Microscopie compressive hyperspectrale par feuillet de lumière structurée

Sébastien Crombez^{1,2}, Chloé Exbrayat-Heritier³, Florence Ruggiero³, Cédric Ray², Nicolas Ducros¹

¹ Univ. Lyon, INSA-Lyon, UCB Lyon 1, UJM-St-Étienne, CREATIS CNRS, INSERM, F-69621, Lyon, France ² Univ. Lyon, UCB Lyon 1, CNRS, Institut Lumière Matière, F-69622, Villeurbanne, France

³ Intitut de Génomique fonctionnelle, ENS-Lyon, UMR CNRS 5242, Univ. Lyon, Lyon Cedex, France

sebastien.crombez@univ-lyon1.fr

L'imagerie de fluorescence est un outil précieux en microscopie. Les systèmes hyperspectraux permettent l'acquisition d'un hypercube $f(x, y, z, \lambda)$, où (x, y, z) désigne les trois coordonnées spatiales, ce qui peut notamment permettre de séparer les différents photomarqueurs présents dans un échantillon [1]. Nous avons décrit précédemment un microscope hyperspectral à feuillet de lumière qui procède à une série de mesures $\mathbf{m}_{\lambda}^{y,z} = \mathbf{Pf}_{\lambda}^{y,z}$, $\forall(x,y,\lambda)$, où \mathbf{P} représente les différents motifs d'illumination et $\mathbf{f}_{\lambda}^{y,z}$ l'hypercube à (y,z,λ) fixé [2]. Connaissant \mathbf{P} , il est possible de remonter à $\mathbf{f}_{\lambda}^{y,z}$ par résolution d'un système linéaire. L'une des limites majeures de ce montage, qui repose sur OpenSPIM [3], est sa faible résolution spatiale que l'on peut attribuer au mauvais conditionnement de la matrice d'acquisition \mathbf{P} contenant les motifs d'illumination. Afin de résoudre ce problème, nous avons structuré notre feuillet de lumière directement avec une matrice de micro-miroirs, ce qui a permis d'améliorer significativement le conditionnement de la matrice d'acquisition. En choisissant des motifs d'illumination dans une base orthogonale de Hadamard, la dimension *x* comprimée peut alors être directement reconstruite en calculant $\mathbf{f}_{\lambda}^{y,z} = \mathbf{P}^{\top} \mathbf{m}_{\lambda}^{y,z}$, $\forall(\lambda, y)$. En vue d'améliorer la qualité de la reconstruction à partir d'un faible nombre de mesures, ce qui permet de réduire les temps d'acquisition, nous avons opté pour une approche par apprentissage. S'inspirant de [4], il est possible de reconstruire l'hypercube via un réseau de neurones composé de couches pleinement connectées situées en amont d'une série de couches de convolution, soit $\mathbf{\tilde{f}}_{\lambda}^{y,z} = \mathscr{G}(\mathbf{P}^{\top} \mathbf{CDm}_{\lambda}^{y,z})$ où \mathscr{G} correspond aux couches de convolution dans le domaine image, \mathbf{D} à un opérateur de débruitage et \mathbf{C} à un opérateur de complétion des mesures manquantes.



Fig. 1 : Tranche d'un embryon de poisson zèbre bi-marqué (GFP et DsRed2). Échelle : 100 μm . (a) Image à niveau de gris classique ; rectangle rouge : zone de zoom de (b-e). (b) Zoom issu de (a). (c) Reconstruction hyperspectrale intégrée sur λ avec un de facteur de compression 1/4. (d) Même reconstruction que (c) mais avec ajout de l'opérateur **C**. (e) Même reconstruction que (c) mais pour un facteur de compression de 1/8. (f) Image bicolore reconstruit avec l'opérateur **C** avec un facteur de compression de 1/4

Références

- [1] W. Jahr, B. Schmid, C. Schmied, F. O. Fahrbach, and J. Huisken, *Hyperspectral light sheet microscopy*, vol. 6. 2015.
- [2] S. Crombez, P. Leclerc, C. Ray, and N. Ducros, "Computational hyperspectral light-sheet microscopy," Opt. Express, vol. 30, Feb 2022.
- [3] P. Pitrone, J. Schindelin, L. Stuyvenberg, S. Preibisch, M. Weber, K. Eliceiri, J. Huisken, and P. Tomancak, "Openspim : An open-access light-sheet microscopy platform," *Nature methods*, vol. 10, 2013.
- [4] A. L. Mur, P. Leclerc, F. Peyrin, and N. Ducros, "Single-pixel image reconstruction from experimental data using neural networks," Opt. Express, vol. 29, pp. 17097–17110, May 2021.