。平均宽度是从中间两个矩形测量的，并基于由一个圆柱体和两个半球组成的几何模型估计细胞体积。如图 7(b) 所示，平均宽度为 0.865 μm ，圆柱高度（不包括两端的半球）为 2.350 μm ，计算出的细胞体积为 1.720 fL。

表 1 错误率比较在不同处理阶段的 SAM-H 和 SAM2-L。

误差率 %		SAM-H			SAM2-L		
图像	单元格数量	Original + SAM	BM3D + SAM	BM3D + SAM+ PP	Original + SAM	BM3D + SAM	BM3D + SAM+ PP
1	107	13.10	6.50	2.80	87.90	31.80	31.80
2	105	2.90	4.80	1.00	84.80	10.50	10.50
3	99	9.10	6.10	3.00	73.70	17.20	17.20
4	112	6.30	8.00	4.50	83.90	27.70	27.70
5	105	61.90	12.40	7.60	95.70	30.40	30.40
6	95	36.80	4.20	4.20	96.80	20.00	20.00
7	98	36.70	7.10	4.10	92.90	14.30	14.30
8	142	2.80	1.40	1.40	78.20	2.10	2.10
9	143	3.50	0.70	0.70	83.20	0.00	0.00
10	156	0.60	1.30	0.60	86.50	6.40	6.40
平均值		17.40	5.30	3.00	86.40	16.00	16.00

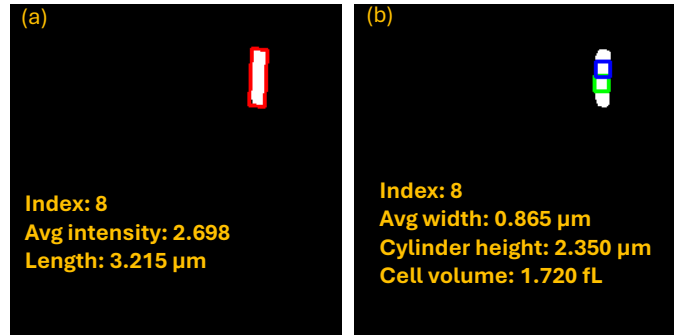


图 7 单个细胞定量特征提取的说明。(a) 细胞长度是从围绕细胞的红色边界框的主要轴计算得出，而平均强度则是通过将细胞掩模叠加到堆叠图像上来计算的，结果为长度 3.215 μm 和平均强度 2.698。(b) 平均宽度是根据中央两个边界矩形估算出来的，细胞体积则使用由一个圆柱体和两个半球状端盖组成的几何模型来计算。提取的特征包括平均宽度为 0.865 μm ，圆柱高度为 2.350 μm ，以及细胞体积为 1.720 fL。

5 结论

在本研究中，我们介绍了一个基于 AI 的高分辨率显微镜图像分割和分析管道，该管道整合了 BM3D 降噪、Segment Anything Model (SAM)、结构化后处理流程以及定量分析工作流。这种综合方法有效地解决了生物成像中的关键挑战，包括噪声、低对比度和重叠细胞结构问题。定量评估显示，当与降噪和后处理结合时，SAM-Huge 变体实现了最高的

分割精度，平均误差率仅为 3.0%。相比之下，在低对比度条件下解决细部结构细节方面，SAM2-Large 表现较差。除了分割之外，我们的管道通过几何建模方法能够精确提取关键形态特征——包括强度、长度、宽度和体积。这些功能促进了极端环境中微生物代谢、结构适应及进化动态的深入研究。总体而言，所提出的框架为定量细胞分析提供了可扩展的、无标签的且高保真的解决方案，并具有强大的潜力扩展到广泛需要准确结构表征的生物医学成像应用中。

致谢

References

- 1 J. Kallmeyer, R. Pockalny, R. R. Adhikari, *et al.*, “Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment,” *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**(40), 16213–16216 (2012).
- 2 F. Inagaki, K.-U. Hinrichs, Y. Kubo, *et al.*, “Exploring deep microbial life in coal-bearing sediment down to 2.5 km below the ocean floor,” *Science* **349**(6246), 420–424 (2015).
- 3 E. Trembath-Reichert, Y. Morono, A. Ijiri, *et al.*, “Methyl-compound use and slow growth characterize microbial life in 2-km-deep subseafloor coal and shale beds,” *Proceedings of the National Academy of Sciences* **114**(44), E9206–E9215 (2017).
- 4 N. Merino, H. S. Aronson, D. P. Bojanova, *et al.*, “Living at the extremes: Extremophiles and the limits of life in a planetary context,” *Frontiers in Microbiology* **10**, 780 (2019).
- 5 G. Gallo and M. Aulitto, “Advances in extremophile research: Biotechnological applications through isolation and identification techniques,” *Life* **14**(9), 1205 (2024).

- 6 P. H. Rampelotto, “Extremophiles and extreme environments: A decade of progress and challenges,” *Life* **14**(3), 382 (2024).
- 7 L. A. Riley and A. M. Guss, “Approaches to genetic tool development for rapid domestication of non-model microorganisms,” *Biotechnology for Biofuels* **14**, 30 (2021).
- 8 C. Stringari, O. Cinquin, B. Cinquin, *et al.*, “Phasor approach to fluorescence lifetime microscopy distinguishes different metabolic states of germ cells in a live tissue,” *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**(22), 8626–8631 (2012).
- 9 B. L. T. Lau, J. A. Thomas, M. E. Beber, *et al.*, “Live-cell high-pressure microscopy reveals how pressure affects physiology in extremophilic microbes,” *Proceedings of the National Academy of Sciences* **120**(15), e2215652120 (2023).
- 10 K. D. Young, “The selective value of bacterial shape,” *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **70**(3), 660–703 (2006).
- 11 M. Campos, I. V. Surovtsev, S. Kato, *et al.*, “A constant size extension drives bacterial cell size homeostasis,” *Cell* **175**(6), 1433–1447.e13 (2018).
- 12 O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, “U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation,” in *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI)*, 234–241 (2015).
- 13 O. Oktay, J. Schlemper, L. Le Folgoc, *et al.*, “Attention u-net: Learning where to look for the pancreas,” in *Medical Imaging with Deep Learning*, (2018).
- 14 K. He, G. Gkioxari, P. Dollár, *et al.*, “Mask r-cnn,” in *Proceedings of the IEEE International Conference on Computer Vision*, 2961–2969 (2017).

- 15 O. Pina, E. Dorca, and V. Vilaplana, “Cell-detr: Efficient cell detection and classification in wsis with transformers,” in *Medical Imaging with Deep Learning*, (2024).
- 16 C. Stringer, T. Wang, M. Michaelos, *et al.*, “Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation,” *Nature methods* **18**(1), 100–106 (2021).
- 17 K. J. Cutler, C. Stringer, T. W. Lo, *et al.*, “Omnipose: a high-precision morphology-independent solution for bacterial cell segmentation,” *Nature methods* **19**(11), 1438–1448 (2022).
- 18 A. Kirillov, E. Mintun, N. Ravi, *et al.*, “Segment anything,” in *Proceedings of the IEEE/CVF International Conference on Computer Vision*, 4015–4026 (2023).
- 19 A. Bourges, C. A. Royer, P. Hébraud, *et al.*, “High-pressure two-photon fluorescence microscopy for deep biological imaging,” *Scientific Reports* **10**(1), 8560 (2020).
- 20 K. Dabov, A. Foi, V. Katkovnik, *et al.*, “Image denoising by sparse 3-d transform-domain collaborative filtering,” *IEEE Transactions on Image Processing* **16**(8), 2080–2095 (2007).
- 21 N. Ravi, V. Gabeur, Y.-T. Hu, *et al.*, “Sam 2: Segment anything in images and videos,” *arXiv preprint arXiv:2408.00714* (2024).
- 22 S. Sengupta, S. Chakrabarty, and R. Soni, “Is sam 2 better than sam in medical image segmentation?,” *arXiv preprint arXiv:2408.04212* **1** (2024).