

## LSFM hyperspectrale structurée pour l'imagerie quantitative

S. Crombez<sup>1</sup>, C. Ray<sup>1</sup>, C. Exbrayat-Héritier<sup>2</sup>, F. Ruggiero<sup>1,2</sup>, N. Ducros<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> CREATIS UMR 5220, U1294, F-69621, Lyon, France

<sup>2</sup> Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon, Lyon, France

<sup>3</sup> Institut Universitaire de France, France,

nicolas.ducros@creatis.insa-lyon.fr

La microscopie de fluorescence à nappe de lumière (LSFM pour *light sheet fluorescence microscopy*) permet de capturer des images 3D d'échantillons fluorescents avec un faible photoblanchiment, des vitesses d'acquisition élevées et une grande profondeur de pénétration [1]. Comme la plupart des techniques de fluorescence, la LSFM repose sur des filtres optiques qui sont choisis de manière à retenir la fluorescence émise par les fluorophores d'intérêt tout en éliminant la lumière indésirable. Dans de nombreuses études, la présence d'auto fluorescence reste un obstacle car elle compromet toute quantification des marqueurs fluorescents. En outre, l'analyse d'échantillons contenant plusieurs fluorophores dont les spectres d'émission se superposent est fortement limitée, voire impossible [2]. L'imagerie hyperspectrale permet de surmonter ces deux problèmes [3] mais l'approche originelle fondée sur une ligne d'illumination, bien que performante, nécessite une caméra rapide, une synchronisation complexe et collecte peu de lumière.

Nous présenterons une stratégie computationnelle pour l'imagerie hyperspectrale, qui est basée sur la structuration d'un feuillet de lumière dans une dimension spatiale. Notre approche est inspirée de l'imagerie à pixel unique [4]. Le signal de fluorescence émis par des nappes de lumière structurées est focalisé sur la fente d'entrée d'un spectromètre imageur. Afin de reconstruire la dimension latérale à partir des mesures brutes, nous introduisons un algorithme de reconstruction qui exploite le modèle physique des nappes de lumière structurées, tout en bénéficiant des avancées récentes avancées en matière d'apprentissage profond. Notre chaîne de traitement intègre enfin un algorithme de démixage spectral qui permet la séparation et la quantification des différentes composantes spectrales de l'échantillon (cf. Figure 1).

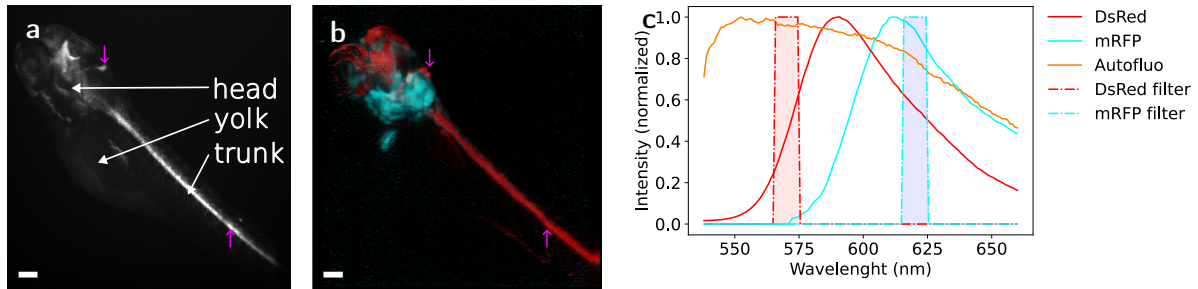


FIG. 1 : Séparation de protéines fluorescentes chez une larve de poisson zèbre *Tg(sox10 :mRFP;olig2 :DsRed)* âgée de 4 jours. **a**, image LSFM conventionnelle. **b**, carte d'abondance 3D après élimination de l'auto fluorescence (AF) ; la représentation 3D obtenue à partir de 20 coupes. **c**, Filtres (lignes pointillées) et spectres de fluorescence (lignes pleines). (↑) indique la moelle épinière, (↓) le cervelet. Barres d'échelle = 100  $\mu$ m.

### RÉFÉRENCES

- [1] J. Huiskens and D. Y. R. Stainier, "Selective plane illumination microscopy techniques in developmental biology," *Development*, vol. 136, pp. 1963–1975, June 2009.
- [2] M. Dickinson, G. Bearman, S. Tille, R. Lansford, and S. Fraser, "Multi-Spectral Imaging and Linear Unmixing Add a Whole New Dimension to Laser Scanning Fluorescence Microscopy," *BioTechniques*, vol. 31, pp. 1272–1278, Dec. 2001.
- [3] W. Jahr, B. Schmid, C. Schmied, F. O. Fahrbach, and J. Huiskens, "Hyperspectral light sheet microscopy," *Nature Communications*, vol. 6, p. 7990, Sept. 2015.
- [4] M. Duarte, M. Davenport, D. Takhar, J. Laska, T. Sun, K. Kelly, and R. Baraniuk, "Single-Pixel Imaging via Compressive Sampling," *Signal Processing Magazine, IEEE*, vol. 25, pp. 83–91, Mar. 2008.