

## Stage M1 : Automatisation d'un microscope à feuille de lumière et analyse de front d'onde

### Contexte

La microscopie à feuille de lumière (« Light-Sheet Fluorescence Microscopy » LSFM ) est une technique très exploitée depuis ces dernières années en imagerie biologique pour ses propriétés intrinsèque de sectionnement optique et une phototoxicité et un photoblanchiment limités [1]. Couplée aux dernières avancées biochimiques permettant des marquages spécifiques et fonctionnels des échantillons, notamment en neuroimagerie, cette approche a montrée sa capacité à augmenter le rapport signal sur bruit ainsi que la résolution spatio-temporelle de l'imagerie *in vivo*[2]. La cartographie en 3D de réseaux de neurones reste néanmoins difficile car les performances d'imagerie en profondeur dans les tissus biologiques sont limitées par les aberrations optiques et la diffusion. Combiner la microscopie à feuille de lumière à des techniques d'Optique Adaptative (OA) permet d'obtenir un gain en sensibilité, en résolution et en profondeur d'imagerie, grâce à la correction du front d'onde déformé lors de sa propagation dans l'échantillon[3]. Toutefois l'implémentation d'une boucle d'OA sur un microscope reste complexe et nécessite soit une préparation spécifique et invasive de l'échantillon, soit l'utilisation d'un laser impulsif coûteux pour générer une source ponctuelle en profondeur dans les tissus.

L'équipe *Synthèse et Imagerie de Sondes Inorganiques (SI2)* au Laboratoire de Physique et d'Etude des Matériaux (LPEM) ) l'ESPCI, conjointement avec la société Imagine Optic, a développé un LSFM couplé à une boucle d'OA avec une nouvelle approche de mesure du front d'onde, plus simple car ne nécessitant pas d'étoiles guides dans l'échantillon, et permettant la mesure et la correction du front d'onde avec une excellente précision[4]. Ce nouvel instrument sera dédié à l'imagerie fonctionnelle de réseaux de neurones *in vivo* chez la drosophile.

### Objectif du stage

L'efficacité de la correction des aberrations en temps réel lors de la prise d'images à haute résolution dans un échantillon vivant est assujettie à une synchronisation optimale des différents éléments du montage : illumination de l'échantillon, mesure du front d'onde, pilotage du miroir déformable pour la correction du front d'onde, acquisition des images sur la caméra scientifique et déplacement de l'échantillon pour la modalité d'imagerie 3D. Nous disposons actuellement d'un logiciel de pilotage de la boucle d'OA fonctionnel mais qui n'intègre pas l'acquisition des images scientifiques ni l'aspect imagerie 3D. De plus, ce logiciel n'a pas été développé pour l'utilisation de l'OA en imagerie biologique *in vivo* et n'est donc pas adapté aux contraintes de l'observation d'échantillons vivants. Enfin, une synchronisation précise de l'illumination de l'échantillon avec la prise d'image permettra d'augmenter le rapport signal sur bruit et les performances d'imagerie 3D.

Le stagiaire devra développer, en Python, un nouveau logiciel permettant de piloter et synchroniser les différents éléments du montage (miroir galvanométrique à l'illumination, analyseur de front d'onde, miroir déformable, caméra, cale piézoélectrique de l'échantillon....). Toutes les bibliothèques de fonctions de ces éléments sont déjà disponibles.

Si la durée du stage le permet, le stagiaire sera également impliqué dans la partie traitement des images acquises par l'analyseur de front d'onde afin d'améliorer la mesure du front d'onde et même de proposer une nouvelle approche pour mesurer des aberrations haute fréquence.

Pour candidater merci d'envoyer un CV et une lettre de motivation aux adresses suivantes :

[antoine.hubert@espci.fr](mailto:antoine.hubert@espci.fr)    [alexandra.fragola@espci.fr](mailto:alexandra.fragola@espci.fr)

- [1] Huisken, J., Swoger, J., Bene, F. D., Wittbrodt, J. & Stelzer, E. H. K. Optical Sectioning Deep Inside Live Embryos by Selective Plane Illumination Microscopy. *Science* **305**, 18 (2004).
- [2] Keller, P. J. & Ahrens, M. B. Visualizing Whole-Brain Activity and Development at the Single-Cell Level Using Light-Sheet Microscopy. *Neuron* **85**, 462–483 (2015).
- [3] Liu, T.-L. *et al.* Observing the cell in its native state : Imaging subcellular dynamics in multicellular organisms. *Science* **360**, eaaq1392 (2018).
- [4] Hubert, A. *et al.* Adaptive optics light-sheet microscopy based on direct wavefront sensing without any guide star. *Optics Letters* **44**, 2514 (2019).