

# fiche de lecture: Whole-animal functional and developmental

nael klein

December 2025

## 1 Informations générales

### 1.1 Titre

Whole-animal functional and developmental imaging with isotropic spatial resolution

### 1.2 Auteurs

Raghav K. Chhetri, Fernando Amat, Yinan Wan, Burkhard Höckendorf, William C. Lemon, Philipp J. Keller

### 1.3 Année

2015 — Nature Methods

### 1.4 Source / DOI / PDF

PDF : Chhetri 2015.pdf DOI : 10.1038/nmeth.3632

## 2 Résumé de l'article

Cet article introduit **IsoView light-sheet microscopy**, une approche multi-vue à quatre bras orthogonaux permettant d'imager des spécimens entiers (embryons, larves, cerveaux) avec **Résolution isotrope 1.1–2.5 µm**, haute vitesse (1–2 Hz) et couverture physique étendue. L'innovation clé consiste à acquérir simultanément quatre vues orthogonales, puis à les fusionner via une **multi-view deconvolution** haute performance (GPU), ce qui améliore nettement la résolution et supprime l'anisotropie axiale des LSM classiques.

Les auteurs démontrent l'imagerie fonctionnelle du système nerveux entier d'une larve de Drosophila, l'imagerie cérébrale complète d'un zebrafish 3 dpf, et l'imagerie développementale multicolore de Drosophila. Les gains rapportés sont

majeurs : **résolution**  $\times 7$ , anisotropie  $\div 3$ , profondeur de pénétration doublée, volume imageable  $\times 400$ .

### 3 Objectifs

- Obtenir une résolution isotrope haute qualité sur des volumes plus grands que ce que permettent les techniques LSM classiques.
- Acquérir simultanément plusieurs vues pour réduire les limitations imposées par la PSF anisotrope.
- Maintenir des vitesses d'imagerie compatibles avec l'imagerie fonctionnelle (1 Hz).
- Permettre l'imagerie long-terme et multicolore sur des spécimens vivants.

## 4 Méthodologie

### 4.1 1. Microscope IsoView (Fig. 1, p. 2)

- Quatre bras orthogonaux (O1–O4) assurent illumination LSM + détection.
- Balayage des light sheets via galvanomètres.
- Détection par sCMOS synchronisés.
- Volume max : **800  $\times$  800  $\times$  800  $\mu\text{m}^3$** .

### 4.2 2. Trois modes d'acquisition

- **Mode 1 (séquentiel)** : alterne illumination/détection — jusqu'à **2 Hz**.
- **Mode 2 (simultané confocal-line)** : quatre vues simultanées via déphasage des scans.
- **Mode 3 (deux couleurs)** : illumination à deux longueurs d'onde orthogonales.

### 4.3 3. Registration multivue

Vue p. 5 et p. 11 :

- Étape粗ière : cross-correlation, translation 3D.
- Étape fine : détection de points DoG, correspondances NCC, modèle affine 3D via RANSAC.
- Erreur résiduelle 2–4 pixels.

#### 4.4 4. Multiview deconvolution (p. 5–6)

- Implémentation CUDA entièrement GPU.
- Accélération  $\times 22$  (1 GPU) à  $\times 67$  (4 GPU).
- Un dataset de 10 TB déconvolué en 2 jours au lieu de plusieurs mois.

### 5 Résultats principaux

#### 5.1 1. Résolution et isotropie (p. 5–6)

Avec des billes fluorescentes sous diffusion faible :

- Single view : FWHM = 0.60  $\mu\text{m}$  latéral, 2.98  $\mu\text{m}$  axial.
- IsoView (4 vues, deconv.) : **0.42  $\pm$  0.02  $\mu\text{m}$  dans toutes les dimensions.**

→ Amélioration du volume PSF  $\times 14$  et de l'anisotropie  $\times 18$ .

#### 5.2 2. En conditions *in vivo* (p. 6)

Résolution typique :

- 1.1–1.7  $\mu\text{m}$  dans la majorité du volume.
- Jusqu'à 2.5  $\mu\text{m}$  dans les régions les plus profondes.

Profondeur de pénétration doublée par rapport au dual-view.

#### 5.3 3. *Drosophila* — imagerie fonctionnelle complète (Figs. 2–3)

- 4.5 millions d'images sur 9 h, 2 Hz.
- Résolution suffisante pour distinguer axones, somas, bundles.
- Détection d'ondes calciques synchronisées avec locomotion (Fig. 2c).

#### 5.4 4. Zebrafish — imagerie du cerveau (Fig. 4)

- Volume  $800 \times 400 \times 400 \mu\text{m}^3$  à 1 Hz.
- Noyaux résolus dans les couches profondes (170  $\mu\text{m}$ ).

#### 5.5 5. Développement *Drosophila* — deux couleurs (Fig. 5–6)

- Résolution subcellulaire sur membranes + noyaux.
- Observation du ventral furrow et germ-band extension.

## 6 Forces

- Résolution isotrope sur grands volumes.
- Acquisition rapide compatible avec imagerie fonctionnelle.
- Couverture physique exceptionnelle ( $\times 400$ ).
- Multivue + deconvolution GPU très efficace.
- Robustesse dans des tissus profonds et peu transparents.

## 7 Faiblesses / limites

- Microscope complexe, nécessite optiques custom.
- Registration cruciale : erreurs → artefacts dans les vues fusionnées.
- Déconvolution volumique très lourde (nécessite multi-GPU).
- Peu adapté aux environnements trop absorbants.

## 8 Pertinence pour le challenge Fuse My Cells

Cet article est très important pour *Fuse My Cells* car :

- Il montre concrètement la **fusion multivue comme solution physique** à l'anisotropie et au manque de résolution — ce que notre modèle doit reproduire **numériquement** à partir d'une seule vue.
- Les résultats IsoView constituent une **référence haute qualité** pour comprendre ce qu'une fusion idéale peut obtenir : isotropie, contraste, restauration correcte des membranes et des noyaux → métriques N-SSIM et N-IOU du challenge.
- L'approche renforce l'idée que la vue unique LSFM souffre fortement d'anisotropie axiale : notre pipeline doit donc ré-apprendre une PSF multivue-like .
- Les difficultés de registration et de fusion volumique rejoignent les contraintes de notre modèle global+patch (besoin de cohérence 3D et de récupération locale).
- L'article donne un aperçu clair des limites physiques de la LSFM, ce qui aide à comprendre ce que le deep learning doit compenser.

## 9 Notions importantes

- Multiview imaging (4 vues orthogonales)
- PSF anisotrope / isotrope
- Multiview deconvolution GPU
- Registration robuste (NCC + RANSAC)
- Résolution isotrope dans les grands volumes
- Imagerie fonctionnelle haute vitesse

## 10 Référence BibTeX

```
@article{Chhetri2015IsoView,  
    title={Whole-animal functional and developmental imaging  
        with isotropic spatial resolution},  
    author={Chhetri, R.K. and Amat, F. and Wan, Y. and  
        H{o}ckendorf, B. and Lemon, W.C. and Keller, P.J.},  
    journal={Nature Methods},  
    year={2015},  
    doi={10.1038/nmeth.3632}  
}
```