LE PETIT MICROSCOPE ILLUSTRÉ

REGARDS CROISÉS DE CHERCHEURS

MICROSCOPIE



COLLECTION N°28 4,90€



oscope illustré » SOMMAIRE «Le petit micr

Page 1

Édito Pages 2-3 Pages 4-5 Pages 6-7 De plus grand au plus petit Pages 8-9 Pages 10-11 Datation des roches terrestres Pages 12-13 Symbiose et défense des plantes Pages 14-15 Pages 16-17 Nanocar Race Pages 18-19 Pages 20-21 Pages 22-23 Pages 24-25 Pages 26-27 Pages 28-29 Pages 30-31 Pages 32-33 Pages 34-35 Pages 36-37 Page 38 Le Laboratoire d'excellence NEXT Page 39

- Introduction générale à la microscopie
- Repères utiles pour comprendre l'évolution de la microscopie
- La microscopie au service de la médecine légale archéologique
- Les objets du passé livrent leurs secrets

La drosophile passée au microscope pour étudier le développement animal

- L'activité des ribosomes, machines moléculaires passée au peigne fin
- Localisation (individuelle) des gènes au sein de l'ADN
- La microscopie de la « mécanique » des cellules vivantes
- Recyclage des fibres de carbone contenues dans les matériaux composites
- Nanotube de carbone : l'éprouvette à cristallographie
- Des nanofils d'or conducteurs d'électricité
- Circulation du courant électrique dans des matériaux nanostructurés
- Des molécules transformées en moteurs nanométriques
- Repousser les limites de la microscopie
- Toulouse, place forte de la microscopie depuis les années 50



egarder des atomes liés les uns aux autres, des molécules tourner ou des cellules en formation, voire même les manipuler, n'est plus aujourd'hui du domaine du rêve grâce aux progrès fascinants de la microscopie.

En fait il ne faut pas parler de LA microscopie mais DES microscopies car si la microscopie optique date de plus de quatre siècles, le XX^e siècle a vu l'émergence de techniques révolutionnaires dans le domaine, couronnées par plusieurs prix Nobel. L'objet n'est plus seulement éclairé par la lumière de façon de plus en plus sophistiquée, il peut l'être par des électrons permettant

une résolution subatomique, sa surface peut être cartographiée par une pointe fine de quelques atomes, et toutes ces techniques enrichissent notre accès au monde de l'infiniment petit. C'est ainsi que nous pouvons mieux connaître les lois qui régissent notre monde et son évolution.

Vous découvrirez dans ce *Petit illustré* que les champs d'application de la microscopie sont bien plus vastes que ce que l'on imagine. C'est, par exemple, grâce à ces techniques que les scientifiques comprennent comment un courant électrique circule au sein d'un matériau, comment se déplacent les cellules de notre corps ou encore la façon dont vivaient nos ancêtres lointains. Les quelques exemples dans lesquels les microscopes jouent un rôle primordial vous sont présentés, du plus proche de nous au plus intime de la matière. Ils mettent en lumière les recherches actuelles dans les laboratoires de recherche de Midi-Pyrénées.

Pour vous aider dans ce foisonnement des techniques et de leurs applications, quelques repères historiques vous sont proposés en début de fascicule, suivis par une brève présentation des principales techniques de microscopie complétée d'un rappel de quelques ordres de grandeurs.

Christophe Giraud Délégué régional du CNRS en Midi-Pyrénées



MICROSCOPIE : «OBSERVER DE QUI EST PETIT »

icroscope » est étymologiquement formé des deux termes grecs « mikros » et « skopein » aui

signifient respectivement « petit » et « observer ». Les microscopes servent donc à « observer ce qui est petit ». Pour ce faire, ils utilisent un rayonnement (une lumière) focalisé sur l'objet par des lentilles. Ce ravonnement peut être transmis par l'objet (image en transparence), réfléchi (image miroir), absorbé, provoguant l'émission d'un autre rayonnement ou de particules. Ces signaux ou images sont collectés par des lentilles sur un détecteur. L'image finale dépend donc de la source de rayonnement, du système de grossissement. du détecteur utilisé. On distingue de très nombreux types de microscopies, que l'on classe en trois catégories.

La Microscopie optique :

La source utilisée peut être la lumière blanche plus ou moins filtrée pour sélectionner une couleur ou plus récemment des lasers. Un obiet peut-être grossi jusqu'à 2000 fois. La résolution de l'image est limitée en général à environ 200nm (du fait de la longueur d'onde du rayonnement optique). Le développement de la microscopie confocale et celle de fluorescence (qui permet d'atteindre une résolution de guelgues atomes) a donné lieu à des avancées majeures.

Objets étudiés : tous mais en particulier le vivant en permettant l'observation en milieu liquide et en laissant les objets dans leur milieu « observation in vivo ». Les techniques de marguage avec des étiquettes « marqueur fluorescent » permettent de distinguer l'imbrication des organismes.

Figure 1 : Schéma de la microscopie optique confocale. Une molécule est éclairée par une lumière verte. Son image grossie est collectée par un détecteur et représentée sur l'écran. Un anneau gris représente un iris qui supprime la lumière diffusée parasite, ce qui améliore la qualité des images.

Figure 2 : Schéma de la microscopie optique de fluorescence. Un objet est éclairé par une lumière blanche filtrée dans le bleu. Cet objet contient des marqueurs fluorescents aui répondent en émettant une lumière verte collectée par le détecteur.







La source de rayonnement est ici un faisceau, non plus de lumière, mais d'électrons de grande vitesse. Le grossissement s'effectue aussi par des lentilles, qui ne sont plus en verre mais des bobines magnétiques. La microscopie électronique permet un grossissement pouvant atteindre 500 000 avec une résolution atomique (0.1nm). Il existe principalement deux types de microscopie électronique.

électrons sont focalisés.





sion (MET) dans laquelle un faisceau d'électrons très énergétique (environ 200 000 Volts) « éclaire » l'objet qui doit être de très faible épaisseur, pour être traversé par eux. Les contrastes de l'image transmise résultent de l'interaction de ceux-ci avec les atomes et les électrons qui constituent l'échantillon. Objets étudiés : Matériaux conducteurs ou recouverts d'une couche métallisée pour les rendre conducteurs. Les échantillons doivent être minces pour le MET ce qui n'est pas nécessaire pour le MEB. Ils sont placés dans une chambre où un vide poussé est fait (ultra-vide). Dans le cas d'organisme vivant, il est nécessaire de les dessécher ou de les cryogéniser avant métallisation.

La Microscopie électronique à balayage (MEB),

appelée ainsi car le faisceau d'électron est « balayé » sur la surface. Le microscope utilise les électrons qui « rebondissent » sur l'échantillon pour faire une image de sa surface point à point. Les électrons absorbés par l'objet peuvent aussi provoquer l'émission de particules ou de rayonnement ; on parle alors de microscopie analytique car cela donne des informations sur les caractéristiques de l'objet étudié, là où les

La Microscopie électronique à transmis-

La Microscopie à champ proche :

Elle utilise une pointe extraordinairement fine, constituée de guelgues atomes en son bout, approchée extrêmement près de l'obiet à observer. La pointe est ensuite balavée pour permettre la topographie de la surface à l'échelle de l'atome. La pointe permet aussi de manipuler des atomes ou des molécules sur la surface.

Microscopie à effet tunnel (STM) :

Quand l'objet observé est conducteur, on fait passer un courant d'électrons entre celui-ci et la pointe du microscope. Ce sont les variations du courant qui traversent l'espace entre la pointe et la surface en fonction de la position de la pointe sur la surface, qui permettent de faire une image de cette surface. On appelle ce microscope ainsi car les électrons tra-



versent l'espace entre la pointe et la surface comme au travers d'un tunnel. **Objets étudiés :** matériaux conducteurs sous ultra-vide. La température doit être contrôlée pour limiter l'agitation des particules.

Microscopie à force atomique (AFM) :

Quand l'objet observé est un isolant (i.e. qui ne permet pas le passage des électrons), on utilise alors les forces de répulsion qui apparaissent entre les atomes situés à l'extrémité de la pointe du microscope et ceux de la surface pour imager cette dernière. On mesure alors la hauteur de la pointe grâce à un laser. Objets étudiés : matières, organismes cellules vivantes à l'air libre.



- Les illustrations ont été réalisées par l'équipe de recherche « La physique autrement » du Laboratoire de physique des solides (LPS – CNRS/Université Paris Sud).
- https://toutestguantique.fr/microscopes

L'ÉVOLUTION DE LA MICROSCOPIE **REPÈRES UTILES POUR COMPRENDRE**





- Microscopie optique conventionnelle Microscopie optique de fluorescence

Microscopies optiques



Microscopies électroniques MET : Microscopie électronique à transmission MEB : Microscopie électronique à balayage







Microscopies à champ proche

AFM : Atomic Force Microscopy / Microscopie à force atomique STM : Scanning Tunneling Microscopy/ Microscopie à effet tunnel



DU PLUS GRAND AU PLUS PETIT



Image en microscopie électronique à balayage colorisée d'un débris de plastique récolté dans le gyre de l'Atlantique Nord, zone où s'accumulent les déchets de plastique flottants. Le biofilm qui se développe sur les déchets de plastique a été colorisé, on y voit des diatomées ou des bactéries. © Alexandra Ter Halle

Observation en microscopie optique du dépôt d'une goutte sur

substrat. Étude des propriétés physiques de liquides par couplage microscopie à force atomique (AFM) - microscopie optique et caméra rapide : mesure de la force d'interaction entre une pointe AFM et une goutte de décanol, afin de déterminer la constante d'Hamaker (énergie de cohésion) de ce liquide et sa tension interfaciale. ©IMFT

Ostéoclaste humain, cellule responsable de la résorption du tissu osseux, marqué pour l'actine (en rouge), les microtubules (en vert) et les noyaux (en bleu). © Christel Verollet - IPBS **Images** en microscopie à force de fibres amyloïdes. Les fibres amyloïdes sont retrouvées dans les plaques séniles détectées chez les malades Alzheimer. Le dégradé de couleur correspond à la hauteur de l'objet analysé. La partie la plus claire correspond à une hauteur de 15 nanomètres. © Olivia Berthoumieu

CONTRIBUTEURS : Caroline Capuani : Anthropologie moléculaire et biologie de synthèse [CNRS/UT3]



Clavicule, cinq lésions d'intérêt à analyser, réalisées par une lame crantée. © Caroline Capuani - AMIS

LA MICROSCOPIE AU SERVICE DE LA MÉDECINE LÉGALE ARCHÉOLOGIQUE

En archéologie, comme en médecine légale contemporaine, la macroscopie à épifluorescence permet d'analyser des lésions osseuses engendrées par une arme blanche et de déceler des indices permettant de remonter à l'arme utilisée, voire à l'identité de l'auteur.



'arme blanche apparaît comme un des instruments les plus fréquemment rencontrés en matière judiciaire. Or, selon le principe de transfert de traces de Locard, une arme entrant en contact avec un corps laisse une signature lésionnelle. L'analyse de cette signature permet de fournir de nombreuses informations sur l'arme utilisée, l'auteur de la blessure et même les circonstances du crime.

Pour obtenir ces informations les chercheurs utilisent un nouvel outil d'analyse non délabrant

pour l'os, le macroscope à épifluorescence. Cet instrument est construit sur le principe de la microscopie optique de fluorescence mais à la différence des autres microscopes utilisés dans ce Petit illustré, celui-ci utilise un objectif de faible grossissement permettant d'observer des objets relativement larges et de les photographier, d'où le terme de « macroscope ». Ce genre d'instrument est couramment employé en biologie, notamment dans l'analyse du petit animal. Sur l'os, son utilisation est beaucoup plus rare mais son intérêt dans le domaine de l'anthropologie a récemment été démontré. En effet, l'os possède une fluorescence naturelle, principalement due à un de ses composants organiques de l'os, notamment au collagène de type I, qui s'estompe avec le temps. Grâce à la macroscopie, on peut donc visualiser directement le collagène de type I en utilisant des filtres centrés sur la couleur de sa fluorescence. Ainsi, l'os étant spontanément fluorescent, il ne nécessite aucune préparation et peut être









Vue générale d'un sillon, couteau cranté : asymétrie des berges reflétant l'asymétrie de la lame, avec compression osseuse prononcée à droite. © Caroline Capuani - AMIS

Vue supérieure

couteau cranté :

controlatéral aux

crans de la lame.

avec présence de

stries parallèles.

horizontales au

© Caroline Capuani

fond du sillon.

- AMIS

d'un sillon.

mur lissé

Q



directement observé sous l'objectif pour être analysé. D'autre part, le faible grossissement permet l'étude de fragments de grande taille. Cet outil autorise donc une approche en trois dimensions de la lésion, sans destruction ni préparation de l'échantillon, qualité indispensable sur des spécimens précieux que ce soit en archéologie ou en médecine légale.

Un outil d'expertise

À travers des études expérimentales, basées majoritairement sur du matériel osseux humain, il est possible de déterminer des modèles lésionnels regroupant les différentes caractéristiques de chaque instrument et d'apporter des éléments d'orientation permettant de reconstituer le mécanisme de production de la lésion. L'orientation des écailles, des fissures et la compression osseuse du sillon apparaissent comme des éléments fondamentaux permettant de reconstituer la manière dont le coup a été porté dans l'espace ainsi que les positions de l'assaillant et de la victime. Il a été également possible de mettre en évidence des signatures diagnostiques individuelles qui, sous couvert de comparatifs lésionnels, relient de manière exclusive une lésion à une arme (un agent vulnérant).

Ces différents travaux ont déjà été mis en pratique dans des cas concrets à la fois médicolégaux actuels et archéologiques. Ces applications ont permis de confirmer la validité de ce type nouveau d'analyse microscopique avec comme perspective principale son intégration progressive dans des expertises tant contemporaines qu'archéologiques.

200 µm

CONTRIBUTEURS : Sandrine Baron et Marie-Pierre Coustures : Travaux de recherches archéologiques sur les cultures, les espaces et les sociétés

(CNRS/FHESS/UT2 J/INRAP)



LES OBJETS DU PASSÉ LIVRENT LEURS SECRETS

En archéologie, la compréhension du mode de fabrication et de l'utilisation des objets contribue à la reconstitution de la vie des civilisations anciennes. Les microscopies optique et électronique permettent l'analyse détaillée de la surface et de l'intérieur de ces objets.



Deux barres de fer romaines découvertes dans les épaves des Saintes-Maries-de-la-Mer (Bouches-du-Rhône). © TRACES

Inclusions microscopiques de scorie (déchet) dans une barre de fer

romaine. Le fond blanc représente le métal et les plages grises sont des inclusions. Elles sont composées de cristaux d'oxydes de fer sous forme de globules gris clair (dendrites de wüstite) dans du verre gris foncé. Ces inclusions sont utilisées pour déterminer la provenance des fers. © TRACES es objets observés peuvent être des silex, des céramiques, des métaux, des sols, des bois et cornes d'animaux, des déchets d'artisanat divers, des restes organiques (graines, charbons

de bois ou pollens, œufs de parasites...), des matériaux de construction ou encore les traces d'usage de ces divers objets. L'observation microscopique intervient au laboratoire après une première étude à l'œil nu des objets provenant de fouilles archéologiques et dont le contexte d'origine est connu : type de site (habitat, atelier artisanal, époque, etc.

Reconstituer le passé

Elle permet par exemple d'appréhender l'utilisation des armes par les chasseurscueilleurs à la préhistoire, de retrouver les pratiques de boucherie au néolithique, de savoir ce qu'ont contenu les céramiques à la protohistoire, de comprendre les méthodes artisanales de fabrications d'objets en métal durant l'antiquité, de modéliser les paysages médiévaux à partir de l'observation des pollens ou encore de restituer les activités humaines anciennes à partir de l'analyse des sols et des restes d'activités qu'ils contiennent.

De nombreux types de microscopies peuvent être utilisés en archéologie. Les plus couramment employées sont la microscopie optique et la microscopie électronique, notamment à balayage.

En archéologie, la microscopie optique permet d'observer soit la surface d'un objet soit la masse de l'échantillon, c'est-à-dire la matière qui le constitue. Dans le premier cas, on peut étudier des dépôts d'usage (du métal sur un outil ancien en pierre, du minerai sur une meule à broyer) ou des traces (stries, polis) laissées par l'emploi des objets. Dans le second cas, l'observation concerne la coupe du matériau. Cela nécessite une préparation spécifique des objets qui doivent être sciés afin de confectionner des lames minces. Ces préparations destructrices concernent un nombre limité d'échantillons et sont soumises à autorisation. La microscopie électronique à balayage est, par exemple, adaptée aux études de surface métallique n'impliquant pas la destruction d'objets archéologiques qui ont toujours un caractère unique, à condition que l'enceinte dédiée à l'analyse des échantillons soit assez grande pour les accueillir. Cette technique permet une approche quantitative de la composition chimique élémentaire des différents constituants des objets grâce à l'analyse de l'émission de particules ou rayons produits par la matière sous l'ef-



Entrée d'une galerie de mine de fer ancienne dans le Tarn. © TRACES

fet de l'irradiation des électrons provenant de la source du microscope.

L'apport décisif de la microscopie

Les développements de la microscopie pour l'étude de vestiges archéologiques se sont multipliés au cours des dernières décennies et ont constitué un apport décisif des sciences physico-chimiques aux sciences de l'Homme et des sociétés passées. De nouveaux champs d'application de la microscopie sont aujourd'hui explorés, en lien avec l'expérimentation et constituent un domaine en constante évolution.



Scorie extraite de la mine de fer. © TRACES



Vue microscopique de la scorie. À partir de la face inférieure (zone noire en bas à droite), on observe des cristaux sous forme de grandes lattes de silicates de fer (fayalite) dans du verre interstitiel (gris foncé). En gris clair, (en bas à gauche), on retrouve les dendrites de wüstite déjà vues dans les inclusions des barres de fer. Cette structure renseigne sur les conditions de formation de ces déchets et donc du déroulement des opérations métallurgigues. © TRACES

CONTRIBUTEURS : Arnaud Vacherat & Charlotte Fillon : Géosciences environnement Toulouse (CNRS/UT3/CNES/IRD)



DATATION **DES ROCHES TERRESTRES**

Dans certains minéraux, l'uranium est présent en quantité non-négligeable. La décroissance radioactive de cet élément génère des traces de fission dans le minéral, dont la quantité dépend fortement de la température. Ainsi, la visualisation de ces traces par microscopie optique permet la reconstitution du trajet des roches dans la croûte terrestre depuis l'époque de leur formation jusqu'à aujourd'hui.



ertains minéraux comme l'apatite et le zircon contiennent de l'uranium de manière significative. La fission de l'uranium au cours de sa décroissance radioactive génère des traces nanométriques que l'on peut observer dans le réseau cristallin de ces minéraux. Le nombre de traces de fission tend à diminuer quand la température est élevée et à rester constant guand celle-ci diminue. Cette sensibilité à la température dépend également du minéral observé (autour de 100°C pour une apatite et 250 °C pour un zircon).

Datation par trace de fission

L'objectif de la méthode de datation par traces de fission est de déterminer le moment auquel la roche passe au travers de certaines isothermes (frontières géologiques où la température demeure constante). La température augmentant avec la profondeur,



on peut reconstituer le trajet d'une roche jusqu'à la surface. Cette méthode permet donc de dater le mouvement des roches à l'échelle des temps géologiques, de l'ordre de la dizaine à la centaine de millions d'années. Ainsi, en comptant au microscope le nombre de traces de fission conservées dans un cristal d'apatite ou de zircon, on peut en déduire son âge thermique et son histoire temps-température.

Pour observer ces traces de fission, le grain d'apatite ou de zircon est d'abord poli, puis



Après polissage et attaque chimique des on peut observer et compter, grâce à la microscopie optique, des traces de fission (petits

la surface du grain est attaquée chimiquement pour augmenter la taille de ces traces. Ainsi, après attaque chimique, les traces de fission mesurent plusieurs microns et sont alors facilement visibles en utilisant un microscope optique classique.

apatites

du grain

traits noirs sur la surface

© Matthias Bernet – ISTerre

Un défi maieur

Cette méthode est de plus en plus populaire et est appliquée dans de nombreux domaines des géosciences, aussi bien dans le milieu académique que pétrolier. Obte-

nir un âge peut prendre jusqu'à un an, c'est pourquoi l'automatisation du comptage des traces par microscope est un défi majeur des prochaines années. Les chercheurs testent également d'autres minéraux pour élargir la gamme de température, et les domaines d'applications.

CONTRIBUTEURS : Guillaume Bécard : Laboratoire de recherche en sciences végétales (CNRS/UT3) Susana Rivas & Marta Marchetti : Laboratoire interactions plantesmicroorganismes (CNRS/INRA) Marie-Christine Auriac & Aurélie Le Ru : Plateforme d'image TRI Genotoul de la Fédération Agrobiosciences interactions et biodiversité (CNRS/UT3)



es microorganismes sont invisibles à l'œil nu mais plusieurs techniques de microscopie permettent néanmoins d'observer l'intérieur des plantes ainsi que l'impact des microorganismes sur celles-ci. On peut par exemple utiliser des éclairages laser et des colorants qui permettent, en microscopie optique, de distinguer les cellules végétales des cellules microbiennes.

Le champignon mycorhizien

Il s'agit d'un champignon symbiotique qui contribue à améliorer la nutrition et la santé des plantes. À l'œil nu, ou même avec un microscope classique (Figure 1.A), on ne peut pas le voir. Mais avec un colorant fluorescent spéci-

SYMBIOSE ET DÉFENSE DES PLANTES

Les plantes vivent au contact de nombreux microorganismes bénéfiques ou nocifs à leur développement. Grâce aux microscopies optique et électronique à balayage, des études fines de leurs interactions avec des champignons et des bactéries peuvent être réalisées et servir à une meilleure compréhension des synergies entre plantes-microorganismes permettant par exemple l'élaboration de méthodes de cultures moins consommatrices d'engrais et de pesticides.





fique et un microscope confocal, il est possible de le distinguer dans les tissus racinaires (Figure 1.B). La prise d'image à différentes hauteurs et une reconstruction numérique en combinant l'ensemble des données et en soustrayant le fond permettent d'extraire une image en trois dimensions du champignon (Figure1.C). On observe alors celui-ci pénétrer à l'intérieur des cellules végétales où il forme des structures que l'on appelle des arbuscules. C'est à ce niveau que les deux partenaires échangent des éléments nutritifs : le champignon apporte à la plante de l'eau et des minéraux, en échange il obtient des sucres.

La bactérie symbiotique Rhizobium

Grâce à la microscopie électronique à balayage il est également possible d'effectuer des observations plus rapprochées et plus détaillées. On peut ainsi observer la symbiose rhizobium-légumineuse, très importante pour l'écosystème terrestre et pour l'agriculture car elle permet d'enrichir les sols en azote. Des millions de bactéries rhizobia (visibles sur la figure 2.B) comme des amas autour du noyau (N) de la cellule, se logent dans des organes racinaires spécifiques, les nodules (Figure 2.A). À l'intérieur des cellules végétales elles agissent comme des petites usines miniatures qui transforment l'azote de l'air en engrais azoté pour la plante hôte.

Les bactéries pathogènes

Les plantes et les microorganismes communiquent entre eux par de très nombreux signaux moléculaires. On parle alors d'un dialogue moléculaire entre les deux partenaires. Décoder ce



langage est un enjeu important pour comprendre comment les plantes reconnaissent les mauvais microbes, contre lesquels elles doivent déclencher leur système immunitaire, et les bons microbes avec lesquels elles vont s'associer dans une symbiose. Mais les bactéries pathogènes sont aussi capables de court-circuiter la mise en place de la défense végétale. Elles injectent des protéines à l'intérieur même des cellules végétales. Ces protéines bactériennes s'apparentent à de véritables missiles à tête chercheuse qui vont notamment avoir pour cible des protéines de défense de la plante. Les bactéries sont ainsi capables de neutraliser ces protéines de défense des plantes. La microscopie à fluorescence permet d'observer ce phénomène (Figure 3).

Figure 2 : Images obtenues par microscopie électronique à balayage de l'intérieur d'un nodule de la légumineuse *Mimosa pudica* (A), abritant dans chaque cellule végétale (B) les bactéries rhizobia fixatrices d'azote. b: bactéries, N: noyau de la cellule végétale. ©Marta Marchetti/INRA & Marie-Christine Auriac/CNRS



G Figure 3

Figure 3 : lci la microscopie de fluorescence permet aux chercheurs d'observer ce phénomène Observation d'une cellule exprimant la protéine bactérienne à laquelle a été fixé un marqueur fluorescent bleu. La protéine qui attaque la plante est ainsi visible au sein du noyau de la cellule. Observation d'une cellule exprimant la protéine de défense grâce à la fixation d'un marqueur fluorescent jaune. La protéine de défense végétale est distribuée de façon homogène au sein du noyau. & D. Considérons maintenant une cellule exprimant de façon simultanée la protéine bactérienne (fusionnée à un marqueur fluorescent bleue) et la protéine de défense de la plante (fusionnée à un marqueur fluorescent jaune).

L'éclairage par la lumière bleue révèle la répartition de la protéine bactérienne au sein du noyau (C), tandis que l'éclairage par la lumière jaune montre une modification de la répartition de la protéine de défense (D). Au lieu d'apparaître distribuée de façon homogène au sein de la cellule (comme pour la cellule (B), elle se concentre là où la protéine bactérienne se situe (D). A travers ce changement de localisation, la protéine de défense se retrouve séquestrée au sein du noyau empêchant ainsi un processus de défense efficace.

© Susana Rivas - LIPM



NANOCAR RACE

Les 14 et 15 octobre 2016, la plus importante course automobile de la saison se déroule à Toulouse : la NanoCar Race. C'est au Centre d'élaboration de matériaux et d'études structurales (CEMES) aue des moléculesvoitures prennent le départ d'une course à l'échelle nanométrique unique en son genre.

es « nanocars » de seulement quelques nanomètres de long, pilotées chacune à l'aide de la pointe d'un microscope à effet tunnel, qui prennent le départ d'une course sur une piste en or ? Non, ce n'est pas un canular. Le design des molécules a même été longuement pensé. « Pour espérer gagner la course, il faut être rapide. Or, plus la surface de contact avec la piste est importante, moins la voiture va vite. Notre nanocar comprend donc 300 atomes qui forment un châssis courbé, entouré par quatre roues pour minimiser le contact avec le sol », précise Gwénaël Rapenne, professeur de chimie à l'Université Paul Sabatier (Toulouse), un des concepteurs de nanomachines au CEMES et directeur de l'équipe toulousaine. Avant la course, les véhicules des écuries autrichienne, américaine, allemande, japonaise, suisse et bien sûr française

sont sous forme de poudre. Chauffées entre 50°C et 300 °C sous ultra vide¹, elles sont alors évaporées puis déposées sur la piste longue de 100 nanomètres. De plus, l'enceinte dans laquelle se déroule la course est refroidie entre -250°C et -300°C pour que les molécules restent immobiles et faciles à manipuler. L'autonomie des réserves en hélium liquide servant à ce refroidissement limite donc la durée du Grand Prix. Mais tout comme des pilotes de Formule 1. les chercheurs devront être endurants car l'événement pourra se poursuivre jusqu'à 38 heures ! « Et encore, je pense que certaines voitures ne termineront jamais la course », sourit Gwénaël Rapenne.

> hague pilote dispose d'une fine pointe métallique en tungstène qui lui permet de pousser ou d'exciter sa molécule pour la faire avancer. Et quatre véhicules peuvent être manipulés en même temps ! C'est une première mondiale.

« Cette course retransmise en direct au grand public montre qu'on est capables de conduire sans la toucher mécaniquement une molécule sur une surface et de manière contrôlée », explique le chimiste. En outre, depuis le début des années 2000, de véritables molécules mécaniques ont été conçues avec par exemple des engrenages constitués de moléde la course Christian Joachim : « Dans un futur lointain, les chercheurs imaginent pouvoir construire atome par atome un grand nombre de nos machines comme les calculateurs ou les mémoires, et même de pouvoir les démonter atome par atome. » Les matériaux de nos batteries, dont la durée de vie même principe que la foudre)



🖳 Le microscope à effet tunnel équipé de quatre pointes et installé au CEMES sur lequel se déroulera Vla course. © Cyril FRESILLON/CEMES/CNRS Photothèque

serait considérablement augmentée, pourraient ainsi être remplacés par des « moteurs » de guelgues nanomètres recyclables par démontage atomique, ouvrant ainsi la voie à un mode de consommation durable. « Honnêtement, aujourd'hui, on ne sait pas encore à quoi cette technologie va servir. Mais tout comme les cristaux liquides découverts en 1910 n'ont été utilisés qu'un demisiècle plus tard dans les écrans des calculettes et maintenant dans tous nos supports LCD, la manipulation de cules en rotation. Comme le commente le directeur molécules à l'unité pourrait bien être révolutionnaire », rêve Gwénaël Rapenne. 🌖

> 1. Ultravide : L'ultra-vide est atteint quand il v a moins de 10000 molécules dans un volume de 1 cm³. Ce vide est nécessaire pour pouvoir permettre la propagation d'électrons en microscopie électronique et à effet tunnel. Si le vide n'est pas assez bon le gaz résiduel devient conducteur et on peut créer des phénomènes d'arc électrique (sur le

Pastille d'or sur laquelle les moléculevoitures concourront.



LA DROSOPHILE PASSÉE AU MICROSCOPE POUR





Épiderme de drosophile en cours de développement. Les contours cellulaires apparaissent en vert, les noyaux en bleu, et l'actine qui souligne les extensions cellulaires en rouge, grâce aux marquages avec des protéines spécifiques. © Anne Pelissier-Monier,



ÉTUDIER LE DÉVELOPPEMENT ANIMAL

La réorganisation des cellules au sein d'un embryon permet la formation des différents organes d'un être vivant. L'étude de ce processus est permis par la microscopie de fluorescence, appliquée notamment à la petite mouche drosophile, espèce modèle dans la recherche en génétique.

a petite mouche drosophile, grâce à son cycle de vie rapide (une dizaine de jours) et à la puissance de son analyse génétique, a déjà permis de nombreuses avancées pour la recherche biomédicale. La mise

au point de nouvelles approches d'imagerie fait aujourd'hui de la drosophile un modèle attractif pour découvrir les mécanismes qui contrôlent la forme et l'organisation des cellules. Pour étudier le rôle d'une protéine cellulaire, la génétique moléculaire permet de l'enlever, ou de la modifier, spécifiquement dans un petit groupe de cellules afin de les comparer aux cellules voisines, non manipulées. On peut aussi lui greffer une « étiquette » (protéine fluorescente) qui, suite à son éclairement par un faisceau lumineux d'une couleur bien précise, va émettre à son tour de la lumière permettant sa visualisation directement au sein d'un tissu et le suivi de sa dynamique au cours du temps. Tirant parti de la combinaison de ces approches, les recherches en cours visent à comprendre comment les cellules réorganisent leur architecture pour le développement de l'épiderme, des muscles, et de la formation des membres. La détection de la lumière émise par les protéines fluorescentes nécessite des appareils performants, notamment les microscopes confocaux. Plusieurs lasers permettent d'exciter spécifiquement les différentes molécules fluorescentes, et des détecteurs très sensibles, d'enregistrer le spectre (différentes couleurs) de la lumière émise.

Étude des cellules embryonnaires D'autre part, pour accéder à l'organisation des tissus en profondeur, ces microscopes effectuent des coupes optiques successives, extrêmement fines (10 000 coupes/millimètre) ! Des traitements informatiques permettent ensuite de reconstruire la structure tridimensionnelle des tissus, et son évolution au cours du temps. Le couplage d'un microscope confocal avec un laser externe permet en outre de manipuler, par la lumière, l'activité des molécules au cours de l'observation. Ces nouvelles méthodes deviennent transposables à d'autres animaux et ouvrent un accès sans précédent à l'étude des cellules embryonnaires. La microscopie de fluorescence permet de plus des analyses quantitatives favorisant l'émergence de recherches multidisciplinaires pour découvrir les lois physiques qui régissent l'organisation du vivant.

Suivi en temps réel du développement de la patte de drosophile. Une protéine avec une étiquette fluorescente verte marque les contours cellulaires, une deuxième (en rouge) marque un sous-domaine de la patte. © Bruno Monier, Centre de Biologie Intégrative.



CONTRIBUTEUR : Pierre-Emmanuel Gleizes : Laboratoire de biologie moléculaire eucaryote (CNRS/UT3)





Sous-unités ribosomiques en cryomicroscopie électronique © Célia Plisson-Chastang - CBI

IS 20 Le Petit **Microscope** illustré

L'ACTIVITÉ DES RIBOSOMES MACHINES MOLÉCULAIRES PASSÉE AU PEIGNE FIN

Synthétiser des protéines est une activité cellulaire primordiale assurée par les ribosomes, des « machines moléculaires » que l'on retrouve en très grand nombre dans tous les êtres vivants. La compréhension de l'assemblage et du fonctionnement de ces nanomachines biologiques au sein de la cellule est rendue possible par la microscopie électronique en trois dimensions.

es ribosomes déchiffrent l'information génétique et synthétisent les protéines chez tous les êtres vivants. Chacune des cellules de notre organisme contient de 5 à 10 millions de ribosomes. Ils se présentent sous forme de particules de 25 nm de diamètre constituées d'environ 80 molécules. Les scientifiques cherchent à comprendre les mécanismes d'assemblage des ribosomes, qui consomment une large part de l'énergie cellulaire, et d'appréhender leurs dysfonctionnements pathologiques dans des maladies rares ou des cancers. Dans ce but, il est essentiel de visualiser les particules à l'échelle atomique à différentes étapes de l'assemblage. Le défi est de taille pour des particules aussi complexes et seule la microscopie électronique à transmission (MET) permet d'atteindre ce résultat. Les images en MET sont classiquement en deux dimensions, comme une radiographie médicale. Mais cette technique peut être utilisée pour déterminer la structure tridimensionnelle de complexes moléculaires comme les ribosomes. L'obstacle majeur vient du vide très poussé qui règne dans le microscope électronique et qui vaporise instantanément toute eau liquide, empêchant d'observer la vraie structure des molécules biologiques en interaction avec l'eau. La solution : observer les



À la manière d'un scanner médical, l'échantillon est pris en photo par MET, sous différents angles, en faisant pivoter l'objet



Reconstruction 3D obtenues à partir de l'analyse de milliers de particules photographiées en cryomicroscopie électronique © Célia Plisson-Chastang - CBI Image de microscopie électronique d'une levure et reconstruction en 3D d'une sousunité ribosomique sortant du noyau cellulaire par un pore. © Franck Delavoie - CBI



molécules dans la glace. Isolés à partir de cellules, les ribosomes sont congelés en quelques millisecondes dans une fine couche de glace amorphe, sans cristaux de glace qui perturbent le faisceau d'électrons. Des dizaines de milliers de ribosomes figés dans la glace dans des orientations aléatoires peuvent alors être photographiés. Ces images sont ensuite classées et combinées afin de reconstruire la structure tridimensionnelle d'un ribosome grâce à de puissants algorithmes informatiques d'ana lyse statistique des images. La tomographie électronique est une autre technique de MET permettant d'accéder à la troisième dimension À la manière d'un scanner médical. l'échantillon est pris en photo par MET sous différents

angles en faisant pivoter l'objet. Le volume peut ensuite être reconstruit, offrant une vision 3D en haute définition de l'organisation intracellulaire à l'échelle moléculaire.

Découverte récente

Grâce à ces techniques, la première structure de précurseurs de ribosomes humains a été résolue. De plus, des images du passage de ces particules à travers les pores qui leur permettent de quitter le noyau cellulaire ont été obtenu. La microscopie électronique 3D nous dévoile ainsi non seulement la transformation structurale des ribosomes en formation, mais permet de replacer ce mécanisme dans le paysage complexe du milieu intracellulaire. **CONTRIBUTEURS :** Kerstin Bystricky & Olivier Gadal : Laboratoire de biologie moléculaire des eucaryotes (CNRS/UT3) Francois Cornet : Laboratoire de microbiologie et génétique moléculaires (CNRS/UT3) Laurence Salomé : Institut de pharmacologie et de biologie structural (CNRS/UT3)



LOCALISATION (INDIVIDUELLE) DES GÈNES AU SEIN DE L'ADN

Les génomes portent l'ensemble des caractères héréditaires définissant tout organisme vivant. Ils sont constitués de chromosomes qui contiennent, expriment et transmettent les gènes. La microscopie optique de fluorescence permet aujourd'hui d'observer la position d'un gène au saein même d'une cellule vivante.



Détermination de la position d'un gène dans des noyaux de levure par microscopie optique de fluorescence. La périphérie des noyaux ainsi qu'un gène sont marqués en utilisant la GFP (vert). Un domaine du noyau, le nucléole, est marqué par la RFP (rouge). © Olivier Gadal



Détermination de la position d'un gène dans des noyaux de levure par microscopie optique de fluorescence. Le triple marquage permet, après analyse d'images de coupes successives, de reconstruire en trois dimensions la position du gène (points vert) par rapport à la périphérie du noyau (ellipsoïde-fil de fer et sphères bleues) et au nucléole (rouge). © L'introduction de marqueurs fluorescents permet de décrire l'organisation d'un génome ainsi que sa dynamique au cours du temps

sation qui permet leur transmission efficace lors de la duplication des cellules ainsi que le bon déroulement du programme génétique, c'est-à-dire la production de tous les composés cellulaires à partir du code des gènes. Nos recherches ont pour but de comprendre cette organisation et son rôle. Il est en effet de plus en plus évident que l'organisation des chromosomes est d'une importance primordiale pour toutes les fonctions des génomes. Cette organisation est précise et finement adaptée aux différents types de cellules, à leurs fonctions et leur devenir.

Observer la position des gènes

La biologie des génomes a considérablement profité des développements de la microscopie de fluorescence ces dernières décennies. Il est possible actuellement observer la position des gènes et des nanomachines (essentiellement constituées de protéines) qui travaillent sur l'ADN, directement dans des cellules vivantes. En effet, l'introduction par génie génétique de la « *Green Fluorescent Protein* » (GFP et d'autres marqueurs fluorescents) permet de marquer spécifiquement les objets/molécules d'intérêt dans les cellules. On peut ainsi décrire l'organisation globale d'un génome ainsi que sa dynamique au cours du temps. Les nanomachines peuvent aussi, une fois isolées, être observées directement en microscopie électronique ou à force atomique. Leur activité sur l'ADN peut être analysée en microscopie optique. Pour être observées, les molécules d'ADN sont alors marquées par des sondes fluorescentes ou liées à des nanoparticules détectables. Dans tous les cas, des méthodes avancées de traitement des images et d'analyse statistique des résultats sont requises.

Nouvelles stratégies thérapeutiques Un grand nombre de maladies sont le résul-

tat, ou s'accompagnent, de modifications de l'organisation spatiale des génomes. Les progrès constants de la microscopie optique, électronique et à force atomique, sont décisifs pour comprendre ces phénomènes et envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques.

CONTRIBUTEURS :

Christophe Vieu : Laboratoire d'analyse et d'architecture des systèmes (CNRS) Isabelle Maridonneau-Parini : Institut de pharmacologie et de biologie structurale (CNRS/UT3)



LA MICROSCOPIE DE LA « MÉCANIQUE » DES CELLULES VIVANTES

Chaque cellule possède un « squelette » et des « muscles » qui lui permettent d'adapter sa forme en permanence. La microscopie à force atomique permet de déceler cette activité mécanique et notamment d'étudier les propriétés mécaniques des cellules du système immunitaire.

es macrophages humains, sont des cellules de notre système immunitaire qui « patrouillent » en permanence dans nos tissus afin de détruire d'éventuels pathogènes comme les bactéries. Ces fonctions de surveillance et d'attaque leur confèrent des propriétés mécaniques exceptionnelles. Le microscope à force atomique (AFM) commence à révéler la subtile organisation interne du macrophage qui lui permet d'adhérer sur des surfaces, d'avancer, de pousser, de dégrader. L'AFM peut fonctionner dans un milieu liquide ce qui permet de maintenir les cellules vivantes dans un milieu nourricier. Il est aussi capable de discerner des détails à l'échelle nanométrique et donc de voir le squelette moléculaire de la cellule (cyto-squelette). Mais par dessus tout, comme son principe de

fonctionnement repose sur l'emploi d'une pointe fine accrochée à un bras de levier, on peut appuyer mécaniquement sur la cellule, découvrir les régions dures, les régions molles et de ce fait révéler la présence du cyto-squelette. Il a récemment été démontré que l'on pouvait même mesurer directement les forces de poussée de la cellule et filmer en direct les centaines de zones où le macrophage pousse sur la surface pour « palper » son environnement et ainsi se frayer un chemin lors de sa migration. Il devient ainsi bien plus qu'un microscope qui voit la forme des objets invisibles à l'œil nu, il cartographie et mesure la nano-mécanique cellulaire.

Des questions encore sans réponses

Ainsi, sur la partie ventrale des macrophages humains, il existe une myriade de petits éléments durs dont le diamètre est inférieur au micron, que l'on appelle des podosomes, et qui jouent comme des petits doigts que la cellule assemble et déassemble en permanence afin de sentir la rigidité de ce qui l'entoure. Chaque podosome exerce une force méca-



Le microscope à force atomique, plus que de voir la forme des objets invisibles à l'œil nu, cartographie et mesure la nano-mécanique cellulaire



Image au microscope à force atomique d'un macrophage humain vivant, en pleine migration sur une surface. La région bombée correspond au noyau de la cellule, toutes les structures claires révèlent les éléments moléculaires du squelette moléculaire de la cellule. Parmi ces structures les petits points correspondent aux podosomes du macrophage. © LAAS/IPBS-CNRS.

nique de poussée qui oscille régulièrement dans le temps avec une période d'environ 40 secondes, c'est le rythme de la palpation cellulaire en quelque sorte. Ces résultats inédits permettent de comprendre et de modéliser toute l'activité mécanique d'une cellule vivante mais soulèvent encore de nombreuses questions sans réponse, que la microscopie aidera peut-être à élucider. Comment tout cela est-il synchronisé dans la cellule, y a-t-il une sorte d'horloge ? Comment les macrophages humains se comportent, se modifient dans certaines maladies ? Comment par exemple, les tumeurs recrutentelles les macrophages et exploitent-elles leurs propriétés mécaniques ?

CONTRIBUTEURS : Yannick Soudais & Christine Rolland : Centre de recherche d'Albi en génie des procédés des solides divises, de l'énergie et de l'environnement (CNRS/École des Mines Albi)



RECYCLAGE DES FIBRES DE CARBONE CONTENUES DANS LES MATÉRIAUX COMPOSITES

Les matériaux composites massivement utilisés dans l'industrie et le bâtiment contiennent des fibres de carbone dont les déchets se multiplient. Mais ces fibres de carbone sont uniquement visibles à l'échelle du micromètre. Ainsi, si l'on veut pouvoir observer l'impact d'un procédé de recyclage sur ces fibres et juger de son efficacité, la microscopie électronique à balayage est indispensable.

e nombreux domaines industriels tels que la construction automobile, l'aéronautique ou le bâtiment font aujourd'hui appel aux matériaux composites. Ces matériaux sont constitués d'une matrice plastique organique (polymère) associée à un renfort fibraux, généralement de verre ou de carbone. Mais de par la constante expansion de ce marché une quantité croissante de déchets de ces matériaux est attendue dans les prochaines années. Leur recyclage représente des enjeux techniques, économiques et environnementaux majeurs. Afin de pouvoir envisager un réemploi des fibres de carbone dans d'autres applications, plusieurs recherches sont menées sur le recyclage des composites renforcés à fibres dont les propriétés mécaniques et structurales doivent rester proches de celles des fibres neuves. Dans ce but le procédé de vapothermolyse pour le recyclage, qui combine la pyrolyse et la vapeur d'eau surchauffée à pression ambiante, a été développé afin de décomposer la matrice organique du composite de façon douce. L'optimisation du procédé est réalisé en observant l'efficacité de la dégradation des résines polymériques et la qualité des fibres obtenues. Les fibres de carbone après traitement

sont observées par Microscopie électro-

nique à balayage (MEB). Cette technique permet d'obtenir des images de l'extrême surface de ces fibres de 5 micromètres de diamètre avec une excellente résolution. La qualité des fibres recyclées est alors comparée aux fibres neuves afin de juger ainsi de l'efficacité du procédé de recyclage.



Plusieurs recherches sont menées sur le recyclage des composites renforcés à fibres 🖗 Fibres neuves observées au MEB







Fibres recyclées observées au MEB avec deux résolutions différentes. Dépôt de résine après traitement visible uniquement sur la deuxième image à haute résolution. Fibres recyclées observées au MEB avec deux résolutions différentes. Fibres abimées par des conditions de traitements trop agressives visibles uniquement sur la deuxième image à haute résolution.





CONTRIBUTEURS : Emmanuel Flahaut : Centre interuniversitaire de recherche et d'ingénierie des matériaux (CNRS/UT3/INP Toulouse) Marc Monthioux : Centre d'élaboration de matériaux et d'études structurales (CNRS)



NANOTUBE DE CARBONE : L'ÉPROUVETTE À NANOCRISTAUX

Les tubes de carbone à l'échelle nanométrique sont des nanoréacteurs chimiques dans lesquels on peut faire croître des cristaux qui n'existeraient pas autrement. Grâce à des techniques de microscopie électronique à transmission innovantes les structures de ces cristaux peuvent être analysées.



Exemple de gain de résolution apporté par la correction d'une aberration importante au niveau de la lentille objectif d'un MET. A et C sont les images sans corrections. Dans le cas A, un NTC vide. Dans le cas C un NTC rempli de molécules de fullerènes. B et D sont les images corrigées correspondants. Sur l'image B, la liaison entre deux carbones du NTC est visible.



tés de ces nanocristaux d'une part diffèrent de celles de leurs homologues à l'échelle macroscopique, et d'autre part permettent de modifier celles des NTC eux-mêmes. Le seul outil vraiment performant et adapté pour mener à bien ces travaux est le microscope électronique à transmission — quand il est équipé de dispositifs permettant de corriger certaines imperfections (aberrations) d'une partie des lentilles électro-magnétiques que contient le microscope. Lui seul permet, en effet, d'observer à la fois les NTC et leur contenu avec un contraste et une résolution suffisante, tout en complétant les images par un panel de données analytiques variées. On peut ainsi, grâce à la spectroscopie de perte d'énergie des électrons (on mesure la perte d'énergie des électrons qui ont traversé le matériau), connaître la nature chimique et électronique des objets observés. Ceci est essentiel afin de s'assurer que les transformations chimiques souhaitées à l'intérieur des NTC ont bien été réalisées.





Il est également possible d'observer la proportion de NTC remplis par les nanocristaux et de révéler leur structure atomique en les observant avec un mode d'imagerie particulier n'utilisant que les électrons qui ont été fortement déviés par les atomes les plus lourds de la matière analysée. Le contraste de l'image dépend alors grandement de la masse des atomes rencontrés par les électrons. Ainsi est-il possible d'améliorer le contraste et la visibilité des éléments intérieurs plus lourds que le carbone qui compose les NTC. Il est même possible d'observer des atomes isolés dans le NTC si le microscope a une résolution suffisante. •

Ø

Exemple d'une image MET avec une

résolution atomique « en champ sombre annulaire » d'un NTC rempli de jodure de nickel (Nil2), obtenue à l'aide d'un MET corrigé des aberrations importante au niveau de ses lentilles condenseurs. On devine à peine les parois de carbone mais on visualise en blanc les atomes constitutifs des nanocristaux. Chaque point blanc est un atome. L'encart I, à gauche, est un agrandissement de la zone encadrée sur le NTC. L'encart, à droite montre une image simulée par ordinateur. Les schémas, à droite, montrent les modèles structuraux déduits des images. La résolution atomique permet donc d'identifier la structure particulière de la phase Nil2 et son orientation relative.

© CEMES/CIRIMAT/Centre Raimond Castaing/Université de Warwick



Guillaume Viau, Laurence Ressier, Raul Arenal & Lise-Marie Lacroix : Laboratoire de physique et chimie des nano-objets (CNRS/UT3/INSA Toulouse)



DES NANOFILS D'OR CONDUCTEURS D'ÉLECTRICITÉ

Les fils d'or de diamètre nanométrique permettent d'envisager d'accéder aux propriétés électroniques à l'échelle atomique gouvernées par les règles de la physique quantique. Les difficultés résident à la fois sur la fabrication de ces nanofils, qui nécessitent un contrôle fin, mais aussi sur leur observation et leur manipulation. Ces deux derniers aspects ont été rendues possibles par les techniques de microscopie à force atomique et de microscopie électronique à transmission.



Figure 1 : image par microscopie électronique à transmission (MET) de nanofils d'or ultrafins. L'insert montre une vue générale d'assemblées de fils.

es mesures de propriétés électroniques, comme la conductivité électrique, s'effectuent habituellement sur des objets de taille supérieure au micromètre (10⁻⁶m). Il est alors possible de connecter ces objets aux appareils de mesures classiques (voltmètre, ampèremètre) et les lois qui gouvernent la conductivité sont celles de la physique classique. Si on considère des objets conducteurs de taille atomique, les propriétés électroniques ne sont plus régies par les lois classiques du monde macroscopique mais par les lois de la physique quantique donnant naissance à des effets inédits. Pour avoir accès à ces effets, il faut donc pouvoir élaborer des objets présentant des diamètres très faibles et de longueur micrométrique pour pouvoir les connecter et donc les étudier.

Jusqu'à présent seuls les nanotubes de carbone remplissaient ce cahier des charges drastique. Récemment, la synthèse par voie chimique a permis d'obtenir des nanofils métalliques d'or



Figure 3 : image par MET haute résolution d'un nanofil d'or sur le point de se rompre. Une chaine suspendue de trois atomes est visible. L'insert montre une représentation

schématique des

configuration.

atomes d'or dans cette



Figure 2 : image par microscopie à force atomique (AFM) de nanofils d'or déposés sur une surface chargée par la technique de nanoxérographie. L'échelle de couleur représente l'épaisseu reconstruite par topographie de la surface à l'aide de la pointe AFM. Il s'agit de fausses couleurs. Le blanc représente la partie la plus proche de nous, elle montre que la hauteur des fils peut atteindre 5nm par rapport au substrat sur lequel ils sont posés.



de diamètre inférieur à 2 nm et de longueur micrométrique (figure 1).

Les fils ayant tendance à s'assembler sous forme de fagots, il est difficile de mesurer les propriétés de conduction d'un fil unique. La microscopie à force atomique (AFM) a permis de lever ce verrou grâce à l'emploi de la technique de nanoxérographie : des charges, injectées sur une surface à l'aide d'une pointe AFM, permettent de piéger les nanofils d'or. Grâce à un contrôle fin de la façon dont les charges sont déposées sur la surface, le nombre de fils peut être contrôlé jusqu'au fil unique (figure 2).

Ces objets sont néanmoins très fragiles et tendent à se fractionner sous une sollicitation extérieure telle que la température, le courant électrique ou un faisceau d'électrons (utilisé pour leur observation en microscopie électronique). En utilisant les nouvelles performances des microscopes électroniques à transmission (MET), le mécanisme de rupture des nanofils d'or a été observé pour la première fois. La résolution sub-atomique de ce microscope a permis de voir la formation de chaines d'atomes uniques (figure 3) et la présence d'atomes d'or isolés à proximité.

Les nanofils métalliques représentent des objets modèles pour des études fondamentales en physique et pourraient trouver des applications dans des domaines allant des capteurs (chimiques, biologiques) à l'électronique du futur.

CONTRIBUTEURS : Marine Tassé, Laboratoire de chimie de coordination (CNRS). Simon Tricard, Laboratoire de physique et chimie des nano-objets (INSA Toulouse /CNRS/UT3)



CIRCULATION DU COURANT ÉLECTRIQUE DANS DES MATÉRIAUX NANOSTRUCTURÉS

Le passage du courant électrique au sein d'un matériau structuré à l'échelle nanométrique, avec des molécules et des nanoparticules, dépend de la nature des composants qui s'y trouvent. Ce phénomène peut être analysé grâce à la microscopie à force atomique (AFM), qui permet une mesure de courant électrique à l'échelle nanométrique. Ces travaux contribuent au développement de nouveaux matériaux pour la nanoélectroniaue.





de molécules ou de nanoparticules réagissant es électrons sont les porteurs de Pour étudier les propriétés de conductivité de à des stimuli extérieurs (comme la lumière) courant électrique dans de nom- ce type d'assemblage, celui-ci est tout d'abord pour moduler le courant électrique, en combreuses applications du quotidien. imagé avec un microscope à force atomique prendre les mécanismes sous-jacents et ainsi Ce sont eux qui circulent chaque fois (AFM) (figure 2), puis la pointe de l'AFM est former des matériaux candidats potentiels à que l'on branche un appareil sur positionnée sur l'objet afin de mesurer le coul'élaboration de composants électroniques, une prise électrique et qui sont à la rant entre la pointe et la surface. L'AFM présente de capteurs, ou de cellules solaires. • pointe AFM

base de l'électronique. Étudier et comprendre le grand avantage de permettre un positioncomment les électrons interagissent avec la nement de la pointe nanométrique sur l'obmatière est fondamental pour pouvoir contrô- jet à étudier avec une très grande précision. ler les propriétés des systèmes électriques ou Grâce à cette technique, il a été montré que électroniques de demain. Les molécules et les les électrons sautaient d'une nanoparticule à nanoparticules sont des objets extrêmement une autre en traversant les molécules via les petits (de l'ordre du nanomètre) qui peuvent auto-assemblages, permettant le passage des influencer significativement la circulation électrons de la pointe à la surface (figure 3). des électrons.

Le but de ce travail est de réaliser des assem- Des potentialités d'utilisation blages de nanoparticules et de molécules Cette étude a permis d'évaluer l'influence de électronique à transmission (MET) (figure1). travaux ouvrent des potentialités d'utilisation



Comprendre comment les électrons interagissent avec la matière est fondamental pour contrôler les propriétés des systèmes électriques de demain

G Figure 1 : images MET d'assemblages molécules/ nanoparticules à deux grossissements. Seules les nanoparticules sont visibles. L'image de droite est un zoom sur un des bâtonnets de l'image de gauche. © Simon Tricard – LPCNO

Figure 2 : image AFM d'un assemblage molécules/ nanoparticules. On observe la morphologie globale de l'obiet, sur lequel on pourra venir positionner la pointe avec précision. ©Marine Tassé - LCC

- par voie chimique favorisant le passage des trois éléments sur le courant électrique au électrons. Dans certains cas, ces assemblages sein d'un assemblage molécules/nanopartiont des formes de bâtonnets dont les détails cules : la taille des nanoparticules, la distance peuvent être observés grâce à un microscope qui les sépare et la nature des molécules. Ces



Figure 3 : Principe d'une mesure de courant électrique grâce à une pointe AFM. Les électrons viennent de la pointe et sautent de nanoparticule en nanoparticule en traversant les molécules pour rejoindre la surface. © Simon Tricard - LPCNO





🗥 La molécule-moteur (2 nm de diamètre) est ancrée sur la surface d'or (en bleu foncé) grâce au trépied soufré (bleu clair). Le plateau supérieur tourne autour de son axe dans le sens des aiguilles d'une montre ou dans le sens inverse, selon la position de la pointe du microscope, réglée au picomètre près (1/1000^e de nanomètre), © G. Rapenne et G. Vives, CEMES-CNRS / UPS

DES MOLÉCULES TRANSFORMÉES EN MOTEURS NANOMÉTRIQUES

La pointe d'un microscope à effet tunnel permet de déclencher et de visualiser la rotation du rotor d'un moteur moléculaire de 2 nm de diamètre. Cette rotation est contrôlée dans un sens ou dans l'autre suivant la partie de la molécule à travers laquelle passent les électrons émis par le microscope.

notre échelle, un moteur rotatif Au-delà de la synthèse de ces obiets, la difest une machine qui transforme ficulté est de pouvoir les contrôler parfaitede l'énergie en mouvement de ment et de comprendre leur fonctionnement. rotation capable d'effectuer La molécule-moteur concue et synthétisée un travail. Depuis une ving- est une molécule complexe combinant trois taine d'années, les chimistes sous-unités : un trépied pour l'ancrer solideont relevé le défi de miniaturiser à l'extrême ment sur une surface, une rotule métallique de tels mécanismes jusqu'à obtenir des permettant la rotation et un plateau supémachines de la taille d'une seule molécule. rieur comprenant cinq bras dont un est rac-



Quel type de microscope utilisé pour voir une seule molécule ?

Seule la microscopie à effet tunnel (STM). fonctionnant à - 268 ° C et sous un vide très poussé, permet ce degré de précision. Afin de comprendre les expériences de microscopie, il a aussi été nécessaire de développer des outils de calculs d'image et de mécanique moléculaire très performants pour reproduire la mécanique d'une molécule-moteur lorsqu'elle est ou non traversée par un courant.

courci (représenté en marron sur la figure ci-dessous, page de gauche) et tournant pas à pas. Les chercheurs ont déclenché et observé un mouvement de rotation unidirectionnel. contrôlé par la position précise de la pointe du microscope dans un sens ou dans l'autre. C'est le passage d'électrons de la pointe vers la surface, à travers la molécule, qui fournit l'énergie au moteur. Déclencher une rotation unidirectionnelle et inverser à volonté le sens de rotation, ont constitué une avancée majeure et une première mondiale dans ce domaine de recherche fondamentale.



Depuis une vingtaine d'années, les chimistes ont relevé le défi de miniaturiser jusqu'à obtenir des machines de la taille d'une seule molécule



Moteur en rotation



A Photographie de la pastille d'or d'un diamètre de 8 mm où se déroulera la course de moléculevoitures. Cette pastille est présentée ici en son habillage de protection avant montage sur son support et introduction dans le microscope.

Image STM du moteur moléculaire immobile à -268°C et en rotation continue à -193°C. Le dégradé de couleur correspond à la hauteur de l'objet analysé. La partie la plus claire correspond à une hauteur de 0.35 nanomètres., © G. Rapenne, CEMES-CNRS/UPS

Perspectives et applications envisagées

L'étape suivante sera de mesurer l'énergie fournie par cette rotation pour ensuite l'exploiter à l'échelle nanométrique. Ces moteurs extrêmement miniaturisés devraient permettre la construction de dispositifs électroniques et mécaniaues ultra-miniaturisés et économes en énergie. À plus long terme ces moteurs pourraient intégrer des robots de taille nanométrique ou motoriser les nano-véhicules développés par ailleurs.

REPOUSSER LES LIMITES DE LA MICROSCOPIE

La variété des exemples proposés dans ce Petit Illustré démontre l'immense potentialité des microscopies. Parallèlement à ces recherches, il est primordial que certains chercheurs consacrent leur activité à des développements instrumentaux originaux afin d'ouvrir de nouveaux champs d'investigation.

> insi en Midi-Pyrénées, des scientifiques de l'Institut des technologies avancées en sciences du vivant (ITAV) ont mis au point de nouveaux microscopes optiques dits « à feuille de lumière ». permettant d'observer les structures biologiques dans leur intégrité tridimensionnelle. La microscopie optique, pourtant apparue il y a plus de 400 ans, repousse sans cesse ses limites. Parallèlement, le Centre d'élaboration de matériaux et d'études structurales (CEMES) a développé des techniques d'imagerie électronique interférométrique originales (holographie électronique) mais aussi de sources d'électrons très brillantes pour la Microscopie électronique à transmission. En collaboration avec une société japonaise « Hitachi High



Microscope électronique en transmission I2TEM (*In situ interferometry transmission electron microscope*) du CEMES (Centre d'élaboration de matériaux et d'études structurales). © Cyril FRESILLON/CNRS Photothèque



Technologie» un microscope unique au monde (I2TEM) en termes de résolution a été également mis en œuvre. De façon plus générale, il est aujourd'hui possible d'envisager l'utilisation de microscope robot pour des études systématiques, ou la combinaison automatisée de plusieurs techniques d'imagerie pour étudier un objet sous différents aspects en une seule expérience. La quatrième dimension -le temps- devient-elle aussi de plus en plus présente : c'est la microscopie en 4D qui ouvre de nouveaux champs d'investigation et dont les chercheurs rêvent. De plus en plus sophistiquée en optique, elle devrait faire son apparition dans les autres microscopies. Cependant, tous ces progrès posent l'enjeu du traitement de données massives. En effet le traitement d'images de microscopie dans plusieurs dimensions et avec une haute résolution représente des milliards de données à stocker et gérer toujours plus vite. Il n'en reste pas moins que, tous ces progrès technologiques ouvrent de plus en plus grandes les portes du monde de l'infiniment petit et les chercheurs de Midi-Pyrénées y contribuent activement. ● Reconstruction en 3D de l'intérieur de l'intestin de souris à partir d'une série d'images obtenues par microscopie à feuille de lumière. Acquisition réalisée avec un microscope MacroSPIM, macroscope basé sur une excitation à feuille de lumière développé par Julien Colombelli, IRB Barcelone. Traitement d'image réalisé avec les logiciels AMIRA (FEI) et Adobe Photoshop CS4. © Jacques Rouquette (ITAV) et Christophe Guissard (STROMALab)

LE LABORATOIRE D'EXCELLENCE NEXT

e labex NEXT (Nano, mesures EXtremes et Théorie) est un regroupement scientifique de six laboratoires* du campus toulousain. Composé de près de 400 physiciens et chimistes, expérimentateurs et théoriciens, son objectif est de faire interagir ces différentes communautés pour bénéficier de nouvelles dynamiques et synergies multidisciplinaires autour de projets de recherche collaboratifs émergents.

La microscopie, qu'elle soit optique, électronique, de champs proches, utilisée comme un outil d'observation, de caractérisation, de fabrication ou encore de source de stimulus se retrouve donc naturellement au cœur de nombreuses expériences et projets scientifiques menées au sein de NEXT. Citons simplement quelques exemples de réalisation portés et soutenus par ce regroupement : la création de la plateforme PRONANO qui permet de caractériser les propriétés électroniques et magnétiques de nano-objets (nanoparticules, nanotubes, nanofils, etc.) en s'appuyant entre autres sur un AFM travaillant sous atmosphère d'argon ; le projet IVI-BECA qui a réussi à détecter par infrarouge ou par lumière visible des pertes magnétiques dans des couches minces gravées ou dans des nanoparticules avec des retombées dans le domaine de la nanomédecine et la catalyse ; le projet FLAMENCO qui a prouvé qu'il était possible d'utiliser des charges électrostatiques injectées par AFM pour piéger localement des nanoparticules d'hydrogel et ainsi réaliser des capteurs enviro-intelligents.

Enfin, NEXT participe également à la formation et à l'enseignement des étudiants, techniciens, ingénieurs, chercheurs sur de multiples thématiques scientifiques dont la microscopie avec des travaux pratiques en MEB, MET et AFM à l'Institut National des Sciences Appliquées (INSA) de Toulouse, l'Université Toulouse III - Paul Sabatier (UPS) ou via l'Atelier Interuniversitaire de Micro/Nano Électronique (AIME).

* le Centre d'Élaboration des Matériaux et d'Études Structurales (CEMES), le Laboratoire Collisions Agrégats Réactivité (LCAR), le Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets (LPCNO), le Laboratoire de Chimie et Physique Quantique (LCPQ), le Laboratoire de Physique Théorique (LPT), le Laboratoire National des Champs Magnétiques Intenses (LNCMI).

Finage AFM d'un nanotube de carbone connecté entre deux électrodes de Cr/Au.

TOULOUSE, PLACE FORTE DE LA MICROSCOPIE DEPUIS LES ANNÉES 50

oulouse renferme en son sein deux sites majeurs de microscopie. Le CEMES et le nouveau Centre de micro-caractérisation Raimond Castaing participent, chacun à leur manière, à l'écriture de l'histoire de la microscopie à Toulouse. C'est au CEMES que furent construits, dans les années 50, les premiers MET à très haute tension français et où sont aujourd'hui développés de nouvelles méthodes de microscopie. C'est au Centre Raimond Castaing, inauguré en 2014, que sont réunis des services de microscopie et caractérisation jusqu'alors dispersés sur différents sites.

De la « Boule » de Rangueil...

La construction en 1958 à Toulouse d'un microscope électronique en transmission, fonctionnant sous une tension supérieure au million de volts, a marqué le domaine. Sa très haute tension a en effet rendu possible la toute première observation de cellules vivantes dans un microscope électronique. L'impressionnant générateur de 1,2 millions de volts est toujours visible aujourd'hui au CEMES, dont

Image de microscopie en fluorescence de l'assemblage dirigé électrostatique de plots de nanoparticules d'hydrogel. © NEXT



CNIS 38 Le Petit Microscope illustré





la mission première, sous l'impulsion du professeur Gaston Dupouy, fut la construction de cet appareil inauguré par le Général de Gaulle en 1959. Placé dans une sphère de 24 mètres de diamètre, la « Boule » a inscrit durablement Toulouse dans l'histoire de la microscopie. Aujourd'hui, le CEMES poursuit le développement de microscopes de très haute technologie. Il offre l'accès à ces instruments à la communauté scientifique et industrielle nationale et européenne dans le cadre des réseaux METSA¹ et ESTEEM².

... au Centre de micro-caractérisation Raimond Castaing

Le nouveau Centre de micro-caractérisation Raimond Castaing réunit trois services historiques de microscopie et d'analyses Toulousains : le service microsonde électronique en fonctionnement depuis 1973, le service TEMSCAN qui pratique la microscopie électronique en transmission et balayage depuis les années 1980 et le service SIMS de micro-analyse ionique. Le nouveau centre Raimond Castaing, du nom de l'inventeur de la microsonde électronique,



Centre Raimond Castaing - © Cyril FRESILLON/UMS3623/ CNRS Photothèque

est un des rares pôles français à rassembler toutes ces microscopies. À l'entrée du centre, trône d'ailleurs l'un des premiers microscopes électroniques en transmission commercialisés dans l'Hexagone. C'est avec celui-là même que Raimond Castaing a commencé ses travaux de recherche.

 METSA : Le réseau de plate-forme en microscopie électronique en transmission et sonde atomique.
ESTEEM : Réseau européen pour la microscopie électronique. Direction générale : José Biosca Coordination : Pascal Lemoine Création graphique : Sandrine Lucas Secrétariat de rédaction : Jean-Paul Bobin Comité de rédaction CNRS : Catherine Dematteis, Alexandre Papin et Béatrice Chatel.

Photo de couverture :

Image en microscopie électronique à balayage d'un débris de plastique récolté dans le gyre de l'Atlantique Nord, zone où s'accumulent les déchets de plastique flottants. Gros plan sur une diatomée fixée sur le débris de plastique. © Alexandra Ter Halle - IMRCP

Photos de 4^{ème} de couverture :

Puceron observé en microscopie électronique à balayage (MEB). © Stephan BORENSZTAJN/CNRS Photothèque Megavirus vu en microscopie électronique. © Chantal ABERGEL/IGS/CNRS Photothèque

Diffusion : La Dépêche du Midi Impression : Techni Print - Montauban

Bien que la société Le Cèdre ait fait tout son possible pour citer correctement et contacter la source et/ou le(s) détenteur(s) du copyright de chaque photo, nous nous excusons par avance de toute erreur ou omission involontaire qui serait immédiatement corrigée dans une prochaine édition.



Journal de la Démocratie Groupe La Dépêche du Midi Société Anonyme au capital de 3 577 010 euros Siège : Avenue Jean Baylet, 31095 Toulouse CEDEX Tél : 05 62 11 33 00 - Fax 05 61 44 74 74 e-mail : contact@ladepeche.com

Président Directeur Général et responsable de la Rédaction : Marie-France MARCHAND-Baylet Directeur de la publication : Jean-Nicolas BAYLET

Commission paritaire n : 0310 C 87785 - ISSN 0181-7981



La Société Francaise des Microscopies est une association à but non lucratif qui vise à promouvoir tous les types de microscopies : depuis les microscopies électroniques jusqu'aux microscopies photoniques en passant par les microscopies à sonde de proximité ou à sonde atomique. Cette société savante regroupe plus de 500 scientifiques de toutes disciplines développant ou mettant en œuvre des méthodes de microscopie dans le domaine des Sciences de la matière et des Sciences du vivant. En concertation avec les sociétés commerciales et les autres membres de la profession. la Sfu participe à la diffusion du savoir via un enseignement pratique et théorique. Elle soutient financièrement certaines manifestations ayant trait aux microscopies mais également la participation de ses membres à des ateliers, collogues et congrès.

> Guy Schoehn, Président www.sfmu.fr

REMERCIEMENTS

En plus de tous les contributeurs de ce *Petit illustré* le CNRS remercie particulièrement Antoine Barnabé, Julien Bobroff, Marie-José Cazanove, Pierre-Emmanuel Gleizes, Alain Jauneau et Etienne Snoeck pour leur aide dans la réalisation de cette brochure.

Le CNRS tient également à remercier le labex Next, la Société Française de Microscopies, la CASDEN et la MGEN pour leur engagement dans des actions de diffusion de la culture scientifique.



mgen

MUTUELLE PRÉVOYANCE

1A SANTÉ, C'EST SÉRIEUX.

CHOISI

Découvrez l'offre CASDEN dédiée aux personnels du CNRS

Pour plus d'informations, contactez votre Chargée de Relation Enseignement Supérieur et Recherche Valérie Maria valerie.maria@casden.banguepopulaire.fr 06 77 31 56 81 (Appel non surtaxé, coût selon votre opérateur)

À & CASDEN,

le collectifest notre moteur!

La CASDEN partage avec ses Sociétaires le sens de l'intérêt général et du service public et les accompagne au quotidien dans la réalisation de leurs projets personnels et professionnels.

Comme plus d'un million de Sociétaires, faites confiance à la CASDEN !



casden 🗗

CASDEN, la banque coopérative de toute la Fonction publique



PLONGEZ AU CŒUR DE L'INVISIBLE AVEC LES CHERCHEURS DE MIDI-PYRÉNÉES, LE CNRS ET LA DÉPÊCHE DU MIDI.

DÉCOUVREZ LA PUISSANCE DES MICROSCOPIES ET LA VARIÉTÉ DE LEURS APPLICATIONS.



Puceron

2 millimètres



Globule rouge 8 micromètres



CNrs`



Atome 0.1 nanomètre