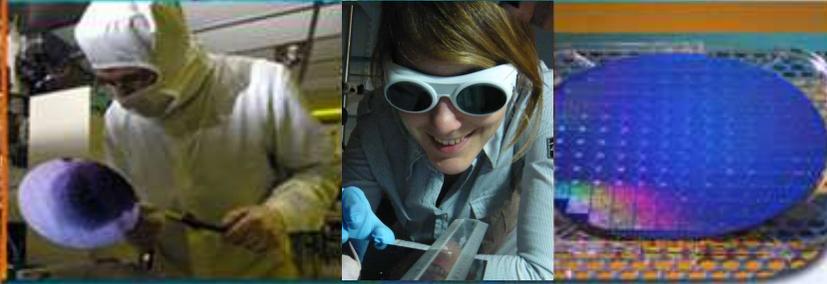


micro and nanoelectronics
microsystems
ambient intelligence
image chain
biology and health



Spectroscopie de fluorescence en milieu diffusant pour l'étude de structures profondes

Montcuquet Anne-Sophie

Directeur de thèse: J. Mars

Responsable CEA: J. M. Dinten

Encadrant CEA: L. Hervé

leti



Ecole d'été Peyresq 2009 – 23 Juillet 2009

Plan de présentation

1. Introduction
 1. Contexte
 2. Problématique
2. Séparation de sources de fluorescence par FMN
 1. 1D
 2. 2D et multiplexage
3. Régularisation
4. Conclusion et perspectives

Plan de présentation

1. Introduction

1. Contexte

2. Problématique

2. Séparation de sources de fluorescence par FMN

1. 1D

2. 2D et multiplexage

3. Régularisation

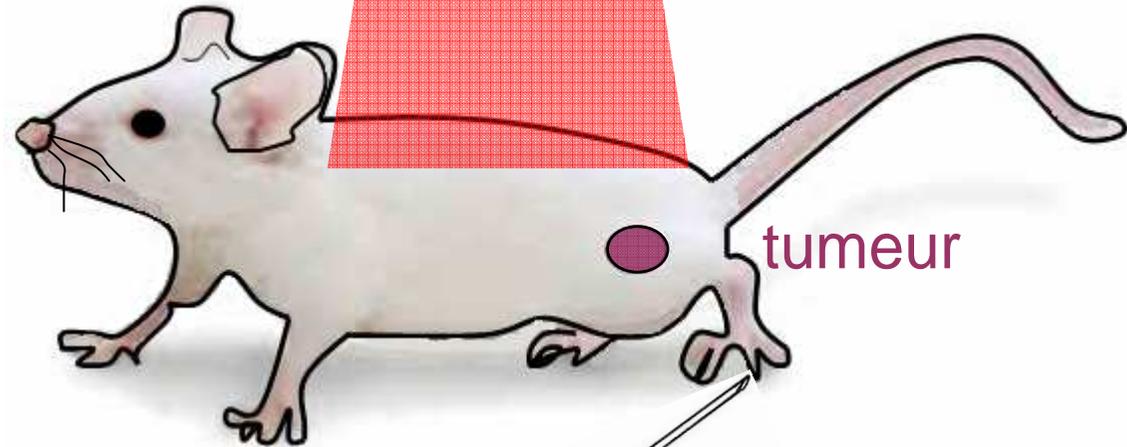
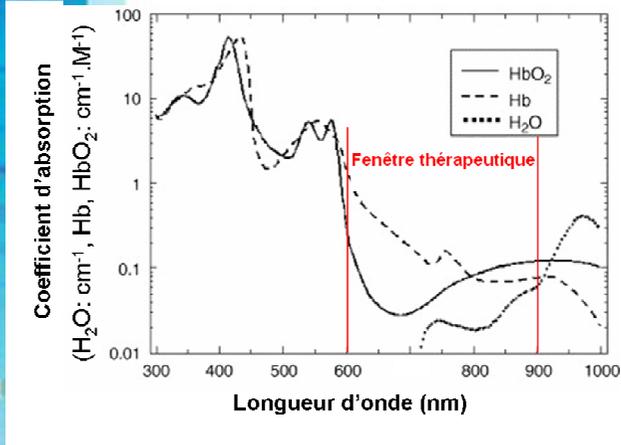
4. Conclusion et perspectives

Contexte

- Exploration des tissus par de la lumière visible: proche infra rouge
→ Limite l'absorption des tissus



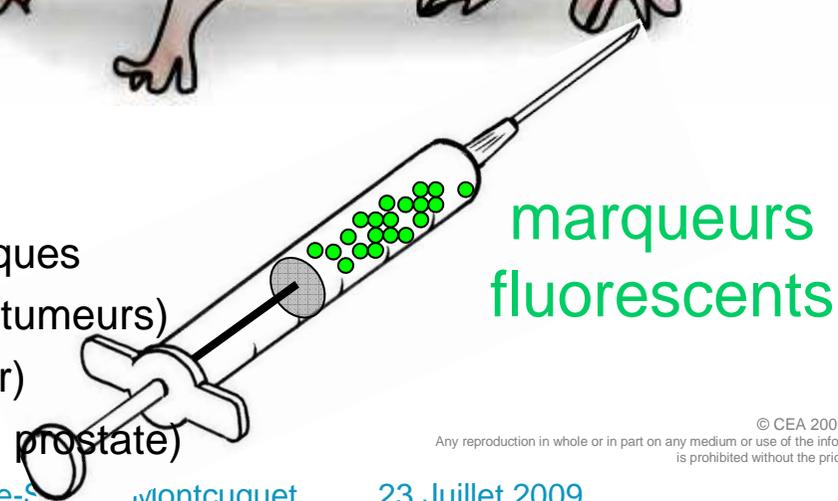
source laser



tumeur

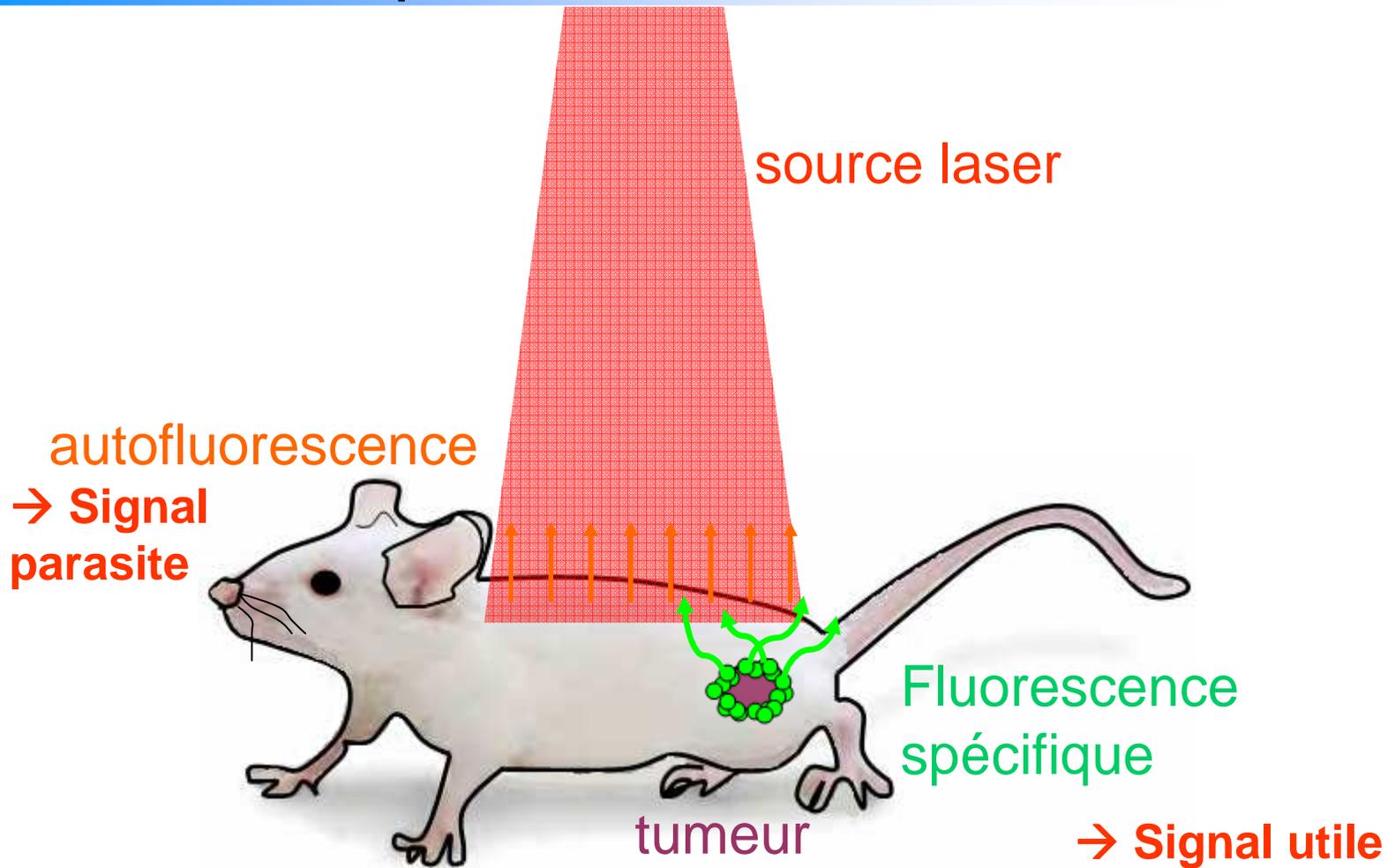
- Localisation de marqueurs fluorescents
- Applications:

- Etude de mécanismes biologiques
- Outil Diagnostic (détection de tumeurs)
 - Petit animal (corps entier)
 - Homme (cerveaux, sein, prostate)



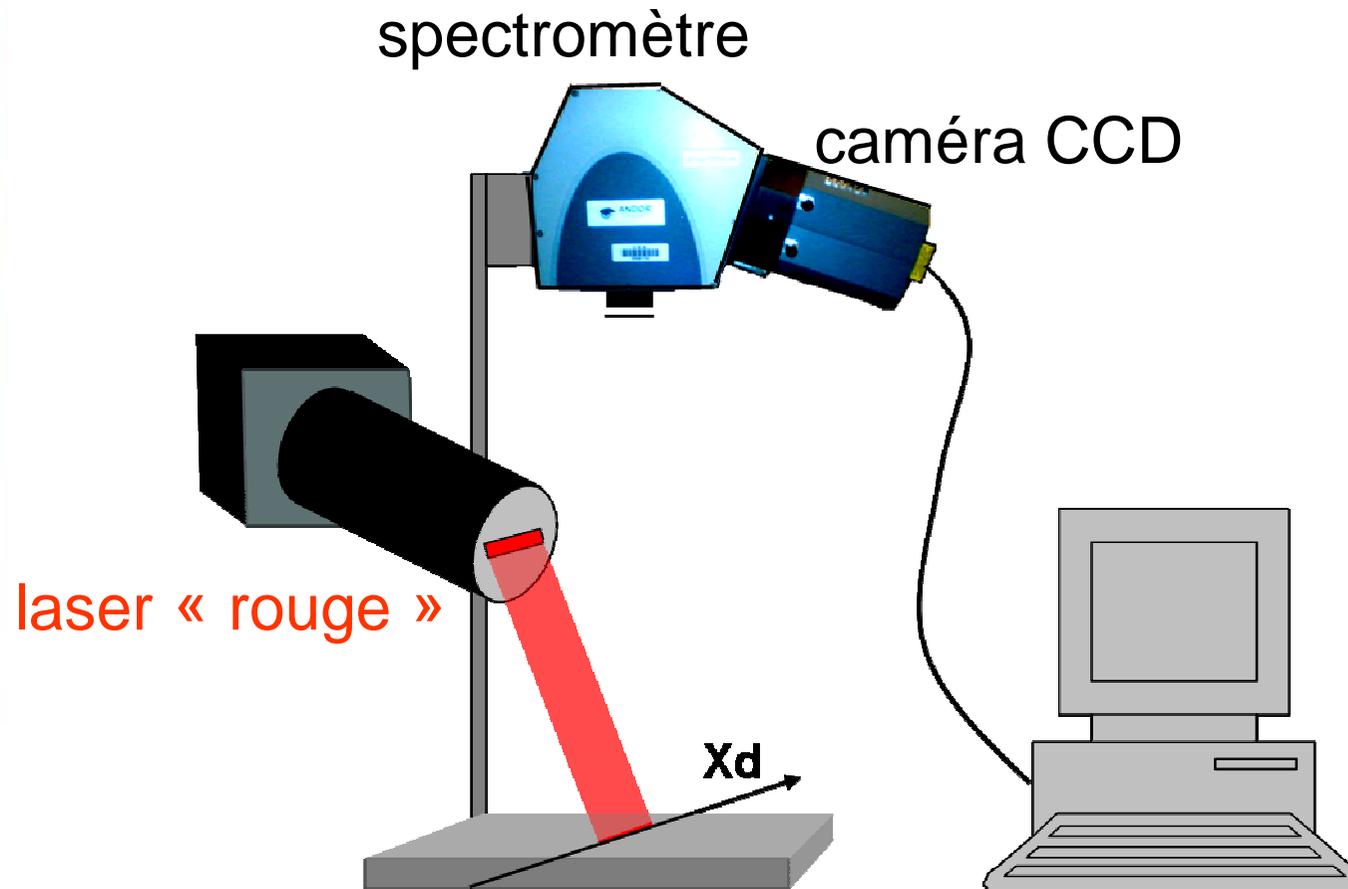
marqueurs
fluorescents

Problématique



→ Analyse spectrale des signaux de fluorescence

Dispositif expérimental



Plan de présentation

1. Introduction

1. Contexte

2. Problématique

2. Séparation de sources de fluorescence par FMN

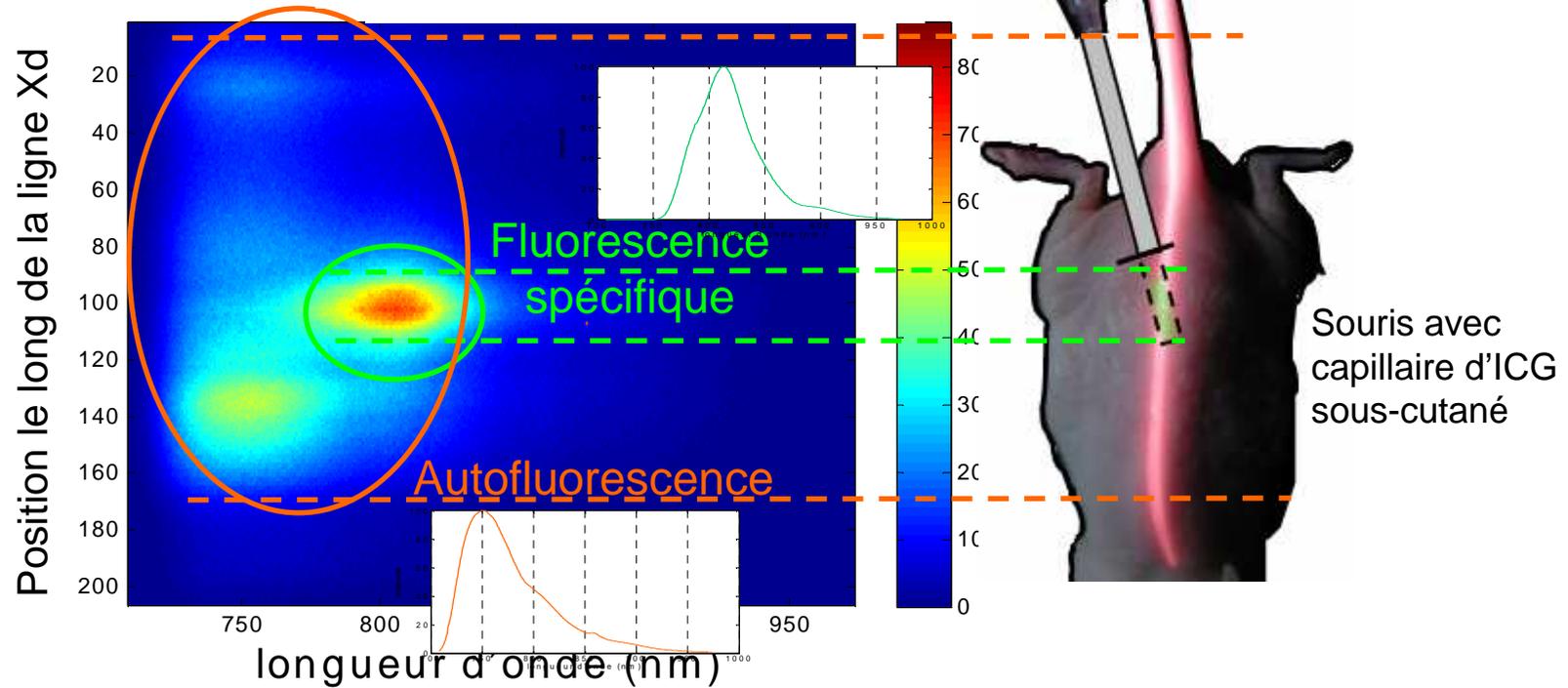
1. 1D

2. 2D et multiplexage

3. Régularisation

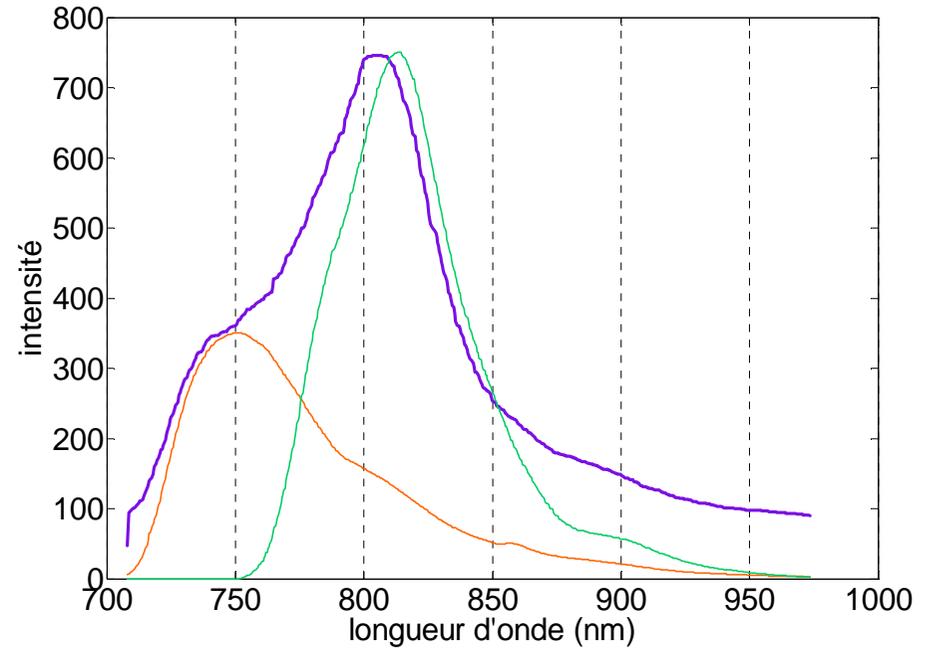
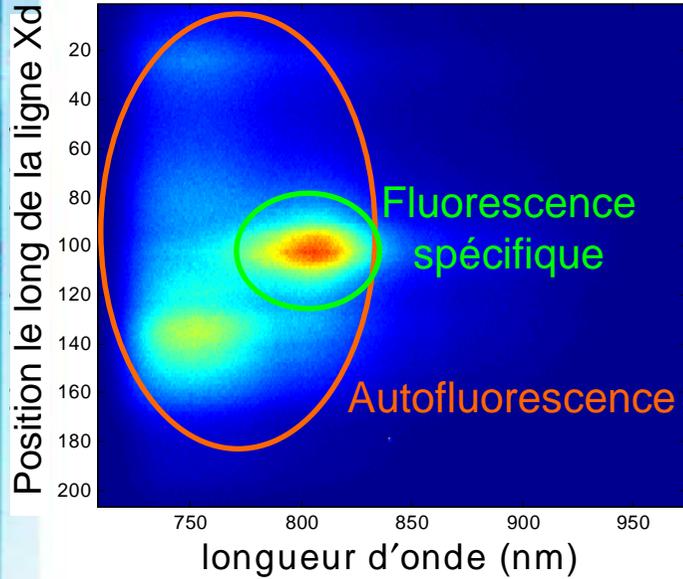
4. Conclusion et perspectives

Problématique



Développer un algorithme de séparation de spectres adapté à nos données spectrales

Problématique



Chevauchement de spectres

- Variation des spectres *in vivo*
- Proportion autofluorescence / fluorescence spécifique inconnue

→ Déconvolution aveugle

Plan de présentation

1. Introduction
 1. Contexte
 2. Problématique
2. Séparation de sources de fluorescence par FMN
 1. 1D
 2. 2D et multiplexage
3. Régularisation
4. Conclusion et perspectives

Séparation de sources

Factorisation en Matrices non Négatives (FMN)

. **Enoncé du problème:**

Etant donnée une matrice non-négative $X \in \mathbf{R}^{N_{xd} \times N_{\lambda}}$, trouver les matrices non-négatives $A \in \mathbf{R}^{N_{xd} \times P}$ et $S \in \mathbf{R}^{P \times N_{\lambda}}$ telles que :

$$X \approx AS$$

Nombre de sources
fluorescentes recherchées

Fonction de coût à minimiser :

$$Q^{FMN} = \sum_{i_{xd}=1}^{N_{xd}} \sum_{i_{\lambda}=1}^{N_{\lambda}} \left(x_{i_{xd}, i_{\lambda}} - \sum_{p=1}^P (a_{i_{xd}, p} \cdot s_{p, i_{\lambda}}) \right)^2$$

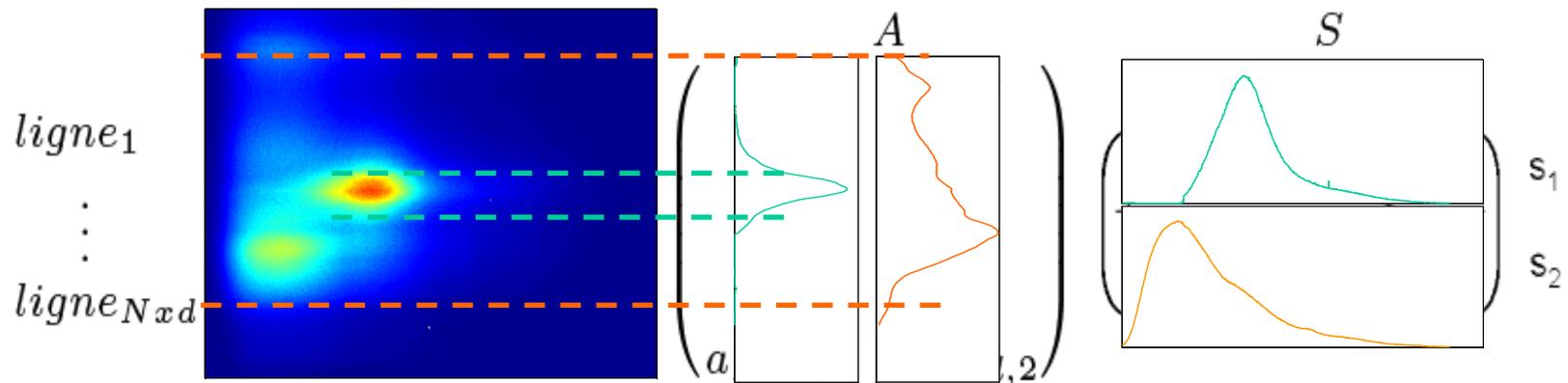
Attache aux données

Factorisation en Matrices non Négatives (FMN)

. **Vulgarisation:** $X \simeq AS$ Deux sources de fluorescence recherchées

$$X = \begin{pmatrix} x_{11} & \dots & x_{1,N\lambda} \\ \vdots & & \vdots \\ x_{Nxd,1} & \dots & x_{Nxd,N\lambda} \end{pmatrix} \simeq \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} \\ \vdots & \vdots \\ a_{Nxd,1} & a_{Nxd,2} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} s_{11} & \dots & s_{1,N\lambda} \\ s_{21} & \dots & s_{2,N\lambda} \end{pmatrix}$$

$\xleftrightarrow{P=2}$ (under the matrix A) $\updownarrow P=2$ (next to the matrix S)



Chaque ligne de la matrice X est alors une combinaison linéaire des spectres s_1 et s_2 :

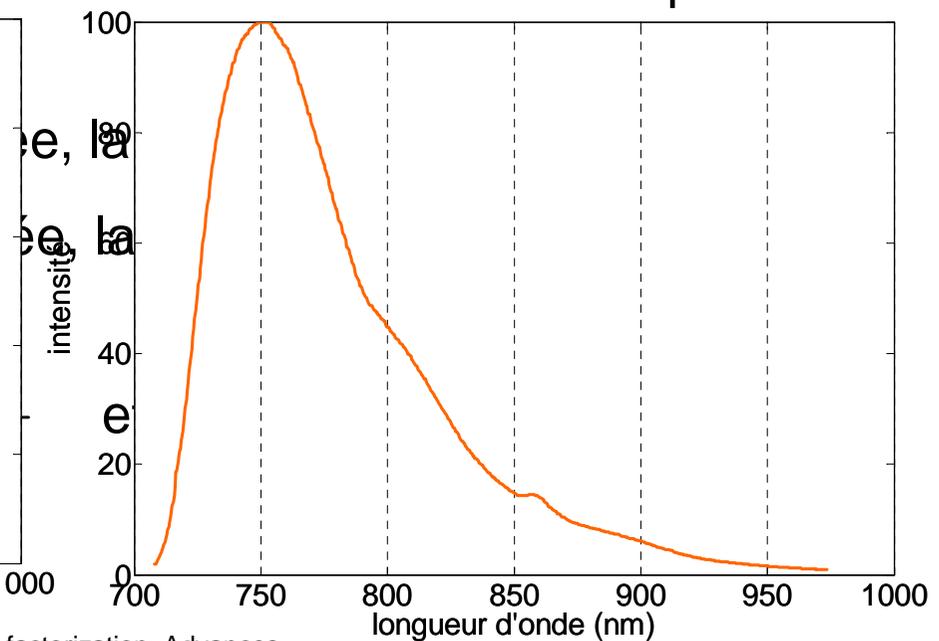
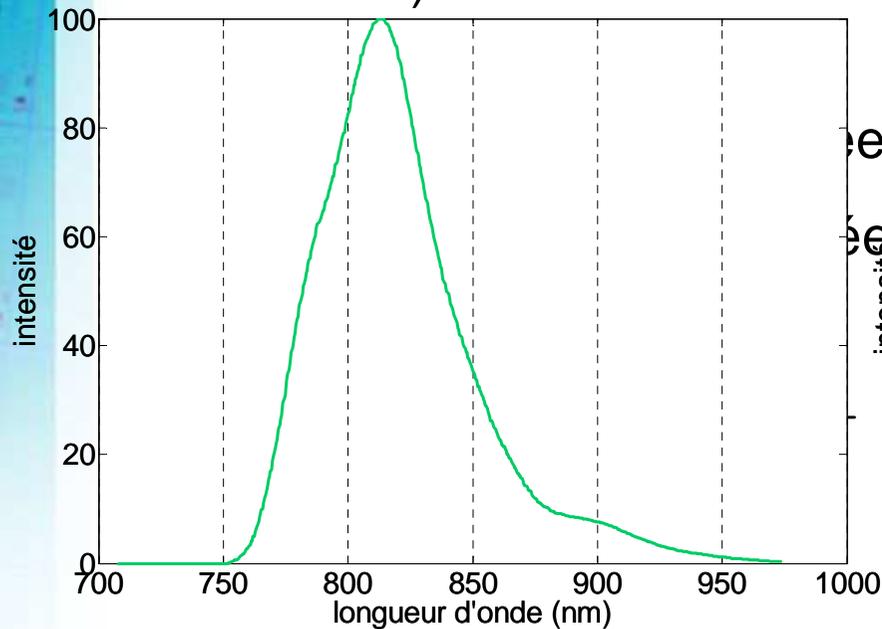
$$ligne_i = a_{i1} \times s_1 + a_{i2} \times s_2 \quad i \in (1, m)$$

Factorisation en Matrices non Négatives (FMN)

. Algorithme:

1) matrices initiales A et S qui respectent les contraintes de positivité

On fixe les p lignes de la matrice S initiale
2) minimisation de la fonction Q^{FMN} en deux étapes



*D.D. Lee and H.S. Seung. Algorithms for non-negative matrix factorization. Advances in neural information processing systems, 13 :556–562, 2001.

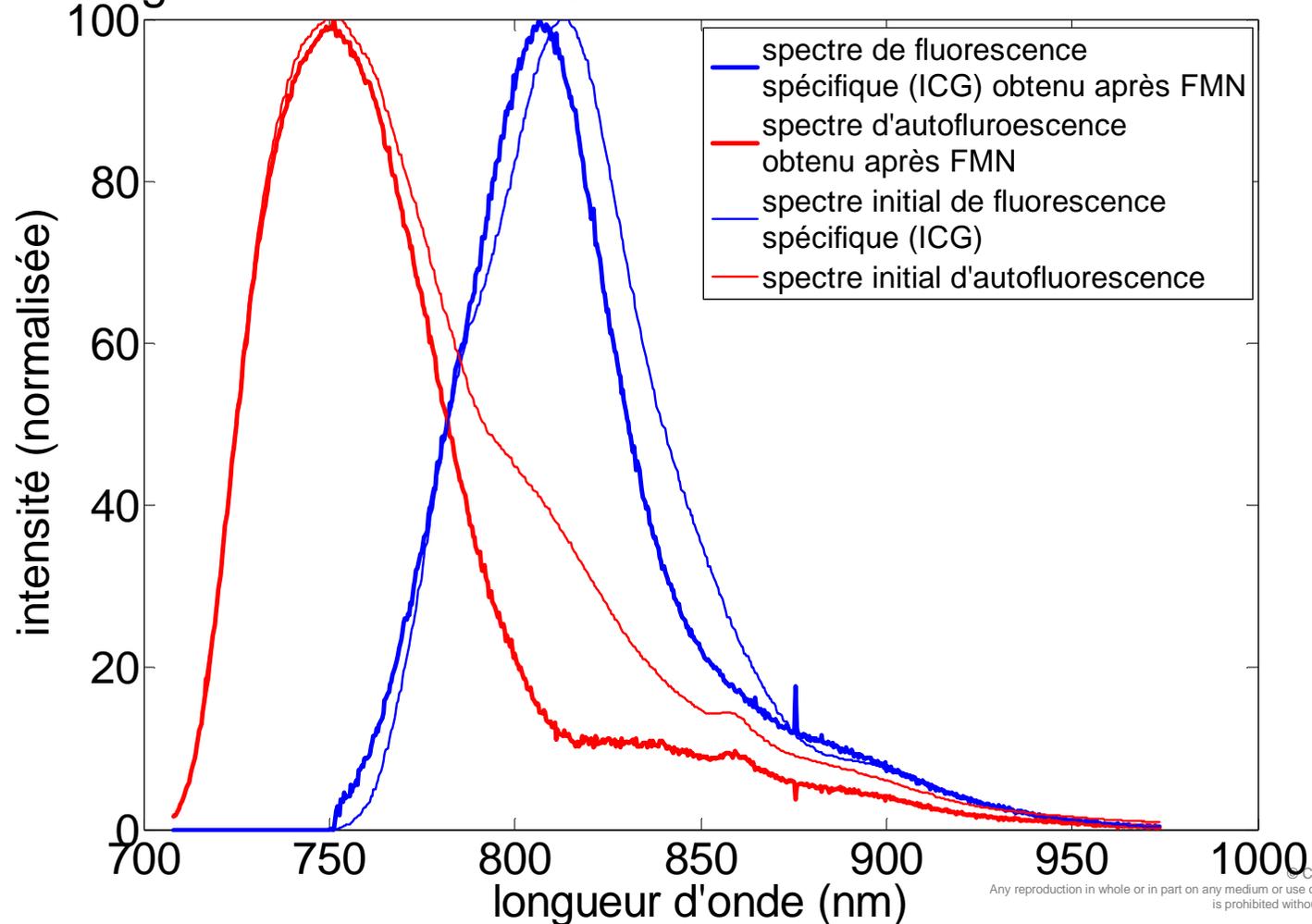
© CEA 2009. All rights reserved
Any reproduction in whole or in part on any medium or use of the information contained herein is prohibited without the prior written consent of CEA.



Résultats

Factorisation en Matrices non Négatives (FMN)

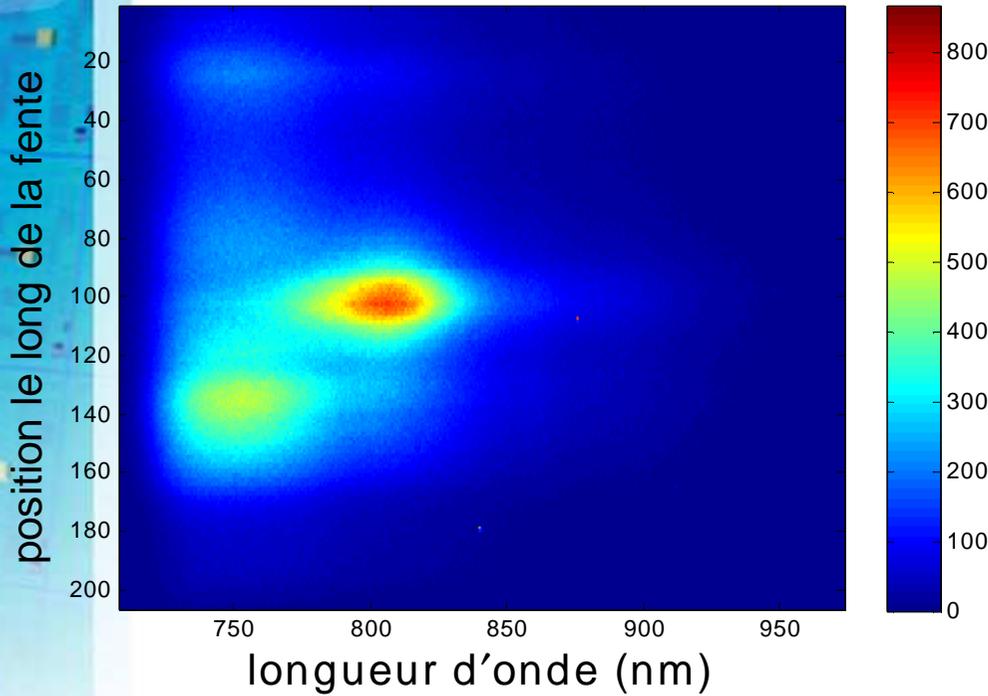
Deux lignes de la matrice S



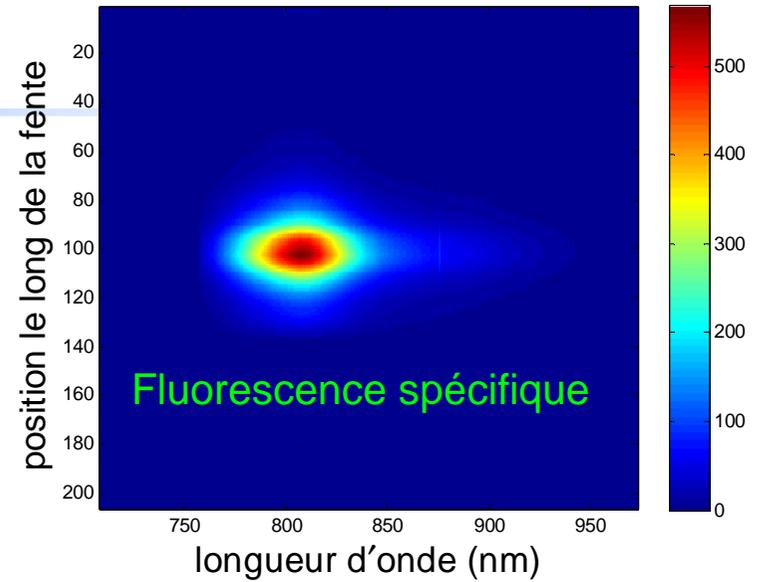
© CEA 2009. All rights reserved
Any reproduction in whole or in part on any medium or use of the information contained herein is prohibited without the prior written consent of CEA.

Résultats

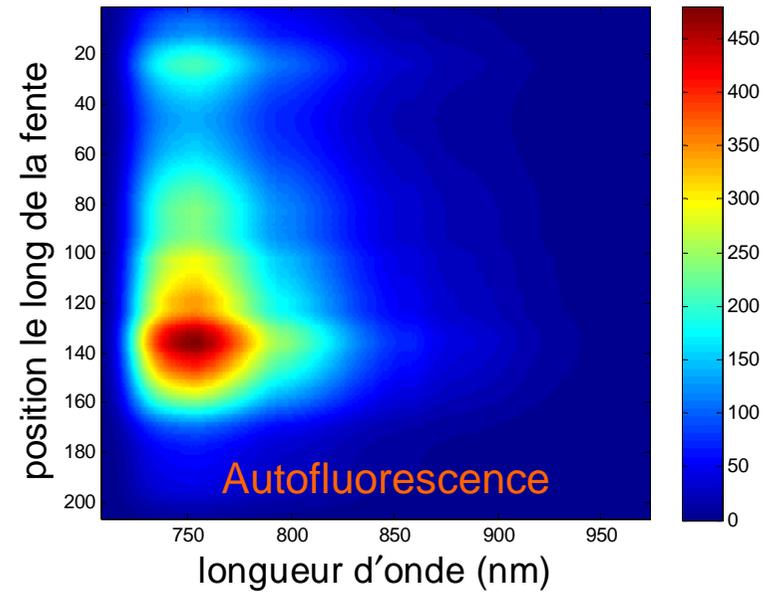
Image de départ



1ere source détectée



2e source détectée



© CEA 2009. All rights reserved
Any reproduction in whole or in part on any medium or use of the information contained herein
is prohibited without the prior written consent of CEA.

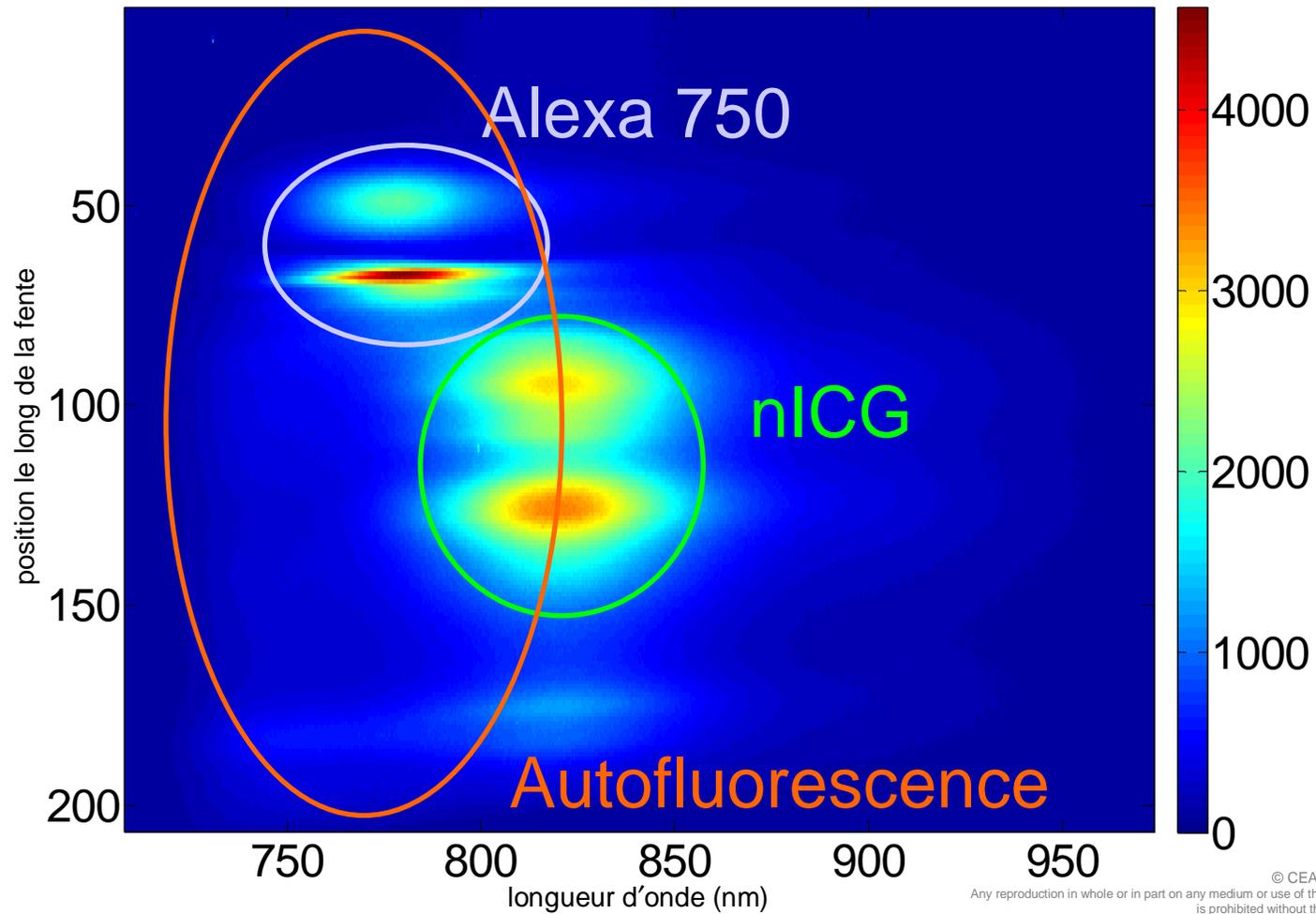
Plan de présentation

1. Introduction
 1. Contexte
 2. Problématique
2. Séparation de sources de fluorescence par FMN
 1. 1D
 2. 2D et multiplexage
3. Régularisation
4. Conclusion et perspectives

Multiplexage

- plusieurs marqueurs fluorescents

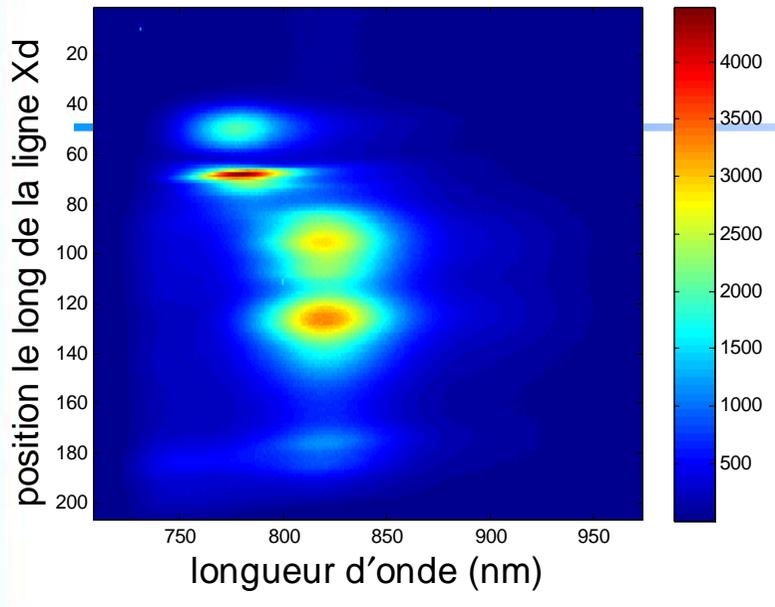
Image de départ



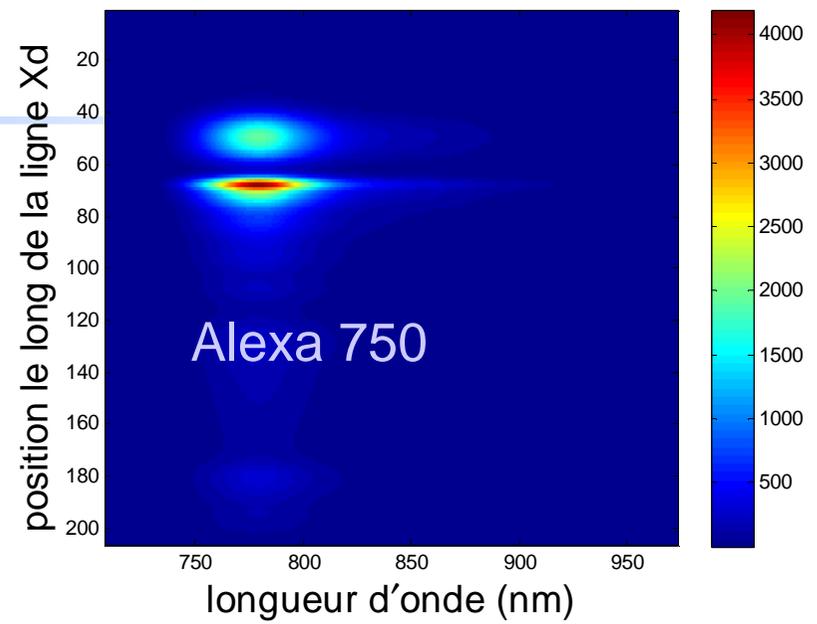
© CEA 2009. All rights reserved
Any reproduction in whole or in part on any medium or use of the information contained herein
is prohibited without the prior written consent of CEA.



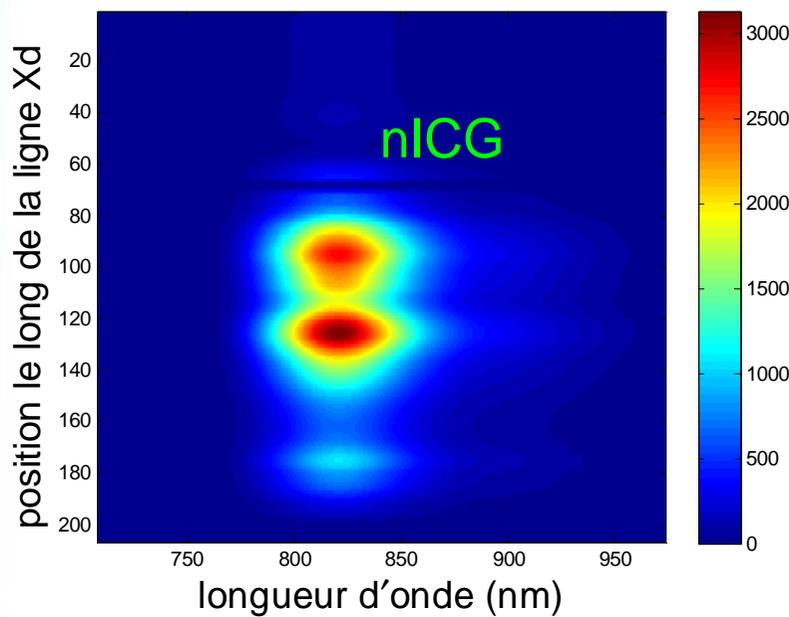
Image de départ



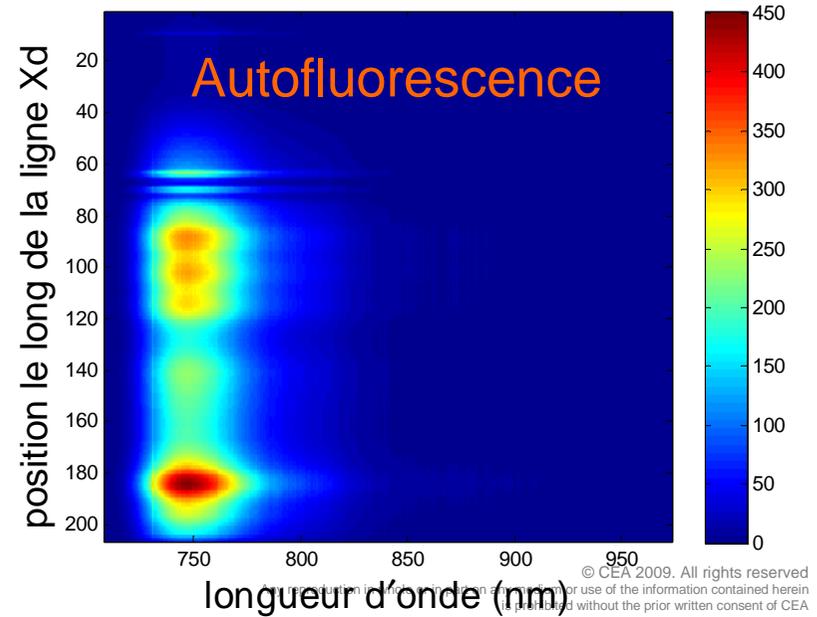
Résultat 1ère source détectée



Résultat 2e source détectée



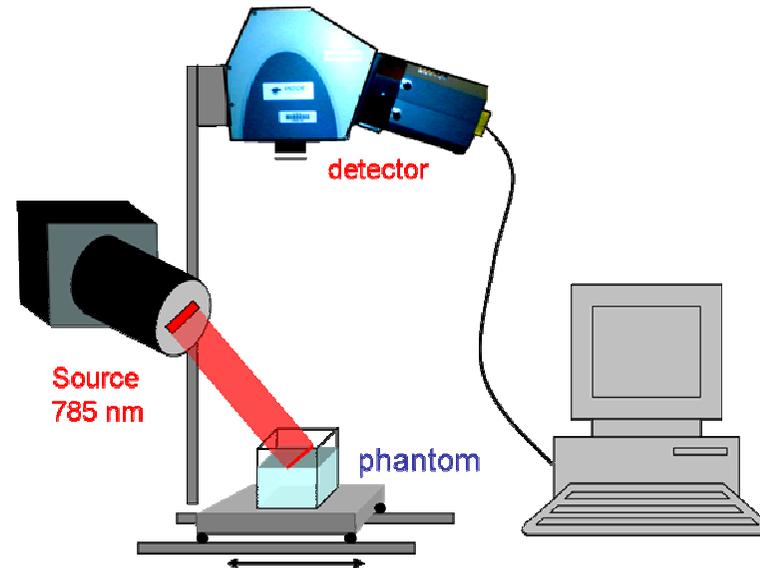
Résultat 3e source détectée



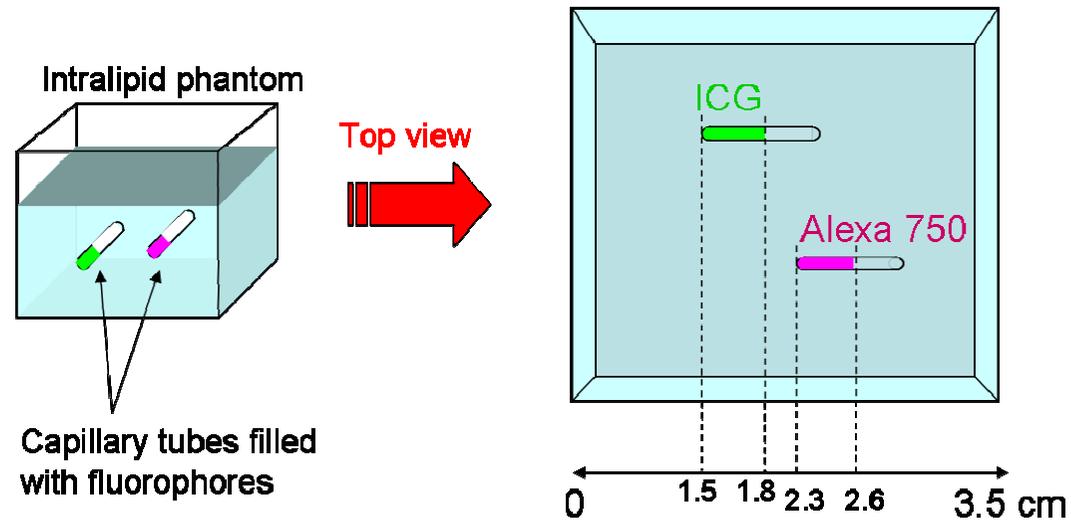
© CEA 2009. All rights reserved
No reproduction or use of the information contained herein
is permitted without the prior written consent of CEA.

Passage en 2D

Montage:

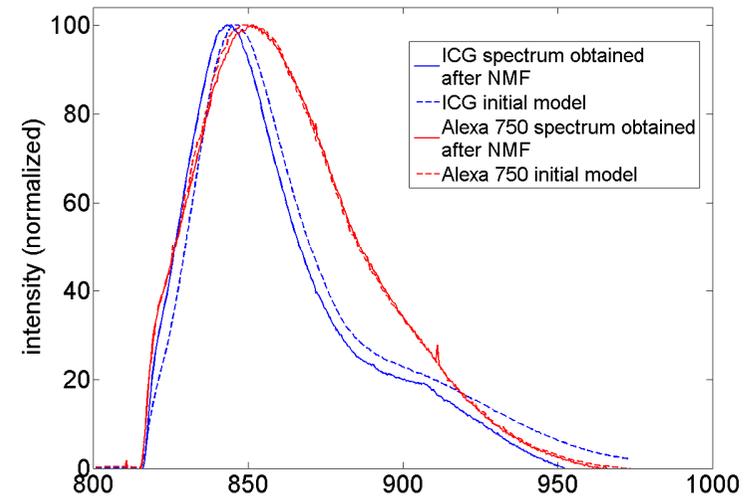
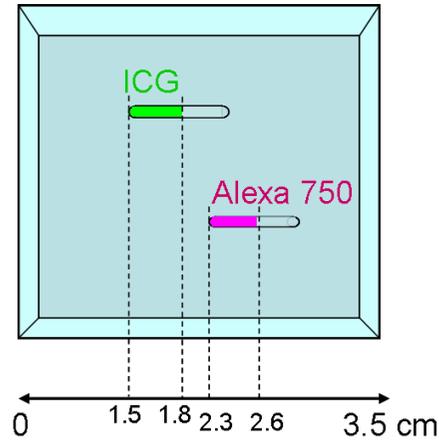


Fantôme:

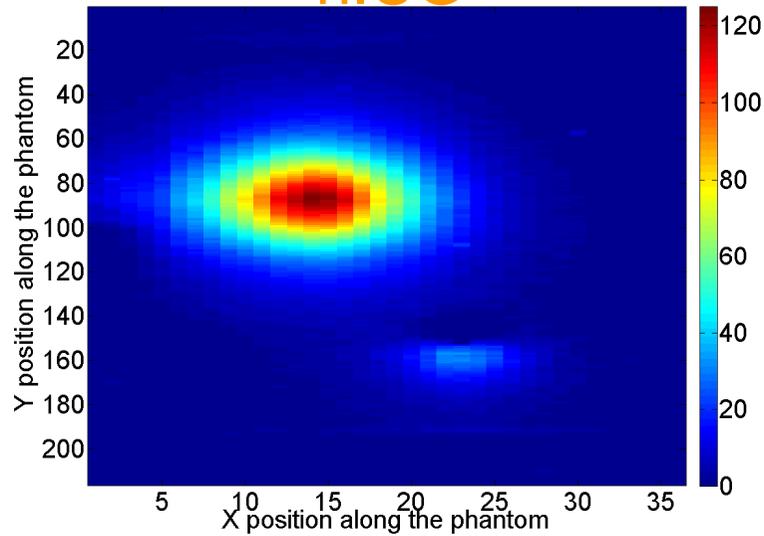


Résultats

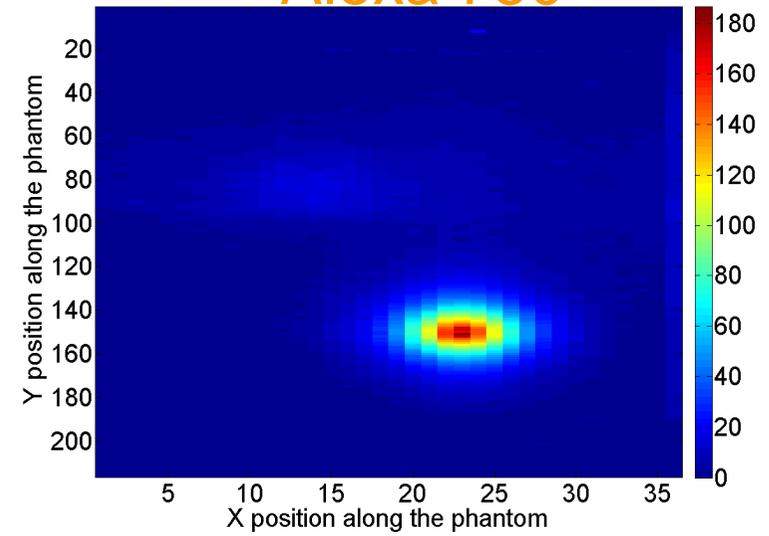
Vue de dessus du fantôme



nICG



Alexa 750



ed
ein
is prohibited without the prior written consent of CEA.

Plan de présentation

1. Introduction
 1. Contexte
 2. Problématique
2. Séparation de sources de fluorescence par FMN
 1. 1D
 2. 2D et multiplexage
3. Régularisation
4. Conclusion et perspectives

Régularisation

Limitation de la distance modèle-résultat:

$$C_2 = \alpha_2 \| (S - S_0) \|^2$$

Nouvelle fonction F à minimiser:

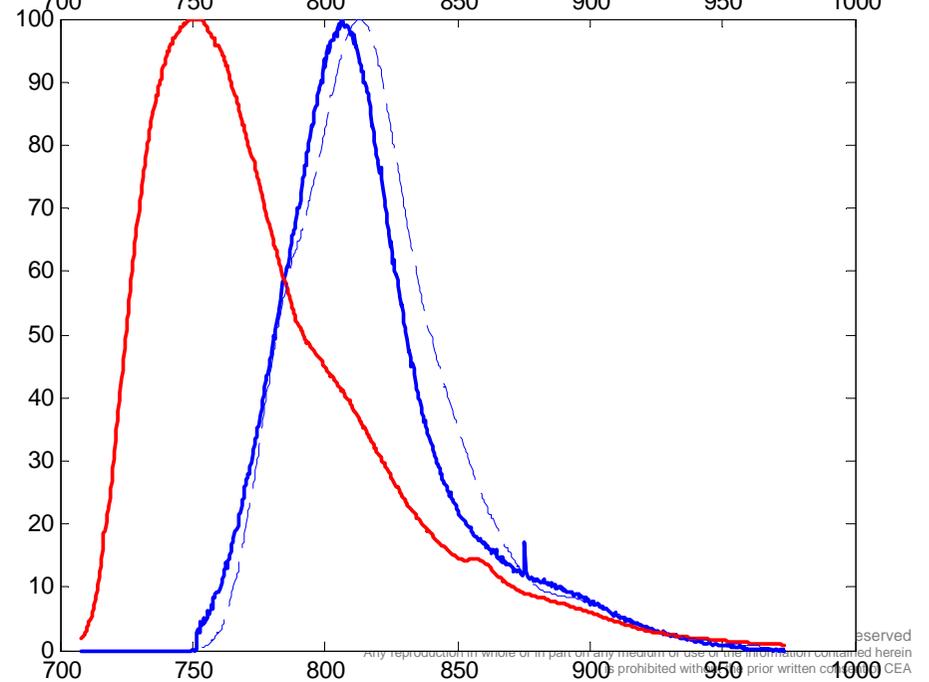
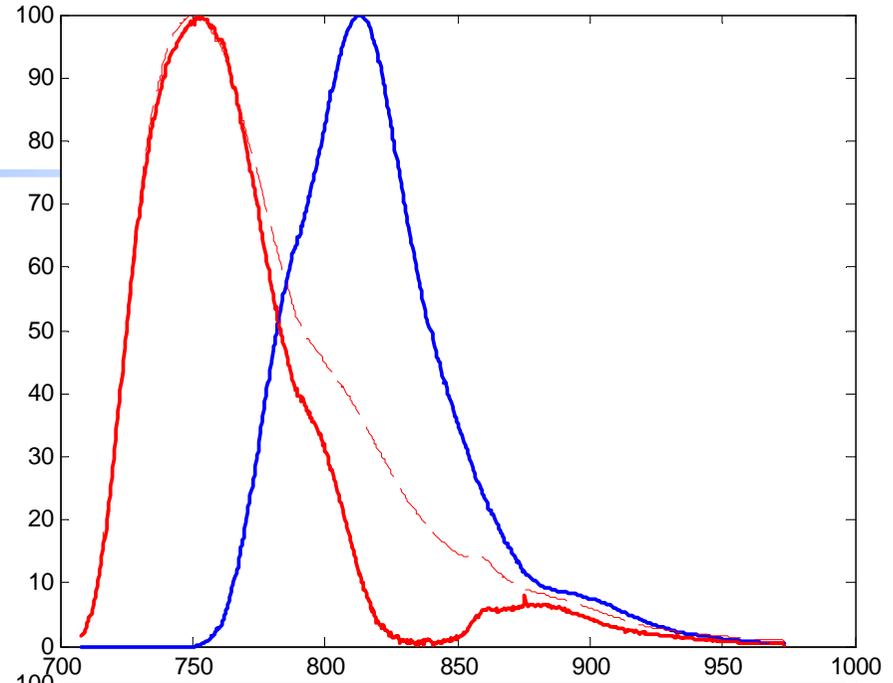
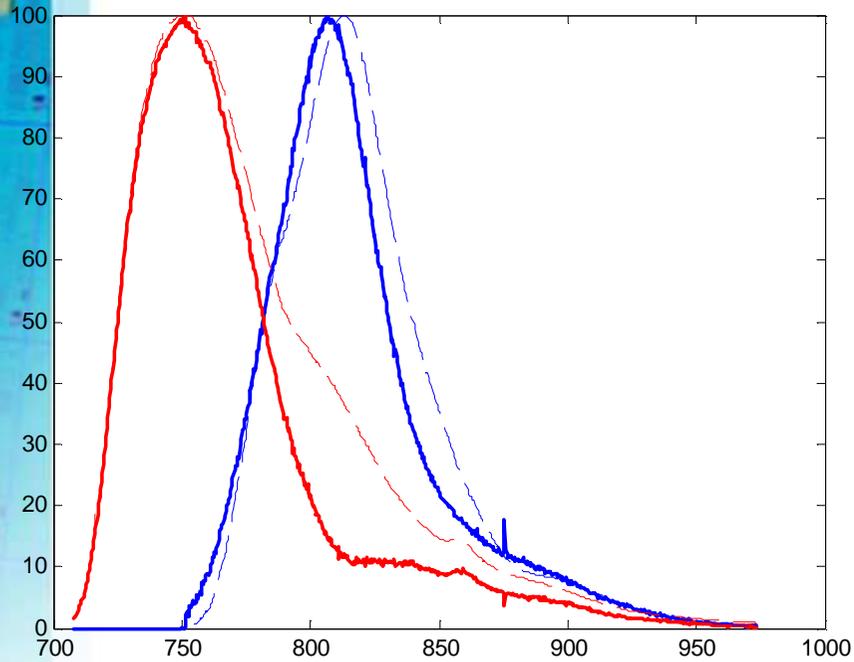
$$F(h) = \frac{1}{2} \sum_i (v_i - \sum_a W_{ia} h_a)^2 + \frac{1}{2} \alpha \sum_a (h_a - h_a^0)^2$$

$\begin{matrix} \uparrow & & \uparrow & & \uparrow & & \uparrow & & \uparrow \\ S & & X & & A & S & & S & & S^0 \end{matrix}$

Nouvelle loi de mise à jour pour S?

$$a_{ik}^{(n+1)} = a_{ik}^{(n)} \frac{(XS^{T(n)})_{ik}}{(A^{(n)} S^{(n)} S^{T(n)})_{ik}} \quad \text{et} \quad s_{kj}^{(n+1)} = s_{kj}^{(n)} \frac{(A^{T(n+1)} X)_{kj}}{(A^{T(n+1)} A^{(n+1)} S^{(n)})_{kj}}$$

Pondérations différentes Distance à l'origine



Plan de présentation

1. Introduction
 1. Contexte
 2. Problématique
2. Séparation de sources de fluorescence par FMN
 1. 1D
 2. 2D et multiplexage
3. Régularisation
4. Conclusion et perspectives

Conclusion

. Méthode FMN

- . Adaptée aux données spectrales manipulées
- . Plus robuste que d'autres méthodes de séparation de sources

. Perspectives

- . Evolution du banc
- . Reconstruction 3D
- . Application?



Merci de votre attention