arXiv:2611.33097v1 [q-bio.CB] 24 Nov 2026

从分散到巡逻：细胞外基质塑造果蝇胚胎巨噬细胞的类退火搜索

Nickolay Korabel[1,*], **Tom H.Millard**[2,**], **andThomas AndrewWaigh**[3,4,*] **

[1]英国哈特菲尔德赫特福德大学物理、天文学与数学系[2]英国曼彻斯特曼彻斯特大学生物、医学与健康学院[3]英国曼彻斯特曼彻斯特大学物理与天文学系生物物理学组[4]英国曼彻斯特曼彻斯特大学光子科学研究所[*]m.korabel@herts.ac.uk[**]Tom.Millard@manchester.ac.uk[***]t.a.waigh@manchester.ac.uk

摘要

血细胞是果蝇的巨噬细胞，它们在胚胎中分散，随后巡逻其组织，沿着它们协助构建的基底膜移动。由于血细胞运动的持续性（H）和振幅（D）沿每条轨迹变化，因此难以描述运动在发育过程中的变化，以及这种变化如何取决于基底膜的组成。我们分析了通过选择性平面照明显微镜获得的对照胚胎血细胞轨迹，以及基底膜成分层粘连蛋白（*LanB1*缺陷）或IV型胶原（胶原缺陷）不足的胚胎中的血细胞轨迹。物理信息神经网络在短窗口内估计H 和D，并为每个估计值给出经过校准的不确定性。我们据此构建有效扩散率D_{eff}，其定义适用于任何反常扩散，表示运动中不可预测部分的扩散率。其误差与H 的误差不相关，并起到有效温度的作用。细胞在发育过程中通过冷却（D_{eff}下降）和遗忘（H下降）而减速。对照细胞逐渐冷却，同时保持持续运动。*LanB1*缺陷细胞进一步冷却、逐渐遗忘，失去速度与持续性之间的耦合，并变得近乎布朗运动。胶原缺陷细胞虽然冷却，却保留了大部分持续性。因此，血细胞运动类似于退火搜索；与IV型胶原不同，层粘连蛋白使巡逻中的细胞保持持续运动。

引言

血细胞是黑腹果蝇的巨噬细胞。在胚胎中，它们出现在头部中胚层，沿着固定路线分散，直至遍布整个胚胎，随后留在组织中，清除凋亡尸体、响应伤口并沉积细胞外基质 [1, 2, 3]。因此，胚胎提供了一个遗传学上易于操作的系统

在这一系统中，一群免疫细胞会在数小时内从定殖组织转变为巡查组织。引导扩散阶段的线索已得到广泛研究 [1, 3]。然而，人们对单个细胞的运动性如何在这一转变过程中重新组织，以及这种重组是否遵循可用物理学术语描述的搜索策略，知之甚少。血细胞迁移所沿的细胞外基质是基底膜，这是一层薄片，主要由层粘连蛋白、IV型胶原、基底膜蛋白聚糖和巢蛋白构成。血细胞是其主要来源：在分散过程中，它们沉积了胚胎中大部分的IV型胶原和约一半的基底膜蛋白聚糖 [4], ，而它们分泌的层粘连蛋白会增强自身的迁移能力 [5]。在果蝇中，LanB1是唯一的层粘连蛋白 β 亚基，因此缺乏该亚基的胚胎没有功能性层粘连蛋白。由于这些细胞既构建这一基质，又沿其移动，基底膜自然可能塑造运动性的变化；而缺乏LanB1或IV型胶原的胚胎则可用于检验这一点。

要了解基质如何塑造运动性，需要对搜索本身进行定量描述，而物理学为搜索策略提供了一套术语 [6]。大肠杆菌会在直线运行和随机重新定向之间交替 [7, 8], 效应T细胞会进行广义莱维行走 [9], 而在快速迁移与缓慢局部探索之间交替的间歇性策略，能够最大限度地缩短找到稀疏目标所需的时间 [10, 11]。计算机科学中的优化问题则采用另一种熟悉的策略。在模拟退火中，搜索者以由温度决定的噪声幅度移动，而温度会随时间降低 [12, 13]。温度较高时，搜索者可以自由跨越障碍，探索整个能量景观；随着温度降低，它会逐渐对越来越浅的特征变得敏感，并在景观有利之处停驻。将这一图景应用于血细胞，可以预测：早期会出现活跃且约束较弱的运动，使细胞散开；随后逐渐冷却，使它们能够停驻并巡逻。要检验这一预测，需要在每个发育阶段测量每个细胞的两个量：

一个类似温度的指标，用于衡量细胞运动的强烈程度；另一个指标则衡量细胞对先前运动方向的记忆程度。

在细胞迁移研究中，这两个量通常是速度和持续性，二者都通过均方位移（MSD）测量。轨迹的均方位移随时间增长为 $\langle r^2(t)\rangle \propto t^{\alpha}$，其中反常指数 $\alpha = 1$ 对应随机游走，而 $\alpha = 2$ 对应弹道式（直线）运动 [14]。在持续性随机游走模型中，均方位移在单一持续时间 [15], 处从弹道标度转变为扩散标度，因此使用局部斜率 $\alpha(t)$来追踪不同时间尺度上的持续性。在盘基网柄菌中， $\alpha \approx 1.5$ 在所有条件下的短时间内都成立，但只有朝向方向性线索源移动的细胞，其 $\alpha \approx 1.6$ 能持续超过几分钟；没有线索时， α 则衰减至 1 [16]。然而，许多细胞类型在长时间内仍表现出超扩散，其幂律速度关联无法用单一持续时间来描述 [17, 18]。速度和持续性也并非相互独立。在不同细胞类型中，速度更快的细胞转向更少 [19], , 因此二者在同一轨迹上彼此关联 [20]。

分数布朗运动（FBM）使这一描述更加精确。均方位移为 $\langle r^2(t)\rangle = 2dDt^{2H}$，其中 $\alpha = 2H$ ，而 d 表示维度数。赫斯特指数 H 衡量方向记忆：当 $H > 1/2$ 时，运动具有持续性；当 $H < 1/2$ 时，运动具有反持续性；而在 $H = 1/2$ 时，则为布朗运动。广义扩散系数D 决定了运动的振幅 [21, 22, 23]。与持续性随机游走不同，FBM 运动没有单一的持续时间。其记忆延伸至所有时间尺度，迁移细胞中观察到的关联也具有这一特征。在先前的研究中，我们利用选择性平面照明显微镜，对对照胚胎以及两种突变体中的血细胞进行了成像：一种是 *LanB1* 缺陷型，它会缺失一个层粘连蛋白亚基并破坏细胞外基质；另一种是 $SCAR^{\Delta 37}$，它会损害肌动蛋白驱动的运动 [24]。FBM 能够很好地描述这种在时间和空间上均呈异质性的运动。位移分布呈非高斯特征，而采用广义扩散系数威布尔分布的 FBM 能够重现这一分布。通过神经网络在沿每条轨迹滑动的窗口中估计局部指数 [25, 26], , 结果显示这些指数随时间振荡，交替出现持续性较强或较弱的运动阶段。总体而言，随着发育推进，运动的持续性逐渐减弱。相互接触的血细胞会发生同步接触抑制运动，而这两种突变都会破坏集体运动并降低其持续性。这些结果表明，要详细了解血细胞的行为，就必须在局部尺度上逐个细胞、逐个窗口地追踪其运动性。这些结果也留下了本研究要回答的问题：随着细胞的持续性减弱，它们的运动速度是否也会减慢?

有两个障碍阻碍了问题的解答。首先，二十帧的窗口所带来的不确定性，与人们希望解析的生物变异相当，而早期的局部估计值没有误差条。因此，轨迹上的变化无法与估计器的涨落区分开来 [27]。其次，估计得到的 H 和 D 彼此相关。D 的单位为 $\mathrm{L}^2\mathrm{T}^{-2H}$（$L$ 表示长度，T 表示时间）；只要H 不同，单位也会不同，因此，持续性降低的细胞，其扩散系数的表示单位也会随之改变。此外，在短窗口内，H 的误差几乎完全由D的误差补偿。由此产生的 H 与 $\log D$ 之间的相关性是测量本身的属性，而非细胞的属性，甚至其正负方向也取决于帧率。不能将这种相关性与速度和持续性之间的生物耦合混为一谈 [19], ；只有在将二者分离之后，才能测量这种生物耦合。因此，发育过程中D 的变化，在与之伴随的H 变化分离之前，无法加以解读。

在这里，我们克服了这两项局限，并追踪了胚胎发育过程中血细胞运动性长达六小时，远超我们早期研究的时长 [24]。物理信息神经网络利用由二十帧组成的短三维窗口，估计 H、D 和定位误差，并为每个估计值给出一个基于模拟轨迹校准的不确定性。网络通过两个损失项进行训练：针对模拟参数的监督损失，以及分数高斯噪声的精确似然；后者将每个估计值与观测到的步长直接关联起来，且无需真实值。我们根据网络输出构建有效扩散率 $\mathrm{D}_{\mathrm{eff}}$。其定义并非 FBM 所特有。它适用于所有具有有限二阶矩的反常扩散过程，无论其增量是像 FBM 那样平稳，还是像连续时间随机游走和标度布朗运动那样非平稳。对于 FBM，Dμ可用 H 和 D 表示为闭式形式，我们在全文中均采用这一形式。D 的单位（$^2\mathrm{m}^{-2H}\mathrm{s}_{\mathrm{eff}}$）会随 H 改变。D μ的单位始终为 $^2\mathrm{m}^{-1}\mathrm{s} = 1/2$，对于布朗运动，它退化为普通扩散系数（H $_{\mathrm{eff}}$）；其估计误差在一阶近似下与 H 的估计误差不相关。D 2Δ还具有适用于所有过程的直接物理意义。具体而言，$_{\mathrm{eff}}$ t $\mathrm{D}_{\mathrm{eff}}$ 是每个步长中无法根据先前步长预测的部分的平均方差。因此，$\mathrm{D}_{\mathrm{eff}}$ 衡量细胞单位时间内注入了多少新的随机性，而 H 则单独表征每一步在多大程度上保留了对过去的记忆。类比爱因斯坦关系，D $_{\mathrm{eff}} = \gamma$定义了有效温度 $\mathrm{T}_{\mathrm{eff}}/\mathrm{D}_B\mathrm{k}\ \gamma$，其中 $_B$ 为摩擦系数，$\mathrm{k}_{\mathrm{eff}}$为玻尔兹曼常数。网络的具体说明见方法和补充材料第 S1 节；D的一般定义、其 FBM 形式及其性质见补充材料第 S2 节。

借助这些工具，从分散到巡逻的转变可表现为温度（T_{eff}）与记忆（H）平面上的一条轨迹。早期血细胞活跃且持续性强。随着发育推进，对照组和*LanB1*缺陷胚胎中的D_{eff} 均有所下降，但两种基因型沿着不同路径冷却。对照细胞保留了方向记忆，而*LanB1*缺陷细胞则进一步冷却，运动变得近乎布朗运动。这进一步阐释了早先的观察：血细胞在发育过程中会失去持续性 [24]。记忆丧失伴随着冷却；如今可以分别测量这两者

，且它们的相对贡献因基因型而异。我们将有效温度的下降解读为退火搜索：早期剧烈的运动使种群分散，随后逐步冷却，使细胞安定下来，在局部环境中巡逻。我们还讨论了另一种解释，即组织成熟时摩擦增加，并指出了可用于区分这两种解释的测量方法。

结果

E可从二十帧窗口估计有效温度和记忆

反常扩散以d维空间中的均方位移为特征

$$\langle \mathbf{r}^2(t)\rangle = 2dDt^{\alpha}, \tag{1}$$

其中，反常指数 α 描述运动的记忆，广义扩散系数 D 则表示其振幅。对于分数布朗运动（FBM）， $\alpha = 2\mathrm{H}$，其中 H 为赫斯特指数。研究这两个量沿轨迹的变化会带来两个问题。首先，D 的单位为 $\mathrm{L}^2\,\mathrm{T}^{-\alpha}$，只要 α不同，单位就会不同，因此无法比较来自具有不同 α的细胞或窗口的 D 值。若将时间单位增大 c 倍，log D 就会偏移 $\alpha\log$ c（全文均使用 $\log_{10}$），且每个 α对应的偏移量都不同。其次， α 和 D 的估计值并不独立，因为二者都由相同的位移得出。短轨迹可以清楚地显示典型步长的大小，却不太能清楚地显示位移随滞后时间增长的速度，而这一增长率决定了 α。因此， α 中的误差会使拟合的均方位移围绕枢轴滞后 τ^*发生倾斜，而 logD 会通过偏移来补偿， δlog D $\simeq -\log\,\tau^*\,\delta\alpha$（见补充信息）。较长的窗口会减小这两种误差，但无法消除这种耦合。在多项单粒子追踪实验中，已有研究报告了估计指数与扩散系数之间存在这类关联，即 D $\propto \exp(\mathrm{c}_1\alpha + \mathrm{c}_2)$。当两个参数都由同一条有限轨迹 [28, 29], 估计时，这类关联通常都会出现，而且其强度甚至足以使真实参数之间的负相关看起来像正相关 [28]。我们需要一种运动振幅度量，使其对所有轨迹都采用相同单位，且其估计误差不会继承自 α的估计误差。

因此，我们引入一种有效扩散率，它适用于二阶矩有限的任何运动，无论其增量是否平稳：分数布朗运动（FBM）的增量是平稳的，而连续时间随机游走（CTRW）和莱维行走的增量则不是。对于某一坐标上连续的 N 个增量，以间隔 Δt采样，其协方差矩阵为 Σ,

$$D_{\mathrm{eff}} = \frac{(\det\Sigma)^{1/N}}{2\Delta t}. \tag{2}$$

对于正常扩散，增量之间不相关，因此 $\Sigma = 2D\Delta t\, I_N$，其中 I_N是 $N \times N$单位矩阵，所以 $(\det\Sigma)^{1/N} = 2D\Delta t$就是单个步长的方差，且 $D_{\mathrm{eff}} = D$。当增量相关时，每一步都有一部分可以根据前面的步长预测。由于 detΣ 是连续各步中无法根据前面步长预测的部分的方差之积，因此 $(\det\Sigma)^{1/N}$ 小于步长方差，而 D_{eff} 就是运动中不可预测部分的扩散率。对于所有过程，它的单位都是 $\mathrm{L}^2\mathrm{T}^{-1}$。此外，只要协方差可表示为一个振幅乘以仅取决于记忆参数的矩阵，$\log D_{\mathrm{eff}}$ 就可作为振幅的度量；其估计误差在一阶近似下与这些参数的估计误差不相关（补充材料第 S2 节）。

对于分数布朗运动，其协方差具有如下形式： $\Sigma = 2D\Delta t^{2H} R(H)$，其中 $R(H)$ 是分数高斯噪声的相关矩阵，而公式（2）则写为

$$D_{\mathrm{eff}} = D\,\Delta t^{\,2H-1}\left[\det R(H)\right]^{1/N}. \tag{3}$$

D_{eff}在$H = 1/2$时等于D，其单位在每个H下均为 $\mu\mathrm{m}^2\mathrm{s}^{-1}$。重要的是，估计误差在主导阶上与$H$的估计误差不相关。与$H$相关的校正项 $\Delta t^{2H-1}[\det R(H)]^{1/N}$由枢轴滞后 τ^*确定，因此该变换恰好消除了上述耦合（补充材料第 S1 节）。因子 $[\det R(H)]^{1/N}$表示无法根据前面各步预测的步长平均比例。

估计H 和 D 对于短轨迹，我们使用了一个采用 Cerberus架构的物理信息神经网络（PINN）（图 1）。对于每个窗口，该网络都会返回 H、log$D$ 和静态定位误差 σ_{loc}（例如，由显微镜的有限分辨率导致），以及标准差 σ_H 和 $\sigma_{\log D}$。网络仅接收经过各自均方根归一化的位移，因此，同一个训练好的网络可以应用于任意帧率，并覆盖 D 的多个数量级。通过异方差损失训练不确定性，并在不进行 事后 重新缩放的情况下报告（补充材料第 S1 节）。对于具有 20 点窗口且信噪比为 20 的模拟三维分数布朗运动轨迹，该网络对 H 的恢复结果平均绝对误差为 0.065，对 log$D$ 的恢复结果为 0.23 个数量级；除在 H 范围边缘附近外，结果基本不存在偏差。所报告的不确定性经过校准，在 H 和 D 的整个范围内，观测误差都与所报告的不确定性相符。

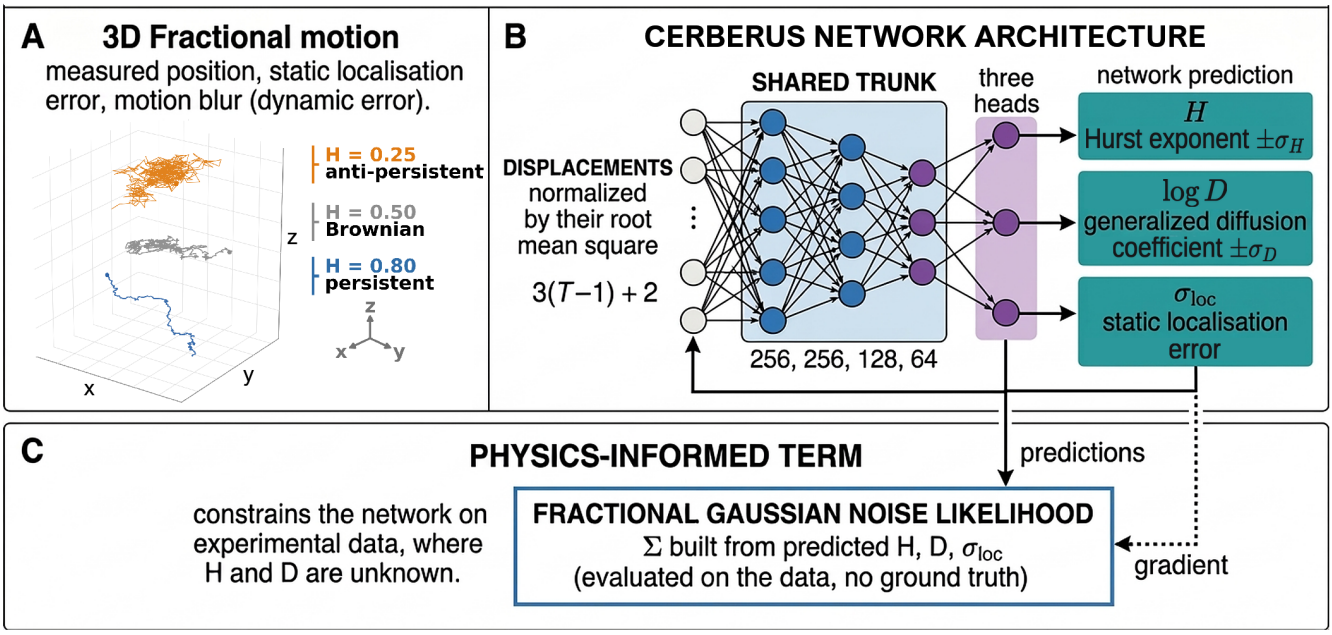


图 1. 用于同时估计赫斯特指数、广义扩散系数和定位误差的物理信息神经网络。(A) 使用 $H = 0.25$、0.50 和 0.80 模拟的三维分数布朗运动轨迹，分别对应反持续性运动、布朗运动和持续性运动。空心圆标记每条轨迹的起点，实心圆标记终点。测量位置包含静态定位误差。**(B)** Cerberus 神经网络示意图。输入层接收由包含 T 个点的窗口得到的 $3(T-1)$ 个位移，这些位移以其均方根进行归一化；此外还接收两个标量，用于说明定位误差是否已知，以及若已知，其相对于均方根的大小。由 256、256、128 和 64 个单元组成的四个全连接层构成共享主干网络，并连接三个输出头，分别预测 H、广义扩散系数 D 的对数以及定位误差 σ_{loc}。图中绘制的节点数量仅为示意。前两个输出头还会预测一个标准差，因此每个估计值都带有自身的不确定性。**(C)** 物理信息项。利用预测得到的 H、D 和 σ_{loc} 构建观测位移的协方差矩阵 Σ，并直接在数据上计算精确的分数高斯噪声似然。由于该项不使用真实值，因此它既能约束实验轨迹上的网络（其中 H 和 D 未知），也能约束用于训练的模拟轨迹。

（补充材料第 S1 节）。相比之下，仅凭二十帧数据很难识别定位误差，网络估计值仍接近其先验。因此，我们报告该误差，但不对其进行详细解读。

图 2 展示了使用固定 $\mathrm{H} = 0.7$ 和 $\log \mathrm{D} = -1$ 模拟的短轨迹中的耦合及其消除。在 $\Delta \mathrm{t} = 0.02\,\mathrm{s}$ 时，估计值沿 (H, log D) [中的一条狭窄脊线散布]图 2(A)$0.3 \lesssim$：一个真实点被涂抹到$_{\mathrm{pred}} \lesssim 0.9$ H $+4.0$以及 D 的两个以上数量级范围内。误差几乎完全相关，斜率为每单位 H [dex]图 2(B) Δ。在 $= 17$t [s 时，这一时间接近血细胞帧间隔，脊线发生反转] 图 2(E)-1.9，斜率变为每单位 H [dex], 图 2(F) [24]，这正是我们此前在血细胞的 H 和 D 局部估计值之间观察到的符号。两个斜率都与预测的枢轴 $\tau^* \approx 0.5\Delta$t 一致（补充材料第 S2 节）。因此，这种相关性反映的是测量，而非运动；在二十帧窗口中，log D 中的相关误差足够大，可以掩盖 D 的真实变化。在 (H, log $\mathrm{D}_{\mathrm{eff}}$) 中，相同的窗口在两个帧间隔下都形成以真实值为中心的紧凑云团 [图 2(C,G)],，且误差相关性消失 [图 2(D,H)]。残余斜率为每单位 H ≈ 0.06dex，仅为原始斜率的 3% 以下；log D 中的误差$_{\mathrm{eff}}$位于 ± 0.25 dex 以内，而在 $\Delta \mathrm{t} = 0.02\,\mathrm{s}$ 时，log D 的误差超过两个数量级，在$\Delta \mathrm{t} = 17\mathrm{s}$ 时则超过一个数量级。H 中残留的散布$_{\mathrm{pred}}$ 仅代表 H 本身的不确定性，不再污染振幅。

我们将这一方法应用于对照组、*LanB1*缺陷胚胎和IV型胶原缺陷胚胎中的血细胞；成像时的帧间隔为 $\Delta t = 17.6$秒，并对其进行三维追踪（实验详情见参考文献 [24]）。对照组和*LanB1*缺陷胚胎各记录了 ≈ 5.9小时，每段记录由六部连续的200帧影片组成；此外，三种基因型的其他胚胎各记录了两部影片（方法）。为追踪每个细胞在发育过程中的运动性，我们以20帧为窗口分析每条轨迹（$N = 19$ 步长，334秒），并沿轨迹每次移动一帧。这样的窗口长度足以分辨轨迹上的行为变化，但所包含的信息有限，因此每个估计值都必须附带其自身的不确定性。对于每个窗口，D_{eff} 通过方程（3）中的固定变换由网络输出得到；其不确定性为

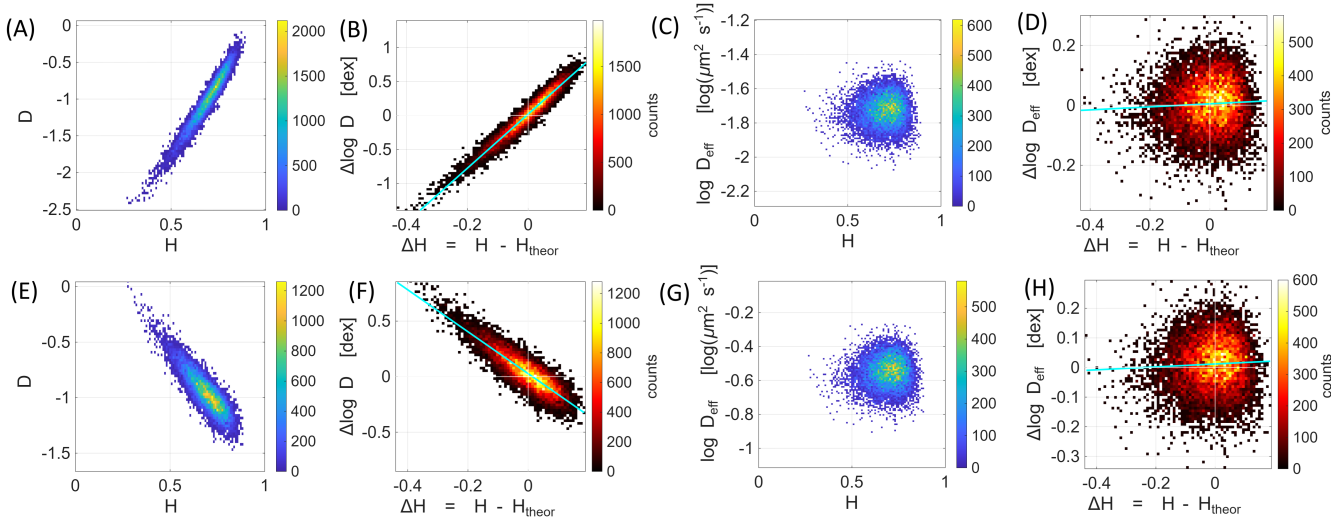


图 2. 不同采样时间间隔下分数布朗运动（FBM）参数的联合概率分布及估计误差。理论参数为 $H_{theor} = 0.7$ 和 $\log D_{theor} = -1$。（A、E）分别为以 $dt = 0.02$ 和 $dt = 17$生成的轨迹中，预测的赫斯特指数 H 与预测的扩散系数对数 logD 的联合概率分布。D 和 D_{theor} 的单位为（$\mu m^2 s^{-2H}$），并随 H 变化。（B、F）分别为 $dt = 0.02$ 和 $dt = 17$下估计误差 $\Delta H = H - H_{theor}$ 和 $\Delta \log D = \log(D/D_{theor})$ 的相应分布，显示了误差之间的正相关和负相关。（C、G）分别为 $dt = 0.02$ 和 $dt = 17$下 H 与预测的有效扩散系数 $\log D_{eff}$ 的联合分布。D_{eff} 的单位为（$\mu m^2 s^{-1}$），且与 H 无关。（D、H）分别为 $dt = 0.02$和 $dt = 17$下 $\Delta H = H - H_{theor}$ 与 $\Delta \log D_{eff} = \log(D_{eff}/D_{eff,theor})$ 的相应分布。色标表示每个分箱中的轨迹数量。（B、D、F、H）中的青色实线表示对相应估计误差进行的线性拟合。

在血细胞帧间隔下对模拟窗口进行测量后发现，在.08–0.09 dex之间，覆盖H 的整个范围（方法）。下文中，D_{eff} 是衡量细胞运动强度的类温度指标，而H 则是衡量其方向记忆的指标。

物理信息神经网络重现血细胞动力学

在将物理信息神经网络分析应用于血细胞轨迹之前，我们研究了由物理信息神经网络估计的分数布朗运动模型能否重现血细胞动力学。为检验窗口估计值是否能描述细胞的实际运动，我们将其与直接根据位置测量、未使用任何模型的帧间速度进行了比较。对于具有静态定位误差和运动模糊的$d = 3$ 维分数布朗运动模型，一个帧间隔内的均方位移 $\tau = \Delta t = 17.6$s 可通过帧间速度 $v = |\mathbf{r}(t+\tau) - \mathbf{r}(t)|/\tau$表示，该速度根据连续帧的测量位置计算得出，其中$\langle v^2 \rangle$ 表示所有连续帧对的平均速度 [30]:

$$\tau^2 \langle v^2 \rangle = 2dD\,\tau^{2H}\,\kappa(H,R) + 2d\,\sigma_{loc}^2, \qquad \kappa(H,R) = \frac{(1+R)^{2H+2} + (1-R)^{2H+2} - 2 - 2R^{2H+2}}{R^2\,(2H+1)(2H+2)}, \tag{4}$$

其中，R是每个帧间隔内相机曝光时间所占的比例。模糊因子 κ 在瞬时采样时等于 1，在布朗运动情况下则为 $1 - R/3$（$H = 0.5$）。用有效扩散率表示时，同一表达式将运动的振幅与其记忆效应区分开来，

$$\tau^2 \langle v^2 \rangle = \frac{2d\,\tau\,D_{eff}\,\kappa(H,R)}{f(H)} + 2d\,\sigma_{loc}^2, \qquad f(H) = [\det R(H)]^{1/N}, \tag{5}$$

其中 $N = 19$。因子 $f(H)$ 表示无法根据前几个步长预测的步长方差所占的比例。对于布朗运动，该值等于 1；对于持续性运动，该值更小（$f = 0.96$ 在 $H = 0.63$ 时，以及在 。76 在 $H = 0.78$ 时），因此在相同的 D_{eff} 下，持续性细胞每帧覆盖的空间比布朗运动细胞更大。

在轨迹的每个时间点，我们将包含该点的所有窗口的网络估计值结合起来（H 线性地，D 在对数尺度上），并计算公式（4）。首先，对一个分箱中每条轨迹的时间点进行预测平均，然后再对观测速度相匹配的轨迹进行平均，并由两个平均值形成比值 $\langle v^2 \rangle_{obs}/\langle v^2 \rangle_{FBM}$。因此，预测值在 $20\Delta t \approx 6$分钟的时间范围内进行了平滑，而观测速度是一个单帧量。预测值仅取决于H 和D。

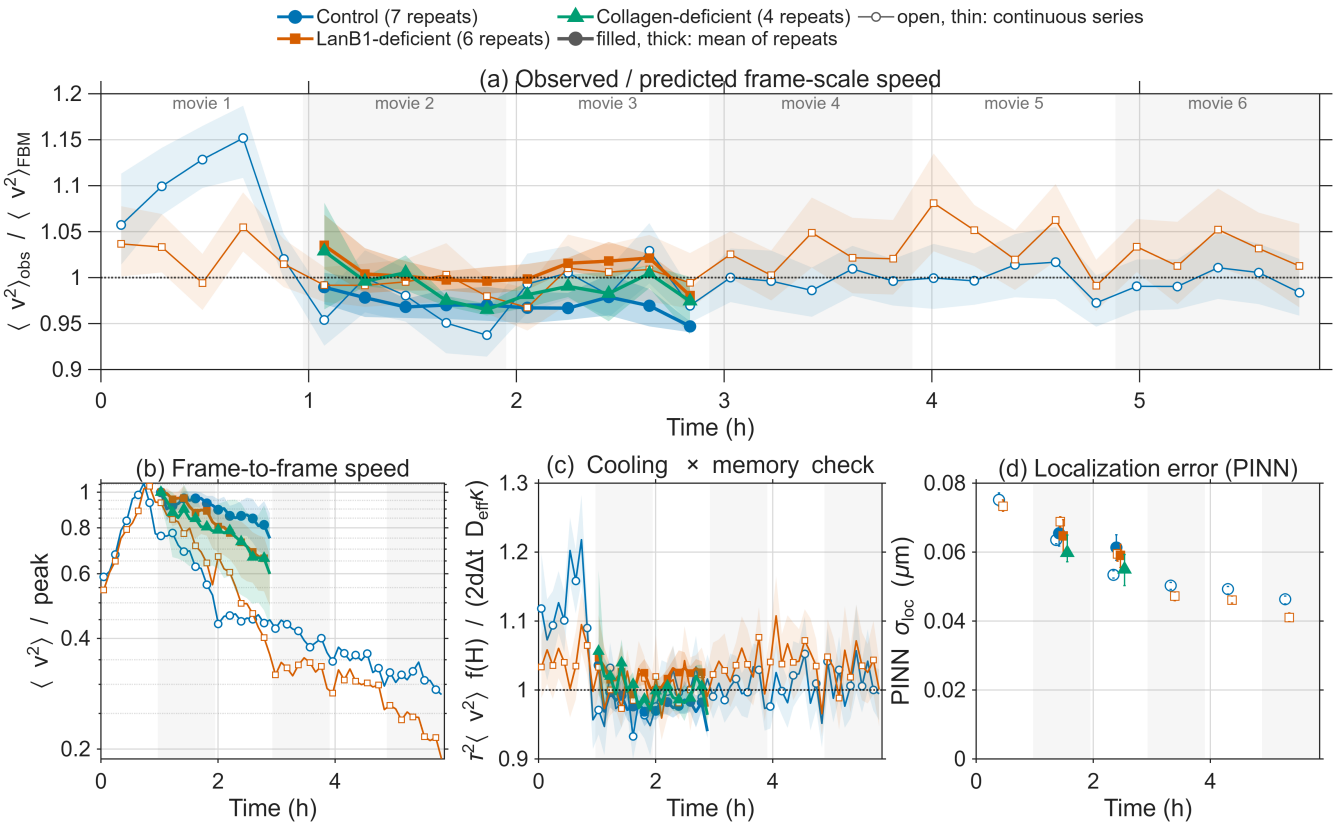


图 3. 物理信息神经网络估计的分数布朗运动再现了血细胞动力学。对照组（蓝色圆形）、LanB1缺失（朱红色方形）和胶原缺陷型胚胎（绿色三角形）中的血细胞。实心符号和粗线表示独立胚胎的均值（对照组 $n = 7$，LanB1缺失 $n = 6$，胶原缺陷 $n = 4$），仅显示至少有两个胚胎覆盖的分箱；空心符号和细线表示单次连续录制的六部影片。灰色条带标示交替的200帧影片。(a) 观测到的帧间速度平方均值与分数布朗运动预测值之比，$\langle v^2\rangle_{obs}/\langle v^2\rangle_{FBM}$[公式（4）]，，按704 s分箱；计算胚胎均值时，各胚胎权重相同。阴影表示95%自助法置信区间（均值按胚胎计算，连续录制按轨迹计算）；虚线表示完全吻合。(b) $\langle v^2\rangle$按其自身峰值归一化（即三分箱移动平均值的最大值），按352 s分箱。估计胚胎均值时，每个胚胎采用一个乘法偏移量，因此加入或退出均值计算的胚胎不会使曲线发生偏移；阴影表示按胚胎计算的95%自助法区间。(c) 将速度分解为冷却和记忆，$\tau^2\langle v^2\rangle f(H)/(2d\ \Delta t\ D_{eff}\kappa)$ [公式（5）不含噪声项]，，分箱与(b)相同；虚线表示精确分解。尽管 $\langle v^2\rangle$下降了数倍，比值仍接近1。(d) 网络估计的每部影片的定位误差：连续录制取轨迹中位数（轨迹的95%自助法区间），胚胎均值取胚胎均值（胚胎的95%自助法区间）。

通过$D\tau^{2H}$ 在 $\tau = \Delta t$处，即预期的单帧位移。这种组合是确定良好的，尽管H 和D各自并不能被良好确定，因为它们的误差会相互补偿：对H 的高估会伴随着对 log$D$的低估。因此，将点估计代入公式（4）只会使预测值产生轻微偏差。

在所有三种基因型中，观测到的速度与预测值的差异都只有几个百分点 [图 3(a)]。即使 $\langle v^2\rangle$下降了数倍 [图 3(b)]，，且式 (5) 的分解仍然成立，这种一致性依然存在。也就是说，在整个时间范围内，速度除以 $D_{eff}\kappa/f(H)$ 后始终接近 1 [图 3(c)]。由于 $D\tau^{2H} = D_{eff}\tau/f(H)$ 在 $\tau = \Delta t$ 处恰好成立，图 (a) 和图 (c) 表达的是同一种一致性；后者不含定位项，而此处定位项非常小，因此我们将其忽略 [图 3(d)]。轻微的非高斯增量以及窗口内速度的变化，解释了剩余的散布。因此，具有推断出的 H 和 D 的平稳分数布朗运动重现了血细胞在整个发育过程中的短时动力学，而帧尺度速度则完全由 D_{eff} 和 H 解释。

最大偏离出现在连续对照记录的第一个小时内。七个独立对照胚胎的均值在相同分箱中没有显示出过量。我们将这一过量归因于一次短暂的、胚胎特异性的定向迁移事件，而非早期扩散的一般特征，因此不对该区间内的D_{eff} 进行定量解释。

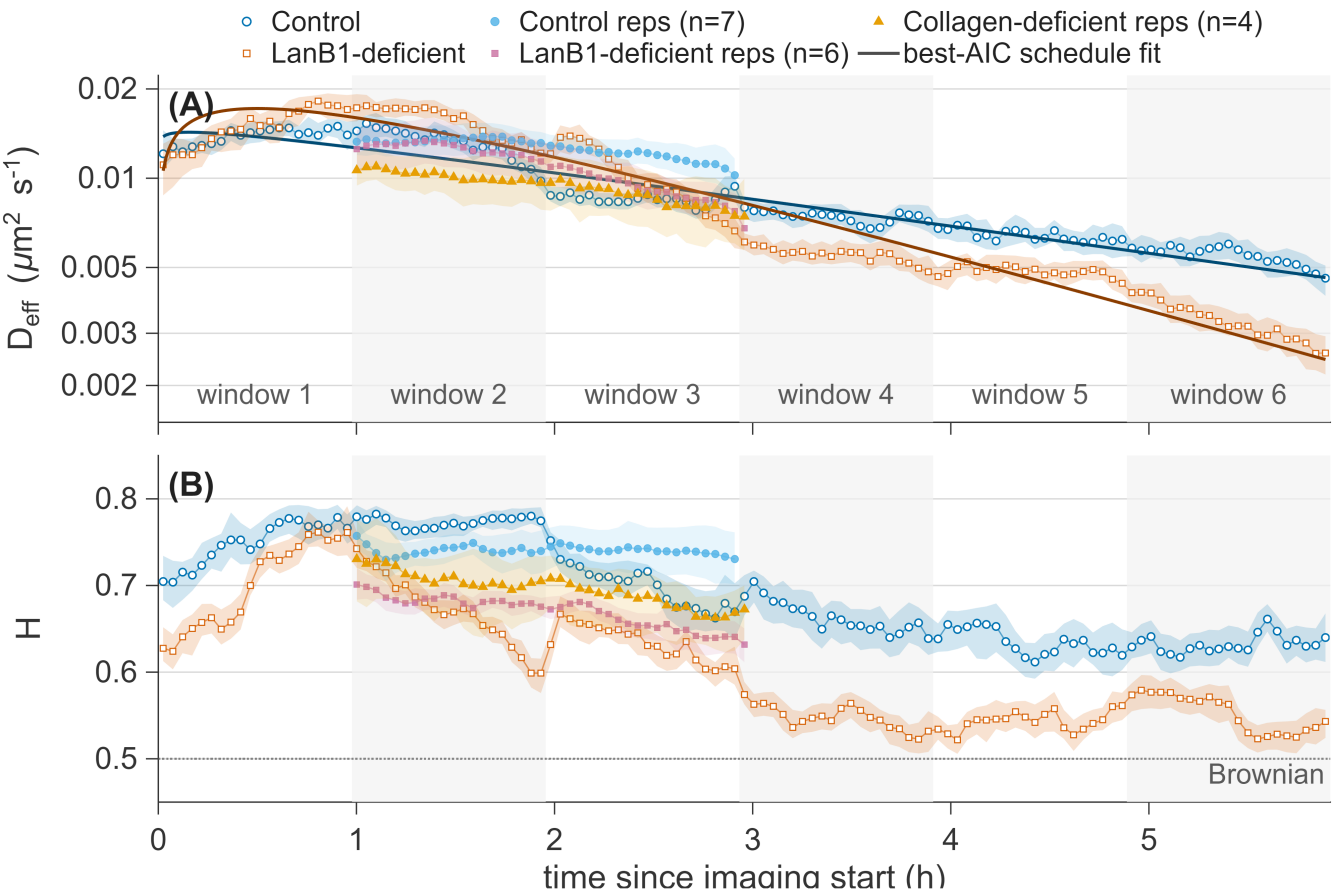


图4。 血细胞运动性的升温与降温。 (A) 有效扩散率 D_{eff} [方程（3）] 和 (B) 赫斯特指数 H，按自成像开始以来的时间以176 s为一组分箱（10帧）。符号形状表示基因型：对照组（圆形）、*LanB1*缺陷型（方形）和胶原缺陷型胚胎（三角形）。实心符号表示对照组和*LanB1*缺陷型胚胎的六部影片连续录制结果；每个点为各轨迹的中位数（阴影表示95%自助法区间）。空心符号表示独立录制的均值：对照组（$n = 7$）和 *LanB1*缺陷型（$n = 4$），各涵盖影片1–2；胶原缺陷型胚胎（$n = 4$），其中两次录制涵盖影片1–2，另两次涵盖影片2–3。每个空心点为各次录制的中位数的均值，95%区间由对录制以及每次录制内轨迹进行两层自助法计算得出。至少有2次录制参与、且每次录制至少包含5条轨迹时，才显示该分箱。虚线表示连续录制数据的最佳拟合冷却方案，该方案根据赤池信息准则从指数函数、幂律、对数函数和上升–衰减形式中选出。灰色和白色带标示连续的200帧影片（每部58.7分钟）。(B)中的点线表示布朗运动，$H = 0.5$。估计值来自20位置窗口（$\Delta t = 17.6$s）。符号每隔一个分箱绘制一次。

血细胞变暖 ，随后变冷；LanB1缺陷胚胎中的细胞冷却得更快，并失去记忆

为了追踪种群在发育过程中的变化，我们在每条轨迹的窗口内以176秒分箱对logD_{eff}和 H取平均，并计算各轨迹之间的中位数，同时给出自助法置信区间 [图 4（A、B）]。时间进程分为两个阶段。在第一个小时内，随着血细胞在胚胎中分散，两种基因型都逐渐升温并获得持续性。D_{eff} 和 H 在所有胚胎中都升高。此后，不同基因型以不同速率降温。对照血细胞缓慢降温。D_{eff} 从其最大值下降约3倍，在5.9小时降至 $\approx 0.005\,\mu\mathrm{m}^2\,\mathrm{s}^{-1}$。 LanB1缺失胚胎中的血细胞降温约6倍，降至 $\approx 0.003\,\mu\mathrm{m}^2\,\mathrm{s}^{-1}$。因此，在最初 ≈ 2.7小时内，LanB1缺失胚胎中的细胞比对照细胞更热，最高相差0.2数量级，此后则更冷。

两种基因型中的持续性呈现不同的变化轨迹 [图 4（B）]。对照血细胞保持 $H \approx 0.78$ 直到 ≈ 1.9h，随后持续性逐渐下降，并稳定在 $H \approx 0.63$，从 ≈ 4h开始，显著高于布朗运动值。LanB1*LanB1*缺陷胚胎中的血细胞在达到最大值 ≈ 1 h时便开始失去持续性；到1.9 h时降至 $H \approx 0.61$，并在3 h后保持在$H \approx 0.52$–$0。57$，接近布朗运动。LanB1*LanB1*缺陷胚胎中的细胞持续性低于对照细胞。因此，在温度与记忆平面上，两种基因型描绘出不同的轨迹：对照细胞以近乎恒定的记忆冷却，仅在后期失去记忆；而LanB1*LanB1*缺陷胚胎中的细胞则同时失去记忆并冷却 [图 5]。

方程（5）将减速分为两部分：冷却（D_{eff}的下降）和记忆丧失（H的下降），后者

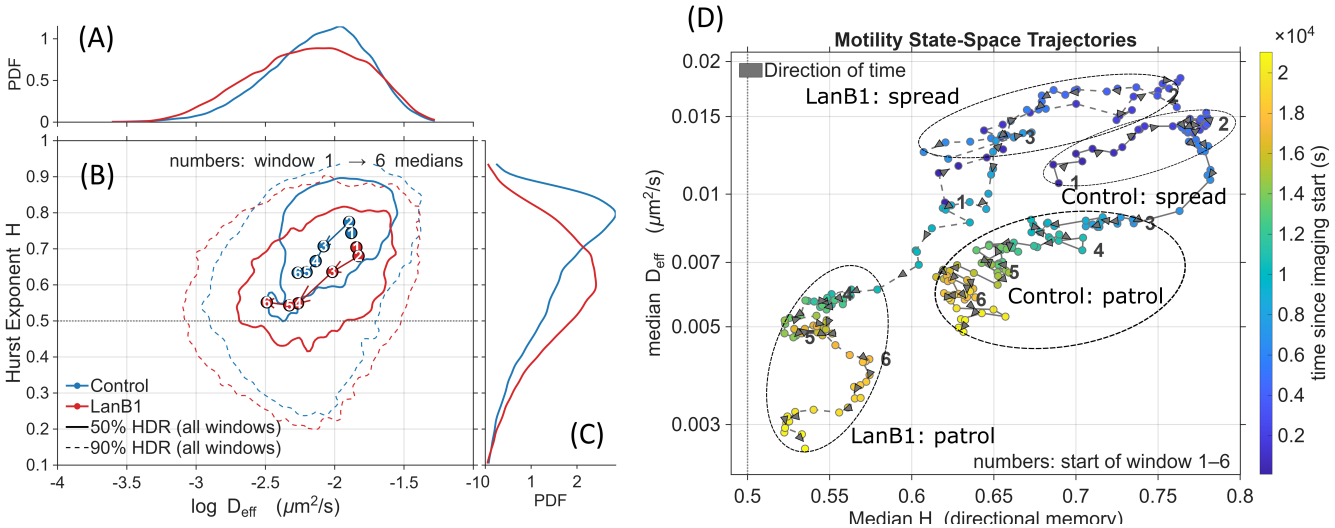


图5。 穿越记忆与温度的轨迹。（A、C）对数D_{eff}和H的边缘分布，汇总了各窗口和轨迹的数据。**（B）**（对数D_{eff}，H）的联合分布：实线和虚线轮廓分别包围50%和90%的最高密度区域；带编号的圆点表示影片1–6的中位数，并按时间顺序连接。**（D）**以176秒分箱表示的种群中位数，按成像开始后的时间着色；实线表示对照组；虚线表示*LanB1*缺失胚胎；箭头表示时间方向；数字标记每部影片的第一个分箱。虚线轮廓圈出扩散阶段（影片1–2）和巡逻阶段（影片4–6）的分箱。点线表示布朗运动（$H = 0.5$）。

通过$f(H)$体现。仅持续性下降——对照组中从$H \approx 0.78$降至0。63，以及LanB1缺失胚胎中从0。76降至0。55——就使两种基因型的帧尺度速度均降低了≈1.25倍。在同一时期内，无模型$\langle v^2 \rangle$在对照组中下降了≈3.7倍，在≈5.3倍，在*LanB1*缺失胚胎中下降了[（图3(b)],，因此减速主要源于冷却。单看速度会混淆这两种作用；D_{eff}反映运动振幅，而H反映其记忆。

无需借助网络也能观察到冷却现象。直接根据位置测得的帧间速度，先在每条轨迹内取平均，再在各轨迹之间取平均，显示出相同的两个阶段[图6（A）]。在最初的≈0.7小时内，对照细胞的速度从≈4.1增加到≈5.4 μ米/分钟$^{-1}$，而LanB1缺失胚胎中的细胞则从≈4.0增加到≈5.2 μ米/分钟$^{-1}$。随后，两者均持续减速；到成像结束时，分别降至≈2.6（对照组）和≈2.35 μ米/分钟$^{-1}$（LanB1缺失胚胎），较峰值大约下降两倍，或在$\langle \mathrm{v}^2 \rangle$中下降4–5倍。对整个记录过程取平均后，各轨迹的平均速度在两种基因型之间差异很小（3.75 ± 0.015对3.60 ± 0.012 μ米/分钟$^{-1}$，平均值为±标准误；见图6（B））。进一步的多项检查表明，这些趋势并非测量造成的伪影。中位数的置信区间远窄于其所反映的变化。定位噪声在此处可以忽略；它至多会在$\langle \mathrm{v}^2 \rangle$[式（5）]中增加一个恒定底值，并减缓表观下降，而绝不会产生这种下降。在原始扩散系数中，不同的冷却情景几乎无法区分，因为在μ米^{2}秒$^{-2H}$时，下降的H会掩盖振幅的下降（见补充图S6）；但在固定滞后时间下的表观扩散率$\mathrm{D}\tau^{2H-1}$在两种基因型中呈现出不同的下降方式。

该时间进程与胚胎血细胞的发育程序相吻合：先是一个高温、持续性强的分散阶段，细胞在胚胎中扩散，随后逐渐冷却，进入更缓慢、持续性较弱、适合局部监视和基质沉积的巡逻阶段。在每种基因型的影片中，对照组、*LanB1*缺陷型和胶原缺陷型胚胎的初始下降均无法区分。随后，连续记录显示，*LanB1*缺陷型胚胎进一步冷却，其运动比对照组更接近布朗运动，这表明层粘连蛋白可能在维持主动的持续性搜索中发挥作用。这些后期差异基于每种基因型的一次连续记录，并将在下一节以单细胞为层面进行检验。为进行简洁描述，我们对$\ln D_{\text{eff}}(t)$拟合了四种进程：指数函数、幂律、对数函数（$D_{\text{eff}} \propto 1/\ln t$，在该进程下模拟退火保证收敛[13]）以及上升–衰减进程$D_{\text{eff}} \propto t^{\beta} e^{-t/\tau}$。只有上升–衰减形式能够捕捉初始升温过程，且赤池信息准则在两种基因型中都更偏好该形式。该模型在对照胚胎中于$t_{\text{peak}} = 0.24$小时达到最大值，冷却时间为$\tau = 4.5$小时；而在*LanB1*缺陷型胚胎中，这两个数值分别为0.52小时和2.13小时。由于这些拟合没有对影片边界处的步长进行建模，因此我们将其作为描述性总结，而不是用于检验不同机制之间的差异。

快速细胞会记忆：LanB1 缺陷胚胎中速度–持久性耦合丧失

在许多迁移细胞中，速度与持续性相互耦合：由于肌动蛋白流对极性信号的平流作用，速度越快的细胞转向越少[19]。我们考察了这种耦合是否适用于血细胞，以及降温后是否仍然存在。对于每条轨迹片段和

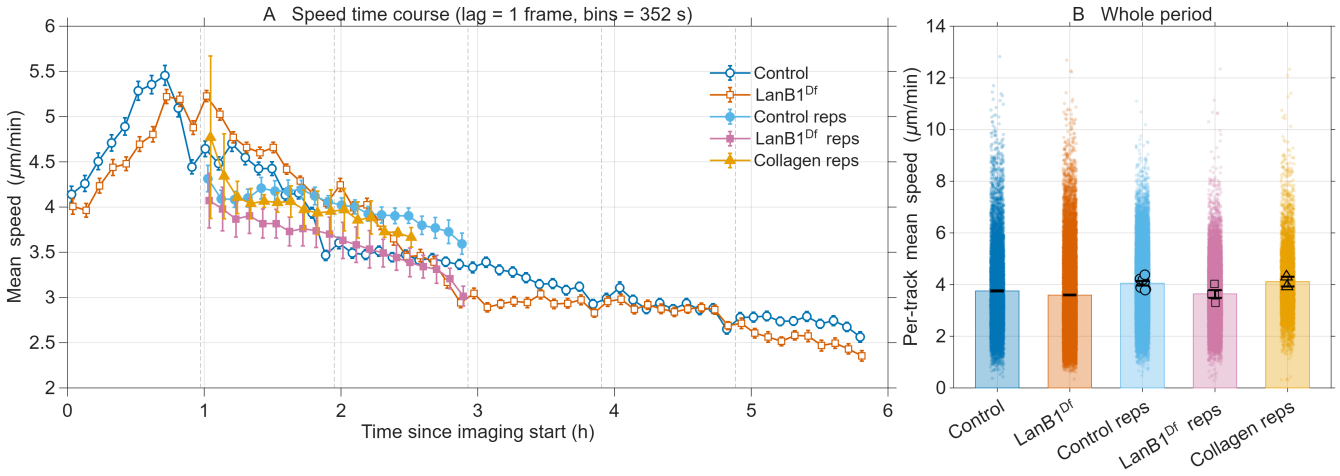


图 6。 不同发育阶段和基因型下的血细胞速度。 速度为$v = |\mathbf{r}(t + \Delta t) - \mathbf{r}(t)|/\Delta t$，根据连续帧中的三维位置（$\Delta t = 17.6$秒）计算得出；追踪间断期间的帧对已被排除。符号形状表示基因型：对照组（圆形）、*LanB1*缺陷型（方形）和胶原缺陷型胚胎（三角形）。空心符号表示对照组和*LanB1*缺陷型胚胎的六部影片连续记录；实心符号表示独立记录的均值：对照组（$n = 7$）和*LanB1*缺陷型胚胎（$n = 4$），每者涵盖影片 1–2；以及胶原缺陷型胚胎（$n = 4$），其中两次记录涵盖影片 1–2，另两次涵盖影片 2–3。（A）以 352秒分箱（20帧）计算的平均速度，首先对每个分箱内的每条轨迹求平均。对于连续记录，数据点表示轨迹的均值 ±均值标准误（跨轨迹；每个分箱至少包含 5 条轨迹）。对于独立记录，先对每次记录中的轨迹求平均，数据点表示记录的均值 ±均值标准误（跨记录；每个分箱至少包含 2 次记录）。竖直虚线标示连续 200帧影片之间的边界。为便于观察，数据点在时间上略有偏移。（B）每个数据集完整记录期间的平均速度。小点表示每条轨迹的平均速度（至少包含 5 个速度样本的轨迹）。大符号表示每次记录的均值。柱和误差条表示均值 ±均值标准误：连续记录按轨迹计算，独立记录按记录计算。数据集涵盖不同时间段（影片 1–6、1–2 或 1–3），因此柱形在时间上并不匹配。

每部影片，我们将平均速度与其窗口的平均 H 进行配对，仅保留通过拟合优度检验的窗口（$p > 0.05$） [图 7]。

在对照胚胎中，各个阶段的耦合都很强。速度与H 之间的斯皮尔曼相关在第一个小时为 $\rho = 0.71$，从第二个小时起一直保持在0.45至0.55之间（全程$p < 10^{-10}$）。在第一个小时，最慢的五分之一细胞的H 从 ≈ 0.6 上升到最快细胞的 ≈ 0.87；在最后一个小时，升幅较小但仍很明显，从≈ 0.53 升至 ≈ 0.69。因此，冷却使对照种群沿着保持不变的速度–持续性关系转向较低速度：慢速细胞几乎表现为布朗运动，而快速细胞仍能保持其方向。

在*LanB1*缺失胚胎中，这种耦合从一开始就较弱（前两个小时分别为$\rho = 0.31$ 和0.37）。随后它持续衰减，在接下来的几个小时中降至 $\rho = 0.20$、0.19和0.10，并在最后一个小时消失（$\rho = -0.01$，$p = 0.6$）；此时，在整个速度范围内，H 保持在 ≈ 0.51–0.53之间。发育后期，对于最慢的细胞，两种基因型趋于一致，二者的H 都接近 $= 0.5$；而对于快速细胞则出现分化：*LanB1*缺失胚胎中的血细胞虽然移动速度与具有持续性的对照细胞一样快，却没有方向记忆。因此，血细胞在发育后期持续性的丧失，实际上是最快细胞的记忆丧失，而不是种群向缓慢的布朗运动转移。层粘连蛋白是胚胎血细胞迁移所沿基底膜的组成成分，血细胞自身也会沉积这种蛋白 [5]。这些数据与以下观点一致：基底膜提供了将速度转化为持续性的引导。

退火搜索

这些观察结果可以解释为退火搜索。如果每个血细胞都以有效温度$T_{\mathrm{eff}} = \gamma D_{\mathrm{eff}}/k_B$ 在由吸引位点构成的景观中移动，那么早期的高温会使种群越过较弱的屏障，并扩散到整个胚胎中。随着温度下降，随机运动不再压过微弱的吸引力，这些吸引力也就日益决定细胞停留和巡逻的位置。在摩擦保持恒定的情况下，相对冷却$T_{\mathrm{eff}}(t)/T_{\mathrm{eff}}(0)$等于$D_{\mathrm{eff}}(t)/D_{\mathrm{eff}}(0)$，且不取决于未知的 γ。在这一图景中，对照血细胞遵循缓慢的时间表，在巡逻时保留大部分方向记忆；而*LanB1*缺失的血细胞受热更强、冷却得更快且幅度更大，因此失去大部分记忆。不过，摩擦并不一定保持恒定。基底膜的沉积和组织的压实可能会提高 γ并降低D_{eff}，而细胞的活动并无变化；在层粘连蛋白突变体中，基质本身也发生了改变。

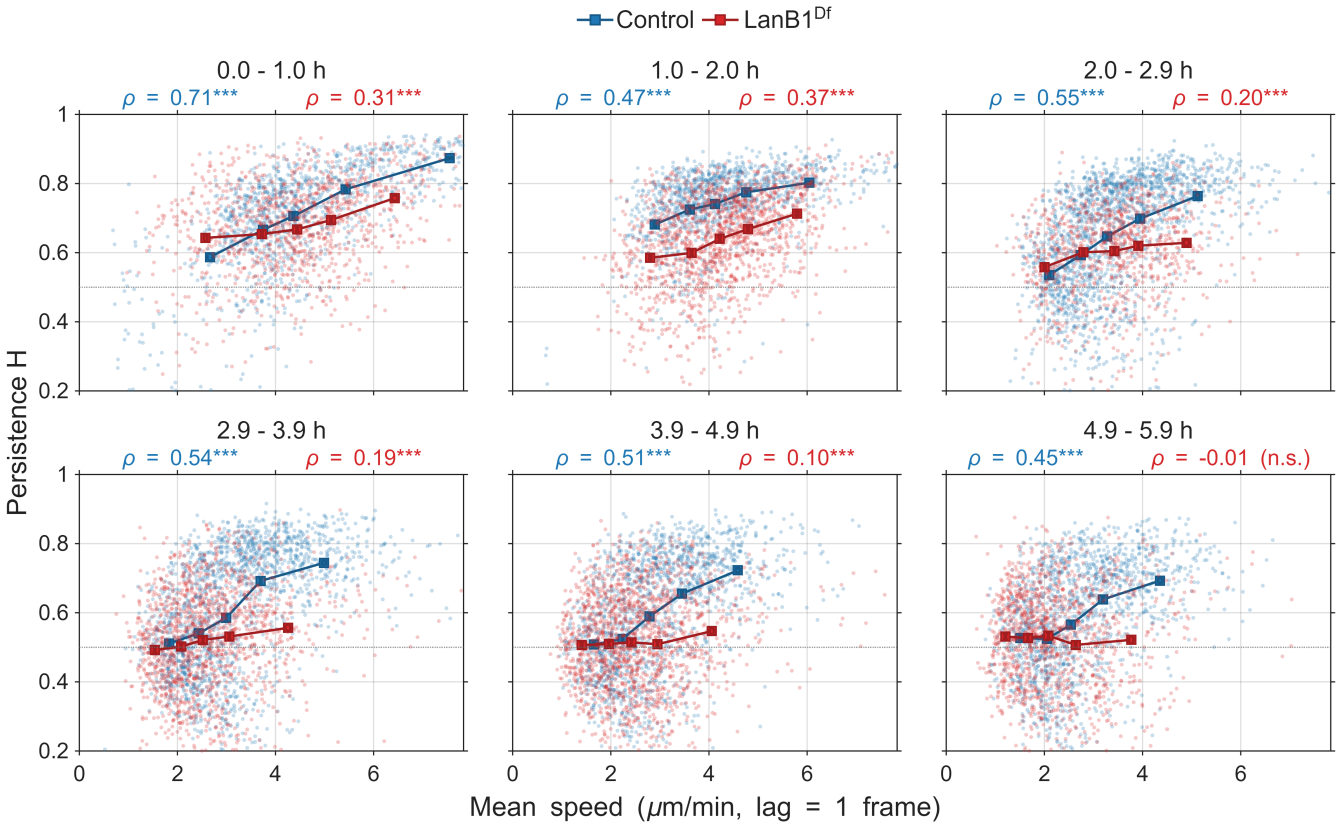


图 7. 对照血细胞中的速度–持久性耦合得以保留，而在 *LanB1*缺陷胚胎中则消失。 每个面板对应一部影片（≈ 1小时）。圆点：各个轨迹片段，绘制通过拟合优度检验（$p > 0.05$）的窗口的平均帧间速度与平均赫斯特指数H；每个片段至少需要五个速度样本和五个H 估计值。方块：速度五分位数的均值，误差棒表示两个坐标方向上的均值标准误。点线：布朗运动（$H = 0.5$）。 ρ：各基因型的斯皮尔曼相关（*** $p < 0.001$；n.s.，不显著）。各面板中的片段数量，对照组/*LanB1*缺陷：1174/1089、1126/1450、1711/924、1692/1414、1484/1601、1391/1256。

这两种解释会得出不同的预测值，我们将在讨论中阐述。

方法

Data

胚胎制备、选择性平面照明显微成像以及血细胞的三维跟踪如参考文献 [24]所述。位置以每帧 $\Delta t = 17.6$秒的速度进行记录，曝光比例为 $R \approx 0.05$。对照组和 *LanB1*缺陷胚胎分别连续记录六部连续的200帧影片（≈ 5.9小时）。此外，对七个对照胚胎（影片1–2）、六个 *LanB1*缺陷胚胎（其中四个跨越影片1–2，两个跨越影片2–3）以及四个胶原缺陷型胚胎（其中两个跨越影片1–2，两个跨越影片2–3）的两部连续影片进行独立记录并分析。轨迹在缺失帧处被分割，至少包含20个位置的连续片段被纳入窗口分析。*LanB1*缺陷胚胎为 *LanB1* 基因座缺失的纯合子 [31]，而IV型胶原缺陷胚胎为小型染色体缺失Df(2L)BSC172的纯合子，该缺失去除了编码IV型胶原组分Col4a1和Viking的基因 [4]。

观测模型

对于包含$N + 1$个位置的窗口，我们将c轴上的位移记为 $\delta_{(c)i} = y^{(c)}_{i+1} - y^{(c)}_{i}$，$i = 1,\ldots,N$，其中$N = 19$。对于每个轴上具有 $\langle \Delta x^2(t) \rangle = 2Dt^{2H}$ 的分数布朗运动，位移服从分数高斯噪声，其相关函数为

$$\rho(k) = D\Delta t^{2H}\left(|k+1|^{2H} - 2|k|^{2H} + |k-1|^{2H}\right). \tag{6}$$

测得的位置带有静态定位误差，$\mathbf{y}_k = \mathbf{X}(t_k) + \varepsilon_k$，其中 $\varepsilon_k \sim \mathcal{N}(\mathbf{0}, \sigma_{\mathrm{loc}}^2 \mathbb{I}_3)$ 在帧与轴之间相互独立，并且每个位置都是在曝光时间$t_E = R\Delta t$ 内取平均的（盒式照明）。观测位移的协方差为

$$\Sigma_{ij} = \rho_R(|i-j|) + \sigma_{\mathrm{loc}}^2\left(2\delta_{ij}^{\mathrm{K}} - \delta_{|i-j|,1}^{\mathrm{K}}\right), \tag{7}$$

其中，ρ_R 是模糊过程的相关函数，根据其均方位移 [30] $\mathrm{M(n)} = 2\mathrm{D}\Delta\mathrm{t}^{2H}\left[(\mathrm{n}+\mathrm{R})^p + (\mathrm{n}-\mathrm{R})^p - 2\mathrm{n}^p - 2\mathrm{R}^p\right]/[\mathrm{R}^2(\mathrm{p}-1)\mathrm{p}], \mathrm{p} = 2\mathrm{H}+2$得到，其中 $\rho_R(\mathrm{k}) = \frac{1}{2}[\mathrm{M(k}+1) - 2\mathrm{M(k)} + \mathrm{M(|k}-1|)]$。在滞后时间为 1 时，得到公式（4）的模糊因子 $\kappa(\mathrm{H}, \mathrm{R}) = \mathrm{M}(1)/(2\mathrm{D}\Delta\mathrm{t}^{2H})$。三个轴彼此独立且共享 Σ。我们将信噪比定义为 $\mathrm{SNR} = \sqrt{2}\mathrm{D}\Delta\mathrm{t}^{2H}/\sigma_{\mathrm{loc}}$。公式（S3）的背景说明见补充材料第 S1 节。

网络

输入。窗口内的位移除以其自身的均方根值 $s^2 = (3N)^{-1}\sum_c\sum_i\left(\delta^{(c)}{}_i\right)^2$，这 $3N$个值 $\delta^{(c)}{}_i \,/s$ 作为输入。网络既不会获得 Δt，也不会获得坐标的单位，因此同一个训练好的网络可适用于任意帧率和任意范围的 D。此外还会附加两个标量：一个标志，用于说明是否已知 σ_{loc}；若已知，则附加 $\log_{10}(\sigma_{\mathrm{loc}}/s)$（否则附加固定值）。

架构。由四个全连接层组成的共享主干网络（256、256、128 和 64 个单位，采用 SiLU 激活函数）连接三个双层输出头。第一个输出头通过限制在 $0.02 < H < 0.98$ 范围内的重缩放 Sigmoid 函数返回 H，以及其标准差σ_H。第二个输出头返回有界校正项 $r\,(|r| \le 0.87$ 数量级)和标准差 $\sigma_{\log D}$。归一化去除的尺度通过解析方式恢复，

$$\log_{10} D = r + \log_{10} s^2 - 2H\log_{10}\Delta t - \log_{10} 2 - \log_{10}\kappa(H,R), \tag{8}$$

因此，网络学习的是约一个数量级的校正项，而不是 D 的幅度。第三个输出头返回 σ_{loc}/s（由显微镜有限分辨率导致的定位误差），其范围限制在 10^{-2} 到 1 之间；当提供 σ_{loc} 时，则由其替代该输出。

损失函数。损失函数为

$$L = w(e)\,L_{\mathrm{phys}} + L_H + L_{\log D} + \lambda_\sigma L_\sigma. \tag{9}$$

物理项是观测位移的精确高斯负对数似然 s,

$$L_{\mathrm{phys}} = \frac{1}{3N}\left[\frac{1}{2}\sum_{c=1}^{3}\delta^{(c)\mathsf{T}}\Sigma^{-1}\delta^{(c)} + \frac{3}{2}\ln\det\Sigma + \frac{3N}{2}\ln 2\pi\right], \tag{10}$$

其中 Σ 取自公式（S3），由预测参数构建，并通过乔列斯基分解进行计算。它不使用真实值。L_H和 $L^{\log D}$是异方差高斯损失，$\langle(\hat{\theta}-\theta)^2/2\sigma_\theta^2 + \ln\sigma_\theta\rangle$；其关于 σ_θ的最小值位于每个窗口的实际误差处，因此不确定性与点估计一同学习，而不会在之后重新缩放。$L\sigma$ 是 $\log_{10}(\sigma_{\mathrm{loc}}/\mathrm{s})$ 上的平方误差，仅在未提供 σ_{loc}的情况下计算，其中 $\lambda_\sigma = (\ln 10)^2$。权重 $\mathrm{w(e)} = \min(1, \mathrm{e}/500)$在最初 500 个训练轮次内逐步引入似然项（补充材料第 S1 节）。

训练。在每个训练轮次中，都会模拟一批新的由 512 条、包含 20 个位置的三维轨迹组成的数据。对于每条轨迹，H 在 (0.04,0.96) 范围内均匀抽取，$\log D$ 在 $(-5,1)$ 范围内均匀抽取，Δt 在 (0.01,0.03) s 范围内均匀抽取；静态定位误差由信噪比确定，即 $\sigma_{\mathrm{loc}} = s/\mathrm{SNR}$，其中 SNR 在 (2,50) 范围内按对数均匀分布抽取；其中$s = \sqrt{2}D\Delta t^{2H}$ 表示沿某一轴进行单步运动的标准差。根据精确协方差通过乔列斯基分解生成位移，其中曝光比例在 $\pm 10\%$ 的 $R = 0.05$ 范围内抽取，并向位置中加入高斯定位噪声。对于每个批次中随机一半的数据，将 σ_{loc} 的值提供给网络。我们使用 AdamW（学习率为 3×10^{-4}，权重衰减为 10^{-4}）并结合梯度裁剪进行 12 000 个训练轮次；每 100 个训练轮次在 8 个独立的验证批次上评估一次网络，当验证损失达到平台期时将学习率减半，并保留验证损失最低的网络。性能、校准以及对窗口长度和信噪比的依赖关系报告于补充材料第 S1 节。

沿轨迹推断

每个连续片段均按包含 20 个位置、每次滑动一帧的窗口进行分析，并将曝光比例与训练时使用的值进行核对。对覆盖同一时间点的所有窗口，其估计值合并如下：H 和 $\log_{10}D$ 按 $1/\sigma^2$ 加权求均值，其不确定性则取各窗口不确定性的相应加权均值，因为重叠窗口共享了大部分位移，因此它们的误差几乎完全相关。

有效扩散率的计算及其不确定性

为计算有效扩散系数，式 3 需要计算分数高斯噪声的 $N \times N$ 相关矩阵 $R(H)$。$\log\det R(H)$ 通过在网格上进行乔列斯基分解制成表格 $H \in [0.02, 0.98]$ 并进行插值。D_{eff} 的单位为 $\mu\mathrm{m}^2\mathrm{s}^{-1}$，对每个 H，其值等于 D 在 $H = 1/2$时的值，而 $2\Delta t\, D_{\mathrm{eff}}$ 则是连续步长中无法根据前序步长预测的部分之方差的几何平均数。

由于网络不会返回H与 $\log D$误差之间的协方差，因此直接测量了 $\log D_{\mathrm{eff}}$的不确定性。我们模拟了 4 000 条三维分数布朗运动轨迹，每条轨迹包含 40 个位置，时间间隔为 $\Delta t = 17.6$秒；H 在 $(0.45, 0.90)$ 内均匀分布，每个轴的步长在 $(0.4, 1.2)$ 微米内均匀分布，且 SNR=20（我们还测试了在 (5,50) 内按对数均匀分布的 SNR）；随后使用相同的网络和推断脚本进行分析，并按预测的H分箱统计 $\log D_{\mathrm{eff}}$ 误差的标准差。整个范围内的误差为 0.080–0.092 dex，而H与 $\log D$ 的误差相关，相关系数为-0.8 至 -0.9。

时间序列

根据时间戳将每个窗口分配到一个 176 秒的分箱（10 帧）中，并根据帧偏移量将各影片置于统一时钟上。在每条轨迹和每个分箱内，对H 和 $\log D_{\mathrm{eff}}$ 的估计值取平均，从而为每条轨迹和每个分箱得到一个数值。对于单次录制，我们报告每条轨迹数值的中位数；对于至少包含五条轨迹的分箱，使用 500 次轨迹自助法重采样计算 95% 百分位区间。对于相同基因型的独立记录，在至少两次录制均覆盖且每次至少包含五条轨迹的分箱中，我们报告各次录制中位数的均值，并使用对录制以及每次录制内轨迹进行两层自助法计算 95% 区间。将每条轨迹视为一个单位可赋予轨迹相同权重，并保持重采样单位相互独立。使用最小二乘法对连续记录的 $\ln D_{\mathrm{eff}}(t)$ 拟合上升–衰减、指数函数、幂律和对数函数安排，并使用赤池信息准则进行比较。

帧尺度速度

平方帧间速度，$\mathrm{v}^2 = |\mathrm{r}(\mathrm{t}+\Delta\mathrm{t}) - \mathrm{r}(\mathrm{t})|^2/\Delta\mathrm{t}^2,$，由连续帧中的位置计算得到。在每个时间点，根据结合后的网络估计值，使用公式（4）评估分数布朗运动预测值 $\langle \mathrm{v}^2\rangle_{\mathrm{FBM}}$。拟合优度 $\mathrm{p} \le 0.05$ 或 H 超出 $[0.02, 0.98]$ 的窗口均被排除。在每个时间分箱内，先对每条轨迹的观测值和预测值分别求平均（每条轨迹至少包含三个样本），再对轨迹求平均（每个分箱至少包含十条轨迹）；图 3(a) 中的比值即为这些轨迹均值之比；该比值所用分箱为 704 s，其他面板所用分箱为 352 s。图 3(c) 的分解检验是将同一比值写为 $\tau^2\langle \mathrm{v}^2\rangle\, \mathrm{f}\,(\mathrm{H})/(2\mathrm{d}\ \Delta\mathrm{t}\ \mathrm{D}_{\mathrm{eff}}\kappa)$ [公式（ 5 ）]。两个比值的胚胎均值是对各胚胎进行等权平均所得，并仅在至少有两个胚胎参与时显示。由于不同胚胎覆盖的时间跨度不同，直接对绝对值（如 $\langle \mathrm{v}^2\rangle$）求平均，会在某个胚胎进入或离开时发生变化。因此，$\langle \mathrm{v}^2\rangle$ 的胚胎均值通过交替最小二乘法拟合 $\log \mathrm{y}_{br} = \mathrm{a}_r + \mathrm{f}_b$ 得到（每个胚胎 r 一个偏移量、每个分箱 b 一个值，$\sum_r \mathrm{a}_r = 0$）；$\exp(\mathrm{f}_b)$ 是典型胚胎的时间进程，其归一化方式为除以三个分箱移动平均值的最大值。置信区间为基于 200 次自助法重采样得到的 95% 百分位区间；对于单次录制，重采样对象为轨迹，对于均值，重采样对象为胚胎。平均速度（图 6）由 $\mathrm{v} = |\mathrm{r}(\mathrm{t}+\Delta\mathrm{t}) - \mathrm{r}(\mathrm{t})|/\Delta\mathrm{t}$ 计算，先对每条轨迹在一个分箱内求平均；误差条表示单次录制中跨轨迹的标准误，以及独立记录中跨录制的标准误。

数据和代码可用性

网络的训练和推理脚　　本以及分析脚本将在发表后通过 GitHub 提供　　n.

讨论

我们在两种坐标下，跟踪了果蝇血细胞在六小时胚胎发育过程中的运动性：有效扩散率 D_{eff}，用于衡量细胞运动的强烈程度；以及赫斯特指数 H，用于衡量细胞对先前运动方向的记忆程度。在持续跟踪六小时的两种基因型（对照组和 *LanB1*）中，时间进程均分为两个阶段。最初一小时内，细胞逐渐活跃，持续性增强。此后，细胞逐渐冷却。对照血细胞的活跃程度降低约三倍，并稳定在 $H \approx 0.63$，在巡逻过程中仍保持明显的持续性。*LanB1*缺陷胚胎中的血细胞起初更加活跃，但随后降低约六倍，并趋近于布朗运动。IV型胶原缺陷胚胎中的血细胞记录于第二和第三小时；它们在同一时期内活跃程度降低，但仍保留大部分持续性。细胞之间的差异在发育过程中不断扩大，除第二部影片外，均超过单个估计值的误差，因此，胚胎晚期确实包含一个具有真实异质性的群体。

这些结论依赖于两个方法步骤。第一，为每个局部估计值校准不确定性。在包含 20 帧的窗口中，估计误差与生物变异相当；若不考虑这一点，就无法解释沿轨迹的变化，也无法理解细胞之间的差异。第二，选择何种坐标来表示运动振幅。广义扩散系数 D 的单位为 $\mathrm{L}^2\,\mathrm{T}^{-2H}$，只要 H 不同，这些单位也会不同；而在短窗口中，其误差几乎完全来自 H 的误差。因此，H 与 $\log D$ 之间的关联是测量本身的性质：

其符号由帧率决定：在毫秒级帧间隔下为正，而在本文采用的 17.6 秒间隔下为负。估计指数与扩散系数之间的这类关联已有大量报道，甚至可能使真实关联的符号反转 [28]。我们此前在血细胞中观察到的负关联 [24] 也属于同一类。D_{eff} 从似然层面消除了这一问题。其单位为 $\mu\mathrm{m}^2\mathrm{s}^{-1}$，对每个 H 而言，它等于 D（布朗运动的扩散系数），并且其误差在渐近意义上与 H 的误差不相关。从物理意义上说，它衡量的是每个步长中不可预测的部分，也就是无法由细胞近期历史解释的运动部分。经过这一变换，血细胞冷却在 D 中几乎不可见，因为 H 的下降掩盖了振幅的下降；而经过变换后，血细胞冷却成为数据的主要特征。

这两个阶段与发育研究中已知的血细胞行为的两个阶段相吻合：血细胞首先沿着刻板化的路径从头部中胚层分散开来，随后驻留在组织中，在那里清除凋亡尸体并响应伤口 [1, 3]。我们的测量结果为这一转变增添了物理层面的描述。分散阶段具有较高温度且运动持续，而巡逻阶段的温度较低。对照细胞在保留大部分方向记忆的同时逐渐降温，因此它们会通过持续性运动不断扫掠周围环境，而不是停留在原地进行扩散。这正是退火搜索所预期的模式 [12, 13]。早期较高的有效温度使种群能够跨越较弱的障碍，并扩散到整个胚胎中。随着温度随后下降，较弱的障碍变得足够强，能够 удерж留细胞，从而使细胞在有利位置定居并在其周围巡逻。这种策略不同于跑动-翻滚运动等其他标准范式，也不同于莱维行走 [9], ，后者的运动统计特征是平稳的。它与间歇性搜索 [10], 具有一些共同特征，即交替进行重新定位和局部探索；但在这里，这种交替发生在发育时间尺度上，而不是沿着每条轨迹展开。我们注意到，模拟退火通常被表述为单个搜索者寻找一个全局最小值。相比之下，血细胞形成一个必须覆盖整个胚胎的种群，因此相关结果是种群的重新分布，而不是单个细胞的收敛。

层粘连蛋白B1的损失会同时改变血细胞的有效温度和方向记忆。LanB1缺陷胚胎中的血细胞在分散阶段温度更高，降温更快、幅度更大，并且丧失了对照细胞所保留的大部分持续性。血细胞会沉积基底膜的组成成分 [4], ，而它们分泌的层粘连蛋白则会增强自身的迁移 [5]。因此，对我们数据的一种解释是，层粘连蛋白对于在巡逻过程中维持定向运动性至关重要，而非用于设定有效温度。早先关于LanB1缺陷会降低血细胞运动持续性的观察 [24]与这一解释一致；我们的分析进一步指出，持续性的丧失发生在巡逻阶段。我们无法完全排除的第二种解释则与力学因素有关：基质改变可能会影响细胞所经历的限域和摩擦，详见下文。

IV型胶原是基底膜的另一种主要结构成分，且大部分由血细胞自身沉积，可作为对照。 [4],在IV型胶原缺陷胚胎中，帧尺度速度同样可由分数布朗运动再现 [图3（a）], ，并且在我们能够追踪的时间段内，血细胞逐渐降温，其D_{eff}略低于对照细胞。然而，其持续性仍接近对照细胞，为–0.72，且高于同一阶段的*LanB1*缺陷细胞 [图 4]。因此，降低IV型胶原水平并不会重现层粘连蛋白损失所导致的记忆丧失。这表明，转化速度为持续性的成分是层粘连蛋白本身，而非整个基底膜的完整性；这一点与血细胞来源的层粘连蛋白能够稳定片状伪足并维持持续迁移的作用相符 [5]。不过，这一结论有两点局限。胶原蛋白记录在巡逻阶段之前就已结束，而LanB1缺陷细胞的记忆丧失在巡逻阶段最为明显；此外，仅有四个胚胎，难以检测到H的轻微变化。若能追踪胶原缺陷型胚胎至胚胎晚期，并在其中检验图7 所示的速度–持久性耦合，就能判明IV型胶原对持续巡逻是否并非必需，还是仅对其启动阶段并非必需。

下降的D_{eff} 是直接观测到的现象。将其解释为下降的有效温度$T_{\mathrm{eff}} = \gamma D_{\mathrm{eff}}/k_B$，需要摩擦力保持不变。果蝇的体液很简单：幼虫血淋巴的黏度接近水， 1.34 ± 0.07 cP [32],；在微米级探针和分钟 [33]的尺度上，胚胎细胞质和卵黄主要表现为黏性，其黏度为 $\sim 10^3$cP。然而，血细胞并不是作为悬浮在这些液体中的粒子运动的。半径为 5 微米的细胞在血淋巴中进行热扩散时，其$D \approx 0.03\,\mu\mathrm{m}^2\,\mathrm{s}^{-1}$会高于我们测得的$D_{\mathrm{eff}}$值。因此，限制血细胞运动的摩擦力由组织内的黏附和限域所决定，而不是由流体动力学决定。组织本身在数分钟的时间尺度上具有弹性 [33], ，这与我们的窗口相当；并且在发育过程中会显著变硬 [34]。黏弹性和限域可以使被动运动呈反持续性，但无法产生持续性，因此我们测得的$H > 1/2$值反映了细胞的活性，而介质的任何贡献只会使H 向下偏移。这一偏差使对*LanB1*缺失胚胎中细胞较低持续性的解释变得复杂，因为这些胚胎的周围基质发生了改变。要判断冷却反映的是活性降低还是摩擦增加，可以进行三项测量：H 对滞后时间的依赖性，这将揭示介质在我们滞后时间范围内的弛豫时间；同一批胚胎中被动地标的涨落；以及停留时间的克рамер斯标度关系，$\ln \tau_{\mathrm{dwell}} \propto 1/D_{\mathrm{eff}}$。退火理论预言了这种标度关系，而单纯的摩擦变化不会产生这一结果。

退火图景还提出了其他预测，这些预测不依赖于 γ的取值。首先，冷却应该是可逆的。伤口会迅速招募血细胞 [2], ，因此应使种群重新升温：退火预测<D>$_{\mathrm{eff}}$整体升高，而

趋化性朝向伤口的表现则主要是伤口局部的H定向增加。其次，如果冷却由细胞决定，那么在此处成像的发育阶段，使用磁珠或铁磁流体液滴对血腔进行直接微流变学测量，应显示摩擦的变化远小于 [33] $\langle D \rangle_{\mathrm{eff}}$。第三，具有正常基质的肌动蛋白或运动能力突变体应改变温度，却不改变记忆，从而区分运动性缺陷与基质缺陷。

我们的结论也有一些注意事项。每个胚胎的六部影片都是连续录制的，而且两项参数的一些变化都与影片之间的边界重合。因此，我们的结论仅基于在多部影片中持续存在的特征。该估计器假设每个窗口内的过程均为带有静态定位误差的分数布朗运动。对于其他过程，例如连续时间随机游走、莱维行走或扩散的扩散率，它返回的是最接近的分数布朗运动描述所对应的参数。对于高效估计器，D_{eff}满足费希尔正交性；而对于二十帧窗口和受先验收缩影响的贝叶斯估计量，这种正交性只是近似成立。由于网络未报告H与$\log D$之间的协方差，$\log D_{\mathrm{eff}}$的不确定性只能确定一个范围。我们采用了上界，因此对异质性的估计较为保守。只要$H \neq 1/2$，D_{eff}就取决于帧间隔和窗口长度，因此，与其他帧率下的实验进行比较时，需要换算回D，这又会引入H的不确定性。只有*LanB1*缺失情况被追踪至巡逻阶段；胶原蛋白记录涵盖成像的第二和第三小时，而比较结果基于四个胚胎。

这里用于 Cerberus 神经网络的方法，经过校准且误差不会相互混淆的坐标局部估计，可应用于在短窗口内记录的任何异质反常输运：内体和其他细胞内货物、细菌运动、组织中的免疫细胞，以及软物质中的示踪粒子。在每种情况下，广义扩散系数都会混淆振幅与记忆，而D_{eff}则无需额外代价即可将二者区分开来。对于血细胞，这一方法将发育过程中行为的定性变化转化为温度与记忆平面上的轨迹。对照组、*LanB1*缺陷型和 IV型胶原缺陷胚胎中的细胞沿着该平面上的不同路径移动，这些路径可以进行定量比较。对于生物学相关过程，稳健性是系统生物学的一项关键定义原则 [35]。预计 退火搜索 策略能够适应具有多种能量幅度的能量景观。未来，探究退火搜索过程与适应和倍数变化检测之间的关系将很有意义；这两者是系统生物学中有助于确定稳健性的两个重要范式。

结论

果蝇胚胎中的血细胞在短短几小时内，便会从定居胚胎转变为巡逻其组织。我们用两个量描述了这一转变：有效扩散率D_{eff}，用于衡量细胞运动的强弱；以及赫斯特指数H，用于衡量细胞对先前运动方向的记忆程度。两种工具使这一分析成为可能。采用 Cerberus 架构的物理信息神经网络，可从各自带有不确定性的二十帧窗口中，估计H和广义扩散系数D。重新参数化D_{eff}消除了反常扩散中振幅与记忆之间固有的简并。D_{eff}的单位对任意H均为$\mu\mathrm{m}^2\mathrm{s}^{-1}$，在布朗运动情况下等于$D$，且其误差与$H$的误差渐近不相关。在血细胞帧间隔下，单个窗口可将$D_{\mathrm{eff}}$的误差限定在约 20%，而$H$和$D$的误差则强烈负相关。采用推断出的参数进行分数布朗运动模拟，可在整个发育过程中重现测得的帧间速度；细胞的减速完全可由D_{eff}和H解释。

在这些坐标系中，血细胞运动性呈现出清晰的变化轨迹。成像的第一个小时内，细胞逐渐升温，持续性增强。此后，它们开始冷却。在涵盖三种基因型的录制时段内，对照胚胎、*LanB1*缺陷胚胎和胶原缺陷型胚胎的初始冷却程度无法区分。随后，各基因型的变化开始分化。对照组血细胞的冷却程度约为原来的三分之一，同时仍保持明显的持续性（$H \approx 0.63$）。*LanB1*缺陷胚胎中的血细胞起初温度较高，但随后冷却约六倍，并逐渐接近布朗运动。在对照胚胎中，速度与持续性始终保持耦合，因此即使在发育后期，快速移动的细胞也能保持运动方向。在*LanB1*缺陷胚胎中，这种耦合逐渐减弱，并在最后一小时消失；此时，快速移动的细胞不再具有方向记忆。在所有时段，细胞间的离散程度均超过D_{eff}中的估计误差；在发育的大部分时期，H中的离散程度也超过估计误差，因此胚胎中确实存在一个异质性群体。基因型间后期差异的依据是每种基因型各一次连续记录，因此应谨慎解读；不过，每部影片中超过一千个轨迹片段均显示出一致结果（图 7）。胶原突变体仅记录了前三个小时，因此本文不讨论其在巡逻阶段的行为。

我们将这种冷却解释为一种退火搜索：早期的高温使种群分散，而温度下降则让细胞在有利位点安定下来，并在其周围巡逻。在这一图景中，基底膜通过层粘连蛋白将速度转化为持续性，从而维持巡逻细胞的方向记忆。这种解释假设细胞所受的摩擦不会在发育过程中增加。它提出了可检验的预测：同一胚胎中的被动地标不应冷却；在有利位点的停留时间应遵循克拉默斯标度；创伤则应使种群重新升温。

更一般地说，振幅与记忆的区分适用于所有异质反常输运。凡是需要解读轨迹上的变化时，

都需要逐窗口不确定性，以及一个不会混淆这两个参数的坐标，才能区分真实变化与估计器造成的伪影。

参考文献

1. Wood, W. & Jacinto, A. 果蝇黑腹果蝇胚胎血细胞：多任务处理的大师。《自然综述：分子细胞生物学》8, 542–551 (2007)。 2. Stramer, B. 等。果蝇胚胎伤口炎症的活体成像揭示了小GTP酶在体内细胞迁移中的关键作用。《细胞生物学杂志》168, 567–573 (2005)。 3. Evans, I. R. & Wood, W. 果蝇血细胞趋化。《细胞生物学现状》30, 1–8 (2014)。 4. Matsubayashi, Y. 等。基质成分的移动源对基底膜从头形成至关重要。《当代生物学》27, 3526–3534 (2017)。 5. Sanchez-Sanchez, B. J. 等。果蝇胚胎血细胞产生层粘连蛋白以增强迁移反应。《细胞报告》21, 1461–1470 (2017)。 6. Klages, R., Radons, G. & Sokolov, I. M. 反常输运（Wiley在线图书馆，2008）。 7. Berg, H. C. & Brown, D. A. 通过三维跟踪分析大肠杆菌的趋化性。《自然》 239, 500–504 (1972)。 8. Waigh, T. A.《细菌物理学：从细胞到生物膜》（剑桥大学出版社，2024）。 9. Harris, T. H. 等。广义莱维行走与趋化因子在效应T细胞迁移中的作用。《自然》486, 545–548 (2012)。 10. Bénichou, O., Loverdo, C., Moreau, M. & Voituriez, R. 间歇性搜索策略。《现代物理评论》83, 81–129 (2011)。 11. Viswanathan, G. M. 等。优化随机搜索的成功率。《自然》401, 911–914 (1999)。 12. Kirkpatrick, S., Gelatt Jr, C. D. & Vecchi, M. P. 通过模拟退火进行优化。《科学》220, 671–680 (1983)。 13. Geman, S. & Geman, D. 随机松弛、吉布斯分布与图像的贝叶斯复原。《IEEE模式分析与机器智能汇刊》721–741 (1984)。 14. Waigh, T. A.《生命过程的物理学：介观方法》（Wiley，奇切斯特，2014）。 15. Selmeczi, D., Mosler, S., Hagedorn, P. H., Larsen, N. B. & Flyvbjerg, H. 细胞运动性作为持续性随机运动：来自实验的理论。《生物物理学杂志》89, 912–931 (2005)。 16. McCann, C. P., Kriebel, P. W., Parent, C. A. & Losert, W. 信号传递和集体迁移过程中的细胞速度、持续性与信息传递。《细胞科学杂志》123, 1724–1731 (2010)。 17. Dieterich, P., Klages, R., Preuss, R. & Schwab, A. 细胞迁移的反常动力学。《美国国家科学院院刊》105, 459–463 (2008)。 18. Wu, P.-H., Giri, A., Sun, S. X. & Wirtz, D. 三维细胞迁移不遵循随机游走。《美国国家科学院院刊》111, 3949–3954 (2014)。 19. Maiuri, P. 等。肌动蛋白流介导细胞速度与细胞持续性之间的普适耦合。《细胞》161, 374–386 (2015)。 20. Gorelik, R. & Gautreau, A. 对细胞迁移方向持续性的定量且无偏分析。《自然实验技术》9, 1931–1943 (2014)。 21. Metzler, R. & Klafter, J. 随机游走尽头的餐厅：用分数阶动力学描述反常输运的最新进展。《物理学杂志A：数学与理论》37, R161 (2004)。 22. Metzler, R., Jeon, J.-H., Cherstvy, A. G. & Barkai, E. 反常扩散模型及其性质：单粒子跟踪百年之际的非平稳性、非遍历性与老化。《物理化学化学物理》16, 24128–24164 (2014)。

23. Waigh, T. A. & Korabel, N. 细胞与分子生物学中的异质反常输运。《物理学进展报告》86, 126601 (2023)。 24. Korabel, N. 等。黑腹果蝇胚胎中的血细胞通过异质反常扩散运动。《通信物理学》5, 269 (2022)。 25. Han, D. 等。利用神经网络解析异质反常细胞内输运。《eLife》9, e52224 (2020)。 26. Korabel, N. & Waigh, T. A. 细胞与分子生物学中异质反常动力学的深度学习。《细胞报告物理科学》6 (2025)。 27. Seckler, H. & Metzler, R. 用于反常扩散分析误差估计的贝叶斯深度学习。《自然通讯》13, 6717 (2022)。 28. Lanoiselée, Y., Pagnini, G. & Wyłoma´nska, A. 超分辨率反常扩散：解析反常指数与扩散系数的联合分布。《物理评论快报》 135, 137101 (2025)。 29. Han, D. S., Ananthanarayanan, V. & Simpson, M. J. 最大似然、神经网络与后验均值：推断分数布朗运动参数。arXiv预印本 arXiv:2610.19888 (2026)。 30. Backlund, M. P., Joyner, R. & Moerner, W. E. 染色体位点跟踪：恰当计入静态误差与动态误差。《物理评论E》91, 062716 (2015)。 31. Urbano, J. M. 等。果蝇层粘连蛋白作为基底膜组装与形态发生的关键调节因子。《发育》136, 4165–4176 (2009)。 32. Zabihihesari, A., Parand, S. & Rezai, P. 基于PDMS的微流控毛细管压力驱动黏度测量及其在黑腹果蝇血淋巴中的应用。《微流体与纳米流体》27, 8 (2023)。 33. Doubrovinski, K., Swan, M., Polyakov, O. & Wieschaus, E. F. 使用铁磁流体测量黑腹果蝇胚胎的皮质弹性。《美国国家科学院院刊》114, 1051–1056 (2017)。 34. Kiehart, D. P., Galbraith, C. G., Edwards, K. A., Rickoll, W. L. & Montague, R. A. 多种力共同促成果蝇背部闭合过程中的细胞片形态发生。《细胞生物学杂志》149, 471–490 (2000)。 35. Alon, U.《系统生物学导论：生物回路的设计原理》（CRC出版社, 2019）。 36. Berglund, A. J. 基于相机的单粒子跟踪统计学。《物理评论E——统计、非线性与软物质物理》82, 011917 (2010)。 37. Weber, S. C., Thompson, M. A., Moerner, W. E., Spakowitz, A. J. & Theriot, J. A. 区分定位误差、限域和介质弹性对速度自相关函数影响的分析工具。《生物物理学杂志》102, 2443–2450 (2012)。 38. Martin, D. S., Forstner, M. B. & Käs, J. A. 单粒子跟踪固有的表观亚扩散。《生物物理学杂志》83, 2109–2117 (2002)。 39. Savin, T. & Doyle, P. S. 粒子跟踪微流变学中的静态误差与动态误差。《生物物理学杂志》88, 623–638 (2005)。 40. Vestergaard, C. L., Blainey, P. C. & Flyvbjerg, H. 从单粒子轨迹中优化估计扩散系数。《物理评论E》89, 022726 (2014)。 41. Michalet, X. 具有定位误差的单粒子轨迹均方位移分析：各向同性介质中的布朗运动。《物理评论E》82, 041914, DOI: 10.1103/PhysRevE.82.041914 (2010)。 42. Michalet, X. & Berglund, A. J. 单粒子跟踪中的最优扩散系数估计。《物理评论E》85, 061916 (2012)。 43. Burnecki, K., Kepten, E., Garini, Y., Sikora, G. & Weron, A. 利用带有测量误差的单粒子跟踪数据估计反常扩散指数——一种替代方法。《科学报告》5, 11306 (2015)。 44. Lanoiselée, Y., Sikora, G., Grzesiek, A., Grebenkov, D. S. & Wyłoma´nska, A. 从噪声数据中估计反常扩散指数的最优参数。《物理评论E》98, 062139 (2018)。

45. Brockwell, P. J. & Davis, R. A. 《时间序列：理论与方法》（施普林格，纽约，1991年），第2版 n.

46. Hamilton, J. D. 《时间序列分析》（普林斯顿大学出版社，普林斯顿，1994年）。

47. Dahlhaus, R. 自相似过程的高效参数估计。 《统计年鉴》**17**，1749–1766（1989年）。

48. Beran, J. 《长记忆过程统计学》（查普曼与霍尔，纽约，1994年）。

致谢

NK 对 Daniel Han 富有启发性的讨论表示感谢。作者使用 Claude Opus 4.8 协助审阅和开发部分代码，并协助进行稿件修订。作者审阅并编辑了所有人工智能辅助内容，并对出版物的内容承担全部责任。

作者贡献声明

NK：概念化、资源、软件、正式分析、验证、调查、可视化、方法学、项目管理、撰写初稿和编辑；TM：数据整理、验证、调查、方法学、撰写和编辑。TW：正式分析、验证、调查、方法学、撰写和编辑。

补充材料

S1. 网络架构、训练、误差校准

分数高斯噪声相关函数

网络处理的是位移而非位置，因为分数布朗运动的增量是平稳的，而位置则不是。对于以区间 Δt采样的 N 个点构成的窗口，我们将轴 c 上的位移记为 $\delta^{(c)}{}_i = y^{(c)}{}_{i+1} - y^{(c)}{}_i$，其中$i = 1,\dots,n$且 $n = N - 1$。这些位移就是分数高斯噪声（fGn），其相关函数为

$$\rho(k) = \langle \delta_i \delta_{i+k} \rangle = D\Delta t^{2H}\left(|k+1|^{2H} - 2|k|^{2H} + |k-1|^{2H}\right), \tag{S1}$$

其中 $\rho(0) = 2D\Delta t^{2H}$，按照全文采用的约定 $\mathrm{x}^2(t)\rangle = 2Dt^{2H}$ 每个轴的尺度。方程 S1 包含网络可利用的全部信息。持续性运动（$H > 0.5$）产生缓慢衰减的正关联，随 k^{2H-2}变化；反持续性运动（$H < 0.5$）产生总和为零的负关联；而当 $H = 0.5$ 时，关联消失，位移彼此不相关。决定 H的，是方程 S1的形状，而非位移的大小。

实验 轨迹是在存在静态定位误差的情况下记录的。我们将测得的位置记为 a s

$$\mathbf{y}_k = \mathbf{X}(t_k) + \varepsilon_k, \qquad \varepsilon_k \sim \mathcal{N}\left(\mathbf{0}, \sigma_{\mathrm{loc}}^2 \mathbb{I}_3\right), \tag{S2}$$

其中， ε_k 均值为零，且在不同帧之间以及不同坐标轴之间相互独立； σ_{loc} 是静止粒子测得位置的标准差。对方程 S2 作差可知，每个位移都包含两帧的误差，因此其方差增加了 $2\sigma_{\mathrm{loc}}^2$；而连续位移共享一帧，且符号相反，因此在滞后时间为 1 时协方差为 $-\sigma^2$loc，在更长滞后时间下则为零。因此，观测位移的协方差矩阵为

$$\Sigma_{ij} = \rho(|i-j|) + \sigma_{\mathrm{loc}}^2\left(2\delta_{ij}^{\mathrm{K}} - \delta_{|i-j|,1}^{\mathrm{K}}\right), \tag{S3}$$

其中， δK是克罗内克δ，为与位移区分而用上标表示 $\delta^{(c)}{}_i$。方程S3 中的第二项，是Berglund为基于相机的布朗粒子追踪推导出的位移协方差在零运动模糊极限下的结果 [36]；对于分数布朗运动（FBM），相应的结果是用 $\rho(|i-j|)$ 替代布朗运动项，该结果由Weber等人 [37]给出。在均方位移（MSD）层面，同一效应表现为Martin $2\sigma_{\mathrm{loc}}^2$ 等人发现的加性偏移， [38]并由Savin和Doyle进一步完善 [39]。Vestergaard等人证明，滞后时间为一帧的项不仅带来偏差，也包含信息。 [40], 他们提出的基于协方差的估计器（CVE）仅凭位移的方差和滞后时间为一帧的协方差，就能同时估计布朗粒子的扩散系数和定位误差。CVE具有显式、无偏且无需回归的特点；在实验相关的参数范围内，它不仅优于基于实测MSD构建的估计器，也优于最大似然估计器。我们的网络可视为这一思路在分数布朗运动情形下的对应方法。我们不对MSD曲线拟合幂律，而是根据位移本身的相关结构估计H、D 和 σ_{loc}，因此定位误差是作为输出呈现的，而非需要事后校正的干扰项。

我们始终假设，相机曝光时间相对于帧间隔较短。采用连续照明时，粒子会在曝光期间运动，记录的是其平均位置，而非瞬时位置 [36, 39]。这种运动模糊会给滞后时间为一帧的项带来正向贡献，从而部分抵消定位误差；其大小可用一个由照明剖面决定的运动模糊系数来量化 [36, 40]。因此，它作为已知常数出现在方程S3 中，无需对网络作任何改动即可将其纳入。

静态定位误差会在布朗运动的测量位移中诱导出表观关联，这一点已得到充分证实 [37, 39, 41, 42], , 而其对反常指数估计的影响也已由 Burnecki 等 [43]和 Lanoiselée 等 [44]进行了分析。正是滞后时间为 1 的负项使估计问题变得困难。反持久性分数布朗运动会因与测量噪声完全相同的原因，在滞后时间为 1 时产生负关联，因此二者在短窗口内难以区分；而当 H 较小时，物理关联本身就是负的，这种困难最为严重。我们将信噪比定义为 SNR $= \sqrt{2D\Delta t^{2H}}/\sigma_{\mathrm{loc}}$，即无噪声位移的标准差与单个位置的定位误差标准差之比，这与我们先前的定义一致。

特征工程

应将数据中的哪些特征提供给 Cerberus 神经网络进行训练？正如我们此前对串联神经网络的研究所发现的那样 [26], , 特征工程的选择比架构的选择更为重要，我们将在此说明选择标准。第一项标准是，特征必须对单位变化保持不变，这样同一个训练好的网络既可应用于以 μm 记录的数据，也可应用于以像素记录的数据。第二项标准是，特征必须对帧率变化保持不变，这样同一个网络就能在任意 Δt下使用。第三项标准是，特征不应要求预先固定 D 的范围，因为在串联长短期记忆（LSTM）神经网络中，D 的范围必须针对每种应用进行定制[26]。

将位移除以各自的均方根，即可满足全部三个标准，

$$s^2 = \frac{1}{3n}\sum_{c=1}^{3}\sum_{i=1}^{n}\left(\delta_i^{(c)}\right)^2, \tag{S4}$$

该均方根是窗口在最短滞后时间下、沿三个轴取平均后的时间平均均方位移。输入层载入的是经过归一化的 $3n$ 个位移 $\delta^{(c)}{}_i \quad /s$。网络既不会获得 Δt，也不会获得坐标的单位。由于分数布朗运动具有自相似性，对于任意长度尺度和帧率，归一化位移的统计特性都相同，因此网络只需学习方程S1的形式。

方程 S4 去除了尺度，我们之后再将其恢复。根据方程 S3，$\langle s^2\rangle = 2D\Delta t^{2H} + 2\sigma_{\mathrm{loc}}^2$，对第一项取倒数可得

$$\log D = r + \log s^2 - 2H\log\Delta t - \log 2, \tag{S5}$$

最后三项是插件式MSD估计值，而 r 是网络预测的校正项。该校正项补偿了插件式估计值遗漏的部分：有限n 下 s^2, 的偏差、 $2\sigma_{\mathrm{loc}}^2$ 偏移量，以及 s^2 的误差与预测H的误差之间的相关性。校正项的量级为十进制数量级上的 1，而 D 本身则跨越数个数量级，因此网络学习的是一个较小的量，而非 D的大小。这使得同一个训练好的网络能够覆盖 D 的整个取值范围，无需重新训练。值得注意的是，方程 S5 还说明了为什么必须同时估计 H 和 D： H 的误差会进入 log$D$，并乘以 2log Δt。

另外还提供两个输入。第一个是一个标志位，用于说明定位误差（σ_{loc}）是否已被独立测量，例如通过固定珠子的影片进行测量。第二个是 $\log(\sigma_{\mathrm{loc}}/s)$；设置该标志位时使用此值，否则将其替换为固定值。因此，输入层的大小为 $3(N-1)+2$。

由于网络采用平方误差进行训练，其输出近似于后验均值 [29]；在数据所包含的信息较少之处，输出会向训练分布的中心收缩：这会使 $\hat{}H$ 在其取值范围边缘附近向内收缩，从而降低该处的覆盖率，并使 σ_{loc} 的估计值接近其先验均值。

***Cerberus*神经网络架构**

该网络由一个共享主干网络和三个输出头组成，即*Cerberus*架构。主干网络是一个具有四层的前馈网络，各层包含 256、256、128 和 64 个单位，并采用 SiLU激活函数。每个输出头都是一个作用于主干网络 64 个输出的两层网络。我们采用共享主干网络，是因为H、D 和 σ_{loc} 都从同一个相关函数中读取；而采用独立的输出头，则是因为它们从该函数的不同部分读取信息。

第一个输出头通过输出层中的 Sigmoid激活函数预测赫斯特指数，并将其重缩放，使其满足$0.02 < H < 0.98$, 即 $0.04 < \alpha < 1.96$。第二个输出头通过双曲正切激活函数预测方程r 的校正项S5 。第三个输出头预测 σ_{loc} 占均方根位移的比例，其范围限制在10^{-2} 到 1 之间。选择该下限是因为，低于位移 1% 的定位误差会使

方差变化不到 0.02%，且无法从短窗口中恢复。 σ_{loc} 应尽可能独立测量，例如在相同条件下对固定化微珠或固定细胞进行成像，或汇总一部影片中的完整轨迹来测量；以这种方式测得的数值会作为输入提供给网络，并取代该输出头的输出。

前两个输出头还会预测标准差 σ_H 和 $\sigma_{\log D}$。这些就是我们报告的不确定性；当窗口沿轨迹滑动时，我们会将它们合并。它们反映的是单个训练后网络的预测分布范围。

损失函数

网络采用一种损失函数进行训练，该函数结合了分数布朗运动模型的精确似然与模拟参数的监督误差，

$$L = w(e)\,L_{\mathrm{phys}} + L_H + L_{\log D} + \lambda_\sigma L_\sigma, \tag{S6}$$

我们依次介绍这四个项。

由于位移服从高斯分布，其协方差矩阵由方程 S3给出，并且三个坐标轴相互独立且共用 Σ，因此似然项为

$$L_{\mathrm{phys}} = \frac{1}{3n}\left[\frac{1}{2}\sum_{c=1}^{3}\delta^{(c)\mathsf{T}}\Sigma^{-1}\delta^{(c)} + \frac{3}{2}\ln\det\Sigma + \frac{3n}{2}\ln 2\pi\right], \tag{S7}$$

在网络预测的 H、D 和 σ_{loc} 值处计算，并通过对 Σ 进行乔列斯基分解求得。这里，$\delta^{(c)}$ 是轴 c 上 n 个 $=\mathrm{T}-1$ 观测位移组成的向量，Σ 是由预测的 H、D 和 σ_{loc} 构建、由三个坐标轴共用的方程 S3 中的 $\mathrm{n}\times\mathrm{n}$ 协方差矩阵，$\det\Sigma$ 是其行列式，最后一项是归一化常数。二次型衡量预测的相关函数对观测位移的拟合程度；当 Σ 对数据进行白化时，该值较小。项 $\ln\det\Sigma$ 是高斯分布的归一化项，可防止通过增大 Σ 来减小第一项；二者共同确定 D 的尺度以及由 H 决定的形状。常数项不产生梯度，仅为使打印出的数值确为似然而保留。我们除以 3n，使该项成为每个位移对应的量，并确保改变窗口大小时，它相对于其他项的权重不变。这里的对数为自然对数，因为它们属于高斯分布的归一化项，并非用于报告的约定。方程 S7 不使用真实值，因此它不仅约束网络在模拟窗口上的表现，也约束其在实验窗口上的表现；此外，它还排除了与测得位移不一致的三个参数组合。

点估计及其不确定性通过异方差高斯损失一同训练

$$L_\theta = \left\langle \frac{(\hat\theta-\theta)^2}{2\sigma_\theta^2} + \ln\sigma_\theta \right\rangle, \qquad \theta = H,\ \log D, \tag{S8}$$

每个估计参数各使用一个。这些是唯一使用模拟真实值的项。平方误差除以预测方差后用于训练点估计，而 $\ln\sigma_\theta$ 可防止网络通过报告任意大的不确定性来降低损失；相对于 σ_θ 的最小值位于该窗口预测值的均方根误差处。这就是σ_H 和 $\sigma_{\log D}$ 通过训练本身得到校准、无需后续重新缩放的原因。方程 S6 中的第四项 $L\sigma$ 是 $\log(\sigma_{\mathrm{loc}}/s)$ 与裁剪后的目标值之间的平方误差，用于训练第三个输出头。似然在H 处呈尖峰状；若没有这一项，在主干网络尚未学到任何有关相关函数的信息之前，似然就会主导梯度。四项均按批次取平均。

训练和验证数据集的生成

使用具有恒定赫斯特指数 H 和广义扩散系数 D 的合成分数布朗运动轨迹训练网络，并在每个训练轮次模拟一个新批次，因此不会重复使用任何窗口。对于每条轨迹，我们在范围 (0.04, 0.96) 内均匀抽取 H，并在 $(-5, 1)$ 内均匀抽取 log D，也就是说 D $\in(10^{-5},101)$。位移直接根据相关函数生成，而非根据朗之万方程生成。我们用 $\sigma_{\mathrm{loc}}=0$ 对方程 S3 的协方差矩阵进行因子分解，并将其与标准正态随机变量向量相乘，通过累积求和获得位置，然后添加标准差为 $\sigma_{\mathrm{loc}}=\sqrt{2\mathrm{D}\Delta\mathrm{t}^{2H}}/\mathrm{SNR}$ 的高斯噪声，以表示静态测量误差。因此，模拟器和方程 S7 的似然使用相同的协方差矩阵。

对于每个批次中的一半轨迹，向网络提供了 σ_{loc} 的值。因此，同一个训练好的网络既可用于定位误差已校准的情况，也可用于定位误差未校准的情况；两者之间的差异表明，H 的不确定性有多少是由定位误差造成的。

网络训练了 10^4 个训练轮次，每批次包含 512 条轨迹，使用 AdamW 优化器，学习率为 3×10^{-4}，权重衰减为 10^{-4}，并进行梯度裁剪。每训练 100 个轮次，我们都会在八个独立模拟的

验证批次上评估网络；当验证损失趋于平稳时，将学习率减半；当验证损失降低时，则保存网络。除计算H和$\log D$的平均绝对误差（MAE）外，我们还记录了真实值$\hat{}$落在$\theta \pm 1.96\sigma_\theta$内的窗口比例。这个覆盖率与平均绝对误差同样重要：如果预测不确定性过小，那么沿轨迹变化的H和D就无法与估计值的误差区分开来。

不确定性校准

训练后是否应对预测不确定性进行重新缩放？我们选择不进行任何校准，原因如下。网络报告的标准差σ_H和$\sigma_{\log D}$是两个输出头的原始输出。在任何阶段，我们都没有使用方差膨胀因子，也没有对预测不确定性与观测误差进行事后回归。

首先，不确定性是在训练期间而非训练结束后进行校准的。根据方程 S8 描述的损失函数在σ_θ^2等于该窗口预测值的均方误差时达到最小值，因此网络经过训练后会报告它实际产生的误差。使用普通平方误差训练的网络（如我们先前的工作中所用）完全不会产生不确定性，因此必须事后根据集成统计量为其附加区间。这里的区间是逐窗口的量，并与点估计一同学习。对于异质轨迹而言，这一区别很重要：估计值的误差很大程度上取决于H本身，在较小的H值处误差最大，因为定位误差会模拟反持续性；因此，单一的集成平均误差条在轨迹的某些部分会过大，而在另一些部分则会过小。

第二个原因是校准因子无法迁移。任何因子都必须在从训练分布中抽取的模拟窗口上进行拟合，也就是说，拟合所用的分数布朗运动具有特定范围的D、Δt和信噪比。实验轨迹并非来自该分布。将基于合成分数布朗运动拟合的因子应用于内体或凝胶中的示踪粒子，会用一个基于不同类型数据调整过的不确定性，取代至少在模型内部保持一致的不确定性。我们倾向于报告由分数布朗运动似然得出的不确定性，并单独对其进行检验。

第三个原因是，不确定性的覆盖率本身就是一项有用的诊断指标，而重新缩放会使其失去作用。在先前的工作中，我们将神经网络预测值与时间平均均方位移分析进行比较；后者不假设任何反常扩散模型，以此检验分数布朗运动是否适合描述数据。此处，覆盖率发挥着同样的作用。如果真实值在接近 95% 的窗口中都落在$\hat{\theta} \pm 1.96\sigma_\theta$内，那么带有静态定位误差的分数布朗运动模型就能描述这些数据；如果覆盖率小得多，则说明模型有误，或者这些轨迹超出了网络的训练范围。若选择一个校准因子来强行使覆盖率达到 95%，就会掩盖我们恰恰希望检测到的差异。因此，我们使用单独的分析脚本独立计算覆盖率，并将其与平均绝对误差一并报告，而不将其用于调整网络。

我们采用具有 Cerberus架构的物理信息神经网络（PINN），直接从轨迹数据的位移中学习时空特征。图1展示了示意图。我们使用 PINN 估计赫斯特指数 H（它与均方位移（MSD）的反常指数相关，关系为 $H = \alpha/2$, $\langle r^2(t)\rangle = 2dDt^\alpha$，其中 d 为空间维度数，以下我们取 $d = 3$）、广义扩散系数 D 以及静态定位误差 σ_{loc}，这些参数均由单条轨迹的短三维窗口估计。σ_{loc}在文献中有明确的定义 [30, 39]，表示在光学显微镜中测量粒子位置时有限且与时间无关的不确定性（静态定位误差）。与我们此前的串联方法 [26], 不同，在该方法中，H 的估计值会从 H-LSTM 传递给第二个 D-LSTM网络；在这里，单个 PINN 会同时估计 H 和 logD，并以标准差的形式返回不确定性，σ_H和$\sigma_{\log D}$。

为了评估反常指数和扩散系数的估计器是否可靠，我们模拟了一组持续时间为T、具有恒定赫斯特指数$0 < H < 1$以及广义扩散系数的分数布朗运动轨迹，其广义扩散系数范围为$\log D \in (-5,1)$。神经网络的预测能力在很大程度上取决于可用的信息。例如，轨迹的持续时间（T）以及测量噪声的大小都十分重要。由于我们的最终目标是使用固定T的轨迹结合滚动窗口，对其性质随时间变化的异质轨迹进行量化，因此我们从至少包含$T = 20$个时间点的轨迹开始，并向具有固定信噪比（SNR）的轨迹中加入小幅高斯分布测量噪声。结合用于生成分数布朗运动轨迹的 0.02 秒时间增量，这对应于持续时间为 0.4 秒的轨迹。随后我们将展示神经网络预测值、其误差和校准如何取决于T以及信噪比。

图中展示了 PINN 对短的 20 个时间点分数布朗运动轨迹的赫斯特指数进行预测的性能。S1（A）。点沿恒等线密集分布，表明该网络成功捕捉了整个区间内粒子轨迹与其潜在赫斯特指数之间的关系$0 < H < 1$。代表绝对预测误差的颜色标度$|H^{pred} - H_{theor}|$显示，大多数轨迹重构结果与真实值之间仅存在很小的偏差。从定量角度看，这一直观印象得到了较低的平均绝对误差（MAE$= 0.058$）和均方根误差（RMSE $= 0.07$）的证实。图中有符号残差的直方图S1（B）中心非常接近零，并且可由具有相同均值和方差的高斯分布很好地近似。这证实该估计器基本上是无偏的，其误差主要由随机波动造成，而非系统性偏差。图S1（C）显示，平均预测误差随着真实赫斯特指数的增加而单调下降。对于较强的

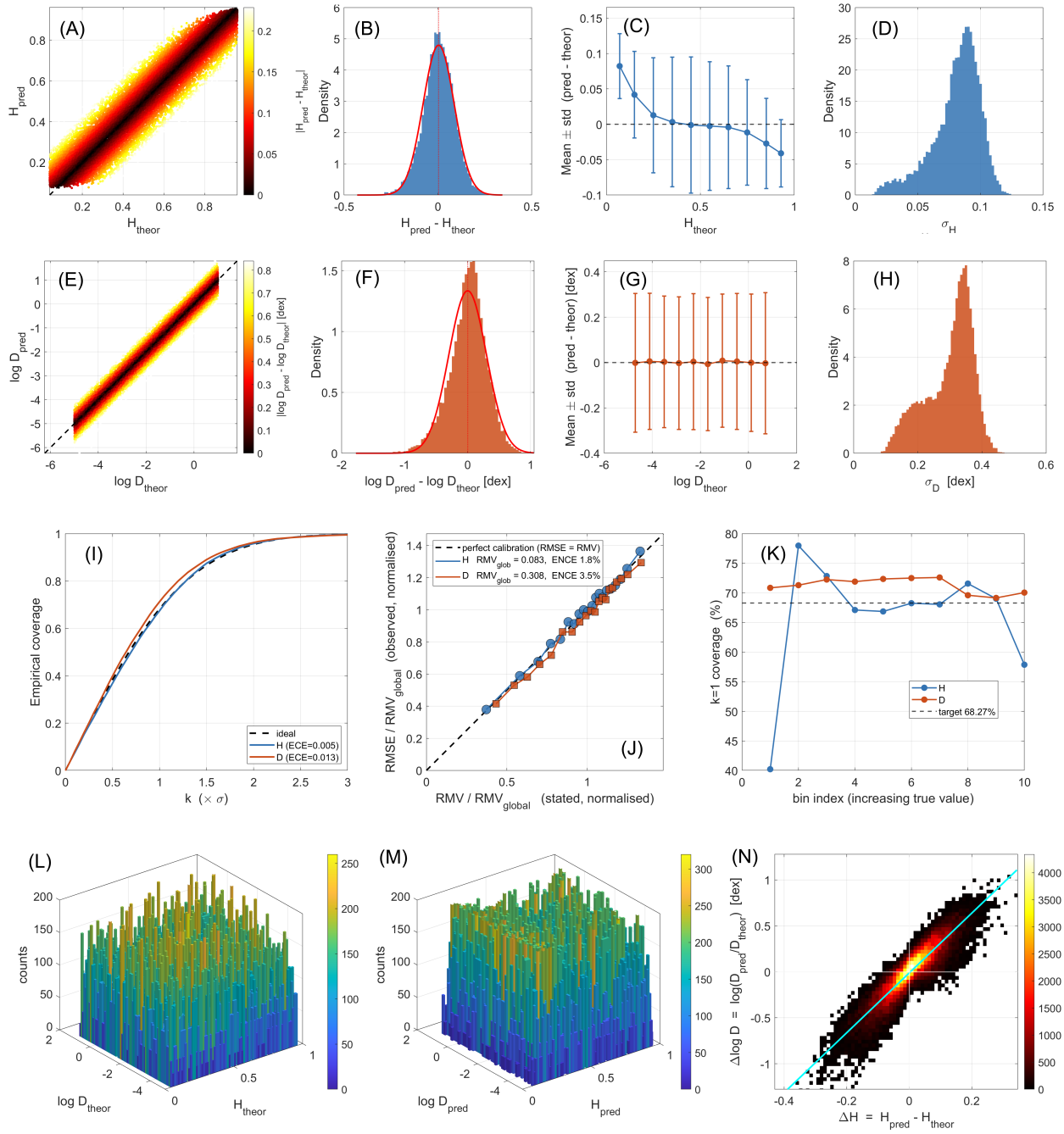


图 S1。 神经网络估计器从仅包含 20 个时间点的极短模拟分数布朗运动轨迹（19 个位移，每帧 $\Delta t = 0.02$ s）中预测赫斯特指数H 和广义扩散系数D 的性能，其中 H 为常数，$D \in (10^{-5}, 1)$，并包含运动模糊（动力学误差）和信噪比为 SNR=20 的静态测量误差。**(A、E)** 预测赫斯特指数 H^{pred} 和广义扩散系数 $\log D^{pred}$ 与真实值 H_{theor} 和D_{theor} 的散点图。黑色对角线表示理想预测值。色标表示绝对预测误差。**(B、F)**有符号预测误差的分布。直方图与具有相同方差的零均值高斯分布进行比较（红色实线）。**(C、D)**按真实值分层的平均预测偏差。对于每个数值区间，标记表示平均预测误差，误差棒表示一个标准差。**(D、H)** 预测标准差的分布σ_H 和 σ_D。对变量 H 和 D 的不确定性校准和可靠性进行评估**(I、J、K)** （续见下一页）。

图 S1。（续）（**I**）覆盖率可靠性图，展示经验覆盖率与标准差乘数 $k(\times\sigma)$ 的关系。（**J**）可靠性图，通过比较归一化均方根误差与均方根方差来评估方差校准。（**K**）对于$k = 1$的条件覆盖率，在 10 个分箱中进行评估，并与 68.27% 的理想目标进行比较。（**L**）真实参数空间的直方图。（**M**）网络估计参数对应的三维直方图。（**N**）联合误差分布残差。青色线突出显示了强相关误差分布的主轴。

对于亚扩散轨迹，网络往往会略微高估 H；而对于强超扩散轨迹，网络则会略微低估该值。值得注意的是，这种系统偏差的幅度在整个 H 范围内始终很小，并且明显小于每个分箱内由标准差表示的固有预测不确定性。图 S1（D）展示了赫斯特指数误差的分布 σ_H，该分布由物理信息神经网络报告。

图 S1(E) 展示了 PINN 对短的 20 个时间点分数布朗运动轨迹的广义扩散系数进行预测的性能。由于D 跨越多个数量级，网络在对数空间中评估目标值。点沿恒等线密集分布，表明网络在整个评估范围内都具有很强的预测能力。从定量结果来看，较低的平均绝对误差（MAE = 0.53）、均方根误差（RMSE = 0.3）以及可忽略不计的平均偏差（-0.02）进一步支持了这一点。图 S1(F) 中有符号残差的直方图定义为 $\log D^{\text{pred}} - \log D_{\text{theor}}$，其中心接近零，并且可以用具有相同均值和方差的高斯分布很好地近似。这证实了该估计器在对数空间中基本无偏，误差主要由随机波动主导，而非系统性偏差。与赫斯特指数的预测相比，图 S1(G) 显示，平均预测误差随真实扩散系数变化不存在系统偏差。在所有分箱中，平均误差曲线始终平坦且接近零；无论 D 的大小如何，内在预测不确定性都保持异常稳定。预测扩散系数的标准差分布如图 S1(H) 所示。

核心问题在于网络输出的可靠性和校准情况如何。图 S1(I-K) 显示，赫斯特指数 H 和扩散系数D 均实现了出色的全局校准。通过观察图 S1(I) 中的覆盖率——它表示落在由标准差乘数（k）定义的预测不确定性区间内的真实观测值比例——我们发现，这两个变量都紧贴理想的覆盖率可靠性曲线。由于其经验覆盖率与理想预期高度吻合，两个变量的期望校准误差（ECE）都极低；该指标衡量所有评估区间中，观测到的经验覆盖率与理论置信水平之间绝对差值的平均值。H 的 ECE 为 0.009，而 D 的 ECE 为 0.008。图 S1(J) 进一步证实了这种出色的整体表现：H 和 D 的数据点都紧密分布在完美校准对角线上。这种一致性使期望归一化校准误差（ENCE）较低。ENCE 通过计算排序分箱中实际预测误差（均方根误差，RMSE）与预测不确定性（均方根方差，RMV）之间相对差值的平均值来评估方差校准；H 的 ENCE 为 5.2%，而 D为 6.1%。图 S1(K) 显示，D 表现稳定，在所有真实值分箱中的覆盖率都接近 68.27% 的目标值（代表理想的 1σ区间）；而H 在分布两端（分箱 1 和 10）出现严重覆盖不足。这表明，H 总体上校准良好，但其不确定性估计在数据空间的极端边界处过于自信且不可靠；相比之下，D 始终保持稳健。

PINN 重构短时分数布朗运动轨迹联合参数空间的整体保真度$T = 20$ 可通过比较图S1(L) 中的真实参数平面与图 S1(M) 中的估计参数平面，得到定性展示。两个分布在宏观上的相似性证实，估计器忠实地再现了底层双变量参数空间，未引入严重的大尺度失真，也未导致预测值的方差缩减。然而，考察图 S1(N) 中的联合误差分布，可发现两个单独参数的估计误差之间存在关键的依赖关系。残差的二维密度图 ΔH和 $\Delta \log D$呈现出明显的对角线拉长形态。青色趋势线凸显了这种强正相关，表明网络的预测误差存在紧密耦合：赫斯特指数的高估会系统性地导致广义扩散系数被高估，反之亦然。这种固有的退化反映了短轨迹表征中一种根本性的物理歧义：要将增大的估计标度指数 H 映射到观测到的轨迹涨落，就需要相应地增大扩散幅度 D。

物理信息神经网络的性能与轨迹长度和测量噪声的关系

PINN估计器的性能随轨迹长度变化的情况如图所示S2 和S3。结果表明，随着轨迹持续时间T 从 20 个时间点增加到 100 个时间点，预测可靠性单调提升。尽管模型在轨迹长度受到严格限制时（例如，$T = 20$）仍能成功捕捉赫斯特指数的总体趋势，但预测值围绕理论真实值自然会呈现更大的方差。延长轨迹长度可迅速消除这种离散现象，明显收窄预测值的分布范围，并使决定系数（R^2）在$T = 100$时达到 0.98。此外，对有符号预测误差的分析证实，该模型仍具有极佳的校准能力；误差

分布以零为中心呈对称分布，并随着引入更多时间数据而显著收窄。至关重要的是，在H的整个取值范围内，估计器始终保持稳定且接近零的偏差剖面，这表明即使处理极短的 FBM 序列，网络也能有效泛化，且不会出现严重的边界性能下降。

PINN估计器对测量噪声的稳健性如图 S4所示。将轨迹长度固定为仅 $T = 20$个时间点时，该估计器在中等噪声区间表现出较强的抗噪性。预测准确度、误差方差和整体模型校准在信噪比为 5 时仍保持 remarkably stable，决定系数（R^2）维持在 0.92 以上。在极端噪声阈值下（信噪比为 2 或更低），预测性能出现明显的结构性退化。在这些受到严重干扰的信号环境中，模型开始系统性地低估真实的赫斯特指数，表现为显著的负偏差；随着理论 H 值升高，该偏差变得越来越严重。

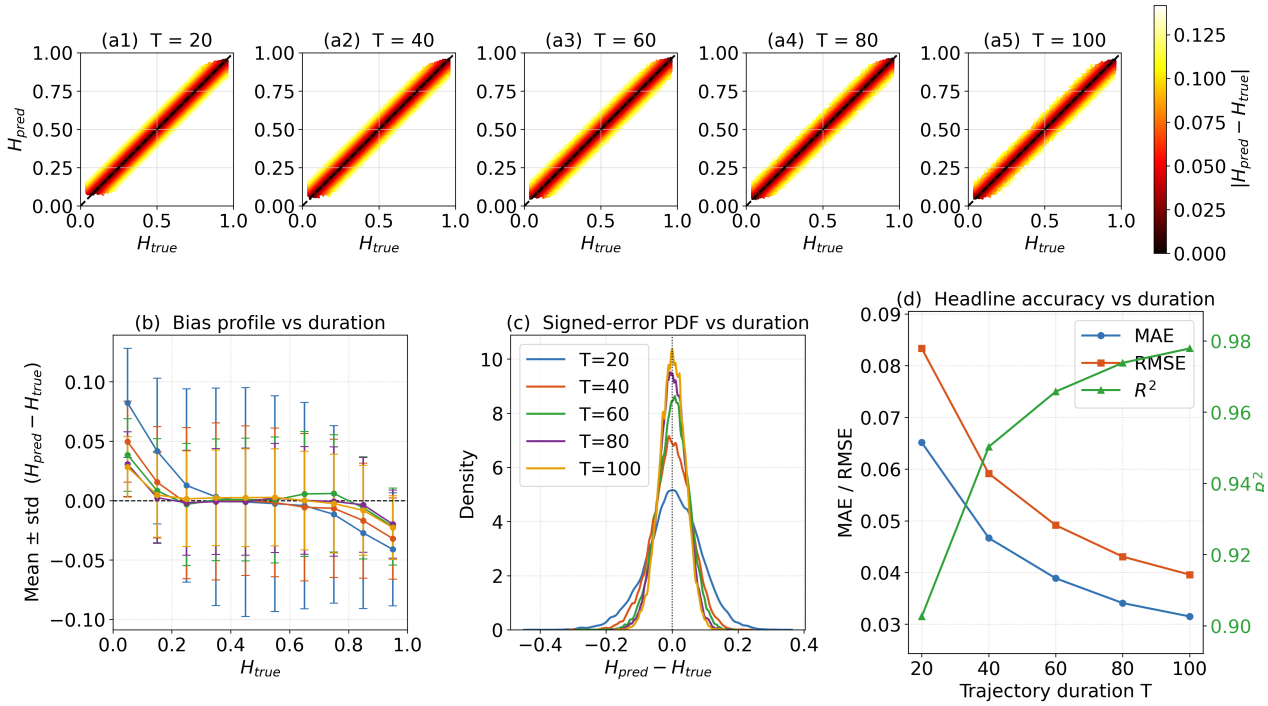


图 S2。 PINN估计器对不同持续时长 $T = 20$、40、60、80 和 100 个时间点（$T - 1$个增量）的赫斯特指数 H 预测性能。轨迹采用 $dt = 0.02$、恒定均匀分布的 $H \in (0.04、0.96)$、恒定均匀分布的 $\log D \in (-5、1)$ 和信噪比 =20 进行模拟。(a1)–(a5) 密度散点图比较预测的赫斯特指数（H^{pred}）与理论真实值（H_{theor}）。色彩图表示绝对预测误差，$|H^{pred} - H_{theor}|$。(b) 偏差剖面展示了不同轨迹持续时长下，平均有符号误差（$H^{pred} - H_{theor}$）随理论赫斯特指数的变化。误差棒表示一个标准差，突出显示了随着 T 增加，方差的降低。(c) 有符号预测误差的概率密度函数（PDF）。对于更长的轨迹，分布逐渐变窄，并在零点处呈现更尖锐的峰值，证实了模型校准得到改善。(d) 主要准确度指标随轨迹持续时长 T的变化图。平均绝对误差（MAE，蓝色圆点）和均方根误差（RMSE，橙色方块）对应左侧 y 轴，显示误差持续下降。相应的决定系数 R^2 上升趋势则由右侧 y 轴中的绿色三角形表示。

S2. 有效扩散系数D_{eff}

与正文中一样，log 表示 $\log_{10}$，有量纲量的对数指其以微米和秒为单位时的数值。

为什么D 不是衡量振幅的理想指标

对于反常扩散，均方位移的增长规律为

$$\langle \mathbf{r}^2(t) \rangle = 2d\,D\,t^{\alpha}, \qquad \alpha = 2H \text{ for fractional Brownian motion (FBM).} \tag{S9}$$

这个表达式混合了两个量：粒子运动的强烈程度，以及其运动对过去的记忆程度。这种混合首先体现在单位上。D 的单位是 $\mathrm{L}^2\mathrm{T}^{-2H}$，因此，具有不同$H$ 的两个细胞，其扩散系数

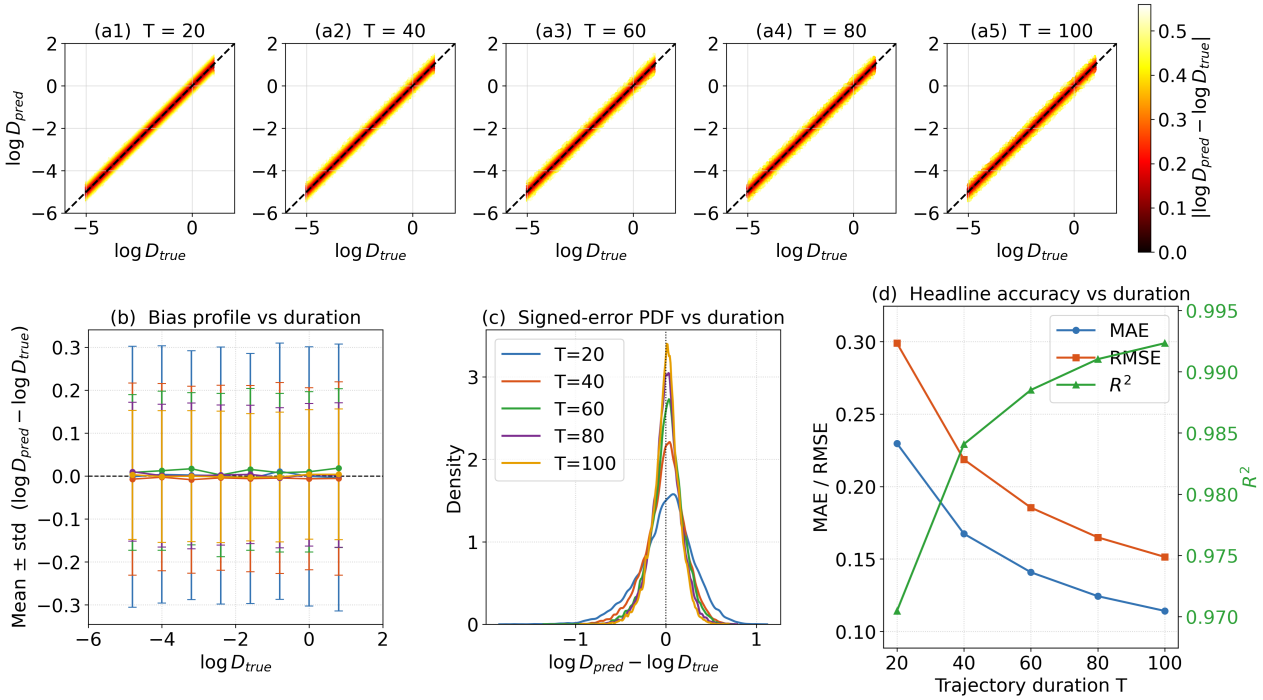


图 S3。 与图 S2 相同，但针对广义扩散系数。

无法进行比较，就像速度无法与加速度进行比较一样。将时间单位改变c 倍，会使 $\log D$ 偏移 $2H\log c$，而且对于每个细胞来说偏移量都不同。

混合效应再次体现在误差中。短窗口能够很好地测量步长的典型大小，因为每个步长都对其进行采样。但它对指数的测量准确性要低得多，因为这需要跟踪位移如何在狭窄的滞后时间范围内增长；对于二十帧而言，这一范围约为 1。3 个数量级，且最长的滞后时间只有少数几个重叠位移能够表示。因此，数据将均方位移固定在接近帧滞后的位置，但其斜率仍不确定。在H 中产生的误差会使拟合的均方位移在双对数坐标轴上围绕枢轴滞后 τ^*发生旋转，而D则会进行调整，使曲线通过这一固定点：

$$\delta \log D \simeq -2 \log \tau^* \, \delta H. \tag{S10}$$

这种相关性的符号仅取决于 τ^* 比时间单位更短还是更长。对于 $\tau^* \simeq 0.5\,\Delta t$（下文将推导），它预测的斜率为 $+4.0$ 每单位 H 对应的数量级 $\Delta t = 0.02$秒，以及 -1.8 在 $\Delta t = 17$ 秒时的数量级（图 2，正文）。正如所观察到的那样。相关性是测量的属性，而不是粒子的属性。我们需要的是一种对每条轨迹都具有相同单位、不继承H误差且其含义不依赖于特定模型的振幅。

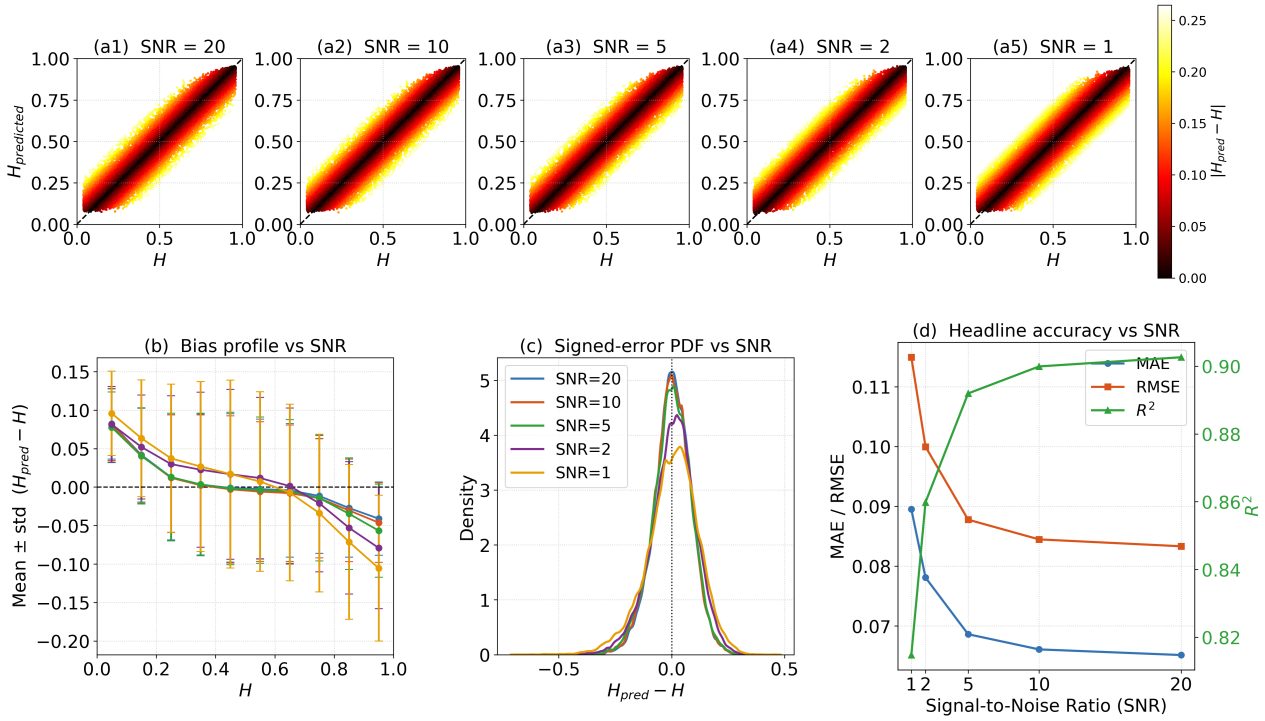
记忆与新鲜随机性

带有记忆的运动可以用朗之万方程来描述。每一步都是两部分之和：一部分可以根据先前的步长预测，另一部分则是过去无法预料的全新随机踢动。对于持续性细胞，可预测的部分是它倾向于沿同一方向继续前进；对于反持续性细胞，则是它倾向于折返。随机踢动才是运动中真正全新的随机性，其强度是温度的自然对应量：温度计应对涨落作出响应，而不是对只顾径直前行的细胞作出响应。

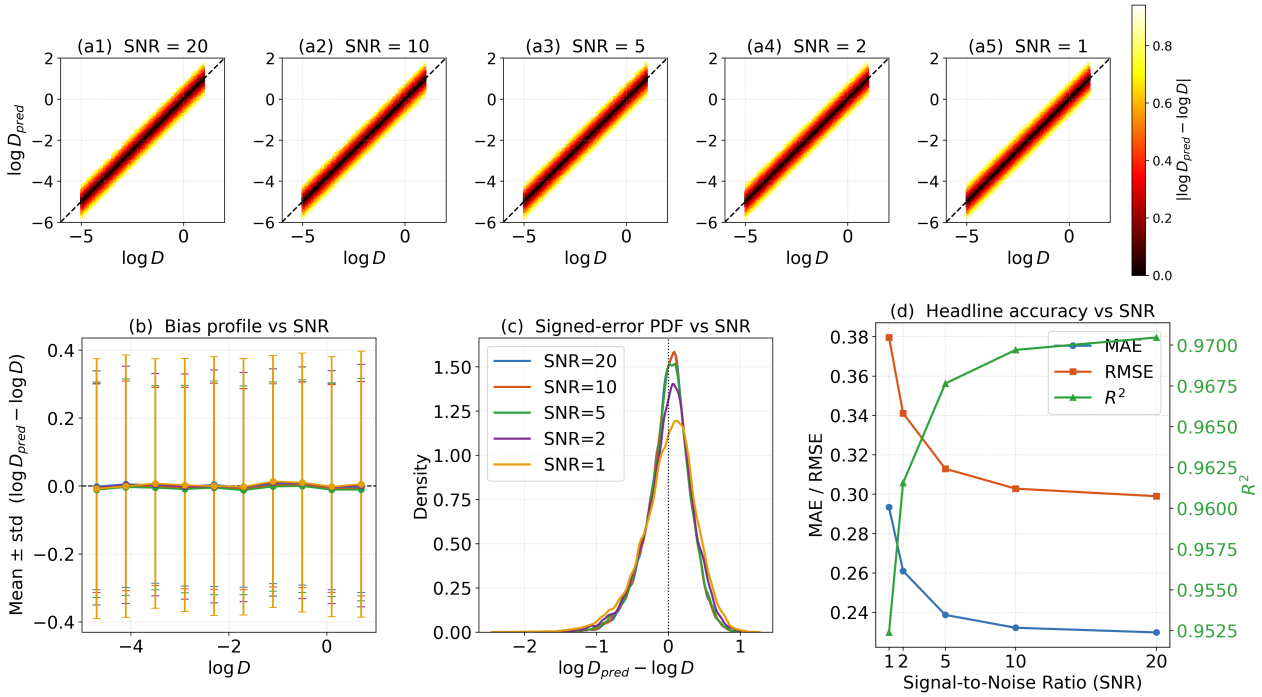
为进行定量分析，考虑一个坐标上连续的N个步长， $\Delta x1,\ldots,\Delta x_N$，采样区间为 Δt，其协方差矩阵为 Σ。令 Δx_k 表示根据此前k个步长对第$k-1$步作出的最佳线性预测（对于高斯运动，它就是条件均值），并令

$$v_k = \mathrm{Var}\big(\Delta x_k - \widehat{\Delta x_k}\big), \qquad k = 1,\ldots,N, \tag{S11}$$

表示未能预测部分的方差，即创新项。第一步无从预测，因此v_1 就是完整的步长方差；只要步长之间存在相关性，此后的每个 v_k 都会更小，并衡量第k次全新随机踢动的强度。时间序列分析中的一个标准结果——高斯似然的预测误差分解 [45, 46], ——指出，这些



图S4。 PINN估计器根据不同信噪比（SNR）的模拟FBM轨迹预测赫斯特指数的表现H。模拟时长为$T = 20$时间点（19个增量）的轨迹，设置为$dt = 0.02$、均匀分布的常数$H \in (0.04, 0.96)$、均匀分布的常数对数$D \in (-5, 1)$，以及SNR为 = 20、10、5、2和1。(a1)–(a5) 密度散点图比较预测的赫斯特指数（H^{pred}）与理论真实值（H_{theor}）。各面板标题标明SNR。色彩图表示绝对预测误差，$|H^{pred} - H_{theor}|$。(b) 偏差剖面展示了不同轨迹时长下，平均有符号误差（$H^{pred} - H_{theor}$）随理论赫斯特指数的变化。误差条表示一个标准差，表明随着T增大，方差减小。(c) 有符号预测误差的概率密度函数（PDF）。轨迹越长，分布越窄且在零点处越尖锐，证实了模型校准有所改善。(d) 主要准确度指标随轨迹时长T的变化。平均绝对误差（MAE，蓝色圆点）和均方根误差（RMSE，橙色方块）对应左侧纵轴，显示误差持续下降。对应的R^2（绿色三角形）上升趋势由右侧纵轴表示。



图S5。 与图S4相同，但显示的是广义扩散系数。

方差的乘积等于协方差的行列式，

$$\det\Sigma = \prod_{k=1}^{N} v_k. \tag{S12}$$

因此，我们将有效扩散系数定义为冲击的扩散率，

$$D_{\text{eff}} = \frac{(\det\Sigma)^{1/N}}{2\Delta t} = \frac{1}{2\Delta t}\left(\prod_{k=1}^{N} v_k\right)^{1/N}. \tag{S13}$$

对于正常扩散，每一步都是一次纯冲击：各步彼此不相关，每个v_k都等于步长方差$2D\Delta t$，且$D_{\text{eff}} = D$。存在记忆时，每一步都有一部分可以预测，D_{eff}小于根据原始步长计算的表观扩散率$D_{\text{app}} = \langle|\Delta\mathbf{r}(\Delta t)|^2\rangle/(2d\Delta t)$。这对持续性运动和反持续性运动都成立。对每种过程而言，D_{eff}的单位都是$\mathrm{L}^2\mathrm{T}^{-1}$，因此改变时间单位会按相同因子缩放所有数值，而其分布的宽度和形状保持不变。

该定义只要求步长协方差存在，即二阶矩有限；式（S12）的因式分解适用于任意协方差矩阵。对于具有平稳增量的过程（如分数布朗运动），协方差仅取决于步长之间的间隔，可以沿一条轨迹取平均来估计。对于会老化的过程（如连续时间随机游走或标度布朗运动），协方差取决于步长发生的时刻，沿一条轨迹的时间平均不再能对其进行估计，因此$\Sigma_{jk} = \langle\Delta x_j \Delta x_k\rangle$必须改为在相同的、相对于共同起点的时刻，对多条轨迹取平均；此时D_{eff}会随时间变化。对于非高斯运动，冲击由最佳线性预测定义，这种解释适用于方差层面。在所有情况下，D_{eff}衡量的是运动每单位时间产生的不可预测性。

分数布朗运动

对于分数布朗运动，步长协方差是振幅与相关矩阵的乘积，而相关矩阵仅取决于记忆，

$$\Sigma = 2D\Delta t^{2H} R(H), \tag{S14}$$

其中，$R(H)$是分数高斯噪声的相关矩阵。有效扩散系数可写为闭式

$$D_{\text{eff}} = D\Delta t^{2H-1}\left[\det R(H)\right]^{1/N} = D_{\text{app}}(\Delta t)\, f(H). \tag{S15}$$

因子 $f(H) = [\det R(H)]^{1/N}$ 表示前面的步长无法预测的平均步长比例：布朗运动为 1，$H = 0.63$ 时为 0.96，$H = 0.78$ 时为 0.76（$N = 19$）。因此，对于强持久性细胞，每个步长约有四分之一继承自其近期运动轨迹，而 D_{eff} 仅计入剩余的四分之三。

同一个因素解释了为什么 D_{eff} 消除了公式（S10）中的脊线。步长相关性以及由此产生的 f 随 H 变化的程度决定了关于 H 的信息有多少来自相关性而非步长大小，并将枢轴点置于

$$\log \frac{\tau^*(H)}{\Delta t} = \frac{1}{2N} \frac{d \log \det R(H)}{dH}. \tag{S16}$$

对于布朗运动，步长之间不具有关联，枢轴位于帧滞后时间处。对于持续性运动，更强的关联会将其拉低至 Δt 以下；而对于反持续性运动，关联则会将其推高：当 $N = 19$, $\tau^*/\Delta t = 1.46$ 时，在 $H = 0.3$ 分别为 0.5、0.7 和 0.8 的情况下，其值为 1.00、0.49 和 0.22。对于 $H = 0.7, 0.51 \pm 0.01$ 的模拟窗口，在 $\Delta t = 0.02$ 至 17 s 的范围内测得的比值保持不变，并且与预测值相差不超过 4%。写作 $\log D_{\mathrm{eff}} = \log D + g(H)$ 时，校正项的斜率恰好为 $g'(H) = 2\log \tau^*(H)$：将 D 转换为 D_{eff}，相当于在某个滞后时间处重新表达振幅；围绕该滞后时间，H 的误差会使拟合的均方位移发生旋转，因此 H 的误差不再传递到振幅中。在一个固定的参考滞后时间处报告 D，则只有当枢轴点恰好与该滞后时间重合的单个 H 值才能消除脊线；表观扩散率 D^{app}（选择 Δt）仅适用于布朗运动。这种将振幅与记忆分离的方法，是平稳过程一个已知结果的有限窗口对应物：在该结果中，创新方差在渐近意义下独立于塑造关联性的参数 [47, 48]。

什么 D_{eff} 不是

D_{eff} 描述的是观测尺度上的运动，而不是介质。它不是均方位移的前因子；在任意滞后时间下，该前因子为

$$\langle |\Delta \mathbf{r}(t)|^2 \rangle = 2d\, D t^{2H} = 2d \frac{D_{\mathrm{eff}} \Delta t}{f(H)} \left(\frac{t}{\Delta t} \right)^{2H}. \tag{S17}$$

因此，必须通过 D，或通过除以 $f(H)$ 后的 D_{eff}，来计算由均方位移定义的材料性质。例如，对于处于热平衡中的半径为 a 的被动探针，广义斯托克斯–爱因斯坦关系给出的蠕变柔量为 $J(t) = (6\pi a/k_B T)\, D t^{2H}$；在牛顿流体中，该关系简化为 $J = t/\eta$。血细胞是主动的，因此这类关系不适用于它们：它们的 D_{eff} 只能通过 $T_{\mathrm{eff}} = \gamma D_{\mathrm{eff}}/k_B$ 来定义有效温度；只有在摩擦力 γ 保持不变时，相对变化才有意义（正文）。最后，对于自相似过程，L^2T^{-1} 中的扩散率不可能不涉及时间尺度：D_{eff} 是在帧间隔下定义的，按 Δt^{2H-1} 缩放，并且会弱地依赖窗口长度。要与采用其他帧率的实验进行比较，必须回到 D，这又会引入 H 的不确定性。

测量 D_{eff}

对于血细胞数据，每条轨迹被划分为由 20 个位置组成的重叠窗口（$N = 19$、$\Delta t = 17.6$ 秒）。对于每个窗口，网络返回 H 和 D，并且

$$\log D_{\mathrm{eff}} = \log D + (2H - 1) \log \Delta t + \tfrac{1}{N} \log \det R(H), \tag{S18}$$

使用在 H 的精细网格上仅制表一次的 $\log\det R(H)$。例如，$H = 0.7$ 和 $D = 0.02\,\mu$米^{2}秒$^{-1.4}$ 给出 $D_{\mathrm{eff}} \approx 0.056\,\mu$米^{2}秒$^{-1}$。由于网络未报告其 H 误差与 $\log D$ 误差如何协变，因此在血细胞帧间隔下的模拟窗口上测量了 $\log D_{\mathrm{eff}}$ 的不确定性（方法）。在 H 的整个范围内，该不确定性为 0.080–0.092 dex，而 H 和 $\log D$ 的误差以系数 -0.8 至 -0.9 相关：枢轴论证所预期的解耦在训练好的网络中成立。对于时间序列，每条轨迹和每个 176 秒分箱内的窗口值会合并，并报告轨迹间的中位数及 95% 自助法区间。由于每个窗口都使用相同的 Δt 和 N，D_{eff} 的值可直接在发育时间内以及不同基因型之间进行比较。

补充图

图中行为或扩散系数与有效扩散系数的比较 4(A,B)。

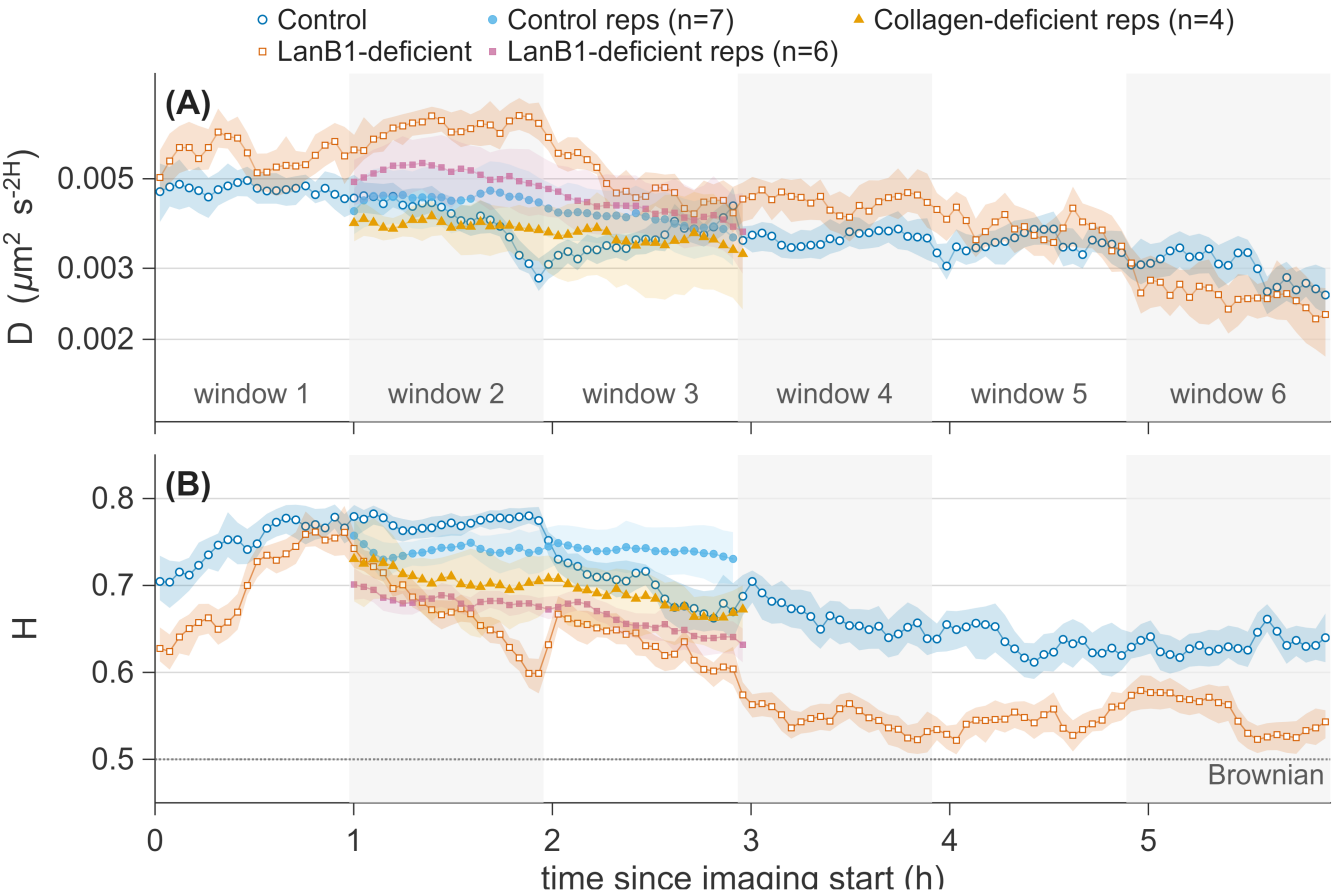


图 S6。 (A) 扩散率D 和 (B) 赫斯特指数H，按自成像开始以来的时间划分为 176 秒分箱（10 帧）。符号形状表示基因型：对照组（圆形）、*LanB1*缺陷型（方形）和胶原蛋白缺陷型（三角形）胚胎。实心符号表示对照组和*LanB1*缺陷型胚胎的连续六部影片录制；每个点为轨迹中位数（阴影部分为 95%自助法区间）。空心符号表示独立记录的均值：对照组（$n = 7$）和 $LanB1^{Df}$（$n = 4$），每组均涵盖影片 1–2；以及胶原突变体（$n = 4$），其中两次录制涵盖影片 1–2，另两次涵盖影片 2–3。每个空心点表示各次录制的中位数的均值，95% 区间通过对录制以及每次录制中的轨迹进行两层自助法计算。至少有 2 次录制参与、且每次至少包含 5 条轨迹时，才显示相应分箱。(B) 中的虚线表示布朗运动，$H = 0.5$。估计值来自 20位置窗口（$\Delta t = 17.6$秒）。每隔一个分箱绘制一个符号。