

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:	Dupuis	Prénom / first name :	Guillaume
Tél :	01 69 15 36 23	Fax :	01 69 15 36 20
Courriel / mail:	guillaume.dupuis@u-psud.fr		
Co-Responsable du stage / internship supervisor:			
Nom : Sandrine Lévêque-Fort			
Tél : 01 69 15 36 23 sandrine.leveque-fort@u-psud.fr			
Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay (ISMO)			
Nom du Laboratoire / laboratory name: Centre Laser de l'Université Paris-Sud (fédération LUMAT)			
Code d'identification : FR 2764		Organisme : Université Paris-Sud / CNRS	
Site Internet / web site: www.clups.u-psud.fr			
Adresse / address: Bât 106, Université Paris-Sud, 91405 Orsay			
Lieu du stage / internship place: Centre de Photonique Biomédicale, Bât 106, Université Paris-Sud			

Titre du stage / internship title: Microscopie super-résolue par photo-activation (microscopie PALM)
Résumé / summary <p>Le Centre de Photonique Biomédicale (CPBM) est une plate-forme technologique d'imagerie de la dynamique de fluorescence, au sein de laquelle nous développons des microscopes innovants en collaboration avec l'équipe Biophotonique de l'ISMO. Cet environnement pluri-disciplinaire (optique, physico-chimie, biologie, médecine) favorise l'utilisation de nos dispositifs dans le cadre de problématiques biomédicales réelles.</p> <p>Les microscopes optiques en champ lointain ont une résolution spatiale limitée par la diffraction. En microscopie de fluorescence, la limite de diffraction est conditionnée notamment par la longueur d'onde du rayonnement et par l'ouverture numérique de l'objectif : dans le visible, on peut donc espérer au mieux environ $200 \text{ nm} \times 600 \text{ nm}$ de résolution spatiale (transversale \times axiale). La microscopie PALM (<i>Photo-Activation Localization Microscopy</i>) est une technique de super-résolution qui améliore drastiquement la résolution spatiale transversale d'un microscope optique, ce qui rend possible l'imagerie de processus biologiques à l'échelle de la molécule unique. Cette technique repose sur l'utilisation de marqueurs fluorescents photo-convertibles dont l'expérimentateur contrôle l'activation stochastique, la lecture, puis la désactivation. Le principe consiste à n'activer qu'une très petite fraction (moins de 1%) des sondes grâce à un pulse de lumière de courte longueur d'onde ($\sim 400 \text{ nm}$), puis à réaliser une image en fluorescence des sondes activées avec une source appropriée ($\sim 560 \text{ nm}$). Le barycentre de la tache de fluorescence relative à chaque sonde individuelle est alors localisé avec une précision bien supérieure à la limite de diffraction ($\sim 10 \text{ nm}$), puis les sondes activées sont éliminées par photoblanchiment. Une seconde fraction des sondes est ensuite activée, lue, localisée puis éliminée : ce cycle est répété plusieurs milliers de fois de façon à accéder à la localisation de la quasi-totalité des sondes présentes. L'image PALM est l'image composite obtenue en sommant les contributions des localisations nanométriques relatives à chaque cycle.</p> <p>Le sujet du stage concerne donc le développement d'un microscope PALM à ondes évanescentes (TIRF : <i>Total Internal Reflection Fluorescence</i>) : notre objectif est d'atteindre une résolution spatiale de $20 \text{ nm} \times 100 \text{ nm}$ (transverse \times axiale) et la configuration TIRF est nécessaire pour améliorer la résolution axiale. Il s'agira donc d'adapter notre système actuel (configuration TIRF) pour permettre l'acquisition d'images PALM, en synchronisant les phases d'activation, de lecture et de désactivation des sondes fluorescentes. Les conditions d'excitation et de collection du signal seront optimisées puisque le signal utile provient d'une infime quantité de sondes fluorescentes activées, ce qui contraint fortement la localisation précise du barycentre des taches individuelles, donc la résolution spatiale transversale de l'image finale. Un traitement d'images approprié sera mis en place pour la localisation nanométrique des sondes fluorescentes. Enfin, le système sera testé sur des échantillons neurobiologiques dans le cadre de notre collaboration avec nos collègues du Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (CRICM) sur la Maladie d'Alzheimer.</p>

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	