

# LP32 : Microscopies optiques

Correcteurs : Sylvain Joubaud, Alain Villaume ; leçon présentée par Maxime Martinez

La liste des commentaires présents ci-dessous ne représentent qu'une opinion à un instant donné : il est indispensable de prendre l'ensemble des remarques avec un esprit critique. Un certain nombre d'idées sont évoqués, il n'est bien sûr pas indispensable de les suivre. Vous pouvez en avoir d'autre. Vous devez construire votre leçon avec votre approche et vos idées : c'est ce qui fera une bonne leçon, en plus des aspects scientifiques bien entendu.

## Commentaires généraux

La présentation est très dynamique et très agréable à suivre. Cependant, elle souffrait d'imprécisions dans le vocabulaire, les notations, les unités et dans l'enchaînement des idées (notamment au niveau du plan).

Le plan retenu est pertinent pour cette leçon. Compte tenu du titre, il est pertinent de démarrer sur le microscope "classique" puis d'étudier une technique récente de microscopie haute-résolution. Une idée générale de cette leçon tourne autour des limites des différents microscopes (et en particulier la limite de diffraction). Deux techniques de microscopie haute résolution ont été présentées. C'est, de notre point de vue, une de trop car elles ont été présentées de manière superficielles. Nous pensons qu'il faut mieux présenter une technique complètement (principe, mise en oeuvre, limites). D'autres techniques peuvent être introduites en conclusion, en se préparant aux questions qui pourront être posées.

Pour finir, une expérience a été utilisée tout au long de la leçon mais Maxime ne paraissait pas convaincu par l'utilité de l'expérience, ni sur sa réalisation. C'est dans ce cas difficile de convaincre l'auditoire sur cette partie. Une expérience a tout à fait sa place dans la leçon, il faut cependant bien l'utiliser, notamment, en indiquant les notions introduites par la suite (diaphragme, cercle oculaire...).

Une bibliographie intéressante pour cette leçon est l'article sur la microscopie de fluorescence biomédicale (Techniques de l'ingénieur, 2015), joint à ce rapport. Un article dans le bulletin de l'union des physiciens (en pièce jointe) devrait également sortir.

## Leçon présentée

## I Le microscope a deux lentilles

### 1 Grossissement et puissance

Le schéma d'optique manquait de précisions sur la position des focales, les tracés de rayons. Il est nécessaire dans cette partie de bien connaître les conditions de l'approximation de Gauss ainsi que les différentes aberrations pouvant apparaître.

Un schéma synoptique placé au début de cette partie donnera un peu de clarté. On en profitera pour faire le lien avec la manip.

### 2 Diaphragme et cercle oculaire

Le rôle des différents diaphragme n'est pas assez discuté. Il est nécessaire de donner des ordres de grandeurs et de les illustrer avec l'expérience proposée.

### 3 Limitations

Il est bien d'effectuer le calcul de la profondeur de champ au tableau mais il est nécessaire de l'introduire avec un schéma très propre et surtout, il est nécessaire de bien introduire les différentes notations utilisées.

L'explication sur limite de diffraction est bien mentionnée. Il est important de pouvoir justifier la forme lors des questions.

## II Microscopie à fluorescence

Cette partie est trop superficielle même si elle rentre parfaitement des les objectifs de la leçon.

### 1 Principe de fonctionnement

Il est nécessaire d'expliquer le principe précisément, de donner un exemple de molécules fluorescentes ainsi que le spectre d'absorption et d'émission de cette molécule.

### 2 Microscopie confocale

Si la microscopie confocale a tout à fait sa place dans la leçon, la position dans le plan de cette partie est plus discutable. En effet, elle n'a pas été mis en relation avec la fluorescence. Telle qu'elle a été présentée, il aurait été mieux de placer ces éléments à la fin de la partie 1.

### 3 PALM

Cette technique est intéressante et le principe de pointillisme est correctement expliqué. Les schéma au tableau sont cependant peu claires. Je pense qu'un programme numérique permettrait de manière très efficace d'illustrer de manière pédagogique cette partie. Il convient de fabriquer une image en utilisant un générateur aléatoire en python, de flouter l'image pour mettre en évidence la diffraction puis de repérer les centres. En répétant cette opération, nous obtenons l'image initiale.

Cette partie souffre en revanche d'un manque d'explication sur la réalisation concrète de la technique (laser utilisé, méthode d'activation, etc) ainsi que ses limitations. Il est pourtant indispensable d'en parler.

## III Microscopie en champ proche

### 1 Retour sur la limite de résolution

La justification des ondes évanescentes ne nous a pas convaincu. Je(Sylvain) reste très sceptique sur cette approche qui me paraît fautive car elle utilise des hypothèses non valables pour des objets de taille inférieure à la longueur d'onde. Il est sans doute préférable de plutôt introduire les ondes évanescentes avec la réflexion totale. Bien dire au passage que la composante  $k_z$  du vecteur d'onde est imaginaire pur.

### 2 SNOM

De même que pour la partie 2, cette partie est trop superficielle et manque d'informations sur la réalisation concrète d'un tel dispositif.

Une possibilité pour cette partie serait de traiter le microscope TIRF et utiliser le principe de réflexion totale.

## IV Conclusion

Il est possible en conclusion d'élargir sur la microscopie en générale et pas forcément se limiter à la microscopie optique.

## Questions/ Commentaires

Citer les différentes aberrations. Quel est l'effet de ne plus se limiter à l'approximation des petits angles.

ODG de R pour une dioptrie air/verre ?

Qu'est ce que l'approximation de l'optique géométrique ?

Qu'est ce que l'approximation de Gauss ?

Préciser la limite de diffraction.

Préciser les dispositifs expérimentaux et les limites des différents microscopes.