

Spécialité de Master « Optique, Matière, Plasmas »

Stage de recherche (4 mois minimum, à partir de début mars 2012)

Proposition de stage pour l'année 2011-2012

Date de la proposition : 16/11/2011

Responsable du stage / internship supervisor:			
Nom / name:	Lévêque-Fort	Prénom/ first name :	Sandrine
Tél :	01 69 15 36 23	Fax :	01 69 15 36 20
Courriel / mail:	sandrine.leveque-fort@u-psud.fr		
Co-Responsable du stage / internship supervisor:			
Nom : Dupuis Guillaume			
Tél : 01 69 15 36 23 guillaume.dupuis@u-psud.fr			
Centre de Photonique biomédical (CPBM)			
Nom du Laboratoire / laboratory name: Institut des sciences moléculaires d'Orsay (ISMO)			
Code d'identification : UMR 8214		Organisme : CNRS/ Univ Paris-Sud	
Site Internet / web site: www.ismo.u-psud.fr			
Adresse / address: Bât 210 et 106, Université Paris Sud, 91405 Orsay			
Lieu du stage / internship place: CPBM Bât 106 Université Paris-Sud, 91405 Orsay			

Titre du stage / internship title: Microscopie de fluorescence sous illumination structurée
Résumé / summary La microscopie de fluorescence est l'outil de référence pour l'étude in-vivo des interactions moléculaires en milieu cellulaire. L'optimisation de la résolution spatiale offerte par ces microscopes apparaît comme un enjeu majeur pour assurer un suivi hautement spécifique. C'est dans ce but que l'équipe de Biophotonique de l'ISMO développe en collaboration avec le CPBM des dispositifs de microscopies innovants, qui sont directement appliqués à des problématiques biomédicales concrètes. L'une de ces approches concerne l'amélioration de la résolution spatiale sous excitation monophotonique, qui permet de travailler en champ large mais sans sélection axiale. La mise en place de la technique d'illumination structurée apparaît comme la technique la plus attractive car elle offre une résolution quasi-confocale ($< \mu\text{m}$) tout en conservant l'excitation plein champ, ce qui permet le suivi par exemple en parallèle de plusieurs cellules. La structuration de l'excitation est obtenue en projetant un réseau (physique ou dynamique) dans le plan focal de l'échantillon, plusieurs images doivent ensuite être enregistrées puis combinées pour extraire la fluorescence modulée issue d'une fine section dans l'échantillon. Nous avons choisi d'utiliser une matrice de micro-miroirs (DMD) afin de pouvoir changer en temps réel le pas du réseau modulant l'excitation. Cette approche dynamique permet d'utiliser facilement une technique de reconstruction appelée HiLo (pour « High Low » en référence aux fréquences spatiales de l'image). Elle nécessite l'acquisition de seulement deux images pour extraire précisément une section à l'intérieur de l'échantillon : une image avec projection du réseau qui sert à isoler les basses fréquences de la section, et une image sans projection du réseau de laquelle on extrait les informations à haute fréquence. Cette approche permet d'obtenir à cadence vidéo des images de fluorescence plein champ avec une résolution axiale submicronique. Le sujet de ce stage concerne donc le développement de ce nouveau microscope. Il s'agira notamment de mettre en place la structuration de l'excitation, d'assurer le pilotage de la matrice de DMD et la synchronisation avec la caméra EMCCD, d'adapter les outils de reconstruction d'images. L'évaluation des performances sera réalisée sur des images d'intensité de fluorescence pour des échantillons modèles puis pour différentes problématiques neurobiologiques. Dans une deuxième phase, nous souhaitons pouvoir acquérir des images de durée de vie de fluorescence (FLIM) associées uniquement à une fine section à l'intérieur de l'échantillon, afin de spécifiquement mettre en évidence des interactions protéines-protéines.

Ce stage pourra-t-il se prolonger en thèse ? Possibility of a PhD ? : oui			
Si oui, financement de thèse envisagé/ financial support for the PhD: Ministère			
Lasers et matière	x	Lumière, Matière : Mesures Extrêmes	x
Optique de la science à la technologie	x	Plasmas : de l'espace au laboratoire	