

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 specimens 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 grossière : 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 = $0.60\text{ }\mu\text{m}$ latéral, $2.98\text{ }\mu\text{m}$ axial.
- IsoView (4 vues, deconv.) : **$0.42 \pm 0.02\text{ }\mu\text{m}$ 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 :

- $1.1\text{--}1.7\text{ }\mu\text{m}$ dans la majorité du volume.
- Jusqu'à $2.5\text{ }\mu\text{m}$ 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 $800 \times 400 \times 400\text{ }\mu\text{m}^3$ à 1 Hz.
- Noyaux résolus dans les couches profondes ($170\text{ }\mu\text{m}$).

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 \rightarrow 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 \rightarrow 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}  
}
```