

Avis de Soutenance

Monsieur Laurent LE

Physique

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Développements pour la microscopie de fluorescence résolue en temps et la microscopie de localisation de molécules uniques

dirigés par Madame Sandrine LEVEQUE-FORT et Monsieur Guillaume DUPUIS

Soutenance prévue le **jeudi 11 juillet 2024** à 10h30

Lieu : Université Paris-Saclay, Rue André Rivière Bâtiment 520

Salle : Amphithéâtre ISMO

Composition du jury proposé

M. Tramier MARC	Université de Rennes - Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR)	Examinateur
Mme Valentina KRACHMALNICOFF	Université PSL - Institut Langevin	Examinatrice
M. François MARQUIER	Université Paris-Saclay - Laboratoire Lumière, Matière et Interfaces (LuMIn)	Examinateur
M. Emmanuel BEAUREPAIRE	Ecole Polytechnique - Laboratoire d'Optique et Bioscience (LOB)	Rapporteur
M. Jörg ENDERLEIN	Georg August University - Third Institute of Physics and Biophysics	Rapporteur

Mots-clés : Microscopie, SMLM, Nanoscopie, Fluorescence, FLIM,

Résumé :

La microscopie de fluorescence résolue en temps (FLIM) offre la capacité de mesurer les temps de vie des molécules fluorescentes à l'échelle de la nanoseconde, permettant ainsi d'explorer l'environnement local des protéines au sein des cellules. Nous présentons un microscope à déclenchement de portes périodiques en réflexion totale interne, destiné à fournir le sectionnement optique nécessaire pour étudier la tension membranaire des cellules à l'aide d'un biosenseur. Cependant, les détections résolues temporellement en FLIM impliquent un budget de photons élevé qui ne semble pas compatible avec la microscopie de localisation de molécules uniques (SMLM). L'imagerie SMLM permet de dépasser la limite de diffraction. Nous proposons donc de revisiter deux techniques introduisant une excitation pulsée résolue en temps, permettant d'intégrer tous les photons émis par fluorescence pour maximiser le signal. La première technique, nommée Double-Pulse Fluorescence Lifetime Imaging (DPFLIM) consiste à exciter les fluorophores avec deux impulsions dont le retard relatif est connu. La deuxième approche, nommée FLIM stroboscopique, utilise une excitation à haute cadence de répétition de l'ordre du gigahertz. Enfin, la biologie requiert l'observation simultanée de plusieurs structures cellulaires. Nous présentons deux techniques de microscopie multi-cibles en SMLM basées sur les propriétés

spectrales (Spectral Demixing) et de brillance (Flux Demixing), en combinant ces approches avec l'imagerie 3D.