

LP - Microscopies optiques

Amélie Chardac¹

¹Univ. Lyon, ENS de Lyon, Univ. Claude Bernard,
CNRS, Laboratoire de Physique, F-69342, Lyon, France

(Dated: October 4, 2020)

Eléments de correction pour la leçon de physique "Microscopies optiques", présentée par Julie Deleuze (le 29/09/2020) dans le cadre de la préparation à l'agrégation de l'ENS de Lyon.

I. PRÉSENTATION

- Introduction : La présentation de l'oeil et de ses limites est une bonne introduction au sujet. L'utilisation d'une animation pour montrer l'accommodation est une bonne idée. Par contre, il faut être très pédagogue quand on présente les différents composants. Les définitions données étaient utiles et précises. On peut aller plus loin en donnant des OdG de tailles d'objets qu'on ne peut pas voir à l'oeil nu, ni avec une loupe (cellules, brins d'ADN...) et enchaîner sur la problématique de la leçon (comment voir plus petit ? Quels outils choisir ? ...)
- I. Microscope à deux lentilles : Le tracé du montage et la construction des rayons lumineux ont été fait en direct au tableau, c'est très bien de le faire au moins une fois dans la leçon. Ne pas hésiter à parler plus pendant la construction des rayons (par exemple "le rayon passant par le foyer donne un rayon parallèle à l'axe optique"). Le choix des différentes lentilles a été bien justifié. Cependant, c'est dommage d'avoir oublié la manipulation montée sur la paillasse et de ne pas avoir illustré le principe en direct. Cela aurait permis de montrer le rôle de chaque lentille. Les caractéristiques de performance d'un microscope ont été présentées clairement. On pourrait aller encore plus loin en faisant le lien avec les microscopes commerciaux (quelles grandeurs sont fixées par exemple, où se place l'oeil...).
- II. Limites de résolution : Des schémas ont été projetés pour illustrer les différentes aberrations. Il faudrait penser à guider l'oeil du jury en montrant bien avec la souris chaque élément dont vous parlez. C'est très pertinent de présenter pour chaque type d'aberrations, un moyen de les corriger. Le critère de Rayleigh est introduit clairement mais l'explication orale aurait pu s'appuyer sur un schéma avec les profils d'intensité dans 3 cas différents (bien résolu, non résolu, pile au critère de Rayleigh). Il faut bien être conscient que la définition de l'ouverture numérique peut être généralisée au cas où l'indice n'est pas 1. A cette étape de la leçon, il serait judicieux d'insister sur le compromis

nécessaire entre augmenter l'ouverture numérique (par exemple avec des objectifs à immersion) et ne pas avoir trop d'aberrations (accentuées par des rayons trop éloignés de l'axe optique). C'est vraiment le coeur du problème dans toute l'évolution de la microscopie moderne.

- III. Microscopie en champ proche : Le choix de la technique de microscopie moderne est libre. Il faut cependant qu'elle présente un vrai gain (résolution de quelques dizaines de nm idéalement). Ici la microscopie en champ proche a été bien expliquée. On aurait apprécié par contre, d'avoir une courte introduction sur le principe avant de rentrer dans les rappels d'Electromagnétisme. L'illustration de la technique choisie par une image réelle est indispensable. Ici la visualisation des brins d'ADN est très intéressante. Ne pas oublier de donner les échelles de taille et surtout profitez-en pour reboucler avec votre introduction : on arrive à voir des objets impossible à voir avec un microscope à 2 lentilles classique. C'est primordial pour la recherche actuelle en biologique et en physique.
- Conclusion : c'est bien de rappeler ce qui a été présenté dans la leçon. Ici insister sur le gain des microscopes modernes et sur la compétition entre les aberrations et la diffraction. Vous pouvez ouvrir sur un autre type de microscopie (électronique par exemple, en expliquant ce qu'elle apporterait et dans quel contexte ça serait intéressant).
- Outils numériques : l'usage de schémas et de figures projetés était pertinent. N'oubliez pas de présenter chaque élément du schéma pour que le jury sache ce qu'il voit.
- Questions : je vous conseille de vous renseigner sur les différentes techniques de microscopies non présentées dans la leçon. Idéalement il faudrait être capable de résumer le principe et les avantages de chacune en une ou deux phrases. Il faut aussi être au courant des techniques d'éclairage.
- Général sur cette leçon : la présentation était claire, le discours fluide et le rythme agréable. Le plan était pertinent mais il aurait pu être mis plus en relief. De manière générale, essayez d'inscrire le plan de la leçon dans une "histoire" grâce à

un objectif/fil rouge que vous fixez en introduction. Ainsi vos différentes parties s'enchaîneront facilement grâce à ce fil rouge et feront moins "catalogue". Cette leçon en particulier se prête très bien à des discussions pratiques (comment trouver un optimum entre résolution et qualité de l'image ? Quel outil choisir selon ce qu'on souhaite observer ?...).

II. BIBLIOGRAPHIE

- Houard Optique
- PCSI Gréacias (optique géométrique)
- Les instruments d'optique, Dettwiller
- Les nouvelles microscopie, Aigouy
- Site : Zhuang harvard Storm images
- Site <https://toutestquantique.fr/fluorescent-et-confocal/> (vidéos)
- <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-microscope-confocal-7777/>
- Champ proche Article des techniques de l'Ingénieur <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesures-analyses-th1/techniques-d-analyse-par-imagerie-42387210/microscopie-optique-en-champ-proche-principe-p862/>
- Microscopie de fluorescence biomédicale Article des techniques de l'Ingénieur 2015
- Pour le champ proche : Optique instrumentale de P. Bouchareine ou Le champ proche optique de D. Courjon
- Cours de Vincent Croquette (LPS) sur la microscopie haute résolution (fluorescence) : <https://pimprenelle.lps.ens.fr/biolps/sites/default/files/teaching/4/HiRes.pdf>

III. REMARQUES COMPLÉMENTAIRES

- Illustrer les différentes propriétés en direct sur la paillasse. Parler des limites (aberrations, résolution...) du microscope réel. Bien faire le lien avec un microscope réel.
- Une technique de microscopie moderne (haute résolution : < 50nm) est demandée.
- C'est une leçon qui se veut concrète et orientée vers les utilisations pratiques du microscope. N'hésitez pas à parler régulièrement du microscope commercial, des OdG usuels de grossissement par exemple, et mettre en avant les difficultés techniques pour améliorer la résolution.
- Autre fil rouge possible : on montre un microscope commercial sur la paillasse, c'est un outil que tout le monde a déjà vu. Mais qu'est-ce qu'il y a dedans ? Comment ça fonctionne et surtout jusqu'où on peut voir avec un tel appareil ?
- **Choix de la technique de microscopie optique à haute résolution** : Le titre de la leçon étant " Microscopies optiques", il ne faut pas présenter de microscopies non-optiques (électronique, AFM...). Parmi les différents choix possibles, on peut citer :
 - la microscopie à fluorescence et ses nombreuses améliorations, qui ont permis au cours de ces dernières années d'atteindre une résolution de l'ordre du nm : microscopie STED et PALM/STORM
 - la microscopie confocale, qui permet de réduire fortement la profondeur de champ d'un microscope, bien que la résolution de l'image reste soumise au critère de Rayleigh,
 - la microscopie optique en champ proche, car son principe est assez simple, sa résolution est de l'ordre du nm, et elle est bien documentée.