
Sylvain RIVET

sylvain.rivet@univ-brest.fr

Yann LE Grand

Yann.legrand@univ-brest.fr

Matthieu DUBREUIL

Matthieu.dubreuil@univ-brest.fr

Sujet de thèse :
Microscopie multimodale plein champ par Illumination Spectralement Structurée

L'objectif est le développement d'une nouvelle technologie de microscopes optiques basée sur une illumination spectralement structurée utilisant plusieurs diodes électroluminescentes (LED) rapidement commutables, capables d'imager et de quantifier de très faibles variations d'anisotropie de polarisation (biréfringence et dichroïsme), mais également de phase au sein d'échantillons biologiques, et ceci à la cadence vidéo.

Les microscopes à contraste de phase ou de polarisation couramment utilisés en biologie sont des microscopes plein champ, c'est-à-dire que l'image se forme en une seule fois (tous les points de l'échantillon sont imagés en parallèle), contrairement aux microscopes à balayage. Ces microscopes sont en général employés pour imager sans coloration et avec un meilleur contraste les milieux fins et transparents (ex : paroi des cellules, des assemblages orientés de protéines : collagène, myosine, microtubules, amylopectine) dans des cultures cellulaires, tissus biologiques ou organismes marins (algues). Cependant les microscopes à contraste de phase ou de polarisation sont actuellement limités car si on souhaite quantifier avec une bonne sensibilité les variations de phase et/ou d'anisotropie de polarisation, il faut insérer dans le microscope des éléments optiques pilotables électriquement (ex : cristaux liquides) et enregistrer plusieurs images successives. La vitesse de commutation des éléments optiques ainsi que le nombre d'images nécessaires ne permettent actuellement pas d'imager ni de quantifier l'anisotropie et la phase à la cadence vidéo, ce qui réduit le champ d'application de ces microscopes à des milieux biologiques « figés ».

L'outil que nous proposons est d'un intérêt considérable car il permettra de quantifier en temps réel (> 25 images/s) et avec une très haute sensibilité les faibles variations de phase et d'anisotropie mises en jeu par exemple par le champ de contraintes mécaniques intracellulaire lors de la mitose, le trafic intracellulaire ou encore à plus long terme l'activité neuronale. De plus, la solution technique que nous envisageons est compatible avec les microscopes optiques usuels qui utilisent une caméra comme détecteur (microscopes plein champ), ce qui peut être un atout pour un transfert industriel, même dans le cas de l'étude d'échantillons

fixés. En effet, il suffira de changer le système d'éclairage du microscope par notre illumination LED et d'ajouter des éléments optiques passifs dans le trajet de la lumière pour transformer un microscope standard en un microscope capable de quantifier les variations de phase ou d'anisotropies à la cadence vidéo. Cette nouvelle technologie possède donc un fort potentiel industriel qui a suscité l'intérêt de la SATT Ouest Valorisation, qui souhaite accompagner le laboratoire OPTIMAG dans le brevetage de la technologie lorsque la preuve de concept aura été démontrée expérimentalement.

Enfin, l'illumination LED pourrait être également étendue à la microscopie de fluorescence pour déterminer l'orientation et le degré d'ordonnement des fluorophores dans différentes structures biologiques, (et mesures dynamiques liées à la viscosité par exemple) ou encore les localiser en profondeur (potentiel pour l'imagerie en 3D), ce qui présente un intérêt considérable pour la compréhension d'un bon nombre de phénomènes biologiques. En effet, la fluorescence permettra de rendre encore plus spécifique l'imagerie des structures biologiques.

En résumé, l'enjeu de ce projet de thèse est de développer de nouveaux dispositifs en microscopie de phase, de polarisation mais également de fluorescence, et d'atteindre une résolution spatiale, temporelle et une sensibilité de détection permettant de révéler, à l'échelle cellulaire, des structures d'intérêt biomédical. D'autre part un atout essentiel de cette nouvelle modalité d'imagerie est sa simplicité technique qui permet de l'implémenter sur tout microscope plein champ commercial, avec donc un impact industriel.

Pour plus d'informations, veuillez contacter Monsieur Rivet à l'adresse sylvain.rivet@univ-brest.fr