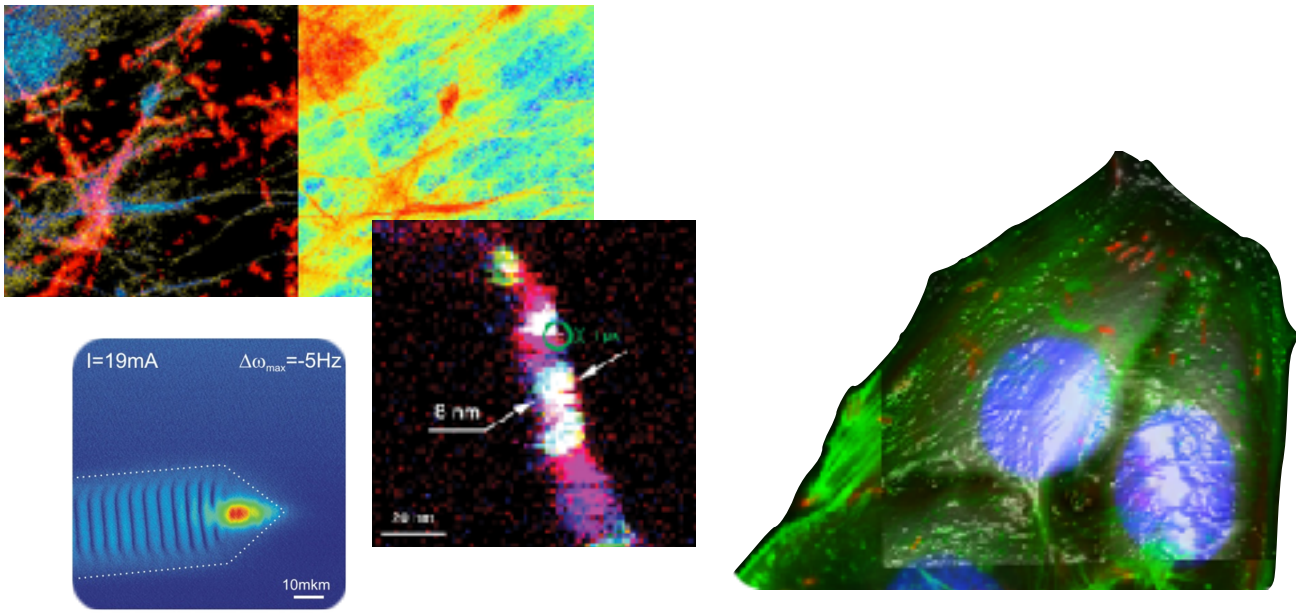
Journée Thématique
Couplage Microscopies Optiques - Microscopie à Force Atomique

Organisée à L'institut Pasteur de Lille
avec le soutien des 2 réseaux technologiques RéMiSoL et RTMFM

Mardi 11 octobre 2016 de 9H30 à 17H30
Institut Pasteur de Lille, Institut de Biologie de Lille (Amphithéâtre)
1, rue du professeur Calmette - 59000 Lille



Inscription gratuite et obligatoire avant le 21/09/2016
https://indico.mathrice.fr/event/36/
F. Lafont et S. Janel pour le Groupe de travail couplage AFM/Optique

PROGRAMME

9H30-10H00 : Accueil

Thème #1 : Couplage AFM/Photonique

10H00 : R. Arinero (IES Montpellier) : Caractérisation de laser émettant dans le moyen infrarouge par AFM
10H30 : C. Marlière (Univ. Paris Sud) : Etude in-vivo de l'action d'antibiotiques sur la paroi bactérienne
11H00 : S. Janel (CIIL Lille) : Applications du couplage de microscopies photoniques à l'AFM en biologie
11H30 : Table ronde couplage photonique

12H15 - 13H30 : Repas sur le campus

13H30 : Visite des systèmes couplés de l'IPL

Thème #2 : Champ Proche Optique

14H00 : C. Fiorini-Debuisschert (CEA Saclay) : Etude des propriétés optiques de nano-objets : du couplage d'un AFM à un microscope inversé au développement d'un banc original de microscopie SNOM à sondes actives
14H30 : P. Gall Borrut (IES Montpellier) : Fabrication et caractérisation de sondes de champ proche optique de type levier AFM
15H00 : Table ronde champ proche optique

Thème #3 : Couplage et Spectroscopie

15H30 : L. Nony (Uni. Marseille) : Chaîne de mesure de spectroscopie de réflectance différentielle pour la mesure en temps réel du spectre d'absorption (UV-vis) de molécules organiques auto-assemblées dans le régime monocouche sur des substrats isolants et sous ultra-vide.
16H00 : M. Chaigneau (Horiba) : Imagerie Raman ultra-rapide en Champ proche optique. Derniers développements et applications en NanoRaman.
16H30 : Table ronde spectroscopie
17H00 : Discussions

17H30 : Cloture de la journée

DESCRIPTION

Le Groupe de Travail (GT) s'intéresse aux problèmes liés au Couplage champ proche – optique au sens large. Le couplage s'entend comme un dispositif permettant de faire des acquisitions dans les deux modes soit simultanément soit de manière séquentielle.

Les problématiques de repositionnement sont discutées dans un autre GT (GT Repositionnement). Il est question ici de l'apport de chaque mode en fonction de l'échantillon et de la question posée, de la préparation des échantillons, des dispositifs pour réaliser les acquisitions de données et leur traitement.

Différentes modalités de couplages sont concernées : microscopie photonique et AFM (dans toutes ses composantes ; imagerie, spectroscopie de force, AFM rapide, AM-AFM...), nanoIR, spectroscopie Raman, SNOM,…

De plus en plus de systèmes couplant les deux modes de microscopies sont installés dans les laboratoires en plus des développements mixant les deux domaines. Une grande diversité d'appareillage émerge sans que les solutions techniques et les savoir-faire soient disponibles au sein de la communauté. Des solutions de couplage originaux sont développées voire au sein de deux laboratoires en même temps. Il est donc question de partager toutes ces expertises. Ainsi, des moyens techniques hardware et software peuvent-ils être multipliés et des verrous conceptuels levés par la mise en commun des réflexions sur le sujet.

Dans un premier temps nous proposons de faire un état des lieux des recherches et développements techniques en cours afin de pouvoir mieux appréhender la diversité du domaine et dégager des lignes d'approfondissements pour le GT en fonction des enjeux.

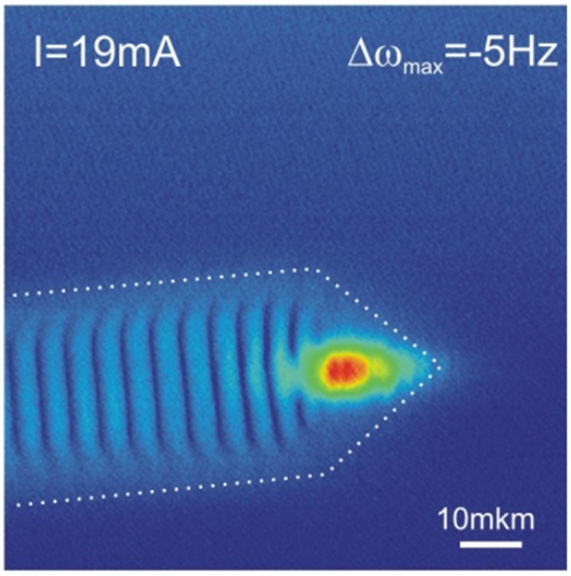
Cette thématique est soutenu par les deux réseaux de microscopie RéMiSoL et RTmFm de la Mission pour l'Interdisciplinarité.

RÉSUMÉS

Caractérisation de laser émettant dans le moyen infrarouge par AFM

Richard Arinero - Institut d'Electronique et des Systèmes (IES) UMR CNRS 5214

Nous développons la microscopie à force atomique comme moyen d'investigation du rayonnement émis par un laser dans le moyen infrarouge. La méthode est basée sur la détection de faibles variations de fréquence (ou de phase) des cantilevers induites par le rayonnement absorbé (effet thermique). L'avantage d'une telle méthode est qu'elle ne nécessite pas l'utilisation de sondes à ouverture (comme en SNOM « classique ») et qu'elle peut être réalisée de manière conventionnelle avec un AFM commercial. Nous sommes parvenus à visualiser les modes d'émission d'un laser WGM (à modes de galerie) émettant à 2.15 µm. Nous avons pu atteindre des résolutions de l'ordre de 300 nm, c'est-à-dire bien en-dessous de la longueur d'onde. Nous avons également adapté notre approche à la mesure de la puissance optique des diodes lasers dans le moyen infrarouge. Il s'agit d'une alternative intéressante, à l'utilisation des photo-détecteurs usuels. Ces travaux sont réalisés dans le cadre du laboratoire international ILNACS.



Light-induced frequency shift (LIFS) image of the light emitted by a mid-IR III-V laser, obtained from dynamic AFM under vacuum. (The dashed-line is a guide for the eyes)

Imagerie Raman en Champ proche optique ultra-rapide

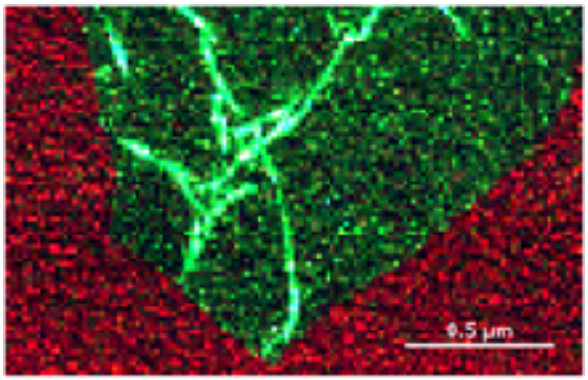
Marc Chaigneau - HORIBA Scientific, Avenue de la Vauve- Passage Jobin Yvon, 91120 Palaiseau, France

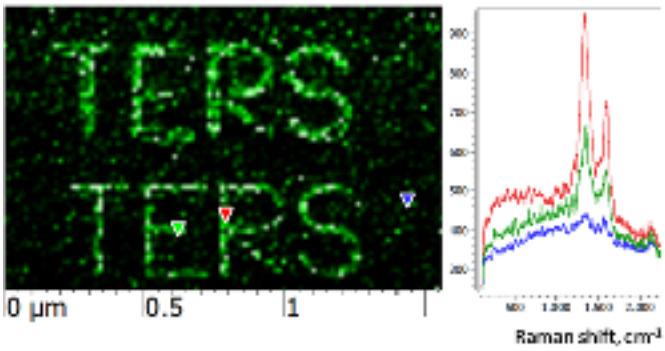
La spectroscopie Raman en champ proche optique (TERS, Tip Enhanced Raman Spectroscopy, ou encore nanoRaman), est la combinaison instrumentale du Raman avec un microscope à sonde local (SPM, Scanning Probe Microscope).

De par sa capacité à donner des informations physico-chimiques à l'échelle du nanomètre, le TERS suscite depuis maintenant près de 15 ans un intérêt croissant. De applications en sciences des matériaux ont précédemment montré la faisabilité de mesurer la déformation locale dans des structures semi-conductrices, d'imager à l'échelle individuelle des nano-objets, de caractériser l'orientation de monocouches organiques ou encore de tracer la signature de cellules biologiques. Malgré ces belles réalisations, la technique TERS souffre d'un temps d'acquisition très long, l'acquisition d'images pixélisées raisonnablement denses nécessites en effet des heures, et les conséquences de dérives de l'instrument qui en découlent sont critiques.

Dans cette présentation orale, les spécificités techniques d'un instrument TERS combinant des technologies innovantes permettant l'imagerie rapide seront discutées (le SPM, le couplage opto-mécanique, ainsi que les derniers développements des nano-sondes responsables de l'exaltation). Nous présenterons alors des images hautement résolues de nanotubes de carbone, de graphène et autres matériaux 2D (MoS2, WS2), obtenues de façon routinière avec une capacité de résolution spatiale de l'ordre de 15-20 nm.

Pour aller encore plus loin vers une imagerie ultra-rapide, nous présenterons également les développements récents d'un instrument TERS stimulé. Cet instrument est réalisé en intégrant au couplage SPM/Raman, en plus du laser de pompe habituel, un second laser de stimulation. Un gain optique de l'ordre de 109 est alors mesuré ainsi qu'une nette augmentation du rapport signal sur bruit (~103). Cette nouvelle technique de Raman stimulé en champ proche est appliquée à l'imagerie d'une monocouche d'azobenzene auto-assemblée, une résolution spatiale de 6 nm est atteinte.



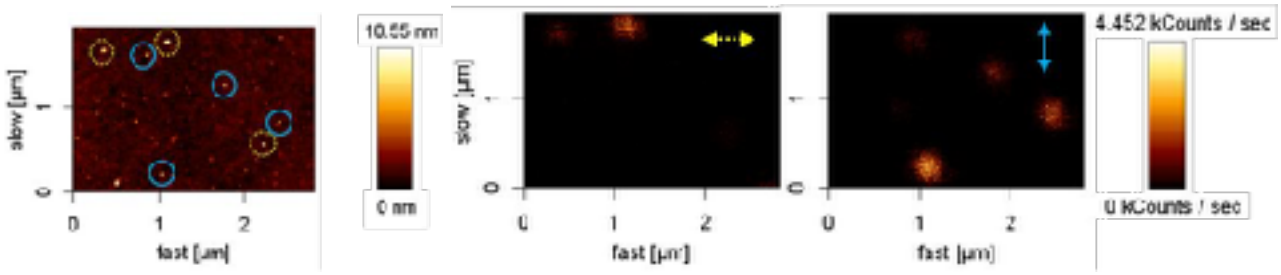


Etude des propriétés optiques de nano-objets : du couplage d'un AFM à un microscope inversé au développement d'un banc original de microscopie SNOM à sondes actives

Céline Fiorini-Debuisschert, celine.fiorini@cea.fr
SPEC, CEA, CNRS, Université Paris-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette cedex

Les différents besoins des nanotechnologies imposent d'atteindre des résolutions sans cesse accrues. Différentes techniques de microscopies à sonde locale sont aujourd'hui disponibles (AFM, STM, SNOM ...) Cependant, des techniques optiques hautement résolues manquent : en biologie notamment ou pour développer de nouveaux champs d'applications utilisant des nanocomposants basés sur des processus opto-électroniques locaux ou des processus moléculaires ...

Afin de pouvoir mener des caractérisations approfondies à l'échelle de nano-objets uniques (nanoparticules d'or ou quantum dots ...), nous avons mis en œuvre un banc expérimental associant un AFM (JPK NanoWizard III) à un microscope optique inversé, couplé à une excitation laser Ti-Saphir (Tsunami, Spectra Physics, 760nm < λ< 920nm) de façon à pouvoir faire des études simultanées permettant de corréler la topographie (taille, forme, orientation ...) et l'émission (luminescence notamment) d'objets individuels nanométriques (cf figure ci-dessous). Au-delà de la mesure de l'intensité globale de luminescence, l'émission de chaque objet peut également être analysée spectralement ou en polarisation.



Images (2 µmx3µm) de nanobâtonnets d'or (10x40nm) immobilisés sur des substrats de verre-ITO (a) topographie AFM (mode contact intermittent) et (b) images simultanées de luminescence à deux photons (mode comptage de photons) en polarisation horizontale et verticale. Une forte dépendance de la luminescence avec l'orientation horizontale / verticale des nano-bâtonnets (repérages respectivement bleu et jaune) est observée.

En jouant sur les effets dits de « lightning rod », notre objectif est désormais de voir dans quelle mesure il est possible de tirer parti d'une exaltation locale de champ au niveau de la pointe de façon à pouvoir aboutir à des caractérisations optiques avec des résolutions dépassant la limite de diffraction (« tip-enhanced near field optical microscopy »).
Au-delà du développement de pointes spécifiques, nous avons également récemment démontré un concept innovant de microscopie SNOM dite à sondes actives[ii], utilisant le champ électrique présent au niveau de la jonction d'un microscope à effet tunnel (STM), pour orienter localement un petit nombre de molécules et ainsi générer un signal de second harmonique (SH) intrinsèquement localisé, pouvant être mis à profit comme une nanosource de lumière. De premières images d'échantillons structurés à l'échelle nanométrique seront présentées[iii] et les perspectives de ce travail seront enfin discutées.

i C. Molinaro et al., J. Phys Chem C, 10.1021/acs.jpcc.6b07498, (2016)

ii I. Berline et al., J. Appl. Phys , 104(10), Article 103113, DOI: 10.1063/1.3028265 (2008) - Brevet FR12 51495 (2012).

iii P. Hsia, «Contrôle de l'orientation de molécules pour la réalisation de nanosources de lumière », thèse de l'univ. Paris Saclay (2015)

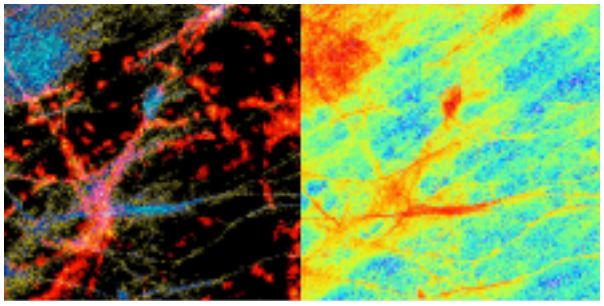
Applications du couplage de microscopies photoniques à l'AFM en biologie

Sébastien Janel, Simone Bovio, Yann Ciczora, Antonino Bongiovanni, Elisabeth Werkmeister, Frank Lafont
CIIL CNRS UMR8204, Institut pasteur de Lille

Nous présentons les différents couplages de la microscopie AFM avec les systèmes photoniques réalisés sur le campus de l'Institut pasteur de Lille : principes et applications. Sont concernés des systèmes sur microscopes inversés permettant les meilleures performances en microscopie de fluorescence : Confocal, TIRF, PALM/STORM, et STED/RESOLFT ; et des microscopes à force atomique commerciaux.

Nous présenterons les exemples d'applications suivants :

- manipulation de bactéries par AFM pour étudier les étapes précoces de l'infection dans les cellules épithéliales.
- mesure d'élasticité 3D corrélées avec la fluorescence
- Couplage AFM/PALM pour l'étude de l'actine dans le cas d'une cellule infectée
- Couplage AFM/Confocal pour l'études de stress des mitochondries intracellulaires.
- Couplage AFM/STED pour l'étude du cytosquelette des cellules



Exemple de corrélation entre la tubuline dans une cellule vivante imagée en STED et la carte d'élasticité calculée à partir de courbes de force acquises par AFM.

Fabrication et caractérisation de sondes de champ proche optique de type levier AFM

Pascale Gall Borrut

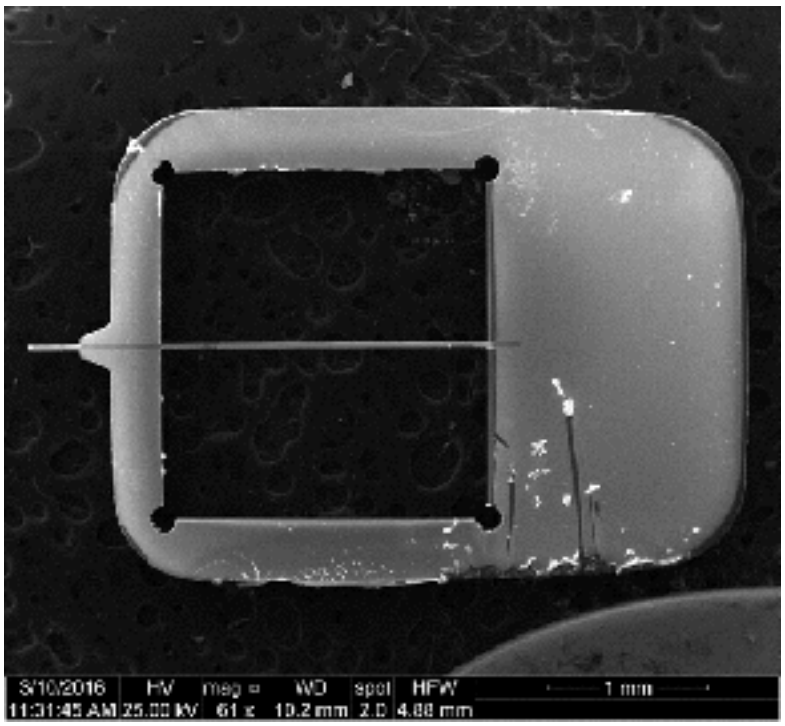
Institut d'Electronique et des Systèmes UMR5214, Montpellier

L'utilisation de la microscopie de champ proche optique reste très limitée (en particulier dans le domaine des sciences du vivant) bien qu'elle présente un fort potentiel pour apporter des réponses aux problématiques posées, en particulier en terme de résolution optique et d'interactions localisées.

Cela est principalement dû aux difficultés de mise en œuvre instrumentale (réglages optiques délicats) et/ou à la non reproductibilité de la fabrication des sondes et/ou à leur coût et/ou à leur fragilité, selon qu'il s'agit de sonde de type fibre optique ou de sonde de type cantilever AFM.

Nous avons conçu et fabriqué des sondes de type cantilever AFM en polymère. Ces sondes doivent permettre à l'utilisateur de s'affranchir d'un certains nombre de réglages optiques. Elles présentent les avantages des cantilevers : elles sont peu fragiles, leur fabrication est reproductible et de faible coût (si en grand nombre), on peut intégrer des fonctions optiques actives ou passives sur le support. D'autre part, leur pointe étant pleine, elles permettent de travailler en mode collection comme les fibres, ce qui n'est pas le cas des sondes commerciales de type cantilever actuelles dont les pointes sont creuses.

Les principes de conception des sondes, leur process de fabrication sont résumés et les sondes obtenues sont présentées. Les caractéristiques mécaniques et optiques des sondes ainsi que les difficultés rencontrées seront discutées.



PARTICIPANTS

Prénom	Nom	Prés.	Laboratoire	Réseau
Tashin	Akalin		IEMN Villeneuve d'Ascq	
Richard	Arinero	Oui	IES Montpellier	Rémisol
Nicolas	Barois		CIIL UMR8204	RCCM
Maxime	Berthe		IEMN Villeneuve d'Ascq	Rémisol
Antonino	Bongiovanni		Institut Pasteur de Lille	RTMFM
Simone	Bovio		CIIL UMR8204	Rémisol
Georges	Bremond		Institut des Nanotechnologies de Lyon	Rémisol
Marc	Chaigneau	Oui	Horiba jobin Yvon	
Brahim	Dahmani		Lovalite SAS	Rémisol
Heinrich	Diesinger		IEMN Villeneuve d'Ascq	
Vincent	Dupres		Université Lille 2	
Frédéric	Eghiaian		JPK Instruments	
Damien	Eschimese		IEMN Villeneuve d'Ascq	
Pascal	Falgayrettes		IES Montpellier	
Céline	Fiorini-Debuisschert	Oui	CEA Saclay DRF-IFRAMIS/SPEC/LEPO	Rémisol
Pascale	Gall Borrut	Oui	IES Montpellier	
Patrick	Hsia		Horiba jobin Yvon	
Christophe	Hubert		Laboratoire Hubert Curien	
Sébastien	Janel	Oui	CIIL UMR8204	Rémisol
Frank	Lafont		CIIL UMR8204	Rémisol
Denis	Mariolle		CEA Grenoble LETI/DTSI/SCMC	Rémisol
Christian	Marlière	Oui	Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay	Rémisol
Thierry	Melin		IEMN Villeneuve d'Ascq	
Laurent	Nony	Oui	Aix-Marseille Université, IM2NP	
Karen	Perronet		Laboratoire Charles Fabry, Institut Optique	RIC
Sophie	Salomé-Desnoullez		CIIL UMR8204	RTMFM
Joachim	Schreiber		Horiba jobin Yvon	
Romain	Stomp		Zurich Instruments AG	
Elisabeth	Werkmeister		CIIL UMR8204	RTMFM