

Stage M2 : Utilisation de l'Optique Adaptative pour de l'imagerie fonctionnelle

Contexte

La microscopie à feuille de lumière (« Light-Sheet Fluorescence Microscopy » LFSM) 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 impulsionnel 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)) à l'ESPCI, conjointement avec la société Imagine Optic, a développé un LFSM 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 divers échantillons.

Objectifs du stage

L'utilisation de ce nouveau module d'OA pour de l'imagerie fonctionnelle sur des échantillons variés nécessite d'imager de manière spécifique et de comprendre les tenants et les aboutissants des besoins en biologie pour effectuer des manipulations de routine avec ce module. De ces caractéristiques dépendent à la fois les optimisations qui pourront être faites sur l'analyse du front d'onde et la correction des aberrations, puis, d'autre part, l'apport de l'optique adaptative sur l'analyse via la quantification d'un gain en contraste et résolution. Nous disposons d'ores et déjà d'un logiciel de pilotage de la boucle et de l'instrument ainsi que de collaborations qui nous permettent d'étudier des échantillons divers (drosophile, poisson-zèbre).

Le stagiaire sera formé sur l'instrument et la préparation d'échantillons et devra réaliser des acquisitions en jouant sur différents paramètres optiques et numériques puis explorer les zones des échantillons afin de cartographier les aberrations. L'analyse des images permettra également de caractériser l'intérêt de l'optique adaptative.

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.

Durée du stage : 4 à 6 mois

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

antoine.hubert@espci.fr 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).