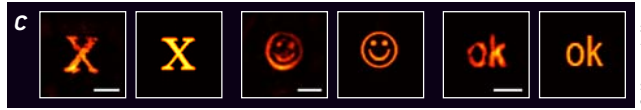
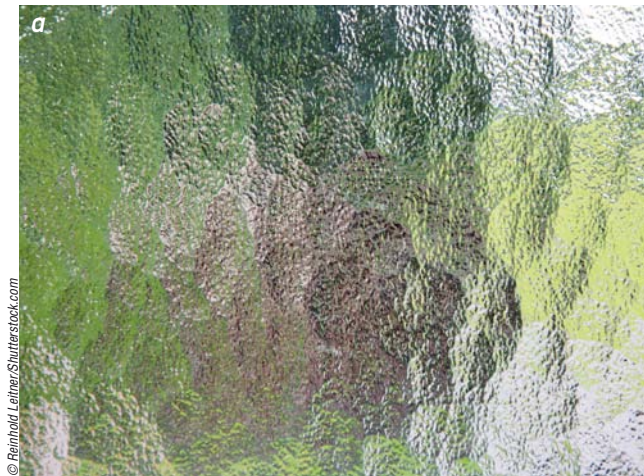


## Physique



© Reinhold Leibner/Shutterstock.com

O. Katz et al., Nature Photonics, 2014

## Voir sous la peau

*Des physiciens ont élaboré une technique simple et rapide pour voir à travers un milieu diffusant, tel qu'une vitre dépolie ou un tissu biologique. Des applications en imagerie médicale sont envisagées.*

**E**ssayez de voir à travers le verre dépoli d'une fenêtre de salle de bain, la vitre teintée d'une voiture ou... la peau. Impossible ? L'équipe de Sylvain Gigan, du Laboratoire Kastler-Brossel (UPMC, ENS, CNRS, Collège de France) à Paris, en collaboration avec l'Institut Langevin (ESPCI ParisTech, CNRS, UPMC, P7, Inserm), a pourtant élaboré une technique qui rend cette prouesse possible.

Les tissus biologiques et plus généralement les milieux diffusants dévient la lumière dans toutes les directions, si bien que des objets placés derrière n'apparaissent que comme des taches floues. De nombreux travaux visent à reconstituer l'image des objets vus à travers ces milieux. En 2008, l'équipe de Changhuey Yang, à l'Institut californien de technologie, a par exemple reconstitué l'image de motifs imprimés vus à travers une mince couche de... blanc de poulet ! Les chercheurs se sont fondés sur des techniques dites de renversement temporel, où l'on renvoie la lumière en sens inverse (elle repasse à travers le milieu diffusant) pour reconstituer l'image de l'objet. Cependant, ces

techniques nécessitent des dispositifs complexes et, en outre, l'image est reconstruite du même côté que l'objet que l'on cherche à observer...

L'équipe de S. Gigan a exploité un autre principe : une tache de diffusion n'est pas organisée de façon aléatoire, et sa structure contient des informations sur celle de l'objet. En superposant la tache avec une version décalée d'elle-même, on construit une figure dite d'autocorrélation, à partir de laquelle on peut mettre en évidence les régularités de la structure et reconstruire l'image de l'objet.

L'idée n'est pas nouvelle. Dès les années 1970, l'astronome français Antoine Labeyrie l'avait utilisée pour détecter certaines étoiles binaires qui, autrement, ne sont visibles que sous forme de taches diffuses par les télescopes terrestres à cause de l'atmosphère. En 2012, Jacopo Bertolotti, de l'Université d'Exeter au Royaume-Uni, et ses collègues s'en sont inspirés pour reconstruire l'image d'un objet placé derrière un écran diffusant, mais ils devaient pour cela éclairer l'objet avec un laser sous de multiples angles et analyser les corrélations entre l'intensité lumi-

neuse des taches correspondantes. Le processus, lent et fastidieux, prenait plusieurs heures, voire plusieurs jours.

Ori Katz, de l'équipe de S. Gigan, et ses collègues ont réussi à reconstruire l'image d'un objet à partir d'une seule image de la tache de diffusion, prise avec un simple téléphone portable ! Pour ce faire, ils ont étudié la luminosité enregistrée par les différents pixels : chacun recevant la lumière sous un angle différent, il est possible d'obtenir la même information que par la méthode de J. Bertolotti avec une seule photographie.

La rapidité de cette technique ouvre la voie à des applications en imagerie médicale, car elle permet de voir à travers un milieu mouvant. On pourrait ainsi visualiser des tissus biologiques ayant préalablement reçu un marquage fluorescent ou qui réfléchissent la lumière et sont éclairés de l'extérieur. La profondeur observable atteindrait plusieurs millimètres, pour une résolution micrométrique (de l'ordre de la taille d'une cellule).

**Guillaume Jacquemont**

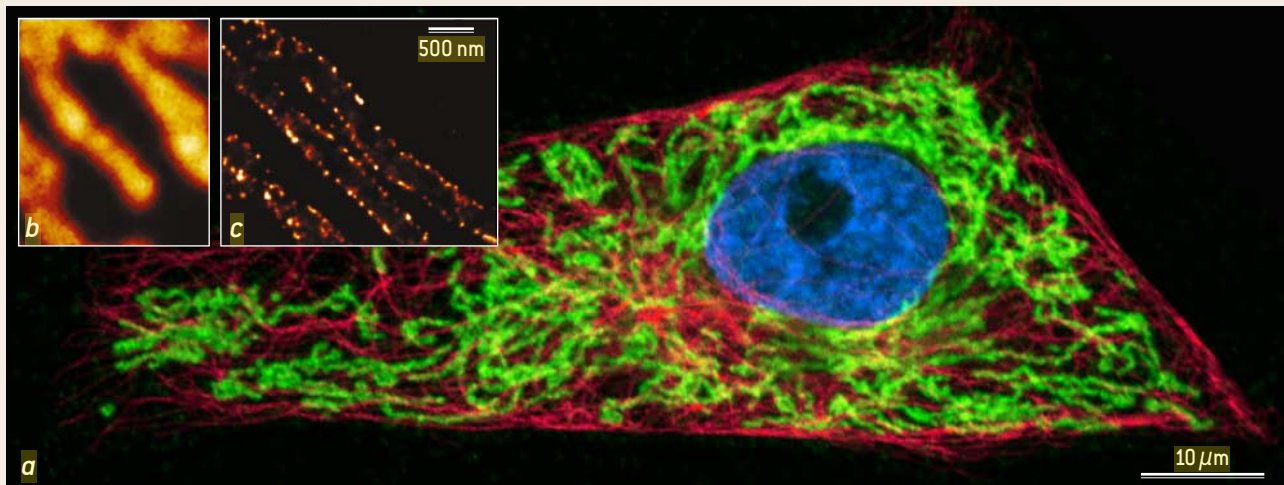
O. Katz et al., Nature Photonics, vol. 8, pp. 794-790, octobre 2014

La technique développée permettrait de reconstruire l'image de l'objet qui se cache derrière une vitre diffusante (a). Une photographie de la tache de diffusion prise par un téléphone portable contiendrait assez d'informations pour cela (b, photographie d'un motif en X lumineux vu à travers un milieu diffusant). La figure c montre trois exemples de motifs originaux (image de droite) et reconstruits (image de gauche) après le passage de leur lumière par un milieu diffusant. Les barres d'échelle correspondent à 1,7 millimètre.

## Chimie

# L'ère de la nanoscopie optique

Eric Betzig, Stefan Hell et William Moerner ont été récompensés pour le développement de deux techniques de microscopie à fluorescence permettant de visualiser le vivant à l'échelle nanoscopique.



avec l'autorisation de Schmidt et al. *Nano Letters*, vol. 9, pp. 2508-2510 ©2009 American Chemical Society

Les mitochondries (*a*, en vert), les usines à énergie de la cellule, observées en microscopie STED avec le squelette de microtubules de la cellule (*en rouge*) et son noyau (*en bleu*). Les mitochondries vues par STED (*c*) apparaissent avec une résolution bien meilleure que celle des meilleurs microscopes à fluorescence classiques (*b*).

**A**ujourd'hui, le microscope optique est un outil incontournable du biologiste. Grâce à lui, on visualise des processus cellulaires aussi précis que le recrutement dynamique de calcium dans les neurones, le déplacement de molécules dans les cellules ou le devenir de protéines lors de la division cellulaire. Si de telles prouesses sont possibles, c'est en particulier grâce au développement d'une forme de microscopie, dite à fluorescence, où ce que l'on observe est la lumière produite à une certaine longueur d'onde par des molécules fluorescentes excitées à l'aide d'une source lumineuse (un laser en général).

La microscopie à fluorescence est utilisée depuis plusieurs dizaines d'années. Toutefois, avant les années 2000, il était impossible de distinguer deux structures distantes de moins de 200 nanomètres. Imposée par la nature ondulatoire de la lumière, cette limite fut décrite dès la fin du XIX<sup>e</sup> siècle par le physicien allemand Ernst Abbe : le pouvoir de résolution est limité par la diffraction de la lumière. L'image d'un point par un microscope n'est pas un point, mais une petite tache circulaire qui masque les alentours du point.

Eric Betzig, du *Howard Hughes Medical Institute*, à Ashburn aux États-Unis, Stefan Hell, de l'Institut Max Planck de chimie biophysique de Göttingen, en Allemagne, et William Moerner, de l'Université Stanford, aux États-Unis, ont contourné cette limite par deux approches.

La première, nommée microscopie à déplétion par émission stimulée (microscopie STED), a été mise au point par S. Hell en 2000. Au lieu de simplement éclairer la zone à observer par un laser, ce qui excite toutes les molécules fluorescentes atteintes, S. Hell a eu l'idée de forcer toutes les molécules du champ éclairé à se désexciter, sauf celles situées au centre du champ, dans un volume de quelques nanomètres. Ce faisant, il impose que la région active soit inférieure à la limite de diffraction de Abbe, d'où une meilleure résolution. S. Hell utilise pour cela deux impulsions laser, l'une pour désexciter les molécules, l'autre pour déclencher la fluorescence des molécules au centre.

Quant à E. Betzig et W. Moerner, ils ont, indépendamment, posé les bases d'une nouvelle approche, la microscopie à l'échelle de la molécule unique, visant à

détecter les photons émis par chaque molécule fluorescente éclairée. En 1989, W. Moerner a montré qu'une telle détection est possible : ses collègues et lui ont observé, pour la première fois, la trace d'une molécule fluorescente unique dans un milieu dense (sous la forme d'un pic dans le spectre d'absorption de la lumière). Nombre de recherches ont été déclenchées par cette découverte, visant à améliorer la détection et à mettre au point une technique de microscopie intégrant le principe. E. Betzig, qui a participé activement à ces recherches, a ainsi été le premier, en 2006, à utiliser une telle méthode.

La microscopie à fluorescence de haute résolution n'en est qu'à ses débuts, mais progresse vite. Les deux principes récompensés sont déclinés sous de nombreuses formes, conduisant à autant de techniques toujours plus précises pour appréhender le vivant à l'échelle nanoscopique et suivre la dynamique des processus biologiques. Bientôt l'ère de la vidéonanoscopie en temps réel ?

**Marie-Neige Cordonnier**

[http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2014/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2014/)

# 10 nanomètres

C'est ce que distinguent

W. Moerner et ses collègues

par imagerie super-résolue

d'une petite molécule

à la surface d'une

bactérie vivante.\*