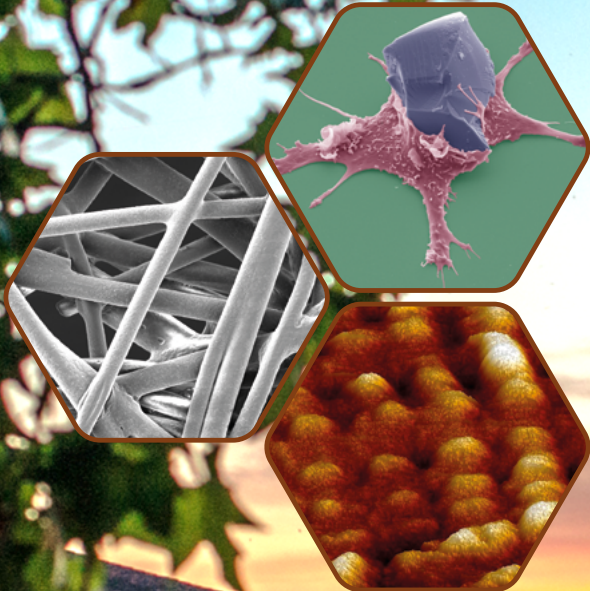


19^e colloque de la Société Française des Microscopies



Book of abstracts

30 juin - 4 juillet 2025
Toulouse



Bienvenue au Colloque de la Société Française des Microscopies 2025 à Toulouse

Chères et chers collègues,

Nous avons le plaisir de vous inviter au prochain colloque de la Société française des Microscopies (Sfμ), qui se tiendra à l'Université Paul Sabatier à Toulouse, du 30 juin au 4 juillet 2025. Cet événement est un rendez-vous incontournable de la communauté des microscopistes de France, francophone et au-delà. Le colloque rassemblera chercheurs et professionnels du domaine pour partager leurs découvertes, innovations et avancées technologiques.

Toulouse, ville au riche patrimoine scientifique et culturel, offre un cadre idéal pour notre colloque. Nous préparons un programme de conférence équilibré qui abordera tous les types de microscopies, et proposera aussi bien des sessions dédiées aux Sciences de la vie, aux Sciences des matériaux, mais aussi des sessions communes qui permettront de favoriser les échanges interdisciplinaires. Ces sessions débiteront par des conférences données par des scientifiques pionniers ou reconnus dans leur domaine, suivies par des présentations orales données par des chercheurs qui auront répondu à l'appel à communications. Des sessions posters dépoussiérées, organisées en chemin thématique, viendront enrichir le programme.

Un point fort du congrès sera la présence de nombreux exposants industriels (au moins vingt attendus), qui présenteront leurs dernières technologies, derniers développements, équipements et avancées tout au long de l'évènement.

Des ateliers pratiques sont également prévus ; ils auront lieu en amont du congrès, dans les différents laboratoires du site toulousain. Ils permettront aux chercheurs, à toute étape de leur carrière, de découvrir, approfondir, s'enrichir de nouvelles techniques de microscopie, applications et méthodologies.

Afin de favoriser une atmosphère d'échanges libres et ouverts entre les participants, différents moments conviviaux sont prévus, notamment un cocktail d'accueil, un « apéro-poster », et un dîner gala au restaurant de notre chef toulousain Michel Sarran, qui marie saveurs locales et vue magnifique sur la ville de Toulouse.

Nous nous réjouissons de vous retrouver nombreux à Toulouse en 2025.

Cécile Formosa-Dague
Pour le comité local d'organisation

Chères et chers collègues,

C'est avec grand plaisir que le conseil scientifique du 19^e colloque de la Société française des Microscopies a travaillé sur la définition des sessions et vous invite à y participer activement. A l'image de la ville de Toulouse qui accueille le colloque cette année, carrefour culturel et économique de l'Europe, le conseil scientifique a décidé de mettre à l'honneur les ponts et les échanges, avec un programme scientifique représentatif de la richesse thématique et technique de la société. Notamment, plusieurs sessions mettent en avant les aspects multidisciplinaires de la microscopie : Imagerie corrélative et multimodale, Interfaces, Multitechniques et approches multiphysiques, Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme. Les sessions mixant des présentations invitées, des soumissions orales et des posters, seront l'occasion d'échanges riches et variés. Que la diversité des discussions soit à l'image du dynamisme de la Sfμ et nul doute que cette 19^e édition sera un succès scientifique, humainement enrichissant !

Le comité scientifique de l'édition toulousaine du Colloque

Mesdames, Messieurs,

C'est avec un grand plaisir que je vous souhaite la bienvenue au colloque biennal de la Société française des microscopies (Sfμ) de Toulouse.

Ce rendez-vous incontournable pour la microscopie française nous réunit tous les deux ans autour d'une même passion : l'exploration par l'image des matériaux à la matière vivante. A ce titre, le titre de la conférence d'ouverture, « À la recherche de nouveaux mondes » traduit parfaitement l'esprit qui nous anime : l'exploration de notre univers à toutes les échelles.

Du 30 juin au 4 juillet, à travers 4 sessions communes, 4 sessions SdV, 4 sessions SdM, une session poster et 8 ateliers, ce colloque est l'occasion de découvrir les avancées les plus récentes en microscopie électronique, photonique, à sonde locale, en analyse d'images et bien d'autres approches émergentes dans toute leur diversité.

Le colloque est aussi l'occasion de nous retrouver et d'offrir un espace propice aux échanges entre communautés scientifiques, et de permettre à tous les chercheurs, jeunes ou moins jeunes, de présenter et de discuter de leurs travaux. C'est bien dans cet esprit que, comme à chaque édition désormais, les lauréats des prix de thèse (prix Favard) et du prix Castaing qui récompense des chercheurs confirmés seront révélés.

Je tiens à remercier chaleureusement le comité d'organisation pour son investissement constant depuis plusieurs mois, les conférenciers invités pour leur participation, nos partenaires industriels qui nous accompagnent au quotidien et sans lesquels cet événement ne pourrait pas avoir lieu. Je tiens également à vous remercier pour votre participation à cet événement.

Je vous souhaite à toutes et à tous un excellent colloque, riche en échanges, en découvertes et en perspectives nouvelles.

Bien cordialement,

Jean-Marc Verbavatz
Président de la Sfμ

TABLE DES MATIÈRES

COMITÉS	5
SPONSORS PRIVÉS.....	6
BINGO DES SPONSORS.....	7
ENCARTS PUBLICITAIRES DES SPONSORS	8
SPONSORS PUBLICS.....	28
CONCOURS PHOTO	29
PHOTOS SOUMISES DANS LA CATÉGORIE – ART ABSTRAIT –	30
PHOTOS SOUMISES DANS LA CATÉGORIE – FAUNE et FLORE –.....	40
INFORMATIONS PRATIQUES.....	51
PROGRAMME SYNOPTIQUE.....	52
ATELIERS PRATIQUES	53
PROGRAMME SCIENTIFIQUE.....	57
SESSIONS COMMUNES	59
Session commune : Avancées instrumentales.....	59
Session commune : Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme	74
Session commune : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie	85
Session commune : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale	102
SESSIONS SCIENCES DE LA VIE.....	111
Session SdV : Cryo-EM moléculaire et cellulaire	111
Session SdV : Super-résolution optique, des développements aux applications	126
Session SdV : Imageries 3D cellulaire et tissulaire.....	136
Session SdV : Imagerie Corrélative et Multimodale	146
SESSIONS SCIENCES DE LA MATIÈRE.....	157
Session SdM : Multitechniques - approches multiphysiques	157
Session SdM : Techniques résolues en temps	168
Session SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons.....	180
Session SdM : Interfaces.....	193
POSTERS SESSIONS COMMUNES.....	207
POSTERS SESSIONS SCIENCES DE LA VIE	232
POSTERS SESSIONS SCIENCES DE LA MATIÈRE	251

COMITÉS

Colloque Chair et Co-Chair : Cécile Formosa-Dague et Armel Descamps-Mandine

Conseil d'administration de la sfmu

Bureau	Membres du CA
Jean Marc Verbavatz, Président SdV, Paris Philippe Moreau, Vice-Président SdM, Nantes Laurence Dubreil, Secrétaire Générale SdV, Nantes Stéphanie Bruyère, Secrétaire Générale SdM, Nancy Cécile Formosa, Secrétaire SdV, Toulouse Christophe Gatel, Secrétaire SdM, Toulouse Claire Boulogne, Trésorière, Gif-sur-Yvette Christine Longin, Trésorière adjointe, Jouy-en-Josas Jean-Pierre Lechaire, Administrateur, Paris Ilse Hurbain, Administratrice adjointe, Paris	Patrick Bron, SdV, Montpellier Emile Béré, SdV, Poitiers, Chiara Rapisarda, SdV, Vitry sur Seine Ileana Florea, SdM, Nice Jaysen Nelayah, SdM, Paris Marie Godet, SdM, Paris Aurélien Masseboeuf, SdM, Grenoble

Comité scientifique

Membres SdV	Membres SdM
Cécile Formosa-Dague, SdV, TBI, Toulouse Renaud Poincloux, SdV, IPBS, Toulouse Claire Boulogne, SdV, I2BC, Paris, SFMU Anita Michel-Eckly, SdV, EFS, Strasbourg Vincent Duprès, SdV, IBL, Lille Hervé Rigneault, SdV, Institut Fresnel, Marseille Adeline Goulet, SdV, LISM, Marseille	Armel Descamps-Mandine, SdM, Centre Castaing, Toulouse Juien Roul, SdM, LAAS-CNRS, Toulouse Philippe Moreau, SdM, IMN, Nantes, SFMU Williams Levebvre, SdM, GPM, Rouen Claire Onofri-Marroncle, SdM, CEA Cadarache Martiane Cabie, SdM, CP2M, Marseille Thierry Douillard, SdM, Lyon

Comité local d'organisation

Membres SdV	Membres SdM
Stéphanie Balor, CBI Etienne Dague, LAAS-CNRS Cécile Formosa-Dague, TBI Célia Plissong-Chastaing, CBI Renaud Poincloux, IPBS Cécile Pouzet, plateforme TRI Childéric Severac, RESTORE	Robin Cours, CEMES Armel Descamps-Mandine, Centre Raimond Castaing Christophe Gatel, CEMES Teresa Hungria-Hernandez, Centre Raimond Castaing Claudie Josse, Centre Raimond Castaing Frédéric Momprou, CEMES Laurence Ressler, LPCNO Etienne Snoeck, CEMES Bernard Viguier, CIRIMAT Bénédicte Warot, CEMES

Comité jeune

Clément Long, Ingénieur, Centre Raimond Castaing
Simona Sebastiano, doctorante, TBI
Bérangère Disic, doctorante, CEMES
Léo Rubiola, doctorant, CEMES

SPONSORS PRIVÉS



BINGO DES SPONSORS

Envie de découvrir les stands des sponsors tout en vous amusant ? Participez au **Bingo des Sponsors** et tentez de repartir avec un **cadeau** !

Le principe est simple :

1. **Rendez visite aux stands** des exposants présents au colloque.
2. **Échangez** avec les représentants pour en apprendre plus sur leurs activités.
3. Tentez de **répondre à leurs questions** pour obtenir leur tampon.
4. Une fois votre grille **complète**, allez voir un membre du **COL (polos rouges)** pour valider votre participation et recevoir votre cadeau .

Des cadeaux à gagner :

- Les **100 premiers** à présenter une grille **entièrement remplie** gagneront un **cadeau surprise**.
- Les **5 premiers** à valider leur grille recevront en plus un **cadeau spécial** .

Dernier délai :

Les grilles **complètes** peuvent être validées jusqu'au **mercredi 18 h**. À partir de **jeudi matin**, les grilles **remplies à au moins 75 %** seront acceptées, dans la limite des **cadeaux restants**.

✓ Une seule grille par participant.

 La grille de jeu est déjà dans votre badge, gardez là avec vous !

 Dépêchez-vous, les premiers arrivés seront les premiers servis !

Explorez, échangez, collectionnez... et gagnez ! 

ENCARTS PUBLICITAIRES DES SPONSORS



The Bench-Size Microplate Imaging and Analysis Workhorse

Agilent BioTek Cytation C10 confocal imaging reader

From confocal, widefield, and live cell imaging to multimode reading, the Agilent BioTek Cytation C10 confocal imaging reader delivers crisp, high-resolution images and the ability to image and analyze 3D samples. Plus, without having to schedule time at a core lab, you'll have more control over your workflow. Small and powerful – a perfect fit in any lab.

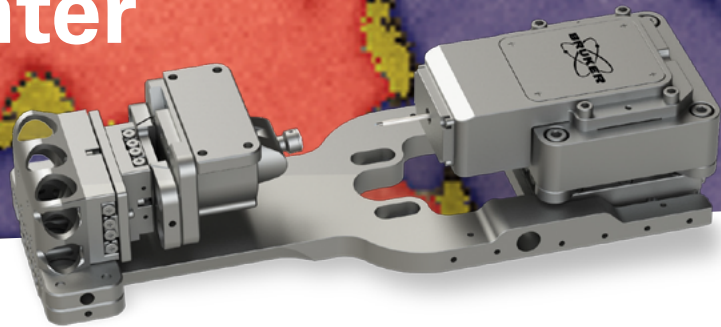
Discover more: explore.agilent.com/cytationC10



Scan the code to learn more



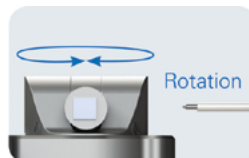
Hysitron PI 89 Auto SEM PicoIndenter



Automated co-localized imaging and analysis for high-throughput in-situ nanoindentation

Automating Correlative Structure-Property Analysis

- Seamless switching between nanoindentation, standard SEM imaging, EBSD/EDS analysis
- Co-localized acquisition of quantitative in-situ mechanical data at user-defined regions of interest from imaging and analytical mapping
- Increased throughput without compromising precision or accuracy
- Automatic movement of the advanced rotation and tilt stage to the indentation position simplifies testing and analysis



The PI 89 Auto includes patented 5-axis (X, Y, Z, tilt, rotation) sample-positioning stage.

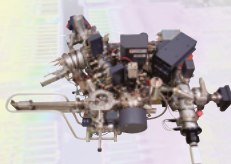
For more information please visit www.bruker.com

Innovation with Integrity

The World Leader in Elemental & Isotopic Microanalysis

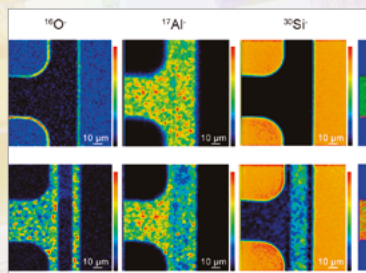
SIMS

IMS 7f-Auto



Versatile Secondary Ion Mass Spectrometer delivering reference detection sensitivity with high throughput and automation. The tool of choice to measure impurities and dopants at low concentration levels, monitor multilayer composition and investigate component interdiffusion through interfaces.

Below: In depth scanning ion imaging showing the presence of oxygen impurities at the interface of alumina over silicon structure in a Si-MEMS piezoresistive pressure sensor. Top row: depth 300 nm, bottom: 700 nm.



NanoSIMS

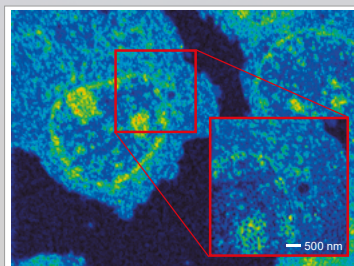
NanoSIMS-HR



With the new NanoSIMS-HR, CAMECA delivers breakthrough instrumental innovations that boost the versatility of this unique ion microprobe, improve data quality, and enable researchers and engineers to accelerate scientific discovery and innovation under ever tighter deadlines:

- 30 nm lateral resolution
- 25x faster throughput
- cryogenic capability.

Below: High resolution imaging of nitrogen distribution in PC12 cell. Sample courtesy of Prof. A. Ewing's group, Univ. of Gothenburg, Sweden.



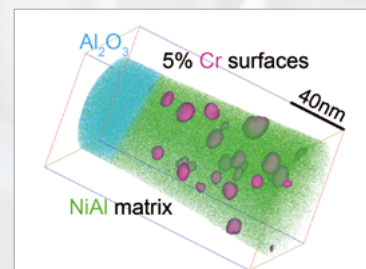
APT

Invizo 6000

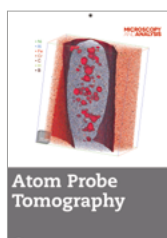
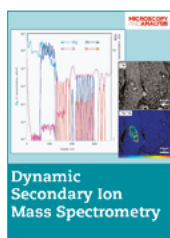


Invizo 6000 introduces major technology breakthroughs to push the boundaries of Atom Probe Tomography: its ultra wide field of view and dual-beam deep UV laser enable dramatic improvements in specimen yield and data reconstruction quality.

Below: 3D nanoscale analysis of buried interfaces in structural alloy. Wide field-of-view and high collection rates provide statistically valid analysis. Data from K. Stiller, Chalmers University, Sweden.



Expand your knowledge in microanalysis!



Co-edited with Wiley, Essential Knowledge Briefs on SIMS and APT are available for free download at cameca.com. Each booklet offers a simple introduction to the analytical technique and case studies of how it is used in the real world by researchers and engineers in fields spanning geochemistry, biology, materials science, semiconductors, and more!

Scan the code or visit www.cameca.com/focus/tuto to download your free guides



DECTRIS

ARINA

Ultrafast 4D STEM

-  **Ultra-Fast:** Captures up to 120,000 frames per second.
-  **Versatile:** Suitable for all 4D STEM applications with various sensor materials.
-  **Noise-Free:** High dynamic range and noise-free readout.



SINGLA

Cryo-EM Single Particle Analysis

-  **High Sensitivity:** Optimal for Cryo-EM and MicroED with 1,028 x 1,062 pixels.
-  **Enhanced Imaging:** Excellent for single-particle analysis at 100 keV.
-  **Easy Integration:** Compatible with SerialEM, includes an API for seamless setup.



QUADRO

Fast Electron Diffraction

-  **High Efficiency:** Fast readout with excellent DQE, even at low energies.
-  **Radiation-Hard:** No risk of detector damage, even with sharp diffraction patterns.
-  **Continuous Collection:** Dead-time-free readout ensures fast continuous data collection.



ELA

Electron Energy Loss Spectroscopy

-  **Top Choice for EELS:** Optimized for Electron Energy Loss Spectroscopy.
-  **Broad Compatibility:** Compatible with spectrometers from all major manufacturers.
-  **High Dynamic Range:** Captures both weak and intense features effectively.





EXPERTISE EN CRYO-MICROSCOPIE

Vous trouverez chez Delta Microscopie **l'expertise** ainsi que les accessoires indispensables pour vos applications de cryomicroscopie. Nous vous proposons les solutions de nos partenaires spécialisés, **MiTeGen** et **Nanosoft**, ainsi que nos dernières **innovations** techniques dédiées aux cryo-méthodes.

Nos innovations pour vos protocoles cryo

Uranyless dans l'acétone

pour vos applications cryo - AFS

- ✓ Contraste en bloc
- ✓ Imagerie haute résolution : contraste très fin
- ✓ Innovation développée en collaboration avec l'Université de Graz (Autriche)



DEWAR pour azote liquide

pour vos applications cryo - microscopie

- ✓ Compact, robuste et ergonomique
- ✓ Adapté aux manipulations répétées
- ✓ Disponible en plusieurs volumes (2025)



Nos partenaires de confiance en cryo

MiTeGen



Supports innovants pour
la cryo-microscopie électronique

nanosoft
CRYOGENIC ELECTRON MICROSCOPY INNOVATION

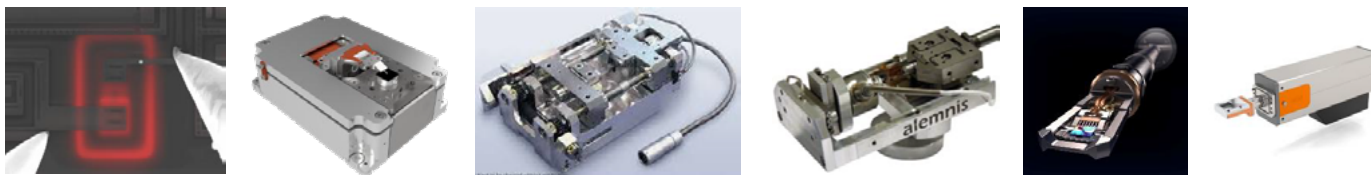


Accessoires de précision pour la
cryo-manipulation et le stockage

Pour en savoir plus sur nos produits ou découvrir notre gamme complète :

 www.deltamicroscopies.com

 info@deltamicroscopies.com



Solutions de nano **caractérisation** pour la microscopie électronique MET-MEB/FIB et CLEM.

EDEN Instruments est une société high-tech, spécialisée dans la commercialisation et le suivi technique d'équipements et accessoires pour le secteur de la microscopie électronique MEB/FIB et MET.

Les solutions de nano caractérisation proposées par EDEN Instruments comprennent des équipements pour l'étude des échantillons en micro-analyse MEB EDS, la microscopie électronique MET/MEB In-Operando, la microscopie corrélative (CLEM), la cathodoluminescence, les essais électriques/mécaniques (EBIC-EBAC, indentation, traction, flexion, compression), le nano-positionnement/manipulation à l'échelle micro et nano ainsi que des équipements innovants destinés à la préparation des échantillons.

Equipements In-Situ



Solutions de nano-probing,
nano-biasing, nano-robots



Cellules liquide MET en
graphène



Indenteurs
Solutions de tests nano-mécaniques



Caméras hybrides MET, micro-ED
Détection photons, x-rays,
ions, neutrons



Détecteur d'électrons direct
pixélisé



Porte-objets MET 3 axes
Porte-objets froids double tilts
Porte-objets MET traction



Cathodoluminescence
Microscopie corrélative
Solutions Cryo FIB



Platines en température
Platines de traction/compression
Platines de transfert sous vide



Ultramicrotomes In-Situ
SBEM (Serial Block Face EM)



Porte-objets MET liquide et
électrochimique
Porte-objets MET gaz/température
Porte-objets MET
chauffant/électrique
AXON outil de synchronisation
MET et de calibration de la dose



EBIC/EBAC
Topo 3D MEB
Détecteurs BSE



Décontamineurs Plasma



Microscopie corrélative AFM
In-Situ MEB

Equipements Ex-Situ



Amincisseurs et polisseurs ionique MEB/MET
Porte-objets MET (Tomo/Cryo)
Polissage (Mécanique/Electrochimique)
Nettoyeur Plasma



MEB de table



Evaporateurs carbone
Métalliseurs
Glow Discharge



Métalliseurs à l'Osmium



Ultra-microtomie
Cryo-ultra-microtomie
Cryo-préparation

Upgrade MEB/MET



Rénovation de microscope
MEB/MET

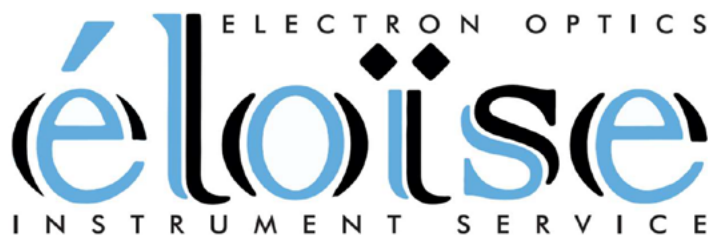
Micro-analyse



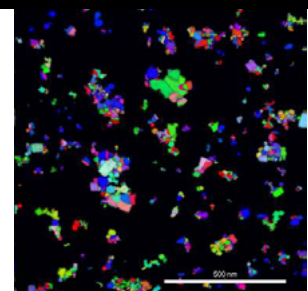
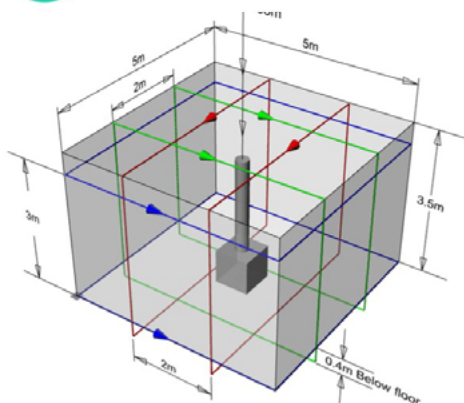
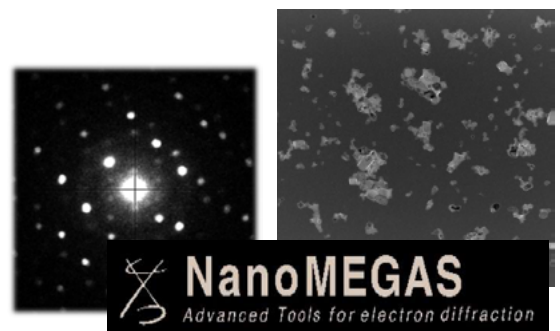
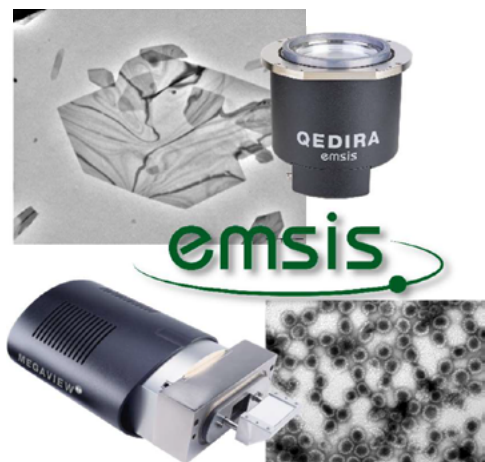
Software EDS, WDS, EBSD
Analyse de couches minces
Equipements EDS

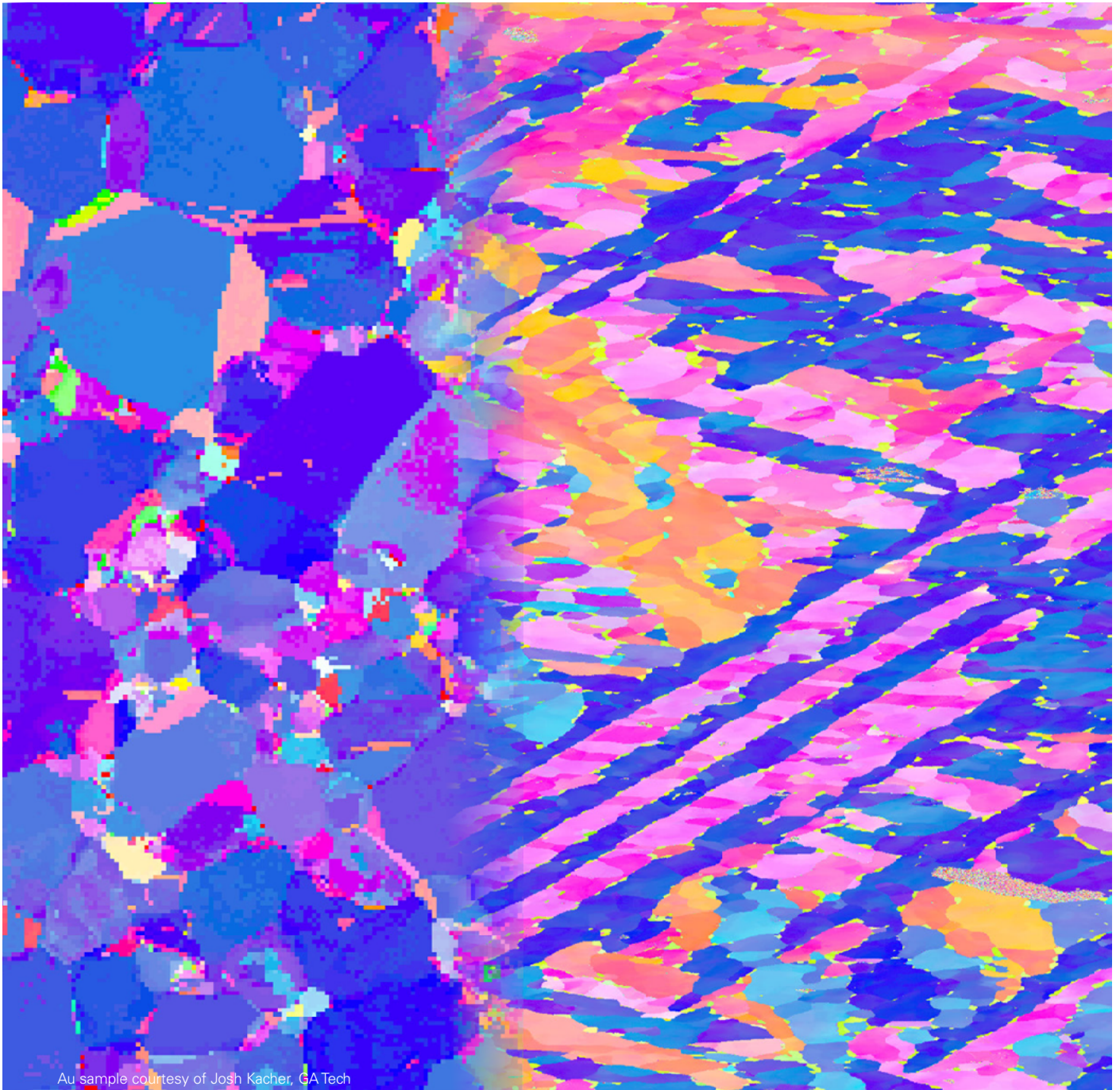
EDEN INSTRUMENTS SAS - INEED ROVALTAIN VALENCE TGV - 1 rue Marc Seguin - 26300 ALIXAN | Tel : +33 (0) 4 81 16 05 10 | Web : www.eden-instruments.com |
Stéphane AGUY – +33 (0) 6 08 06 70 81 – stephane.aguy@eden-instruments.com | Alex DELAMOREANU – +33 (0) 6 95 70 03 58 – alex.delamoreanu@eden-instruments.com





Du 30 juin au 4 juillet 2025





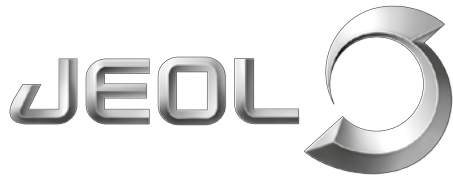
Au sample courtesy of Josh Kacher, GATech

Ignite curiosity and inspire innovation

We've built a strong reputation in electron microscopy through curiosity, discovery, and innovation.

As we look to the future, we're excited to continue working with our customers to push boundaries, ignite curiosity, and inspire innovation for years to come.





Scientific/Metrology Instruments
FIB-SEM System

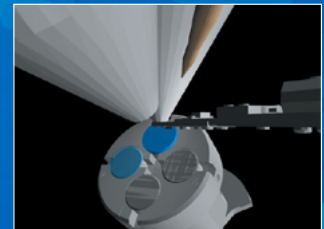
JIB-PS500i

High Performance FIB-SEM from JEOL technologies

- Automatic TEM sample preparation
- 3D acquisition (imaging, EDS, EBSD)
- New EOS design with dual mode operation
- Check & Go directly from FIB to TEM
- Omniprobe integrated inside GUI



STEMPLING 2



New stage design



Check & Go directly from FIB to TEM



Large specimen chamber

www.jeol.com





MILEXIA

MAKING ACCESS TO TECHNOLOGY EASIER

Microscopies & Instrumentation associée

Microscopie Électronique

(MEB, FIB, MET, STEM, Préparation d'échantillons, Accessoires)

Hitachi High Tech, Quorum, IBSS,
Simple Origin, AMT, TVIPS,
Deben, Micro to Nano

Microscopie Acoustique

(SAM, SAT)

Hitachi Power Solutions

Microscopie 2D et 3D à rayons X

(μ CT - Nano CT)

Neoscan

Profilométrie Optique 2D & 3D

(Confocal, Variation de focale, Interférométrie)

Sensofar

Analyse de Surface

(XPS, SIMS, ToF-SIMS, AES)

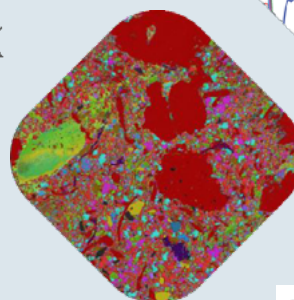
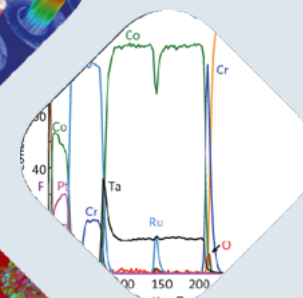
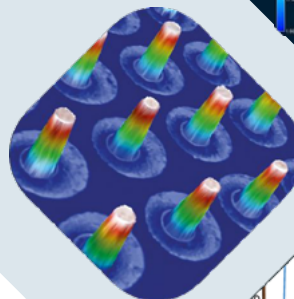
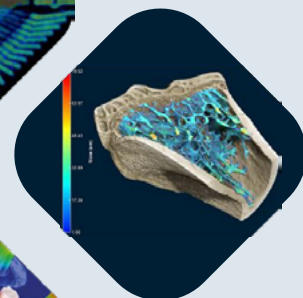
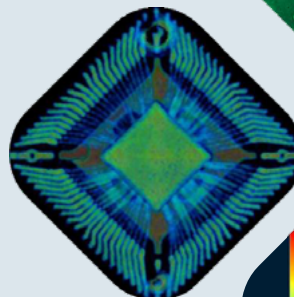
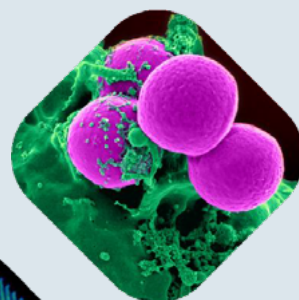
Physical Electronics - PHI

Microanalyse X & Microfluorescence X

(EDX, WDX, EBSD, μ XRF)

IXRF Systems

Oxford Instruments, Bruker, Ametek-Edax



Contact : sales-france@milexia.com

Website: www.milexia.com/fr



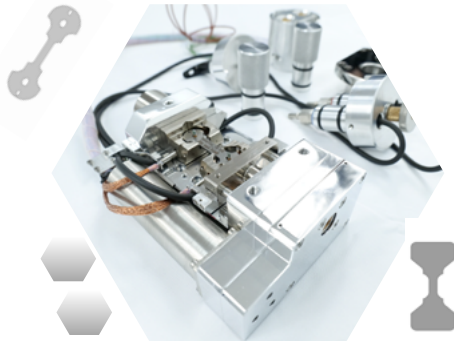


Zoom into the Future

Discuss your application with our experts and explore cutting-edge technology for nanoscale surface characterization.

Nanosurf AG | Gräubernstr. 12-14 | 4410 Liestal | Switzerland
www.nanosurf.com | info@nanosurf.com

MT 1000



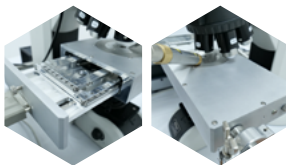
Micromachines for
thermomechanical tests

ExoSEM



Ex-situ chamber

Cathodyne

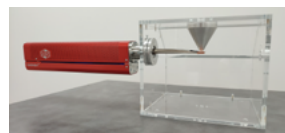


OM-CL motorized

FurnaSEM



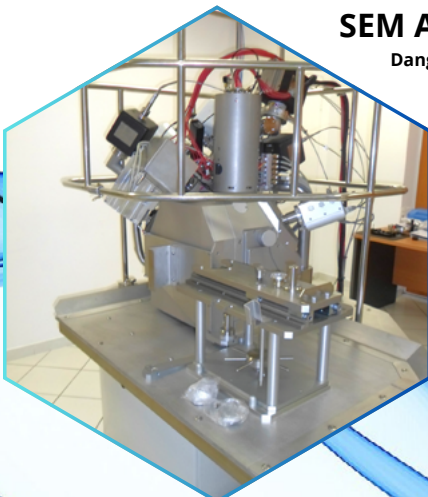
In-situ Furnace 1000°C



1300°C BSE high
temperature

SEM Adaptations :

Dangerous and fragile
Samples



OXFORD
INSTRUMENTS

**MATERIALS CHARACTERISATION AND
IMAGING DOWN TO THE NANOMETRE**

Microscopy Solutions

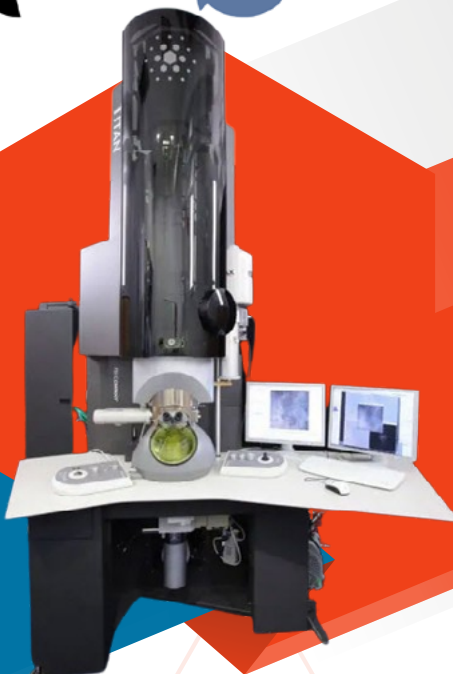
- ➔ Leading-edge Detectors for SEM
- ➔ High-end 3D Raman Imaging
- ➔ Correlative Raman-SEM Imaging (RISE Microscopy)
- ➔ High-performance Atomic Force Microscopy
- ➔ Flexible Benchtop Confocal Microscopy

Visit our booth to discuss your application.



Sell
E a s i l y

Buy
Certified



www.regenmicroscopy.com

Second hand microscope!

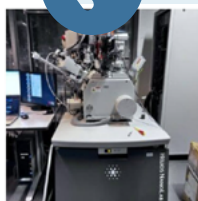
Buy Certified used Microscopes

High-quality, refurbished, and high-performing equipment at accessible prices. Equip your scientific or industrial projects with reliable devices while contributing to the circular economy.

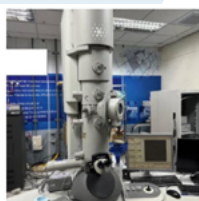
Sell Your own Microscopes Easily

Simplify the process of selling your microscopes. We handle everything: assessment, dismantling, transport, and installation. Quick and easy.

our online store



Helios NanoLab 550



FEI Tecnai TF20 - SFEQ STEM



PHILIPS / FEI Tecnai G2 F20 Transmission Electron Microscope



HITACHI S-4700 TYPE II



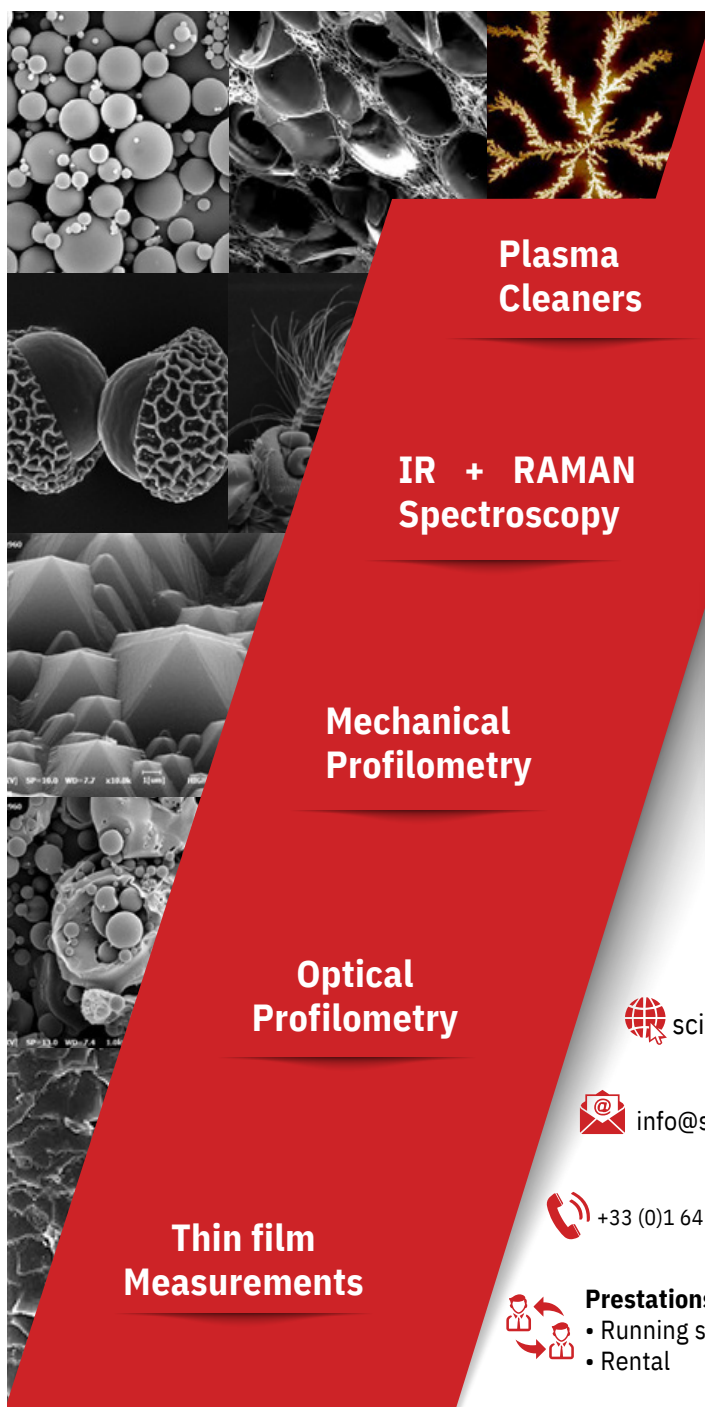
Contact@regenmicroscopy.com



ScienTec

ScienTecThe SoluTion to your measurements

SURFACE ANALYSIS WHICH TECHNIQUE FOR MY APPLICATION?



**AFM
Microscopy**

**SEM
Microscopy**

**XPS - UPS
- ARPES**

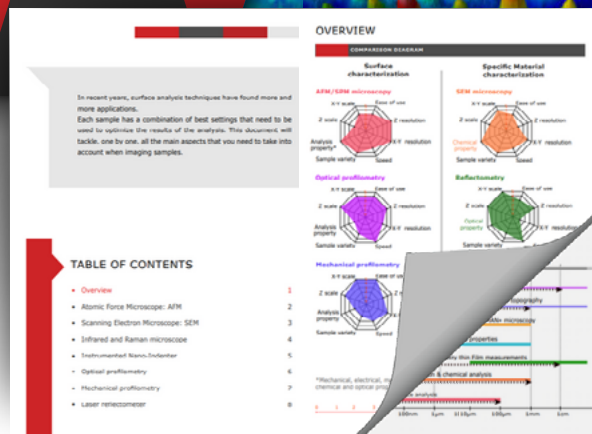
**Plasma
Cleaners**

**IR + RAMAN
Spectroscopy**

**Mechanical
Profilometry**

**Optical
Profilometry**

**Thin film
Measurements**



**GET THIS GUIDE ON OUR BOOTH
OR SCAN THE QR CODE**

scientec.fr

info@scientec.fr

+33 (0)1 64 53 27 00

Prestations
• Running sample
• Rental

SCAN ME



SYNERGIE⁴

Plus de 30 ans d'expertise

Synergie⁴ est votre expert dans la commercialisation, l'installation, la formation et le suivi technique d'équipements de haute technologie destinés à la communauté scientifique et le secteur industriel partout en France et en Europe.

Synergie⁴ vous propose des équipements scientifiques pour la microscopie électronique à balayage, la microanalyse, la préparation d'échantillons, la spectroscopie à fluorescence X et la microtomographie par rayons X.

Toujours à la recherche de la satisfaction de nos clients, nous vous proposons des solutions complètes adaptées à vos besoins :

- des microscopes électroniques **MEB-W**, **MEB-FEG** et à double colonnes **MEB-FIB**, avec des systèmes **EDS**, **EBSD**, **μXRF** et **WDS** et des instruments pour effectuer des **test In-Situ**.
- des appareils de **découpe et de polissage par faisceau d'ions** et des appareils de **dépôts de couches minces**.
- des appareils de nano et microtomographie par rayons X et des appareils de fluorescence X (XRF, μXRF et TXRF) pour l'analyse élémentaire.



Réservez dès maintenant votre démonstration du MEB C IQTEK équipé de l'EDS BRUKER et du tout nouvel EBSD eWARP à détection directe des électrons. Ils seront visibles toute la semaine du lundi au vendredi de 9h à 18h à l'INSA de Toulouse. Sélectionner votre jour et votre horaire en nous envoyant un email à sales@synergie4.com

Pour tous les produits distribués par Synergie⁴, nous installons, formons sur site tous les utilisateurs et assurons le suivi technique ainsi que la maintenance.

www.synergie4.com   01.60.86.08.48





Application Example

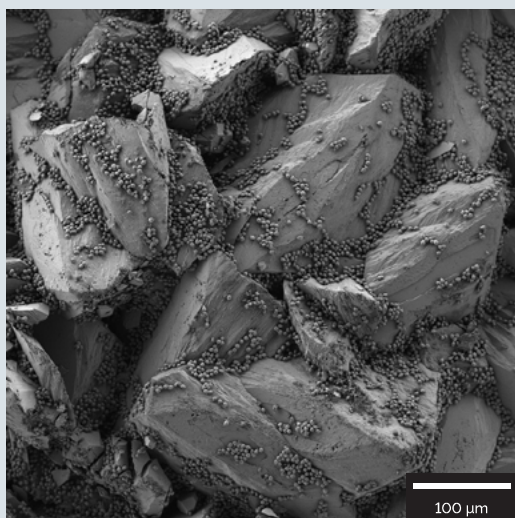
TESCAN CLARA: Ideal for imaging of life science samples also in cryo conditions



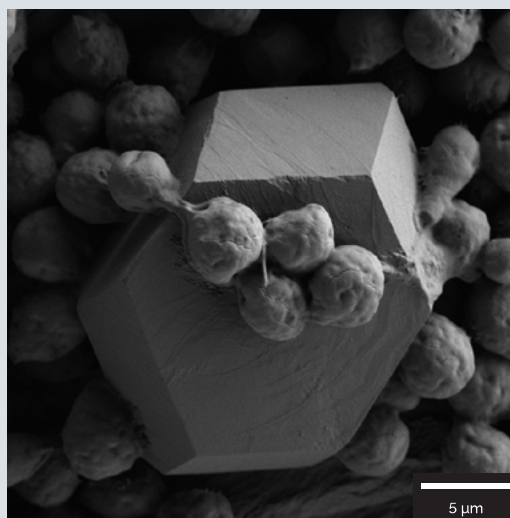
TESCAN CLARA: Ideal for imaging of life science samples also in cryo conditions

With life science research development and its efforts to reveal more and more ultrastructural detail, imaging methods need to cover a broad spectra of demanding applications. Recent investigations of cell morphology, development of biocompatible materials, tissue engineering research, microbiology, pharmacology, food and cosmetic studies rely on advanced imaging techniques. The dominant characteristic features for the majority of life-science specimens are their high water content, non-conductivity and sensitivity to the electron beam.

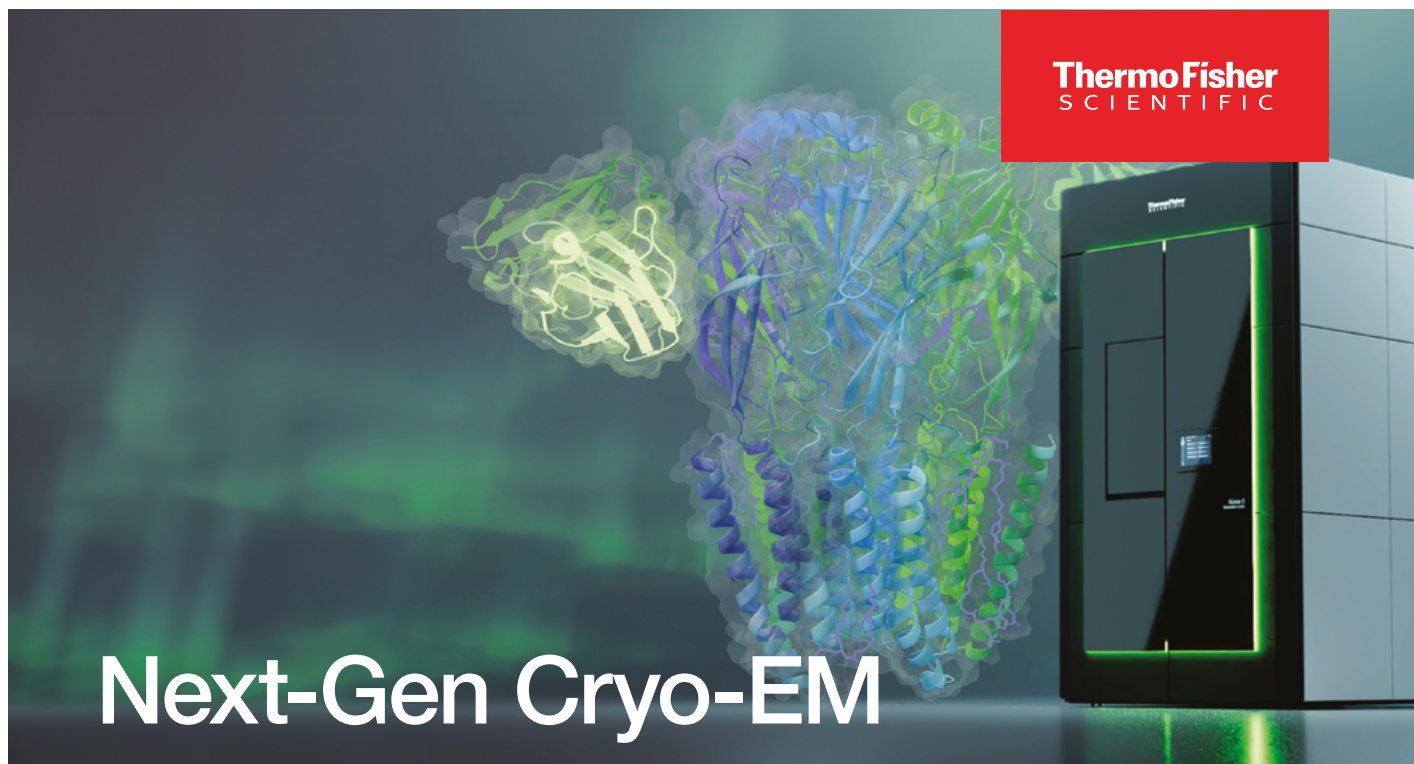
TESCAN develops and manufactures state-of-the-art scanning electron microscopes (SEM) designed to fit the needs of numerous life science applications. Using TESCAN CLARA equipped with field emission Schottky cathode, BrightBeam™ column and a powerful and versatile detection system, the investigation of detailed morphological structures as well as the ultrastructure of non-conductive biological specimens has become a straightforward procedure. Even with extremely low accelerating voltages and beam currents, fine structures of delicate specimens can be visualized. When equipped with cryo workflow, TESCAN CLARA represents a state-of-the-art scanning electron microscope for everyday experiments in life science laboratories.



▲ **Fig 1:** A viticulture microbial community includes a wide range of yeast and bacterial species. Potassium bitartrate crystals also known as wine stone or wine diamonds cause crystalline turbidity in a wine bottle. Overview image shows wine stone structure with yeast cells on its surface [1].



▲ **Fig 2:** The crystalline turbidity in a bottle is caused by extensive saturation of wine with potassium bitartrate after the bottle is exposed to low temperature. Detail shows yeast cells adhering to the surface of a single crystal of potassium bitartrate [1].



Thermo Scientific Krios 5 Cryo-TEM



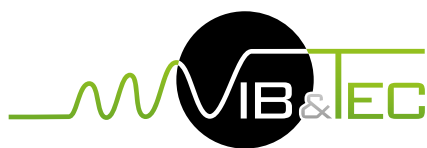
Download the brochure

 Scan to download

thermoscientific

For research use only. Not for use in diagnostic procedures. For current certifications, visit thermofisher.com/certifications
© 2025 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

VOTRE PARTENAIRE AU SERVICE DE LA QUALITÉ &
LA FIABILITÉ EN IMAGERIE ET MICROSCOPIE



TECHNOLOGIES ANTIVIBRATOIRES
COMPENSATION & TRAITEMENTS
ÉLECTROMAGNÉTIQUES



Compensation
électromagnétique
active AC/DC



Blindage
électromagnétique
passif, AC/DC
(SiFe, Mumetal...)



Systèmes
antivibratoires
pneumatiques et
piézoélectriques
pour MEB, MET,
FIB, AFM...



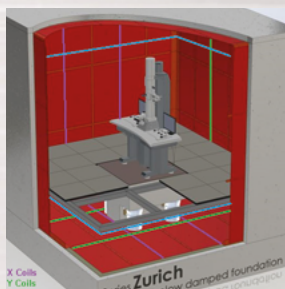
Analyse
environnementale,
vibration,
électromagnétique,
acoustique



Tables
antivibratoires et
tables optiques
pneumatiques



Plateaux
antivibratoires
pneumatiques et
piézoélectriques
pour microscopes,
AFM, balances de
précision...

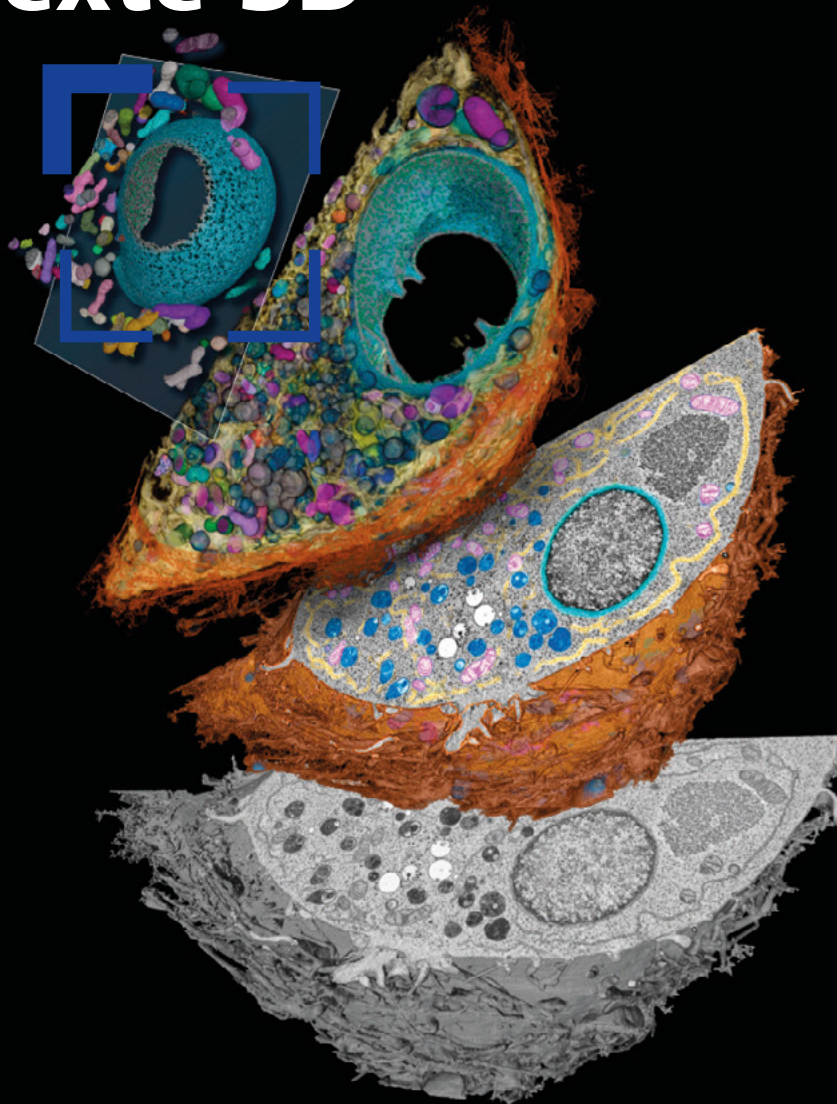


Conduite complète
des projets
d'implantation
des microscopes
électroniques



Caissons
acoustiques
standards et
sur-mesure pour
applications
scientifiques et
industrielles

Comprendre l'ultrastructure cellulaire dans un contexte 3D



EM images acquired by Yannik Schwab and Anna Steyer, EMBL, Heidelberg



ZEISS Volutome

Acquisition de données volumétriques par sectionnement et imagerie automatisés : ZEISS Volutome est une solution complète, allant du matériel au logiciel, incluant le traitement d'images, la segmentation et la visualisation.

zeiss.com



Seeing beyond

SPONSORS PUBLICS



CONCOURS PHOTO

Le comité jeune du colloque a le plaisir de lancer un concours photo de microscopie, ouvert à **tous les participants**.



📁 **Deux thèmes sont proposés :**

- *Art abstrait*
- *Faune et flore*

🎁 **À gagner :**

- Une **image gagnante par thème** sera élue par les participants pendant les premiers jours du colloque.
- Les photos lauréates seront **imprimées, encadrées et exposées** lors de la soirée gala. Les gagnants repartiront avec leur cadre photo en souvenir !
- Un **prix de 200 €**, offert par **TESCAN**, sera remis à chacun des deux lauréats.

🗳️ **Comment voter ?**

- Scannez le **QR code**: il vous redirigera vers un formulaire Eventio où vous pourrez **saisir votre vote** pour chaque catégorie.
- Les **images candidates sont visibles** dans le *book of abstracts* ainsi que sur les **posters affichés dans le hall d'exposition**.

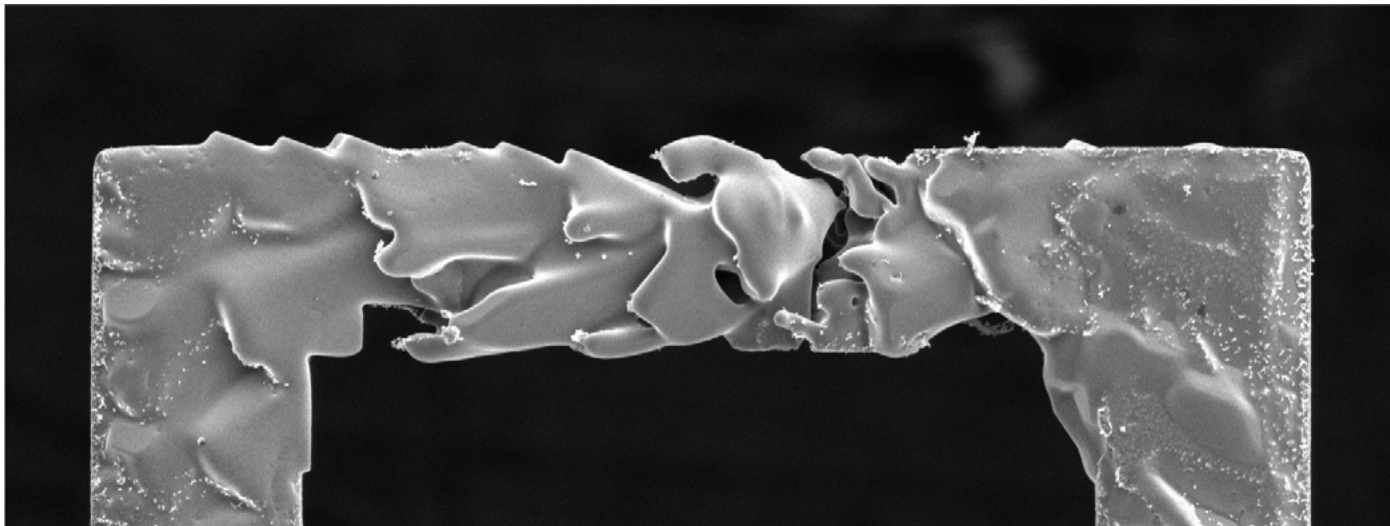
⌚ **Attention : les votes seront clos jeudi à midi !**

Nous comptons sur votre regard de microscopiste !

Le comité jeune – Sfm 2025

PHOTOS SOUMISES DANS LA CATÉGORIE – ART ABSTRAIT –

PHOTO 1 : Nicolas BLANCHARD, ILM, Lyon



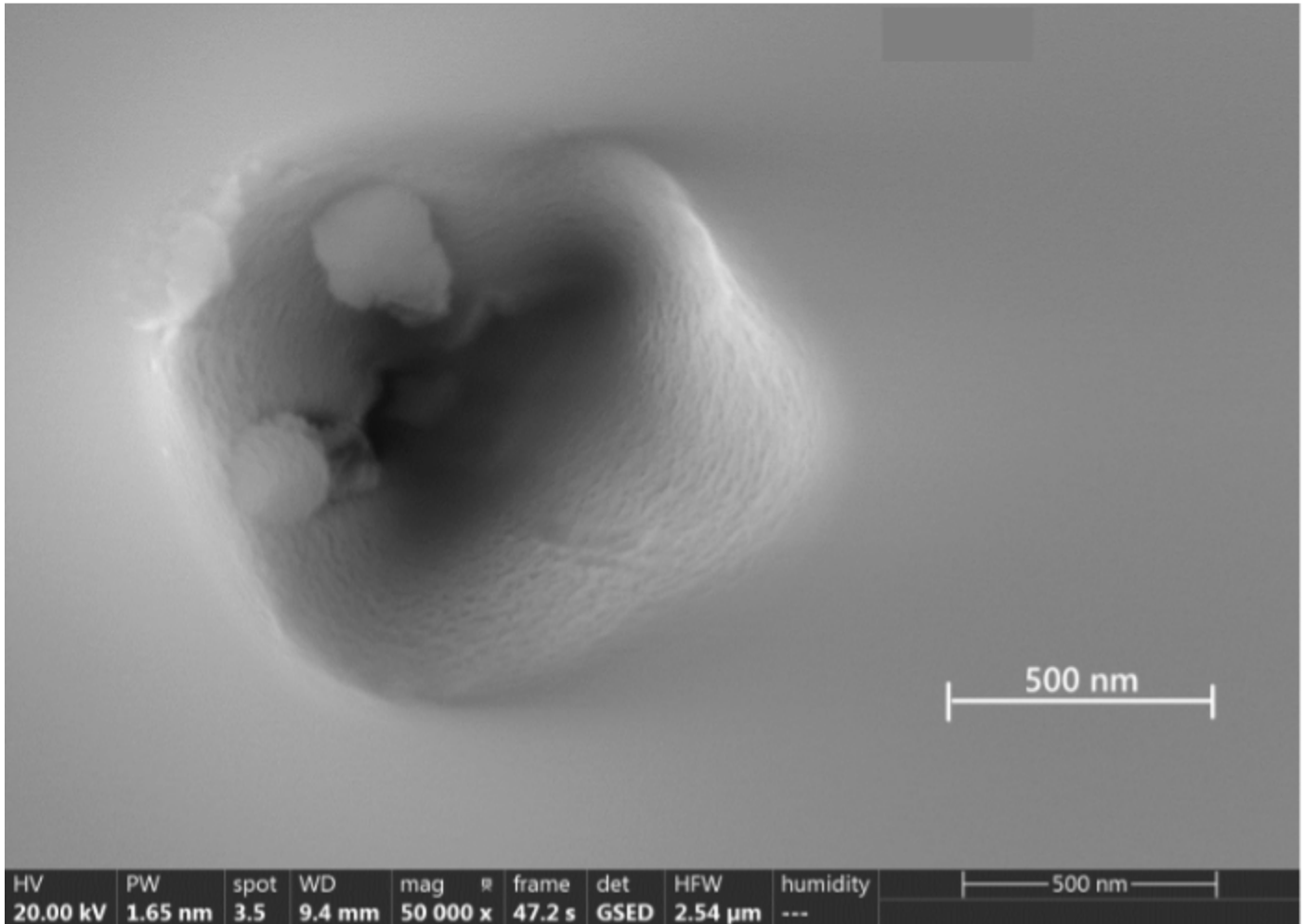
Titre artistique : À la lisière de la matière

En tant que chercheurs, nous explorons sans cesse les frontières entre le connu et l'inconnu — mais certaines limites ne sont pas faites pour être franchies. Cette image en témoigne. Ce qui avait commencé comme une simple procédure de calibration s'est transformé en un acte de création involontaire : la surchauffe de la puce n'a pas produit de données, mais une trace sculpturale de destruction. Pour moi, cette œuvre symbolise l'équilibre fragile entre le contrôle et le chaos dans la recherche expérimentale. Elle reflète un paradoxe : la quête de connaissance peut mener à la défaillance même des outils sur lesquels nous comptons — et pourtant, même dans l'échec, émergent des formes, des textures, et une beauté qui se dévoile au-delà de nos intentions premières.

Titre scientifique : Défaillance électrothermique d'une plateforme en silicium dédiée à la croissance de nanotubes de carbone

Cette image, prise avec un microscope électronique à balayage (TESCAN Clara, mode Analysis, distance de travail de 20 mm), montre une puce en silicium microfabriquée détruite, conçue pour des expériences de croissance de nanotubes de carbone (CNT). Ces puces, développées par nos collaborateurs du C2N (Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies), sont conçues pour être chauffées par le passage d'un courant électrique — une technique permettant un contrôle thermique précis pendant la synthèse des CNT. Afin d'assurer un fonctionnement fiable, une étape de calibration est généralement réalisée en amont, pour estimer la relation entre le courant appliqué et la température atteinte. Dans ce cas, la calibration a poussé la puce au-delà de ses limites thermiques : un courant trop élevé a provoqué un échauffement local extrême, entraînant la fusion du silicium et une migration du matériau sous contrainte électrique. La structure ainsi formée, profondément altérée, témoigne de la frontière ténue entre la précision fonctionnelle et la défaillance irréversible. La largeur de la zone active de la puce visible (de gauche à droite) est d'environ 40 micromètres.

PHOTO 2 : Chaima BOUAFIF, LMA et MATEIS, Lyon



Titre artistique : Une faille dans le chasseur d'étoiles

Titre scientifique : Cratère de 1 µm à la surface d'un miroir de détecteur stellaire — analyse morphologique

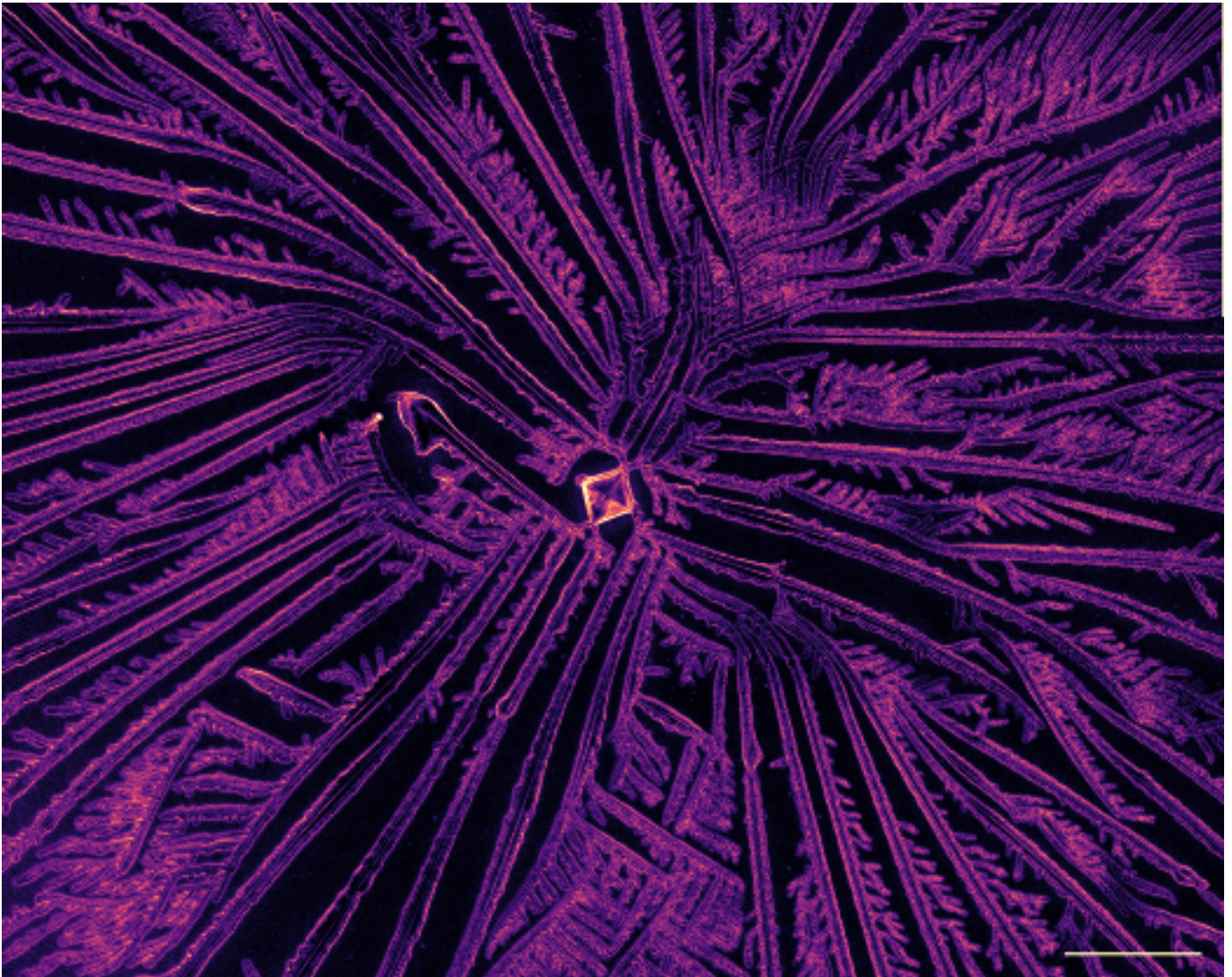
PHOTO 3 : Cynthia GILLET et Claire BOULOGNE, I2BC, Gif-sur-Yvette



Titre artistique : Radis-moi ça en face si tu l'oses

Titre scientifique : FIBogravure sur support de silice, dans le cadre d'une série artistique sur le thème «les œuvres invisibles»

PHOTO 4 : Claire DUPONT, CERT, Toulouse

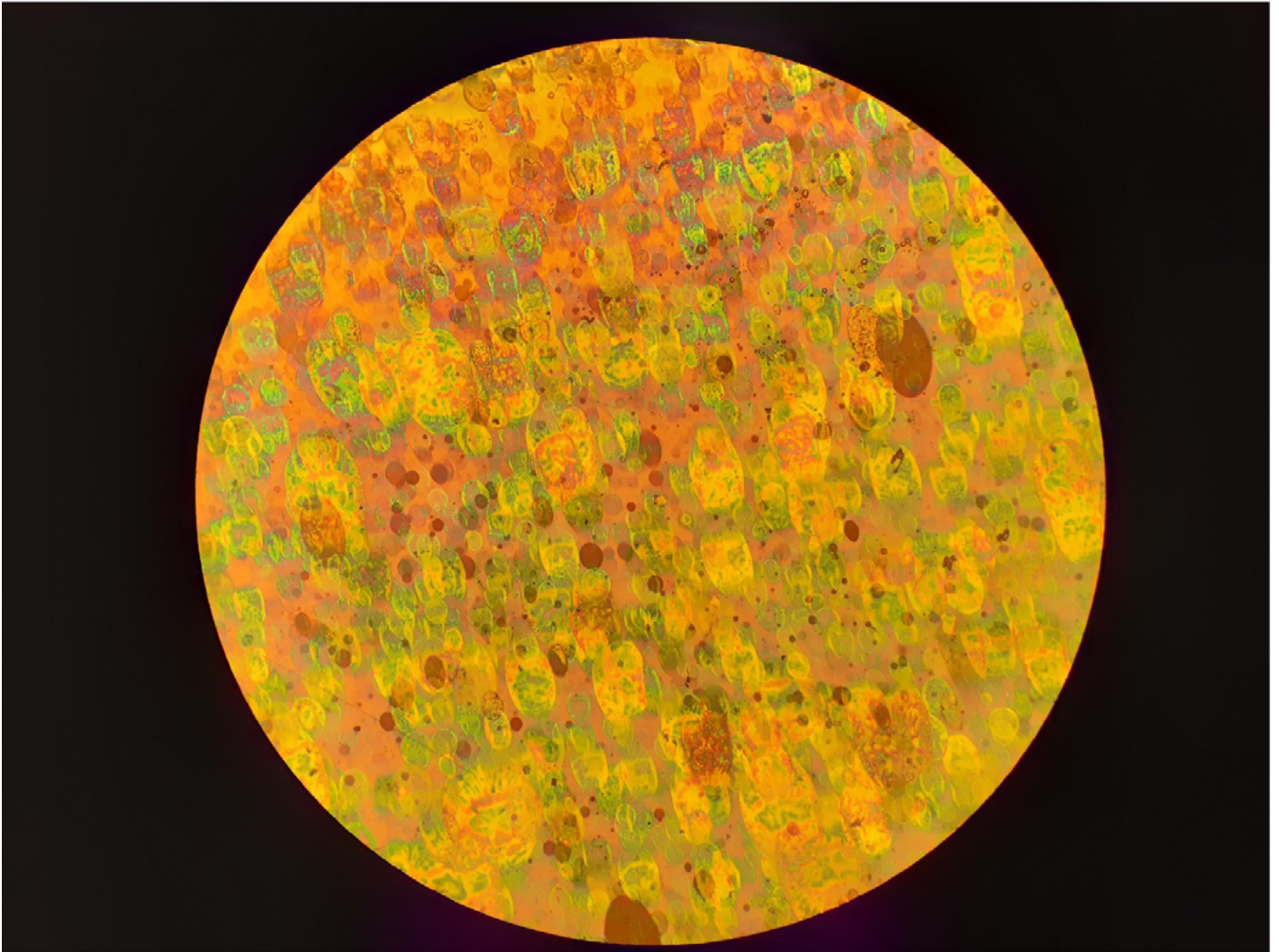


Titre artistique : Géométrie salée

Titre scientifique : Mosaïque d'un cristal de sel et ses extensions.

L'image a été réalisée en brightfield sur un microscope champ large. La LUT mpl-magma a été inversée pour mieux visualiser le cristal. La barre d'échelle équivaut à 200 nm

PHOTO 5 : Nicolas GAUTIER, IMN, Nantes

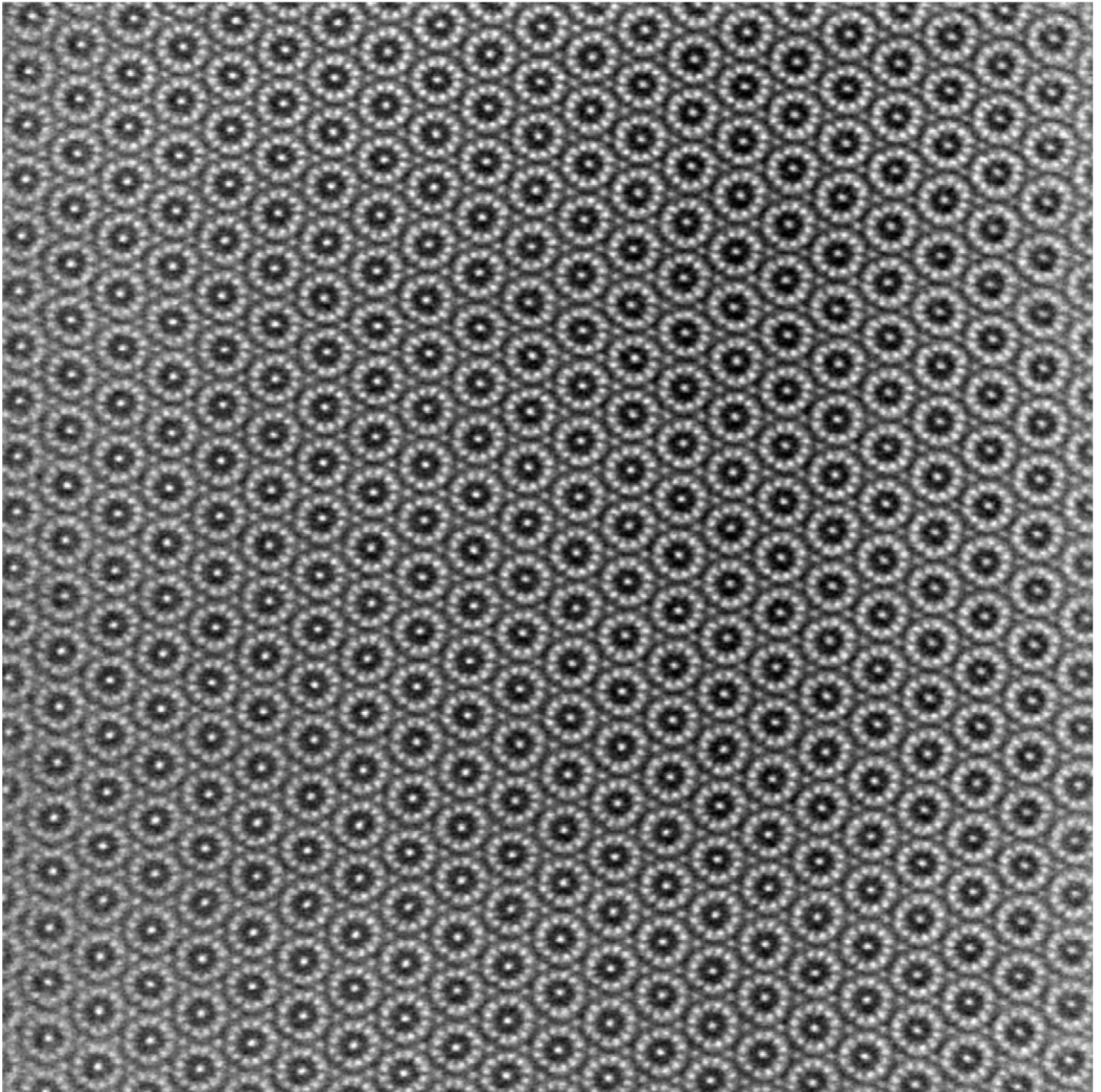


Titre artistique : La pizza de Gustav Klimt

Titre scientifique : Couche mince de nanoparticules de TiO_2 dans une matrice de Si

Cette couche mince a été déposée par PECVD. Une solution contenant des nanoparticules de TiO_2 a été injectée, en aérosol, dans le plasma. Les formes arrondies correspondent aux gouttes de la solution contenant les nanoparticules.

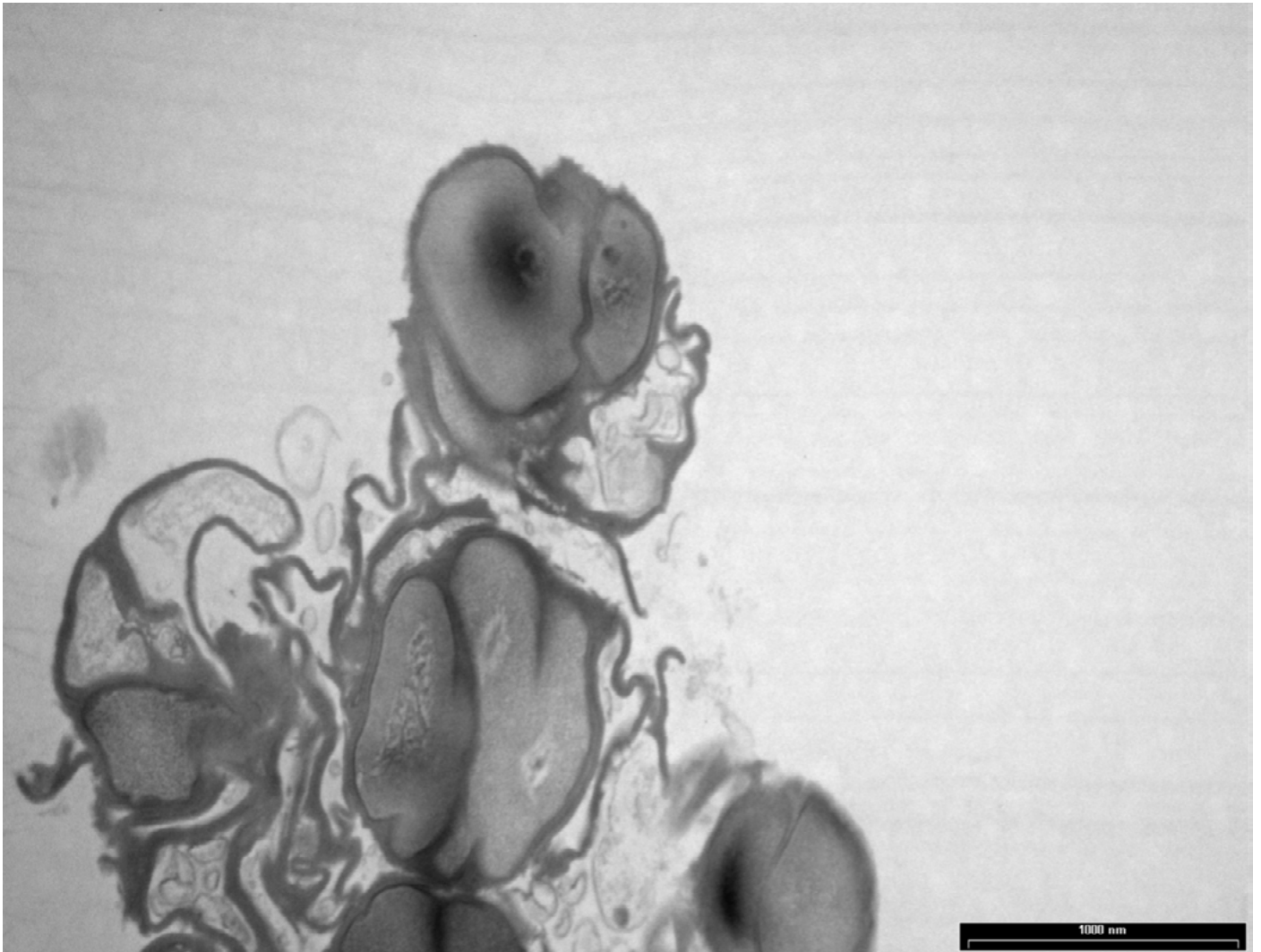
PHOTO 6 : Cécile GENEVOIS, CEMHTI, Orléans



Titre artistique : Tapisserie vintage

Titre scientifique : Image HAADF-STEM à l'échelle atomique d'une céramique métastable $\text{Sr}_6\text{Al}_{10}\text{Si}_6\text{O}_{33}$ orientée selon l'axe de zone $[001]$

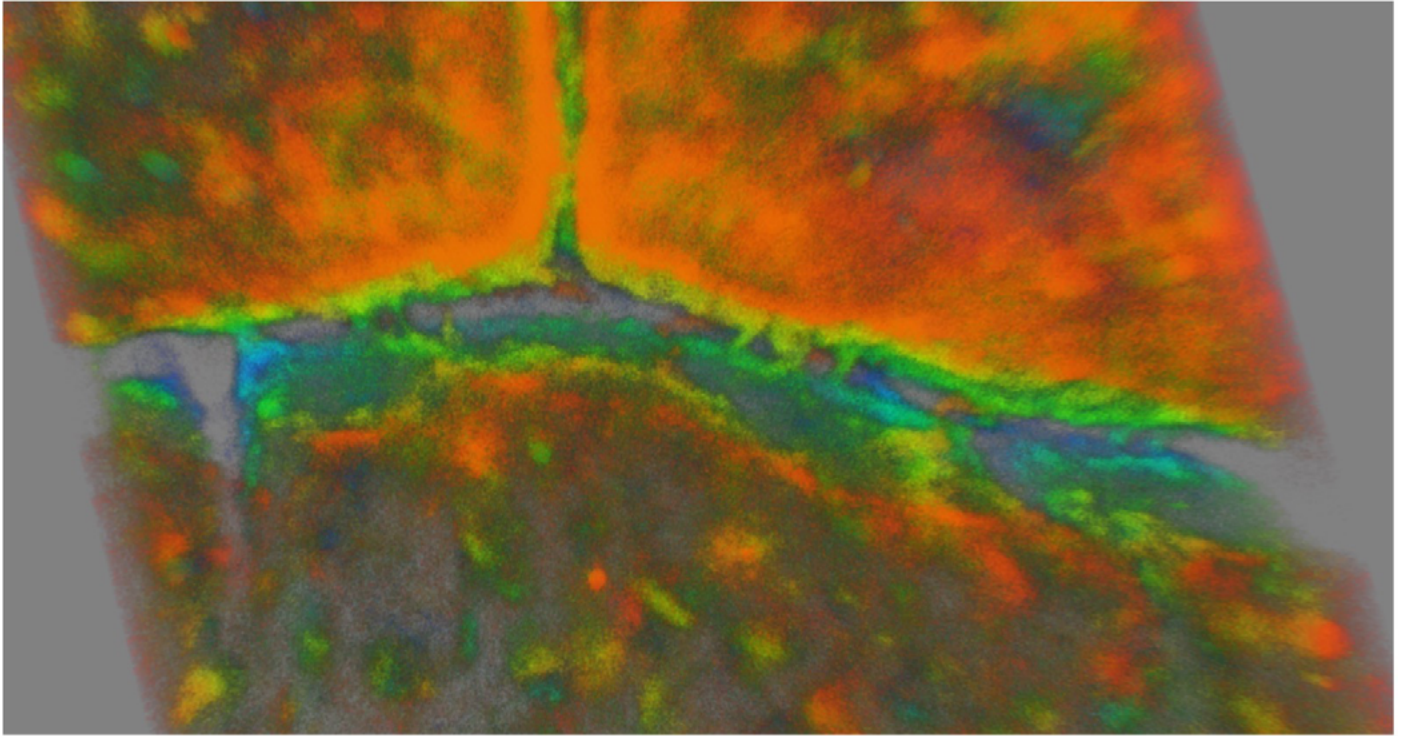
PHOTO 7 : Christine LONGIN, Plateformes MIM2-PUC, Jouy-en-Josas



Titre artistique : Gavroche en ballade

Titre scientifique : Bactéries (Lactococcus lactis) ayant subi une mutation de la paroi, qui les empêchent de finir leur division. Les cellules restent en amas et donnent d'étranges images.

PHOTO 8 : Monica FERNANDEZ MONREAL, BIC, Bordeaux

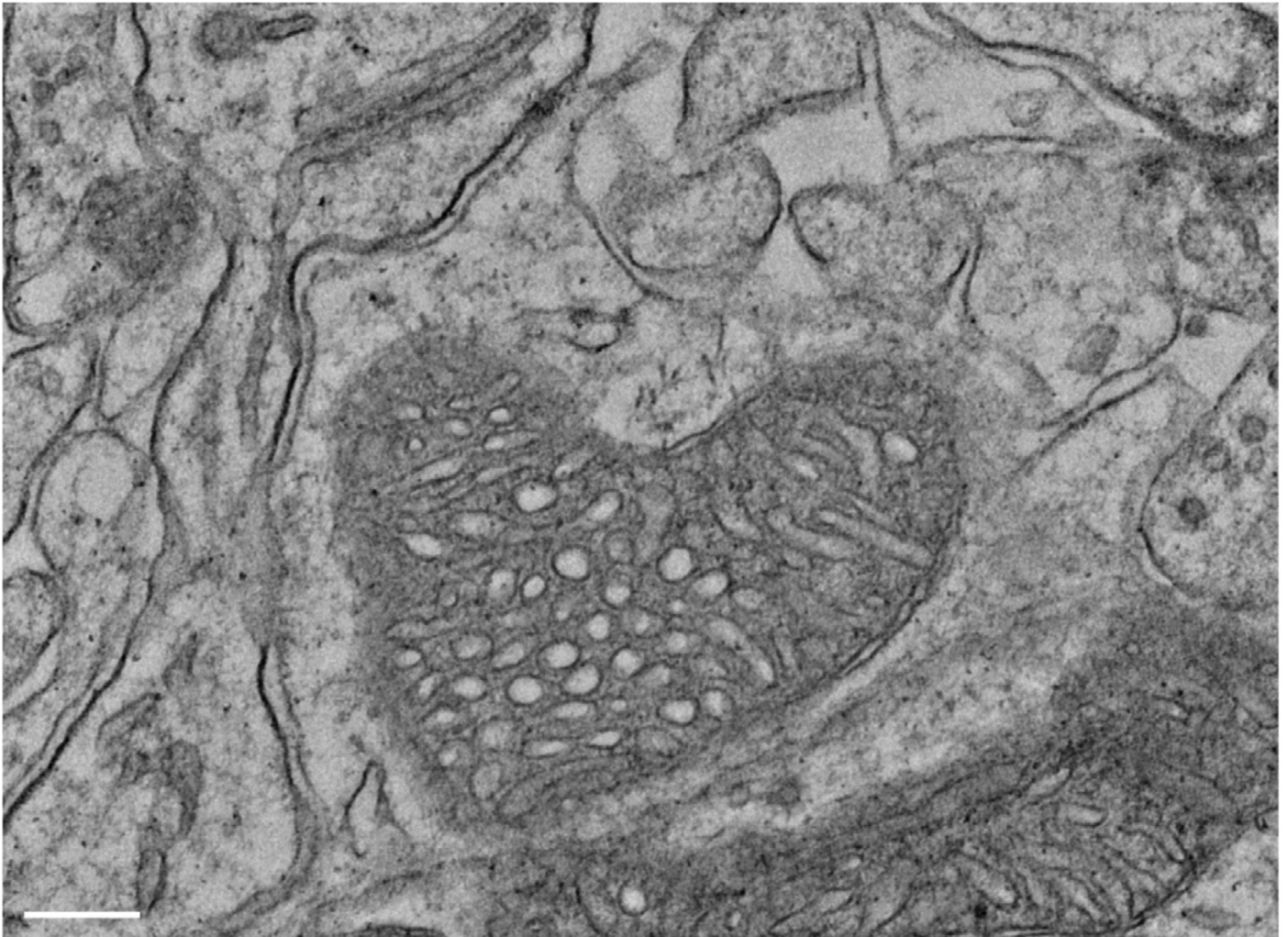


Titre artistique : Plasmodesma pride

Titre scientifique : Observation des plasmodesmes dans les racines d'Arabidopsis thaliana par microscopie optique.

Longtemps uniquement visibles en microscopie électronique, ces structures sont désormais accessibles grâce au développement de la méthode Root-ExM (Grisson et al., 2025).

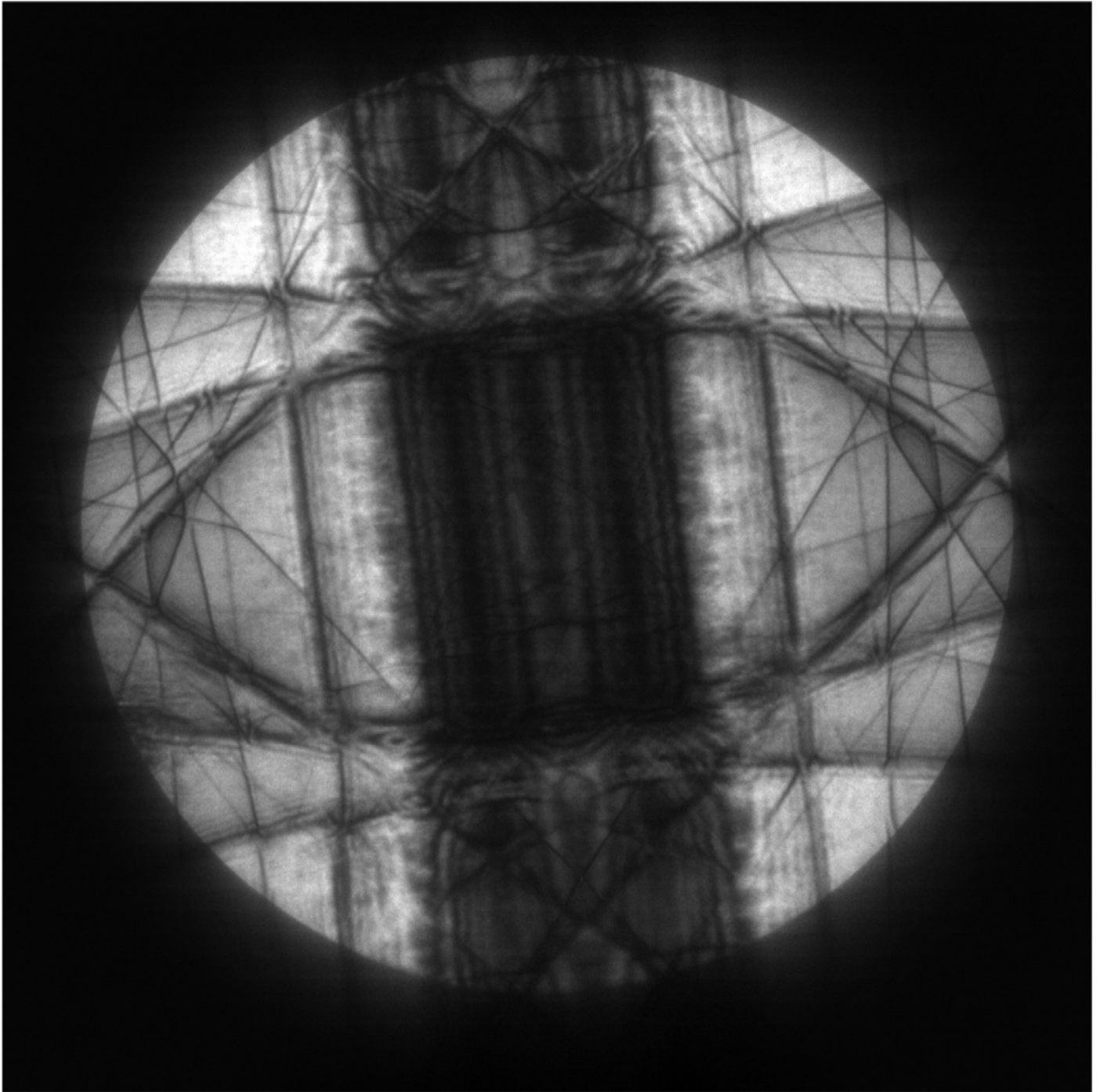
PHOTO 9 : Karim OURAHMOUN, Institut du Cerveau, Paris



Titre artistique : Cœur bioénergétique d'un amour microscopique

Titre scientifique : Image MET d'une mitochondrie axonale située dans la couche moléculaire d'un cervelet de souris. La barre d'échelle représente 200 nm.

PHOTO 10 : Anastasiia WALRAVE, IM2NP, Marseille



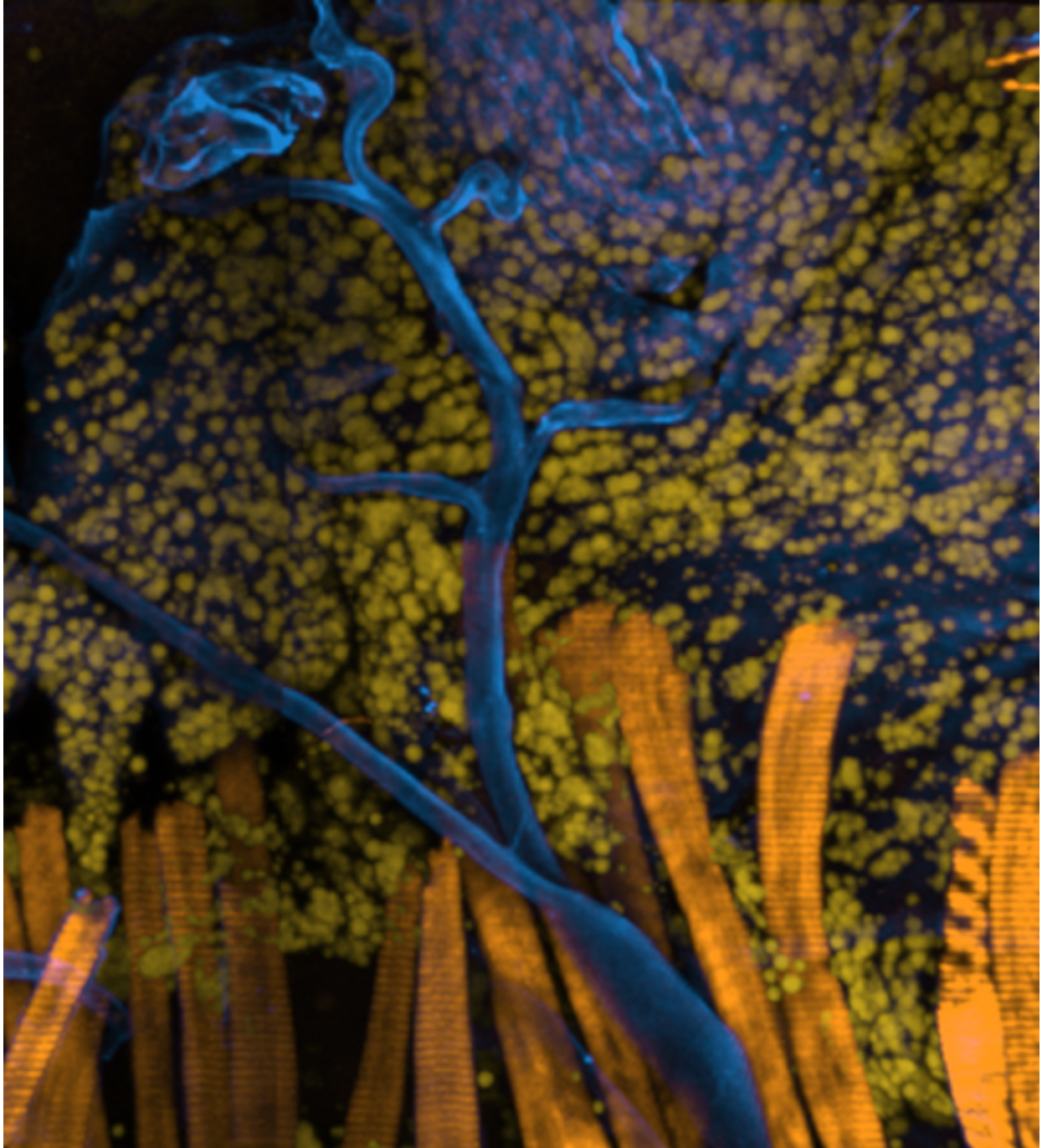
Titre artistique : If you gaze for long into an abyss, the abyss gazes also into you. - F. Nietzsche

Titre scientifique : Cliché LACBED en axe de zone [2-421] d'une lame mince de ZnO wurtzite.

Les lignes de Bragg révèlent la structure cristalline. L'angle de convergence du faisceau 20 mrad, tension d'accélération 300 kV, lame préparée par faisceau d'ions focalisés (FIB).

PHOTOS SOUMISES DANS LA CATÉGORIE – FAUNE et FLORE –

PHOTO 1 : Corinne BARREAU, RESTORE, Toulouse

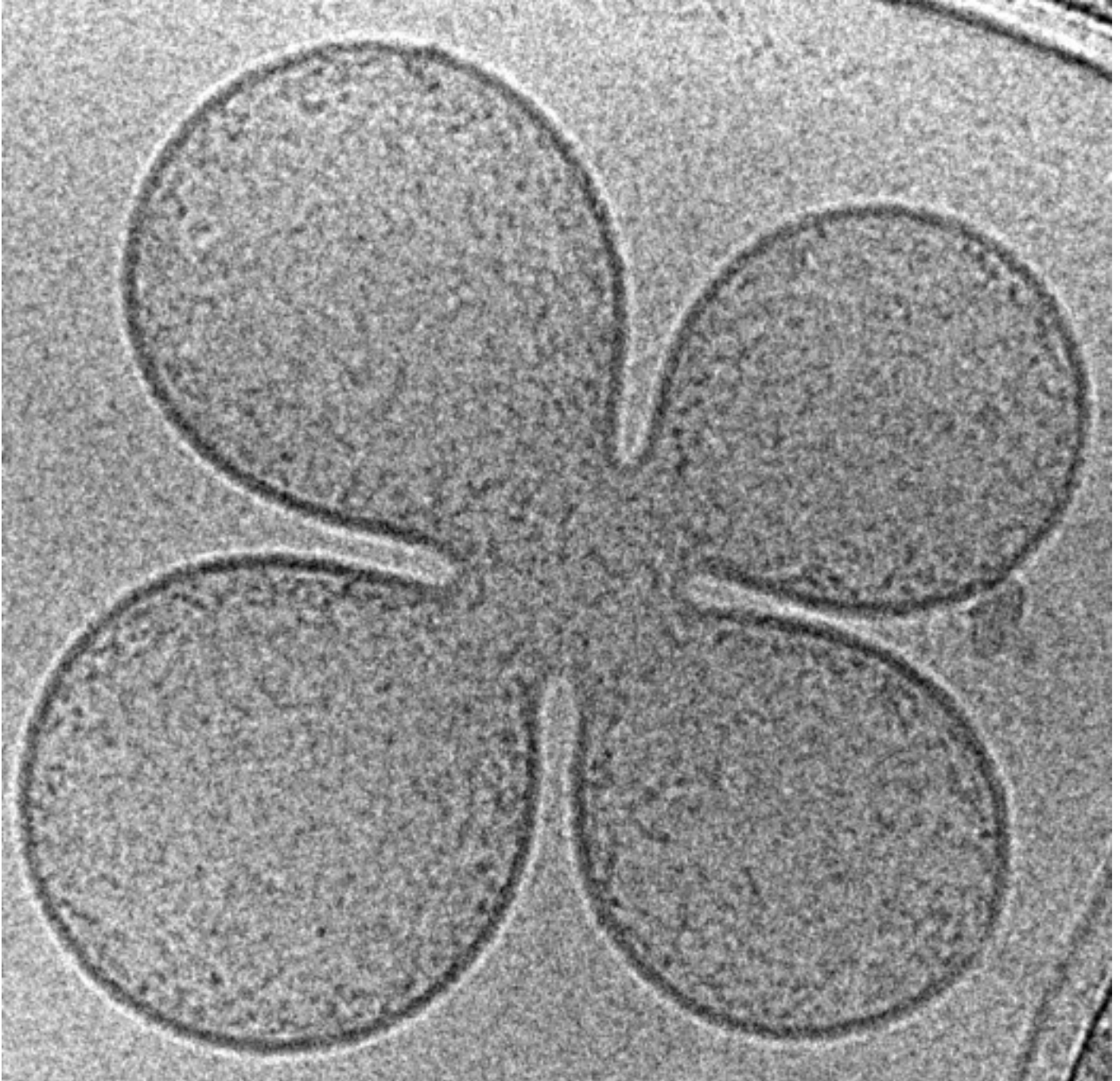


Titre artistique : La forêt musculaire, rêverie van Goghienne

Titre scientifique : Organisation du tissu adipeux et des muscles dans l'abdomen d'une jeune drosophile.

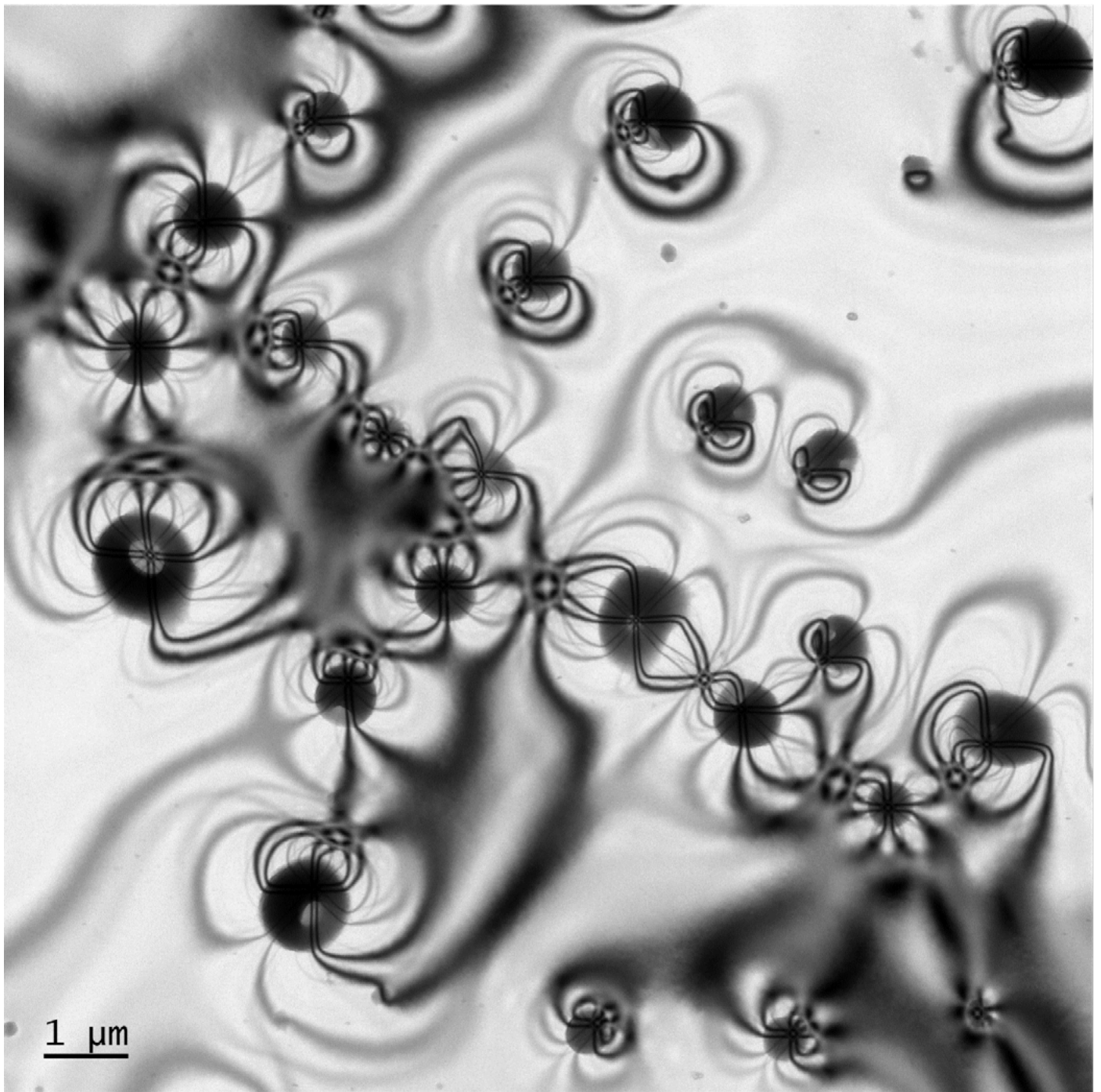
Image acquise par séparation spectrale au microscope confocal Zeiss LSM880 (orange: fibres musculaires, jaune : adipocytes, bleu : trachées).

PHOTO 2 : Aurélie BERTIN, Institut Curie, Paris



Titre artistique : Trèfle à 4 feuilles

PHOTO 3 : Victor BOURREAU, EPFL, Suisse

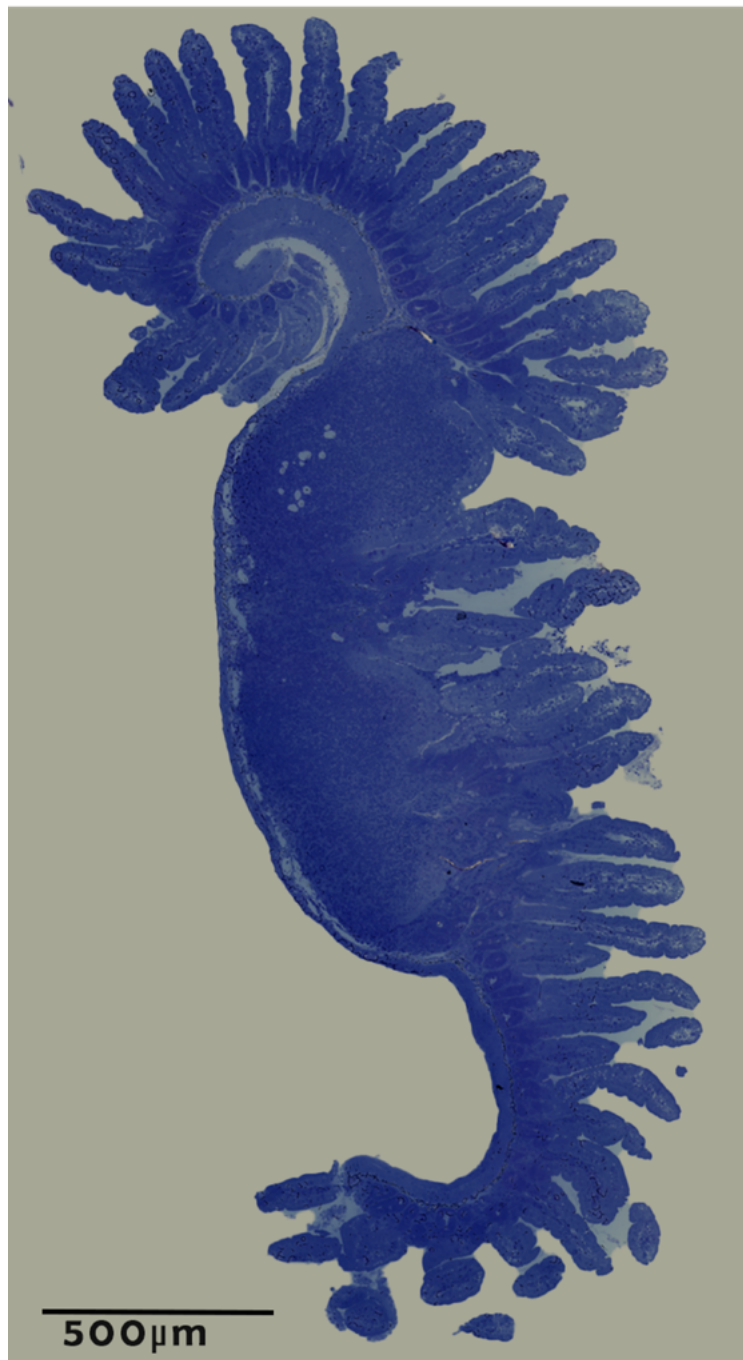


Titre artistique : La danse des araignées

Titre scientifique : Image STEM champ clair avec un très faible angle de convergence de nanoparticules de métal sur une membrane de silicium [001].

Les courbures de la membrane orientée proche de son axe de zone génèrent des contrastes de diffraction, communément appelés « bend contours ».

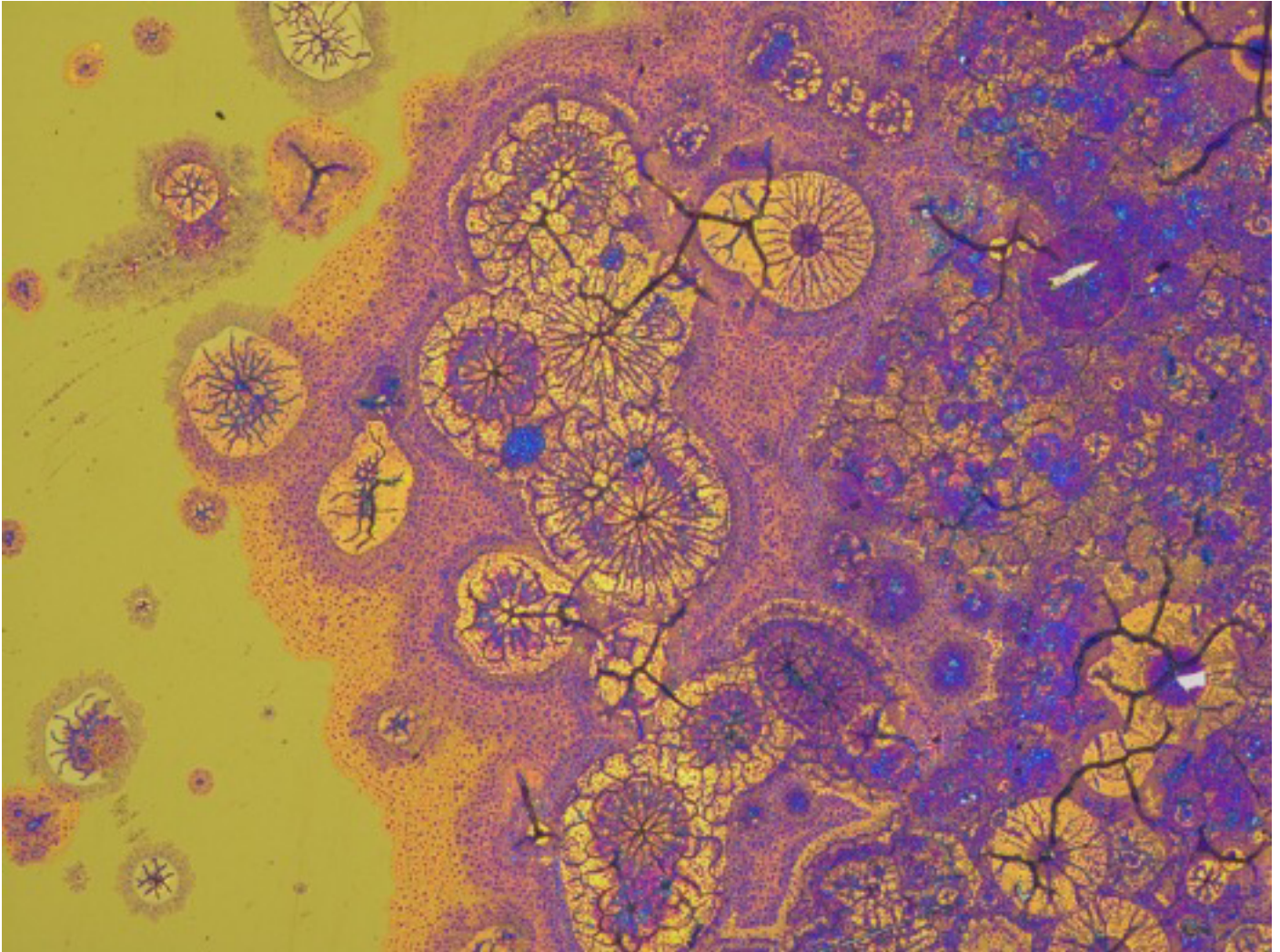
PHOTO 4 : Florence BOURGAILH, CMEAB, Toulouse



Titre artistique : Hippocampe intestinal

Titre scientifique : Image optique (scanner de lame Hamamatsu) d'une coupe de 400 nm de jéjunum de souris inclus dans une résine spurr et colorée au bleu méthylène-azur.

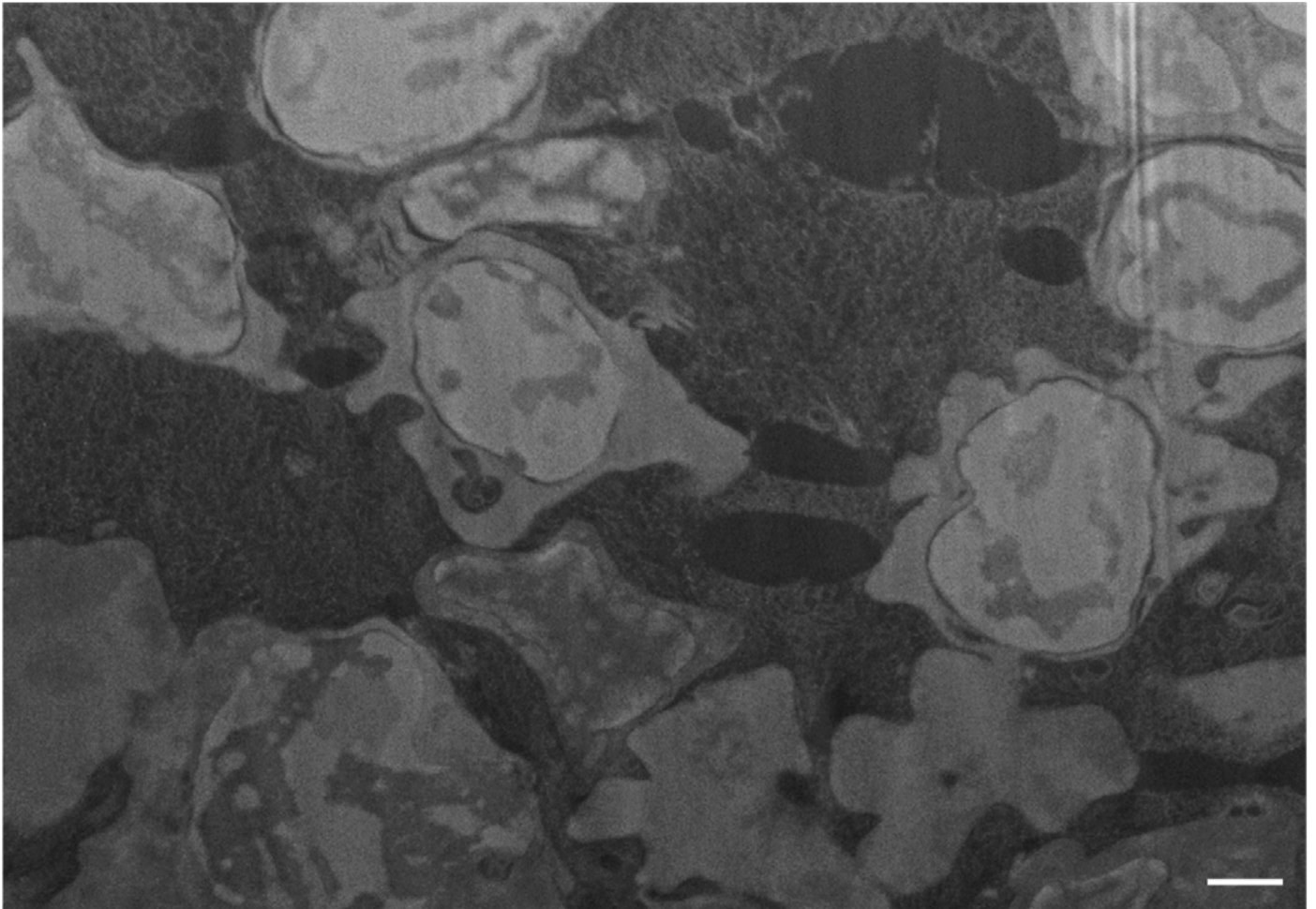
PHOTO 5 : Coline BOYER, AGC, Belgique



Titre artistique : Fleurs de l'Invisible

Titre scientifique : Observation d'un défaut de couche triple argent sur verre. Microscope optique, mode champ clair, grossissement x20.

PHOTO 6 : Marie JOYEAU, IMN, Nantes

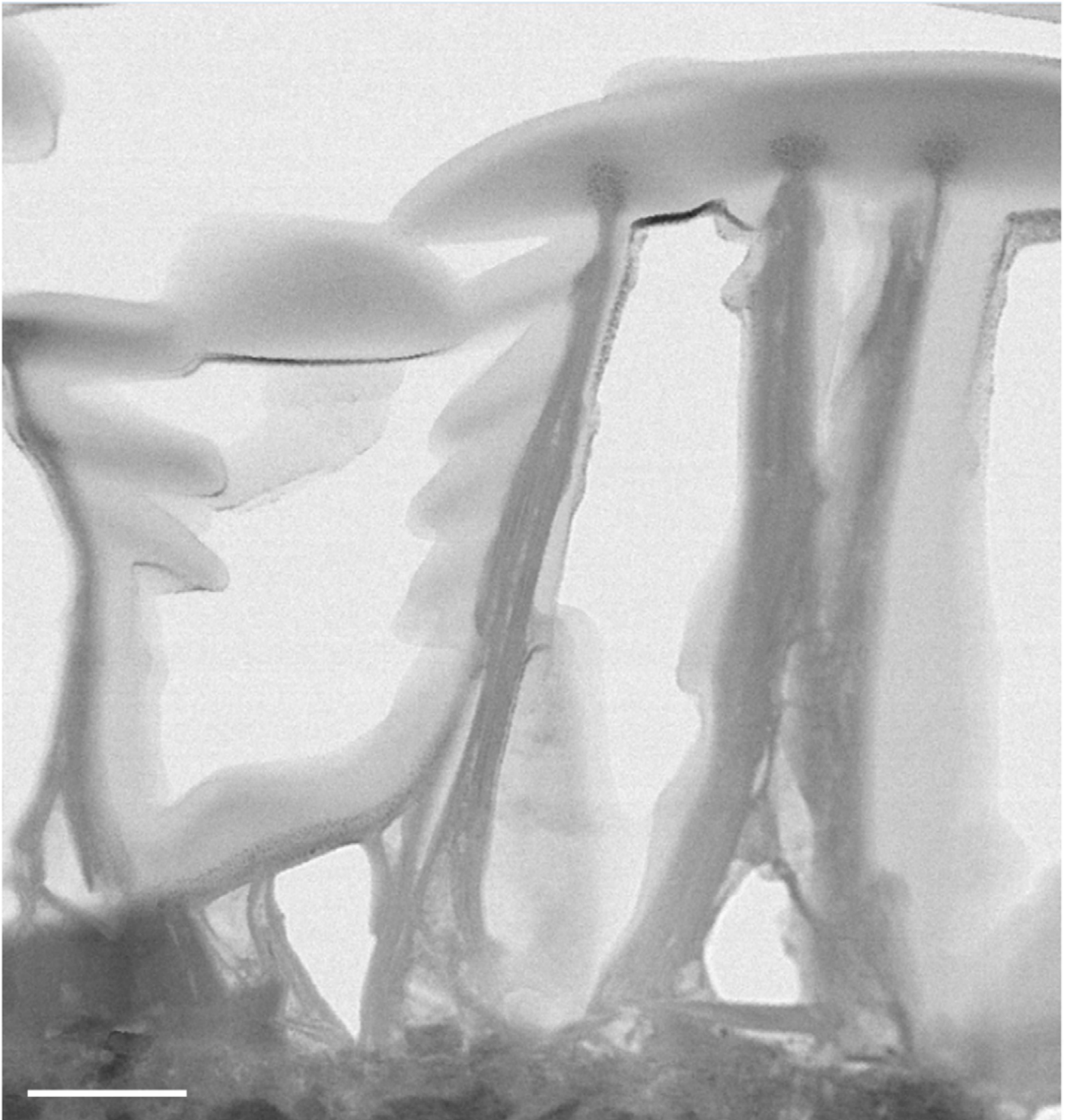


Titre artistique : Les tournesols de Van Gogh, en noir et blanc

Titre scientifique : Image MEB de coupe transversale d'os de souris enrobé en résine

L'image montre des cellules osseuses (probablement des ostéoclastes, cellules responsables de résorption de l'os dans le cadre du remodelage osseux) entourées de cristaux d'hydroxyapatite et proches d'une interface tissu minéralisé / tissu mou. La coupe a été préparé avec un FIB. Le contraste a été amélioré et le bruit et les effets «rideaux» ont été réduits sur ImageJ. Barre d'échelle : 1 μ m.

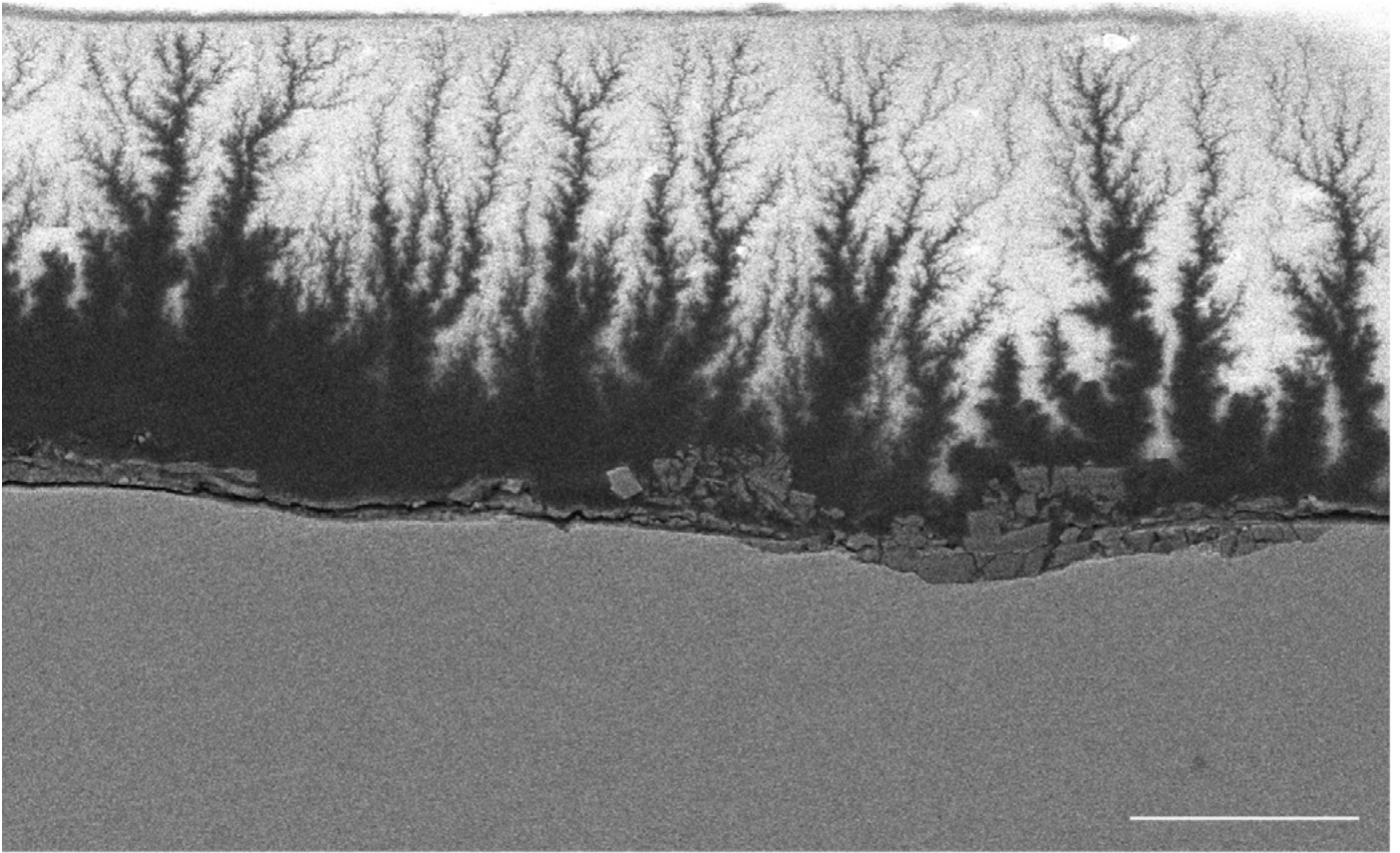
PHOTO 7 : Lydia LAFFONT, CIRIMAT, Toulouse



Titre artistique : Cliché d'une méduse

Titre scientifique : Image STEM en champ clair d'un oxyde de Si et Ni (en forme de baguettes) piégé dans une couche de carbone amorphe. La barre d'échelle représente 200 nm.

PHOTO 8 : Estelle LAGARDERE, CIRIMAT, Toulouse

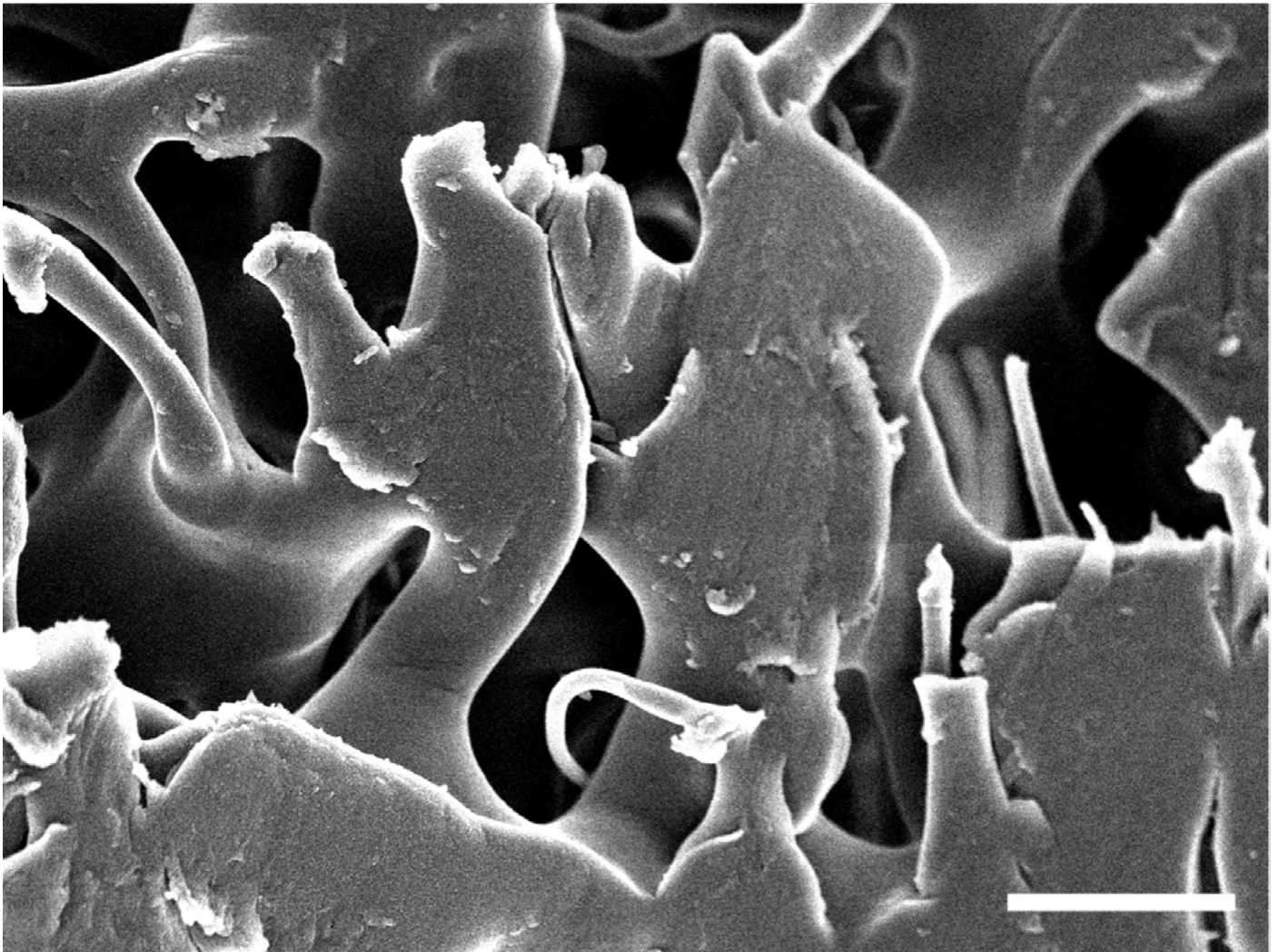


Titre artistique : Une nuit en forêt

Titre scientifique : Image MEB d'un échantillon en alliage base Ni enrobé dans une résine transparente.

Les « arbres » correspondent à un effet de charge qui s'est produit au MEB à l'interface entre le métal et la résine d'enrobage. Le trait blanc représente 20 μm .

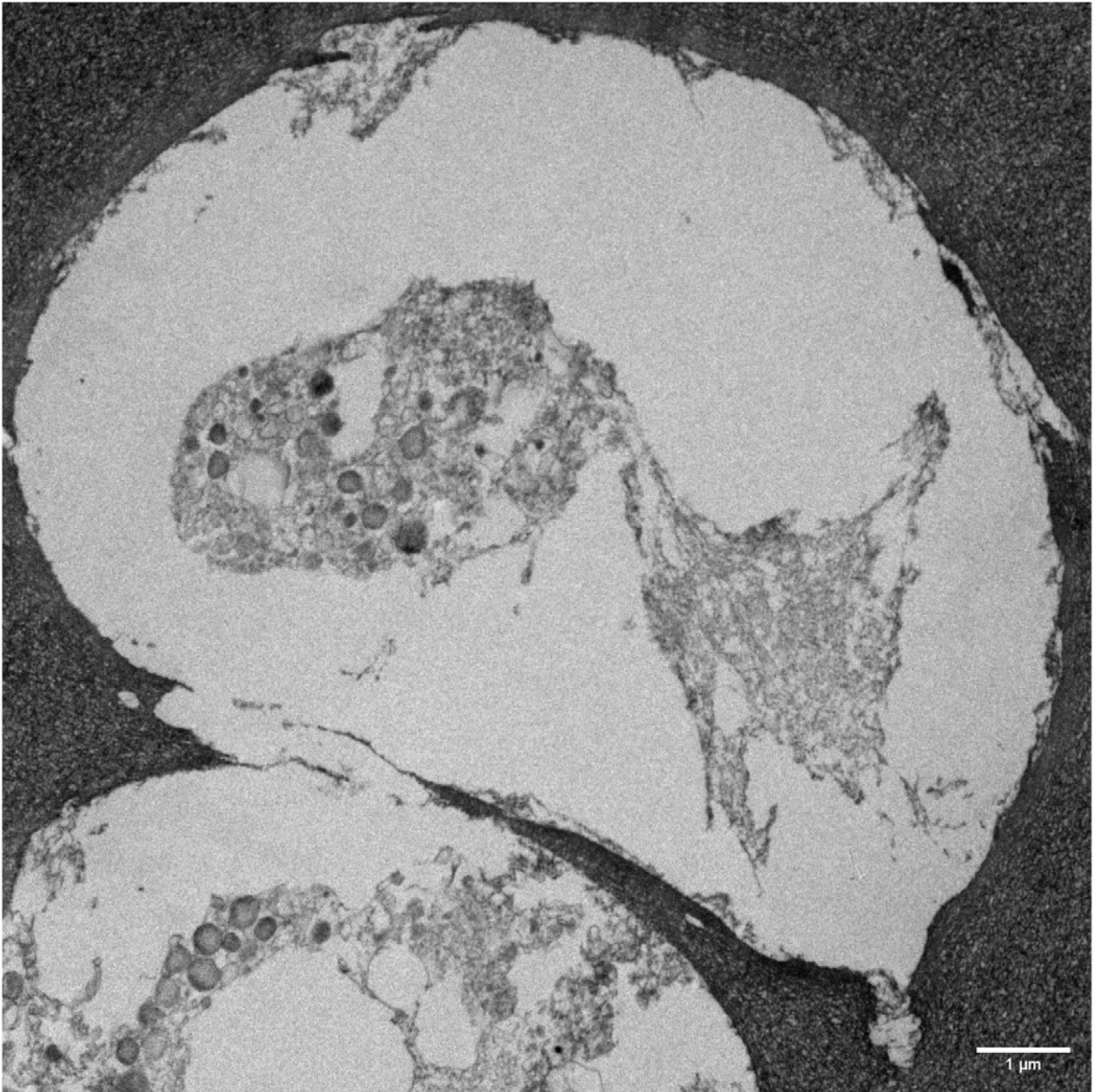
PHOTO 9 : Morgane PHILIPPE, IMN, Nantes



Titre artistique : Premières pousses printanières

Titre scientifique : Image MEB d'une coupe transversale de membrane de microfiltration en fibre creuse en PES, observée à 5 kV et à faible grandissement en électrons secondaires. La barre d'échelle représente 5 μ m.

PHOTO 10 : Marwan PUAUD, LAAS-CNRS, Toulouse

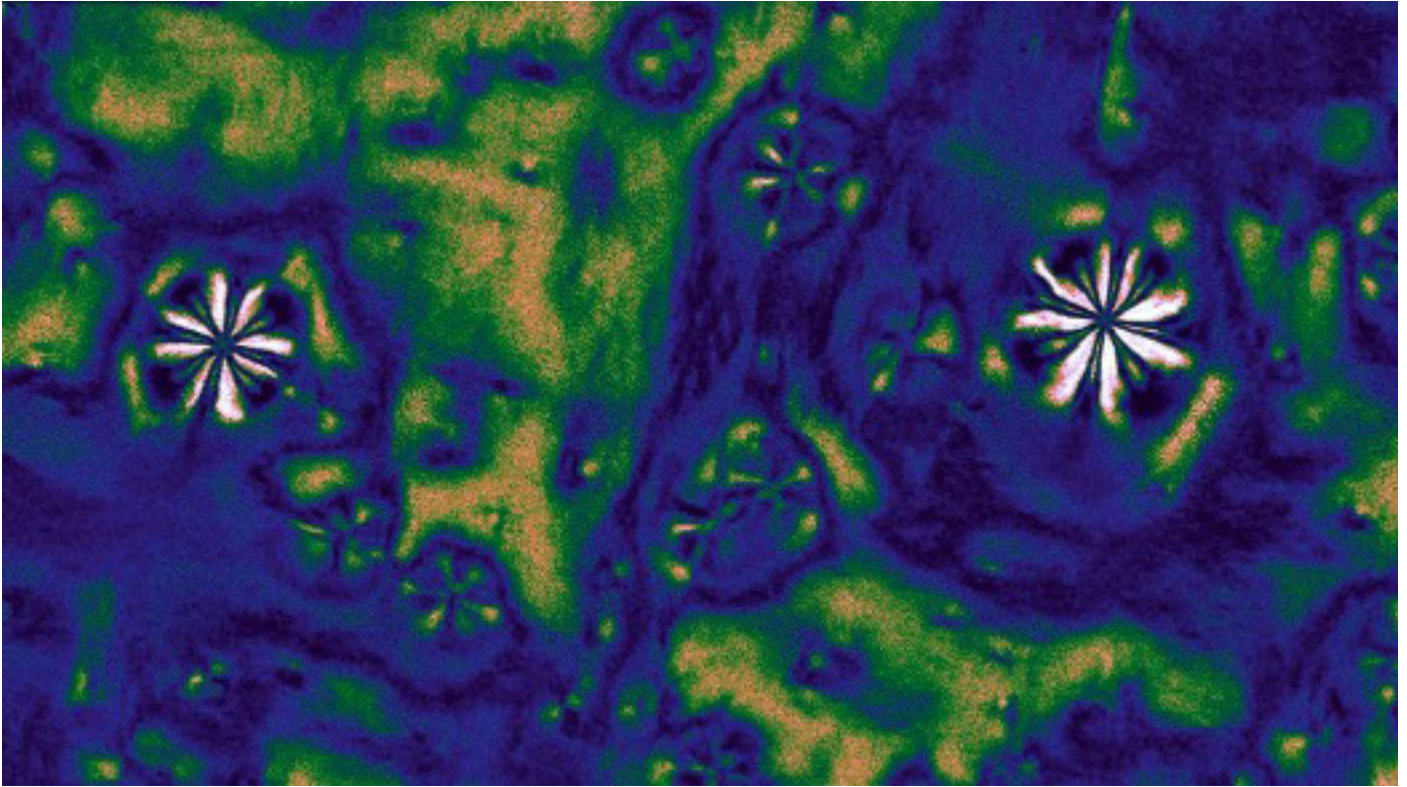


Titre artistique : GelMA-ssic Park

Titre scientifique : Image TEM à faible grossissement de cellules iMSC encapsulées dans un hydrogel photosensible.

Les zones sombres correspondent au réseau réticulé de l'hydrogel.

PHOTO 11 : Leifeng ZHANG, CEMES, Toulouse



Titre artistique : Deux fleurs dans l'étang

Titre scientifique : Fleurs nanométriques autour de l'axe de la zone [001] de BaTiO₃ (en MET).

INFORMATIONS PRATIQUES

Numéros utiles :

Poste de garde de l'université : 05 61 55 85 85

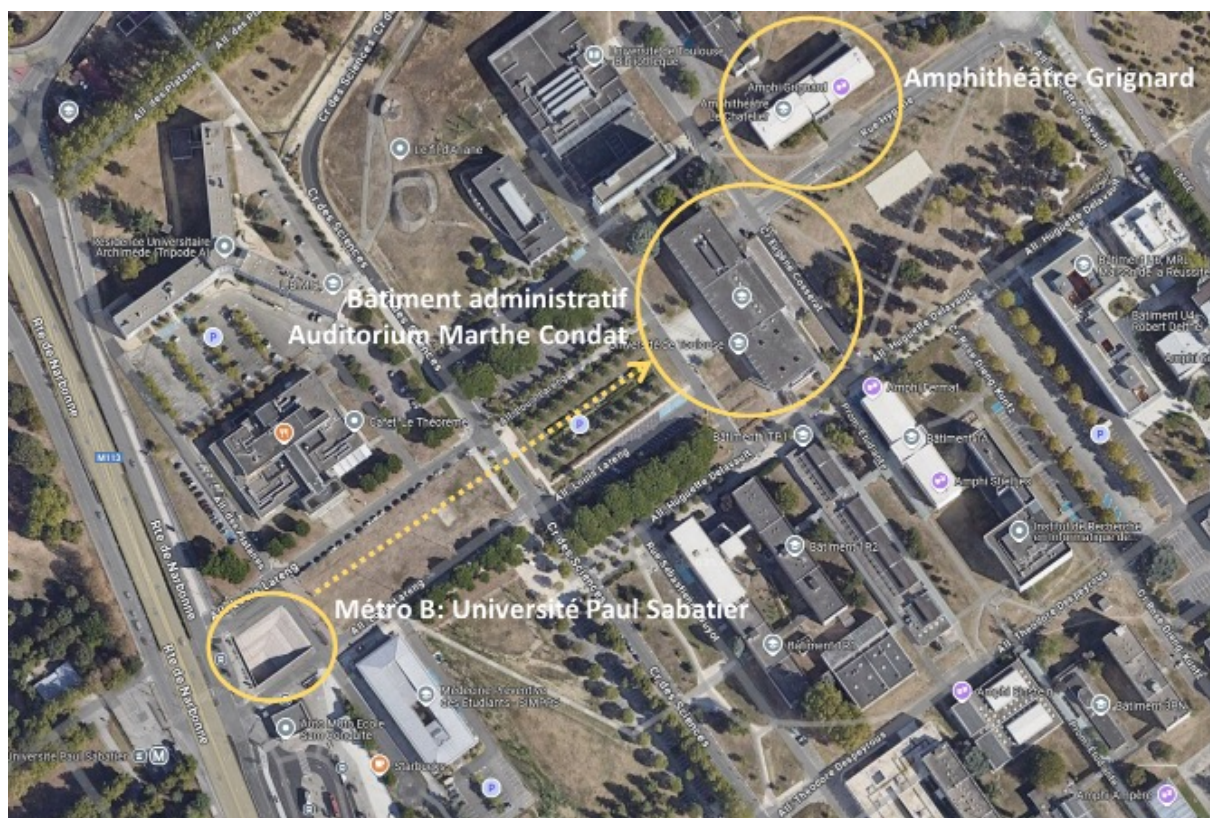
Pompier : 18, Police : 17, SAMU : 15, texto urgence : 114

Email comité d'organisation : colloque@sfm.fr

Lieu : bâtiment administratif de l'Université de Toulouse ; 118 Rte de Narbonne, 31400 Toulouse, Amphithéâtre Marthe Condat et Grignard

Comment venir :

Depuis le centre-ville : Métro ligne B, direction Ramonville, station Université Paul Sabatier, puis descendre l'allée vers le bâtiment administratif.



Horaires :

Le congrès commence le mardi 1^{er} juillet à 14 h, bâtiment central de l'Université de Toulouse. (ex UT3, Paul Sabatier). Le colloque se termine le 4 juillet à 13 h.

Les repas et les pauses café seront servis sous forme de buffet dans le hall d'exposition industriel du bâtiment administratif de l'université et une lunch box sera fournie le 4 juillet avant le départ.

Diner de Gala : 3 juillet, 19 h 30, Ma biche sur le toit, centre-ville ; accès au restaurant par le magasin Les Galeries Lafayette et le soir au 4 rue du lieutenant colonel Pelissier à partir de 20 h.

PROGRAMME SYNOPTIQUE

Lundi 30 juin		Mardi 1er juillet	Mercredi 2 juillet		Jeudi 3 juillet		Vendredi 4 juillet
8 h 30	Ateliers pratiques		8 h 30 - 10 h 30 : Session commune 2		8 h 30 - 10 h 30 : Session commune 3		8 h 30 - 10 h 30 : Session SdM 4
8 h 45				9 h 00 - 10 h 30 : GN-MEBA		9 h 00 - 10 h 30 : GN-MEBA	
9 h 00		Ateliers pratiques	10 h 30 - 12 h 00 : Pause café - Visite de l'exposition - Démonstrations Industriels	10 h 30 - 11 h 00 : Pause café	11 h 00 - 12 h 30 : AG Sfu	11 h 00 - 12 h 30 : GN-MEBA	10 h 30 - 11 h 00 : Pause café - Hall
9 h 15							
9 h 30							
9 h 45							
10 h 00							
10 h 15							
10 h 30							
10 h 45							
11 h 00							
11 h 15	Ateliers pratiques		12 h 00 - 13 h 30 : Pause déjeuner	12 h 00 - 13 h 30 : Session SdM 1 + GN-MEBA	12 h 00 - 13 h 30 : Session SdV 2	13 h 30 - 15 h 30 : Session SdM 2	11 h 00 - 13 h 00 : Session commune 4
11 h 30		12 h 00 - 14 h 00 : Accueil - Enregistrement					
11 h 45							
12 h 00							
12 h 15							
12 h 30							
12 h 45							
13 h 00							
13 h 15							
13 h 30							
13 h 45	Ateliers pratiques	14 h 00 - 14 h 30 : Ouverture du colloque	13 h 30 - 15 h 30 : Session SdV 1	15 h 30 - 16 h 00 : Pause café - Hall	15 h 30 - 16 h 00 : Pause café - Hall	16 h 00 - 18 h 00 : Session SdV 3	13 h 00 : Fin du colloque, lunchbox
14 h 00							
14 h 15							
14 h 30		14 h 30 - 15 h 30 : Conférence d'ouverture					
14 h 45							
15 h 00							
15 h 15							
15 h 30							
15 h 45							
16 h 00							
16 h 15	Ateliers pratiques		16 h 00 - 17 h 00 : Prix Pierre Favard	16 h 00 - 18 h 00 : GN-MEBA	16 h 00 - 18 h 00 : Session SdV 3	16 h 00 - 18 h 00 : Session SdM 3	19 h 30 - 2 h 00 : Soirée gala au restaurant Ma bêche sur le toit
16 h 30							
16 h 45							
17 h 00		16 h 00 - 18 h 00 : Session commune 1					
17 h 15							
17 h 30							
17 h 45							
18 h 00							
18 h 15							
18 h 30							
18 h 45							
19 h 00		18 h 00 - 19 h 30 : Cocktail inaugural sponsorisé par JEOL					
19 h 15							
19 h 30							

ATELIERS PRATIQUES

Les ateliers auront lieu le lundi 30 juin après-midi dans les différents laboratoires de Toulouse, ainsi que le mardi 1^{er} juillet matin. Leur durée est de 2h, ils pourront être répétés selon les créneaux suivants : 13 h 30 - 15 h 30, puis, 16 h - 18 h le lundi après-midi, ou bien 9 h 30 - 11 h 30 le mardi matin.

Atelier 1 : Imagerie 3D par tomographie FIB/SEM-3D

Animateurs : Claudie JOSSE – Teresa HUNGRIA, Centre Raimond Castaing

Description : Les faisceaux d'ions focalisés (FIB) couplés à la microscopie électronique à balayage (MEB) se sont imposés comme des outils incontournables pour l'imagerie 3D dans des domaines aussi variés que les sciences des matériaux, les semi-conducteurs, ou encore la biologie. Leur capacité à révéler la structure fine des échantillons avec une grande précision en fait des technologies de choix pour explorer des matériaux complexes à des échelles nanométriques.

Le principe est de réaliser des abrasions successives d'une zone d'intérêt à l'aide du faisceau ionique souvent le gallium (mais du xénon ou de l'oxygène peuvent également être utilisés) et d'imager par microscopie électronique à balayage chaque coupe transverse.

Une pile d'images est ainsi réalisée. Une reconstruction du volume de matière est ensuite effectuée par des logiciels de traitement d'images spécifiques.

L'atelier se déroulera en deux parties. La première sera théorique, avec une présentation orale détaillant les principes de la tomographie FIB-SEM 3D, notamment son fonctionnement, ses applications, et ses avantages. La seconde partie sera expérimentale, directement devant l'équipement. Les participants pourront observer la réalisation des découpes en temps réel, puis manipuler eux-mêmes pour mettre en pratique les concepts abordés.

Équipement utilisé : MEB/FIB FEI HELIOS nanoLab 600i

Lieu et horaires : lundi 30 juin, 13 h 30 - 15 h 30 et mardi 1^{er} juillet, 9 h 30 - 11 h 30, Centre Raimond Castaing

Nombre de participants : 5 participants maximum par session

Atelier 2 : Introduction à l'optique de particules chargées

Animateur : Florent HOUELIER, CEMES

Description : Présentation du projet « chaire d'optique de particule chargées ». Entre l'INSA, la société Orsay-physics et le CNRS nous avons mis en place une nouvelle formation dédiée au développement de nouveaux instruments utilisant des particules chargées tel que le FIB, le SEM ou le TEM. Cette formation s'inscrit dans le cycle des ingénieurs INSA du département de physique. Je propose ici un atelier d'introduction à cette activité. Nous aborderons les questions suivantes :

- Qu'est-ce que l'optique de particules chargées et pourquoi l'enseigner ?
- Quel sont les outils de calculs que nous mettons en place ? Nous ferons quelques démos sur les logiciels commerciaux SIMION et EOD (Electron Optics Design)
- Quels sont les outils pratiques que nous utilisons pour tester nos nouvelles optiques ?
- Quelles sont les optiques utilisées dans les FIB, SEM et TEM et leurs spécificités (électrostatique vs magnétostatique, symétrie rotationnelle vs multipolaire, axe optique droit vs axe optique courbé, ...)

Équipement utilisé : Présentation des TP et démos sur les logiciels SIMION et EOD. Démontage d'élément

optique électrostatique et magnétostatique (lentille, spectromètre, multipoles).

Lieu et horaires : INSA département de physique, salle d'instrumentation et salle OPC, lundi 30 juin, 16 h - 18 h, et mardi 1^{er} juillet, 9 h 30 - 11 h 30

Nombre de participants : 10 participants maximum par session

Atelier 3 : Déformation in-situ en MET & analyse des défauts

Animateur : Frédéric MOMPIOU, CEMES

Description : Cet atelier s'adresse aux personnes intéressées par la découverte d'une expérience de traction in-situ dans un MET afin d'étudier les mécanismes de déformation dans les matériaux. Nous montrerons dans un premier temps les outils nécessaires afin de réaliser un micro-essai de déformation dans le microscope en termes de porte-objets (traction à différentes températures, nano-indentation) et de préparation des échantillons. Nous discuterons du mérite des différentes approches. Nous proposerons ensuite de réaliser une expérience en traction sur un alliage métallique électro-poli. Nous expliquerons comment les observations en MET conventionnel peuvent apporter des informations quantitatives sur les mécanismes de déformation à l'échelle sub-micronique. Pour cela, nous utiliserons le logiciel libre pycotem permettant de travailler de bout en bout sur l'analyse des défauts microstructuraux (dislocations & interfaces) à partir des images et des clichés de diffraction.

Équipement utilisé : MET JEOL2100HC, porte-objet de traction, logiciel pycotem

Lieu et horaires : CEMES, lundi 30 juin, 13 h 30 - 15 h 30 et mardi 1^{er} juillet, 9 h 30 - 11 h 30

Nombre de participants : 6 participants maximum par session

Atelier 4 : Préparation de lame mince par Faisceau d'ions focalisés (FIB)

Animateur : Robin COURS, CEMES

Description : L'utilisation de microscope double faisceaux FIB/SEM est désormais courante pour réaliser des échantillons observables en microscopie électronique en transmission. Le faisceau d'ions focalisés, généralement d'ions gallium, a une résolution d'une dizaine de nanomètres, et permet la préparation de lame mince d'épaisseur inférieure à 50 nm sur certains matériaux. Les « dualbeam » actuels permettent facilement d'atteindre la transparence aux électrons de l'échantillon. Cependant, afin d'obtenir un échantillon extrêmement fin tout en gardant une grande qualité cristalline, l'opérateur doit optimiser l'utilisation des faisceaux électronique et ionique en faisant varier habilement certains paramètres (haute tension, courant, vitesse de balayage, angle d'attaque...).

Cet atelier proposera en premier lieu de voir en direct les différentes étapes de préparation d'une lame ultramince, idéale pour des techniques comme l'observation HRTEM ou l'EELS par exemple. L'objectif sera de montrer comment allier vitesse d'exécution (moins de 2 h sur substrat de silicium) et grande précision, nécessaire pour l'obtention de ce type d'échantillon.

Par ailleurs, ce moment sera également l'occasion d'échanger plus largement autour de la préparation par FIB et des problématiques qu'elle peut poser suivant les matériaux.

Équipement utilisé : FIB/SEM ThermoFisher Helios NanoLab600i

Lieu et horaires : CEMES, lundi 30 juin, 13 h 30 - 15 h 30 et mardi 1^{er} juillet, 9 h 30 - 11 h 30

Nombre de participants : 4 participants maximum par session

Atelier 5 : Cryo-MET, de la préparation de l'échantillon à la structure 3D

Animateurs : Stéphanie BALOR, Célia PLISSON-CHASTANG, Ramteen SHAYAN, Vanessa SOLDAN, CBI

Description : L'atelier permettra de découvrir la technique dite de cryo-MET. Au cours de celui-ci, les participants aborderont les approches de préparation des échantillons par cryo-plunge, de montage des grilles sur support adéquat, ainsi que l'imagerie TEM haut-débit/haute-résolution à faible dose d'électrons pour l'acquisition d'images de cryo-TEM. Après la démonstration de la collecte d'images, les participants verront les grands principes de la reconstruction 3D des objets d'intérêt par analyse de particules isolées SPA et/ou par tomographie électronique. L'objectif de l'atelier est de donner à ses participants une vue d'ensemble de la cryo-MET et de l'analyse des images obtenues, afin notamment de comprendre comment cette technique a révolutionné la biologie structurale, tant à l'échelle moléculaire que cellulaire. Ces techniques de cryo-préparations sont également applicables aux domaines de la chimie et des sciences des matériaux. (polymères, nanoparticules, etc)

Équipements utilisés :

- Automate de vitrification des grilles Leica EMGP
- Cryo-microscope haut débit/haute résolution TFS Talos Arctica, filtre de perte d'énergie et caméra à détection directe d'électrons Gatan BioQuantum et K3.
- Station de calcul GPU pour la reconstruction 3D à partir d'images de cryo-EM (LinuxVixion)

Lieu et horaires : CBI – Plateforme METi, lundi 30 juin, 13 h 30 - 15 h 30, puis 16 h - 18 h

Nombre de participants : 4 participants maximum par session

Atelier 6 : Compression Force Microscopy

Animateurs : Renaud POINCLOUX, Myriam RAZOUK, Merzouk ZIDANE, IPBS

Description : Nous présenterons une nouvelle méthode, appelée microscopie à force de compression, qui consiste à analyser les forces appliquées par des macrophages phagocytant des micropiliers de polyacrylamide de taille et de rigidité contrôlées. Nous expliquerons comment les piliers ont été conçus, montrerons comment effectuer la mesure des déformations et comment les analyser, grâce à une procédure automatisée et des simulations mécaniques basées sur des éléments finis.

Équipement utilisé : Microscope confocal de type Spinning Disc

Lieu et horaires : CBI ou IPBS, lundi 30 juin, 13 h 30 - 15 h 30 et mardi 1^{er} juillet, 9 h 30 - 11 h 30

Nombre de participants : 5 participants maximum par session

Atelier 7 : Cartographie d'orientations cristallines par t-EBSD et STEMx

Animateurs : Armel DESCAMPS-MANDINE, Arnaud PROIETTI, Centre Raimond Castaing

Description : Cet atelier permet d'aborder deux techniques de caractérisation des orientations cristallines complémentaires, l'une est une technique MEB dérivée de l'analyse EBSD (t-EBSD) et l'autre se met en place dans un microscope électronique en transmission (STEMx). Pour cela, un même type de lame mince sera étudiée au cours de deux ateliers différents : sur un MEB FEG et sur un MET FEG

L'analyse t-EBSD pour transmission EBSD est une analyse EBSD (Electron BackScatter Diffraction) qui se réalise dans un MEB, sur une lame amincie pour la microscopie électronique en transmission. L'intérêt de travailler en transmission est de pouvoir obtenir des informations cristallographiques sur des grains de 15 nm (alors que la résolution latérale est autour de 100 nm en EBSD conventionnel i.e. sur un échantillon massif).

Les résultats permettent d'obtenir des informations sur l'orientation cristallographique, la forme et la taille des grains voire des informations texturales. Le but de cette partie de l'atelier est de se familiariser avec la technique, le traitement des données et discuter de la complémentarité avec l'analyse en microscopie électronique en transmission.

Concernant le STEMx, il s'agit du système de diffraction 4DSTEM de « Ametek-Gatan ». Il permet de recueillir les données de diffraction sur la caméra synchronisées avec l'imagerie STEM conventionnelle (ici de la marque JEOL). Une fois que l'ensemble des figures de diffraction sont collectées pour chaque point de l'image STEM, il est possible de manipuler des masques virtuels pour mettre en valeur certaines zones. On peut ainsi obtenir des images BF/DF virtuelles. Cette partie de l'atelier comporte une partie de description du mode opératoire couplé à une observation en live et une partie discussion autour de la manipulation des données (utilisations masques virtuels, code python, ...)

Équipement utilisé : MEB FEG JEOL 7100F équipé d'une caméra EBSD et sur un MET FEG 2100F équipé du système STEMx (Gatan).

Lieu et horaires : Centre Raimond Castaing, lundi 30 juin, 13 h 30 - 15 h 30, puis 16 h - 18 h

Nombre de participants : 10 participants maximum par session

Atelier 8 : Imagerie et mesures mécaniques sur cellules vivantes par microscopie à force atomique

Animateurs : Etienne DAGUE, LAAS-CNRS, Childérick SEVERAC, RESTORE

Description : La microscopie à force atomique (AFM), développée en 1986, est désormais devenue une technique incontournable pour l'étude à l'échelle nanométrique d'échantillons biologiques vivants, observés directement en milieu liquide. Le principe de fonctionnement de l'AFM est basé sur un levier, au bout duquel se trouve une pointe très fine, qui va venir en contact directement avec l'échantillon pour produire des images haute résolution, ou pour sonder les propriétés mécaniques et adhésives des échantillons.

La première partie de cet atelier de découverte de l'AFM consistera à imager des cellules de mammifères immobilisées sur un support à haute résolution. Pour cela, un couplage entre la microscopie optique et l'AFM sera mis en place, ce qui permet de cibler les zones d'intérêt en optique pour ensuite les scanner avec l'AFM.

Dans la deuxième partie, nous réaliserons des mesures de force pour déterminer les propriétés nanomécaniques des cellules, c'est-à-dire leur rigidité, ou résistance à la compression opérée par la pointe. Les principes de bases de la nanomécanique seront alors expliqués pour permettre aux participants de découvrir tout le potentiel de l'AFM pour ce type de mesures.

Enfin, une discussion sur les autres modalités de l'AFM (les mesures d'interactions spécifiques, la fonctionnalisation des pointes AFM utilisés, les couplages à la microfluidique), viendront compléter l'atelier. Cet atelier s'adresse donc à toute personne intéressée pour découvrir cette technique appliquée aux sciences du vivants, aucune notion de base n'est nécessaire.

Équipement utilisé : AFM Nanowizard 4 XP, Bruker

Lieu et horaires : LAAS-CNRS, lundi 30 juin 13 h 30 - 15 h 30 et mardi 1^{er} juillet 9 h 30 - 11 h 30

Nombre de participants : 6 participants maximum par session

PROGRAMME SCIENTIFIQUE

	Lundi 30 juin	
13 h 30 - 15 h 30	Ateliers pratiques	
16 h 00 - 18 h 00	Ateliers pratiques	
	Mardi 1 ^{er} juillet	
9 h 30 - 11 h 30	Ateliers pratiques	
12 h 00 - 14 h 00	Enregistrement	
14 h 00 - 14 h 30	Ouverture du colloque - <i>Auditorium Marthe Condat</i>	
14 h 30 - 15 h 30	<u>Conférence d'ouverture</u> : «À la recherche de nouveaux mondes», par Olivier BERNE de l'IRAP - <i>Auditorium Marthe Condat</i>	
15 h 30 - 16 h 00	Pause café	
16 h 00 - 18 h 00	<u>Session commune</u> : Avancées instrumentales - <i>Auditorium Marthe Condat</i>	
18 h 00 - 19 h 30	Cocktail d'inauguration sponsorisé par 	
	Mercredi 2 juillet	
8 h 30 - 10 h 30	<u>Session commune</u> : Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme - <i>Auditorium Marthe Condat</i>	
10 h 30 - 11 h 00	Pause café	
11 h 00 - 12 h 00	Visite de l'exposition - Démonstrations industriels	
12 h 00 - 13 h 30	Déjeuner	
13 h 30 - 15 h 30	<u>Session SdV</u> : Cryo-EM moléculaire et cellulaire <i>Amphi Grignard</i>	<u>Session SdM et GN-MEBA</u> : Multitechniques approches multiphysiques - <i>Auditorium Marthe Condat</i>
15 h 30 - 16 h 00	Pause café	
16 h 00 - 17 h 00	Prix Pierre Favard - <i>Auditorium Marthe Condat</i>	
17 h 00 - 19 h 00	Session Poster autour d'un cocktail	

Jeudi 3 juillet	
8 h 30 - 10 h 30	<u>Session commune</u> : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie - Auditorium Marthe Condat
10 h 30 - 11 h 00	Pause café
11 h 00 - 12 h 00	Assemblée générale de la Sfμ - Auditorium Marthe Condat
12 h 00 - 13 h 30	Déjeuner
13 h 30 - 15 h 30	<u>Session SdV</u> co-organisée avec le GDR ImaBio : Super-résolution optique, des développements aux applications Auditorium Marthe Condat <u>Session SdM</u> : Techniques résolues en temps Amphi Grignard
15 h 30 - 16 h 00	Pause café
16 h 00 - 18 h 00	<u>Session SdV</u> : Imageries 3D cellulaire et tissulaire Amphi Grignard <u>Session SdM</u> : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons - Auditorium Marthe Condat
19 h 30 - 2 h 00	Soirée gala au restaurant «Ma Biche sur le toit»

Vendredi 4 juillet	
8 h 30 - 10 h 30	<u>Session SdV</u> : Imagerie corrélative et multimodale - Auditorium Marthe Condat <u>Session SdM</u> : Interfaces - Amphi Grignard
10 h 30 - 11 h 00	Pause café
11 h 00 - 13 h 00	<u>Session commune</u> : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale Auditorium Marthe Condat
13 h 00 - 13 h 30	Clotûre du congrès - Lunchbox

SESSIONS COMMUNES

Session commune : Avancées instrumentales

Chairmen :

- Florent HOUELLIER (CEMES Toulouse)
- Thomas MANGEAT (CBI Toulouse)

Résumé :

Cette session est dédiée à l'instrumentation en général autour des instruments utilisant des particules chargées. Les développements présentés pourront permettre une amélioration de la résolution latérale, énergétique ou temporelle d'un instrument global et, en outre, la session pourra aussi s'intéresser à tout autre composant individuel qui pourrait être utilisé pour l'un de ces objectifs comme les plaques de phase, les détecteurs, etc. Le développement de techniques de préparation aussi bien pour des études de matériaux biologiques que pour des matériaux pourront également faire partie du champ d'intérêt de la session.

Planning : mardi 1^{er} juillet, 16 h-18 h, amphithéâtre Marthe Condat

- | | |
|--------------------------|--|
| 16 h 00 – 16 h 25 | Conférence invitée : Massimo LEGER, GANIL, Caen
<i>« Développement d'une source d'ions à sels fondus »</i> |
| 16 h 25 – 16 h 37 | Lucile BERDOU-DURRIEU, CEMES, Toulouse
<i>« Lentille objective électrostatique multipolaire pour une colonne FIB plasma »</i> |
| 16 h 37 – 16 h 49 | Olivier MARCELOT, ISAE-SUPAERO, Toulouse
<i>« Detective quantum efficiency (DQE) measurement for TEM camera: from the key parameter to an ambiguous estimate »</i> |
| 16 h 49 – 17 h 01 | Florant EXERTIER, GPM, Rouen
<i>« Analyse de matériaux hydrates à l'échelle quasi-atomique par sonde atomique tomographique à l'aide de revêtement de graphène »</i> |
| 17 h 01 – 17 h 11 | Guillaume BRUNETTI, entreprise JEOL (Europe) SAS
<i>« Cutting edge solutions for time resolved in-situ microscopy »</i> |
| 17 h 11 – 17 h 36 | Conférence invitée : Sophie BRASSELET, Institut Fresnel, Marseille
<i>« Polarized super resolution optical microscopy in 3D for structural imaging in biology »</i> |
| 17 h 36 – 17 h 48 | Jan VAVRA, DECTRIS
<i>« Exploration du fractionnement de la dose d'électrons en TEM pour les applications en science des matériaux en utilisant la dernière génération de détecteurs de pixels hybrides »</i> |
| 17 h 48 – 18 h 00 | Erwan FERRANDON, XLIM, Limoges
<i>« Imagerie multiphotonique via des impulsions femtosecondes adaptées spectro-temporellement pour une excitation reconfigurable dynamiquement et une analyse multimodale d'échantillons biologiques »</i> |

DEVELOPPEMENT D'UNE SOURCE D'IONS A SELS FONDUS

Massimo LÉGER¹, Arnaud HOUËL¹, Eric GIGLIO², Stéphane GUILLOUS²

¹ Orsay Physics, TESCAN Group FIB BU, 95 3ème avenue, 13710 Fuveau, France

² CIMAP (Centre de recherche Interdisciplinaire sur les Ions, les Matériaux et la Photonique),
Boulevard Henri Becquerel, 14076 Caen, France

Session : Sc1: Avancées instrumentales

Le projet CAPSEL s'inscrit dans le cadre du laboratoire commun CICLOP, entre Orsay Physics et le laboratoire CIMAP. L'objectif est de développer une source d'ions spécifiquement adaptée pour les besoins de la SIMS (Secondary Ion Mass Spectrometry). Cette technique d'imagerie et d'analyse de matériaux en plein essor permet d'extraire des informations sur la composition des matériaux analysés avec une haute résolution latérale. Pour repousser ses limites actuelles de détection, il devient nécessaire d'employer des faisceaux d'ions de forte brillance constitués d'espèces chimiques fortement électropositives ou électronégatives.

Pour obtenir de fortes brillances de faisceau, on emploie couramment des sources à alliages métalliques liquides (Liquid Metallic Alloy Ion Source, LMAIS), dont le mécanisme physique d'émission ionique est l'évaporation de champ à l'apex d'un cône de Taylor. Ces sources ne permettent en revanche pas la production d'ions réactifs, ce qui n'est pas optimal pour certaines applications telles que la SIMS. Nous proposons d'employer d'autres catégories de liquides pour pouvoir étendre la gamme des ions disponibles avec ce type de source à une large variété d'éléments du tableau périodique.

Un premier travail de thèse au sein de la société Orsay Physics [1] a démontré qu'il était possible, avec des mélanges de sels fondus, de produire des faisceaux d'ions d'intérêt pour la SIMS présentant des émittances et des dispersions énergétiques très intéressantes.

Cependant ces composés chimiques et leurs propriétés, notamment sous vide, sont encore relativement méconnus. Ces propriétés limitent la durée de vie de ces sources, qui doit encore être améliorée. Comprendre la dynamique d'émission ionique depuis un cône de Taylor formé par le sel fondu polarisé est donc crucial pour la réalisation d'une source fiable en vue d'une future utilisation industrielle.

Références :

[1] Rainer Sailer, Thèse de doctorat (1996)

Adresse mail : massimo.leger@tescan.com

ELECTROSTATIC MULTIPOLAR OBJECTIVE LENS FOR PLASMA FIB

Lucile BERDOU-DURRIEU^{1,2}, Jean-Baptiste MELLIER¹, Jean-Baptiste FAY¹, Olivier SALORD¹, Morgan REVEILLARD¹, Bénédicte WAROT-FONROSE², Matthieu VITEAU¹, Florent HOUELLIER²

¹ Orsay Physics, 95 avenue des Monts Auréliens, 13710 Fuveau

² CEMES-CNRS, 29 rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse

Session : SC1 : Avancées Instrumentales

Focused Ion Beam (FIB) columns are nowadays an indispensable high-precision milling tool used in different research fields such as the integrated circuits industry [1]. Thus a high current is a necessary quality to etch quicker the sample. For that, thanks to a higher sample current (up to 3 μ A), plasma sources are preferred to Gallium Liquid Metal Ion Sources (LMIS), the historical sources used for FIB columns (with a sample current up to 100nA). However, using plasma sources brings its own set of constraints. Indeed, the beam is larger and could fill the objective lens depending on the current requirements. Thus the contribution of the spherical aberration is important on the spot size.

A solution would be to increase the diameter aperture of the Einzel lens used for the objective lens. However, due to the Einzel lens's symmetry, this solution is technically complex to set up (high potentials are needed to maintain small working distances). We chose instead to investigate innovative optics based on multipole components, such as the solution proposed by Okayama-san *et al.* [2] [3].

We developed a new mechanical design for the objective lens, with a dedicated electronics and an associated software. We used homemade Python scripts to calculate the paraxial properties of our system (see Figure a)) as well as the SIMION software to visualize real ions trajectories. First spots were obtained with this new column design (see Figure b)).

This new design for an objective lens based on a quadrupoles solution for a FIB column presents some encouraging initial results, that we will present in more detail. We will discuss the spots we made and the issues we had to face with this first prototype.

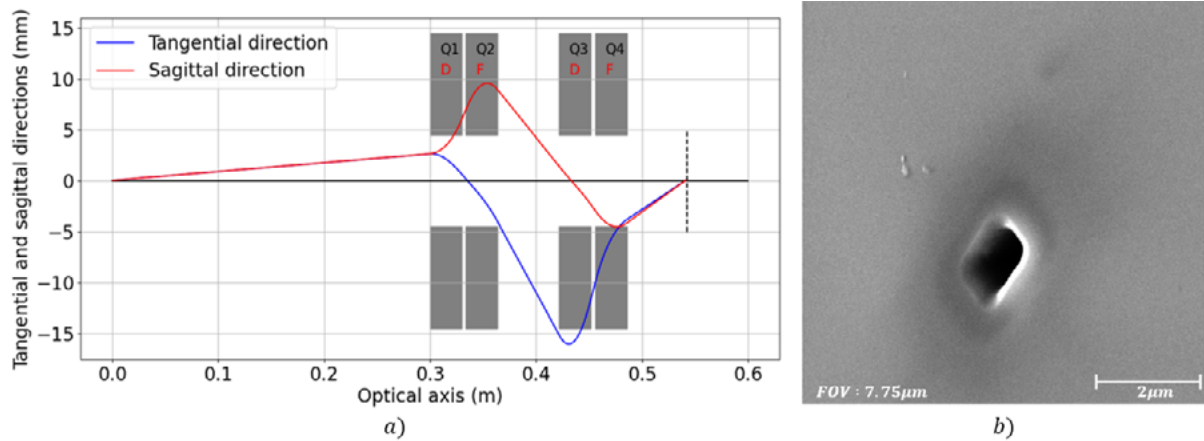


Figure 1: a) Marginal rays in sagittal and tangential directions for quadruplet quadrupoles (D: Defocus / F: Focus). b) Probe shape obtained with the new column design (30keV, 20s, D100μm, 619pA, FOV 7.75μm).

Références :

- [1] J. Orloff, ed., Handbook of charged particle optics. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2nd ed ed., 2009.
- [2] S. Okayama and H. Kawakatsu, “A new correction lens,” Journal of Physics E: Scientific Instruments, vol. 15, pp. 580–586, May 1982.
- [3] S. Okayama and Y. Sugiyama, “High-Precision Quadrupole Correction Lens for Ion-Beam Focusing: Design and Test of Multistage Self-Aligned Quadrupole Correction-Lens System,” Japanese Journal of Applied Physics, vol. 51, p. 026702, Feb. 2012.

Adresse mail : lucile.BERDOU-DURRIEU@tescan.com

DETECTIVE QUANTUM EFFICIENCY (DQE) MEASUREMENT FOR TEM CAMERA: FROM THE KEY PARAMETER TO AN AMBIGUOUS ESTIMATE

Olivier MARCELOT¹, Cécile MARCELOT²

¹ ISAE-SUPAERO, 10 avenue Edouard Belin, 31055 Toulouse

² CEMES-CNRS, 29 rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse

Session : Avancées instrumentales

Nowadays, the performances of CMOS electron cameras for transmission electron microscopes (TEM) are mainly compared by means of a unique parameter, the detective quantum efficiency (DQE). This parameter, describing the signal to noise ratio of the detector, is largely promoted by camera providers, and is given as a unique number while it is known to strongly depend on the electron dose and measurement methods. The aim of this work is to demonstrate that the most commonly used method to calculate the DQE leads to strong uncertainties.

Two DQE measurements methods are conducted on a Gatan-Rio-16 camera and show two different results. The first one, based on the McMullan method [1] over-estimates the output noise and therefore gives a lower DQE compared to the method based on the determination of all parameters.

The proposed assumption relies on the fact that defective pixels such as hot pixels are not correctly removed and induce an over-estimation of the output noise with the McMullan method, and therefore an under-estimation of the DQE. With the intention to demonstrate it, a simple model is built, based on the generation of a shot noise and other noise sources, and the McMullan method is applied on a camera with and without hot pixels (Fig. 1). Thus, the presence of hot pixels leads to a higher noise on the camera output.

The study shows that the DQE should not be used as a unique number for the detector comparison because it depends on the electron dose and on the methodology. In order to fairly compare cameras, it is therefore recommended to use other parameters clearly defined and measurable such as the camera gain for an information on the sensibility, the modulation transfer function for the spatial resolution and the dark current for the radiation hardness.

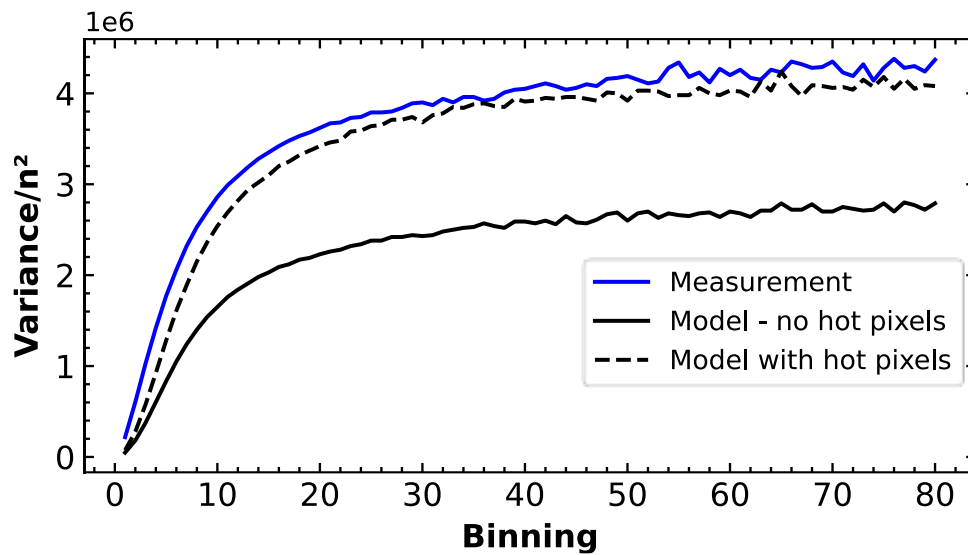


Figure 1 : Comparison of the variance per pixel according to the binning number modelled without and with hot pixels, and measurement performed on the Gatan Rio 16.

Références:

- [1] G. McMullan, S. Chen, R. Henderson, and A. Faruqi, "Detective quantum efficiency of electron area detectors in electron microscopy," *Ultramicroscopy*, vol. 109, no. 9, pp. 1126–1143, 2009

Adresse mail : o.marcelot@isae.fr

NEAR-ATOMIC SCALE ATOM PROBE TOMOGRAPHY ANALYSIS OF HYDRATED MATERIALS USING GRAPHENE COATING

Florant EXERTIER¹, Matteo DE TULLIO¹, Jonathan HOUARD¹, Jing Fu², Ross K. W. Marceau³, Angela VELLA¹

¹ Groupe de Physique des Matériaux, CNRS, University of Rouen Normandie, 76000 Rouen, France

² Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Monash University, Clayton, VIC, Australia

³ Institute for Frontier Materials, Deakin University, Geelong, VIC, Australia

Session : Instrumental Advances

There has been an increasing interest in atom probe tomography (APT) to characterise hydrated and biological materials. The major benefit of APT compared to microscopy techniques more commonly used in biology is the combination of its outstanding 3D spatial resolution (~0.2 nm) and mass-sensitivity. APT has been successfully used to characterise biological materials such as bio-minerals, dehydrated cells, and proteins, where key structural information was revealed at the atomic scale [1]. Nonetheless, APT of hydrated biological specimens remain extremely challenging due to their hydrated nature, which can cause the formation of crystalline ice at cryogenic temperatures, thus modifying the native structure of the specimen. Recently, APT of hydrated materials has been achieved through the development of new specimen preparation protocols such as cryogenic temperature workflows [2] and graphene coating [3].

Graphene coating has recently been used to enable voltage-pulsed APT analysis of insulating biological materials [4], thus avoiding the damaging thermal effects usually induced during laser-pulsed APT experiments. In this work the effects of graphene coating on the field evaporation of needle-shaped specimen were investigated. Several sample preparation parameters such as the substrate type, the number of graphene layers, the coating speed were varied and compared. Their effects on data quality metrics such as the mass resolving power and the signal-to-background ratio were studied. Next, graphene encapsulation was employed to trap liquid solutions at the apex of metallic substrate needles. Here, results from APT analyses of graphene-encapsulated pure water are firstly presented where the effects of certain experimental parameters, such as the pulsing mode (voltage, laser or THz), the sample preparation temperature, and the instrument flight path, are examined. Secondly, results obtained from graphene-encapsulated biological samples in the hydrated state such as E. Coli cell sections are presented.

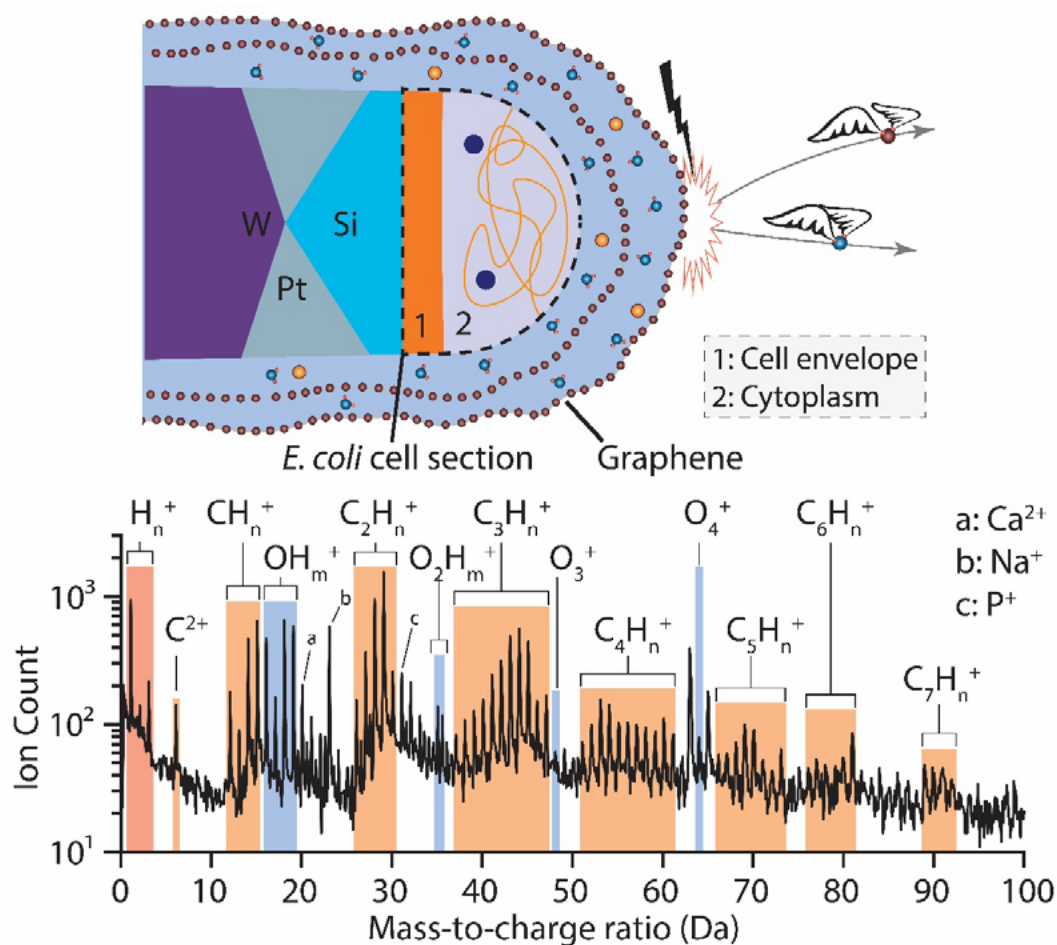


Figure 1 : Schematic of the sample and experiment setup, and mass spectrum from an *E. Coli* section analysed using APT.

Références :

- [1] K. Grandfield, *et al.*, Acta Biomater. 148 (2022) pp. 44-60
- [2] P. Stender, *et al.*, Microsc. Microanal. 28 (2022) pp. 1150-1167
- [3] S. Qiu, *et al.*, Ultramicroscopy, 216 (2020) p. 113036
- [4] V. Adineh, *et al.*, Adv. Func. Mater., 28 (2018) p. 1801439

Adresse mail : florant.exertier@univ-rouen.fr

Cutting edge solutions for time resolved in-situ microscopy

Guillaume BRUNETTI¹

¹ JEOL (Europe) SAS

Since 1949, JEOL's legacy has been one of the most remarkable innovations in the development of instruments used to advance scientific research and technology. JEOL has 75 years of expertise in the field of electron.

This presentation will be focused on the cutting-edge development based on ultrafast shutter and laser injection inside the TEM column. Recently JEOL acquire IDES company and start developing technologies for transmission electron microscopes. IDES is a leader and pioneer in the field of Ultrafast and Dynamic TEM, specializing in pulsed lasers and high-speed electrostatic beam blanking and deflection technologies. these products add time resolution to the TEM's exceptional spatial resolution enabling new applications and the exploration of the dynamics of specimens across a range of very fast time scales. Here is a non-exhaustive list of the innovation we will present: EDM Basic (Electrostatic Dose Modulator – Figure 1) / Programmable STEM with EDM Synchrony / Luminary Micro Compact Specimen Photoexcitation System.

The second part of the will be dedicated to the introduction of the new FIB developed by JEOL: the PS500i (Figure 2). This instrument has been designed to prepare various specimens of high quality for superior atomic-resolution transmission electron microscopy (TEM) observations. This instrument provides three solutions to assist TEM specimen preparation.

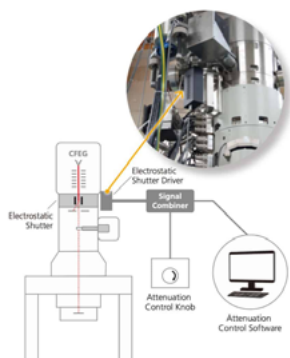


Figure 1 : EDM: Electron Dose Modulation



Figure 2 : JEOL JIB-PS500i

Adresse mail : brunetti@jeol.fr

POLARIZED SUPER RESOLUTION OPTICAL MICROSCOPY IN 3D FOR STRUCTURAL IMAGING IN BIOLOGY

Sophie BRASSELET, Charitra Sree Senthil KUMAR, Luis ALEMAN, Miguel ALONSO Cesar Augusto
VALADES CRUZ, Manos MAVRAKIS

Institut Fresnel, Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Med, Marseille, France

Session : Avancées instrumentales

Fluorescence optical microscopy is a powerful tool for revealing spatial properties in cells and biological tissues, from fixed situations to in vivo dynamics. While microscopy can guide interpretation through morphological observations at the sub-micrometric scale, optical imaging cannot directly capture the orientation and angular organization of molecules in 3D at the nanoscale. This property, which is important in many processes in biology, from immunology to development biology and mechanobiology, is today most often studied using electron microscopy, which is not compatible with live imaging.

We will show that reporting molecular orientational organization down to the nanoscale is possible using polarization resolved optical microscopy, which takes advantage of the orientation-sensitive coupling between optical excitation fields and molecular transition dipole moments. We will describe how polarized light interacts with fluorescent molecules, and mechanisms behind polarization fluorescence microscopy. We will show how controlling 2D polarization can yield important insights into the measurement of 2D-orientations in cells and tissues, and how non-paraxial fields propagation in high numerical aperture (NA) microscopy enables the retrieval of 3D orientation information, which is otherwise challenging to obtain using pure transverse optics [1]. We will describe how high NA optical polarized imaging can provide information on the way single molecules are oriented in 3D, including their orientational fluctuations. Different approaches will be described including excitation polarization control, polarization splitting [2], pupil plane splitting and point spread function (PSF) engineering [3]. We will demonstrate the capability of these approaches for single molecule orientation and localization microscopy (SMOLM) applied to actin filaments' organization in dense regions of the cell cytoskeleton, which is generally challenging to image in super resolution imaging.

Références :

- [1] S. Brasselet, *et al.* Optica **10** (11) (2023) : 1486-1510
- [2] V. Curcio, *et al.* Nat. Communications **11** (2020) : 5307
- [3] C. Rimoli *et al.* Nat. Communications **13** (2022) : 301

Adresse mail : sophie.brasselet@fresnel.fr

Exploring electron dose fractionation in TEM for material science applications using the latest generation of fast hybrid pixel detectors

Jan VAVRA¹, Emad OVEISI², Pietro ZAMBON¹, Tomasz HEMPEREK¹, Luca PIAZZA¹, Matthias MEFFERT¹,

¹ DECTRIS AG, Switzerland

² École polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL), Switzerland

Session: SC1: Avancées instrumentales

Electron dose fractionation is an established technique in the life-science TEM community, recording individual electron hits at the detector plane is maximizing the amount of useful information that can be extracted with a limited number of electrons. [1] The latest generation of direct electron counting hybrid pixel detectors achieve framerates above 100kHz [2], extend the dose fractionation principle into dose rates closer to the realm of material science TEM. Currents between 1-10 pA can be used for electrons homogenously distributed within a frame as in conventional TEM imaging. Under these conditions, interpretable TEM images can be acquired in less than a second, while retaining information about individual electron hits in individual sub-frames. This acquisition mode allows for sensitive evaluation of sample changes induced by the electron beam or external stimuli. Dose fractionation can further enhance detector DQE [3] and allow for precise drift correction.

In the present work, the detector setup and data processing are guided by a simulated detector response according to Allpix2 model. [4] Benefits and drawbacks of dose rate fractionation for real-life material science samples are explored; in both imaging and diffraction modes with particular focus on electron damage process for beam sensitive samples and dynamic (in-situ triggered) processes.

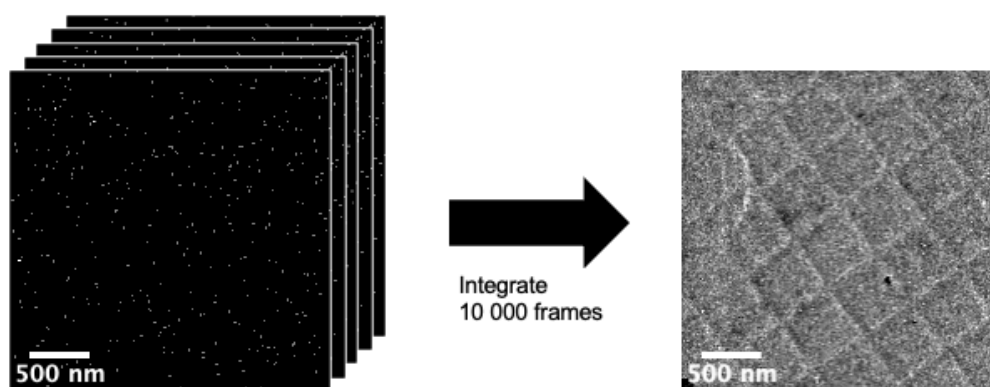


Figure 1 : Illustrates the principle of dose fractionation with a fast detector. 10 000 images resolving individual electron events been acquired over the course of 1s with DECTRIS ARINA CZT detector. Dose rate: 130 e/px/s

Références :

- [1] G. McMullan *et al*, PNAS **120** (2023), 10.1073/pnas.231290512
- [2] P. Zambon *et al*, Front. Phys. **11** (2023), 10.3389/fphy.2023.1308321
- [3] P. Zambon *et al*, Front. Phys. **11** (2023), 10.3389/fphy.2023.1123787
- [4] S. Spannagel *et al*, NIM-A, **901** (2018), 10.1016/j.nima.2018.06.020

Adresse mail : jan.vavra@dectris.com

Multiphoton imaging via spectro-temporally tailored femtosecond pulses for dynamically reconfigurable excitation and multimodal analysis of biological samples

Erwan FERRANDON¹, Jérémy SAUCOURT¹, Bruno P. CHAVES¹, Alexis BOUGAUD¹, Manal ARBATI¹,
Vincent COUDERC¹, Stéphanie DURAND-PANTEIX², Claire CARRION², Marc FABERT¹,
Benjamin WETZEL¹

¹ XLIM Research Institute, CNRS UMR 7252, Université de Limoges, 87060 Limoges, France

² CNRS, INSERM, CHU Limoges, BISCEM, UAR 2015, US 42, Univ. Limoges, F-87000, Limoges, France

Session : Avancées instrumentales / Imagerie Corrélative et Multimodale

Multiphoton microscopy has enabled significant progress in the observation of biological samples inherent to the specificities of their pulsed laser sources. The resulting nonlinearity makes it possible to reveal biological structures without fixation or labeling, such as the generation of second harmonics (SHG) on collagen fibers or the third harmonic (THG) on lipids^[1-2-3]. Multimodal imaging enables bundling different imaging modalities on a single microscope, by e.g. adding vibrational information as Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) with SHG, THG and multiphoton fluorescence via suitable excitation and detection^[4]. However, multimodal imaging performances strongly depend on the characteristic of the illumination sources, for which femtosecond lasers feature limited tunability and scalability: illuminations are often inadequate (i.e. pulse duration, spectral selectivity, bandwidth coverage), yielding limited performances and hinder acquisition's important data when observing samples where the endogenous response can be induced at specific excitation wavelength(s).

Here, we experimentally implement femtosecond pulses with reconfigurable spectro-temporal properties towards flexible multimodal microscopy, via dynamically adjustable multiphoton excitations. Specifically, dual femtosecond lasers with synchronized emissions at 1040 and 1550nm are leveraged for reconfigurable pump-probe excitations. Using spectral pulse shaping techniques, on-chip temporal processing^[5-6] prior to fiber propagation and nonlinear spectral broadening, the excitation at 1550nm can be adjusted before sample illumination. By means of spectro-temporal reconfigurability^[7] we can conjointly scan and excite several fluorescence responses and vibrational bands on biological samples in order to extract the most complete endogenous information possible^[8-9]. Spectral reshaping further enables multiplexing imaging of stained biological samples.

Probing the excitation parameters, multichannel dataset with variable spectral responses can be acquired (Fig.1A-B), enabling image processing via Principal Component Analysis (PCA)^[10] and introducing advanced machine-learning strategies to gain insight into sample characteristics (Fig.1C). This approach opens opportunities for image segmentation, analysis and unsupervised learning, especially in the field of medical analysis and the detection of pathologies.

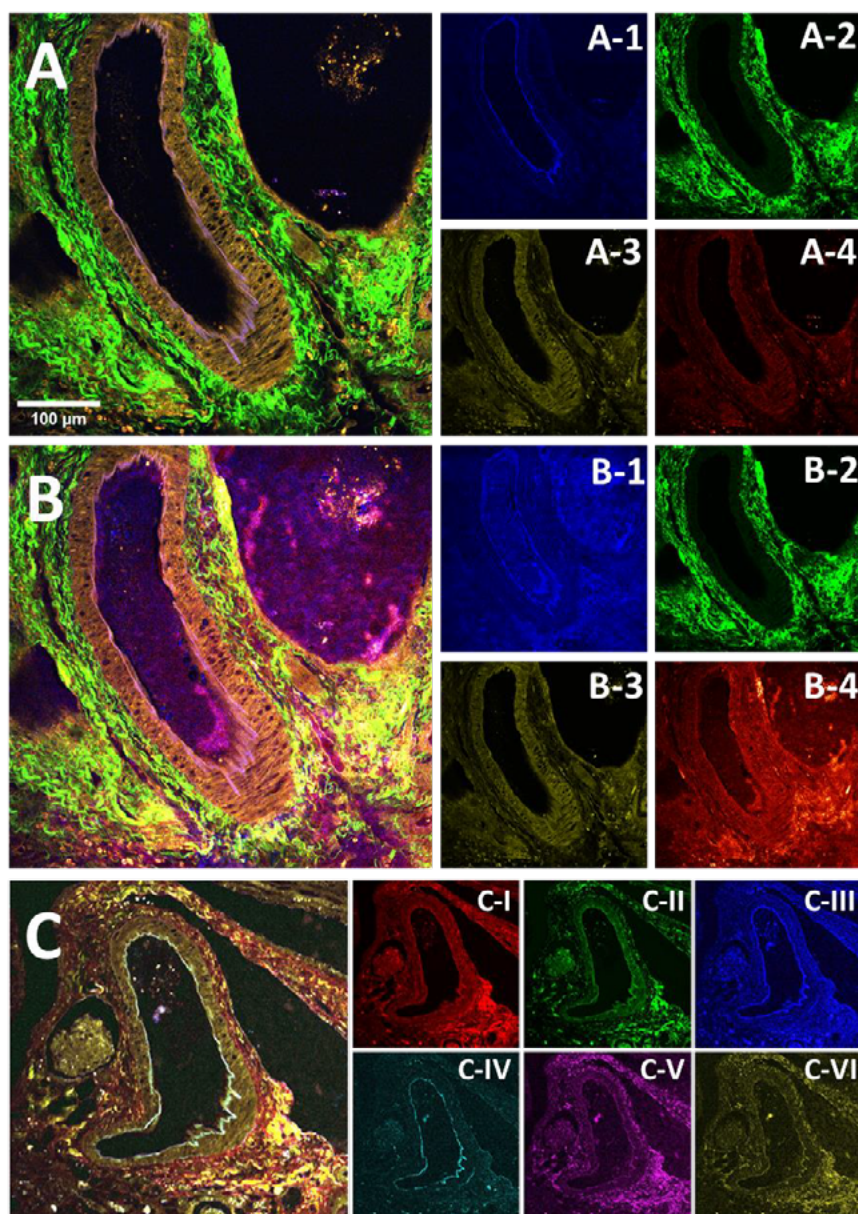


Figure 1: Acquisition of a renal blood vessel section embedded in paraffin, observed simultaneously with synchronized 1040nm and 1550nm femtosecond lasers. In this example, the 1550nm laser excitation can be dynamically adjusted in the temporal and spectral domain by a reconfigurable on-chip component, to tune the strength of multiphoton absorption around 1550nm and/or adjust the temporal overlap and resonance selection of CARS signals. (A) Image acquisition with randomly selected chip parameters; (B) Image acquisition of the same area with optimal chip parameters for enhanced peak power and temporal overlap between two laser excitation, providing complementary response on different detection channels; (1) Detection channel 410-465nm: Three-photon emission from 1040nm excitation wavelength; (2) Detection channel 495-540nm: SHG from 1040nm; (3) Detection channel 575-640nm: Two-photon emission from 1040nm; (4) Detection channel 750-800nm – Near infrared two-photon emission from hybrid excitation and CARS response (3100cm^{-1}). (C) Example of image reconstruction via PCA. Two hundred images with variable illumination conditions are analyzed to reconstruct a six channels images with synthetic colors (from C-I, the first principal component, to C-VI, the sixth). Here, the six channels used for color-coding each provide at least from 35% to 2% of the PCA content (i.e. 60 % in total information on 6 channels). In this case, one can observe 200 hundred images clearly by PCA processing.

Références :

- [1] P. Friedl, K. Wolf, UH. von Andrian, G. Harms, Biological second and third harmonic generation microscopy. (2007) Curr Protoc Cell Biol Chapter 4: Unit 4 15.
- [2] P-C. Cheng, CK. Sun, Nonlinear (harmonic generation) optical microscopy. In: Pawley JB, ed. Handbook of biological confocal microscopy. (2006) 3rd ed. New York, NY, USA: Springer Science+Business Media LLC. 703–721.
- [3] PJ. Campagnola, Second-Harmonic Generation Imaging microscopy of structural proteins in arrays in tissues. (2008) In: Masters BR, So PTC, eds. Handbook of biomedical nonlinear optical microscopy. New York, NY: Oxford University Press. pp 377–411.
- [4] JX. Cheng and X. Sunney Xie. Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy: Instrumentation, Theory, and Applications. The Journal of Physical Chemistry B 2004 108 (3), 827-840
- [5] B. Wetzel, M. Kues, P. Roztock, C. Reimer, P.L. Godin, M. Rowley, B.E. Little, S.T. Chu, E.A. Viktorov, D.J. Moss, A. Pasquazi, M. Peccianti, R. Morandotti, Customizing supercontinuum generation via on-chip adaptive temporal pulse-splitting Nature Communications, Vol. 9, pp. 4884 (2018)
- [6] S. Sciara, H. Yu, M. Chemnitz, N. Montaut, B. Crockett, B. Fischer, R. Helsten, B. Wetzel, T. A. Goebel, R. Kramer, B. Little, S. Chu, S. Nolte, Z. Wang, J. Azana, W. Munro, D. Moss, R. Morandotti, Quantum key distribution implemented with d-level time-bin entangled photons, Nature Communications, Vol. 16, pp. 171 (2025)
- [7] V. T. Hoang, Y. Boussafa, L. Sader, S. Février, V. Couderc, B. Wetzel, Optimizing supercontinuum spectro-temporal properties by leveraging machine learning towards multi-photon microscopy, Frontiers in Photonics, Vol. 3, pp. 940902 (2022)
- [8] X. Gao, X. Huang, Z. Chen, et al. Supercontinuum-tailoring multicolor imaging reveals spatiotemporal dynamics of heterogeneous tumor evolution. Nat Commun 15, 9313 (2024).
- [9] L. Wei, Z. Chen, L. Shi, et al. Super-multiplex vibrational imaging. Nature 544, 465–470 (2017).
- [10] J. T. Vanderplas, Python data science handbook: essential tools for working with data, Second edition. Sebastopol, CA: O'Reilly Media, 2022.

Adresse mail : erwan.ferrandon@unilim.fr / benjamin.wetzel@xlim.fr

This work has received funding from the European Research Council (ERC) under the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under GA 950618 (STREAMLINE). B.W. acknowledges the support of the French ANR through the LabEx Σ -LIM (ANR-10-LABX-0074), the OPTIMAL project (ANR-20-CE30-0004) and the Région Nouvelle Aquitaine (SPINAL project). This research benefited from the support of the Platinom platform, with funding the European Union and the Nouvelle Aquitaine council under the PILIM program.

Session commune : Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme

Chairmen :

- Pierre-Henri JOUINEAU (CEA Grenoble, SdM)
- Benoit LANDREIN (LRDP Lyon, SdV)

Résumé :

Ce symposium sera consacré à l'utilisation de nouveaux outils physiques permettant de faire progresser l'imagerie en biologie et d'offrir de nouvelles perspectives pour une meilleure compréhension des processus biologiques, depuis l'échelle moléculaire, jusqu'à celle de l'organe. Il montrera comment des innovations technologiques telles que la microfluidique, les pinces optiques, la microscopie à force atomique, l'opto-acoustique, ou les nanostructures plasmoniques, permettent de visualiser mais aussi de manipuler les systèmes biologiques en temps réel, et ainsi d'obtenir de nouvelles informations sur les dynamiques cellulaires, les interactions moléculaires, ou la biomécanique. Les contributions portant sur l'intégration de ces outils physiques avec des méthodes d'imagerie avancées telles que la microscopie à super-résolution, la cryo-microscopie électronique (cryo-EM) et la microscopie électronique en volume (volume EM) sont particulièrement encouragées.

Les thématiques abordées incluent, sans s'y limiter :

- Imagerie en temps réel des cellules vivantes et leur manipulation à l'aide de systèmes microfluidiques, de pinces optiques, ou d'autres outils biophysiques.
- Dynamique moléculaire et interactions, observées grâce aux outils de microscopie avancés.
- Intégration des outils physiques avec l'imagerie pour explorer la biomécanique et la physiologie moléculaire et cellulaire.

Planning : mercredi 2 juillet de 8 h 30 à 10 h 30, amphithéâtre Marthe Condat

8 h 30 – 9 h 00	Conférence invitée : Alexandra COLIN, CEA, Grenoble « <i>Dynamic scaling of actin architectures</i> »
9 h 00 – 9 h 12	Morgane PHILIPPE, IMN, Nantes « <i>Caractérisation de membranes fonctionnalisées par des enzymes et colmatée par extraits de microalgues Tetraselmis chui par cryo-FIB/SEM</i> »
9 h 12 – 9 h 24	Mickaël CASTELAIN, TBI, Toulouse « <i>La force de la lumière : les pinces optiques révèlent les secrets des pili bactériens</i> »
9 h 24 – 9 h 36	Cécile FEUILLIE, CBMN, Bordeaux « <i>Étude des interactions Tau - membranes par microscopie à force atomique</i> »
9 h 36 – 9 h 48	Patricia BERTONCINI, IMN, Nantes « <i>Réponse mécanique des cellules végétales à la présence de nanoparticules d'or</i> »
9 h 48 – 9 h 58	Laurent LEGRAS, entreprise AMETEK GATAN EDAX « <i>Direct detection and dose fractionation – An optimized EELS spectrum image acquisition pipeline</i> »
9 h 58 – 10 h 28	Conférence invitée : Thomas DEHOUX, ILM, Lyon « <i>Brillouin microscopy for high-frequency physics and diagnostics of cells and tissues</i> »

DYNAMIC SCALING OF ACTIN ARCHITECTURES

Alice Cantat, Simona Buracco, Christophe Guérin, Nevena Morel, Benoit Vianay, Laetitia Kurzawa,
Manuel Théry, Laurent Blanchoin, [Alexandra Colin](mailto:alexandra.colin@cnrs.fr)

CytoMorpho Lab, Laboratoire de Physiologie Cellulaire & Végétale, Interdisciplinary Research
Institute of Grenoble, CEA/CNRS, Grenoble, France

Session : Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme

The scaling of biological systems is a general property found throughout nature. Not only organisms, but also individual cells can adapt essential elements to their size. Cell integrity is ensured by the different architectures formed by the self-organization of the actin cytoskeleton. Consequently, actin architectures must adapt to cell size. However, due to their complexity, a complete understanding of the molecular mechanisms underlying the self-organization of actin cytoskeleton architectures is still lacking. Decoupling these parameters to assess their relative contributions in a cellular context is extremely challenging, so we use a combination of purified protein-based reconstituted systems and mammalian cells on micropatterns to decipher the scaling of actin architectures as a function of compartment/cell size. The reconstituted system consists of beads propelled by actin polymerization in microwells, enabling us to work with a limited number of components. With this system, we reconstituted several dynamic actin architectures, competing for a limited pool of proteins, over a period of several hours [1]. This work highlighted the importance of protein turnover for the coexistence of different actin architectures in the presence of a limited number of components. We are now exploring the effect of compartment size and protein density on the size and dynamics of actin architectures in this reconstituted system. We are also placing cells on micropatterns of different sizes. We began by analyzing actin turnover in cells of different volumes and found that turnover decreased as cell size increased. To understand this phenomenon, we are precisely quantifying the protein content of cells of different sizes, as well as the size of actin architectures. Overall, the combined use of a reconstituted system and a cellular system enables us to demonstrate the importance of actin turnover in scaling mechanisms, a parameter that has been neglected until now.

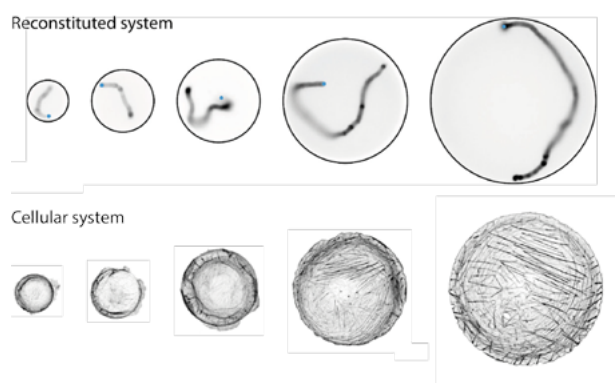


Figure 1: Top: reconstituted system. Actin comet tails grown from polystyrene beads in microwells of various sizes. Bottom: cellular system: MEF cells plated on micropatterns of various sizes and stained for F-actin with phalloidin.

Références :

[1] Guérin, *et al.* Current Biology **35-3** (2025) 500-513.e5

Adresse mail : alexandra.colin@cnrs.fr

Caractérisation de membranes fonctionnalisées par des enzymes et colmatées par extraits de microalgues *Tetraselmis chui* par cryo-FIB/SEM

Morgane PHILIPPE¹, Philippe MOREAU¹, Estelle COUALLIER², Patricia ABELLAN¹

¹ Nantes Université, CNRS, Institut de Matériaux de Nantes Jean Rouxel, IMN, F-44000 Nantes, France

² Nantes Université, CNRS, Laboratoire de Génie des Procédés, Environnement et Agroalimentaire, GEPEA, F-44600 Saint-Nazaire France

Session : Multitechniques – approches multiphysiques

Mots-clés : microscopie électronique à balayage, faisceau ionique focalisé, conditions cryogéniques, membrane, filtration

Tetraselmis chui est une microalgue dont la teneur protéinique est importante¹ et est produite à l'échelle industrielle². Cette microalgue est autorisée en alimentation humaine par l'Union Européenne comme nouvel aliment et est étudiée pour la valorisation en agro-alimentaire. Pour faciliter l'utilisation et la valorisation de ses différents composants (lipides, protéines, polysaccharides, etc.), ils doivent être séparés, par exemple, par procédés de microfiltration en fonction de leur taille (Figure 1A pour voir le rétentat et le perméat à l'issue d'une filtration). Or, au cours de la filtration, un dépôt de matière se fait à la surface ainsi qu'à l'intérieur de la membrane pouvant diminuer le flux de perméat et modifier la sélectivité de la membrane. Ce colmatage membranaire est l'un des principaux freins à l'application de ce procédé à l'échelle industrielle. Une possibilité que nous explorons actuellement est l'ajout d'enzymes dans des membranes planes (Figure 1B) par greffage via irradiation électronique³ pour limiter le colmatage et faciliter la libération de biomolécules.

La microscopie électronique à balayage couplée à un faisceau ionique focalisé (FIB/MEB) est une technique de pointe permettant de visualiser la structure en trois-dimensions des matériaux à l'échelle nanométrique sur une région de plusieurs microns (voir figures 1C et 1D). Compte-tenu de l'épaisseur du colmatage externe observé (quelques centaines de nanomètres) et des biomolécules, le FIB/MEB est un bon outil pour comprendre la structure du colmatage⁴. En conditions cryogéniques, il est possible d'observer et d'analyser le colmatage intact et de préserver la conformation des biomolécules⁴.

Dans des travaux précédents, les expériences réalisées se concentraient sur le colmatage provoqué par des mélanges modèles filtrés sur des membranes non fonctionnalisées. Nous montrerons par cryo-FIB/MEB comment les enzymes greffées agissent sur la structure du colmatage à la fois à la surface et aussi dans la membrane ouvrant la voie à l'optimisation du procédé.

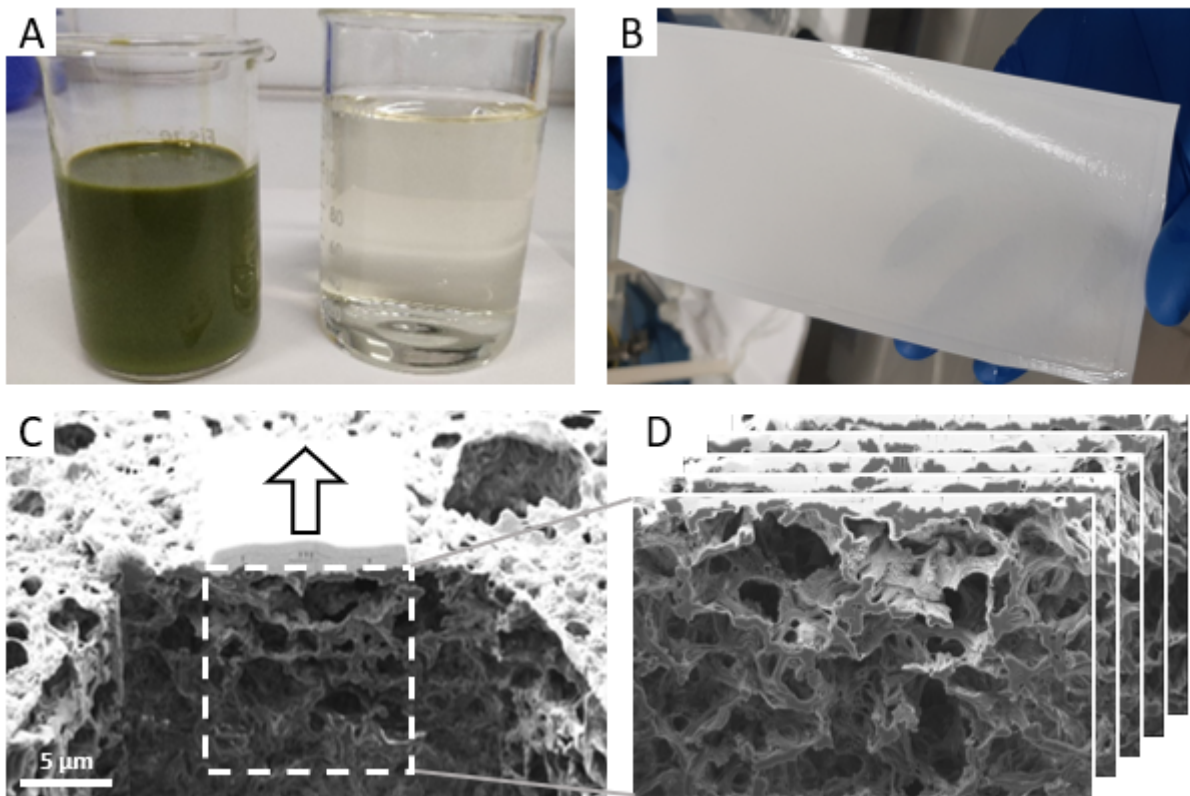


Figure 1 : **A** Filtration d'extraits de microalgues : rétentat (bécher de gauche) et du perméat de la filtration (bécher de droite). **B** Photo d'une membrane plane de microfiltration. **C** Membrane plane de microfiltration en nylon analysée par FIB/MEB (ici à température ambiante). La région d'intérêt est entourée par des pointillés blancs. La progression de l'acquisition est figurée par la flèche noire. **D** Série d'images de FIB/MEB de la région d'intérêt acquise à température ambiante.

Références :

- [1] Brown, Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **145** (1991): 79-99.
- [2] Araújo, et al. Frontiers in Marine Science **7** (2021): 626389
- [3] Schmidt, et al. Membranes **12** (2022): 599
- [4] Roberge, et al. Microscopy and Microanalysis **29**(2023): 2090-2098

Adresse mail : morgane.philippe@cnr-s-imn.fr

The Force of Light: Optical Tweezers Unveil the Secrets of Bacterial Pili

Mickaël CASTELAIN

TBI, Université de Toulouse, CNRS, INRAE, INSA, Toulouse, France

Session : Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme

Abstract

Optical tweezers have emerged as a powerful tool for investigating the nanomechanics of bacterial pili, providing precise, non-invasive force measurements at the single-molecule level. This technique employs highly focused laser beams to trap and manipulate microscopic particles, enabling force application and detection in the piconewton range with nanometer resolution. Studies on bacterial pili from *Escherichia coli* (Gram-negative), *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, and *Lactococcus lactis* (Gram-positive) have revealed distinct force responses between these bacterial groups. Gram-negative pili, such as those in *E. coli*, often exhibit high extensibility and reversible uncoiling [1], allowing them to withstand mechanical stress while maintaining adhesion. In contrast, Gram-positive pili, assembled via covalent isopeptide bonds, display remarkable rigidity and resistance to mechanical unfolding [2,3], providing structural stability in host interactions. Optical tweezers have enabled direct quantification of these differences, highlighting their functional implications in adhesion, biofilm formation, and immune evasion.

In particular, studies on *Lactococcus lactis* have expanded our understanding of biofilm architecture by revealing how pili contribute to the initial adhesion [4] and subsequent biofilm development. By applying optical tweezers to *L. lactis*, it has been possible to examine the mechanical forces involved in biofilm formation [3], shedding light on how pili help maintain structural integrity and facilitate interbacterial communication within the biofilm matrix. The combination of optical tweezers with advanced imaging and molecular biology techniques provides a powerful platform for dissecting the biomechanical principles governing bacterial surface structures. This knowledge paves the way for novel antimicrobial strategies targeting pili-mediated interactions and biofilm-related infections.

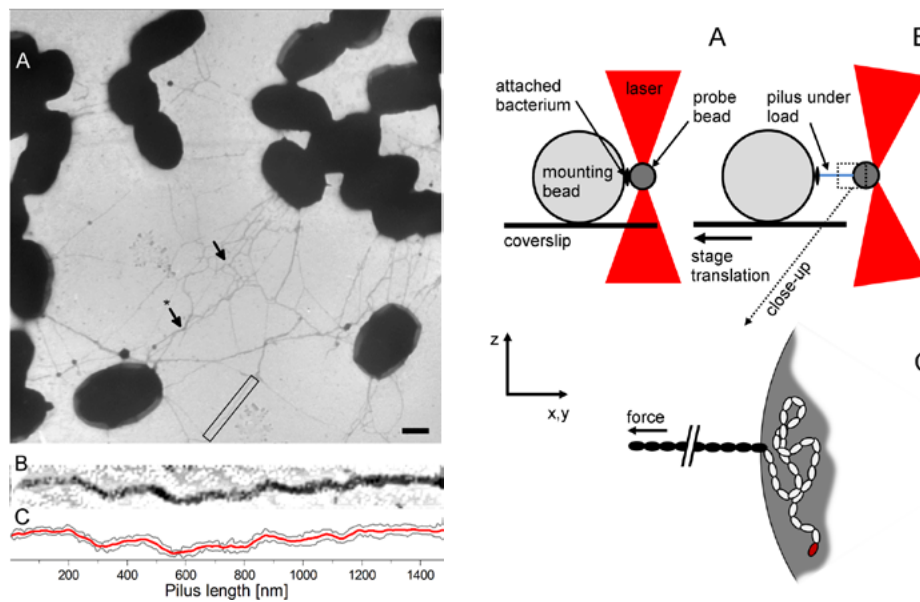


Figure : (Left) : SEM of *Lactococcus lactis* expressing pili(A) with image analysis of the contour (B). Scale bar 500 nm. (Right) : Example of configuration used to characterize the nanomechanical properties of individual pili using a microsized bead trapped by a single laser beam, as force transducer.

- [1] M. Castelain, A.E. Sjöström, E. Fallman, B.E. Uhlin, M. Andersson, Eur Biophys J 39 (2010) 1105–15.
- [2] M. Castelain, E. Koutris, M. Andersson, K. Wiklund, O. Björnham, S. Schedin, O. Axner, ChemPhysChem 10 (2009) 1533–1540.
- [3] M. Castelain, M.-P. Duviols, A. Canette, P. Schmitz, P. Loubière, M. Coccagn-Bousquet, J.-C. Piard, M. Mercier-Bonin, PLOS ONE 11 (2016) e0152053.
- [4] M. Castelain, P.G. Rouxhet, F. Pignon, A. Magnin, J.M. Piau, J. Appl. Phys. 111 (2012).

Adresse mail : mickael.castelain@insa-toulouse.fr

ATOMIC FORCE MICROSCOPY STUDY OF TAU - MEMBRANE INTERACTIONS

Vicky URY-THIERY¹, Yann FICHOUE¹, Isabel ALVES¹, Michael MOLINARI¹, Sophie LECOMTE¹, Cécile FEUILLIE¹

¹ Institute of Chemistry and Biology of Membranes and Nanoobjects (CBMN, UMR 5248), University of Bordeaux, Bordeaux – France

Tau is an amyloid protein implicated in various diseases collectively known as tauopathies, including Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. In pathological conditions, tau can disassemble from microtubules and accumulate in the cytosol of neuronal cells, leading to the formation of amyloid fibers. The precise mechanism underlying tau pathogenicity remains elusive. Previous investigations have highlighted critical aspects: (i) tau's tendency to aggregate into fibers [1] or bind [2] negatively charged lipids, (ii) its ability to form structured species upon contact with anionic membranes [3], and (iii) the potential disruption of the membrane upon tau binding [4].

In this study, we used real time Atomic Force Microscopy (AFM) imaging and polarized ATR-FTIR (Fourier-transform infrared in attenuated total reflection) to characterize tau-membrane interactions and the mechanisms involved. We focused on the disease-associated P301L mutation of the 2N4R isoform of Tau and its effects on phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylserine (PS) lipid bilayers, relevant lipids of the inner neuronal membrane. Our findings reveal that the Tau protein can induce damage to both PC and PS lipid bilayers, albeit through seemingly distinct mechanisms. Tau exhibits a robust interaction with anionic lipid membranes, resulting in bilayer disruption followed by the accumulation of protein in various aggregates, from flat "carpet"-like patches to fibrillary structures reminiscent of amyloid fibers [5]. In contrast, Tau's interaction with zwitterionic bilayers is influenced by their fluidity. These results deepen our understanding of Tau's interactions with lipids, shedding light on the potential mechanisms underlying its membrane-related toxicity.

This project was funded by Agence Nationale de la Recherche (ANR-20-CE29-0004).

Références

- [1] Chirita, *et al.*, 2003, *Journal of Biological Chemistry* 278 - n° 28, 25644-25650
- [2] Georgieva, *et al.*, 2014, *Biophys J* 107 - n° 6, 1441-1452
- [3] El Mammeri, *et al.*, 2023, *Commun Biol* 6 - n° 1, 467
- [4] Azouz, *et al.*, 2021, *Nanoscale Adv.* 3 - n° 14, 4244-4253
- [5] Ury-Thiery, *et al.*, 2024, *Nanoscale* 16, 17141

Session : Session SC2 : Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme

Ou

SC4 : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Adresse mail : cecile.feuille@u-bordeaux.fr

RÉPONSE MÉCANIQUE DES CELLULES VÉGÉTALES À LA PRÉSENCE DE NANOPARTICULES D'OR

T. LE NEEL^{1,*}, M. BAYLE¹, P. BERTONCINI¹

¹ Nantes Université, CNRS, Institut des Matériaux de Nantes Jean Rouxel, IMN, F-44000 Nantes, France

* En poste dans un entreprise

Session : SC2 (Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme).

Les nanomatériaux et nanoparticules sont utilisés dans de nombreux secteurs industriels et dans l'agriculture, contribuant à leur dissémination dans l'environnement. Les plantes se trouvent ainsi directement en contact avec ces matériaux, de manière volontaire puisqu'ils peuvent entrer dans la composition de fertilisants et de pesticides, ou de manière fortuite, par l'intermédiaire des boues d'épandage par exemple. Les études montrent que les nanoparticules (NP) peuvent favoriser ou, au contraire, diminuer la croissance et le développement des plantes, et être toxiques [1]. Toutefois, les mécanismes par lesquels les NP interagissent avec les végétaux sont encore méconnus.

Dans ce travail, nous avons caractérisé les propriétés mécaniques des différents types de cellules présentes à la surface des feuilles de la plante aquatique *Egeria Densa*, en présence ou non de NP d'or (pour des concentrations massiques inférieures à 89 µg/L). Pour cela, nous avons effectué des mesures par nano-indentation par microscopie à force atomique sur cellule unique, en milieu aqueux et en temps réel. Cette technique permet de déterminer le module élastique effectif E^* de la paroi perpendiculairement à l'indentation et de donner des informations sur la pression hydrostatique à l'intérieur de la cellule [2]. Nous avons distingué les idioblastes des cellules épithéliales par leurs propriétés de fluorescence.

Pour les cellules épithéliales, nous avons observé, une diminution du module élastique effectif E^* et de la pression de turgescence, dépendant de la concentration massique en NP et du temps d'exposition. Nous avons également montré qu'en renouvelant entièrement l'eau du milieu (sans NP), le module effectif E^* de la paroi, et la pression de turgescence ré-augmentent et reviennent à leurs valeurs initiales au bout de 4 heures. Des expériences similaires sur les idioblastes présents à la surface des feuilles ont également été réalisées.

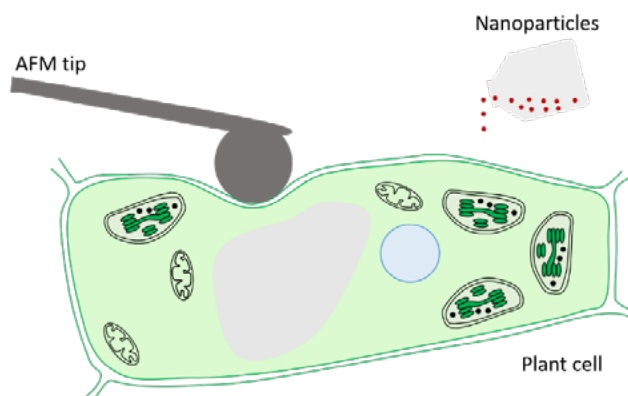


Figure 1 : Schéma illustrant le principe de nano-indentation par AFM

Références :

[1] X. Wang, H. Xie, P. Wang and H. Yin, Nanoparticles in Plants: Uptake, Transport and Physiological Activity in Leaf and Root, *Materials* **16** (2023): 3097

[2] L. Beuzamy, J. Derr and A. Boudaoud, Quantifying Hydrostatic Pressure in Plant Cells by Using Indentation with an Atomic Force Microscopy, *Biophys. J.* **108** (2015): 2448–2456

Adresse mail : Patricia.Bertoncini@cnrs-imn.fr

Direct detection and dose fractionation – An optimized EELS spectrum image acquisition pipeline

Ray Twestern¹, Liam Spillane¹, Laurent Legras²

¹ AMETEK GATAN EDAX Pleasanton (USA)

² AMETEK GATAN EDAX Elancourt (France)

Multi-frame spectrum image (SI) summation has been proposed and successfully demonstrated as a means of improving both STEM spectrum image resolution and signal-to-noise ratio (SNR) [1]. Scintillator-based CMOS and CCD detectors are inadequate for multi-frame EELS SI at low-dose and high speeds due to the detrimental effects of read noise. However, single-electron direct detection, counting cameras are capable of nearly noise-free readout, making them ideal for multi-frame EELS SI acquisition at low dose rate as well as low total dose [2].

In this talk, we will present the capabilities of Gatan's electron counting cameras, and eaSI™ technology, which together enable SI data capture at rates of up to 9,000 pixels/s. The near-zero read noise afforded by these camera technologies enables ultra-high spectral rates to be utilized effectively, making the multi-frame acquisition approach advantageous for nearly all experimental workflows including elemental mapping in frozen cell sections (STEM Cryo-EELS), ELNES mapping of transition metal K-edges (ultra high energy-loss EELS), as well as atomic resolution EELS mapping of beam sensitive oxides at low temperature (HR-STEM, Cryo-EELS). Large field of view single SI passes can be acquired in just a few seconds which gives the benefits of: reduced dose rate data capture, and high-frequency drift correction. Compromised data can be discarded post acquisition, allowing "dose tuning" to be performed after the fact – ideal when you don't know the critical damage dose ahead of time for total-dose sensitive samples.

[1] Jones, L., et al., *Microscopy* 67. Suppl 1 (2018):i98-i113

[2] Goodge, B. H. et al., <https://doi.org/10.48550/arXiv.2007.09747> Références : exemple de format ci-dessous

[1] Meister, *et al.* *Nano Letters* **9.6** (2009): 2501-2507

Adresse mail : laurent.legras@ametek.com

BRILLOUIN MICROSCOPY FOR HIGH-FREQUENCY PHYSICS AND DIAGNOSTICS OF CELLS AND TISSUES

Thomas DEHOUX¹

¹ Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, Institut Lumière Matière, UMR5306, F-69100 Villeurbanne, France

Session : Outils physiques au service de l'imagerie biologique : de la molécule à l'organisme

Brillouin light scattering is well known technique in solid-state physics for the characterisation of the acoustic properties of samples at GHz frequencies. At the beginning of the 2000s, it evolved into an imaging technique by coupling standard interferometers with confocal microscopy. Rapidly after that, the introduction of virtually imaged phase array interferometers allowed much faster acquisition times, opening a new range of applications for cell biology. In particular, the advent of mechanobiology prompted the need for techniques to characterize the mechanical properties (stiffness, viscosity) of cells and tissues at a subcell scale. BLS offered the promise to fill part of that gap, and many applications were developed in small animals, tumors, cells or plant tissues. I will review this chronological evolution of the field, and give some examples of the current applications.

Adresse mail : thomas.dehoux@univ-lyon1.fr

Session commune : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Chairmen :

- Arnaud DEMORTIERE (LRCS Amiens, SdM)
- Slavica JONIC (IMMPC Paris, SdV)

Résumé :

Les techniques avancées d'analyse en science des données ont été fortement impactées par l'émergence de nouveaux algorithmes d'IA en Machine Learning, telles que RandomForest, XGBoost ou NMF, et en Deep Learning, telles que les CNN, GAN, VAE et Diffusion. Ces algorithmes révolutionnent le traitement des images et des spectres de microscopie en permettant une analyse massive des données, plus rapide, précise et exhaustive, tout en révélant des caractéristiques cachées. Grâce à des algorithmes sophistiqués, ces techniques peuvent automatiser la détection et la classification de structures complexes, faciliter la segmentation d'objets d'intérêt et même prédire l'évolution de caractéristiques au cours du temps à partir des données recueillies. Ces avancées accélèrent le développement des méthodes intégratives en ouvrant des possibilités nouvelles dans le traitement corrélatif (avec mécanisme d'attention croisée) des données multimodales et en permettant une convergence entre les données simulées et expérimentales. Ces approches de science des données offrent de nouvelles perspectives pour la compréhension des phénomènes observés à l'échelle microscopique.

Ces méthodes encodent des informations complexes en utilisant de grandes quantités de données d'entraînement et sont souvent limitées en termes de reproductibilité (initialisation aléatoire, instabilité), généralisation (transfert sur des nouvelles données), interprétation et contrôle des résultats (hallucinations difficiles à détecter). Ainsi, pour certains problèmes, des méthodes classiques (non-IA) sont plus appropriées et moins coûteuses.

L'idée de ce symposium est de présenter ces nouvelles approches d'IA et les confronter avec d'autres méthodes récentes (non-IA), et montrer leurs applications pour le traitement des données issues de la microscopie.

Planning : jeudi 3 juillet de 8 h 30 à 10 h 30, amphithéâtre Marthe Condat

8 h 30 – 8 h 55	Conférence invitée : Charles KERVRANN, INRIA, Rennes <i>« Apprentissage automatique pour l'identification des macromolécules dans des cryo-tomogrammes cellulaires 3D »</i>
8 h 55 – 9 h 20	Conférence invitée : Julio Cesar DA SILVA, Institut Néel, Grenoble <i>« Deep learning and innovative approaches to accelerate ptychographic X-ray computed tomography with spectral capabilities »</i>
9 h 20 – 9 h 30	Éric VAN CAPPELLEN, Thermo Fisher Scientific <i>« Iliad, la nouvelle plateforme (S)TEM : Expansion et simplification des pertes d'énergie »</i>
9 h 30 – 9 h 42	Adrien MONCOMBLE, LMPQ, Paris <i>« Algorithme de super résolution pour la microscopie électronique en transmission à balayage basée sur l'apprentissage profond »</i>
9 h 42 – 9 h 54	Claude ALFONSO, IM2NP, Marseille <i>« Comparaison des méthodes d'analyse d'images traditionnelle et par apprentissage profond pour l'étude quantitative de populations de nanocristaux imagés par SEM à basse tension »</i>

- 9 h 54 – 10 h 06** **Abdelali KHELFA, LPS, Orsay**
« *Classification par apprentissage automatique de données EELS à faible perte monochromatisées pour la cartographie électronique à l'échelle nanométrique* »
- 10 h 06 – 10 h 18** **Thomas GRENÈCHE, CEA, Cadarache**
« *Caractérisation des bulles de gaz de fission dans UO₂ par MET : acquisition et analyse d'images par seuillage et IA* »
- 10 h 18 – 10 h 23** **Fayçal ADRAR, LRCS, Amiens**
« *Analyse structurale des matériaux cathodiques LNMO avec la technique 4D-STEM ACOM et de science des données* »
- 10 h 23 – 10 h 28** **Pierre BOURDONLCE, Institut Cochin, Paris**
« *OpenCID : gestion, analyse, traitement, partage et édition de données de recherche* »

APPRENTISSAGE AUTOMATIQUE POUR L'IDENTIFICATION DES MACROMOLÉCULES DANS DES CRYO-TOMOGRAMMES CELLULAIRES 3D

Charles KERVRANN^{1,2}

¹ Inria Center at Rennes University, SAIRPICO Team, Campus de Beaulieu, Rennes

² Chemical Biology of Cancer, U1339 INSERM / UMR3666 CNRS, Institut Curie, PSL Research, Paris

Session : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

La tomographie cryo-électronique (cryo-ET) permet la visualisation tridimensionnelle des biomolécules et des composants cellulaires dans leur état presque natif. La détection des macromolécules (ou « sélection des particules ») est une étape cruciale de l'analyse des données de cryo-ET, traditionnellement réalisée par "template matching". Ces dernières années, des approches de sélection de particules basées sur l'apprentissage profond, telles que DeepFinder [1], ont été développées avec succès pour localiser avec précision et en une seule fois plusieurs types et/ou états de macromolécules de tailles variables dans des cryo-tomogrammes cellulaires 3D. Sur des données d'images synthétiques (challenges SHREC [2]) ainsi que sur des ensembles de données réelles difficiles (e.g., nucléosomes / Figure 1), ces méthodes se sont révélées très rapides et capables de produire des résultats de détection supérieurs inédits, en particulier pour localiser les petites macromolécules. Néanmoins, la dépendance à l'égard des ensembles de données initiales d'annotation reste une limitation importante. Pour surmonter cette difficulté et traiter à la fois les distributions d'orientation préférées des macromolécules et les effets du « Missing Wedge » [4, 5] en cryo-ET, une technique appelée "Template Learning" [3] combine la précision de l'identification de particules par apprentissage profond avec la commodité de l'apprentissage du modèle par une approche de randomisation de domaine adaptée. Cette approche automatise la simulation des ensembles de données d'entraînement, en intégrant des considérations sur l'encombrement moléculaire, les variabilités structurelles et les variations d'acquisition de données. Cela permet de réduire la dépendance de l'apprentissage profond supervisé à l'égard des ensembles de données expérimentales annotées. Les modèles entraînés sur des ensembles de données simulés produisent des résultats similaires voire surpassent ceux entraînés exclusivement sur des ensembles de données expérimentales, offrant une meilleure précision et isotropie orientationnelle. Nous concluons cet exposé par quelques perspectives [5, 6] basées sur ces résultats prometteurs en apprentissage automatique.

(en collaboration avec E. Moebel, A. Masson et M. Messaoudi (Inria Rennes), D. Larivière et E. Fourmentin (Fondation Fourmentin-Guilbert), W. Baumeister, B. Engel, J. Ortiz, A. Martinez-Shanchez (Max-Planck Munich), M. Eltsov, F. Fatmaoui et M. Harastani, (IGBMC Strasbourg), H. Lachuer (Institut Jacques Monod), A.S. Macé (Institut Curie) et K. Schauer (Institut Gustave Roussy))

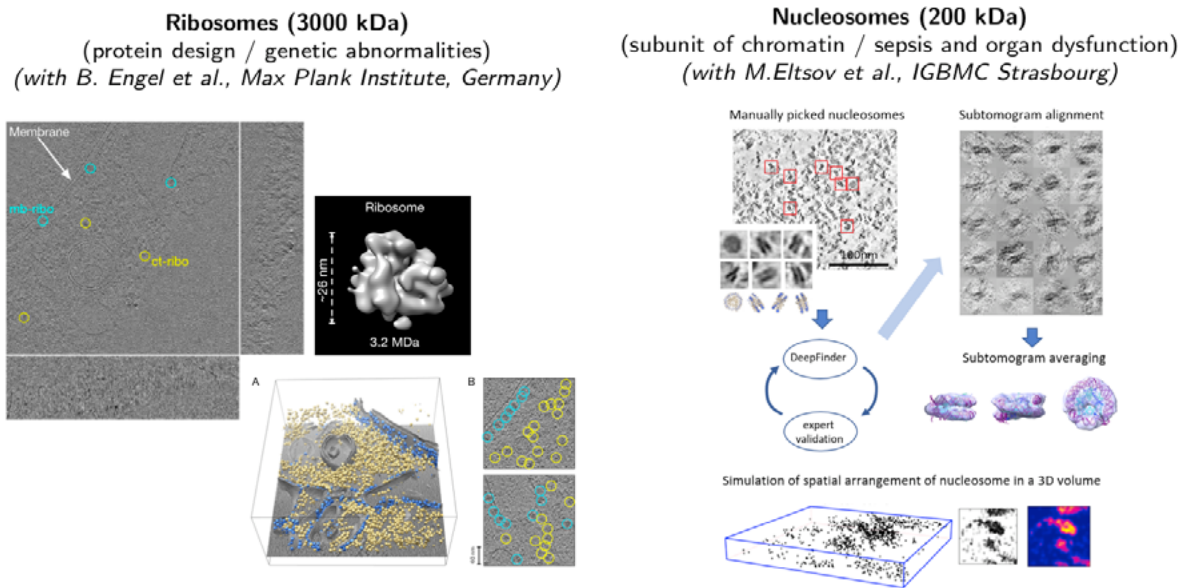


Figure 1 : Deep-Finder [1] : une approche supervisée pour analyser des cryo-tomogrammes cellulaires.

Références :

- [1] E. Moebel, et al. Nature Methods **18** (2021): 1386-1394
- [2] I. Gubins, et al. Computers & Graphics, 91 (2020): 279-289
- [3] M. Harastani, et al. BioRxiv-2024.03.20.585905 (2024)
- [4] A. Guesdon, et al. J. Structural Biology, **181.2** (2013):169–178
- [4] E. Moebel, C. Kervrann, J. Structural Biology X, **4** (2020): 100013
- [5] H. Lachuer, et al. BioRxiv-2024.09.09.611975, (2024)
- [6] E. Moebel, C. Kervrann, Computer Methods and Programs in Medicine **225** (2022): 107017

Adresse mail : charles.kervrann@inria.fr

DEEP LEARNING AND INNOVATIVE APPROACHES TO ACCELERATE PTYCHOGRAPHIC X-RAY COMPUTED TOMOGRAPHY WITH SPECTRAL CAPABILITIES

Julio Cesar DA SILVA^{1,2}, Anico KULOW^{1,2}, Redhouane BOUDJEHEM^{1,2}, Javier PEREZ³, Jean-Louis
HAZEMANN^{1,2}

¹ Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP, Insitut NÉEL, 38000 Grenoble, France

² French CRG beamline FAMEPIX, The European Synchrotron (ESRF), 38000 Grenoble, France

³ Synchrotron SOLEIL, 91190 Saint-Aubin, France

Session : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Ptychographic X-ray computed tomography (PXCT) is the highest-resolution 3D X-ray imaging technique for material characterization. There are two variants based on the optical regime: far-field and near-field. PXCT enhances the capabilities of material characterization, especially when combined with spectroscopic techniques. Through data processing, PXCT effectively analyzes mass density, localizes chemical elements, inspects microstructures, and maps the magnetic fields of samples. However, achieving time-resolved analysis or hyperspectral nanoimaging necessitates improvements in data acquisition speed despite advancements in this field. To address this, two approaches can be utilized: enhancing instrumentation and experimental geometry or adjusting data processing strategies to reduce data usage while maintaining high resolution and quantitative contrast.

Instruments deployed at facilities such as cSAXS in Switzerland and SWING at the SOLEIL Synchrotron in France have adopted the first approach. These instruments are designed for high-speed acquisition and larger beam sizes, achieved by increasing the sample-to-detector distances. Since an optimal data analysis strategy is closely linked to the instrumental development of the technique, their design meets the data sampling requirements dictated by the processing algorithms. The new French beamline, FAME-PIX, is currently under construction at the ESRF, focusing on PXCT and spectro-ptycho while employing advanced scanning technology for rapid sample analysis. We plan to demonstrate its applications using data from the SWING beamlines at SOLEIL.

The second strategy for enhancing PXCT acquisition focuses on altering the data analysis process. We will show the application of Deep Learning networks such as MSDNET and TomoGAN, which can significantly lower the data requirements by four times or more without compromising image quality. Our approach features a comprehensive refinement process to rectify artifacts generated by these networks. Moreover, we have contributed to the scientific community by creating an AI hub for computed tomography, AIAX, at the University of Grenoble Alpes in partnership with local laboratories.

Références :

- [1] M. Stockmar, et al., *Sci. Rep.* 3, 1927 (2013).
- [2] M. Stockmar, et al., *Opt Express* 23, 12720 (2015).
- [3] J. Gussone, et al., *Appl. Mat.Today* 20, 100767 (2020).
- [4] J.C. da Silva, et al. *Optica* 4, 492-495 (2017).

Adresse mail : julio-cesar.da-silva@neel.cnrs.fr

**Iliad, la nouvelle plateforme (S)TEM
Expansion et simplification des pertes d'énergie**

Eric Van Cappellen

Thermo Fisher Scientific, Hillsboro OR 97124, États-Unis

Session : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

L'EELS est une technique extraordinairement puissante et, en plus des applications traditionnelles telles que la composition élémentaire, analyse et imagerie de phonons et plasmons, les états de valence et l'épaisseur de l'échantillon, l'EELS peut également, théoriquement, fournir des informations sur la symétrie du site, les longueurs de liaison spécifiques aux éléments, la densité locale des états, la coordination, etc. La raison pour laquelle jusqu'à présent, l'EELS n'a pas vraiment été utilisé de cette manière est que ces applications reposent sur l'ELNES (Energy Loss Near Edge Structure) et l'EXELFS (Extended Energy Loss Fine Structure) des ionisations des couches internes qui, pour la plupart des éléments, sont à des pertes d'énergie élevées. L'EELS conventionnel ne fonctionne pas bien aux pertes d'énergie élevées pour 2 raisons : les pertes d'énergie élevées sont mal transférées par le spectromètre et les faibles intensités qui parvient au détecteur EELS sont défocalisées et sont décalées en énergie. La résolution de ces deux problèmes fondamentaux nécessite une intégration colonne-spectromètre de niveau profond et c'est exactement ce qui a été réalisé avec projet Iliad.

Grâce à cette intégration au niveau profond, Iliad fournit ce que nous appelons XEELSTM (Extreme High Energy Loss Spectroscopy). Les données XEELSTM sont similaires à celles de XAS (X-ray Absorption Spectroscopy), les principales différences étant que XAS nécessite un synchrotron et que sa résolution spatiale n'est que d'environ 1 µm. L'intégration de la colonne et du spectromètre permet également une automatisation inégalée, simplifiant considérablement l'acquisition et l'analyse des données EELS.

Adresse mail : eric.van.cappellen@thermofisher.com

ALGORITHME DE SUPER RESOLUTION POUR LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE EN TRANSMISSION A BALAYAGE BASEE SUR L'APPRENTISSAGE PROFOND

Adrien MONCOMBLE¹, Hadrien MAHDAD¹, Damien ALLOYEAU¹, Nathaly ORTIZ-PEÑA¹,
Guillaume WANG¹, Romain MOREAU², Hakim AMARA^{1,2}, Riccardo GATTI², Christian RICOLLEAU¹,
Jaysen NELAYAH¹

¹ Université Paris Cité, CNRS, Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques, 75013 Paris, France

² Université Paris-Saclay, ONERA, CNRS, Laboratoire d'Etude des Microstructures, 92020 Chatillon, France

Session Commune : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Ces dernières années, on observe une forte croissance de l'intérêt pour les techniques d'acquisition de signaux haute résolution en utilisant la dose d'électron la plus faible en microscopie électronique en transmission (MET). Dans ce contexte, différentes approches sont explorées. On peut citer la modulation de la dose permettant de minimiser l'irradiation des nanomatériaux par le faisceau d'électrons, ainsi que les stratégies de sous-échantillonnage spatial de la région d'intérêt en MET à balayage (STEM). En particulier, le compressed sensing est l'une des techniques les plus avancées dans ce domaine [1], mais il requiert l'ajout d'un module externe de pilotage du contrôle du balayage.

Dans cette contribution, nous proposons un algorithme de super résolution pour la MET sur la base de réseaux de neurones. Nous présenterons l'approche suivie et les différentes architectures de réseaux développés et optimisés pour la reconstruction d'images STEM-HAADF résolues atomiquement à partir d'une image basse résolution sous-échantillonnée, sans accessoire supplémentaire sur le microscope [Fig. 1]. Tout cela est rendu possible grâce aux simulations d'image STEM avec différentes résolutions comme base d'entraînement. En optimisant ces simulations de manière à reproduire le plus fidèlement possible les données expérimentales, nous avons été capable de reconstruire des images STEM-HAADF hautement résolues à partir d'images à plus basse résolution. Cette avancée ouvre la voie à l'étude des nanomatériaux à l'échelle atomique avec une dose d'électron réduite, sans dégradation du rapport signal sur bruit. Ces avancées seront illustrées sur des systèmes modèles de référence, à savoir des nanoparticules d'or et du graphène.

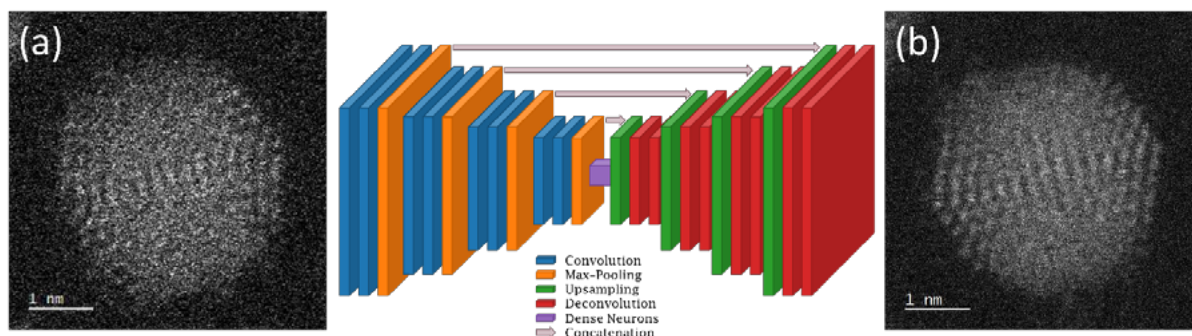


Figure 1 : Schéma d'un réseau de neurones convolutifs pour la super-résolution. (a) Image expérimentale d'une nanoparticule icosaédrale d'or sous-échantillonnée. (b) Image expérimentale à

l'échelle atomique de la même particule que (a) avec un échantillonnage standard. Notre objectif avec ces réseaux est de transformer l'image initiale (a) en l'image (b) avec la super-résolution.

Références :

[1] Browning, N. D. et al., Appl. Phys. Lett., 122 (2023).

Adresse mail : adrien.moncomble@u-paris.fr

QUANTITATIVE ANALYSIS OF NANOPARTICLE POPULATIONS USING LOW-kV SEM: TRADITIONAL vs. DEEP LEARNING APPROACHES

C. Alfonso^{1,*}, K. Gerayeli⁴, S. Paciornik³, A. P. C. Campos², C. Dominici², L. Roussel¹, L. Patout¹, A. Charai¹

¹ Aix-Marseille Université. CNRS. Université de Toulon. IM2NP UMR 7334. Campus Scientifique de Saint Jérôme - Case 142 - Avenue Escadrille Normandie Niémen. F-13397 MARSEILLE Cedex 20

² Aix-Marseille Université. CNRS. Centrale Med. FSCM. CP2M. Campus Scientifique de Saint Jérôme - Case 221 - Avenue Escadrille Normandie Niémen. F-13397 MARSEILLE Cedex 20

³ Departamento de Engenharia Química e de Materiais, PUC-Rio, 22451-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

⁴ Aix-Marseille Université. Programme CEDRE, Campus Scientifique de Saint Jérôme, POLYTECH GII, Avenue Escadrille Normandie Niémen, F-13397 MARSEILLE Cedex 20

Session : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Accurate quantitative analysis of Au nanometric-sized nanoparticle populations on (111) Si with sub-nanometer precision has been performed using low-kV Scanning Electron Microscopy (SEM) [1]. This technique offers several advantages, including non-destructive sample preparation, a large field of view for robust statistical analysis, and high spatial resolution. However, such analyses require extensive image processing and segmentation, often dealing with noisy images with varying contrast and illumination conditions. In this context, integrating artificial intelligence-based methodologies into image analysis presents a promising avenue for enhancing accuracy and efficiency [2].

This work compares traditional image processing techniques with Deep Learning (DL)-based segmentation and evaluates their impact on quantitative measurements. The conventional approach was implemented using an automatic custom-written script in FIJI [3], an open-source distribution of ImageJ [4]. The workflow included non-local means (NLM) filtering, thresholding via the Niblack method, and subsequent post-processing steps. Conversely, the DL-based approach involved a multi-step pipeline : Noise2Void denoising [5], Wiener filtering, gamma correction, and contrast adjustments as preprocessing steps, followed by segmentation using the Segment Anything Model (SAM) [6].

The results from both methodologies are quantitatively assessed in terms of statistical robustness, mean particle size, standard deviation, minimum detectable size, and distribution shape.

We acknowledge the CEDRE (CEntre de formation et de soutien aux Données de la REcherche) Program 2 of the France 2030 IDeAL project for supporting our team in developing this solution.

References :

- [1] C. Alfonso et al. *Microsc. Microanal.* 21 (3), 1261 (2015) doi:10.1017/S1431927615007096
- [2] S. R. Spurgeon et al. *Nat Mater.* 20(3), 274–279 (2021) doi:10.1038/s41563-020-00833-z
- [3] J. Schindelin et al. *Nature Methods* 9, 676–682 (2012) doi:10.1038/nmeth.2019
- [4] C. A. Schneider et al. *Nature Methods* 9, 671–675 (2012) doi:10.1038/nmeth.2089
- [5] A. Krull et al. arXiv preprint arXiv:1811.10980, (2018) doi:10.48550/arXiv.1811.10980
- [6] A. Kirillov et al. arXiv preprint arXiv:2304.02643, (2023) doi:10.48550/arXiv.2304.02643

* email : claudio.alfonso@univ-amu.fr

MACHINE LEARNING-DRIVEN CLUSTERING OF MONOCHROMATIZED LOW-LOSS EELS DATA FOR NANOSCALE ELECTRONIC PHASE MAPPING

Abdelali KHELFA¹, Yves MAIA AUAD¹, Florian CASTIONI¹, Jean-Denis BLAZIT¹, Luiz H. G. TIZEI¹, Xiaoyan LI¹, Odile STEPHAN¹ and Laura BOCHER¹

¹ Université Paris-Saclay, CNRS, Laboratoire de Physique des Solides, 91405, Orsay, France

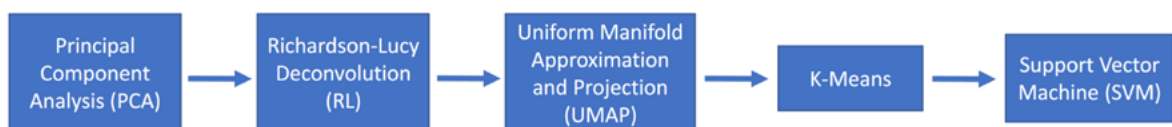
Session : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Direct electron detection for electron energy-loss spectroscopy (EELS) provides new insights into electronic phase transitions at the nanoscale, offering purely Poissonian noise, enhanced sensitivity, and significantly reduced total acquisition time of extensive hyperspectral data. Therefore, it also presents challenges, such as increased data volume (hundreds of terabytes) and potential human bias in spectral identification. Here, we introduce a robust data processing and analysis workflow (Figure 1.a) for monochromated spectroscopic data collected from $(V_{1-x}Cr_x)_2O_3$ [1] across its metal-insulator transition. This material inherently poses challenges to distinguish the three electronic phases (Figure 1.b-right): 1 eV peak at 10^{-4} /zero-loss peak (ZLP) intensity, spectral shift between 3.8 and 4.2 eV as a phase-specific fingerprint, and the deeper intensity drop below 0.7 eV for one insulating phase.

We applied Principal Component Analysis (PCA) for general denoising and Richardson-Lucy Deconvolution (RL) to partially deconvolve the ZLP tail, crucial for identifying subtle features at 1 eV and below (Figure 1.b-right). While PCA and RL are well-established in EELS, automating electronic phase mapping requires further steps. Using Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) for dimensionality reduction [2] followed by K-means clustering [3], we separated distinct spectral signatures corresponding to three phases. UMAP projects high-dimensional EELS data into a 2D map (Figure 1.b-left), preserving local spectral similarities, where closely positioned points represent spectra with similar features. K-means clustering groups these points into distinct clusters, enabling the extraction of meaningful spectral signatures tied to electronic features. Cluster definitions are validated using Support Vector Machines (requiring 95% validation accuracy), though interpretation remains subject to human supervision.

This data-driven approach was successfully applied to numerous hyperspectral datasets acquired during variable temperature EELS experiments, demonstrating its robustness. Our method enables automated classification of nanoscale phase domains, revealing spatially correlated electronic changes with high sampling and opening new pathways for automated EELS data processing.

a.



b.

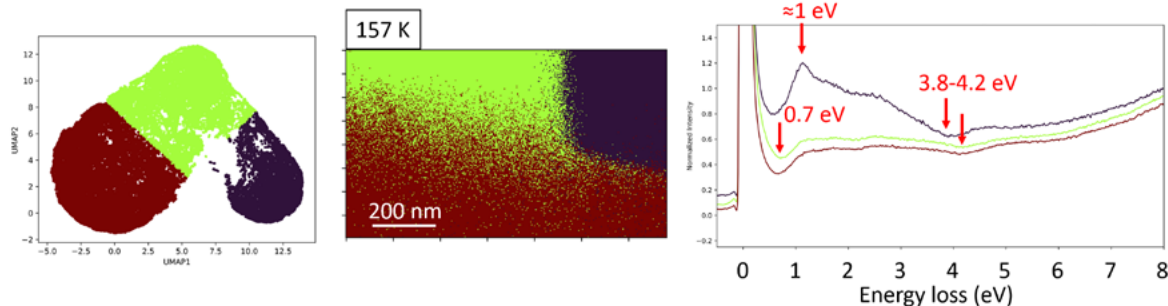


Figure 1: a. Full data processing workflow that aims at segmenting the different spectral regions. b. Example of the result of a hyperspectral dataset analysis. (Left) UMAP projections of all pixels in the hyperspectral data and clusters. (Center) EELS cluster map identifying distinct areas on the studied surface. (Right) Corresponding EELS spectra for each cluster. Red arrows indicate significant spectral features used to distinguish the different electronic phases.

Références :

- [1] E. Janod *et al.*, Adv. Funct. Mater. **25** (2015): 6287-6305.
- [2] L. McInnes *et al.*, J. Open Source Softw. **3** (2018): 861.
- [3] J. MacQueen, Proc. Fifth Berkeley Symp. on Math. Statist. and Prob., **1** (1967): 281-297.
- [4] We acknowledge funding from the National Agency for Research under the JCJC program IMPULSE, the program of future investment TEMPOS-CHROMATEM.

Adresse mail : abdelali.khelfa@universite-paris-saclay.fr

CARACTERISATION DES BULLES DE GAZ DE FISSION DANS UO_2 PAR MET : ACQUISITION ET ANALYSE D'IMAGES PAR SEUILLAGE ET IA.

Thomas GRENÈCHE¹, Catherine SABATHIER¹, Claire ONOFRI¹, Doris DROUAN¹, Bénédicte WAROT².

¹. CEA, DES, IRESNE, DEC, SA3E, LCPC, Cadarache F 13108 St Paul Lez Durance

². CNRS, CEMES, 29 rue Jeanne Marvig, Toulouse, France

Session : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Sous irradiation, le combustible nucléaire UO_2 subit d'importantes transformations physico-chimiques et structurales. La fission de ^{235}U génère des produits de fission gazeux (xénon, krypton), insolubles dans UO_2 , qui précipitent sous forme de bulles sub-nanométriques à micrométriques dans la matrice. Ce phénomène contribue au gonflement du combustible et dégrade ses propriétés thermo-physiques et mécaniques. Une caractérisation précise de ces bulles (taille, densité, densité atomique, forme) est essentielle pour valider et alimenter les modèles de simulation du comportement des gaz de fission.

Les images utilisées pour cette caractérisation sont obtenues en microscopie électronique en transmission (MET) avec des conditions spécifiques de grandissement et de défocalisation (contraste de Fresnel), optimisées pour améliorer le contraste des bulles tout en minimisant les biais d'observation. Actuellement, leur analyse repose principalement sur un comptage manuel, une tâche chronophage et "opérateur dépendant". Une méthode de comptage semi-automatique par seuillage est développée sur Imagej/Fiji. Cette méthode permet de déterminer la densité ainsi que la taille des bulles sub-nanométriques avec une différence de 4 à 10 % par rapport au comptage manuel et un temps de comptage divisé par au moins un facteur cinq. De plus, le protocole utilisé permet une adaptabilité aux conditions d'imagerie et réduit le biais de mesure du comptage manuel en améliorant les statistiques sur les données et en réduisant la sensibilité sur la qualité de l'image.

Concernant le comptage des plus grosses bulles, la méthode de seuillage est insuffisante. Pour cela, une méthode de segmentation, utilisant l'intelligence artificielle, est développée sur WEKA. Cette méthode produit des résultats très encourageants pour la caractérisation automatique des grosses bulles, notamment pour la détermination de leurs formes où elle est plus précise que la caractérisation manuelle. Il est également possible de discriminer les différents types de défauts présents sur les images, comme les précipités métalliques des bulles de gaz.

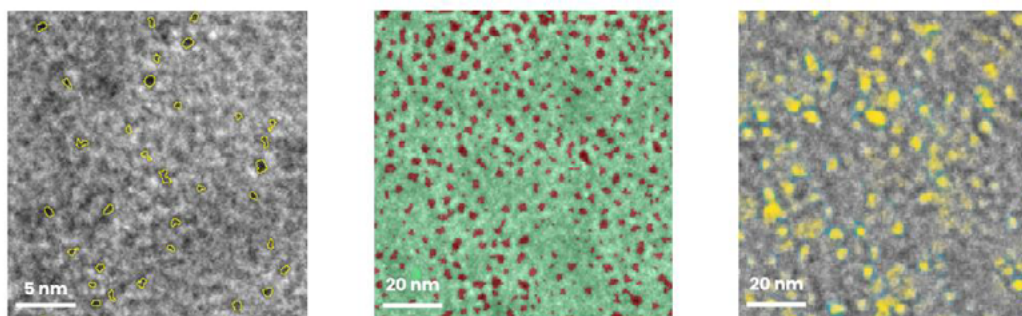


Figure 1 : Analyse d'images semi-automatique par seuillage sur imagej/Fiji (à gauche) et automatique par IA-machine learning sur WEKA (au centre) et Ilastik (à droite).

Adresse mail : thomas.greneche@cea.fr

**Structural Analysis of LNMO Cathode Materials
using 4D-STEM ACOM and Data Science Techniques**

Fayçal ADRAR^{1,2}, Justine JEAN¹, Gozde ONEY^{4,5}, Mohsen DANAIE⁶, François WEILL⁵,
Matthieu BUGNET³, Arnaud DEMORTIERE^{1,2},

¹Laboratoire de Réactivité et Chimie des Solides (LRCS), CNRS UMR 7314, 80009 Amiens, France

²Réseau sur le Stockage Electrochimique de L'énergie (RS2E), CNRS FR 3459, 80009 Amiens, France

³CNRS, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, MATEIS, UMR 5510, 69621 Villeurbanne, France

⁴IRIG, CEA Grenoble, 38054 Grenoble cedex 09, France

⁵ICMCB, CNRS, Université de Bordeaux, 87 Avenue du Dr Albert Schweitzer, 33600 Pessac, France

⁶ePSIC, Diamond Light Source, Didcot, Oxfordshire, OX11 0DE, UK

Session : SC3 : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie.

In the field of battery electrode materials, the presence of multiple phases undergoing structural modifications poses a significant challenge, as it can drastically impact battery performance and durability. These phases introduce complexity to the electrochemical processes that occur during charge and discharge cycles [1]. As Li ions transfer between the positive and negative electrodes, structural transformations within the electrode materials take place [2] leading to phase transitions and structural rearrangements. Therefore, understanding the individual contributions of these phases and their spatial distribution is crucial for improving battery performance. For this purpose, we employed advanced four-dimensional scanning transmission electron microscopy (4D-STEM) techniques to investigate electrode materials at the nanoscale. Specifically, we conducted experiments on $\text{LiNi}_{0.5}\text{Mn}_{1.5}\text{O}_4$ (LNMO) cathode materials at various states of charge. The primary goal was to study structural changes during lithiation and delithiation processes, providing detailed insights into phase transitions, strain distributions, and the impact of structural heterogeneities on battery performance. High-resolution 4D-STEM acquisitions were conducted at the electron Physical Science Imaging Centre (ePSIC) of the Diamond Light Source, UK, capturing diffraction data on LNMO samples at different charge states. These datasets facilitate the creation of detailed phase and strain maps, allowing the identification of regions undergoing distinct structural transformations. To analyze the data, we used ePattern [3], a software tool designed in LRCS lab to enhance diffraction pattern indexing and reduce noise in large 4D-STEM datasets. By integrating ePattern with ASTAR (Nanomegas), we achieved crystal orientation and phase mapping, enabling the construction of phase and reliability maps. These maps address challenges posed by closely matched lattice parameters in LNMO's delithiated phases. Furthermore, we have recently adapted ePattern to interface with Py4DSTEM [4], enabling strain mapping capabilities. The aim of our study is to reveal how lithiation pathways influence the structural stability and electrochemical performance of LNMO.

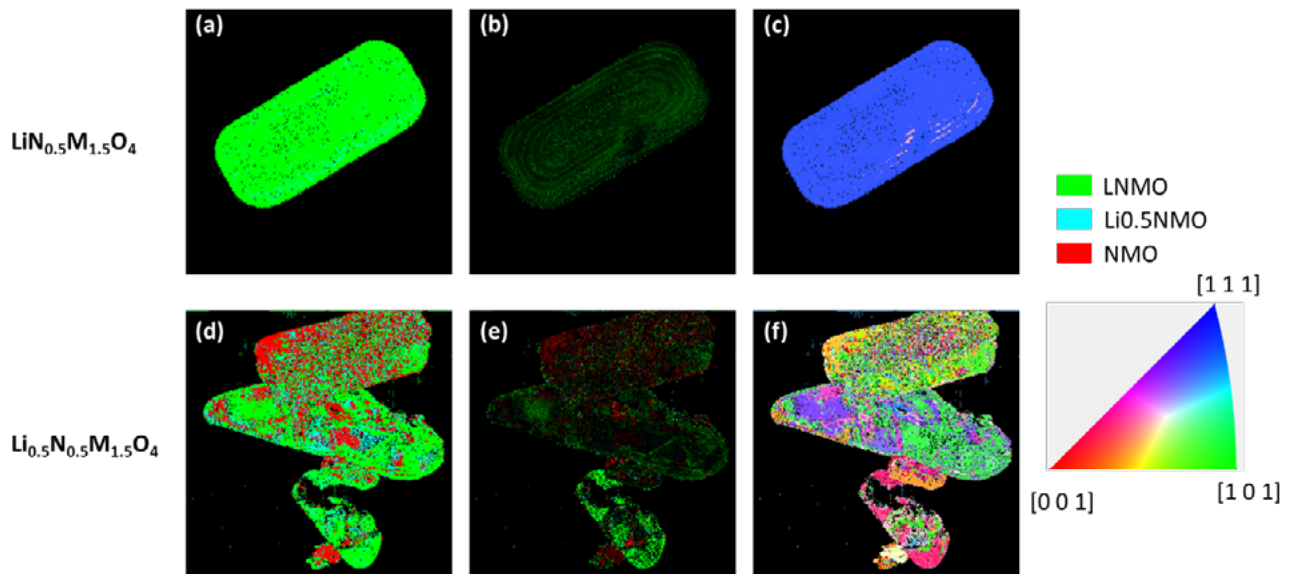


Figure 1: 4DSTEM LNMO phase mapping in various state of charge. (a,d) Phase maps of LNMO at two charge states, fully lithiated (LNMO) and partially delithiated (Li0.5NMO). (b,e) Corresponding phase reliability maps, indicating the confidence level of phase identification. (c,f) Crystal orientation maps of the two particles, showing variations in grain orientation.

References:

- [1] Li, et al. Nature Communications, **10(1)** (2019).
- [2] Kuppan, et al. Nature Communications, **8(1)** (2017).
- [3] Folastre, et al. Scientific Reports, **14(1)** (2024).
- [4] Savitzky, et al. Microscopy and Microanalysis, **27(4)** (2021).

email: faycal.adrar@u-picardie.fr

OpenCID : gestion, analyse, traitement, partage et édition de données de recherche

Raphael BRAUD-MUSSI¹, Kevin RAGUETTE², Gabriel LE GOFF¹, Bilal BOUKHORISSA¹, Assa DIABIRA¹,
Michel SMADJA², Pierre BOURDONLCE¹

¹ IMAG'IC, Institut Cochin, Université Paris Cité UMR-S1016, INSERM U1016, CNRS UMR8104, Paris, France.

² OpenCID

Session : Sessions communes : méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Dans le contexte des plans de gestion de données (PGD), de la production exponentielle des données de recherche, que ce soit en termes de quantité ou, surtout, de volume des données, ainsi que du problème de souveraineté des données de recherche, de la science ouverte et du principe FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable), nous proposons le logiciel open source OpenCID (Open Collaborative Image Database).

Ce logiciel est actuellement le seul capable de gérer des données omiques et d'imagerie via une simple interface web. Beaucoup d'articles et de formations théorisent la gestion des données sans proposer d'outils concrets pour la mettre en œuvre. Nous offrons ici un outil gratuit et open source, qui peut être déployé sur tout type de plateforme et d'infrastructure.

OpenCID permet l'importation, l'extraction et la création de métadonnées, ainsi que l'archivage, la sauvegarde, le traitement et l'analyse d'images, la consultation multidimensionnelle et le partage, tout en restant souverain sur ses données. OpenCID peut gérer aujourd'hui une quarantaine de formats constructeurs en microscopie photonique et électronique. En limitant le nombre de copies, OpenCID permet d'améliorer la gestion des volumes de stockage et d'optimiser le traitement d'images en lançant sur de grandes quantités de données des algorithmes en deep learning comme CellPose, StarDist ou ilastik.

En conclusion, OpenCID représente une solution innovante et complète pour la gestion des données de recherche, offrant des fonctionnalités avancées tout en respectant les principes de la science ouverte et de la souveraineté des données.

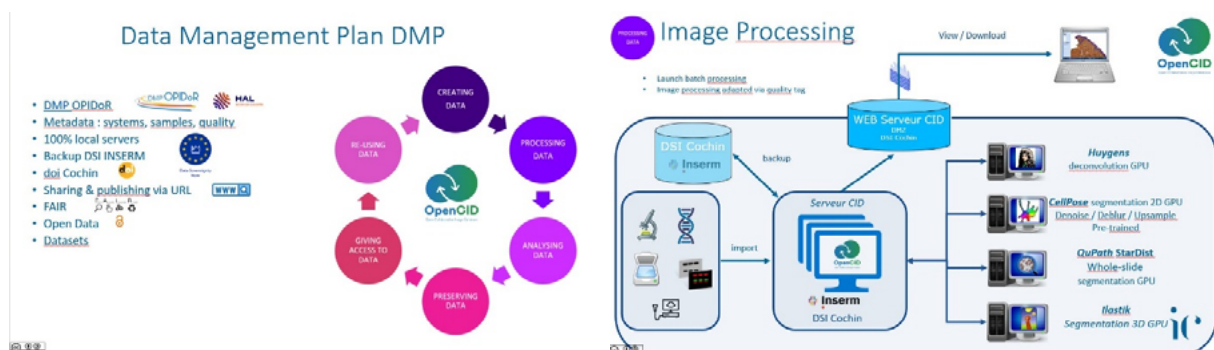


Figure 1 : schéma de la base de données OpenCID

Références :

P. Bourdoncle et T. Guilbert, « INSTITUT COCHIN ENTITY DMP - Cochin Image Database », (2024) :

<https://hal.science/hal-04834159>

Faklaris, O., Bancel-Vallée, L., Dauphin, A., Monterroso, B., Frère, P., Geny, D., Manoliu, T., de Rossi, S., Cordelières, F.P., Schapman, D., Nitschke, R., Cau, J., Guilbert, T., (2022). Quality assessment in light microscopy for routine use through simple tools and robust metrics. *Journal of Cell Biology*, FBI étrangé 221, e202107093.

<https://doi.org/10.1083/jcb.202107093>

Hammer, M., Huisman, M., Rigano, A., Boehm, U., Chambers, J.J., Gaudreault, N., North, A.J., Pimentel, J.A., Sudar, D., Bajcsy, P., Brown, C.M., Corbett, A.D., Faklaris, O., Lacoste, J., Laude, A., Nelson, G., Nitschke, R., Farzam, F., Smith, C.S., Grunwald, D., Strambio-De-Castillia, C., (2021). Towards community-driven metadata standards for light microscopy: tiered specifications extending the OME model. *Nat Methods* 18, 1427–1440.

<https://doi.org/10.1038/s41592-021-01327-9>

Adresse mail : pierre.bourdoncle@inserm.fr

Session commune : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Chairmen :

- Alexandre DAZZI (U. Paris Saclay, récipiendaire du Prix Castaing 2023, SdM)
- Lorena REDONDO-MORATA (LIA, Marseille, SdV)

Résumé :

La microscopie à sonde locale ou champ proche est une technologie qui existe depuis plusieurs décennies. Elle est devenue une technologie robuste et assez versatile pour être utilisée pour l'analyse des surfaces que ce soit pour obtenir leur topographie mais également pour sonder les propriétés mécaniques et chimique et ce jusqu'à l'échelle atomique. L'idée de ce symposium, original au colloque Sfμ, est de présenter les techniques de microscopies à sondes locales, plus particulièrement celle de la microscopie à force atomique, et de montrer leur intérêt pour les sciences de la vie et de la matière, qu'elles soient utilisées seules, ou de façon corrélée avec par exemple des techniques de microscopie optiques (fluorescence, super-résolution) ou électronique. Ces techniques offrent une capacité sans précédent pour sonder et manipuler la matière à l'échelle nanométrique, ce qui ouvre de nouvelles perspectives de recherche dans divers domaines scientifiques.

Planning : vendredi 4 juillet de 11 h à 13 h, amphithéâtre Marthe Condat

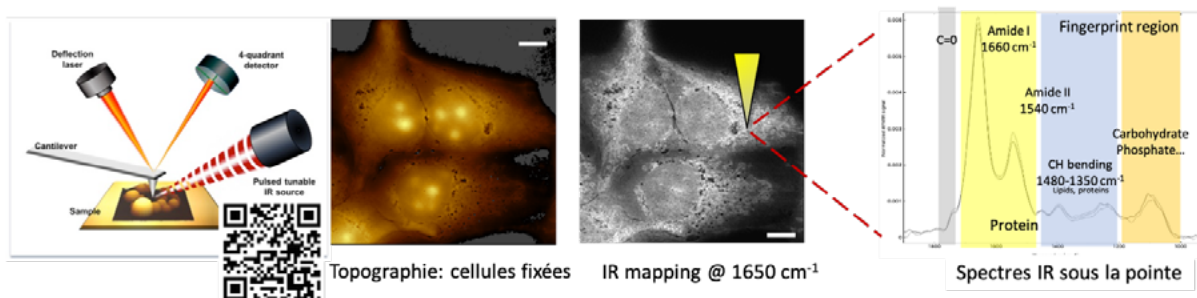
- | | |
|--------------------------|---|
| 11 h 00 – 11 h 30 | Conférence invitée : Ariane DENISET-BESSAUD, Université Paris Saclay
<i>« La nanospectroscopie infrarouge AFMIR pour explorer les échantillons d'intérêt biologiques : état des lieux »</i> |
| 11 h 30 – 12 h 00 | Conférence invitée : Philippe LECLÈRE, Université de Mons, Belgique
<i>« Vers une cartographie quantitative des propriétés physico-chimiques des matériaux : quand l'IA rencontre les matériaux ! »</i> |
| 12 h 00 – 12 h 15 | Étienne DAGUE, LAAS-CNRS, Toulouse
<i>« Discrimination cellulaire mécanobiologique à haut débit à l'aide de l'AFM automatisé et de l'apprentissage automatique »</i> |
| 12 h 15 – 12 h 30 | Loranne VERNISSE, Institut Pprime, Poitiers
<i>« Étude par KPFM de l'évolution du potentiel de surface de feuillets de MoS2 sous contrainte uniaxiale »</i> |
| 12 h 30 – 12 h 45 | Lorena REDONDO-MORATA, LIA, Marseille
<i>« Effets des glycolipides microbiens sur les membranes phospholipidiques : étude biophysique par microscopie à force atomique »</i> |
| 12 h 45 – 13 h 00 | Yarong SHI, ENS, Lyon
<i>« Marche aléatoire sur un origami d'ADN pour résoudre des labyrinthes : une approche biophysique basée sur l'AFM »</i> |

LA NANOSPECTROSCOPIE INFRAROUGE AFMIR POUR EXPLORER LES ECHANTILLONS D'INTERÊT BIOLOGIQUES : ETAT DES LIEUX

Ariane DENISET-BESSEAU, Jérémie MATHURIN, Alexandre DAZZI

Institut de Chimie-Physique, UMR8000, Université Paris-Saclay, Orsay, France

La spectroscopie infrarouge (IR) est un outil très puissant pour la caractérisation chimique des matériaux sans marqueur exogène. En biologie, elle peut être utilisée pour analyser la structure de molécules isolées comme pour explorer la composition chimique de cellules ou de tissus [1]. Cependant, les meilleures résolutions latérales atteignables en microscopie IR sont de l'ordre de plusieurs micromètres et ne permettent pas une analyse sub-micrométrique comparables aux autres techniques de caractérisation physico-chimique employées en biologie. Pour dépasser cette limite de résolution, des techniques de champs proche ont été développées, ces 20 dernières années, comme la technique de nanospectroscopie IR AFM-IR, développée et brevetée dans notre équipe en 2007 [2], [3]. Cette dernière est le résultat d'un couplage entre la spectroscopie IR et la microscopie à force atomique (AFM). Elle permet de détecter l'expansion photo-thermique induite dans l'échantillon suite à l'absorption IR et ainsi de s'affranchir de la détection optique, qui est à l'origine de la limite de résolution des microscopes IR classiques. Les mesures effectuées avec ce système ont alors une résolution latérale de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres. Depuis sa première preuve de concept, la technique AFM-IR est en constante évolution, élargissant les champs d'application dans le domaine de la biologie. Des études peuvent être menées sur des fibres protéiques isolées [4], des cellules [5] ou des micro-organismes [6] ainsi que des tissus [7], [8] [9]. Lors de la présentation orale, plusieurs exemples en lien avec le biomédical (tissus humains), les nano-assemblages (fibres protéiques) et les micro-organismes seront présentés pour illustrer les capacités de la technique AFM-IR sur les échantillons d'intérêt biologiques. Les principales contraintes expérimentales seront discutées. Un bilan sera proposé ainsi que les défis futurs auxquels la technique devra faire face pour se hisser au niveau des autres techniques de spectroscopie vibrationnelle actuellement utilisées en routine.



Références :

- [1] D. Naumann, "FT-IR and FT-NIR Raman spectroscopy in biomedical research," *AIP Conf. Proc.*, vol. 430, no. Fourier Transform Spectroscopy, pp. 96–109, 1998, doi: 10.1063/1.55827.
- [2] A. Dazzi and C. B. Prater, "AFM-IR: Technology and applications in nanoscale infrared spectroscopy and chemical imaging," *Chemical Reviews*, vol. 117, no. 7. American Chemical Society, pp. 5146–5173, Apr. 12, 2017. doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00448.
- [3] J. Mathurin, A. Deniset-Besseau, D. Bazin, E. Dartois, M. Wagner, and A. Dazzi, "Photothermal AFM-IR spectroscopy and imaging: Status, challenges, and trends," *J Appl Phys*, vol. 131, no. 1, Jan. 2022, doi: 10.1063/5.0063902.

- [4] J. Waeytens *et al.*, "Probing amyloid fibril secondary structures by infrared nanospectroscopy: Experimental and theoretical considerations," *Analyst*, vol. 146, no. 1, pp. 132–145, Jan. 2021, doi: 10.1039/d0an01545h.
- [5] H. Valenta *et al.*, "Consequences of the constitutive NOX2 activity in living cells: Cytosol acidification, apoptosis, and localized lipid peroxidation," *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, vol. 1869, no. 9, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.bbamcr.2022.119276.
- [6] V. Shapaval, A. Deniset-Besseau, D. Dubava, S. Dzurendova, J. Heitmann Solheim, and A. Kohler, "Multiscale spectroscopic analysis of lipids in dimorphic and oleaginous *Mucor circinelloides* accommodate sustainable targeted lipid production," *Fungal Biol Biotechnol*, vol. 10, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1186/s40694-023-00148-z.
- [7] M. Petay *et al.*, "Multiscale approach to provide a better physicochemical description of women breast microcalcifications," *Comptes Rendus. Chimie*, vol. 25, no. S1, pp. 553–576, Sep. 2022, doi: 10.5802/crchim.210.
- [8] K. Kemel, A. Deniset-Besseau, A. Baillet-Guffroy, V. Faivre, A. Dazzi, and C. Laugel, "Nanoscale investigation of human skin and study of skin penetration of Janus nanoparticles," *Int J Pharm*, vol. 579, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119193.
- [9] L. Bildstein *et al.*, "Discrete Nanoscale Distribution of Hair Lipids Fails to Provide Humidity Resistance," *Anal Chem*, vol. 92, no. 17, pp. 11498–11504, Sep. 2020, doi: 10.1021/acs.analchem.0c01043.

Adresse mail : ariane.deniset@universite-paris-saclay.fr

VERS UNE CARTOGRAPHIE QUANTITATIVE DES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES MATERIAUX : QUAND L'IA RENCONTRE LES MATERIAUX !

Philippe LECLERE

¹ *Laboratoire de Physique des Nanomatériaux et Energie – LPNE
Institut de Recherche en Sciences et Ingénierie des Matériaux
Université de Mons – UMONS
Avenue Victor Maistriau, 19, B - 7000 Mons (Belgique)*

Session : Sessions Communes : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Au cours des dernières décennies, les matériaux fonctionnels ont remplacé les matériaux existants dans de nombreuses applications, allant de l'aérospatiale à la cosmétique. Ces nouveaux matériaux devenus omniprésents ont un impact sur tous les aspects de nos vies. La cartographie à l'échelle locale, idéalement quantitative, de leurs propriétés physico-chimiques peut fournir des informations essentielles sur les processus fondamentaux qui mènent à des phénomènes de déformation dans ces matériaux ou à leur dégradation sous l'effet de contraintes mécaniques, thermiques ou électriques externes.

Au-delà de l'imagerie de surface, l'exposé se concentrera sur les derniers développements de la microscopie et la spectroscopie à sonde à locale pour la caractérisation des surfaces et des interfaces de matériaux. Nous mettrons en évidence leurs capacités à caractériser les propriétés des matériaux avec une attention particulière sur la cartographie des propriétés nanomécaniques telles que l'adhésion, l'indentation, le module de rigidité, le module de stockage, le module de perte en utilisant diverses techniques récentes (*PeakForce Tapping*, *nanoDynamic Mechanical Analysis*).

Dans ce contexte, les techniques de *Machine Learning (ML)* ont été perçues comme des outils prometteurs pour la conception et la découverte de nouveaux matériaux. Nous aborderons brièvement les méthodes de calcul et les algorithmes de ML pouvant être utilisés pour détecter les différents domaines et (inter)phases dans les matériaux en partitionnant les observables (y compris spectroscopiques) enregistrées en fonction de leurs similitudes.

A titre d'exemple, nous décrirons des protocoles adaptés pour l'analyse des données (validation des acquisitions, segmentation des données, analyse corrélative, ...), dans l'espoir d'aider la communauté scientifique à mieux comprendre les paramètres clés dans l'optimisation du comportement des matériaux non seulement pour les aspects fondamentaux mais aussi pour des applications industrielles.

Dans l'avenir, cette approche algorithmique basée sur une analyse corrélative permettra d'analyser des matériaux multifonctionnels aux architectures plus complexes, ouvrant ainsi de nouvelles voies de recherche sur des matériaux avancés plus fiables et idéalement éco-responsables.

Adresse mail : philippe.leclere@umons.ac.be

HIGH-THROUGHPUT MECHANOBIOLOGICAL CELL DISCRIMINATION USING AUTOMATED AFM AND MACHINE LEARNING

Etienne DAGUE¹, Zeyd BOUMEHDI^{1,2}, Ophélie THOMAS- -CHEMIN^{1,2}, Emmanuelle TREVISIOL³,
Childéric SEVERAC⁴

¹ LAAS-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France

² A5 Science, Technopôle de l'Environnement, Arbois-Méditerranée, France

³ TBI, Université de Toulouse, INSA, INRAE, CNRS, Toulouse, France

⁴ RESTORE, Université de Toulouse, INSERM, CNRS, EF, ENVT, Toulouse, France

Session Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Mechanobiological measurements offer a promising avenue for distinguishing healthy cells from pathological ones. However, a major limitation of atomic force microscopy (AFM)—a widely used technique for such measurements—is its low throughput and lack of standardization[1]. In this study, we optimized AFM-based mechanical measurements on cell populations and developed a novel technology that integrates cell patterning with AFM automation, significantly increasing measurement efficiency. [2]

Our system enables the acquisition of mechanical data from hundreds of cells, with 956 cells analyzed in this study. For each cell, 16 force curves (FCs) were recorded, and seven key mechanical features per FC were extracted, forming a comprehensive mechanome dataset. To classify these measurements, we employed a machine learning-based approach using a fuzzy logic algorithm trained to distinguish between nonmalignant and cancerous cells. The training dataset included up to 120 cells per cell line.

As a proof of concept, we first applied our method to prostate cell lines—nonmalignant RWPE-1 and cancerous PC3-GFP—before extending it to skin fibroblast lines—nonmalignant Hs 895.Sk and cancerous Hs 895.T. Despite a high degree of similarity across measurements (ranging from 79% to 100%), our method achieved a classification accuracy of 73% on a validation dataset comprising 194 cells per cell line.

These results demonstrate the potential of combining AFM automation with machine learning for high-throughput mechanobiological cell classification. This approach not only enhances measurement efficiency but also provides a standardized framework for analyzing cell mechanics, paving the way for future applications in cancer diagnostics and mechanobiology research.

Références : exemple de format ci-dessous

[1] Thomas- -Chemin, *et al.* ACS Nano **19.5** (2025): 5045-5062

[2] Thomas - - Chemin, *et al.*, ACS Applied Materials and Interfaces **16.34** (2024): 44505-44517

Adresse mail : edague@laas.fr

STUDY BY KPFM OF THE EVOLUTION OF THE SURFACE POTENTIAL OF MOS₂ SHEETS INDUCED BY UNIAXIAL DEFORMATION

Loranne VERNISSE¹, Thanh Tài LE¹, Michel DROUET¹

¹ Institut P', UPR 3346 CNRS, Université de Poitiers/CNRS/ENSMA, France

Session : SC4 : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Molybdenum disulfide (MoS₂), a transition metal dichalcogenide (TMDC), is highly promising for flexible electronics, optoelectronic devices, and catalysis due to its exceptional mechanical, optical, and electrical properties [1]. Characterising its response to stress, especially in its 2D form, is crucial to unlocking its full potential. When a substrate bearing a 2D MoS₂ film is subjected to compressive stress, the film adapts by forming either buckles perpendicular to the direction of compression (Figure 1) or cracks parallel to this direction.

Our study aims to link the modification of the film's local electrical properties to the formation of these buckles. To achieve this, we use atomic force microscopy, specifically Kelvin probe microscopy, to track the local contact potential difference (CPD) while imaging the surface topography [2]. We expect to observe a change in CPD relative to the buckle height and their curvature radius, which will provide insights into how these features influence the film's local electrical properties.

This poster will resume the progress toward our objective.

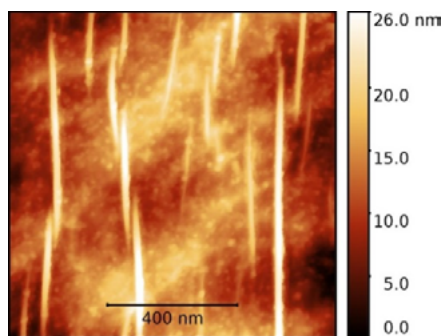


Figure 1: AFM image highlighting the formation of buckles on a monolayer of MoS₂ deposited on a deformed PEEK substrate ($\epsilon_{xx} = 6\%$). The compression axis is represented by the horizontal line.

Références:

- [1] U. Krishnan, *et al.* Superlattices and Microstructures **128** (2019): 274-297
- [2] A. C. De Palma, *et al.* Nano Letters **24.6** (2024) : 1835-1842

Adresse mail : loranne.vernise@univ-poitiers.fr

**CORRELATING ATOMIC FORCE MICROSCOPY AND CONFOCAL MICROSCOPY TO
UNDERSTAND THE EVOLUTION OF TISSUES
FROM MONOLAYERS STRUCTURES
TO PERTURBED MULTISTRATIFIED STRUCTURES**

Yulia FOK¹, Niki BACCILE², Claire VALOTTEAU¹, Lorena REDONDO-MORATA¹

¹Aix-Marseille Univ, INSERM, DyNaMo, Turing Centre for living systems, Marseille, France.

²Sorbonne Univ, CNRS, Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris, LCMCP, Paris, France

Session : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Microbial glycolipids (MGs) are biosurfactants comprising a hydrophilic saccharide moiety coupled to a hydrophobic fatty acid. Their antimicrobial properties are raising an increasing interest as they might be bio-based alternatives to antibiotics, as well as offering potential anti-biofilm or wound healing properties [1], offering biodegradability and low ecotoxicity. Antimicrobial activity involves changes and rupture of the cellular membrane inducing lysis. It might rely on the interaction of the saccharide moiety with the bacterial membrane and posterior penetration thanks to the lipophilic moiety [2]. However, their mechanism of action is still not well-known. The current project aims to study the effect of microbial glycolipids on supported lipid bilayers using atomic force microscopy (AFM), to better understand the underlying molecular mechanisms at the nanoscale. By performing both imaging and force spectroscopy measurements, we are able to access a wide array of membrane properties including topography, breakthrough forces and elasticity.

First, we observed the dynamic evolution of two types of model phospholipid (PL) membranes after injection of two MGs. We have characterized the effect of MGs on the (nano)mechanical and structural properties of membranes (Figure 1). Second, supported lipid bilayers were formed by mixing PLs and MGs at various ratios to form vesicles in suspension and were characterized using a similar approach. These insights into the effect of MGs on model membranes at the nanometre scale can contribute to a better understanding of their biological action as well as their potential use as nanocarriers.

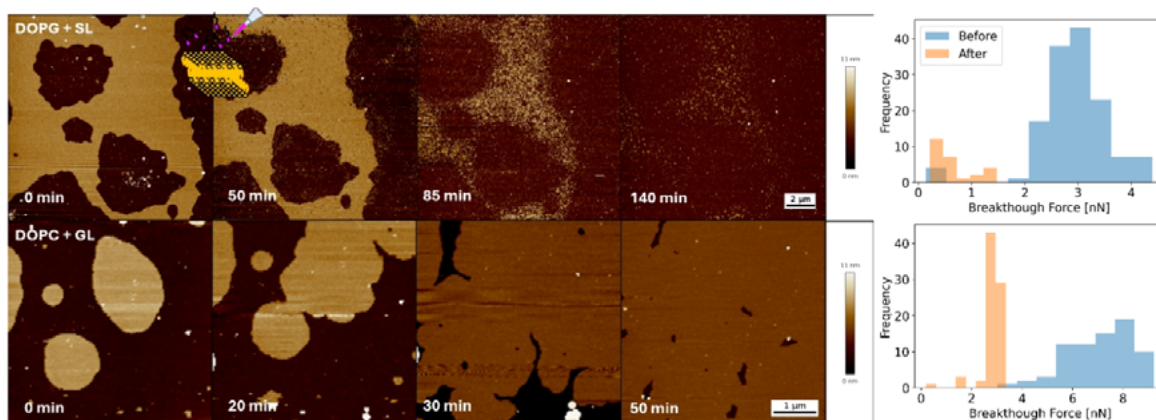


Figure 1 : AFM images showing the evolution of model membranes (DOPG – top, DOPC – bottom), after injections of MGs (sophorolipid C18:1 (SL) – top, glycolipid C18:1 (GL) – bottom) showing membrane solubilization (top) and expansion (bottom), and the evolution of the Breakthrough Forces before and after injection (right histograms).

References :

- [1] Y.J. Ng et al., Biotechnology Advances, 2023, 68 :108198
- [2] N. Baccile et al., Green Chem., 2021, 23(11), 3842-3944

Adresse mail : lorena.redondo@inserm.fr

Random walk on a DNA origami to solve mazes: a biophysical approach based on AFM

Yarong Shi^{1,2*}, Pierre Marcus², Nicolas Schabanel², C. Faivre-Moskalenko¹

¹Ecole Normale Supérieure de Lyon, CNRS, Laboratoire de Physique, Lyon, France

²Ecole Normale Supérieure de Lyon, CNRS, Laboratoire d'Informatique et du Parallélisme, Lyon, France

* yarong.shi@ens-lyon.fr

DNA programming is a field that uses biochemistry to design artificial systems made of DNA/RNA that can fold in 2D or 3D structures, embedding computation abilities. Those systems are based on the combination of two key techniques. DNA origami [1] which enables the reliable and high-yield assembly of the initial support for the computation. And algorithmic self-assembly that involves the design of short DNA strands which will collectively assemble into a larger shape, while conducting computations [2].

Here, we develop a biophysical approach to address the problem of solving graph algorithms. Our goal is to design artificial DNA strands that attach to each other in such a way that they solve a maze designed on an origami platform [3]. Such origami mazes have already been solved using DNA navigators [4] that bind to the origami to draw irreversibly some random path on the maze (hairpins are consumed) and paths that do not reach the exit must be filtered out. In our project we aim at solving the maze using a random walk that will stop walking if and only if it reaches the maze exit (see Figure 1A).

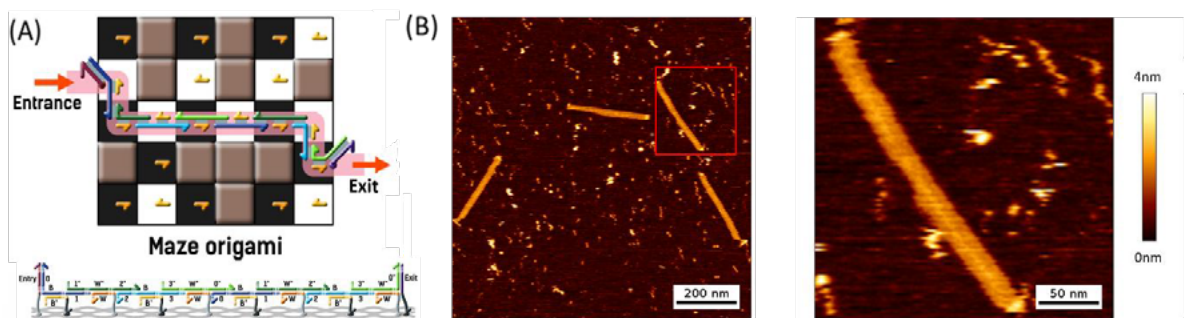


Figure 1: Our random walk system (A) and an AFM topography image and height section of the origami imaged in buffer with a linear path assembled through toehold mediated strand displacement (B)

To do so, we first simplified the maze design to a rectangle path with a linear path design involving only 2 different strands (the odd and even steps) and used a kinetic model to optimize the DNA assembly path onto the origami. Then, we proposed the implementation of a reversible random walk using the toehold mediated strand displacement mechanism [5], where a "toehold" (short single-stranded region) on one DNA strand binds to its free complementary domain thereby driving invasion followed by the release of the original complementary strand of a DNA duplex. In our experiments, resulting assembly process is tuned (strands concentration, domain binding energy) and evaluated in through AFM and fluorescence spectroscopy measurements. Our preliminary results (see Figure 1B) show a proof-of-principle of this successful approach, allowing us to assemble only correct path solutions. The next step is to extend this approach to more realistic 2D maze, thanks to a DNA-strand-displacement-powered random walk.

References

- [1] Rothmund, Paul WK: *Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns*. Nature **440.7082**, 297-302(2006)
- [2] Woods, Damien, et al: *Diverse and robust molecular algorithms using reprogrammable DNA self-assembly*. Nature **567.7748**, 366-372(2019)
- [3] Levy N. & Schabanel N: ENSnano: a 3D modeling software for DNA nanostructures. Schabanel. DNA**27**, LIPIcs 205(2021)
- [4] Chao, Jie, et al: *Solving mazes with single-molecule DNA navigators*. Nature materials **18.3**, 273-279(2019)
- [5] Srinivas N. et al: *On the biophysics and kinetics of toehold-mediated DNA strand displacement*. Nucleic Acid Res. **22**, 10641 (2013)

SESSIONS SCIENCES DE LA VIE

Session SdV : Cryo-EM moléculaire et cellulaire

Chairmen :

- Emmanuelle QUEMIN (I2BC, Paris Saclay)
- Otilie VON LOEFFELHOLZ (IGBMC Strasbourg)

Résumé :

Des améliorations techniques spectaculaires ont révolutionné le domaine de la cryo-microscopie électronique (cryo-EM), rendant cette technique unique dans sa capacité à combler le manque de connaissances entre la biologie structurale, moléculaire et cellulaire. Afin de fournir ce continuum de résolutions sans précédent, un large éventail de méthodes complémentaires sont développées et combinées dans de nouveaux flux de travail intégratifs. Nous accueillons ici des présentations orales et des posters couvrant tous les aspects du pipeline, y compris la préparation des échantillons, la collecte des données, le traitement de grands ensembles de données et la combinaison d'informations à basse et haute résolution par imagerie corrélative, par exemple. Cela comprend l'analyse de particules uniques ainsi que la cryotomographie électronique appliquée à l'étude de complexes et d'assemblages macromoléculaires in vitro ou in situ. En effet, l'objectif est de couvrir les dernières avancées qui fournissent des informations significatives sur l'organisation cellulaire, les structures macromoléculaires et la dynamique des protéines dans des états physiologiques ou des pathologies pertinents et d'initier des discussions pour des recherches ultérieures. Dans l'ensemble, il s'agira de mettre en évidence la polyvalence et la puissance de la cryo-EM pour répondre aux questions biologiques fondamentales.

Planning : mercredi 2 juillet de 13 h 30 à 15 h 30, amphithéâtre Le Chatelier

- | | |
|--------------------------|---|
| 13 h 30 – 14 h 00 | Conférence invitée : Albert WEIXLBAUMER, IGBMC, Strasbourg
<i>« Supramolecular Complexes Involved in the Coordination of Transcription and Translation »</i> |
| 14 h 00 – 14 h 12 | Anaïs ASTIER, MCD, Toulouse
<i>« Une étude multi-omique et structure-fonction de ribosomes mutants pour RPS15 impliqués dans la leucémie lymphoïde chronique »</i> |
| 14 h 12 – 14 h 24 | Paulo ESPIRITO SANTO, CBI, Toulouse
<i>« Perspectives sur le chaperon moléculaire quaternaire R2SP, une structure en pieuvre »</i> |
| 14 h 24 – 14 h 36 | Nina COOPER, TBI, Toulouse
<i>« Usage de la cryo-EM pour explorer la dynamique enzymatique d'une phosphorylase »</i> |
| 14 h 36 – 14 h 48 | Guillaume LEBON, IGF, Montpellier
<i>« Bases structurales de la modulation allostérique et du mécanisme d'activation du récepteur métabotrope du glutamate 5, MGLU5 »</i> |
| 14 h 48 – 15 h 00 | Felix WEIS, CEA, Grenoble
<i>« Towards visualizing the B12-dependent photoreceptor CarH in action with time-resolved cryo-electron microscopy »</i> |
| 15 h 00 – 15 h 12 | Bastien CASU, ETH Zürich, Suisse
<i>« Rôle insolite des systèmes d'injection contractiles cytoplasmiques dans la mort cellulaire chez Streptomyces »</i> |
| 15 h 12 – 15 h 24 | Valentin DEBARNOT, CREATIS, Villeurbanne
<i>« Apprentissage automatique pour la cryo-tomographie : débruitage et correction des cônes manquants »</i> |

Supramolecular Complexes Involved in the Coordination of Transcription and Translation

Michael W WEBSTER^{*1,2}, Adrien CHAUVIER^{*3}, Huma RAHIL^{*2}, Andrea GRAZIADEI^{*4}, Kristine CHARLES⁴, Maria TAKACS², Nataliya MIROPOLSKAYA², Charlotte SAINT-ANDRÉ², Juri RAPPILBER⁴, Nils G WALTER³, and Albert WEIXLBAUMER²

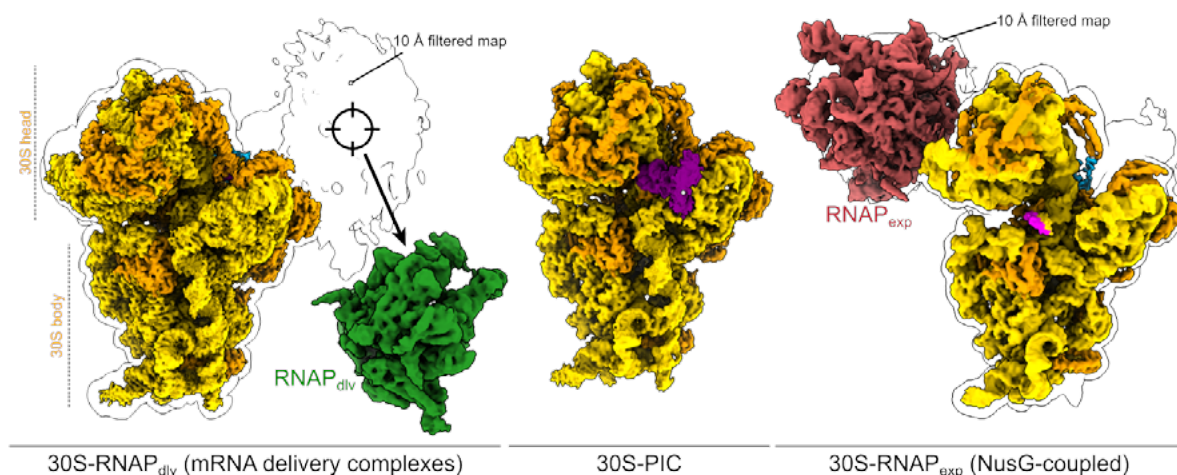
¹ The John Innes Centre, Norwich, United Kingdom

² IGBMC, Department of Integrated Structural Biology, Strasbourg, France

³ University of Michigan, Department of Chemistry and Center for RNA Biomedicine, Ann Arbor, USA

⁴ Technical University Berlin, Institute of Biotechnology, Berlin, Germany

Protein synthesis begins when a ribosome-mRNA complex forms. In bacteria, the 30S ribosomal subunit is recruited to many mRNAs through base pairing with the Shine Dalgarno (SD) sequence and RNA-binding by ribosomal protein bS1 [1]. Translation can initiate on nascent mRNAs and RNA polymerase (RNAP) can promote recruitment of the pioneering 30S subunit [2]. Here we examined ribosome recruitment to nascent mRNAs using cryo-EM, single-molecule fluorescence co-localization, and in-cell crosslinking mass spectrometry [3]. We structurally characterize ribosome bound bS1 and show that it binds the nascent mRNA emerging from a transcribing RNAP through its oligonucleotide binding domains. bS1 delivers the mRNA to the ribosome through the mRNA exit channel for SD duplex formation and 30S subunit activation. Additionally, bS1 mediates the stimulation of translation initiation by RNAP. Alternatively, RNAP can contact the ribosome near the mRNA entry channel for SD duplex formation in the ribosomal A-site supported by transcription-translation coupling factor NusG. In the latter case, initiation factors are required for 30S subunit activation. Together, our work provides a mechanistic framework for how the SD duplex, ribosomal proteins, initiation factors, and RNAP cooperate in 30S subunit recruitment to mRNAs and establish transcription-translation coupling.



E. coli RNA polymerase (RNAP, green or red) and the small ribosomal subunit (30S, gold) adopt multiple states at early stages of ribosome recruitment to the nascent mRNA. In mRNA delivery complexes, RNAP (green) associates loosely and ribosomal protein bS1 channels the nascent mRNA through the mRNA exit channel into the 30S. In 30S pre-initiation complexes (30S-PIC), the 30S accommodates the mRNA

so initiator tRNA (purple) binds the start codon. In NusG-coupled complexes, RNAP (red) binds the 30S through transcription factor NusG and the mRNA enters the ribosome through the mRNA entry channel.

Références :

[1] Milón and Rodnina. Crit Rev Biochem Mol Biol 47 (2012).

[2] Chatterjee, et al. Proc Natl Acad Sci USA 118 (2021).

[3] Webster et al. Science 386 (2024).

Adresse mail : albert.weixlbaumer@igbmc.fr

A COMPREHENSIVE, MULTI-OMICS AND STRUCTURE-FUNCTION STUDY OF RPS15-MUTANT RIBOSOMES INVOLVED IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Anaïs ASTIER¹, Marino CARUSO², Laura PLASSART¹, Paulo ESPIRITO SANTO¹, Dana RINALDI¹, Simon LEBARON¹, Kim DE KEERSMAECKER², Célia PLISSON-CHASTANG¹

¹Molecular, Cellular and Developmental biology unit, Centre de Biologie Intégrative, Toulouse (France)

²Laboratory for Disease Mechanisms in Cancer, KU Leuven (Belgium)

Control of gene expression is at the heart of cellular fate, and ribosomes, the universal ribonucleoproteic machines in charge of translating mRNAs into proteins, are key players of gene expression regulation. Ribosomes have long been thought to harbor strictly identical composition and production capacities for each cell of an organism. However, the heterogeneity of ribosomes has been highlighted by the discovery of mutations in numerous ribosomal proteins (RP) associated with different cancer types [1]. Therefore, mutations in ribosomal proteins of this essential apparatus are associated with various cancers, but whether and how other RP mutations can rewire translation to lead to oncogenic mechanisms remains elusive.

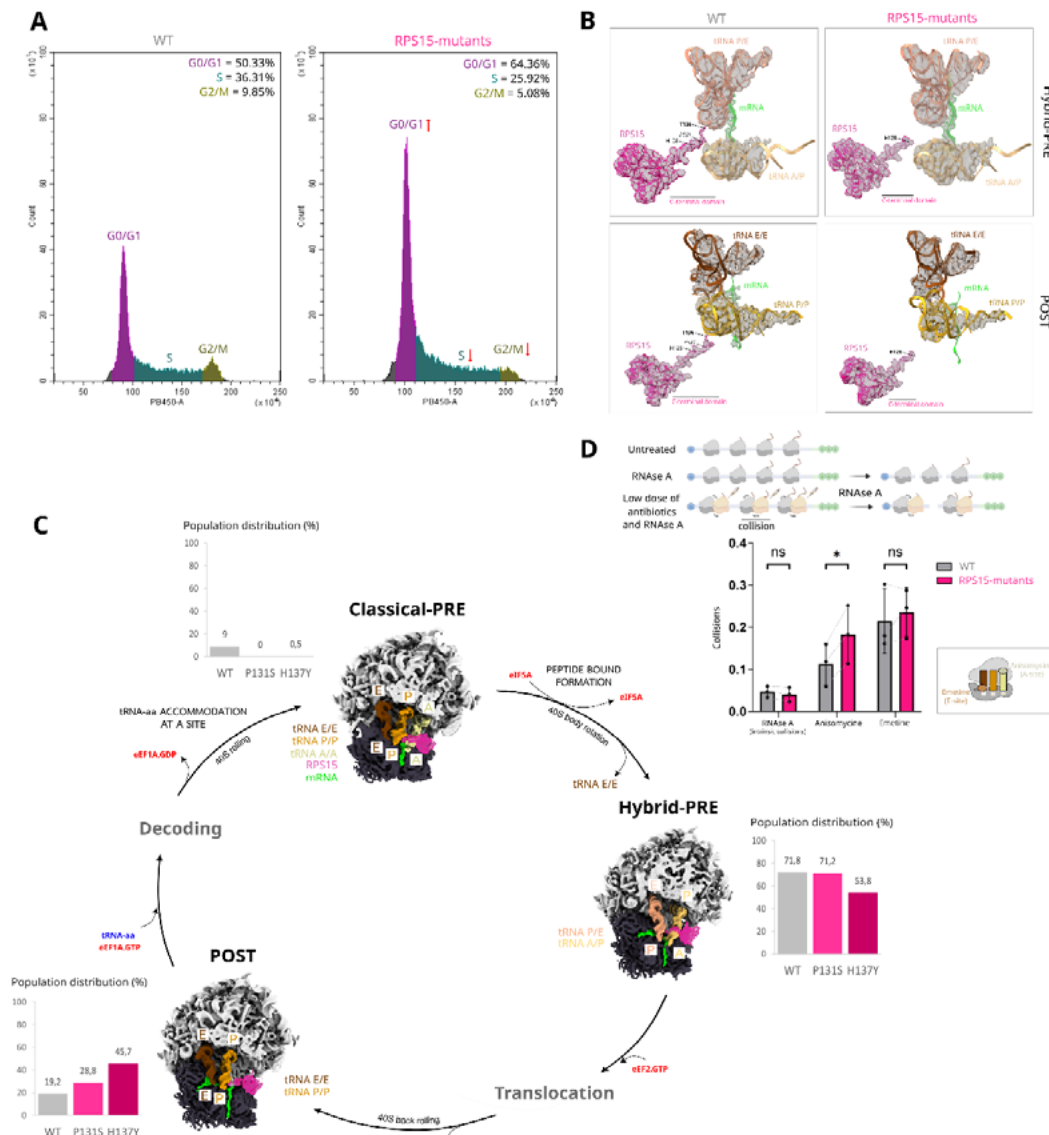
Our study focuses on RPS15 (uS19), a protein belonging to the small ribosomal subunit, whose point mutations in the C-terminus domain are found in up to 20% patients suffering from Chronic Lymphoid Leukemia (CLL) [2]. This region structurally extends into the active site of ribosomes. Thus, mutations carrying by this domain might directly affect the translation mechanics, and consequently alter the translatoome of cells displaying them. To characterize their molecular and cellular effect, we generated an ‘onco-ribosome’ cell line library, ie CRISPR-Cas9 engineered isogenic lymphoid Ba/F3 cells expressing homozygous point mutations of RPS15. Genomewide translatoome analysis of the onco-ribosome library revealed a profound translational rewiring in RPS15-mutant cells. Using cryo-electron microscopy, we performed a comparison of the 3D structures of both WT and onco-ribosomes, which showed significant differences in the dynamics of their translation elongation cycle, notably with a A-site tRNA accommodation defect in onco-ribosomes. These structural observations were further reinforced by biochemical assays and cell-growth analysis using differential ribosome tRNA site-specific antibiotics. This has led us to assess whether RPS15 mutant ribosomes exhibit a specific bias for decoding specific codons, which will allow to identify a novel mechanism by which oncoribosomes dysregulate translation.

Références :

- [1] Kampen, *et al.* Nucleic Acids Res. (2019).
- [2] Ljungström, *et al.* Blood **127** (2016): 1007–1016

Adresse mail : anaïs.astier@univ-tlse3.fr

Figure :



Mutations in RPS15 affect translation dynamics, resulting in a change in phenotype at the cellular level.

RPS15-mutants cell lines display a hypoproliferative phenotype. (A) Cell cycle distribution of cells carrying WT or mutant ribosomes for RPS15. Cell cycle phases are labelled as follows: G0 (quiescent cells), G1, S and G2. Mutations in RPS15 affect the structure domain of RPS15 as well as the dynamics of the translation elongation cycle. (B) Zoom into the active site of the ribosome with messenger RNA (green), RPS15 (pink) and various transfer RNAs. The amino acids at the ends of RPS15 can be seen in bold and proline 131 in italics. (C) The elongation cycle of eukaryotic translation. The structures of the different states (named Classical-PRE, Hybrid-PRE and POST-translocation) obtained were inserted into the cycle along with the percentage of ribosomes populating each state. These analyses show a defect in the steps of decoding or accommodation of a transfer RNA at the A site in the pink (RPS15-P131S) and purple (RPS15-H137Y) mutant ribosomes compared with the WT ribosomes (grey). (D) Schematic and quantification of the ribosome collision experiment induced by treatments with different antibiotics that target different transfer RNA sites (adapted from Wu et al. 2020). Quantification of collisions in WT ribosomes in grey compared to RPS15 mutant ribosomes in pink shows increased sensitivity of mutant ribosomes to anisomycin compared to emetine.

Insights into the R2SP quaternary molecular octopus chaperone

Paulo E. SANTO^{1,§}, Marie-Eve CHAGOT^{2,§}, Marie LEY^{3,4,§}, Hugo GIZARDIN-FREDON³, Thomas CHENUEL⁵, Evolène DESLIGNIERE^{3,4}, Laura PLASSART¹, Ana C. F. PAIVA⁶, Pedro M. F. SOUSA⁶, Edouard BERTRAND⁷, Bruno CHARPENTIER², Céline VERHEGGEN⁷, Marc QUINTERNET², Philippe MEYER⁵, Tiago M. BANDEIRAS⁶, Sarah CIANFERANI^{3,4,*}, Célia PLISSON-CHASTANG^{1,*}, Xavier MANIVAL^{2,*}.

¹ Molecular, Cellular and Developmental Biology unit (MCD), Centre de Biologie Integrative (CBI), University of Toulouse, UPS, CNRS, 31062 Toulouse, France. Team with an accreditation from the French “Ligue contre le Cancer” organism

² Université de Lorraine, CNRS, IMoPA, F-54000 Nancy, France

³ Laboratoire de Spectrométrie de Masse BioOrganique, IPHC UMR 7178, Université de Strasbourg, CNRS, 67000 Strasbourg, France

⁴ Infrastructure Nationale de Protéomique ProFI – FR2048, 67087 Strasbourg, France

⁵ Sorbonne Université, PSL, CNRS, UMR8226, Institut de Biologie Physico-Chimique, Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire des Eucaryotes, F-75005, Paris, France

⁶ iBET, Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Apartado 12, 2781-901 Oeiras, Portugal

⁷ IGH, CNRS, Univ Montpellier, Montpellier, France. Equipe labellisée Ligue Nationale Contre le Cancer, 34293 Montpellier, France.

[§] Equal contribution; * Corresponding authors.

The human R2SP complex belongs to the R2TP-like quaternary chaperone family and consists of RUVBL1, RUVBL2, SPAG1 and PIH1D2. R2SP is crucial for the correct assembly of motile cilia and the organization of the synaptic zone [1]. RUVBL1/2 ATPases are the powerhouse of this molecular machine, while SPAG1 and PIH1D2 would be adaptors that interact with specific clients to promote their quaternary assembly, assisted by Hsp70/90 cochaperones. Despite these functional data, little is known about the structure of R2SP and the precise mode of action of these R2TP-like complexes. We have combined biochemical and structural approaches (NMR, cryo-EM and structural mass spectrometry assays) to investigate the 3D organization of the human R2SP complex, its mode of assembly and ATPase activity [2]. Our study reveals a three-dimensional structure similar to that of the canonical R2TP complex, but also highlights differences in the mode of action of its RUVBL1/2 ATPase core as well as the binding of its adaptors SPAG1 and PIH1D2.

[1] - Maurizy, C., *et al* Nat Comms 9(1) (2018): 2093

[2] - Santo, P. E., *et al* bioRxiv (2025): 2025-01

Adresse mail : paulo.espirito-santo@univ-tlse3.fr

EXPLORATION OF ENZYME DYNAMICS OF A POLYSACCHARIDE PHOSPHORYLASE USING CRYO-EM

Nina COOPER¹, Gianluca CIOCI¹, Simon LADEVEZE¹, Ramteen SHAYAN², Gabrielle POTOCKI-VERONESE¹, Claire MOULIS¹, Magali REMAUD-SIMEON¹

¹ TBI, Université de Toulouse, CNRS, INRAE, INSA, F-31077 Toulouse Cedex 04, France.

² Plateforme de Microscopie Electronique Intégrative, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France.

Session SdV : Cryo-EM moléculaire et cellulaire

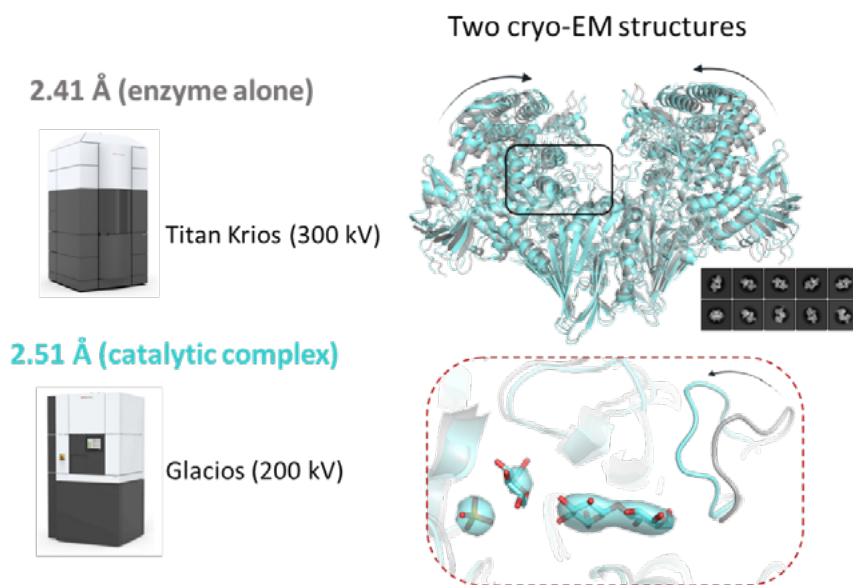
Enzymes represent valuable tools to produce biopolymers with physicochemical properties competing with those of fossil-based polymers, that still dominate the market¹. In the Biocatalysis team of TBI, we focus on discovering, characterizing, and engineering enzymes, particularly carbohydrate-active enzymes, involved in the production of a variety of polysaccharides from relatively abundant and low-cost substrates.

For enzyme engineering, a detailed understanding of the catalytic mechanism is essential to control the structure of the reaction products in terms of linkage specificity, chain length and degree of functionalization. However, understanding how these enzymes, generally composed of multiple domains, interact with their substrates is far from trivial as the enzyme-polymer interactions as well as the synthesis dynamics are still poorly understood.

Here, we used cryo-EM in combination with extensive biochemical characterization to study a newly discovered glucan phosphorylase from family GH161 that produces beta-1,3 glucans with interesting potential applications as additives in food and cosmetic products for example². This enzyme has also a rather broad substrate specificity that makes it an interesting tool for the glucosylation of other molecules.

Cryo-EM has enabled us to solve the high-resolution structure of the enzyme alone (2.41 Å) and in complex with substrates (2.51 Å), thanks to image acquisition with a Titan Krios 300 keV and a Glacios 200 keV, respectively. The high quality of the data obtained, combined with 3D classification and 3D variability analysis, provided access to dynamic features during the enzymatic catalysis, from the chain level to the residue level. Above having obtained the first structures within this family of enzymes, cryo-EM has given us insights into the enzyme movements, amongst which a proposed main “catalytic movement”. Moreover, it has given clues on important structural features governing substrate binding and catalysis, that will be used for rational enzyme engineering to extend the GH161 glucosylation capabilities.

Figure: Overview of the cryo-EM results obtained for the newly discovered glucan phosphorylase. Left: Electron microscopes used to collect the data for the enzyme alone and in complex with substrates. Right: Superimposition of the final structures obtained for the enzyme alone (grey) and in complex with substrates (light blue), representative 2D classes, and zoomed view of an active site loop conformational change occurring between the two structures.



Références : exemple de format ci-dessous

[1] Zhu, *et al.* Nature **540** (2016) : 354-62

[2] Kuhaudomlarp, *et al.* The Journal of Biological Chemistry **294** (2019) : 6483-93

Adresse mail : cioci@insa-toulouse.fr

STRUCTURAL BASIS OF THE HUMAN METABOTROPIC GLUTAMATE RECEPTOR 5 (mGlu5) ACTIVATION MECHANISM AND ALLOSTERIC MODULATION

Guillaume LEBON¹

¹Institut de Génomique Fonctionnelle, 141 rue de la cardonille, 34094, Montpellier.

The metabotropic glutamate receptors (mGlu) are widely expressed in the human brain where they modulate glutamatergic transmission, thus contributing to many important physiological processes. Aberrations in glutamatergic transmission result in many neurological disorders, making mGlu receptor targets of therapeutic interest. The mGlu receptors are Class C GPCRs, that are obligate dimers, dimerization being fundamental for their function. They are activated by the binding of the main excitatory neurotransmitter glutamate, within a large extracellular domain (ECD). Conformational changes induced by glutamate-binding are then transmitted to the transmembrane domain composed of 7 transmembrane helices (7TM) that allows signal transduction within the cell. Class C GPCR activity can also be modulated by the binding of Positive Allosteric Modulators (PAM) or Negative Allosteric Modulators (NAM) to the 7TM domain. Using single particle electron cryomicroscopy (cryoEM), we have solved the structure of the inactive conformation of receptor, as well as the active agonist and PAM-bound state. We find that the PAMs modulate the receptor equilibrium through their different binding modes, revealing how their interactions in the 7TMs impact the mGlu₅ receptor conformational landscape and function. In addition, we identified a PAM-free but agonist-bound intermediate state that reveals interactions mediated by intracellular loop 2 but also highlights the dynamic and multiple step process of the receptor activation mechanism. The structural basis of the receptor dimer activation mechanism and allosteric modulation will be discussed.

Session : SDV2 : CryoEM moléculaire et cellulaire

Adresse mail : guillaume.lebon@igf.cnrs.fr

Towards visualizing the B12-dependent photoreceptor CarH in action with time-resolved cryo-electron microscopy

Maria DAVILA¹, Alok BHRADAWAJ², Ronald RIOS¹, Wiel EVERS², Arjen J. JAKOBI², Guy SCHOEHN¹,
Giorgio SCHIRÒ¹, Martin WEIK¹, Felix WEIS¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CEA, IBS, 71 avenue des Martyrs, F-38000 Grenoble, France

² Department of Bionanoscience, Kavli Institute of Nanoscience, Delft University of Technology, Delft 2629HZ, The Netherlands

Session SdV : Cryo-EM moléculaire et cellulaire

CarH is a bacterial transcription factor that controls the biosynthesis of carotenoids in response to light. This protein is the most studied member of a family of photoreceptors that use vitamin B₁₂ as a chromophore. In the dark, CarH forms a tetramer that binds to DNA and blocks the transcription of genes involved in carotenoid biosynthesis. When exposed to light, the tetramer dissociates and does not bind DNA anymore, allowing the expression of carotenoids, which protect bacteria from light-induced damage. As a light-controlled transcription factor, CarH has potential applications in optogenetics. However, to modify the protein for this kind of application, we need a detailed understanding of its mechanism. In our laboratory, we have studied CarH using several techniques (time-resolved X-ray crystallography and solution scattering). From the time-resolved crystallography data, we have high-resolution structural information about the photoreaction of CarH up to 10 milliseconds after illumination. However, after this time point, we lack high-resolution data because the crystal packing restricts large domain movements, and diffraction resolution drops drastically.

Time-resolved cryo-electron microscopy (cryo-EM) sample preparation methods offer a way to freeze-trap intermediate states at later stages of the photoreaction and determine their high-resolution structures without the need for crystals. By illuminating a thin layer of solution containing CarH on a cryo-EM grid and vitrifying it after a well-defined, yet variable time delay, we plan to “capture” reaction intermediates beyond the timescales captured in our crystallographic experiments. We expressed and purified CarH (in full-length, truncated, and various DNA-bound forms), confirmed its photoactivity on grids, and obtained high-resolution cryo-EM structures of these samples in their initial “dark” state. Here, we will report on our first results of time-resolved cryo-EM experiments on the hundreds of milliseconds timescale using a light-coupled cryo-plunger.

Email address: felix.weis@ibs.fr

UNVEILING THE UNCONVENTIONAL ROLE OF CYTOPLASMIC CONTRACTILE INJECTION SYSTEMS IN MEDIATING CELL DEATH IN STREPTOMYCES

Bastien CASU¹, Joseph SALLMEN², Peter HAAS¹, Govind CHANDRA¹, Pavel AFANASYEV¹, Jingwei XU¹, Susan SCHLIMPERT^{2,3}, Martin PILHOFER¹

¹Department of Biology, Institute of Molecular Biology & Biophysics, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Otto-Stern-Weg 5, 8093 Zürich, Switzerland

²John Innes Center, Department of Molecular Microbiology, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, United Kingdom

³Centre for Microbial Interactions, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, United Kingdom

Session : SdV2 : Cryo-EM moléculaire et cellulaire

Contractile injection systems (CIS) are bacteriophage tail-like structures that mediate bacterial cell–cell interactions through the injection of effector proteins (1). CIS are generally divided into two subgroups: type VI secretion systems (T6SS), which act intracellularly using a membrane-anchoring apparatus, and extracellular CIS (eCIS), which function outside the cell, relying on a tail fiber for target recognition (2–5). In the Gram-positive model organism *Streptomyces coelicolor* (CIS^{Sc}), these systems play an unconventional role by inducing regulated cell death in response to stress, thereby influencing cellular development and secondary metabolite production (6). Unlike other CIS, which typically target external cells, CIS^{Sc} operate within the cytoplasm, where their contraction compromises cellular integrity. However, the precise molecular mechanisms underlying CIS^{Sc} function and their regulation remain poorly understood.

To address this, we investigated the role of the membrane adaptor protein CisA, which we found to be essential for CIS^{Sc} function (7). CisA localizes to the membrane and recruits CIS^{Sc}, initiating their firing upon stress induction. To unravel these processes, we employed an integrated microscopy approach, combining fluorescence microscopy, cryo-electron microscopy (cryoEM), cryo-electron tomography (cryoET), cryo-focused ion beam milling (cryoFIB), and cryo-correlative light and electron microscopy (cryoCLEM). This powerful combination allowed us to visualize CIS^{Sc} dynamics in *Streptomyces* at different stages of their activation, capturing their cytoplasmic localization, membrane association, and contraction events in unprecedented detail (Figure 1).

Our findings reveal that CIS^{Sc}-mediated cell death is a controlled process linked to cellular differentiation and environmental adaptation in *Streptomyces*. Moreover, the recruitment of CIS^{Sc} by CisA represents a novel regulatory mechanism distinct from that of other CIS. These insights not only expand our understanding of contractile injection systems in Gram-positive bacteria but also provide a broader evolutionary perspective on their function in multicellular bacterial communities.

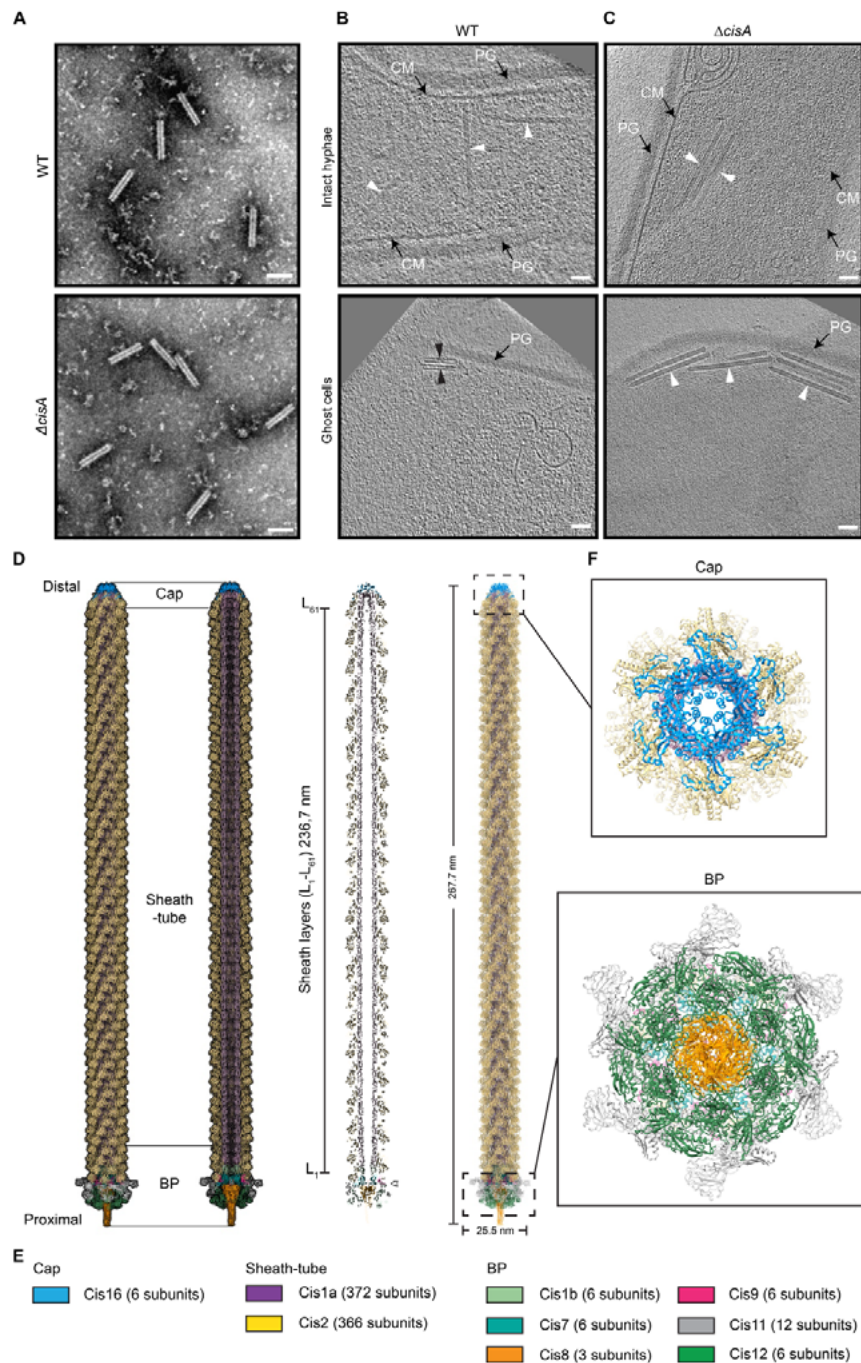


Figure 1: Structure and in situ contraction of the CIS^{Sc} assembly: dependence on $CisA$ and composition revealed by cryoEM. (A) Negative-stain electron micrographs of purified CIS^{Sc} particles from wild-type *S. coelicolor* (WT, top) and the $\Delta cisA$ mutant (bottom), showing that all CIS^{Sc} particles are in a contracted state after purification. Scale bars, 100 nm. (B-C) Representative cryoET tomographic slices (thickness: 11 nm) of vegetative hyphae from *S. coelicolor* WT (B) and $\Delta cisA$ mutant (C), showing intact cells (top) and ghost cells (bottom). In the $\Delta cisA$ mutant, CIS^{Sc} particles are primarily in the extended conformation (white arrows), whereas in ghost cells of the WT, they are mainly contracted (black arrows). PG, peptidoglycan; CM, cytoplasmic membrane. Scale bars, 50 nm. (D-F) CryoEM structure of extended CIS^{Sc} obtained from purified particles of a non-contractile CIS^{Sc} mutant. (D) Composite atomic model shown in surface (left) and ribbon (right) representations. (E) Color-coded subunits of CIS^{Sc} with the corresponding copy numbers for each subunit. (F) Perpendicular views of the cap and baseplate (BP) modules of the CIS^{Sc} model in ribbon representation. Figure adapted from (7).

Références :

1. Lin, Current Opinion in Microbiology **79**, (2024): 102465
2. Basler, *et al.* Nature **483**, (2012): 182–186
3. Coulthurst, Microbiology (Reading) **165**, (2019): 503–515
4. Shikuma *et al.* Science **343**, (2014): 529–533
5. Xu, *et al.* Nat Microbiol **7**, (2022): 397–410
6. Casu, *et al.* Nat Microbiol **8**, (2023): 711–726
7. Casu *et al.* eLife (2025), doi:10.7554/elife.104064.1.

Adresse mail : casub@ethz.ch or bastien.casu@gmail.com

APPRENTISSAGE AUTOMATIQUE POUR LA CRYO-TOMOGRAPHIE : DÉBRUITAGE ET CORRECTION DES CONES MANQUANTS

Valentin Debarnot¹, Vinith Kishore², Ricardo D. Righetto³, Ivan Dokmanic²

¹ CREATIS, Université de Lyon, INSA-Lyon, France

² Department of Mathematics and Computer Science, University of Basel, Switzerland

³ Biozentrum, University of Basel, Switzerland

Session : SDV2 : Cryo-EM moléculaire et cellulaire

Texte de l'abstract :

La tomographie cryo-électronique (cryo-ET) est un outil puissant en biologie structurale et en science des matériaux pour la visualisation 3D des environnements in situ. Pour diverses raisons, les données obtenues par cryo-ET sont bruitées et incomplètes.

L'intelligence artificielle s'est révélée essentielle pour résoudre de nombreux problèmes de traitement des signaux, mais la cryo-ET ne bénéficie pas encore de ces développements. Ceci est dû à deux problèmes : la taille des données qui empêche l'adaptation directe de la plupart des méthodes développées pour la 2D à la cryo-ET, et l'impossibilité d'obtenir les tomogrammes de vérité terrain nécessaires à l'entraînement supervisé.

Nous présentons un algorithme de reconstruction capable de traiter des séries tiltées alignées et de produire un tomogramme débruité et avec dont le cône manquant est corrigé [1].

Les principales caractéristiques de notre contribution [1] sont les suivantes :

- Un algorithme de reconstruction locale qui peut être utilisé sur des dispositifs GPU standard.
- La première méthode d'apprentissage profond entraîné de façon supervisée pour la reconstruction de tomogrammes réels en cryo-ET.
- Des performances robustes sur des données non vues, validées sur le jeu de données difficile EMPIAR-12262 avec des structures entassées.
- Nous publions l'ensemble de données d'entraînement qui contient 20 paires de tomogrammes débruités et corrigés des manques avec leurs séries tiltées correspondantes.

Comparée à la rétroprojection filtrée (FBP), qui ne parvient pas à récupérer les détails fins (en particulier le long de l'axe z), notre méthode correspond aux résultats combinés de CryoCare (débruitage) et d'IsoNet (correction du cône manquant). Notre approche élimine le besoin de régler manuellement les paramètres, de diviser les données ou de former des experts, en fournissant un réseau pré-entraîné pour une reconstruction instantanée sur des GPU standard.

Nous présenterons les différents outils d'apprentissage profond qui peuvent être utilisés en cryoET.

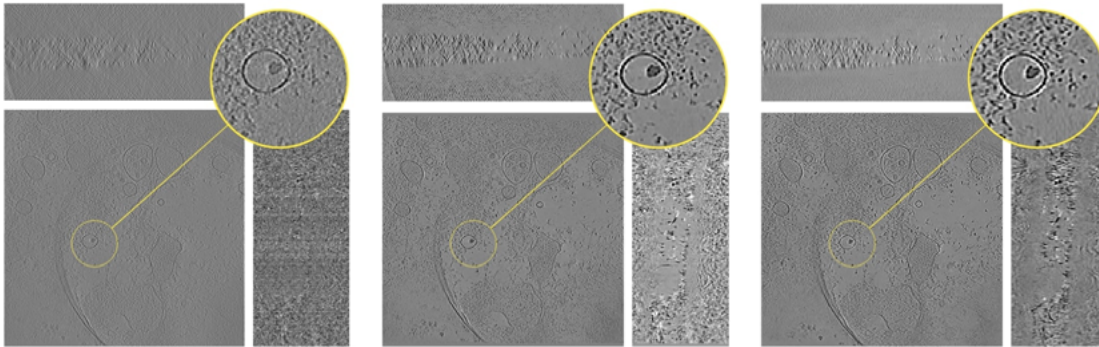


Figure 1 : Left to right: FBP (~2min), Ours (~10min), Cryo-CARE + IsoNet (~24 hours).

Références : exemple de format ci-dessous

[1] Kishore, V., Debarnot, V., Righetto, R. D., Khorashadizadeh, A., Dokmanić, I. End-to-end localized deep learning for Cryo-ET, <https://arxiv.org/abs/2501.15246>

Adresse mail : valentin.debarnot@creatis.insa-lyon.fr

Session SdV : Super-résolution optique, des développements aux applications

Chairman :

- Cyril FAVARD (IRIM, Montpellier)

Résumé :

Les techniques de microscopie de super-résolution optiques permettant de contourner la limite de diffraction (~250 nm) existent depuis bientôt 25 ans. Dès leur mise au point, elles ont été appliquées à l'élucidation de problématiques biologiques, permettant d'étudier l'architecture subcellulaire et macromoléculaire directement au sein des cellules. Ces différentes approches telles que la microscopie de localisation de molécules uniques (SIM), la microscopie d'illumination structurée (SIM) ou l'utilisation de la déplétion d'émission stimulée (STED) continuent d'être étendues et raffinées afin d'améliorer leur robustesse, leur précision, et leur compatibilité avec les échantillons vivants, tandis que de nouvelles méthodes telles que MINFLUX apparaissent. Ce symposium vise à mettre en lumière la synergie entre le développement des approches en microscopie de super-résolution, et leur utilisation poussée par les biologistes. Nous invitons deux acteurs majeurs pour le développement de méthodes (SMLM, RIM) et sélectionnerons sur abstract d'autres développements ou exemple d'applications avancées à des thématiques biologiques.

Planning : jeudi 3 juillet de 13 h 30 à 15 h 30, auditorium Marthe Condat

13 h 30 – 13 h 55	Conférence invitée : Sandrine LEVEQUE-FORT, ISMO, Paris Saclay « Nouvelles approches en microscopie de localisation de molécules uniques »
13 h 55 – 14 h 10	Sarah DANCHE, MCD, Toulouse « Visualisation multi-échelle de la chromatine chez la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> »
14 h 10 – 14 h 25	Nora MELLOUK, Institut Pasteur, Paris « Post-transcription modification de Rab35 par un effecteur bactérien »
14 h 25 – 14 h 35	Jean AGNETTI, entreprise Agilent Technology « Cytation & Lionheart : Automatisation facilitée en temps réel en imagerie biologique pour le vivant »
14 h 35 – 15 h 00	Conférence invitée : Emmanuel SOUBIES, IRIT, Toulouse « Super-résolution : quand optique et algorithmes s'unissent »
15 h 00 – 15 h 15	Raphaël MARCHAND, LVTS, Paris « Super-resolution Live-cell Fluorescence Lifetime Imaging »
15 h 15 – 15 h 30	Cyril FAVARD, IRIM, Montpellier « MAAPS: Multi-Angle Absolute Positioning System using dielectric coverslips enhanced TIRF microscopy »

Nouvelles approches en microscopie de localisation de molécules uniques

Abigail ILLAND¹, Laurent LE¹, Pierre JOUCHET¹, Emmanuel FORT², Sandrine LEVEQUE-FORT¹

¹ Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay, Université Paris Saclay, CNRS UMR8214, 91405 Orsay

² Institut Langevin, ESPCI ParisTech, 1 rue Jussieu, 75005 Paris

Session : Super-résolution optique, des développements aux applications

La microscopie de localisation de molécule unique permet de contourner la limite de diffraction et d'atteindre des échelles d'observation jusqu'alors inaccessibles dans les échantillons biologiques. Cependant, pour comprendre l'organisation subcellulaire à l'échelle nanométrique, de nombreux développements sont encore nécessaires, notamment pour imager des échantillons complexes en 3D et en profondeur, mais aussi pour révéler plusieurs protéines simultanément. Nous développons différentes approches en tirant profit des propriétés intrinsèques des fluorophores.

Pour observer à plus grande profondeur, nous développons une approche où le processus de localisation des molécules uniques, est obtenu sous une illumination structurée variant au cours du temps. Ceci induit une modulation du signal de fluorescence, où la phase de ce signal encode intrinsèquement la position de la molécule. L'information axiale est ainsi extraite par démodulation de la fluorescence. Les fluorophores émettant en régime de molécule unique n'étant actif que sur des temps très courts (10-15 ms), ceci impose de mettre en place une détection synchrone compatible avec une observation champ large basée sur des caméras sensibles mais lentes. Typiquement nous échantillonnons en amont de la caméra la fluorescence modulée via un élément actif (cellules de Pockels ou miroirs galvanométriques) pour mesurer l'intensité de fluorescence pour 4 positions de l'illumination structurée et ainsi extraire la phase et donc la position de chaque molécule (cf Fig. 1). Cette technique appelée ModLoc permet d'imager à plusieurs dizaines de microns en profondeur avec une précision uniforme sous les 7 nm [1], et permet en particulier l'observation d'échantillon complexe (tissu/sphéroïde). ModLoc est compatible avec les approches de spectral demixing, où des fluorophores de spectres très proches (< 30 nm) sont identifiés par une approche ratiométrique. Je montrerais également qu'il est possible d'exploiter directement les propriétés de brillance des fluorophores afin d'obtenir une signature robuste au niveau de la molécule unique [2].

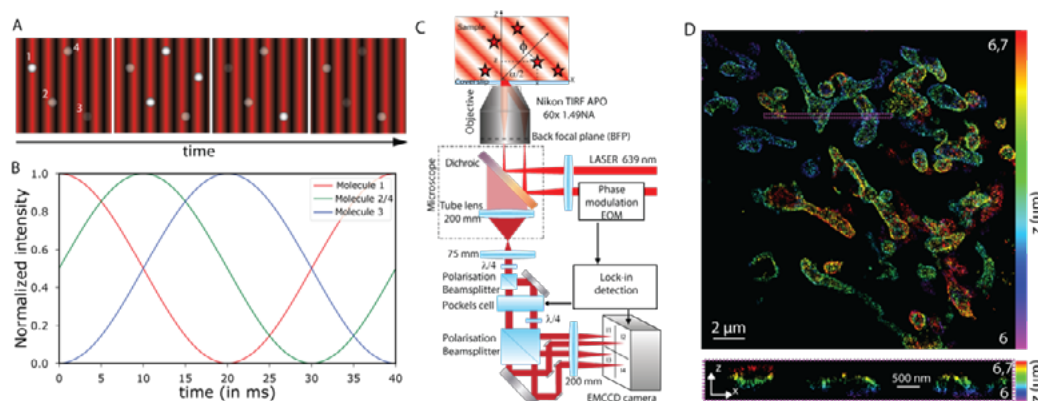


Figure 1: Principe de ModLoc A- Illumination structurée variant au cours du temps, B- Emission de fluorescence modulée dont la phase traduit la position des molécules, C- Implementation expérimentale, D- Exemple d'image ModLoc pour des cellules COS7 dont les mitochondries sont marquées à l'AF647 (dSTORM) et observées à 6 µm en profondeur.

Références : exemple de format ci-dessous

[1] [1] Jouchet et al, Nature Photonics, 2021

[2] Le et al., Biorxiv 2025 <https://doi.org/10.1101/2025.03.02.639924>

Adresse mail : sandrine.leveque-fort@cnrs.fr

MULTISCALE VISUALIZATION OF CHROMATIN IN YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Claudie CARRON^{1,2#}, Valdir GOMES NETO^{1,3,#}, Sarah DANCHÉ^{1#}, Mickaël LELEK⁴, Nana Kadidia MAIGA¹, Isabelle LÉGER-SILVESTRE¹, Thomas MANGEAT⁵, Stéphanie BALOR⁵, Carla C. OLIVEIRA³, Christophe ZIMMER⁴, Frédéric BECKOUËT¹, Christian ROUVIÈRE⁵, Benjamin ALBERT¹, Sylvain CANTALOUBE^{5*}, and Olivier GADAL^{1*}

1: MCD (CBI), Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31000, Toulouse, France

2: present address: Ochs Laboratory, University of Copenhagen; Biotech Research & Innovation Centre (BRIC); Faculty of Health and Medical Science ; Ole Maaløes Vej 5, 2200 Copenhagen, Denmark

3: Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

4: Imaging and Modeling Unit, Department of Computational Biology, Institut Pasteur, Paris, France

5: Centre de Biologie Intégrative (CBI), Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31000, Toulouse, France

#: Equal first authors

Abstract

Chromosome organization is key to genome function, yet its ultrastructure remains elusive. Using super-resolution microscopy (50–250 nm), we mapped chromatin in budding yeast, revealing striking differences between nucleoplasmic and nucleolar regions. While nucleoplasmic chromatin aligns with polymer models, the nucleolus defies predictions—rDNA forms dense clusters that segregate active transcription sites. Correlative microscopy (CLEM) exposed these clusters as yeast fibrillar centers, mirroring metazoan nucleolar architecture. Our work unveils a conserved tripartite nucleolus and challenges classical polymer models of chromatin organization.

Adresse mail : sarah.danche@univ-tlse3.fr

Post-translational targeting of Rab35 by the effector IcsB of *Shigella* determines intracellular bacterial niche formation

Nora Mellouk,^{1,4} Arthur Lensen,^{1,4} Noelia Lopez-Montero,¹ Magdalena Gil,¹ Camila Valenzuela,¹ Kerstin Klinkert,² Gael Moneron,³ Le'a Swistak,¹ David DiGregorio,³ Arnaud Echard,² and Jost Enninga^{1,5}

¹Institut Pasteur, Université Paris Cité, CNRS UMR3691, Dynamics of Host-Pathogen Interactions Unit, 75015 Paris, France

²Institut Pasteur, Université de Paris Cité, CNRS UMR3691, Membrane Traffic and Cell Division Unit, 75015 Paris, France

³Institut Pasteur, CNRS UMR3571, Synapse and Circuit Dynamics Unit, 75015 Paris, France 4

Escape from the bacterial-containing vacuole (BCV) is a key step of *Shigella* host cell invasion. Rab GTPases subverted to in situ-formed macropinosomes in the vicinity of the BCV have been shown to promote its rupture. The involvement of the BCV itself has remained unclear. We demonstrate that Rab35 is non-canonically entrapped at the BCV. Stimulated emission depletion imaging localizes Rab35 directly on the BCV membranes before vacuolar rupture. The bacterial effector IcsB, a lysine N ϵ -fatty acylase, is a key regulator of Rab35-BCV recruitment, and we show post-translation alacylation of Rab35 by IcsB in its polybasic region. While Rab35 and IcsB are dispensable for the first step of BCV breakage, they are needed for the unwrapping of damaged BCV remnants from *Shigella*. This provides a framework for understanding *Shigella* invasion implicating re-localization of a RabGTPase via its bacteria-dependent post-translational modification to support the mechanical unpeeling of the BCV.

References:

Mellouk et al., 2024, Cell Reports 43, 114034 April 23, 2024. Published by Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.114034>

Adresse mail : nora.mellouk@gmail.com

Cytation & Lionheart : Automatisation facilitée en temps réel en imagerie biologique pour le vivant

Jean AGNETTI¹, Damien BRECHET¹

¹ Agilent technology France, 91940 Les Ulis

Session : Session SdV : Super-résolution optique, des développements aux applications

Agilent/Biotek offre deux gammes de microscopie automatisée, le cytation et le lionheart. Le microscope automatisé Lionheart est une plateforme de microscopie ouverte et flexible pour les essais sur cellules vivantes et fixes. La famille Cytation quant à elle est dotée lecture de plaque multimode et de capacités d'imagerie en champ clair épifluorescence, champs clair coloré, y compris la microscopie inversée à champ large, la microscopie droite et les contrôles de température et de gaz pour le travail au long terme sur cellules vivantes. Le lecteur d'imagerie confocale Cytation C10, dernier né de la gamme, embarque en plus un système d'imagerie confocale, offrant ainsi une grande polyvalence et un accès à une très grande variété d'essais. La gamme cytation se caractérise par sa modularité, son évolutivité et son ouverture à la robotisation. En outre, le logiciel Agilent BioTek Gen5 rationalise la capture d'images, la collecte de données et l'analyse puissante des données qualitatives et quantitatives.

Rejoignez-nous pour un examen détaillé de certaines des applications d'imagerie les plus fréquemment demandées et découvrez des approches puissantes pour mener un large éventail d'études de recherche. Nous aborderons les fonctionnalités et capacités de l'instrument permettant l'imagerie cinétique des cellules vivantes : de l'analyse en temps réel des voies de signalisation rapides des RCPG aux effets à long terme induits par le traitement sur la prolifération et la viabilité des cellules. En outre, nous présenterons des techniques d'imagerie confocale automatisées qui permettent une analyse détaillée des modèles d'organes sur puce.

SUPER-RESOLUTION : QUAND OPTIQUE ET ALGORITHMES S'UNISSENT

Emmanuel Soubies¹

¹ IRIT, Université de Toulouse, CNRS

Session : Super-résolution optique, des développements aux applications

Depuis plus de deux décennies, les techniques de microscopie de super-résolution optique ont ouvert de nouvelles perspectives pour la recherche en biologie. Elles s'inscrivent dans le cadre plus large de l'imagerie computationnelle, un domaine où l'optique et le traitement numérique s'allient pour dépasser les limites de résolution des systèmes conventionnels. Dans cet exposé, après avoir rappelé la limite de résolution des systèmes optiques conventionnels, nous présenterons un aperçu des principaux concepts — alliant optique et traitement numérique — qui sont à l'origine des techniques de super-résolution les plus répandues [1,2]. Nous nous focaliserons ensuite sur le cas de la microscopie à illumination structurée, ainsi que sur ses variantes, en mettant en lumière les principales difficultés de mise en œuvre et les stratégies permettant de les surmonter [3].

Références : exemple de format ci-dessous

- [1] Prakash, et al. Philosophical Transactions of the Royal Society **380** (2022).
- [2] Schermelleh et al. Journal of Cell Biology **190.2** (2010) : 165–175.
- [3] Soubies et al. Journal of Microscopy **296.1** (2024) : 94-106.

Adresse mail : emmanuel.soubies@cnr.fr

Super-resolution Live-cell Fluorescence Lifetime Imaging

Raphaël MARCHAND^{1,2,3}, Henning ORTKRASS⁴, Daniel AZIZ^{1,2}, Franz PFANNER^{1,2,5}, Eman ABBAS⁶, Silvio O. RIZZOLI⁶, Wolfgang HUBNER⁴, Adam J. BOWMAN⁷, Thomas HUSER⁴, and Thomas JUFFMANN^{1,2}

¹ University of Vienna, Faculty of Physics, VCQ, A-1090 Vienna, Austria

² University of Vienna, Max Perutz Laboratories, Department of Structural and Computational Biology, A-1030 Vienna, Austria

³ Université Sorbonne Paris Nord and Université Paris Cité, INSERM, LVTS, F-75018 Paris, France

⁴ Biomolecular Photonics Research Group, Faculty of Physics, Bielefeld University, Bielefeld, Germany

⁵ California Institute of Technology, Pasadena, USA

⁶ Department of Neuro- and Sensory Physiology, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany

⁷ Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, USA

Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM) has been used increasingly in life sciences applications for biosensing, as well as multiplexing spectrally overlapping fluorophores [1-2]. Recent combination of FLIM with super-resolution microscopy has brought FLIM information to a spatial resolution beyond the diffraction limit [3-6]. However, the scanning approaches used in these studies limit the spatio-temporal bandwidth product, making these techniques incompatible with live-cell imaging.

Super-Resolution Structured Illumination Microscopy (SR-SIM) is a good compromise between spatial and temporal resolution, with a two-fold improvement in spatial resolution over the diffraction limit, and framerates up to 100 Hz, making it a method of choice for live-cell imaging applications [7]. While the combination of SR-SIM with FLIM has been already investigated [8-9], the limitations of the commercially available wide-field FLIM detectors, in terms of quantum efficiency, number of pixels, and pixel noise, have limited its use, and no super-resolved image in the FLIM channel has been demonstrated yet.

Recently, the Electro-Optic FLIM (EO-FLIM) modality has shown to meet the specifications required for live-cell imaging [10-12]. By using an Electro-optic modulator for temporally gating the fluorescence light, this technique allows to use any commercial sCMOS as a detector, enabling megapixel images to be acquired at video rate, with low pixel noise and high quantum efficiency. Here we combine EO-FLIM with SR-SIM and demonstrate super-resolved FLIMSIM images using this technique [13]. The principle of SIMFLIM will be described, and super-resolved FLIMSIM images of different samples, including live-cell samples (Fig. 1) will be shown and discussed.

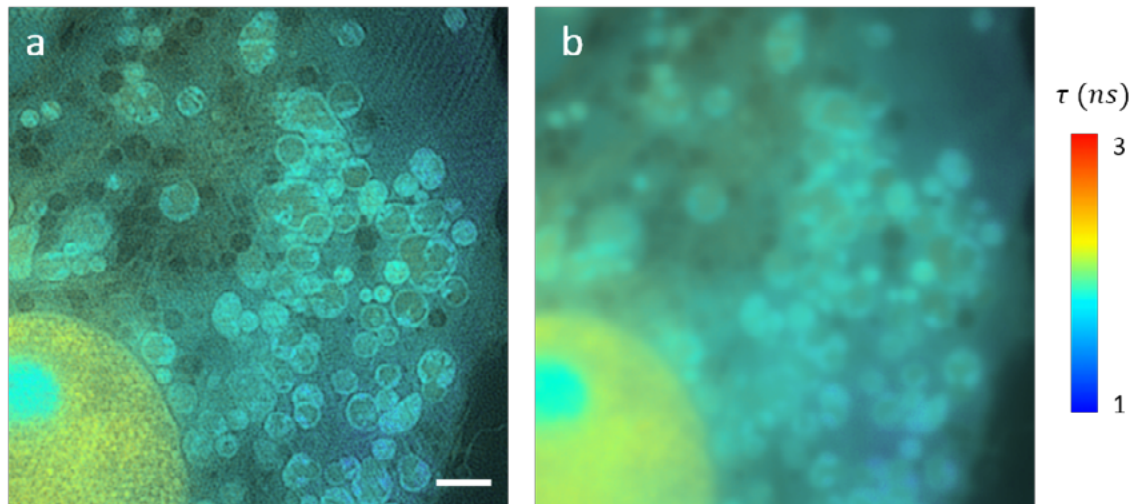


Figure 1: SIMFLIM (a) and wide-field FLIM (b) image of a U2OS live cell stained with MitoTracker Orange CMTMRos. Scale bar: 3 μ m.

References:

- [1] Datta, *et al.* Journal of Biomedical Optics **25.7** (2020): 1-43
- [2] Sarder, *et al.* Bioconjugate Chemistry **26.6** (2015): 963-974
- [3] Aukorius, *et al.* Optics Letters **33.2** (2008): 113-115
- [4] Zhang, *et al.* Biomedical Optics Express **9.9** (2018): 4077-4093
- [5] Castello, *et al.* Nature Methods **16.2** (2019): 175-178
- [6] Thiele, *et al.* ACS Nano **14.10** (2020): 14190-14200
- [7] Wu, *et al.* Nature Methods **15.12** (2018): 1011-1019
- [8] Görlitz, *et al.* Photonics **4.3** (2017): 40-51
- [9] Hinsdale, *et al.* Scientific Reports **11.1** (2021): 4984
- [10] Bowman, *et al.* Nature Communications **10.1** (2019): 4561-4568
- [11] Bowman, *et al.* Science, **380** (2023): 1270-1275
- [12] Knight, *et al.* (2025) preprint at <https://arxiv.org/abs/2501.15012>
- [13] Marchand, Ortkrass, *et al.* (2025) preprint at <https://arxiv.org/pdf/2502.16672>

Adresse mail : raphael.marchand@univ-paris13.fr

MAAPS: Multi-Angle Absolute Positioning System using dielectric coverslips enhanced TIRF microscopy.

R. Gurram^{1,3}, E. Pinel¹, V. Rat¹, A. Moreau², F. Lemarchand², V. Caorsi³, J. Lumeau², D. Muriaux¹, A. Lereu^{2*}, C. Favard^{1*}

1 : *Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier, Montpellier University, CNRS, Montpellier, France*

2 : *Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Med, Institut Fresnel, Marseille, France.*

3 : *Abbelight SAS, Cachan, France*

Session : Super-résolution optique, des développements aux applications

Total Internal Reflection Fluorescence microscopy has been and is still widely used in cell biology. It is historically the first intrinsically super-resolved microscopy as it relies on the use of evanescent waves, which propagate at characteristic lengths around 100 nm in the axial direction to excite the fluorescence. Therefore, it has been extensively used to image cell plasma membrane and its immediate neighborhood. The characteristic axial propagation length (depth of field) of the evanescent wave decreases with increasing illumination angle, making multiangle excitation an absolute distance ruler. To gain in precision, we have developed a dedicated surface enhanced coverslip using dielectric multilayers materials [1,2], that can be resonant at specific angles, enhancing the excitation field. By simply comparing fluorescence intensities at these different angles we can precisely measure the distance of the fluorescent membrane to the coverslip below the diffraction limit, or the diameter of fluorescence nano-objects. We will show numerical simulations predicting the ruler values as a function of the object (flat membrane, vesicles...) and their axial positions and we will show experimental results, performed on model biological objects as well as sub-diffraction size objects in perfect adequation with the simulations.

Références :

[1] A. Mouttou, F. Lemarchand, C. Koc, A. Moreau, J. Lumeau, C. Favard, and A. L. Lereu, "Resonant dielectric multilayer with controlled absorption for enhanced total internal reflection fluorescence microscopy," *Opt. Express* **30**, 15365-15375 (2022)

[2] Patents WO2024175729, WO2023025842

Adresse mail : cyril.favard@irim.cnrs.fr

Session SdV : Imageries 3D cellulaire et tissulaire

Chairmen :

- Loïc LE GOFF (Institut Fresnel, Marseille, photonique)
- Rémi LE BORGNE (Institut Jacques Monod, Paris, électronique)

Résumé :

Le symposium met en lumière les récentes avancées dans le domaine de l'imagerie 3D cellulaire et tissulaire. En repoussant les contraintes liées à l'épaisseur des objets analysés, les développements en microscopie photonique et microscopie électronique permettent d'observer des événements jusque-là peu ou pas accessibles. En microscopie à fluorescence, le symposium explorera les dernières avancées en microscopie à balayage laser (CLSM), microscopie super-résolue et microscopie à feuille de lumière. Le symposium abordera les défis liés à l'imagerie de grands échantillons (comme les embryons) avec une résolution la plus élevée possible, en particulier les difficultés liées aux aberrations optiques et à la lenteur de l'acquisition de grands volumes. En microscopie électronique les apports des techniques d'imageries MEB 3D et de tomographie en microscopie électronique en transmission seront présentées. Ces approches permettent d'étudier l'ultrastructure cellulaire et de l'observer dans un contexte tissulaire. Des experts partageront leurs travaux sur l'utilisation de marqueurs fluorescents pour la visualisation précise des structures cellulaires, ainsi que sur les innovations permettant d'atteindre des résolutions nanométriques. Ce symposium constitue une occasion de présenter les possibilités et les limites de ces techniques d'imagerie, tout en favorisant des discussions sur les applications potentielles dans les domaines de la biologie et de la médecine.

Planning : jeudi 3 juillet de 16 h à 18 h, amphithéâtre Grignard

- | | |
|--------------------------|---|
| 16 h 00 – 16 h 25 | Conférence invitée : Karel Lea Marie MOCAER, Université Heidelberg, Allemagne
<i>« Plonger dans l'ultrastructure d'organismes marins, de l'environnement à l'imagerie 3D »</i> |
| 16 h 25 – 16 h 40 | Lorry MAZZELLA, Institut Fresnel, Marseille
<i>« La microscopie à illumination aléatoire à profondeur de champ étendue, EDF-RIM, permet une imagerie projective super-résolue »</i> |
| 16 h 40 – 16 h 55 | Claire BOULOGNE, I2BC, Gif-sur-Yvette
<i>« FIB-SEM: a versatile tool to explore 3D cell organisation at high resolution »</i> |
| 16 h 55 – 17 h 05 | Denis AKMAN, entreprise ZEISS
<i>« L'apport d'un volume EM (electronic microscope) dans les sciences du vivant : Techniques d'imagerie par coupes sériées pour la reconstruction tridimensionnelle d'échantillons biologiques »</i> |
| 17 h 05 – 17 h 20 | Yousr REKIK, CANTHER, Lille
<i>« L'analyse quantitative par segmentation d'images 3D d'un nouveau modèle préclinique révèle l'hétérogénéité de réponse aux thérapies des cellules cancéreuses »</i> |
| 17 h 20 – 17 h 35 | Marie JOYEAU, IMN, Nantes
<i>« Caractérisation 3D de l'ultrastructure des ostéocytes proches de l'interface avec la moelle osseuse par (cryo-) MEB/FIB »</i> |
| 17 h 35 – 18 h 00 | Conférence invitée : Alexandra FRAGOLA, Université Paris Saclay
<i>« Adaptive optics fluorescence microscopy for in vivo high resolution imaging in depth »</i> |

PLONGER DANS L'ULTRASTRUCTURE D'ORGANISMES MARINS, DE L'ENVIRONNEMENT À L'IMAGERIE 3D

Karel MOCAER¹, Alexandra KERBL¹, Giulia MIZZON², Manuel GUNKEL³, Aliaksandr HALAVATYI³, Anna STEYER⁴, Viola OORCHOT⁵, Martin SCHORB⁵, Charlotte LE KIEFFRE⁶, Daniel P. YEE⁶, Fabien CHEVALIER⁶, Benoit GALLET⁷, Ira MANGELE¹, Sanja Jasek¹, Angelika SVETLOVE⁸, Elizabeth DUKE⁸, Johan DECELLE⁶, Paolo RONCHI², Yannick SCHWAB⁹, Gáspár JÉKELY¹

¹ Center for Organismal Studies, Heidelberg University, Allemagne

² Department of Infectious Diseases, Molecular Virology, CIID, 69120 Heidelberg, Allemagne

³ Advanced Light Microscopy Facility, EMBL Heidelberg, Allemagne

⁴ Imaging Centre, EMBL Heidelberg, Allemagne

⁵ Electron Microscopy Core Facility, EMBL Heidelberg, Allemagne

⁶ Université Grenoble Alpes, CNRS, CEA, INRAE, IRIG-LPCV, Grenoble, France

⁷ Institut de Biologie Structurale (IBS), Université Grenoble Alpes, CEA, CNRS, Grenoble, France

⁸ European Molecular Biology Laboratory, Hamburg Unit c/o DESY, Hamburg, Allemagne

⁹ Electron Microscopy Core Facility and Cell Biology and Biophysics Unit, EMBL Heidelberg, Allemagne

De nombreux organismes présents dans nos environnements aquatiques sont encore sous étudiés. Or, les microalgues contribuent grandement à la fixation de CO₂ et à la production d'O₂ sur notre planète et participent également à l'équilibre de l'écosystème et aux cycles biogéochimiques [1,2]. Caractériser l'ultrastructure de ces micro-organismes dans leur contexte environnemental pourrait contribuer à une meilleure compréhension de leur biologie et permettre d'étudier des organismes encore non cultivables. Cependant, les échantillons environnementaux présentent une large hétérogénéité, les rendant complexes, et les volumes pouvant être imagés en microscopie électronique sont limités. Pour y remédier, nous avons employé une préparation d'échantillons compatible avec la microscopie photonique ainsi que la microscopie électronique en volume, afin d'imager précisément les micro-organismes de notre intérêt [3,4]. Grâce à cette méthode, nous avons pu acquérir via FIB-SEM l'intégralité du volume de dinoflagellés et révéler l'organisation subcellulaire de différentes organelles. L'acquisition de ces volumes en microscopie électronique nous a permis d'apporter de nouveaux éléments sur la biologie des dinoflagellés. Par ailleurs, imager des organismes marins multicellulaires dans leur intégralité en microscopie électronique reste également difficile. Pour ces organismes plus larges, l'array tomography rend possible l'acquisition de volumes importants afin d'étudier l'ultrastructure et finalement la biologie de ces organismes clé.

Références :

[1] Field, *et al.* Science **281** (1998): 237–240.

[2] Jeong, *et al.* Ocean Science Journal **45** (2010): 65-91

[3] Ronchi, *et al.* JCB **220** (2021): e202104069

[4] Mocaer, *et al.* JCS **136** (2023): 261-355

Adresse mail : karel.mocaer@cos.uni-heidelberg.de

Extended-depth of field random illumination microscopy, EDF-RIM, provides super-resolved projective imaging

Lorry MAZZELLA¹, Benoit ROGEZ¹, Guillaume GIROUSSENS¹, Thomas MANGEAT², Jérôme IDIER³, Frédéric GALLAND¹, Simon LABOUESSE⁴, Mehdi SAADAOU⁴, Carla MARTINS¹, Marc ALLAIN¹, Anne SENTENAC¹, Loïc LE GOFF¹

¹ : Institut Fresnel, CNRS, Aix Marseille Université, Centrale Marseille, 13013 Marseille, France,

² : LITC Core Facility, Centre de Biologie Integrative, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31062 Toulouse, France

³ : LS2N, CNRS, Université de Nantes, Nantes, France

⁴ : Aix Marseille Université, CNRS, IBDM, UMR 7288, Marseille, France

Fluorescence imaging has revolutionized biology by enabling the observation of molecular events within live cells and tissues. However, achieving high-resolution imaging of large samples, such as embryos, remains a significant challenge. Structured illumination microscopy (SIM) strikes a favorable balance between spatio-temporal resolution and phototoxicity, but it is sensitive to optical aberrations, limiting its application in thick samples. In contrast, Random Illumination Microscopy (RIM) employs random speckled illuminations to enhance robustness and does not rely on the precise knowledge of illumination patterns.

Extended depth of field (EDF) imaging offers a solution for accelerating large-volume imaging, but it often suffers from background noise and contrast loss due to image projection. In this work, we combine super-resolution techniques in the RIM modality with EDF capabilities.

To perform EDF-RIM, we use fully developed speckles as 3D illuminations. The speckled illumination is then combined with a detection scheme with an extended detection PSF (see scheme of setup in Fig 1A).

We compare EDF-RIM with standard EDF-widefield (Fig. 1B-F) on a human cell labelled for actin. EDF-RIM exhibits superior contrast and resolution, than raw and deconvolved EDF-widefield (Fig. 1D-F). We found that EDF-RIM improves resolution by nearly a factor of 1.7 compared to the deconvolved widefield image.

We further evaluate in Fig. 1G-I the effectiveness of EDF-RIM in tissue imaging by comparing it to 2D-RIM where different planes of the volume are acquired sequentially. We imaged desmosomes from the mouse intestinal epithelium. The structure, approximately 6 μ m deep, could be captured in a single EDF-RIM capture (Fig. 1G). By comparison, it took 14 planes to capture the same structure in conventional 2D-RIM -of which 2 planes are displayed in Fig. 1H,I.

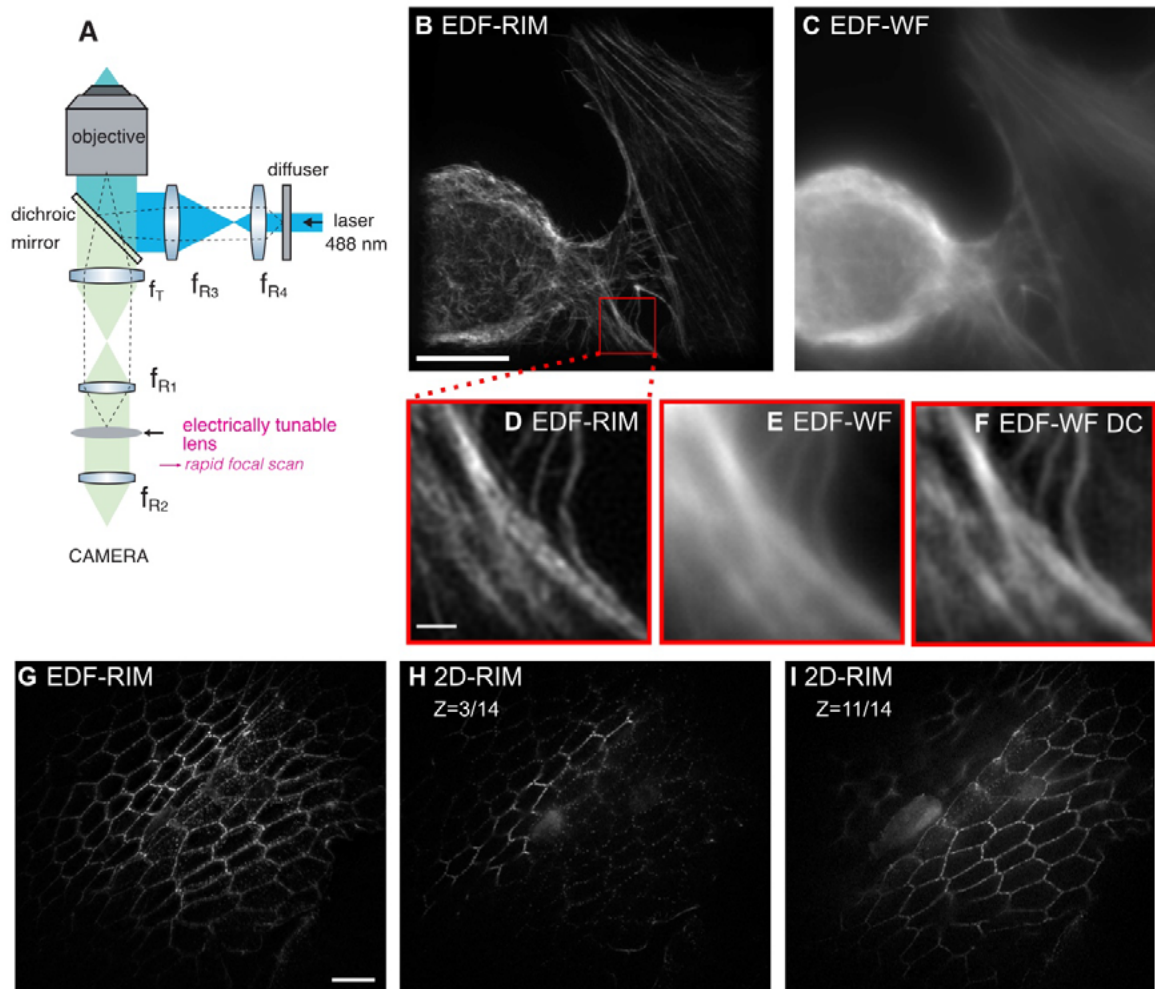


Fig. 1. (A) Setup; (B,C) actin (Alexa-phalloidin-488) of a cultured cell with EDF-RIM and EDF-widefield. (D-F) same cell, zoomed; the deconvolved EDF-widefield is also displayed. (G-I) comparing EDF-RIM with 2D-RIM: it took 14 2D-RIM slices to image a structure imaged in one acquisition with EDF-RIM.

Reference

Mazzella, Mangeat, Giroussens, Rogez, Li, Creff, Saadaoui, Martins, Labouesse, Idier, Galland, Allain, Sentenac, LeGoff (2024). Extended-depth of field random illumination microscopy, EDF-RIM, provides super-resolved projective imaging. DOI: 10.1038/s41377-024-01612-0. *Light, science and applications*

FIB-SEM: A VERSATILE TOOL TO EXPLORE 3D CELL ORGANISATION AT HIGH RESOLUTION

BOULOGNE Claire ^{*1}, NICOLAS VALERIE, DUPAS CYNTHIA, HASSISSENE LYDIA, LECART SANDRINE

¹ I2BC, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France

Electron microscopy is the state-of-the-art technique to study membranes organisation in eukaryotic cells. In the last decade, it has undergone deep changes thanks to the development of revolutionary technologies to allow volume acquisition at nanoscale resolution. SBF-SEM, FIB-SEM and array tomography are now widely used in life sciences to understand cellular mechanisms at the electron microscopy scale.

FIB-SEM is a particularly attractive technique as it bring the best resolution in all dimension (5nm of resolution in the 3 dimensions: x, y and z), and as it is compatible with cryo-fixation approaches, known to allow the best preservation of cellular structures. It can be combined to fluorescence microscopy to target specific and rare events in biological samples.

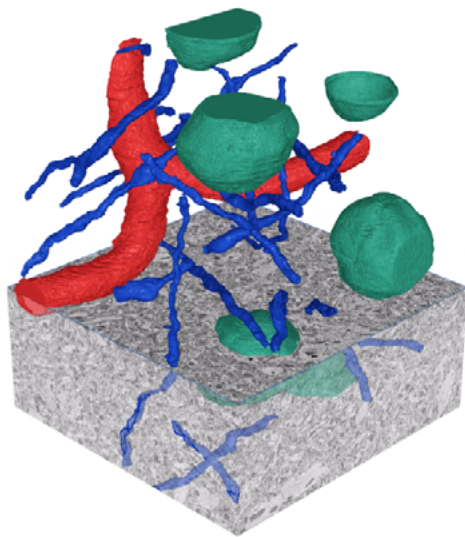
Here we present several examples of the input of FIB-SEM approaches in different biological models (virus replication in mammals, autophagy regulation during development, lipid droplet biogenesis). Constraints and limits will be discussed as the great potential of FIB-SEM for cell exploration. We will demonstrate the input of correlative microscopy to target specific region of interest in resin embedded samples.

**L'apport d'un volume EM (electronic microscope) dans les sciences du vivant :
Techniques d'imagerie par coupes sériées pour la reconstruction tridimensionnelle
d'échantillons biologiques**

Deniz AKMAN

Session : Imageries 3D cellulaire et tissulaire

Cette présentation explore les avancées récentes en imagerie 3D en microscopie électronique, avec un focus particulier sur la technique d'imagerie par coupes sériées développée par ZEISS. Cette méthode innovante permet la reconstruction tridimensionnelle des échantillons biologiques, en combinant une coupe ultrafine automatisée et une acquisition d'images haute résolution. Nous comparerons cette approche aux autres techniques de volume EM. L'objectif est de mettre en lumière les avantages, limites et applications spécifiques de chaque méthode, afin de guider le choix de la technique la plus adaptée selon les besoins en résolution, volume d'analyse et nature des échantillons.



A journey into a mouse brain – Pixel size 6 nm, cutting thickness 25 nm, Dimensions: 43 μ m $\times$ 43 μ m $\times$ 45 μ m (1800 sections) acquired with ZEISS GeminiSEM 460

Adresse mail :

deniz.akman@zeiss.com

L'ANALYSE QUANTITATIVE PAR SEGMENTATION D'IMAGES 3D D'UN NOUVEAU MODÈLE PRÉCLINIQUE RÉVÈLE L'HÉTÉROGÉNÉITÉ DE RÉPONSE AUX THÉRAPIES DES CELLULES CANCÉREUSES

Lisa TERRASSOUX^{1,2,*}, Calypso HAZARD^{1,2,*}, Agathe LARATTE^{1,2}, Joanne BALSAMELLI^{1,2}, Mélanie ARICASA^{1,2}, Elisa FONG^{1,2}, Léo BALAND^{1,2}, Fabrice SONCIN^{3,4}, Giovanni CAPELLO⁵, Claude-Alain MAURAGE⁶, Antony BAZIR⁷, Fabrizio CLERI⁷, Anthony TREIZEBRE⁷, Eric LARTIGAU⁸, Yousr REKIK^{1,2,§}, Samuel MEIGNAN^{1,2,§} and Alessandro FURLAN^{1,2,§}

* These authors contributed equally to this work

§ Correspondence to: yousr.rekik@inserm.fr ; s-meignan@o-lambret.fr ; alessandro.furlan@univ-lille.fr

¹ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, UMR9020-U1277-CANTHER-Cancer Heterogeneity Plasticity and Resistance to Therapies, F-59000 Lille, France

² Tumorigenesis and Resistance to Treatment Unit, Centre Oscar Lambret, F-59000 Lille, France

³ CNRS/IIS/Centre Oscar Lambret/Lille University SMMIL-E Project, CNRS Délégation Hauts-de-France, 43 Avenue le Corbusier, 59800 Lille, France

⁴ CNRS, IRL2820, Laboratory for Integrated Micro Mechatronic Systems, Institute of Industrial Science, University of Tokyo, 4-6-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8505, Japan

⁵ Laboratory of Interdisciplinary Physics (LIPhy), University Grenoble Alpes, CNRS, F-38000, Grenoble, France

⁶ Institut de Pathologie, CHU Lille, 59000, Lille, France

⁷ Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Univ. Polytechnique Hauts-de-France, UMR 8520-IEMN-Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie, 59000 Lille, France

⁸ Oscar Lambret Center, Academic Radiation Oncology Department, Lille, France

Session : Session SdV : Imageries 3D cellulaire et tissulaire

Les gliomes infiltrants de la ligne médiane (DMG pour *Diffuse Midline Glioma*) sont des tumeurs cérébrales pédiatriques agressives au pronostic particulièrement sombre. L'absence de modèles d'étude reproduisant au mieux la physiologie de ces tumeurs constitue un frein majeur au développement et à l'évaluation de nouvelles stratégies thérapeutiques contre les DMG [1].

Dans ce cadre, en intégrant des éléments clés du microenvironnement biophysique de la tumeur connus pour réguler la réponse aux thérapies, nous avons développé un modèle préclinique de DMG-sur-puce original visant à mieux prédire l'efficacité des stratégies antitumorales.

Notre modèle de DMG-sur-puce repose sur un disque 3D composé d'une matrice extracellulaire densément cellularisée. Grâce à un design n'autorisant qu'un apport latéral en oxygène et en nutriments aux cellules, nous avons pu mettre en évidence par microscopie en temps réel l'établissement d'un gradient d'hypoxie, mimant celui présent biologiquement au sein des DMG [2].

En outre, par la mise en place de différentes approches de microscopie optique (microscopie à champ large et microscopie confocale) et d'analyse d'images 3D par segmentation, nous avons caractérisé des changements phénotypiques et de capacités de prolifération des cellules DMG corrélés à un gradient radial d'oxygène et de pH. Un suivi des cellules par vidéo-microscopie nous a permis également d'étudier leurs propriétés migratoires au sein de notre modèle. Fort de cet outil couplé à l'imagerie par microscopie confocale des cellules vivantes, nous avons quantifié la réponse cellulaire aux traitements et réussi à montrer son hétérogénéité spatiale dans notre puce [3].

L'ensemble de ces données valident notre nouveau modèle comme un outil pertinent d'évaluation de l'efficacité de nouvelles stratégies de lutte contre les DMG.

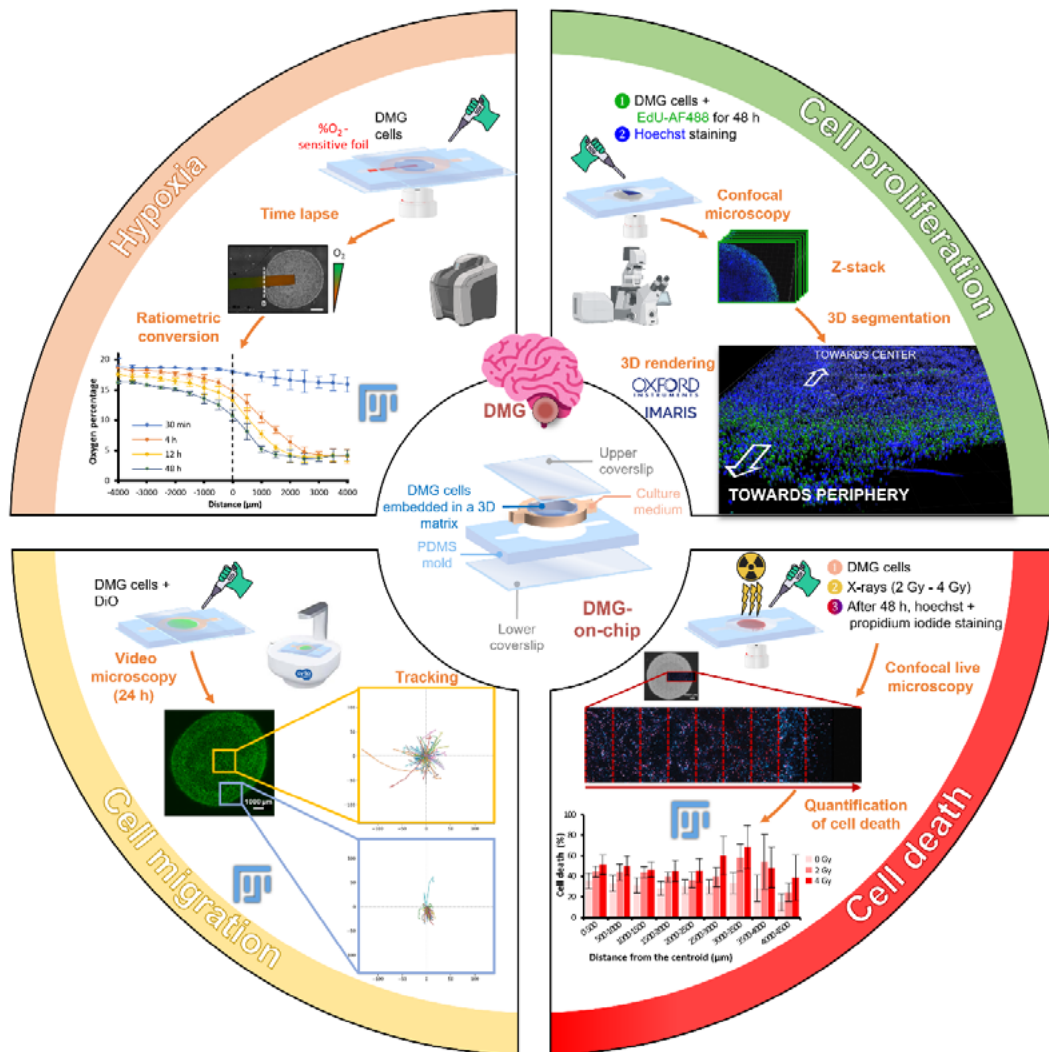


Figure 1 : Modèle préclinique 3D de gliome pédiatrique. Schéma illustrant le dispositif de DMG-sur-puce et les techniques de microscopie utilisées pour caractériser les différents paramètres étudiés.

Références :

- [1] Bailleul, et al. Médecine Sciences **37.2** (2021): 159-166
- [2] Nguyen et al., Oncotarget **8** (2017): 71597-71617
- [3] Terrassoux et al., submitted

Adresse mail : yours.rekik@inserm.fr

CARACTERISATION 3D DE L'ULTRASTRUCTURE DES OSTEOCYTES PROCHES DE LA L'INTERFACE AVEC LA MOELLE OSSEUSE PAR (CRYO-) MEB/FIB

Marie JOYEAU¹, Aekta UPADHYAY¹, Angélique GALVANI², Jean LE BIDEAU¹, Valérie GEOFFROY² et Patricia ABELLAN¹

¹Nantes Université, CNRS, Institut des Matériaux de Nantes Jean Rouxel (IMN), 44000 Nantes, France

²Nantes Université, Oniris, Univ Angers, Inserm, Regenerative Medicine and Skeleton, RMeS, UMR 1229, F-44000 Nantes, France

Session : Session SdV : Imageries 3D cellulaire et tissulaire

Les os sont des structures complexes et dynamiques où le remodelage est orchestré par plusieurs types cellulaires dont les ostéocytes, enclavés dans la matrice minéralisée, en réponse à des stimuli extérieurs^[1]. En vieillissant ou avec une maladie comme l'ostéoporose, le contrôle du remodelage osseux est altéré, conduisant alors à des os fragiles^[2]. Etudier l'ultrastructure et l'organisation des ostéocytes proches de l'interface avec la moelle osseuse grâce à la microscopie aiderait à caractériser les voies de communication entre cellules osseuses.

La microscopie électronique à balayage couplée au faisceau d'ions focalisé (MEB/FIB) permet d'imager des coupes transversales successives d'un échantillon avec une résolution spatiale suffisamment haute (<10nm)^[3] pour observer des délimitations membranaires^[4]. Cette technique offre la possibilité d'analyser la structure interne des cellules tout en imageant simultanément la partie minéralisée et le tissu mou grâce aux interactions électrons-matière.

En conditions cryogéniques (-160°C), et en particulier après congélation à haute pression (HPF), un échantillon biologique est préservé dans un état natif^[5] et est analysable par cryo-MEB/FIB^{[6],[7]}. Cependant, travailler à température cryogénique présente des contraintes : effectivement, la majorité de MEB/FIB ne fonctionnent qu'à température ambiante et des méthodes-clés telles que les techniques de fabrication de lames MET est particulièrement difficile à faire à basse température^[8]. Une solution pour bénéficier de la préservation de la structure permise par HPF et l'observation et la manipulation d'échantillons à température ambiante est d'ajouter la « Freeze-substitution » (FS). À ce jour, la FS a été appliquée pour l'observation par MET d'ostéocytes isolés sans être encore combinée avec la HPF pour l'observation d'ostéocytes *in situ*^{[9],[10]}.

Dans cette présentation nous montrerons notre dernier protocole combinant HPF et FS pour imager des ostéocytes dans la matrice au MEB/FIB^[6]. Nous y parlerons des défis rencontrés avec ces méthodes d'imagerie et des résultats de reconstruction 3D d'ostéocytes intègres et proches de l'interface^[11].

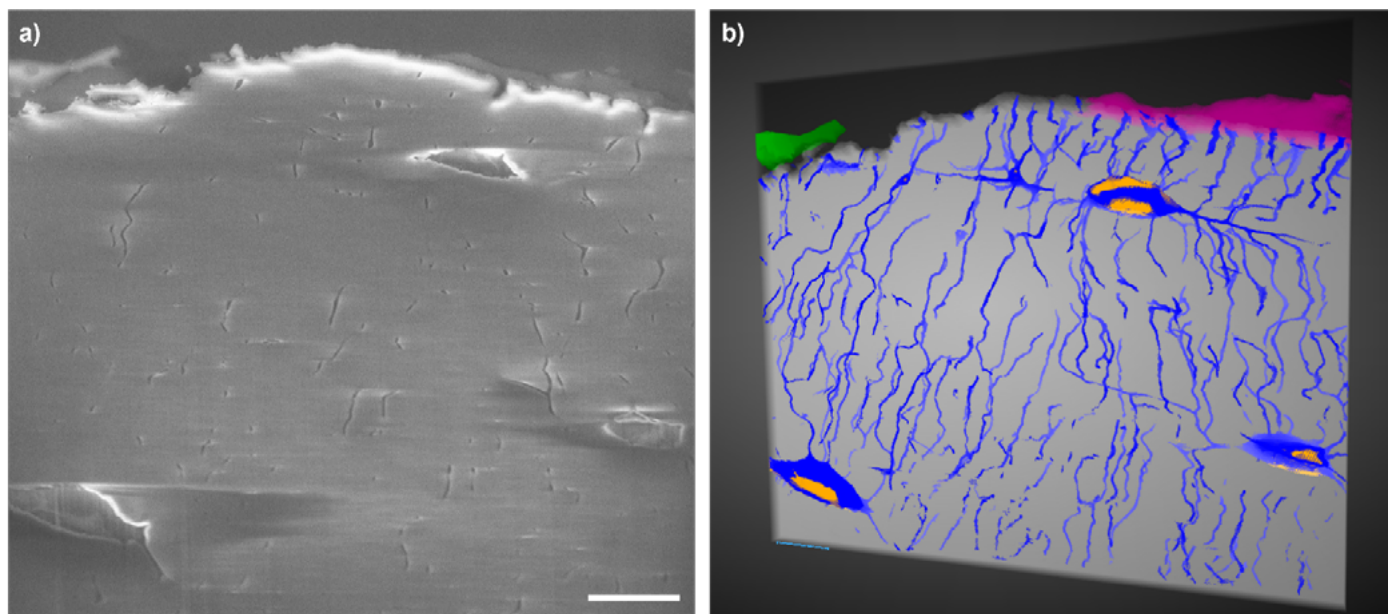


Figure 1 : a) Image brute d'une acquisition 3D par MEB/FIB d'un échantillon d'os proche de l'interface. On peut identifier trois ostéocytes dans la matrice minéralisée et une cellule bordante (en haut à gauche) à la surface ainsi que leurs organites (comme le noyau, circulaire, de la cellule bordante). Barre d'échelle : 5µm. b) Résultat de reconstruction 3D du volume acquis par MEB/FIB sur ce même échantillon après traitement d'images et segmentation semi-automatique sur Dragonfly (ORS, Montréal). Dimensions approximatives du volume reconstruit : 45*39*2 µm.

Références :

- [1] Blair, *et al.* Tissue Eng Part B Rev **23.3** (2017): 268-280
- [2] Feng, *et al.* Annu Rev Pathol **6** (2011): 121-45
- [3] Weiner, *et al.* Nat Rev Endocrinol **17.5** (2021): 307-316
- [4] Schneider, *et al.* Bone **49.2** (2011): 304-11
- [5] Hayles, *et al.* J Microsc **281.2** (2021): 138–56
- [6] Upadhyay, *et al.* Microscopy and Microanalysis **1.28(S1)** (2022): 1486–7
- [7] Raguin, *et al.* Advanced Science **10.22** (2023): 2301231
- [8] Berger, *et al.* Nat Commun **14.1** (2023): 629
- [9] Akisaka, *et al.* Cell Tissue Res **247.3** (1987): 469-75
- [10] Suto, *et al.* Cell Tissue Bank **13.1** (2012): 71–80
- [11] Les auteurs remercient l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) pour le financement du projet PRC OVERBONE (référence : ANR-20-CE18-0015). Ils remercient également la plateforme PLASSMAT (IMN, Nantes) et le Bordeaux Imaging Center (BIC, Bordeaux), membre de l'infrastructure nationale France-Biolmaging soutenue par l'ANR (ANR-10-INBS-04) pour l'accès aux équipements inhérents à la préparation des échantillons et à la microscopie.

Adresse mail : marie.joyeau@cnrs-imn.fr

Session SdV : Imagerie Corrélative et Multimodale

Chairmen :

- Monica FERNANDEZ-MONREAL (IINS Bordeaux)
- Allon WEINER (CIMI Paris)

Résumé :

Les objets d'étude dans les Sciences du Vivant sont généralement si complexes qu'aucune technique d'imagerie ne peut à elle seule les caractériser dans leur intégralité. L'imagerie corrélative et multimodale implique la combinaison de deux ou plusieurs techniques d'imagerie pour recueillir des informations en termes de localisation, de structure, de fonction, de composition chimique et de dynamique, qui ne peuvent être obtenues avec une seule approche d'imagerie. L'objectif de ce symposium est de passer en revue les avancées récentes dans le développement de techniques d'imagerie corrélatives et multimodales, combinant principalement la microscopie optique, la microscopie électronique, la tomographie à rayons X, la microscopie à force atomique et Raman, entre autres.

Planning : vendredi 4 juillet de 8 h 30 à 10 h 30, amphithéâtre Marthe Condat

8 h 30 – 9 h 00	Conférence invitée : Luca COSTA, CBS, Montpellier « AFM correlative et imagerie multimodale avec fluorescence ou rayons X »
9 h 00 – 9 h 12	Claire VALOTTEAU, LIA, Marseille « Corrélation entre la microscopie à force atomique et la microscopie confocale pour comprendre l'évolution des tissus depuis des structures organisées en monocouches jusqu'à des structures multistratifiées perturbées »
9 h 12 – 9 h 24	Aurélien BERTIN, Institut Curie, Paris « Rôle des septins à la membrane par la mise en œuvre de méthodes d'imagerie complémentaires dans l'étude de systèmes reconstitués in vitro »
9 h 24 – 9 h 36	Oriane MOREL, BIA, Nantes « Analyse multimodale et multi-échelle de la structure pariétale de la biomasse végétale pour une meilleure compréhension de sa dégradabilité »
9 h 36 – 10 h 06	Conférence invitée : Stéphane VASSILOPOULOS, Institut de Myologie, Paris « Plongée au cœur de l'endocytose axonale »
10 h 06 – 10 h 18	Arash JAMALI, Plateforme de microscopie électronique, Amiens « Analyse de la modification structurale et chimique du bois pour des applications avancées et des matériaux de stockage de l'énergie à l'aide de la microscopie électronique »
10 h 18 – 10 h 30	Denis JALLET, TBI, Toulouse « Bacterial microcompartments: intracellular nanoreactors that host ethanolamine metabolism in <i>Escherichia coli</i> »

AFM CORRELATIVE ET IMAGERIE MULTIMODALE AVEC FLUORESCENCE OU RAYONS X

Luca COSTA¹, Andreas SANTAMARIA², Christine DOUCET¹, Chloe ZUBIETA², Stephanie HUTIN², Aljosa HAFNER³, Alessandra GIANONCELLI³, Georges KOUROUSIAS³, Pierre-Emmanuel MILHIET¹

¹ Centre de Biologie Structurale, CNRS, INSERM, Université de Montpellier, Montpellier

² Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Végétale, Université de Grenoble, CNRS, CEA, Grenoble

³ Elettra Sincrotrone, Trieste-Basovizza, Italy

Session : Imagerie Corrélatrice et Multimodale

Les couplages simultanés de la microscopie à force atomique (AFM) avec la microscopie et la spectroscopie de fluorescence, ainsi qu'avec les techniques basées sur les rayons X, offrent des approches corrélatives pour l'analyse des systèmes biologiques. Ces intégrations permettent de relier des informations topographiques et mécaniques aux localisations spécifiques et aux signatures spectroscopiques propres aux techniques optiques. Cette combinaison favorise une compréhension des propriétés structurales des échantillons, sur une large gamme d'échelles spatiales et temporelles.

En associant l'AFM à la microscopie de fluorescence, il est possible de localiser précisément des molécules spécifiques tout en mesurant simultanément les propriétés mécaniques. Cette combinaison est particulièrement pertinente pour l'étude des condensats biomoléculaires montrant une séparation de phase liquide-liquide (LLPS, Figure 1) [2]. L'AFM permet d'accéder à la viscosité et à la tension de surface [3], tandis que la fluorescence renseigne sur leur état de phase (liquide ou gel).

L'intégration de l'AFM dans des lignes de lumière d'un synchrotron avec la spectroscopie de fluorescence des rayons X ou la diffraction [4] et réflectivité [5] des rayons X, permet d'obtenir des informations chimiques et structurales complémentaires qui sont *label-free* [6].

La présentation mettra en lumière l'apport des approches multimodales pour l'analyse d'échantillons biologiques, avec l'accent sur les membranes modèles et les condensats biomoléculaires.

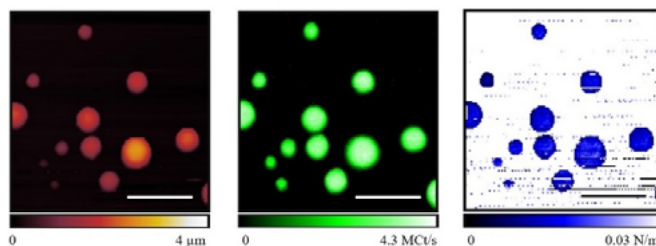


Figure 1 : Gouttelettes de protéines liquides (LLPS) imagées par AFM (à gauche) et par microscopie confocale (au centre) avec la rigidité (spectroscopie de force) à droite. Barre d'échelle = 10 μm.

Références :

- [1] Fernandes, T. F. *et al.* Scientific Reports **10**(1) (2020): 1-12.
- [2] Hutin, S. *et al.* PNAS, **120.28** (2023).
- [3] Santamaria A. *et al.* Biophysical Journal, **123.19** (2024): 3366-3374.
- [4] Vitorino M. *et al.* Journal Of Synchrotron Radiation, **23.5** (2016): 1110-1117.
- [5] Gumi-Audenis B. *et al.* Journal Of Synchrotron Radiation, **22.6** (2015): 1364-1371.
- [6] Hafner A. *et al.* X-Ray Spectrometry, (2024): 1-9.

Adresse mail : luca.costa@cnsr.fr

**CORRELATING ATOMIC FORCE MICROSCOPY AND CONFOCAL MICROSCOPY TO
UNDERSTAND THE EVOLUTION OF TISSUES
FROM MONOLAYERS STRUCTURES
TO PERTURBED MULTISTRATIFIED STRUCTURES**

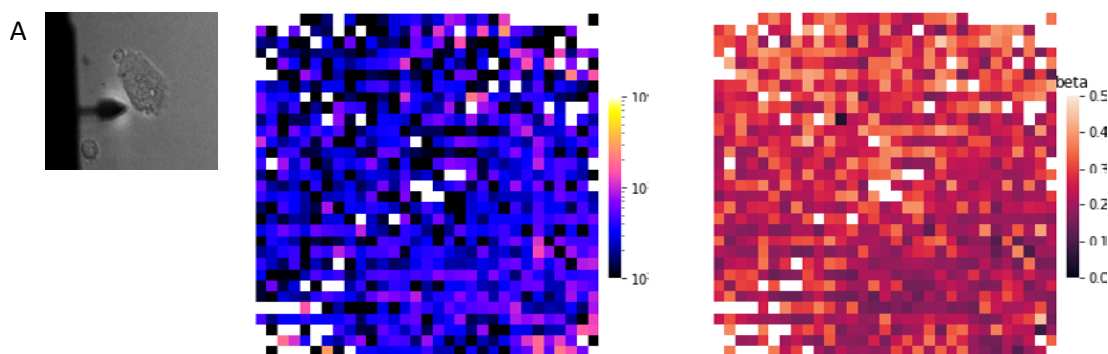
Sujal KATARIA^{1,2}, Dominique MASSEY HARROCHE², Michaël SEBBAGH¹, Yogesh SARAIVANAN¹, Elsa BAZELLIERES², Claire VALOTTEAU¹

¹Aix-Marseille Univ, INSERM, DyNaMo, Turing Centre for living systems, Marseille, France.

²Aix-Marseille Univ, CNRS, IBDM, Turing Centre for living systems, Marseille, France.

Session : Imagerie Corrélatrice et Multimodale

Intestinal epithelial tissues are monolayered structures that display a high degree of organization and characteristic cell shapes. These properties rely on a complex interplay between cell polarity, junctional remodeling, and the actin cytoskeleton dynamics that regulate the monolayer mechanical properties. Knocking out Par6B in a human intestinal epithelial cell line derived from a human colorectal adenocarcinoma colonic (TC7) perturbs this organization and leads to multistatified epithelial structures. Immunostaining and confocal imaging allows us to dissect how Par6B KO impacts cell-cell adhesion and actin cytoskeleton, while atomic force microscopy (AFM) allows us to explore the mechanical properties of these structures. Our preliminary results, based on viscoelastic fits of force curves on cell aggregates, revealed that KO Par 6 mutation induces an overall decrease of the stiffness scale factor (E_0). Mechanical maps also reveal heterogenous areas showing a high stiffness scale factor (E_0) and a more solid like behavior (Fig 1). To better understand these heterogeneities, we are implementing a direct correlation of the mechanical maps and structural observations.



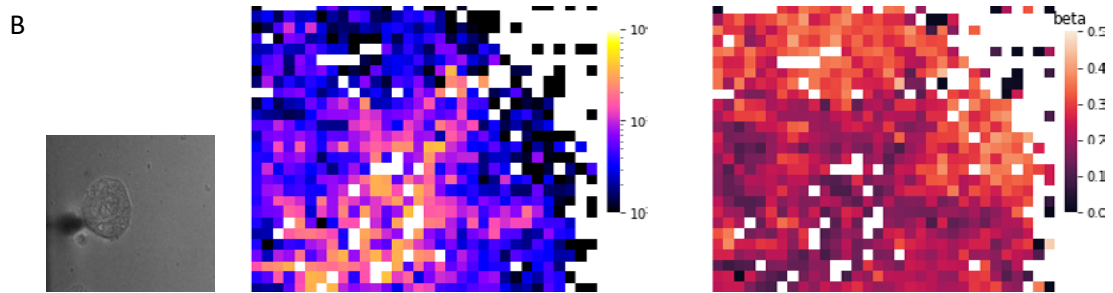


Figure 1 : Nanomechanical characterization of (A) TC7 and (B) KO Par6 cells. KO Par 6 mutation induces heterogeneity in stiffness scale factor (middle) and fluidity (right).

Adresse mail : claire.valotteau@inserm.fr

ROLE OF CYTOSKELETAL SEPTINS AT THE MEMBRANE USING A COMBINATION OF IMAGING METHODS IN CELL-FREE ASSAYS

Brieuc CHAUVIN¹, Koyomi NAKAZAWA¹, Hidayat M'COLO MARI³, Bassam HAJJ¹, Lucas COSTA², Pierre-Emmanuel MILHIET², Stéphanie MANGENOT³, Aurélien BERTIN¹

¹ PCC, UMR168, Institut Curie, Paris, France

² CBS, Montpellier, France

³ Nabi, Univ. Paris Cité, Paris, France

Session : Session SdV : « **Imagerie correlative et multimodale** »

Septins are considered to be the fourth member of the cytoskeleton [1]. Even though they have been less studied than actin and tubulin, septins have key roles in the cell. They are essential for cell division, cilio-genesis, spermatogenesis, neurogenesis and are thus implicated in major diseases (cancers, neurodegenerative diseases, infertility...). Septins interact with multiple partners including actin, microtubules and membranes. There, they localize at micrometer curvatures and can participate in the formation of diffusion barriers to confine membrane-bound proteins.

The interplay of septins with membranes is essential to direct their function in the cell. We have been investigating how septins can interact with lipids, and alter their properties. A set of complementary methods are undertaken from cryo-electron microscopy and tomography (Figure B), scanning electron microscopy (Figure C), fluorescence optical microscopy (Figure A,E), microfluidics design and atomic force microscopy (Figure D). We have designed bottom-up in vitro reconstituted assays to be able to decouple the function of septins from potential partners, in a cell-free environment [2]. Distinct biomimetic lipid membranes (lipid bilayers, monolayers and liposomes (large or giant) were used to address the behavior and key roles of septins from yeasts to mammals in (i) their organization onto lipids, (ii) membrane remodeling and curvature sensitivity, (iii) building diffusion barriers and (iv) altering the mechanical properties of membranes.

Overall, we have demonstrated that septins induce membrane deformations and remodeling in a curvature-sensitive manner [3,4] (Figure A,B, C, D) and that this property is conserved within eukaryotes [5]. Besides, we have observed using single particle tracking how a specific organization of septins constrain membrane bound components in a size dependent manner (Figure D). Using AFM spectroscopy, we have also observed how septins can alter the membrane mechanical properties of liposomes.

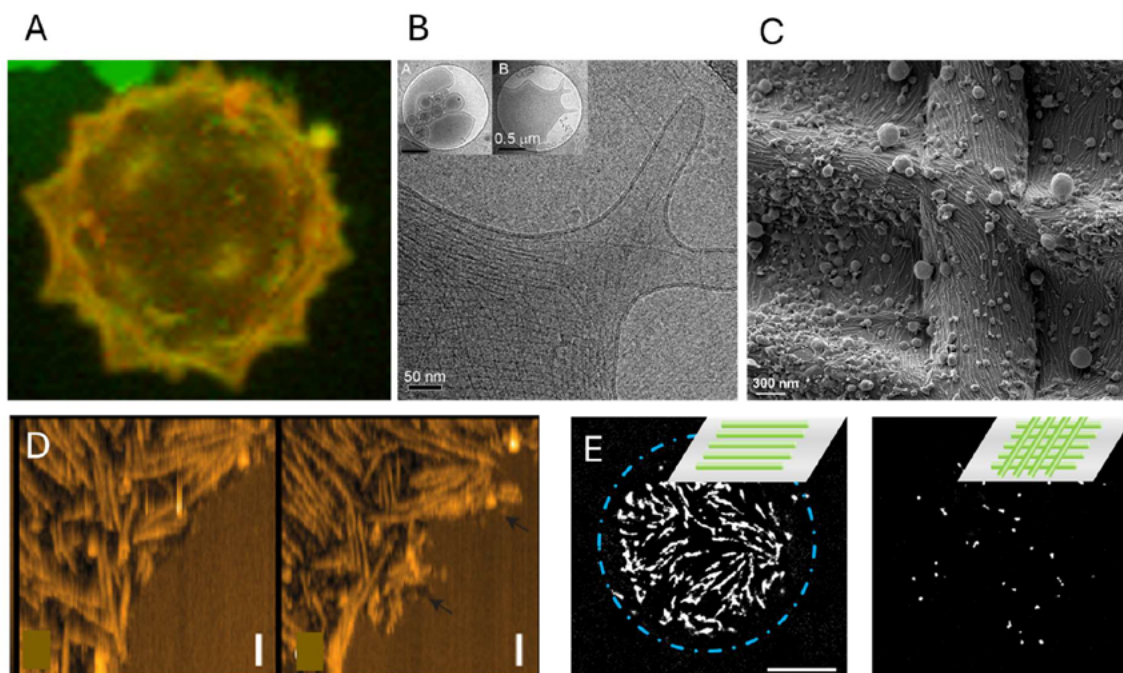


Figure : A. GUV (red) deformed by septins (green), imaged by fluorescence microscopy. Image width: 7 μm B. Liposome deformation upon septin addition imaged by cryo-EM before (insert, right) and after protein addition (insert, right), scale bar: 50 nm. C. SEM image of septin organization on a bilayer bound to a micro-fabricated substrate. Scale bar: 100 nm. D. High speed AFM of consecutive images where septins disrupt a lipid bilayer. Scale bar: 50 nm. E. Accumulation of images over the course of a single particle tracking experiment (20 s total, 1 image every 20 ms), in the presence of parallel sheets (left) or orthogonal septin filaments. Scale bar: 2 μm .

Références :

- [1] Mostowy S, Cossart P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012 Feb 8;13(3):183-94. doi: 10.1038/nrm3284. PMID: 22314400.
- [2] Koyomi Nakazawa, Brieuc Chauvin, Stéphanie Mangenot, **Aurélié Bertin**, Reconstituted in vitro systems to reveal the roles and functions of septins, *J Cell Sci*, 2023 Oct 1;136(19):jcs259448. doi: 10.1242/jcs.259448. Epub 2023 Oct 10.
- [3] Alexandre Beber, Cyntia Taveneau, Manuela Nania, Feng-Ching Tsai, Aurelie Di Cicco, Patricia Bassereau, Daniel Lévy, João T. Cabral, Hervé Isambert, Stéphanie Mangenot, **Aurélié Bertin**. Membrane reshaping by micrometric curvature sensitive septin filaments, *Nat Commun.* 2019 Jan 24;10(1):420. doi: 10.1038/s41467-019-08344-5
- [4] Anthony Vial*, Cyntia Taveneau*, Luca Costa, Brieuc Chauvin, Hussein Nasrallah, Cédric Godefroy, Stéphanie Mangenot, Daniel Lévy, **Aurélié Bertin***, Pierre-Emmanuel Milhiet*, Correlative AFM and fluorescence imaging demonstrates a nanoscale membrane remodeling and spontaneous ring-like and tubular structures formation by Septin, *Nanoscale.* 2021 Aug 7;13(29):12484-12493. doi: 10.1039/d1nr01978c.
- [5] Koyomi Nakazawa, Gaurav Kumar, Brieuc Chauvin, Aurélié Di Cicco, Luca Pellegrino, Michael Trichet, Bassam Hajj, João Cabral, Anirban Sain, Stéphanie Mangenot, **Aurélié Bertin**, A human septin octamer complex sensitive to membrane curvature drives membrane deformation with a specific mesh-like organization, *JOCS*, 2023, 136(11): jcs260813, doi: 10.1242/jcs.260813

Adresse mail : aurelie.bertin@curie.fr

Multi-modal and multi-scale analysis of the parietal structure of plant biomass for a better understanding of its degradability

Oriane MOREL^{1,2}, Mathieu FANUEL^{1,2}, David LEGLAND^{1,2}, Hélène ROGNIAUX^{1,2}, Angéline D'ORLANDO^{1,2}

¹ Biopolymères Interactions Assemblages, UR1268 BIA, INRAE, Nantes, France.

² PROBE research infrastructure, BIBS Facility, INRAE, Nantes, France.

Session : Imagerie Corrélatrice et Multimodale

In a context where biomass valorization plays a key role in sustainable development and renewable energy production strategies, it is crucial to better understand its structure in order to identify the factors that affect its degradability. The plant cell wall, which is the main component of lignocellulosic biomass, consists of several major polymers, including cellulose, lignins, hemicelluloses and pectins. While their quantities and proportion can be determined by destructive chemical analysis, the spatial distribution of these components and their interactions at the nanometer scale remain poorly understood. Yet these are crucial factors in predicting and improving the efficiency of biomass transformation processes, particularly in the bioenergy and biobased materials sectors.

In order to address these challenges, we are employing advanced imaging techniques to explore the structure of the plant wall at different scales. In this study, three complementary imagery methods are used: atomic force microscopy (AFM)¹ which enables topographical and mechanical characterization at the nanometric scale, Raman spectroscopy¹ which provides information on chemical composition and molecular organization, and mass spectrometry imaging² which enables the identification and localization of specific biomolecules, in this case polysaccharides and detect local enzymatic activity.

However, each technique imposes specific constraints regarding sample preparation and data treatment. Therefore, the challenge in this work is to develop an original correlative methodological approach implementing all three methods on a single object to obtain a more comprehensive and multiscale view of parietal architecture.

To develop this approach, we are applying these methods to maize stem sections from two genotypes with contrasting levels of recalcitrance to degradation. This comparison will enable us to identify the structural parameters influencing biomass digestibility and optimize analysis conditions for better characterization of plant cell walls.

Références :

[1] Reynoud, *et al.* New Phytol **238** (2023) :20233-2046

[2] Leroy, *et al.* Bioresour Technol **353** (2022)

Funding: French ANR agency, PEPR B-BEST FillingGaps project (ANR-23-PEBB-0006)

Adresse mail : oriane.morel@inrae.fr

PLONGEE AU CŒUR DE L'ENDOCYTOSE AXONALE

Florian Wernert^{1†}, Satish Babu Moparthi^{2†}, Florence Pelletier¹, Jeanne Lainé³, Eline Simons¹, Gilles Moulay², Fanny Boroni-Rueda¹, Nicolas Jullien¹, Sofia Benkhelifa-Ziyat², Marie-Jeanne Papandréou¹, Christophe Leterrier^{1*‡}, Stéphane Vassilopoulos^{2*‡}

¹ Aix Marseille Université, CNRS, INP UMR7051, NeuroCyto, 13005 Marseille, France.

² Sorbonne Université, INSERM, Institute of Myology, Centre of Research in Myology, UMRS 974, Paris, France.

³ Sorbonne Université, Department of Physiology, Faculty of Medicine Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Session : Imagerie Corrélatrice et Multimodale

L'endocytose est un processus cellulaire essentiel permettant l'internalisation de composants extracellulaires et la régulation de la membrane plasmique. Dans les neurones, elle est classiquement décrite comme étant majoritairement active au niveau des dendrites et du corps cellulaire, régions spécialisées dans la réception et l'intégration de l'information synaptique. L'axone, en particulier son segment initial (AIS), était jusqu'ici considéré comme relativement dépourvu d'activité endocytaire. Grâce à une approche de microscopie corrélatrice combinant la super-résolution optique STORM et la microscopie électronique sur répliques de platine (PREM), nous avons remis en question cette vision. Nos résultats révèlent une nano-architecture inédite de l'AIS, constellée de puits de clathrine, structures typiquement impliquées dans l'endocytose, qui en condition basale restent stables et immobiles à la surface membranaire. Cependant, en réponse à une stimulation neuronale soutenue, notamment via les récepteurs NMDA, ces puits sont internalisés grâce à un mécanisme dépendant de l'actine branchée. Cette endocytose au niveau de l'AIS est finement régulée par l'activité neuronale. De plus, nous montrons que ces puits de clathrine se forment préférentiellement dans des zones localement dépourvues du réseau périodique actine-spectrine, caractéristique de l'AIS. La perturbation de ce cytosquelette périodique favorise leur apparition, suggérant un rôle clé du cytosquelette dans le contrôle spatial de l'endocytose axonale.

Ces découvertes redéfinissent notre compréhension de la dynamique membranaire dans les axones et mettent en évidence un mécanisme d'endocytose jusque-là insoupçonné au sein du neurone. Elles ouvrent également de nouvelles perspectives sur le rôle de l'endocytose axonale dans la plasticité neuronale et la physiopathologie, notamment dans le contexte de troubles neurologiques liés à une dérégulation du trafic membranaire.

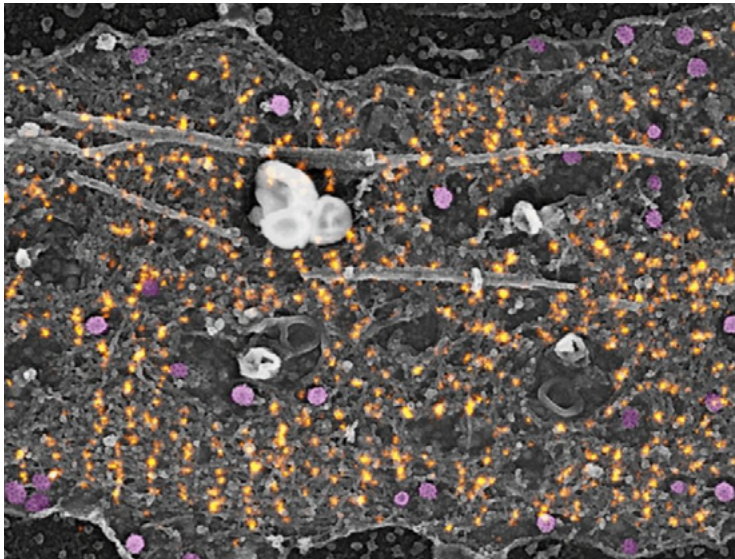


Figure 1 : Nanoscopie des puits recouverts de clathrine et de l'endocytose au segment initial de l'axone. Le long du segment initial de l'axone (en haut à gauche), des puits recouverts de clathrine (en magenta sur la vue corrélative super-résolution STORM/microscopie électronique PREM, en bas à gauche) se forment dans les clairières de l'échafaudage périodique de spectrine (en orange). L'endocytose de ces puits stables à l'intérieur des clairières est déclenchée après une stimulation par le NMDA via la polymérisation de nids d'actine ramifiés (en bleu sur les images en microscopie électronique et les schémas, à droite).

Références :

1. Vassilopoulos S, Gibaud S, Jimenez A, *et al.* Ultrastructure of the axonal periodic scaffold reveals a braid-like organization of actin rings. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 5803.
2. Wernert F, Moparthy SB, Pelletier F, *et al.* The actin-spectrin submembrane scaffold restricts endocytosis along proximal axons. *Science* 2024 ; 385 : eado2032.

Adresse mail : s.vassilopoulos@institut-myologie.org

INSIGHTS INTO STRUCTURAL AND CHEMICAL MODIFICATION OF WOOD FOR ENHANCED MATERIAL AND ENERGY STORAGE APPLICATIONS USING ELECTRON MICROSCOPY

Wissal LAABAR¹, Da HUO¹, Joséphine Rezkallah¹, Justine JEAN¹, Philip D Evans² and Arash JAMALI³

¹Laboratoire de Réactivité et de Chimie des Solides (LRCS), UMR CNRS 7314, Hub de l'Energie, Université de Picardie Jules Verne, 15 rue Baudelocque, 80039, Amiens Cedex 1, France

²Department of Wood Science, University of British Columbia, Vancouver, BC V6T 1Z4, Canada

³Plateforme de Microscopie Electronique de l'Université de Picardie Jules Verne, Hub de l'Energie, 15 rue Baudelocque, 80 039 AMIENS cedex 1, France

Session: Life sciences: Correlative and Multimodal Imaging

Wood as a biomaterial has a hierarchical structure, from its cellular architecture to molecular components, making it an intriguing subject for multimodal microscopy studies. This presentation highlights the essential role of electron microscopy in uncovering structural transformations of wood during two processes: plasma-induced modification and pyrolysis of copper-treated wood into hard carbon for energy storage applications.

In the first study, scanning electron microscopy (SEM) and chromatic confocal profilometry, supplemented with wet chemistry and FTIR analyses, examined cell types and wall layers of cold plasma-modified wood. These techniques revealed preferential holocellulose etching and lignin surface enrichment, offering insights into the differential susceptibility of wood polymers. Increased porosity and cell wall degradation observed at high resolution were linked to improved surface properties, including adhesion and chemical reagent accessibility [1].

In the second study, SEM, transmission electron microscopy (TEM), and energy-dispersive X-ray spectrometry (EDX) were combined with X-ray diffraction, Raman spectroscopy, thermogravimetric analysis (TGA), and differential scanning calorimetry (DSC) to investigate the microstructural evolution of copper-treated wood into hard carbon through pyrolysis, as well as its suitability for use as an anode material in batteries. SEM revealed copper particle distribution and carbon whisker formation in wood, while TEM detailed hard carbon and carbon nanotube ultrastructure, highlighting tunable porosity and interlayer spacing of the materials. The effect of these features on the performance of hard carbon as anode materials in sodium-ion battery (SIB) was evaluated using half-cell galvanostatic cycling tests [2].

Together, these studies demonstrate the power of electron microscopy, when coupled with complementary analytical techniques, to visualize wood's structural evolution under diverse treatments. By providing critical insights into wood's transformation at micro- and nanoscale levels, these techniques enable innovations in sustainable materials and renewable energy applications.

[1] Jamali, *et al.* Journal of Wood Chemistry and Technology **42.5** (2022): 381-394

[2] Laabar, *et al.* Industrial Crops and Products **230** (2025): 121156

E-mail Adresse : arash.jamali@u-picardie.fr

BACTERIAL MICROCOMPARTMENTS: INTRACELLULAR NANOREACTORS THAT HOST ETHANOLAMINE METABOLISM IN *ESCHERICHIA COLI*

Denis JALLET¹, Léa JASSE¹, Vanessa SOLDAN², Ramteen SHAYAN², Stéphanie BALOR², Pierre MILLARD¹, Stéphanie HEUX¹

¹ Toulouse Biotechnology Institute, Université de Toulouse, CNRS, INRAE, INSA, Toulouse

² Plateforme de Microscopie Electronique Intégrative, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse

Bacterial microcompartments (BMCs) are self-assembling protein megacomplexes composed of a semipermeable shell that encapsulates an enzymatic core [1]. BMCs function as intracellular nanoreactors by spatially isolating specific pathways within the cytosol and sequestering toxic (or volatile) intermediates. Although approximately 20% of sequenced bacterial genomes contain operons encoding putative BMCs, few have been thoroughly characterized.

Our group studies how BMCs contribute to fitness, focusing on *Escherichia coli* as a model organism. Ethanolamine is an abundant substrate within the gut environment. Most *E. coli* strains natively possess an *ethanolamine* utilization (*eut*) operon that contains all the genetic elements required to produce Eut BMCs. We are investigating the function of these Eut BMCs in both laboratory strains and commensal isolates.

We have developed an interdisciplinary approach to do so [2], incorporating techniques of microscopy (fluorescence microscopy, electron cryotomography (**Figure 1**)), synthetic biology (MoClo, genome editing), analytical chemistry (1H-NMR, LC-MS), systems biology (proteomics, 13C-fluxomics) and modelling (flux balance analysis, isotopic models). Using it, we have demonstrated that *E. coli* natively produces well-formed and functional Eut BMCs. These Eut BMCs act as orthogonal cytosolic modules, enabling ethanolamine catabolism with minimal proteome reorganization. Specifically, Eut BMCs convert ethanolamine into carbon and nitrogen sources usable for biomass production while also generating significant metabolic overflows.

Our work provides a quantitative molecular and functional understanding of the native Eut BMC system. We are now interested in characterizing how bacteria compete for ethanolamine utilization in the gut environment.

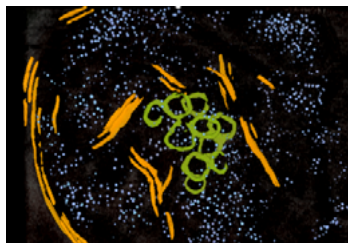


Figure 1: Electron cryotomography followed by 3D segmentation showing the cellular membranes (orange), ribosomes (blue) and native Eut BMCs (green) in *E. coli* K-12 W3110.

Références :

- [1] Kerfeld, *et al.* Nature Reviews Microbiology **16** (2018) 277
- [2] Jallet, *et al.* mSystems **9** (2024) e00750-24

Adresse mail : denis.jallet@insa-toulouse.fr

SESSIONS SCIENCES DE LA MATIÈRE

Session SdM : Multitechniques - approches multiphysiques

Chairmen :

- Stéphanie REYNAUD (Laboratoire Hubert Curien, St Etienne)
- Lorenzo RIGUTTI (GPM Rouen)

Résumé :

Le symposium « multitechniques / approche multiphysique » du congrès de la Société Française de Microscopie s'intéresse aux aspects méthodologiques du développement instrumental des techniques multiphysiques. L'objectif est de corréler et/ou de démontrer le lien entre les analyses structurales et les propriétés d'un matériau, d'une surface ou d'une interface. Les méthodes peuvent être couplées ou corrélées à d'autres techniques pour établir des liens entre structure et propriétés, telles que des caractéristiques optiques, électriques ou mécaniques.

Il aborde la définition de méthodes de corrélation, qu'elles soient ex situ ou in situ, ainsi que la préparation ad hoc d'échantillons. Les techniques envisagées comprennent les microscopies MET, STEM, MEB, FIB/MEB, SAT et à sonde locale.

Planning : mercredi 2 juillet de 13 h 30 à 15 h 30, auditorium Marthe Condat

- | | |
|--------------------------|---|
| 13 h 30 – 13 h 55 | Conférence invitée : Lucile JOLY-POTTUZ, MATEIS, Lyon
<i>« Apport des essais nanomécaniques in situ dans un microscope électronique en transmission à l'étude des céramiques : de la préparation des échantillons au traitement des données »</i> |
| 13 h 55 – 14 h 10 | Anastasiia WALRAVE, IM2NP, Marseille
<i>« Nucléation de dislocations dans le ZnO sous compression: microscopie électronique à transmission et simulations atomistiques »</i> |
| 14 h 10 – 14 h 25 | Clémentine FELLAH, LGL-TPE, Lyon
<i>« Apport de la microscopie 3D automatisée pour contraindre les modèles de structure interne des satellites de glace des planètes géantes »</i> |
| 14 h 25 – 14 h 35 | Stavros NICOLOPOULOS, entreprise Eloise SAS (Nanomegas)
<i>« Études dynamiques 4D-SPED in situ (cartographies d'orientation et contraintes en combinaison avec liquide/gaz/corrosion) des matériaux avancés »</i> |
| 14 h 35 – 15 h 00 | Conférence invitée : Gwénolé JACOPIN, Institut Néel, Grenoble
<i>«LEDs UV-C à base de nanofils AlN : amélioration de l'efficacité par des caractérisations multiéchelles»</i> |
| 15 h 00 – 15 h 15 | Cléo SANTINI, CEMES, Toulouse
<i>« Etude des propriétés optiques et structurales de nanolasers à l'échelle nanométrique »</i> |
| 15 h 15 – 15 h 30 | Williams LEFEBVRE, GPM, Rouen
<i>« Sonde atomique tomographique et Microscopie électronique en transmission unifiées en un même instrument »</i> |

Apport des essais nanomécaniques *in situ* dans un microscope électronique en transmission à l'étude des céramiques : de la préparation des échantillons au traitement des données

Lucile Joly-Pottuz^{1*}, Annie Malchère¹, Karine Masenelli-Varlot¹

¹ INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, MATEIS, UMR5510, 69621, Villeurbanne, France

**lucile.joly-pottuz@insa-lyon.fr*

Les essais mécaniques à petite échelle dans un microscope électronique en transmission ont révélé un comportement totalement inédit pour les matériaux céramiques connus depuis des siècles pour leur caractère fragile. Des nanoparticules d'alumine soumis à des essais de nanocompression *in situ* MET présentent un caractère plastique en se déformant comme des crêpes à température ambiante [1]. Ces observations ont été le précurseur d'essais pour mieux étudier le comportement plastique des céramiques à petite échelle. Le couplage des essais nanomécaniques *in situ* MET avec des outils de modélisation par éléments finis [2], de simulation numérique [3] a permis d'identifier les mécanismes de plasticité dans des alumines ou des nanocubes de MgO. Les essais de nanocompression et de traction ont montré également une forte plasticité dans des films minces d'alumine amorphe [4]. Le développement d'essais sous atmosphère contrôlée dans un ETEM (microscope électronique en transmission environnemental) ouvre aujourd'hui de nouvelles perspectives. Il est, par exemple, possible de comparer le comportement plastique de nanocubes de CeO₂ ou de Ce₂O₃ ou de tenir compte de l'environnement [5].

Cette contribution présentera les développements réalisés sur les essais nanomécaniques *in situ* MET mais également sur la préparation d'échantillons (par FIB notamment) et le traitement des données qui sont des points clés pour ce type d'essais, en se focalisant sur les films minces d'alumine amorphe et des lames minces extraites de composites céramiques.

[1] Calvié E.; Joly-Pottuz L.; Esnouf, C., Clement P., Garnier V., Chevalier J., Jorand Y., Malchère A., Epicier T., Masenelli-Varlot K., Real time TEM observation of alumina ceramic nano-particles during compression, Journal of the European Ceramic Society, vol. 32 (10), 2012, pp. 2067-2071

[2] Calvié E., Réthoré J., Joly-Pottuz L., Meille S., Chevalier J., Garnier V., Jorand Y., Esnouf C., Epicier T., Quirk J.B., Masenelli-Varlot K., Mechanical behavior law of ceramic nanoparticles from transmission electron microscopy *in situ* nano-compression tests, Materials Letters, 119, 2014, pp. 107-110

[3] Issa I., Joly-Pottuz L., Amodéo J., Dunstan D., Esnouf C., Réthoré J., Garnier V., Chevalier J., Masenelli-Varlot K., From dislocation nucleation to dislocation multiplication in ceramic nanoparticle, Materials Research Letters, 2021, 9 (6), pp.278-283

[4] Frankberg E.J., Kalikka J., García Ferré F., Joly-Pottuz L., Salminen T., Hintikka J., Hokka M., Koneti S., Douillard T., Le Saint B., Kreiml P., Cordill M.J., Epicier T., Stauffer D., Vanazzi M., Roiban L., Akola J., Di Fonzo F., Levänen E., Masenelli-Varlot K., Highly ductile amorphous oxide at room temperature and high strain rate, Science, 2019, 366 (6467), 864-869

[5] Joly-Pottuz L., Zhang R., Albaret T., Epicier T., Jenei I., Cobian M., Stauffer D., Masenelli-Varlot K., CeOx elastic properties: an *in situ* ETEM nanocompression study, JOM, 2024, 76: 2326-2335

[6] Remerciements au CLYM pour l'accès aux microscopes. Ces travaux ont été financés par le Labex IMUST (projet Nanodef), l'ANR (projets ANR-18-CE42-0009 et ANR-20-CE08-0008-03), le programme polonium (projet 40530UG), le CSC (bourse de thèse).

DISLOCATION NUCLEATION IN ZNO UNDER COMPRESSION: TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY AND ATOMISTIC SIMULATIONS

Anastasiia WALRAVE¹, Jonathan AMODEO¹, Solène COMBY-DASSONNEVILLE¹, Michaël TEXIER¹

¹ Aix Marseille Univ, Univ Toulon, CNRS, IM2NP UMR 7334, 13397 Marseille, France

Session : Session SdM : Multitechniques - approches multiphysiques

Zinc oxide (ZnO) is a compound semiconductor widely recognized for its electronic, optical, and piezoelectric properties, which enable diverse applications from optoelectronics to energy harvesting. Like other II-VI semiconductors, ZnO exhibits intriguing connections between electronic and structural properties, particularly regarding dislocation behavior (electroplasticity, photoplasticity, dislocation currents, etc.). While the structure of grown-in defects in ZnO has been extensively studied [1-3], the nucleation mechanisms of dislocations and stacking-faults under external load remain poorly understood [4]. In particular, questions persist about the relative activities of the different slip systems and their role in strain accommodation – knowledge crucial for manipulating dislocation populations and thereby controlling ZnO's properties.

This work investigates elementary deformation mechanisms in ZnO, focusing on prismatic and pyramidal slip systems through combined experimental and numerical approaches. FIB-machined ZnO micropillars were subjected to uniaxial displacement-controlled compression using a nanoindenter with a flat punch. The deformed specimens were characterized using conventional and high-resolution transmission electron microscopy (CTEM and HRTEM) to identify active slip systems and analyze dislocation microstructures. In parallel, atomistic simulations of generalized stacking fault (GSF) energies were conducted and a model was proposed to better interpret experimental observations.

Références :

- [1] Nakamura *et al.*, Crystals **8** (2018) : 127
- [2] Iwanaga *et al.*, Phys. Status Solidi A **38** (1976) : K119-K122
- [3] Li *et al.*, Acta Mater. **175** (2019) : 457-465
- [4] Sung *et al.*, Appl. Phys. Lett. **102** (2013) : 241904

Adresse mail : anastasiia.walrave@univ-amu.fr

APPORT DE LA MICROSCOPIE 3D AUTOMATISÉE POUR CONTRAINDRE LES MODÈLES DE STRUCTURE INTERNE DES SATELLITES DE GLACE DES PLANÈTES GÉANTES

Clémentine FELLAH¹, Camille DELARUE¹, Victor TRILLAUD², Cyril LANGLOIS², Jérôme ADRIEN²,
Soukalo DEMBELE³, Bruno REYNARD¹

¹ Laboratoire de Géologie de Lyon, Univ Lyon, ENS Lyon, Univ Lyon1, CNRS, France

² Univ Lyon, INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, MATEIS, UMR5510, 7 avenue Jean Capelle, Villeurbanne 69621, France

³ FEMTO-ST Institute, UMR 6174 CNRS, Université de Franche-Comté, 25000, Besançon, France

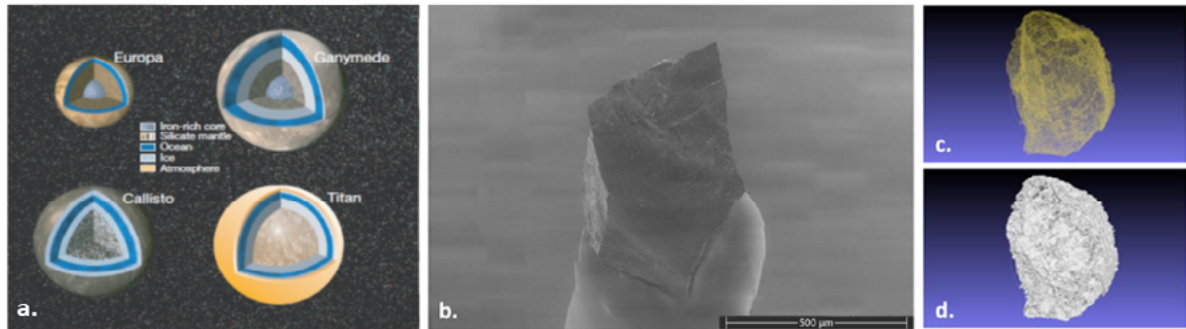
Session : Session Sciences de la Matière : Multitechniques – approches multiphysiques

Les satellites glacés des planètes géantes suscitent un grand intérêt car leurs océans sous-glaciaires pourraient leur conférer une habitabilité potentielle [1]. De nouveaux modèles de composition sont proposés pour l'intérieur de ces objets du système solaire externe en intégrant une composante importante de matière carbonée [2]. La densité de ces phases riche en carbone demeure cruciale pour comprendre l'évolution thermique des satellites glacés et doit être un paramètre mieux contraint dans les modèles.

Dans cette étude, l'approche consiste à utiliser une technique de reconstruction 3D par microscopie électronique à balayage pour déterminer le volume des phases carbonées obtenus au cours d'expériences simulant les transformations minéralogiques à l'intérieur de ces lunes glacées. Cette technique rapide et automatisée permet de remonter à la densité des échantillons avec une grande précision. L'acquisition des données se fait par série d'images pendant la rotation de l'échantillon autour de lui-même. Le but est de reproduire à micro-échelle la technique de photogrammétrie à caméra affine. Le développement d'un logiciel d'automatisation sur l'interface du MEB permet au cours du process un maintien de la position eucentrique, un étalonnage de la platine pour calculer les rotations inter-images et la possibilité de combiner plusieurs clichés pour produire une image à haute résolution. Par la suite, l'application Pollen 3D génère un modèle 3D de grande précision en recalant les images avec l'algorithme ICP (Iterative Closest Point), en assemblant les données en un nuage de points 3D puis en les convertissant en un maillage [3].

Pour encore mieux contraindre le modèle et réduire l'incertitude de mesure, les biais liés à la porosité sont pris en compte en incluant aux résultats des mesures obtenues par tomographie à rayons X. L'application de cette approche multi-technique permettra d'évaluer plus précisément l'impact de ces phases carbonées sur la composition interne des satellites de glace.

*Figure : Intérieurs des lunes glacés de Jupiter (Europe, Callisto, Ganymède) et de Saturne (Titan) [4]
(a.), Cliché MEB d'un échantillon carboné expérimental (b.), Reconstruction 3D de l'échantillon :
nuage de points 3D (c.) et maillage (d.)*



Références :

- [1] Hussmann, *et al.* Icarus 185.1 (2006) : 258-273
- [2] Reynard, *et al.* Earth and Planetary Science Letters 612 (2023) : 118172
- [3] Beb, *et al.* Laser Science (2022): JW5A.69
- [4] Hussmann, *et al.* Planets and Moons 168.10 (2015)

Adresse mail : clementine.fellah@ens-lyon.fr

Études dynamiques 4D-SPED in situ (cartographies d'orientation et contraintes en combinaison avec liquide/gaz/corrosion) des matériaux avancés

Stavros Nicolopoulos*

¹NanoMEGAS SL Rue Émile Claus 49 Bte 9 Brussels Belgium

*info@nanomegas.com

Keywords: 4D SPED; amorphous materials mapping; dynamical studies; precession electron diffraction

La cartographie automatique de l'orientation/phase cristalline (technique ASTAR) en MET peut être appliquée à divers matériaux [1,2] grâce à la diffraction électronique à balayage (4D-SPED), où la précession du faisceau (pour améliorer la qualité des motifs ED [3,4]) est utilisée en synchronisation avec le balayage du faisceau. La technique ASTAR offre une résolution spatiale significative, jusqu'à 1-3 nm (en FEG-TEM).

Les méthodes in situ ont été largement appliquées aux études dynamiques. La combinaison de la technique ASTAR 4D-SPED avec la nouvelle génération de détecteurs pixelisés permet d'utiliser une dose d'électrons extrêmement faible avec des temps d'acquisition très rapides (500-1000 images par seconde). Par exemple, nous avons obtenu des cartes d'orientation/texture sur des nanoparticules colloïdales d'or dans l'eau en suivant les changements d'orientation locaux au fil du temps.

Une autre étude in situ concerne les alliages à base de zirconium (Zr), utilisés comme matériau de gainage pour le combustible des réacteurs nucléaires, qui sont sensibles à l'oxydation dans des conditions d'exploitation difficiles. À l'aide d'un système de contrôle de composition de mélange de gaz DENS, nous avons étudié le mécanisme d'oxydation/corrosion du métal Zr en surveillant les changements locaux d'orientation/phase à l'aide d'ASTAR et de cartographie des contraintes en intégrant la microscopie (4D-STEM), un support de cellule à gaz à pression ambiante, la microscopie électronique à précession (PED) et le détecteur direct d'électrons (DED). Ce type de dispositif permet de réaliser des études de corrosion in situ/in operando sur une large gamme de matériaux.

References

1. E.F. Rauch *et al*, Zeitschrift für Kristallographie **225** 103- (2010),.
2. J. Portillo, E. F. Rauch, S. Nicolopoulos, M. Gemmi, and D. Bultreys. *Materials Science Forum*, **644**, 1–7 (2010)
3. R. Vincent and P. Midgley, *Ultramicroscopy* **53**, 271- (1994)
4. E.F. Rauch and M. J. Veron, *Mater. Sci. Eng. Tech.* **36**, 552- (2005)

AIN NANOWIRE UV-C LEDs: IMPROVING EFFICIENCY THROUGH MULTISCALE CHARACTERIZATIONS

Corentin GUERIN^{1,2}, Rémy VERMEERSCH^{1,2}, Eric ROBIN³, Jean-Luc ROUVIERE³, Jonas LÄHNEMANN⁴, Fabien JOURDAN², Bruno GAYRAL², Julien PERNOT¹, Bruno DAUDIN², Gwénolé JACOPIN¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, Grenoble INP, Institut Néel, SC2G, CNRS, 38000 Grenoble, France

² Univ. Grenoble Alpes, CEA, Grenoble INP, IRIG, PHELIQS, NPSC, 17 av. des Martyrs, 38000 Grenoble, France

³ Univ. Grenoble Alpes, Grenoble INP, CEA, IRIG, MEM, LEMMA, 17 av. des Martyrs, 38000 Grenoble, France

⁴ Paul-Drude-Institut für Festkörperelektronik, Leibniz-Institut im Forschungsverbund Berlin e.V., Berlin, Germany

Session : Multitechniques - multiphysics approaches

Far-ultraviolet (UV)-C light-emitting diodes (LEDs) operating below 240 nm are gaining increasing interest for disinfection applications. However, their external quantum efficiency (EQE) remains significantly low (<2%) compared to blue and standard UV-C LEDs. This limitation arises from several factors, including challenging n- and p-type doping, low light extraction efficiency, and the influence of structural and point defects. To overcome these challenges, we have been developing an approach based on AlN nanowires grown by molecular beam epitaxy (MBE).

In this work, we present a comprehensive methodology combining high-resolution electron microscopy, focused ion beam (FIB) processing, energy-dispersive X-ray (EDX) mapping, electron beam induced current (EBIC) measurements, and both steady-state and time-resolved cathodoluminescence (CL) spectroscopy to link the structural properties of AlN nanowire LEDs with their optoelectronic properties. Specifically, we will address three research directions. First, we optimized of n- and p-type doping in AlN nanowires [1,2]. Then, we measured the impact of structural defects, particularly stacking faults, on the optical properties of AlN nanowires [3,4]. Finally, we developed of a contactless method for measuring the EQE of LEDs via electron pumping inside a scanning electron microscope (SEM).

Références :

[1] Vermeersch *et al.*, Appl. Phys. Lett. **119** (2021) : 262105

[2] Vermeersch *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **6.15** (2023): 13945–13951

[3] Guérin *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **7.17** (2024): 20301–20307

[4] Guérin *et al.*, submitted to Journal Applied Physics.

e-mail : gwenole.jacopin@cnrs.fr

NANOLASER OPTICAL AND STRUCTURAL PROPERTIES AT THE NANOMETRE SCALE

Cléo SANTINI¹, Nika VAN NIELEN², Thi Huong NGO³, Virginie BRÄNDLI³, Sebastien CHENOT³, Pierre-Marie COULON³, Stéphane VEZIAN³, Julien BRAULT³, Philip A. SHIELDS⁵, Albert POLMAN², Benjamin DAMILANO³, Christelle BRIMONT⁴, Thierry GUILLET⁴, Sophie MEURET¹

¹) CEMES, CNRS, 31055 Toulouse, France*

²) AMOLF, Amsterdam, Netherlands

³) Université Côte d'Azur, CNRS, CRHEA, Valbonne, France

⁴) L2C, Montpellier, France

⁵) University of Bath, United Kingdom

Session SdM: Multitechniques - Approche multiphysique

Since their first demonstration by Huang et al in 2001 [1], semiconductor nanolasers have attracted a lot of interest especially for their application in optoelectronic devices. They have the advantages to be cost-effective, easy to fabricate and of a micron size. Since 2001, various semiconductors and geometries demonstrated lasing properties, for example ZnO [1] or GaN [2] nanowires.

Lasing can be induced by optical pumping, usually it is characterized by a drastic reduction of the emission spectrum width and an increase of the emitted light coherence [3]. The key lasing properties of nanolasers include the emission wavelength, the value of the lasing threshold and the carrier lifetime. The optical modes of the nanolasers observed above the lasing threshold are directly related to the dimensions of the nanolaser, since the cavity is formed by the nanowire itself. Thus, the shape of the nanowire has a direct impact on all laser characteristics. Given that the structural parameters of the nanowires vary at a nanometric scale, electron microscopy is well-suited for their analysis. Moreover, the lasing properties can be directly linked with the nanolaser shape provided that the electron microscope is equipped with a photoluminescence setup.

We aim to probe the near field of optically pumped nanolasers within their lasing regime with a focused electron beam in Ultrafast - STEM. When the electrons interact with the field created by the laser light, electrons absorb or emit quanta of the field energy. By mapping the interactions of the field with the electron beam, Photon-Induced Near-field Electron Microscopy (PINEM) enables us to measure the transversal field intensity [4] and the lasing regime dynamics with a sub-picosecond resolution.

In this presentation, we will discuss how we can study the lasing characteristics of GaN nanolasers at the nanoscale scale within a UTEM using PINEM and photoluminescence.

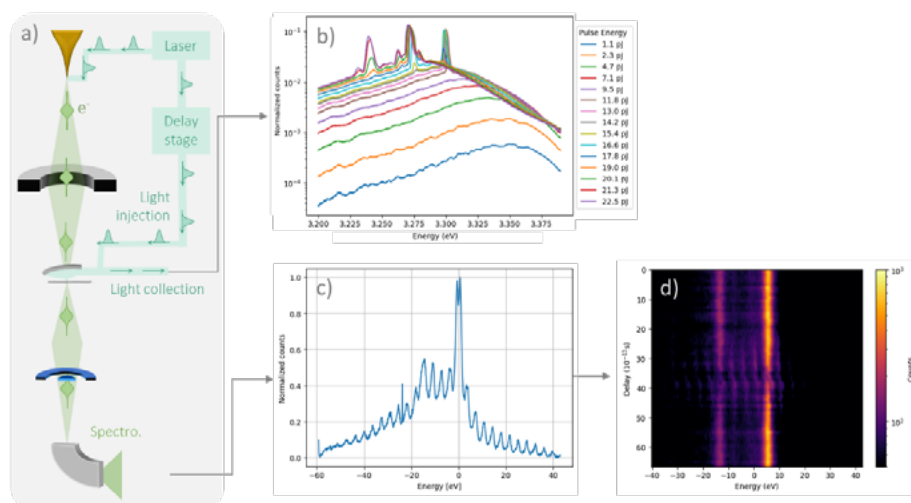


Fig. 1: a) UTEM set-up b) Nanolaser photoluminescence spectrum depending on the pumping power c) PINEM spectrum on Aluminum d) PINEM delay scan on Aluminium.

Références :

- [1] M. H. Huang *et al.*, "Room-Temperature Ultraviolet Nanowire Nanolasers," *Science*, vol. 292, no. 5523, pp. 1897–1899, Jun. 2001, doi: 10.1126/science.1060367.
- [2] J. C. Johnson, H.-J. Choi, K. P. Knutsen, R. D. Schaller, P. Yang, and R. J. Saykally, "Single gallium nitride nanowire lasers," *Nat. Mater.*, vol. 1, no. 2, pp. 106–110, Oct. 2002, doi: 10.1038/nmat728.
- [3] L. K. Van Vugt, S. Rühle, and D. Vanmaekelbergh, "Phase-Correlated Nondirectional Laser Emission from the End Facets of a ZnO Nanowire," *Nano Lett.*, vol. 6, no. 12, pp. 2707–2711, Dec. 2006, doi: 10.1021/nl0616227.
- [4] A. Feist, K. E. Echternkamp, J. Schauss, S. V. Yalunin, S. Schäfer, and C. Ropers, "Quantum coherent optical phase modulation in an ultrafast transmission electron microscope," *Nature*, vol. 521, no. 7551, pp. 200–203, May 2015, doi: 10.1038/nature14463.

Adresse mail : cleo.santini@cemes.fr

Sonde atomique tomographique et Microscopie électronique en transmission unifiées en un même instrument

Celia CASTRO¹, Gerald Da COSTA¹, Vaudolon Charly¹, Juan MACCHI¹, Mohammed ILHAMI¹, Aidar Zakirov¹, François VURPILLOT¹, Williams LEFEBVRE¹

¹ Univ Rouen Normandie, INSA Rouen Normandie, CNRS, Normandie Univ, GPM UMR 6634, F-76000 Rouen, France

Session : Session SdM4 Multitechniques – approches multiphysiques

Session SC1 : Avancées instrumentales

Afin d'améliorer les connaissances structurales dans les champs de composition tridimensionnels révélés par la tomographie par sonde atomique, des approches de microscopie corrélative, combinant la microscopie électronique à transmission (à balayage) et la tomographie par sonde atomique, sont apparues et ont démontré leur pertinence. Pour repousser les limites et faciliter une analyse plus complète de la matière à l'échelle nanométrique en couplant de nombreux ensembles de données bidimensionnelles ou tridimensionnelles, il est de plus en plus intéressant de combiner la microscopie électronique à transmission et la tomographie par sonde atomique dans un instrument unifié. Pour rendre l'analyse corrélative par (S)TEM et APT plus accessible, des efforts ont été prévus et réalisés pour réunir les deux techniques dans un seul instrument [1-4]. Cette étude présente l'aboutissement d'un effort instrumental visant à intégrer la tomographie par sonde atomique dans un microscope électronique à transmission commercial [5]. L'instrument qui en résulte démontre la possibilité de combiner les reconstructions 3D in situ des champs de composition avec l'analyse structurale détaillée offerte par la microscopie électronique à transmission. Cette étude montre une approche prometteuse pour faire converger ces deux importantes techniques de microscopie à l'échelle nanométrique.

Références :

- [1] Kelly, T. F., et al. *Microscopy and microanalysis* **19**, 652–664 (2013).
- [2] W. Lefebvre, Workshop on Scientific Directions for Future Transmission Electron Microscopy, Forschungszentrum Jülich, Germany (2016)
- [3] Atomic-Scale Analytical Tomography (eds. Gorman, B. P., Ringer, S. P. & Kelly, T. F.) (Cambridge University Press, 2022).
- [4] Kelly, T. F., et al., *Microscopy and Microanalysis* (2020).
- [5] G. Da Costa et al., *Nature comm.* (2024) DOI: 10.1038/s41467-024-54169-2

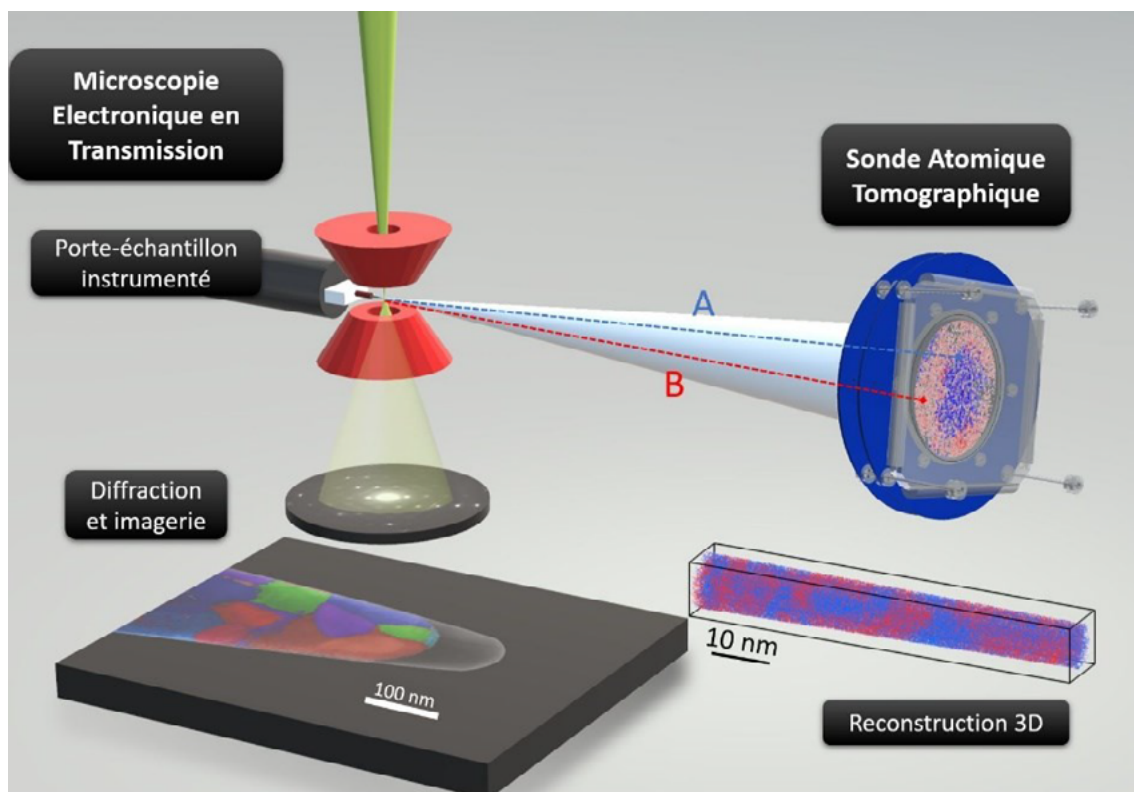


Figure 1 : Croquis illustrant l'implémentation d'une sonde atomique tomographique dans un microscope électronique en transmission. L'échantillon analysé est inséré dans l'entrefer magnétique de la lentille objectif, où il peut être imagé dans différentes modalités par des électrons. Le porte-échantillon instrumenté permet dans le même temps de soumettre l'échantillon à un phénomène d'évaporation par effet de champ. Les atomes évaporés sont collectés sur un détecteur de sonde atomique tomographique et le même volume analysé par microscopie électronique peut être reconstruit en trois dimensions en remplaçant chaque atome identifié selon son espèce chimique.

Adresse mail : williams.lefebvre@univ-rouen.fr

Session SdM : Techniques résolues en temps

Chairmen :

- Damien ALLOYEAU (MPQ, Paris)
- Federico PANCIERA (CIMEX, Parais Saclay)

Résumé :

La nature dynamique de la matière fait du temps une donnée incontournable en science des matériaux. Cependant, l'analyse physique et chimique de la matière en fonction du temps peut se faire à différentes échelles, allant de l'ultrabref (attoseconde) jusqu'aux jours, mois ou même aux années. Ce symposium vise à explorer le potentiel de la microscopie au sens large pour étudier la structure et les propriétés de la matière en fonction du temps, sur une large gamme de résolution temporelle. Nous nous intéresserons bien sûr aux techniques dites ultra-rapides permettant d'étudier entre autres les réactions chimiques ou la réponse optique des matériaux, mais aussi aux techniques in situ ou ex-situ permettant d'étudier la transformation des matériaux dans leurs milieux de formation ou d'application (i.e. nucléation, diffusion, transition de phase, croissance, dynamique des surfaces, vieillissement, dégradation...). En se penchant sur les liens entre le temps et la matière, ce symposium permettra de porter un regard interdisciplinaire sur les effets cinétiques ou les états hors équilibres jouant un rôle majeur dans contrôle de la structure et des propriétés des matériaux.

Planning : jeudi 3 juillet de 13 h 30 à 15 h 30, amphithéâtre Grignard

- | | |
|--------------------------|--|
| 13 h 30 – 14 h 00 | Conférence invitée : Sophie MEURET, CEMES, Toulouse
« <i>Exploring the dynamics of semiconductors with an ultrafast transmission electron microscope</i> » |
| 14 h 00 – 14 h 15 | Florent CASTIONI, LPS, Orsay
« <i>Nanothermométrie résolue en temps par spectroscopie pompe-sonde photon-électron</i> » |
| 14 h 15 – 14 h 25 | Jan VAVRA, entreprise DECTRIS
« <i>Fast 4D STEM using DECTRIS hybrid pixel detectors</i> » |
| 14 h 25 – 14 h 55 | Conférence invitée : Florence GAZEAU, MSC-Med, Paris
« <i>Imaging the fate of metallic nanoparticles and extracellular vesicles in the body</i> » |
| 14 h 55 – 15 h 10 | Aliou Sadia TRAORE, IPCMS, Strasbourg
« <i>Étude du mécanisme d'activation sous H₂ du catalyseur bimétallique Cu-Fe/SiO₂ par in situ TEM et Imagerie hyper-spectrale Quick-EXAFS plein champ</i> » |
| 15 h 10 – 15 h 25 | Jean-Luc MAURICE, LPICM, Palaiseau
« <i>Naissance d'un nanofil de siliciure de nickel</i> » |
| 15 h 25 – 15 h 30 | Cécile GENEVOIS, CEMHTI, Orléans
« <i>Étude in-situ à haute température par MET de la cristallisation d'un verre de YAG</i> » |

Exploring the dynamics of semiconductors with an ultrafast transmission electron microscope

C. Santini¹, N. Van Nielen⁵, M. Moreira¹, F. Castioni², D. Lagarde³, R. Cours¹, S. Weber¹, T. Hungria⁶, A.V. Sakharov⁴, A. F. Tsatsulnikov⁴, A. E. Nikolaev⁴, A. Polman⁵, A. Balocchi³, N. Cherkashin¹, L. Tizei², S. Meuret^{1,*}

¹) CEMES/CNRS, Toulouse, France

²) University Paris Saclay/CNRS, Orsay, France

³) LPCNO, Toulouse, France

⁴) Ioffe Institute, St Petersburg, Russia

⁵) NWO-institute AMOLF, Amsterdam 1098 XG, The Netherlands

⁶) Centre Castaing - Centre de microcaractérisation Raimond Castaing

*Corresponding author: sophie.meuret@cemes.fr

Session : Technique Résolue en Temps

The development of time-resolved Cathodoluminescence (TR-CL) in a scanning electron microscope has enabled the measurement of the lifetime of excited states in semiconductors with a sub-wavelength spatial resolution [1]–[3]. For example, it was used to measure the influence of stacking faults on the GaN exciton [1], to probe the role of a silver layer on the dynamics of a YAG crystal [2] or to show the influence of stress on the optical properties of ZnO nanowires [3]. These results demonstrate that TR-CL is essential to study the correlation between semiconductor optical and structural properties (composition, defects, strain...). While TRCL is usually done in a scanning electron microscope, the improvement of the spatial resolution and the combination with other electron-based spectroscopies offered by transmission electron microscopes has been a step forward for TR-CL [4], [5]. Our TRCL experiment are performed in a unique electron microscope, based on a cold-FEG electron gun [6]. This technology allows among other things to reach a spatial resolution of a few nanometers, essential for the study of III-N heterostructures. In this presentation, we will discuss the main challenges link to performed TRCL in a UTEM, from light collection, time resolution, signal to noise ratio and sample preparation. We will present some case studies of charge carrier dynamics in GaN based quantum well with a resolution below 10 nm.

References

- [1] P. Corfdir *et al.*, "Exciton localization on basal stacking faults in a-plane epitaxial lateral overgrown GaN grown by hydride vapor phase epitaxy," *J. Appl. Phys.*, vol. 105, no. 4, p. 043102, 2009.
- [2] R. J. Moerland, I. G. C. Weppelman, M. W. H. Garming, P. Kruit, and J. P. Hoogenboom, "Time-resolved cathodoluminescence microscopy with sub-nanosecond beam blanking for direct evaluation of the local density of states," *Opt. Express*, vol. 24, no. 21, p. 24760, 2016.
- [3] X. Fu *et al.*, "Exciton Drift in Semiconductors under Uniform Strain Gradients: Application to Bent ZnO Microwires," *ACS Nano*, vol. 8, no. 4, pp. 3412–3420, 2014.
- [4] S. Meuret *et al.*, "Time-resolved cathodoluminescence in an ultrafast transmission electron microscope," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 119, no. 6, p. 6, 2021.
- [5] Y. J. Kim and O. H. Kwon, "Cathodoluminescence in Ultrafast Electron Microscopy," *ACS Nano*, vol. 15, no. 12, pp. 19480–19489, 2021.
- [6] F. Houdellier, G. M. Caruso, S. Weber, M. Kociak, and A. Arbouet, "Development of a high brightness ultrafast Transmission Electron Microscope based on a laser-driven cold field emission source," *Ultramicroscopy*, vol. 186, pp. 128–138, 2018.
- [7] N. Cherkashin, A. Louiset, A. Chmielewski, D. J. Kim, C. Dubourdieu, and S. Schamm-Chardon, "Quantitative mapping of strain and displacement fields over HR-TEM and HR-STEM images of crystals with reference to a virtual lattice," *Ultramicroscopy*, vol. 253, p. 113778, 2023.

Time-resolved nanothermometry based on photon-electron pump-probe spectroscopy

Florian CASTIONI¹, Yves AUAD¹, Jean-Denis BLAZIT¹, Xiaoyan LI¹, Steffi Y. WOO², Kenji WATANABE³, Takashi TANIGUCHI⁴, Ching-Hwa HO⁵, Odile STÉPHAN¹, Mathieu KOCIAK¹ and Luiz H. G. TIZEI¹

¹ Univ. Paris-Saclay, CNRS, Laboratoire de Physique des Solides, 91405, Orsay, France

² Center for Nanophase Materials Sciences, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, 37381, U.S.A.

³ Research Center for Electronic and Optical Materials, National Institute for Materials Science, 1-1 Namiki, Tsukuba 305-0044, Japan

⁴ Research Center for Materials Nanoarchitectonics, National Institute for Materials Science, 1-1 Namiki, Tsukuba 305-0044, Japan

⁵ Graduate Institute of Applied Science and Technology, National Taiwan University of Science and Technology, Taipei 106, Taiwan

Session SdM : Techniques résolues en temps

Understanding thermal transport in nanostructures is crucial for technological advancements, particularly as devices shrink to the nanometer scale. Studying out-of-equilibrium behavior requires access to timescales ranging from picoseconds to microseconds. However, existing methods with both high temporal and spatial resolutions remain limited [1]. Recent advances in event-based direct detectors for electron microscopy [2] offer new possibilities.

In this contribution, we present a novel technique for temperature measurement with nanometer and nanosecond resolution in a scanning transmission electron microscope (STEM) (Figure 1). In this pump-probe experiment, a focused ($\sim 1 \mu\text{m}$) and pulsed ($\sim 25 \text{ ns}$) laser excitation is synchronized with electron arrival times, detected using a Timepix3 detector. By analyzing distinct electron energy-loss spectroscopy (EELS) signatures, we determine the temperature of 2D semiconductors, Si_3N_4 membranes, and aluminum thin films. Our approach is widely applicable due to the broad spectroscopic excitations spanning from infrared (hundreds of meV) to soft X-rays (tens of eV), providing a universal tool for probing nanosecond thermal dynamics in nanostructures [3]. The observed temperature evolution aligns well with a simple 2D thermal diffusion model. While the current temporal resolution is limited by the Timepix3 detector, further improvements are anticipated.

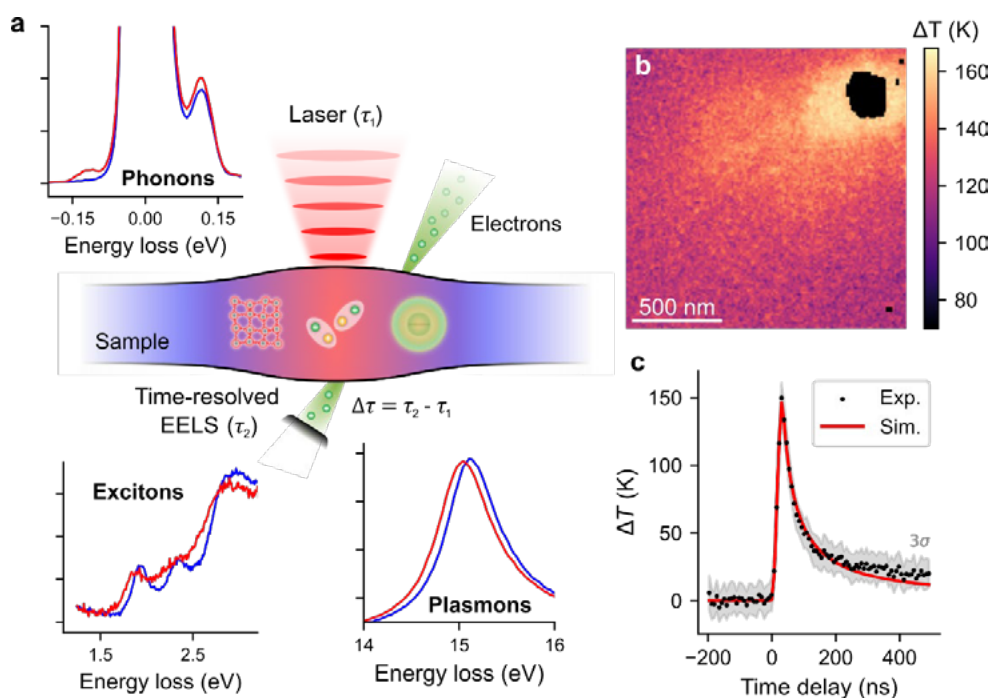


Figure 1. Description of the photon-electron pump-probe experiment for nanosecond-resolved nanothermometry. (a) A 25 ns width pulsed laser in the visible range heats the sample, inducing absorption changes probed by EELS in the IR (phonons) to the soft X-ray (bulk plasmon) energy range in different material systems. (b) Temperature difference spatial mapping of an aluminum thin film following laser exposure. (c) Temperature temporal profile of the aluminum film depending on the time delay Δt following the laser excitation, compared with a heat diffusion simulation in an infinite 2D film.

References:

- [1] A. El Sachat et al., *Nanomaterials* **11** (2021) 175
- [2] Y. Auad et al., *Ultramicroscopy* **239** (2022) 113539
- [3] F. Castioni et al., *Nano Letters* **25** (2025) 1601–1608

Adresse mail : florian.castioni@universite-paris-saclay.fr

Hybrid pixel counting technology for electron detection

Jan VAVRA¹, Daniel Stroppa¹, Pietro ZAMBON¹, Luca PIAZZA¹, Matthias MEFFERT¹.

¹ DECTRIS AG, Switzerland

Session : SDM3 : Techniques résolues en temps

Improvements in electron detectors expand the capabilities of modern TEM instruments, and enable characterization of increasingly more delicate samples. The hybrid-pixel detector (HPD) technology packs a lot of transistors into each pixel, allowing for single event amplification, precise thresholding and very fast counting. Building on its successful HPD technology for X-ray detectors, DECTRIS adapted HPD for the precise detection of electrons. Its recent development is an application-specific integrated circuit (ASIC) designed for frame rates above 100 kHz, where each pixel counts from single events up to 10^8 e⁻/px/s with zero read-out noise [1].

ARINA detector combines this ASIC with a Si or a high-Z sensor, suitable for detection of electrons from 30 to 300 keV. Detector control is integrated into multiple existing user interfaces for scan synchronization and live data visualization. The detector ecosystem further includes software for easy-to-use data processing with differential phase contrast (DPC) or center of mass (COM) reconstruction and cloud solution for open-data storage and advanced data processing.

The specs of the ARINA detector allows for sub 10 μ s dwell times in a 4D STEM experiment, which translates to 512 x 512 4D STEM dataset being acquired in less than 3s. The speed and single electron sensitivity enable electron diffraction experiments for crystal phase/orientation mapping of beam sensitive materials [2]. The fine sampling of collection angles with a pixelated detector allows for significant boost in image contrast for weakly scattering samples; such as frozen biological specimens [3]. The detector is also well suited for electric field mapping with Center of Mass (CoM) reconstruction (Figure 1), or high resolution ptychographic reconstructions. Due to ARINA high sensitivity, fast data acquisition, live feedback, and easy processing of the information rich datasets, we believe that 4D STEM is finally becoming practical acquisition mode for a wide variety of samples.

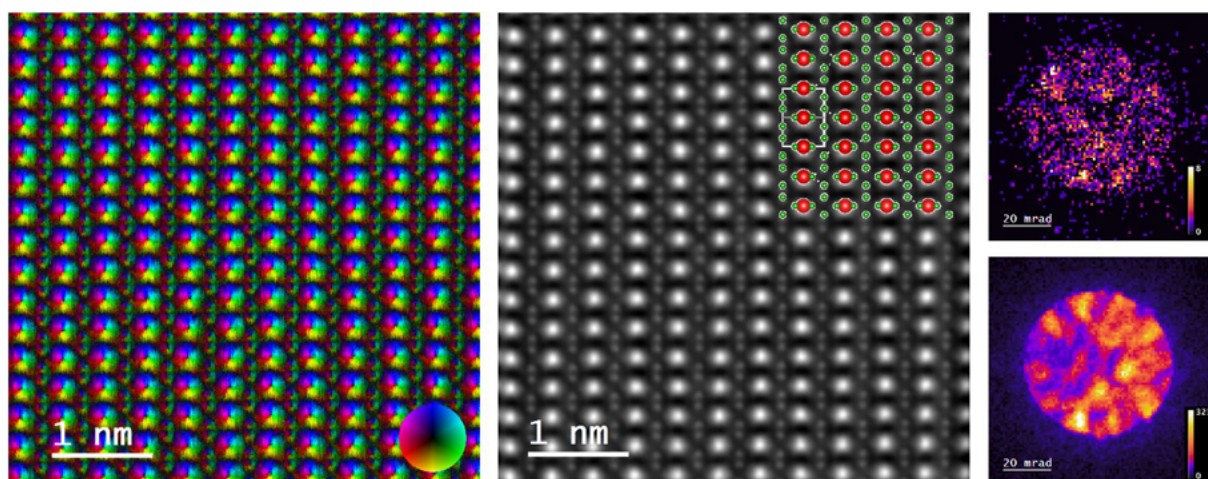


Fig 1.: a) CoM and b) iCoM images calculated after a 10 s 4D STEM measurement with a Smb6 [110] sample. c) Example diffraction patterns extracted from the same 4D STEM dataset, for a single pixel with 10 μ s acquisition (above) and for a 10x10 pixels integration. Collaboration: Mingjian Wu (FAU), Elisabeth Muller and Emiliya Poghosyan (PSI).

Références :

- [1] P. Zambon *et al*, Front. Phys. **11** (2023), 10.3389/fphy.2023.1308321
- [2] M. Wu *et al*, JPhys Materials. **6** (2023), 10.1088/2515-7639/acf524
- [3] S. Seifer *et al*, Microsc. Microanal. **30** (2024), 10.1093/mam/ozae050

Adresse mail : jan.vavra@dectris.com

IMAGING THE FATE OF METALLIC NANOPARTICLES AND EXTRACELLULAR VESICLES IN THE BODY

Florence Gazeau

¹ NABI (Nanomedecine, Biologie Extracellulaire, Intégratome et Innovations en Santé), Université Paris Cité, CNRS UMR8175, INSERM U1334, 45 rue des Saints Pères, 75006 Paris

Session : Microscopie résolue en temps

The health impact of metallic nanoparticles to which we are increasingly exposed depends critically on the ability of our cells to transform, degrade, or assimilate them. Our research focuses on unveiling the nanoscale transformations that these particles undergo once internalized by cells within the human body. To track these dynamic processes at biologically relevant scales, electron microscopy remains a cornerstone technique—especially when applied *in situ* and in real time within aqueous environments that closely mimic physiological conditions.

We investigate the fate of various metallic nanoparticles and metal ions—including gold, titanium, iron oxide, and silver—probing how their transformation dynamics influence long-term biological effects and alter their physical properties, which may hold potential for therapeutic or diagnostic applications.

In parallel, we explore another class of biologically active nanoscale entities: extracellular vesicles (EVs). These vesicles mediate intercellular communication by trafficking through bodily fluids and tissues, carrying proteins, lipids, and nucleic acids. EVs are now recognized as promising biomarkers accessible via liquid biopsy, as well as innovative subcellular vectors for drug delivery and regenerative medicine. To unlock their full potential, new methodologies are required to decipher their complex trafficking and function at the nanoscale. Advanced microscopy approaches are thus being developed to meet this need.

I will present recent findings conducted using two research platforms at Université Paris Cité: the Advanced Electron Microscopy Platform Me-ANS of MPQ, and the national integrator “Bioproduction Biotherapy” IVETh at NABI, dedicated to the bioproduction, engineering, and nanoscale characterization of extracellular vesicles and nanovectors for personalized diagnostics and precision medicine.

Adresse mail : florence.gazeau@u-paris.fr

Etude du mécanisme d'activation sous H₂ du catalyseur bimétallique Cu-Fe/SiO₂ par *in situ* TEM et Imagerie hyper-spectrale Quick-EXAFS plein champ

Aliou Sadia TRAORÉ¹, Eric MARCEAU², Anthony BEAUVOIS³, Walid BAAZIZ¹, Valérie BRIOIS³ et Ovidiu ERSEN¹

¹ UMR 7504 - IPCMS - Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg, Strasbourg, France

² UMR 8181 - UCCS - Unité de Catalyse et Chimie du Solide, Lille, France

³ SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Départementale 128, 91190 Saint Aubin, France

Session : SDM3 : Techniques résolues en temps

Les catalyseurs bimétalliques impliquant des métaux alliés sont fréquemment utilisés pour l'hydro-conversion de molécules plateformes. Les modifications des caractéristiques structurales des nano-alliages permettent généralement de suivre la coévolution des deux métaux lors de la préparation et de la réaction. Ceci est plus difficile lorsque les deux métaux ne forment pas d'alliages, comme c'est le cas pour Fe et Cu, mais coexistent uniquement sur le support. La réductibilité et les propriétés catalytiques doivent être interprétées en termes de localisation relative des deux métaux, et l'imagerie du catalyseur à différentes échelles de longueur est donc nécessaire pour comprendre la distribution et l'interaction de Fe et Cu, à l'échelle locale ou à l'échelle du lit catalytique.

Ce travail présente le processus d'activation sous H₂ d'un catalyseur Cu-Fe/SiO₂ calciné, à la fois en fonction de la température et de la localisation des métaux au sein du lit catalytique, par une étude corrélative *in situ* de microscopie électronique en transmission et de l'imagerie hyper-spectrale plein champ de la spectroscopie d'absorption des rayons X.

Les résultats obtenus grâce à la combinaison des techniques TEM et XAS a permis de montrer que les particules du catalyseur Cu-Fe/SiO₂ calciné présentent une structure de type Janus d'oxyde de fer (α -Fe₂O₃) et d'oxyde de cuivre (CuO) avec une interface formée de CuFe₂O₄ (**Figure 1**). Par la suite, lors du processus d'activation, la formation du Fe et Cu métalliques passent par des espèces intermédiaires. La réduction du α -Fe₂O₃ en Fe métallique est localement déclenchée par la formation du Cu métallique. Et enfin une démixtion est observée dans les particules au fur et à mesure de la réduction des oxydes de fer en fer métallique conduisant à la formation de particule distinct de cuivre et de fer métalliques.

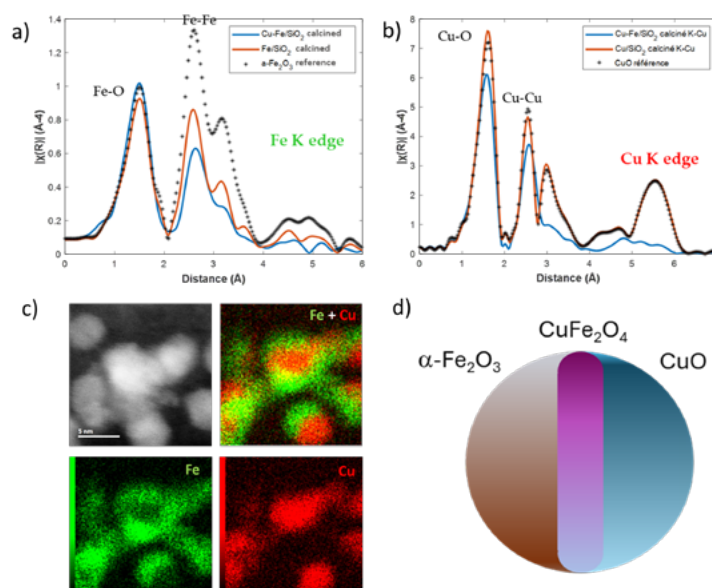


Figure 1 : Catalyseur Cu-Fe/SiO₂ après calcination. a) comparaison de la transformée de Fourier des oscillations des spectres EXAFS au seuil K de Fe des catalyseurs Cu-Fe/SiO₂, de Fe/SiO₂ et de la référence α -Fe₂O₃, b) comparaison de la transformée de Fourier des oscillations des spectres EXAFS au seuil K de Cu des catalyseurs Cu-Fe/SiO₂, de Cu/SiO₂ et de la référence CuO, c) imagerie STEM en champ sombre du catalyseur Cu-Fe/SiO₂ accompagnée d'une cartographie chimique des éléments Cu et Fe, d) modèle morphologique et structural des particules Cu-Fe/SiO₂ après la calcination.

Adresse mail : aliou-sadia.traore@ipcms.unistra.fr

NAISSANCE D'UN NANOFIL DE SILICIURE DE NICKEL

Jean-Luc MAURICE¹, Didier PRIBAT¹

¹ LPICM, CNRS UMR 7647, IPParis, École polytechnique, 91120 Palaiseau

Session SdM : Techniques résolues en temps

La croissance des cristaux est un phénomène intrinsèquement hors équilibre, cependant on reste surpris quand la forme finale du cristal est très éloignée d'une forme d'équilibre. Un exemple bien connu est celui des flocons de neige, qui multiplient leur surface (et donc leur énergie libre) par la croissance de dendrites. De la même façon, la siliciuration du nickel obtenue par chauffage autour de 400°C dans du silane, objet de cette présentation, produit des nanofils à fort rapport d'aspect [1,2]. Cependant, alors que la croissance des dendrites de flocons de neige est bien comprise [3], celles des nanofils de siliciure de Ni reste un mystère. Ici, grâce au microscope électronique environnemental "NanoMAX", nous montrons que la naissance de tels nanofils est due à une instabilité comparable à la germination de la première dendrite d'un flocon de neige. Mais, contrairement au cas du flocon, où l'instabilité est liée à l'évacuation de la chaleur de condensation [3], l'anisotropie vient ici d'une variation de la réactivité chimique de la surface. Initialement, le germe de siliciure est sphérique et amorphe, et croît de manière isotrope. Au moment critique de la naissance ($t=0$ dans la figure), (i) la sphère amorphe développe une bosse, (ii) la croissance en dehors de cette bosse cesse, et (iii) la cristallisation se déclenche. Les couches suivantes se développent exclusivement sur cette bosse, formant finalement un nanofil cristallin dont le volume croît beaucoup plus vite que celui de la matrice de départ. Cette transition d'une sphère amorphe à un nanofil cristallin ne correspond pas forcément, compte tenu de la surface qui se développe, à une minimisation de l'énergie libre du système. Il s'agirait plutôt d'un effet cinétique [4], offrant la *dégradation* d'énergie libre la plus rapide.

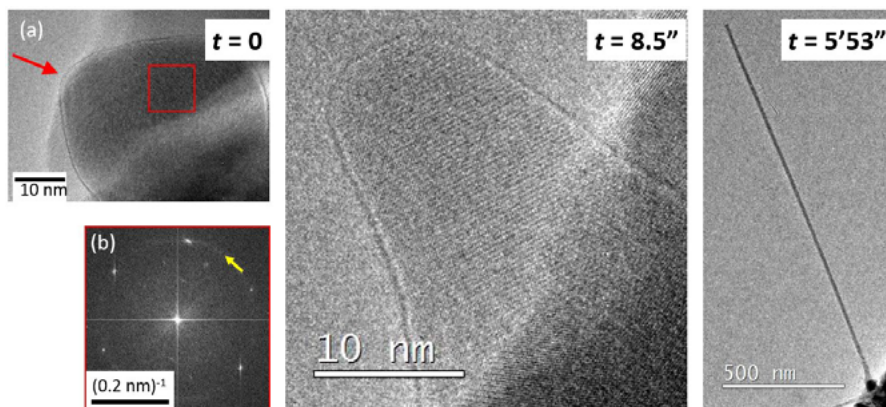


Figure : Le même objet à différents stades de croissance. ($t=0$, a) Matrice amorphe au moment de la formation de la bosse (flèche rouge). (b) FFT de la zone encadrée en (a) ; la flèche jaune indique l'anneau amorphe ; les tâches viennent de cristaux d'autres objets sur le chemin du faisceau.

Références :

- [1] Decker, et al., Appl. Phys. Lett., **84** (2004): 1389-1391
- [2] Le Duc, et al., CrystEngComm, **18** (2016): 207-212
- [3] Langer, Rev. Mod. Phys., **52** (1980): 1-28
- [4] Bené, J. Appl. Phys., **61** (1987): 1826-1833

Adresse mail : jean-luc.maurice@polytechnique.edu

In-Situ investigations of YAG glass crystallization by high temperature TEM

Cécile GENEVOIS¹, Joséphine REZKALLAH^{1,2}, Emmanuel VERON¹, Sandra Ory¹, Michael PITCHER¹,
Mathieu ALLIX¹

¹ CNRS, CEMHTI UPR3079, Univ. Orléans, F-45071 Orléans, France

² CNRS/UPJV, LRCS UMR7314, Univ. Picardie Jules Verne, 80000 Amiens, France

Session : Sciences de la Matière : Techniques résolues en temps

Glass-ceramics are innovative materials formed from the controlled glass crystallization. The term crystallization here encompasses the nucleation and growth of one or more crystalline phases, i.e. the establishment of a long-range periodicity, in an amorphous matrix. In order to control the innovative properties of glass-ceramics, it is essential to adapt their microstructure, namely the composition and size of the glassy domains as well as the nature and geometric arrangement of the crystalline phases [1]. Understanding the mechanisms of glass crystallization enables the prediction and design of glass-ceramic systems with optimal characteristics tailored for specific applications.

A set of techniques already make it possible to monitor these phenomena in situ as a function of temperature, such as XRD, Raman spectroscopy or DSC for example. However, the understanding at the atomic scale of crystallization in solids remains incomplete due to limited direct experimental tools [2]. This study utilizes in-situ Transmission Electron Microscopy (TEM) to investigate the crystallization behaviour and mechanisms of Yttrium Aluminium Garnet $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ (YAG) glass, a crucial material for white LED lighting, scintillation detectors, and solid-state lasers [3]. Using this approach, it is possible to directly visualize the different steps (Figure 1).

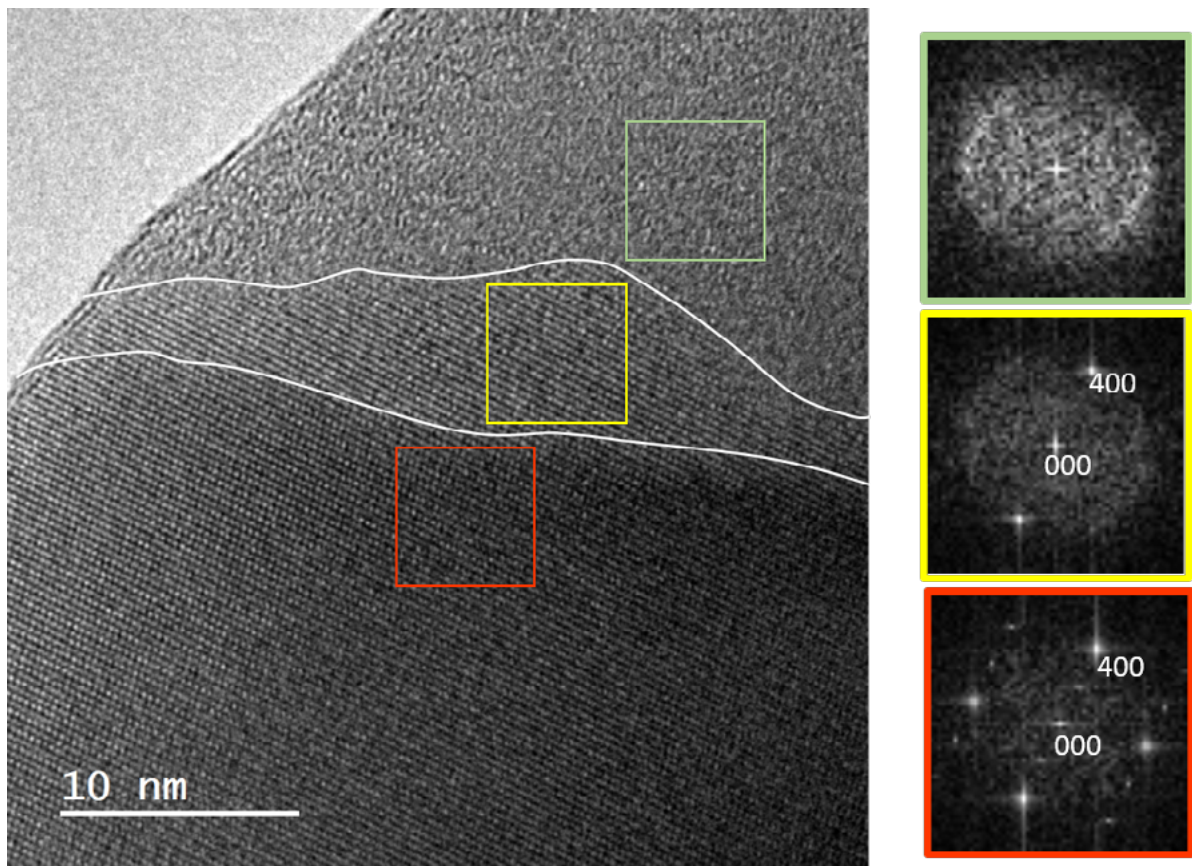


Figure 1 : TEM image acquired at 800°C during an in situ high temperature TEM experiment and showing the crystallization of a YAG glass. Corresponding FFT of the glass part (green), YAG crystal (red) and a transition zone (yellow).

Références : exemple de format ci-dessous

- [1] J. Deubener et *al.* J. Non-Cryst. Solids, 501 (2018) : 3-10
- [2] A. Zandonà et *al.* Cryst. Growth Des., 23 (2023) : 4545-4555
- [3] W. Cao et *al.* Adv. Funct. Mater, 33.14 (2023): 2213418

Adresse mail : cecile.genevois@cnrs-orleans.fr

Session SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Chairmen :

- Daniel ARAUJO (Universidad des Cadiz, Espagne)
- Victor BOUREAU (EPFL, Suisse)

Résumé :

Bien qu'essentielle pour décrire les propriétés des matériaux ou comprendre le comportement de nanodispositifs, l'obtention de données quantitatives en microscopie électronique reste un challenge. Ce symposium couvre l'utilisation de la microscopie électronique (S/TEM et SEM) pour la mesure quantitative de propriétés de matériaux ou de nanodispositifs, à l'échelle submicrométrique. Dans ce cadre, des études associées à tous types de matériaux sont pertinentes, allant des semiconducteurs aux polymères, en passant par les céramiques ou les métaux. Un intérêt particulier sera porté à l'analyse quantitative des propriétés de matériaux fonctionnels, ainsi qu'aux études de matériaux in-situ ou de nanodispositifs in-operando. Ce symposium est ouvert à un large panel de techniques, que ce soit des analyses structurales (diffraction, 4D-STEM, etc.), de la spectroscopie (EELS, CL, EDX, etc.) ou encore des mesures de champs (holographie, DPC, EBIC, etc.).

Planning : jeudi 3 juillet de 16 h à 18 h, amphithéâtre Marthe Condat

- | | |
|--------------------------|--|
| 16 h 00 – 16 h 25 | Conférence invitée : Sandra VAN AERT, Université d'Anvers, Belgique
<i>« Atom counting and 3D structural reconstruction using quantitative STEM to explore surface dynamics »</i> |
| 16 h 25 – 16 h 50 | Conférence invitée: David COOPER, CEA, Grenoble
<i>« Off-axis electron holography for the mapping of electrostatic potentials in semiconductor devices »</i> |
| 16 h 50 – 17 h 00 | Philippe LASSON, entreprise Synergie4
<i>« Nouveautés et avancées technologiques en microscopie électronique à balayage, systèmes de microanalyse EDS et EBSD »</i> |
| 17 h 00 – 17 h 15 | Leifeng ZHANG, CEMES, Toulouse
<i>« Mesure quantitative des champs électriques et des charges d'interface dans les dispositifs ferroélectriques et diélectriques par l'holographie électronique operando »</i> |
| 17 h 15 – 17 h 30 | Antonin LOUISET, CEA, Grenoble
<i>« Cartographie de champs de déformation nanométriques dans les nanotubes de carbone par 4D-STEM »</i> |
| 17 h 30 – 17 h 45 | Joséphine REZKALLAH, LRCS / UPJV, Amiens
<i>« MET liquide électrochimique et 4D-STEM : Caractérisation avancée des matériaux de batteries »</i> |
| 17 h 45 – 18 h 00 | Alissa FREILINGER, LPS, Orsay
<i>« Spectroscopie de cathodoluminescence excitation et la quête de filtrage de la radiation de transition »</i> |

ATOM COUNTING AND 3D STRUCTURAL RECONSTRUCTION USING QUANTITATIVE STEM TO EXPLORE SURFACE DYNAMICS

Sandra VAN AERT¹, Tom STOOPS¹, Yansong HAO¹, Annick DE BACKER¹, Sara BALS¹

¹ EMAT and NANOLight Center of Excellence, University of Antwerp, Antwerp, Belgium

Session : Quantitative measurement of properties by electron beam

The properties of nanomaterials strongly depend on their 3D structure and composition. Consequently, quantification using aberration-corrected TEM is important. Images are then treated as datasets from which structure parameters are determined using image simulations, parameter estimation methods, or deep learning. This enables the determination of atomic column positions, composition, and atom counts.

Atom counting in homogeneous nanocrystals can be achieved by measuring scattering cross-sections (SCS) in ADF STEM images, reflecting the total intensity of electrons scattered by a single atomic column collected by the detector [1]. For mixed-element columns, all types of elements contribute differently to the image intensities significantly complicating the analysis. Recent advances combine ADF STEM with EDX and use iterative weighted least squares estimation to match experimental and simulated SCSs [2]. While effective even with small atomic number differences, EDX is less suitable for beam-sensitive materials due to the high electron dose required. As an alternative, multimode atomic-resolution ADF STEM analyses multiple ADF images simultaneously [3,4]. When using the flexibility of the 4D STEM datasets, light elements can be quantified using electrons scattered at lower angles [5].

Atom counts can be used to create an initial atomic model which serves as an input for energy minimization to obtain an atomically precise and accurate 3D reconstruction. To avoid deviations from experimental observations, a Bayesian genetic algorithm has been developed incorporating a priori information concerning the finite atom-counting precision and neighbour-mass relations [6,7]. As shown in Figure 1, this method enables reliable 3D reconstructions of nanoparticles during dynamical processes. This method also allows for quantitative analysis of surface atom coordination in catalytic nanoparticles at high temperatures and in gas environments [6-8]. In this context, we also explored how surface dynamics occurring during the acquisition of a single image can influence the quantitative interpretation of ADF STEM images.

[1] De Backer, *et al.* *Ultramicroscopy* **247** (2023): 113702

[2] De Backer, *et al.* *Small Methods* **6** (2022): 2200875

[3] Sentürk, *et al.* *Ultramicroscopy* **242** (2022): 113626

[4] Sentürk, *et al.* *Ultramicroscopy* **259** (2024): 113941

[5] Hao, *et al.* *Ultramicroscopy* **268** (2025): 114066

[6] De Backer, *et al.* *npj Computational Materials* **8** (2022): 216

[7] Stoops, *et al.* *Microscopy and Microanalysis* **31.1** (2025): ozae090

[8] Irmak, *et al.* *Small Methods* **5** (2021): 2101150

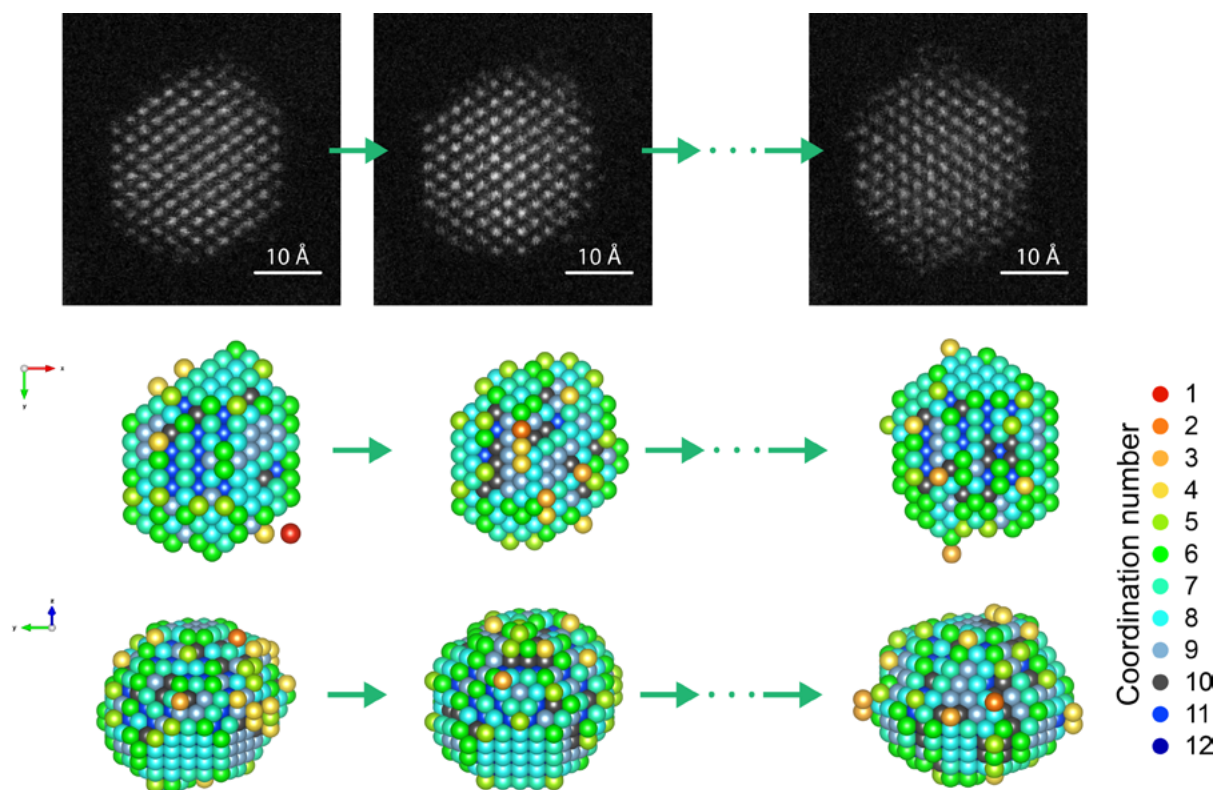


Figure 1 : Reconstructed 3D atomic models of a Pt nanoparticle from a time series of ADF STEM images using a Bayesian genetic algorithm [6].

Références :

- [1] De Backer, *et al.* Ultramicroscopy **247** (2023): 113702
- [2] De Backer, *et al.* Small Methods **6** (2022): 2200875
- [3] Sentürk, *et al.* Ultramicroscopy **242** (2022): 113626
- [4] Sentürk, *et al.* Ultramicroscopy **259** (2024): 113941
- [5] De Backer, *et al.* npj Computational Materials **8** (2022): 216
- [6] Stoops, *et al.* Microscopy and Microanalysis **31.1** (2025): ozae090
- [7] Irmak, *et al.* Small Methods **5** (2021): 2101150

Adresse mail : sandra.vanaert@uantwerpen.be

Off-axis electron holography for the mapping of electrostatic potentials in semiconductor devices.

David COOPER¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, CEA, LETI, 38000 Grenoble, France.

Session: Quantitative measurement of properties by electron beam

We will demonstrate how off-axis electron holography is used to provide maps of the electrostatic potential in semiconductor samples with nanometer-scale resolution [1]. Off-axis electron holography uses an electron biprism to interfere an electron wave passing through the region of interest with a reference wave creating an interference pattern known as a hologram. By analyzing the spatial distribution of the fringes, the phase of the electrons can be determined which then allows quantitative measurements of the electromagnetic fields. Although this technique is sometimes regarded as being somewhat old fashioned, it has greatly benefited from advancements in ultra-stable modern microscopes, improvements in specimen preparation using focused ion beam (FIB) milling, and the availability of powerful desktop computers capable of quickly applying advanced reconstruction methods to the holograms as they are acquired [2].

We will talk about practical electron holography, how to maximize spatial resolution whilst simultaneously increasing the sensitivity of the technique [3]. We will discuss experimental problems and their solutions with a focus on quantification of the results. Finally we will demonstrate that electron holography is a robust technique that can be used to provide measurements of the potentials in the semiconductor devices that are under development today.

Figure 1(a) shows an example of electron holography being used to understand the emission properties of a red emitting AlGaInP LED. A chip containing an individual diode is characterized ex-situ to obtain IV and luminosity characteristics. Here the diode was found to emit light at voltages above 1.75 V. Figures 1(b) and (c) show the LED being prepared for standard examination in the TEM (d). The LED was operated in situ and series of electron holograms acquired. Figure 1(e) shows a potential map of the region of interest at zero volts bias and a large step across the quantum wells can be observed. Figure 1(f) shows potential profiles taken across the region of interest at 1.5 V before light emission and at 2.0 V which is when the diode is operational. A potential gradient across the QWs is observed before emission which becomes flat at 2.0 V allowing the carriers to have a higher probability of recombining in the QWs to provide light emission. Simulations of the concentration of the electrons in the QWs at 1.5 and 2.0 V are shown in Figure 1(g) demonstrating that the flattening of the potential in the active region of the LED is key to provide the threshold for light emission [4].

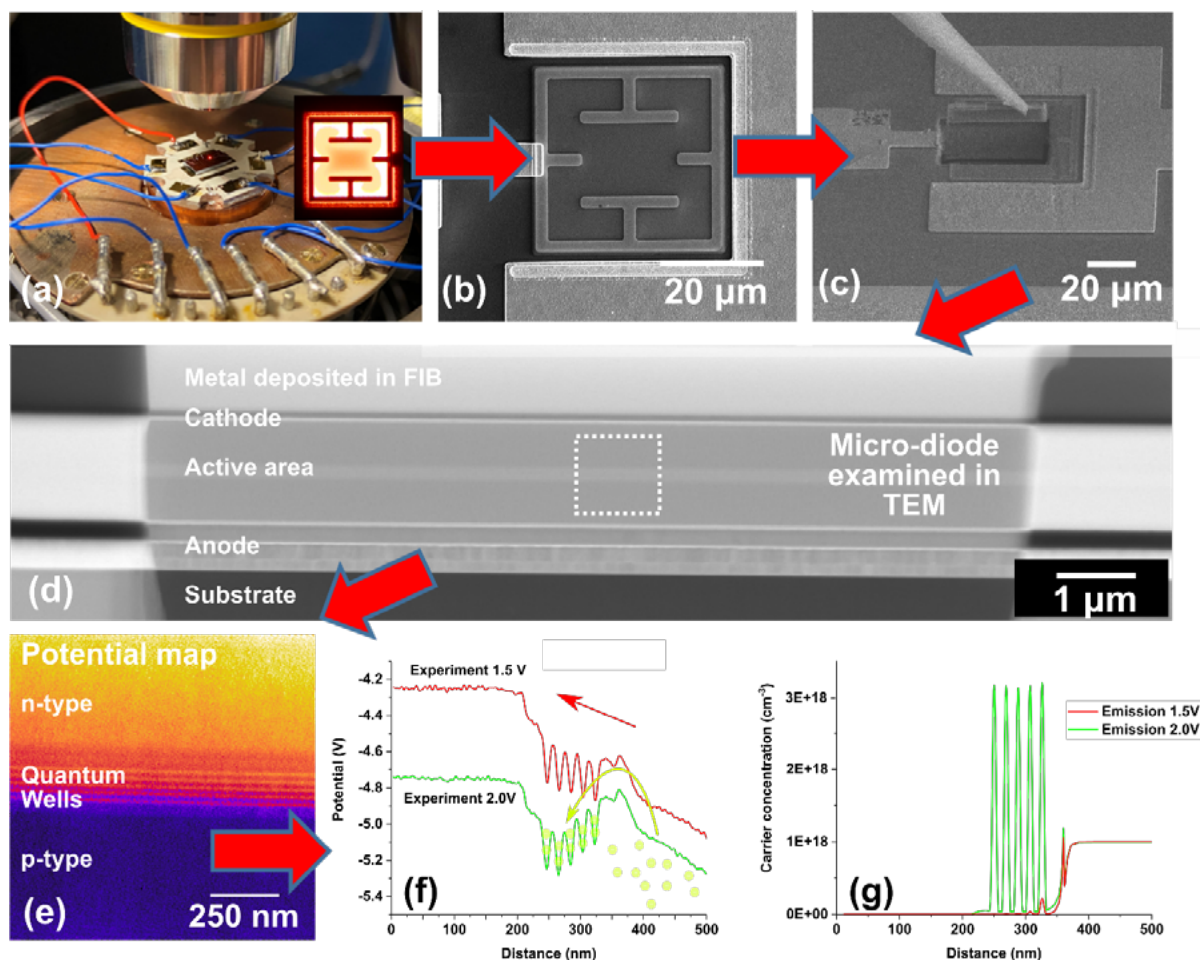


Figure 1 : A fully functional micro-LED has been (a) tested, and (b), (c) prepared by FIB for (d) examination in-situ in the TEM by off-axis electron holography. (e) The potential maps are then reconstructed as a function of bias voltage and (f) profiles are extracted. (g) The experimental results are compared with simulations that show that the QWs are full of carriers when the potential is flattened at 2.0 V forward bias.

Références :

- [1] A. Tonomura, Rev. Mod. Phys. 1987, 59, 639–669.
- [2] D. Cooper et al., IEEE T-MAT 2024 1 136
- [3] V. Boureau et al., Ultramicroscopy 2018, 193, 52–63.
- [4] D. Cooper et al., Small Methods 2023, 7, 2300537.
- [5] This work, carried out on the Platform for Nanocharacterisation (PFNC), was supported by the “Recherche Technologique de Base” a program of the French National Research Agency (ANR).

Adresse mail : david.cooper@cea.fr

Nouveautés et avancées technologiques en microscopie électronique à balayage, systèmes de microanalyse EDS et EBSD.

Philippe LASSON¹, Fabrice GASLAIN¹

¹ Synergie4, 10, rue du Bois Chaland, ZAC du Bois Chaland, CE 2904 Lisses, 91029 EVRY Cedex

Session : Super-résolution optique, des développements aux applications

Session techniques instrumentales

L'année 2025 sera une année importante pour la microscopie électronique et la microanalyse.

CIQTEK propose depuis le début de l'année sur le marché Européen une gamme complète de microscopes électroniques à balayage W, FEG et à double colonne FEG-FIB Ga⁺ avec une nouvelle approche et des innovations uniques. Parmi celles-ci, on notera le SEM3300 premier MEB équipé d'un canon Tungstène qui intègre la technologie simple condenseur à booster et un détecteur In-Lens lui assurant ainsi des résolutions jamais obtenus auparavant sur ce type d'équipement.

Du côté de la microanalyse, BRUKER a sorti un nouveau détecteur EBSD eWARP à détection directe des électrons ultra-rapide et ultra-sensible dédié à l'analyse EBSD. Celui-ci permet d'acquérir des cartographies à basse tension avec beaucoup moins de courant et va étendre les possibilités de l'EBSD vers de l'analyse en dynamique pour la 3D et les analyse In-Situ.

Synergie4 vous donnera aussi un aperçu de la gamme des appareils de microanalyse disponibles pour les MEB de toutes marques.



Figure 1 : MEB W CIQTEK SEM3300



Figure 2 : Caméra EBSD BRUKER eWARP

Références : Constructeurs CIQTEK et BRUKER Nano

Adresse mail : sales@synergie4.com

Quantitative measurement of electric fields and interface charge trapping inside ferroelectric and dielectric devices using *operando* electron holography

Leifeng ZHANG¹, Muhammad Hamid RAZA², Kilian GRUEL¹, Rong WU^{2,3}, Catherine DUBOURDIEU^{2,3},
Martin HYTCH¹, Christophe GATEL^{1,4}

¹ CEMES-CNRS and Université de Toulouse, 29 rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse, France

² Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie, Institute "Functional Oxides for Energy Efficient Information Technology", Hahn-Meitner-Platz 1, 14109 Berlin, Germany

³ Freie Universität Berlin, Physical Chemistry, Arnimallee 22, 14195 Berlin, Germany

⁴ Université Paul Sabatier, 31062 Toulouse, France

Session : Session SdM: Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Texte de l'abstract :

Measuring electric field in microelectronic devices is crucial for understanding device performance, reliability, and failure mechanisms. Combining electron holography technique with *in-situ* biasing TEM, we previously determined the internal potential as well as the local resistivity within phase-change memory devices [1]. Recently, we realized that this methodology is also ideal for mapping charges trapped at metal-dielectric and dielectric-dielectric interfaces [2,3]. We have designed twin nanocapacitors: TiN/HfO₂/Al₂O₃/HfO₂/TiN (A) and TiN/Al₂O₃/HfO₂/Al₂O₃/TiN (B). Specimens were prepared by FIB (FEI Helios 600i), for a Hummingbird chip-based biasing holder on a HF-3300C microscope operating at 300 kV. Finite element method (FEM) modelling was performed using COMSOL software to interpret the phase profiles quantitatively. Figures (a)-(d) show the studied regions and the extracted phase maps at 6 V for A and B, respectively. The measured phase amplitudes across the tri-layer insulators, shown in Figures (e) and (f) and extracted from phase maps, rise with increased bias and appear symmetric when switching the sign of the bias, for example, 6 V and -6 V. Theoretically, considering a relative permittivity of 7.4 for Al₂O₃ and 18 for HfO₂, the electric field should be 2.43 times higher in Al₂O₃ than HfO₂, which consequently results in a 2.43 times higher potential drop in Al₂O₃. In contrast, an equivalent uniform electric field distribution across the whole dielectric stack in HfO₂ and Al₂O₃ is observed for both nanocapacitors, which originates from the presence of trapped charges at the interfaces. Combined with extensive FEM simulations, we have successfully quantified the charge densities of each interface for both nanocapacitors as a function of the applied bias. As shown in Figure 1, the interfacial charges strongly change the electric field distribution. Besides, we investigate the internal electric field in a ferroelectric Hf_{0.5}Zr_{0.5}O₂ (HZO)-based device and further quantify the charge densities at the interfaces [4].

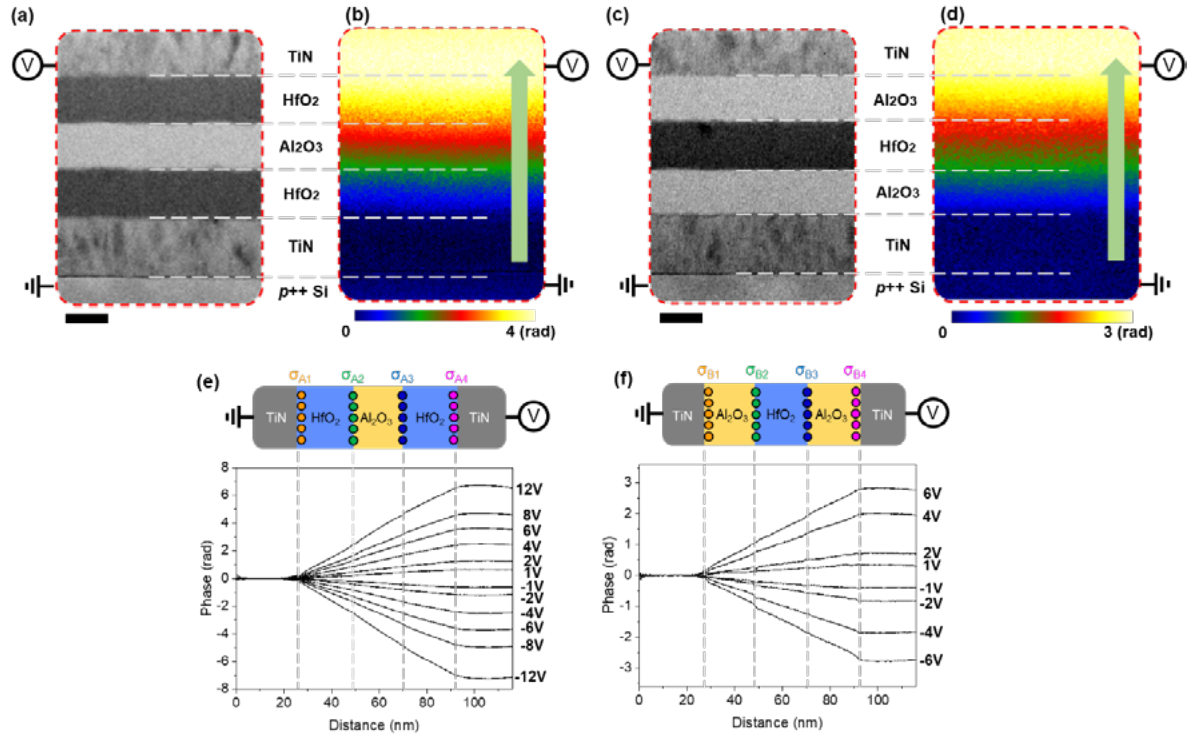


Figure 1 : (a) TEM image showing the designed device architecture for A; (b) phase map of projected electric potential obtained by electron holography for A; (c) TEM image showing the structure of B; (d) phase map of B; (e) - (f) the phase profiles extracted from the green arrows as a function of applied bias for A and B, respectively. Here, (b) and (d) correspond to the same regions as (a) and (c) for A and B, respectively. In (e) and (f), the locations of the charged interfaces, with surface charge densities of $\sigma_{A1}, \sigma_{A2}, \sigma_{A3}, \sigma_{A4}$ for A and of $\sigma_{B1}, \sigma_{B2}, \sigma_{B3}, \sigma_{B4}$ for B, respectively, are marked by the dotted circles. Scale bar is 20 nm in (a) and (c).

Acknowledgements :

The authors from CEMES-CNRS acknowledge the French National Research Agency for the POLARYS project (ANR-23-CE42-0011).

Références :

- [1] L. Zhang, *et al.* Nano Letters, **24.19** (2024): 5913-5919.
- [2] C. Gatel, *et al.* Physical Review Letters, **129.13** (2022): 137701.
- [3] L. Zhang, *et al.* Advanced Materials, **37.4** (2025): 2413691.
- [4] L. Zhang, *et al.* Submitted - under review.

Adresse mail : leifeng.zhang@cemes.fr

NANOSCALE STRAIN MAPPING IN CARBON NANOTUBES WITH 4D-STEM

Antonin LOUISET^{1,2}, Nicola VIGANO², Vincent JOURDAIN³, Saïd TAHIR³, Christophe BICHARA⁴, Martien DEN HERTOG¹, Hanako OKUNO².

¹Institut Néel, CNRS, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France.

²IRIG-MEM, CEA, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France.

³Laboratoire Charles Coulomb, CNRS, Université de Montpellier, Montpellier, France.

⁴CINaM, CNRS, Université Aix-Marseille, France.

Session : SdM2 : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) exhibit remarkable electronic properties, which make them one of the most promising candidates for beyond silicon electronics¹. To build a nanotube-based transistor, it is crucial to control the tube's chirality, i.e., atomic configuration, which determines their electronic properties (metallic or semiconducting)². Recently, researchers demonstrated the use of semiconducting nanochannels to produce transistors by inducing chirality changes in SWCNTs, paving the way for quantum transport at room temperature³. To support the development of these new structures, materials scientists need a microscopy technique to determine the local chirality of nanotubes. Furthermore, because the band gap of SWCNTs directly depends on their diameter², it is crucial to characterize strain fields along tubes and especially the radial component. Finally, because SWCNTs are extremely small, typically less than 2 nm in diameter, these analyses require nanometric spatial resolution.

Here, we demonstrate how we successfully performed 4D-STEM experiments to map chirality and strain fields along individual SWCNTs. While interest in this technique has been growing significantly to study low-dimensional materials, such as 2D monolayers⁴, it is still rarely used for characterizing 1D materials. First, we show that conventional electron diffraction techniques used for chirality determination⁵ can be adapted to 4D-STEM. Then, we demonstrate that it is possible to go further by measuring diameter variations from the diffraction patterns and recover radial strain maps. We are able to perform these experiments at 80 keV with limited electron dose, down to $1.75 \times 10^3 \text{ e}^-/\text{\AA}^2$, to avoid damaging the tubes, while preserving nanometric spatial resolution, down to 2.1 nm. Finally, we discuss the key criteria for maximizing resolution in reciprocal space, particularly the impact of the STEM probe convergence angle on the robustness of the results.

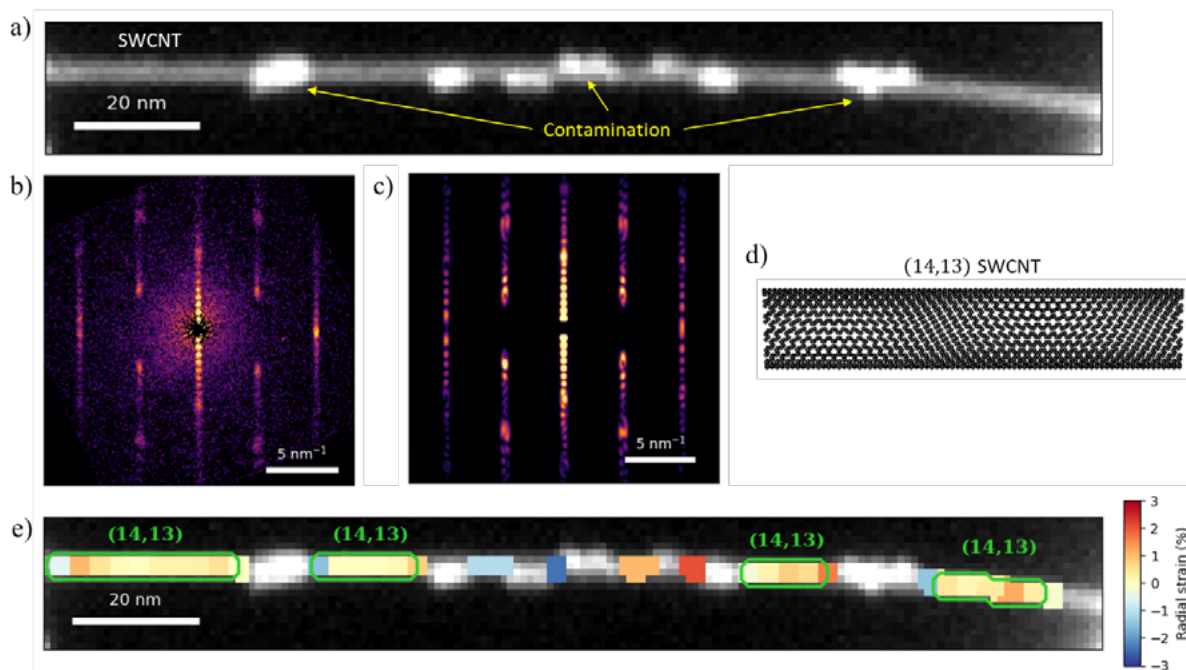


Figure 1: Simultaneous chirality and radial strain maps acquired for an individual SWCNT. a) Virtual ADF image of a SWCNT reconstructed from a 4D-STEM dataset, b) experimental and c) simulated diffraction patterns of a (14,13) SWCNT (direct beam and background have been removed for clarity) and d) real space representation of the (14,13) SWCNT nanotube structure determined from b). e) Radial strain (colored pixels) and chirality (areas outlined in green) maps superimposed on the virtual ADF image.

Références :

- [1] Hills, G., et al. (2019). Nature, 572(7771), 595-602.
- [2] Charlier, J. C., Blase, X., & Roche, S. (2007). Reviews of modern physics, 79(2), 677-732.
- [3] Tang, D. M., et al. (2021). Science, 374(6575), 1616-1620.
- [4] Dosenovic, D., et al. (2023). 2D Materials, 10(4), 045024.
- [5] Jiang, H., et al. (2007). Carbon, 45(3), 662-667.

Adresse mail : antonin.louiset@neel.cnrs.fr

Electrochemical Liquid TEM and 4D-STEM: Advanced Characterization of Battery Materials

Josephine Rezkallah^{1,2,3}, Kevyn Gallegos-Moncayo^{1,2}, Nicolas Folastre^{1,2}, Walid Dachraoui^{1,2},
Ankush Bahtia^{1,2}, Justine Jean^{1,2,3}, Arash Jamali³, Arnaud Demortière^{1,2}

¹ Laboratoire de Réactivité et de Chimie des Solides (LRCS), Univ Picardie Jules Verne, CNRS UMR 7314, 80000 Amiens, France

² Réseau sur le Stockage Electrochimique de l'Energie (RS2E), CNRS FR 3459, Hub de l'Energie, 15 Rue Baudelocque, 80039 Amiens Cedex (France)

³ Microscopie électronique plateforme de l'UPJV, Univ Picardie Jules Verne, 80000 Amiens, France

Session : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

The performance and degradation of battery materials are linked to reaction-diffusion processes within cathode and anode materials during electrochemical charge and discharge cycles. These processes induce local crystallographic transformations, multiple phases coexistence with complex spatial distributions and localized elastic strain. Additionally, the liquid-solid interfaces between electrolyte and active materials are critical sites for electrochemical reactions, causing the formation of new species and crystal properties modifications. A comprehensive understanding of these mechanisms requires advanced nanoscale characterization techniques.

In situ electrochemical (EC) liquid TEM and 4D-STEM provide insights into battery materials and their reaction mechanisms. This talk presents recent advancements in these techniques and their applications in studying battery systems. It's about the latest developments achieved at the LRCS laboratory and within the RS2E network.

In situ EC liquid TEM enables real-time visualization of electrochemical reactions, offering key insights into material transformations. Applied to Na-O₂ batteries, it reveals solution-mediated nucleation process leading to the formation of NaO₂ cubes. It also allows the visualization of a parasitic reaction shell (Fig 1a) reveals its role in the poor cyclability of Na-O₂ batteries¹. Additionally, coupling *in situ* TEM with gas chromatography mass spectrometry provides a novel approach to studying solid electrolyte interphase (SEI) formation in Na-ion batteries (Fig 1b)².

The 4D-STEM Automated Crystal Orientation Mapping (ACOM) technique enables phase and orientation mapping of crystalline materials (Fig. 1c), allowing for the extraction of strain and lattice parameter maps. Advances in our 4D-STEM data processing within the ePattern software³ enhance diffraction pattern registration and matching accuracy while minimizing user bias. This method is particularly valuable for studying lithium-ion battery cathodes, where structural evolution plays a critical role in performance optimization³.

These advanced TEM techniques provide fundamental insights into electrochemical processes, guiding the design of more efficient and durable battery materials, ultimately advancing next-generation energy storage systems.

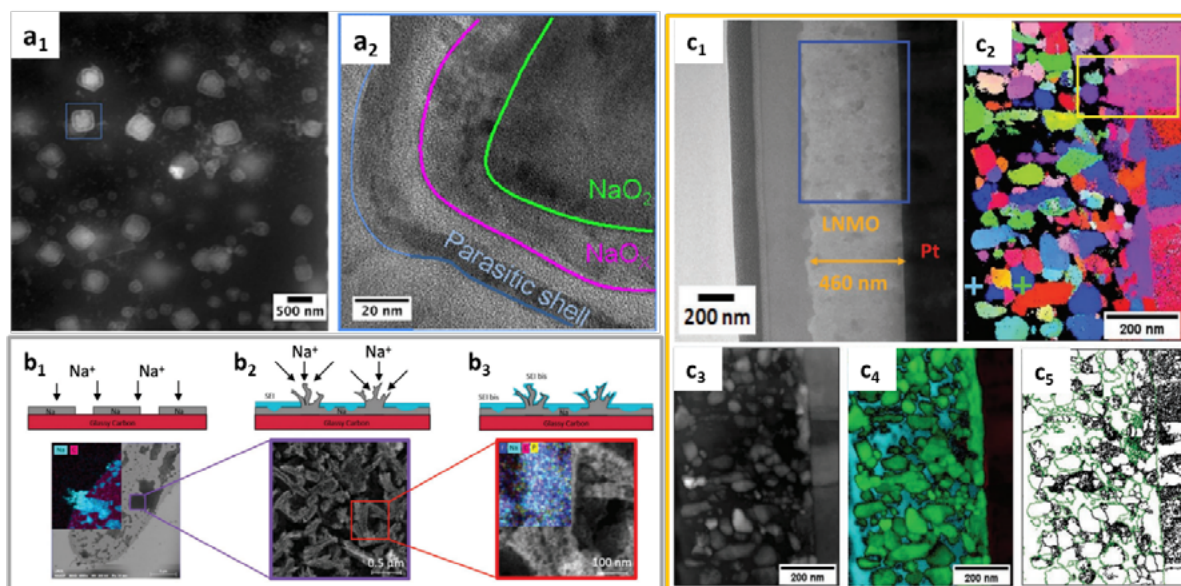


Figure 1: (a₁) HAADF-STEM overview image showing widely distributed cubic structures on the glassy carbon electrode, encased by a parasitic shell. (a₂) TEM image revealing the internal structure of the shell surrounding the NaO₂ cubes, highlighting bulk crystalline NaO₂ (green), NaO_x nanocrystallites (pink), and an outer organic layer (blue). (b) Schematic representation of electrochemical reactions occurring on the surface of the glassy carbon electrode, with corresponding STEM images showing: (b₁) non-uniform Na plating, (b₂) dendrite growth and SEI formation, and (b₃) SEI_{bis} formation. (c₁) TEM image of the LMNO FIB lamella sample prior to cycling. (c₂) Orientation map along the y-axis. (c₃) Index map. (c₄) Phase map, where platinum is shown in black, the LMNO phase in green, and the amorphous phase in blue. (c₅) Grain boundary map.

References

- [1] L. Lutz *et al.* *Nano Lett.*, **18.2** (2018) : 1280-1289
- [2] K. Gallegos-Moncayo *et al.* *Small Methods*, **8.12** (2024): 2400365
- [3] N. Folastre *et al.* *Sci Rep*, **14.1** (2024) : 12385

Adresse mail : josephine.rezkallah@u-picardie.fr

CATHODOLUMINESCENCE EXCITATION SPECTROSCOPY AND THE QUEST OF FILTERING TRANSITION RADIATION

Alissa FREILINGER¹, Florian CASTIONI¹, Yves AUAD¹, Jean-Denis BLAZIT¹, Xiaoyan LI¹,
Mathieu KOCIAK¹, Luiz TIZEI¹

¹ Université Paris-Saclay, CNRS, LPS Orsay, 91400 Orsay, France

Session : SDM2 : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Cathodoluminescence excitation spectroscopy (CLE) in Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) is a technique that correlates electron excitation with subsequent photon emission events. These are measured via electron energy loss spectroscopy (EELS) and cathodoluminescence spectroscopy (CL) respectively and correlated via nano-second resolved coincidence detection using a Timepix3 detector for electrons and PMTs for CL. This setup, currently installed on our Nion Hermes STEM, allows for the tracking of which excitation energy leads to a photon emission, crucial for dealing with the broadband nature of the electron-matter interaction. [3] We currently investigate single point defect emitters in nanomaterials like hexagonal Boron Nitride (hBN) and diamond nanoparticles.

Unfortunately, CLE's high sensitivity also picks up transition radiation (TR), which occurs in an energy range overlapping with in-gap excitations we aim to measure [2]. Filtering of TR can be temporal, spectral and spatial. We are currently working on a spatial approach, and plan to explore temporal filtering in the future. The emission angular distribution varies between TR and different excitations [4], allowing potentially not only to filter out TR background, but also to distinguish angular emission distributions of different signals. Complexity is added to the problem by the parabolic mirror used for CL light collection distorting the angular distribution [4]. We are developing an optical system to be integrated in the CL light collection path. By imaging the Fourier plane of the parabolic mirror containing the emission angular distribution [4] and selectively placing a pinhole it will allow to select specific emission angles. In order to visualize the expected emission angular distributions, and estimate possible gains in signal-to-background-ratios, we develop python code simulating the imaging of different excitations or their superpositions in an optical system with a parabolic mirror as in [4]. Already by "blindly" placing a pinhole based on emission peaks optimization, we achieved a signal-to-background ratio enhancement of 2.

Références :

- [1] N Varkentina *et al.*, Science Advances **8** (2022) eabq4947
- [2] R Bourellier *et al.*, Nano Letters **16** (2016) p. 4317-4321
- [3] Y Auad *et al.* Ultramicroscopy **239** (2022), 113539
- [4] T Coenen, PhD thesis (2014)

Adresse mail : alissa.freilinger@universite-paris-saclay.fr

Session SdM : Interfaces

Chairmen :

- Cécile GENEVOIS (CEMHTI, Orléans)
- Sophie MEURET (CEMES, Toulouse)

Résumé :

La session interfaces traitera des recherches récentes autour de l'analyse et la caractérisation d'interfaces et interphases de tout type. Les sujets d'intérêt incluront des applications de microscopies avancées dans le but de mieux comprendre l'arrangement spatial, les structures cristallines et la chimie des interfaces au sein de matériaux massifs (3D), de matériaux pour l'optique, de films minces ou revêtements, de polymères et de matériaux présentant plusieurs états (solide / liquide / gaz), etc. Dans ce symposium un ensemble de techniques de pointe pourront être abordées tel que l'holographie, la cathodoluminescence, la tomographie ainsi que l'EBS, TKD, ACOM, etc. Dans cette session sera aussi discuté la complémentarité et l'association de différentes techniques afin d'aboutir à une caractérisation spécifique et détaillée des interfaces en général, en allant de l'échelle micrométrique à l'échelle atomique.

Planning : vendredi 4 juillet de 8 h 30 à 10 h 30, amphithéâtre Le Chatelier

8 h 30 – 8 h 45	Cyril LANGLOIS, MATEIS, Lyon « <i>Contraste de canalisation aux interfaces dans l'approche CHORD</i> »
8 h 45 – 9 h 10	Conférence invitée: Nathaly ORTIZ PENA, MPQ, Paris « <i>In situ liquid phase transmission electron microscopy: from biomaterials to electrocatalysts</i> »
9 h 10 – 9 h 25	Xavier DEVAUX, Institut Jean Lamour, Nancy « <i>Migration réversible de fluor entre deux interfaces à travers une barrière organique dans une jonction tunnel multiferroïque</i> »
9 h 25 – 9 h 35	Brice LOPEZ, entreprise Oxford Instruments « <i>BEX : Nouvel outil d'analyse pour des cartographies chimiques rapides de vos échantillons</i> »
9 h 35 – 9 h 50	Vincent RENARD, CRHEA, Valbonne « <i>Étude HR par STEM-iDPC du Graphène sur SiC : Comparaison entre l'hydrogénation in-situ et ex-situ</i> »
9 h 50 – 10 h 15	Conférence invitée : Gille PATRIARCHE, C2N, Saclay « <i>Structure atomique des parois d'inversion dans les couches de semiconducteurs III-V épitaxiées sur substrat silicium (100)</i> »
10 h 15 – 10 h 30	Mamadou SANGARE, CEA, Grenoble « <i>Amélioration de la reconstruction tomographique des catalyseurs de piles à combustible : inpainting pour la réduction des artefacts métalliques (MAR)</i> »

Contraste de canalisation aux interfaces dans l'approche CHORD

Gabriel L'HÔTE¹, Joël LACHAMBRE¹, Thierry Douillard¹, Cyril LANGLOIS¹

¹INSA Lyon, CNRS, Univ Claude Bernard Lyon 1, MATEIS, UMR5510, 69621 Villeurbanne, France

Session Sciences de la Matière : Interfaces

Les cartes d'orientations cristallines obtenues par l'approche CHORD [1, 2] reposent sur l'acquisition de « datacubes » représentant en chaque position (X, Y) de la zone d'intérêt la variation d'intensité du signal BSE au cours d'une rotation de l'échantillon. Comme pour des motifs de Kikuchi en EBSD, ces profils d'intensité à une interface sont un mélange des contributions des deux cristaux voisins à la canalisation des électrons.

Pour caractériser cette hybridation, un film mince de cuivre de 3 μm d'épaisseur présentant des macles submicroniques a été utilisé. Les conditions d'acquisition ont été les suivantes : 120 images (2048*1536) , 20,3 secondes par image, une tension d'accélération de 5kV, une taille de pixels résultante de **4 nm**, tilt de 15° et un détecteur BSE sous la lentille objectif. Hormis le volume d'interaction, d'autres causes peuvent influencer sur cette hybridation : la géométrie d'acquisition, l'alignement des l'images ou encore leur débruitage. Dans la cartographie d'orientations finale, la détection des objets est aussi influencée par la méthode d'indexation qui repose sur la correspondance entre les profils expérimentaux hybridés et une base de données de profils théoriques, nécessairement non hybridés. Un ajustement de l'algorithme d'indexation dans la méthode CHORD est proposé ici, qui limite les effets de l'hybridation. Cet ajustement consiste à dériver les profils expérimentaux et théoriques avant l'indexation, ce qui corrige certaines erreurs en compensant les différences entre les profils bruts simulés et expérimentaux, mais peut aussi masquer la contribution d'objets présents dans la zone d'intérêt. Une approche est présentée pour lever l'hybridation et récupérer l'orientation d'un objet « masqué » dans la carte d'orientations. Ce travail va de pair avec une réduction de la tension d'accélération (de l'ordre de 3kV) de façon à améliorer la résolution spatiale.

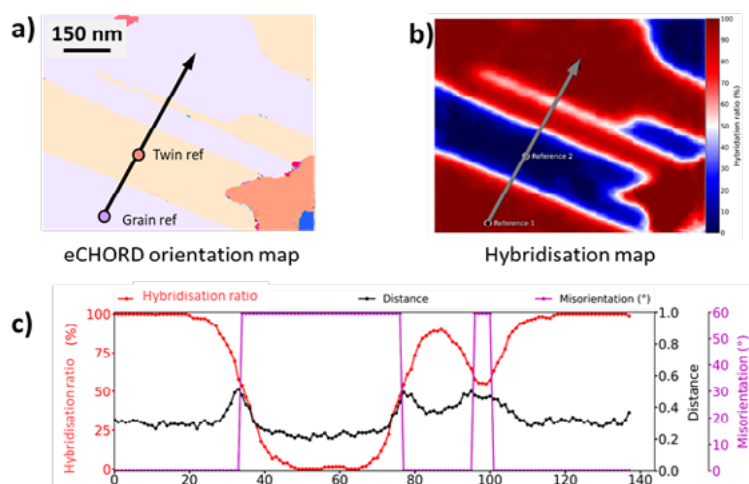


Figure 1 : a) Détail d'une cartographie d'orientation eCHORD à 5kV, tilt 15°kV. b) Carte d'hybridation à partir des profils de référence dans le grain et dans la macle, c) Evolution du taux d'hybridation à travers les deux interfaces (couleur rouge), de la qualité de l'accord expérience vs théorie ("Distance", couleur noire), et désorientation (en degrés, couleur violette) par rapport à l'orientation de référence prise dans le grain.

Références :

[1] Lafond, *et al.* Ultramicroscopy **186** (2017): 146-149

[2] Lafond, *et al.* Materialia **20** (2021): 101207

Adresse mail : cyril.langlois@insa-lyon.fr

IN SITU LIQUID PHASE TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY: FROM BIOMATERIALS TO ELECTROCATALYSTS

Nathaly ORTIZ PEÑA,¹ Louis GODEFFROY,² Jean-Marc NOËL,²

Florence GAZEAU,³ Damien ALLOYEAU¹

¹ Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques, Université Paris Cité / CNRS, France.

² Laboratoire ITODYS, Université Paris Cité / CNRS, France.

³ Laboratoire Matière et Systèmes Complexes, Université Paris Cité / CNRS, France.

Session SdM: Interfaces

Direct probing of dynamical processes at the nanoscale is key to move forward in the comprehension of formation, degradation and catalytic mechanisms of biological and synthetic materials. Furthermore, a deepened understanding of such processes in realistic synthesis or functioning conditions is crucial to improve their production and implementation methods in functional devices. Thereby, the development of *in situ* and *operando* characterization techniques arises as a logical step in the advancement of material sciences. *In situ* liquid phase transmission electron microscopy (LP-TEM) is part of the thriving characterization techniques allowing real time monitoring with nanometric resolution of processes taking place in liquid environments and contributing to the overall comprehension of solid-liquid or liquid-liquid interfaces. Herein, we will show some examples of how *in situ* LP TEM have brought light to new aspects of the behavior of materials in their formation and working environment. In a first instance, we show a collaborative study to assess whether MoS₂ nanosheets pose a potential hazard to the lung environment and how it can be related to the fate and biotransformations of these nanomaterials over 1 month. To do so, we traced the mechanisms of nanotransformation of MoS₂ patches in intracellular biomimetic media using *in situ* LP-TEM. Then, we will discuss some preliminary results of our current research regarding the study of electrocatalysts for electrolyzers and fuel cells. In this study we have implemented a complementary methodology to track the precipitation of Ni(OH)₂ on top of Pt nano-assemblies using electrochemical LP-TEM, which allowed to verify the growth of a layer around the Pt nano-assemblies during cyclic voltammetry and have correlated to other microscopy techniques such as interferometric optical microscopy and scanning transmission x-ray microscopy allowing to paint a multi-scale picture of the reactivity.

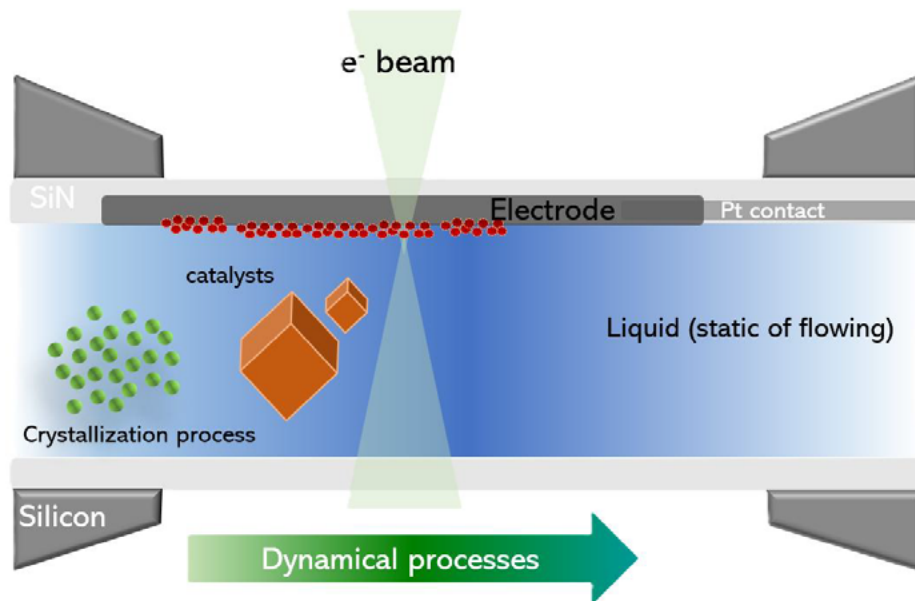


Figure 1 : Schematic representation of in situ liquid transmission electron microscopy capabilities.
Adresse mail : nathaly.ortiz@u-paris.fr

MIGRATION REVERSIBLE DE FLUOR ENTRE DEUX INTERFACES A TRAVERS UNE BARRIERE ORGANIQUE DANS UNE JONCTION TUNNEL MULTIFERROIQUE

Xavier DEVAUX¹, Abir NACHAWATY¹, Tongxin CHEN¹, Sylvie MIGOT¹, Antonio DA COSTA², Anthony FERRI², Rachel DESFEUX², Jean-Christophe LE BRETON³, Philippe SCHIEFFER³, Yuan LU¹

¹ Université de Lorraine, CNRS, Institut Jean Lamour, 54000 Nancy, France

² Université d'Artois, CNRS, Centrale Lille, Université de Lille UMR 8181, Unité de Catalyse et Chimie du Solide, 62300 Lens, France

³ Université de Rennes, CNRS, Institut de Physique de Rennes UMR 6251, 35000 Rennes, France

Session : Interfaces

L'intégration de l'effet de magnétorésistance à effet tunnel (TMR) dans les memristors est une voie pour la réalisation mémoires multi-états. À ce jour, la plupart des memristors combinés à la TMR ont été réalisés via des jonctions tunnel multiferroïques (MFTJ) [1], où une barrière ferroélectrique est prise en sandwich entre deux électrodes ferromagnétiques. La TMR obtenue dans différentes MFTJ est restée faible jusqu'alors (limitée à 100 %). En intercalant une couche mince (1-2 nm) de polyfluorure de vinylidène (PVDF) entre du $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_3$ (LSMO) et du Co, nous avons obtenu une TMR atteignant 266% [2]. Les cartographies STEM-EELS réalisées sur des lames minces prélevées dans des jonctions après plusieurs cycles de polarisation électrique ont permis d'observer la migration de fluor issu du PVDF d'un côté à l'autre de la barrière organique. Le fluor migre et se piège de façon réversible dans le cobalt lorsque le champ est orienté vers lui et inversement dans le LSMO lors que le champ est inversé. Nous montrons que l'origine du fluor mobile est dû à une réaction de décomposition du PVDF à l'interface PVDF-LSMO qui est occasionné lors de l'élaboration de la jonction par un recuit à basse température (120°C). Cela induit un piégeage initial du fluor dans les premiers plans atomiques du LSMO qui peut ensuite migrer sous l'effet d'un champ électrique. Après un grand nombre de cycles d'inversion de polarisation, les propriétés se dégradent en raison du piégeage du fluor de chaque côté de la jonction. Contrairement aux memristors à base de ferroélectricité (couche épaisse de PVDF) [3], nous prouvons que c'est la migration de F piloté par la tension qui permet de générer un énorme changement de résistivité qui est réversible sur une échelle de temps très courte.

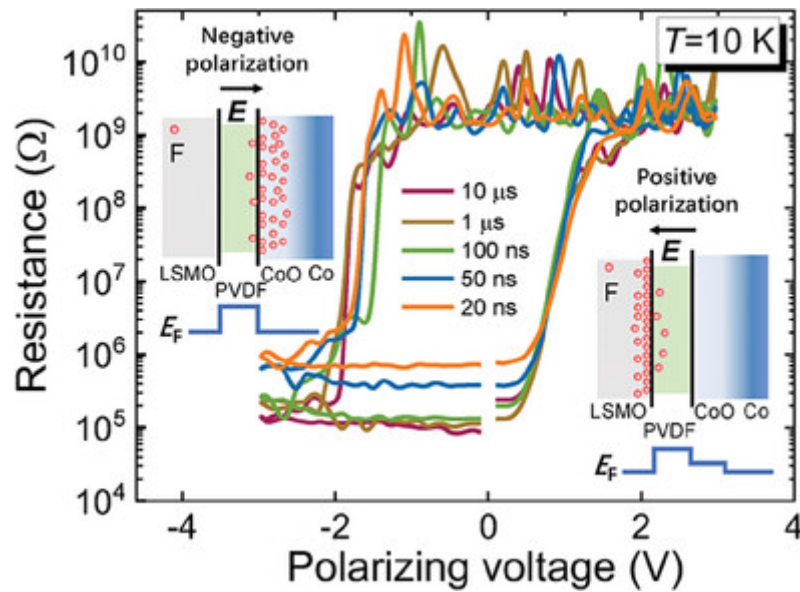


Figure 1 : Illustration de la migration du fluor sous l'effet d'un champ électrique dans une jonction LSMO/PVDF/Co observée par STEM EELS qui est à l'origine d'un changement important de la résistivité en fonction de la polarisation, avec une réversibilité accessible sur des échelle de temps de l'ordre de quelques ns.

Références :

- [1] W. C. Huang *et al.* Journal of Materiomics **1.4** (2015): 263-284
- [2] A. Nachawaty *et al.* Advanced Materials **36.33** (2024): 2401611
- [3] S. Liang *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces **10** (2018): 30314-30622

Adresse mail : xavier.devau@univ-lorraine.fr

BEX : Nouvel outil d'analyse pour des cartographies chimiques rapides de vos échantillons

Daniel FUNES¹, Minoosh HEMMAT², Brice LOPEZ³

¹ Oxford Instruments

Session : Sessions communes : Avancées instrumentales

Unity, le premier BEX (Backscatter electron and X-ray imaging) développé par Oxford Instruments est présenté. Ce nouveau détecteur combine les signaux BSE et X-Ray de haute qualité pour une cartographie complète de l'échantillon obtenue à la vitesse de l'imagerie traditionnelle.

Placé sous la pièce polaire, ce détecteur collecte le maximum de signal tout en évitant les effets d'ombrages. L'intégration dans le logiciel AZtec et la complémentarité avec un détecteur EDS est détaillée au travers de différents exemples.

Les bénéfices de cet outil pour des applications en géologie, sciences de la vie, métallurgie et micro-électronique sont présentées en détail.

La vitesse d'analyse est quantifiée en montrant l'acquisition d'une grande surface d'échantillon en vitesse réelle puis le processus de « stitching » des cartographies obtenues.



Figure 1 : Analysis of Micro-organism in seashell with BEX – Unity (20kV 50Pa 600X 15s)

Références : exemple de format ci-dessous

[1] Meister, *et al.* Nano Letters **9.6** (2009): 2501-2507

Adresse mail : daniel.funes@oxinst.com

HR-STEM-iDPC study of Graphene on SiC substrate: Comparison of in-situ and ex-situ hydrogenation treatment

Vincent RENARD^{1,2*}, Ismail MADACH¹, Ahmed EL ALOUANI², Mathieu ABEL¹, Isabelle BERBEZIER¹, Nunzio MOTTA³, Michael REYNOLDS³, Adrien MICHON², Ileana FLOREA²

¹ IM2NP – AMU – CNRS, Campus de Saint Jérôme, Case 142, 13397 Marseille CEDEX 20

² Université Côte d'Azur (UniCA), CNRS, CRHEA, France, Valbonne 06560, France

³ Queensland University of Technology, Brisbane City QLD 4000, Australia

Session: Material Sciences Sessions, Interfaces

The demand for more sensitive and broader-band imaging promoted the development of heterogeneous integration of 2D materials on silicon. This integration is commonly realised by transfer when the 2D layer is free-standing (van der Waals bonding to the substrate). The growth of graphene on SiC using CVD under hydrogen raises a major challenge: obtaining a free-standing monolayer without the presence of a buffer layer [1,2] in order to ease the transfer process. Hydrogenation of the interface is a potential solution for decoupling the buffer layer from the substrate. In this study two hydrogenation methods are proposed: in-situ hydrogenation during the cooling step of the growth process under a molecular H₂ environment, [3], and ex-situ hydrogenation performed after growth in a dedicated reactor under an H₂ environment [4,5]. The resulting SiC/Gr interface was analysed at atomic-scale using a recently developed electron microscopy technique, the STEM-iDPC (integrated-differential-phase-contrast) available on the TEM microscope at CRHEA. This STEM-iDPC imaging mode allows mapping the electric field within the sample which is directly related to the center of mass (COM) of the probed sample. By using four detectors it is possible to capture the smallest changes of the centroid position COMX and COMY and through an alignment difference obtaining a high-quality STEM-iDPC image [6,7]. From the HR-STEM-iDPC images illustrated in *Figure 1*, we can easily distinguish the exact position of the Silicon and Carbon atoms within both materials. A detailed analysis of the STEM-iDPC images recorded on the hydrogenated interface sample allowed observing that the buffer layer is detached from the SiC substrate. This advanced STEM-iDPC imaging technique provides an unprecedented view of the interface, offering crucial information of the structural and chemical changes induced by both in-situ and ex-situ hydrogenation methods with ultimate resolution.

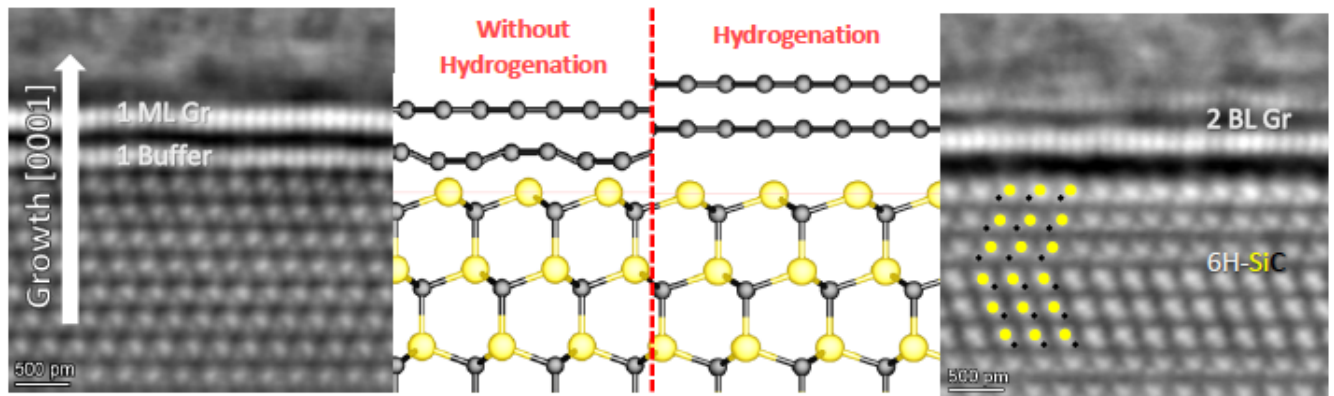


Figure 1 : STEM-iDPC images of graphene as-grown on SiC by CVD (left) where a buffer layer is bonded to the substrate (**0.26 nm** specifically to an sp^2 bonding) and after ex-situ hydrogenation (right) where the buffer layer is detached (**0.47 nm** specifically to an sp^3 bonding) and contributes to a bilayer free-standing graphene. The corresponding schematical representation are given with Si in yellow and C in black.

Références :

- [1] Ben Jabra, *et al.* ACS Appl. Nano Mater. **4** (2021) : 4462-4473
- [2] Emtsev, *et al.* Phys. Rev. B **77** (2008) : 155303
- [3] Mastropasqua, *et al.* hal-04954035 (2025)
- [4] Riedl, *et al.* Phys. Rev. Lett. **103** (2009) : 246804
- [5] Watcharinyanon, *et al.* Surf. Sci. **605** (2011) : 1662-1668
- [6] Lazić *et al.* Ultramicroscopy **160** (2016) : 265-280
- [7] Seki, *et al.* Microscopy **70** (2021) : 148-160

Adresse mail : vincent.renard@crhea.cnrs.fr

STRUCTURE ATOMIQUE DES PAROIS D'INVERSION DANS LES COUCHES DE SEMICONDUCTEURS III-V EPITAXIEES SUR SUBSTRAT SILICIUM (100)

Gilles PATRIARCHE¹, Alexandre BECK², Laurent PEDESSEAU², Rozenn GAUTHERON-BERNARD², Konstantinos PANTZAS¹, Ludovic LARGEAU¹, Audrey GILBERT³, Jean-Baptiste RODRIGUEZ³, Eric TOURNIÉ³, Charles CORNET²

¹ Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies (C2N), Université Paris-Saclay, CNRS, Bld Thomas Gobert, 91120 Palaiseau

² Institut Foton, INSA Rennes, CNRS, 20 avenue des Buttes de Coësmes, CS 70839, 35708 Rennes

³ IES, Université de Montpellier, CNRS, 34000 Montpellier

Session : SDM1 : Interfaces

La croissance de couches de semiconducteurs III-V sur substrat silicium (100) s'accompagne généralement de la formation de domaines d'inversion. Une des raisons de la formation de ces défauts étendus dans la couche épitaxiée est la présence de marches monoatomiques de hauteur $a_{\text{Si}}/4$ à la surface du silicium. Jusqu'à récemment, la méthode pour limiter l'extension des parois d'inversion dans l'épaisseur de la couche était d'utiliser des substrats (100) vicinaux très désorientés (4° off). Nous avons montré récemment qu'en contrôlant précisément la direction de désorientation du substrat silicium, il était possible d'utiliser des substrats vicinaux moins désorientés (0.5 à 1° off autour d'une direction $\langle 110 \rangle$) pour favoriser le développement d'un seul des deux variants et ainsi éliminer rapidement les parois d'inversion. En utilisant des substrats très peu désorientés, il est même possible de commencer à obtenir une propagation quasi verticale des parois d'inversion [1].

Maintenant cette inversion de polarité cristalline au sein des couches de semiconducteur III-V épitaxiées sur substrat silicium ouvre de nouvelles voies pour l'optique non-linéaire (projet ANR Pianist). Le phosphure de gallium à orientation structurée (OP-GaP), alternant périodiquement les deux variants liés à l'inversion de polarité, est une nouvelle plateforme pour la photonique non-linéaire intégrée. Par ailleurs, des propriétés de transport sélectif observées au niveau des parois entre domaines de polarité cristalline opposés pourraient bénéficier aux dispositifs de conversion d'énergie solaire (projet PEPR Hydrogène décarboné « Nautilus »).

Il est donc essentiel d'avoir une connaissance la plus complète que possible de l'organisation globale des parois d'inversion, leur propagation dans la couche épitaxiée, la structure atomique de ces défauts bi-dimensionnels. Pour ce faire nous avons réalisé des études par microscopie électronique en transmission sur des vues planes après retrait sélectif du substrat silicium. La Figure 1 montre l'observation en STEM-HAADF et en cartographie élémentaire EDX d'une couche de GaP de 100nm d'épaisseur. Il est possible de décrire la structure atomique des parois d'inversion pour les segments verticaux comme montré Figure 2.

Nous présenterons les résultats des études réalisées dans des couches épitaxiées de GaP, InGaP, GaAs et InGaAs, toutes obtenues par croissance par Jets Moléculaires (EJM). D'une façon très surprenante, la structure des parois d'inversion apparaît très différente selon la nature des couches épitaxiées.

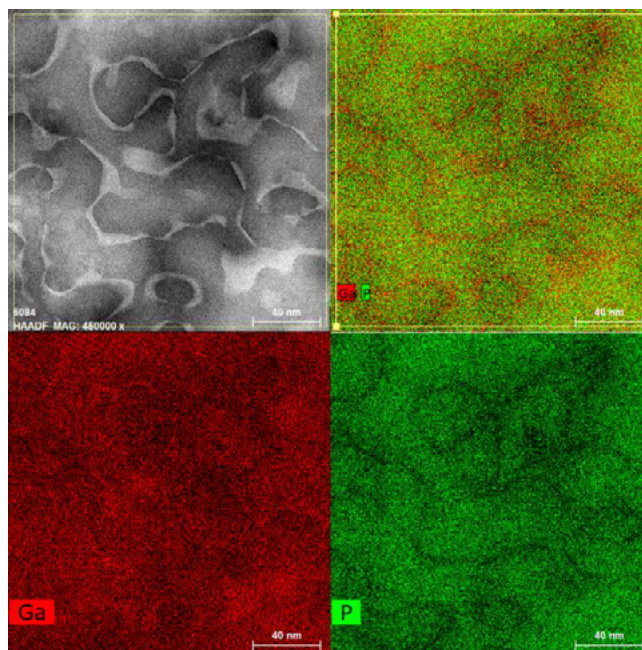


Figure 1 : Couche GaP (001) observée en STEM-HAADF après retrait sélectif du substrat silicium. La cartographie chimique EDX associée révèle un enrichissement systématique en gallium des parois d'interface présentent dans la couche épitaxiée.

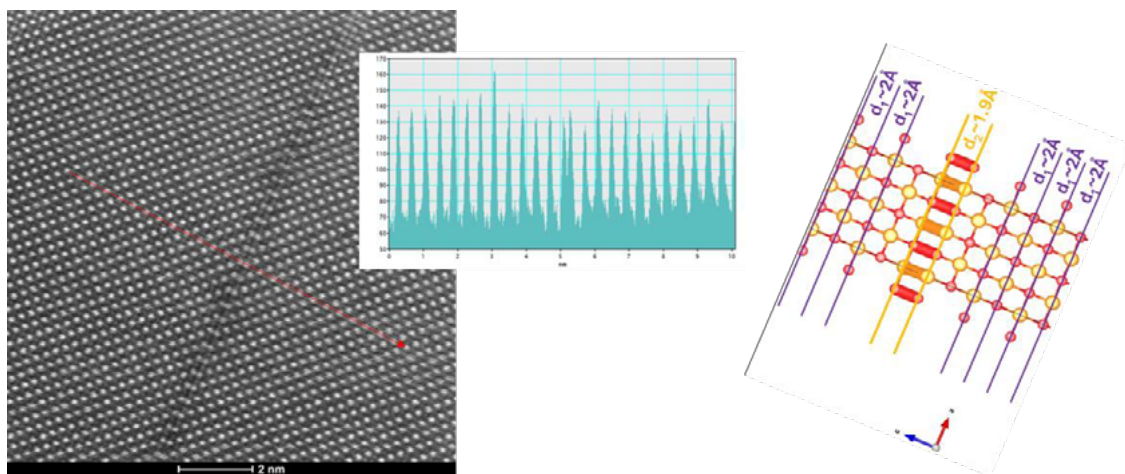


Figure 2 : Image STEM-HAADF en résolution atomique d'un segment d'une parois d'inversion dans GaP se propageant verticalement dans un plan $\langle 220 \rangle$. On note la formation de liaisons Ga-Ga et P-P dans le plan du défaut. La modélisation par DFT confirme la stabilité de la structure observée.

Références :

- [1] Gilbert, et al. Advanced Optical Materials 11 (2023) 2203050
- [2] Cornet, et al. Phys Rev Mat 4 (2020) 053401

Financements et supports : ANR Pianist (ANR-21-CE09-0020), ANR Nuages (ANR-21-CE24-0006), ERC Consolidator Grants 2022 Pandora, Equipex+ HYBAT (ANR-21-ESRE-0026), plateformes C2N Renatech

Adresse mail : gilles.patriarche@c2n.upsaclay.fr

AMELIORATION DE LA RECONSTRUCTION TOMOGRAPHIQUE DES CATALYSEURS DE PILES A COMBUSTIBLE : *INPAINTING* POUR LA REDUCTION DES ARTEFACTS METALLIQUES (MAR)

Mamadou SANGARÉ¹, Arnaud MORIN², Zineb SAGHI³, Thomas DAVID¹, Laure GUÉTAZ¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, CEA, Liten, DTNM, Grenoble, France

² Univ. Grenoble Alpes, CEA, Liten, DEHT, Grenoble, France

³ Univ. Grenoble Alpes, CEA, Leti, DPFT, Grenoble, France

Session : SdM1 : Interfaces, ou SdM2 : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Les piles à combustible à membrane échangeuse de protons (PEMFC) représentent une alternative prometteuse pour décarboner le secteur de la mobilité lourde. En effet, elles fonctionnent sans générer de gaz à effet de serre, ne produisant que de l'eau, de l'électricité et de la chaleur. Cependant, leurs performances et durabilité restent fortement limitées par leurs électrodes, dont l'optimisation nécessite une meilleure compréhension de leur nanostructure et de leurs mécanismes de dégradation. Ces électrodes sont un nano-composite poreux composé de particules de carbone (30 nm) supportant des nanoparticules de Pt (2-5 nm) catalytiques, entourées d'une fine couche d'ionomère (1-10 nm) jouant le rôle d'électrolyte. Afin de mieux comprendre la nanostructure 3D de ces électrodes, nous les étudions par tomographie électronique.

Ces expériences de tomographie sont difficiles en raison de l'importante différence de contraste entre le Pt et le C. En effet, si la reconstruction 3D des NP de Pt est relativement aisée, les méthodes classiques peinent à reconstruire précisément la morphologie du carbone, particulièrement aux abords des nanoparticules de Pt en raison des artefacts métalliques (stries et ombrages visibles sur la Fig. 1a).

Pour surmonter cette limitation, nous avons développé une nouvelle approche d'*Inpainting* des NP de Pt, qui supprime leur fort contraste sur la série d'images d'acquisition en le comblant par interpolation avec les pixels voisins non affectés par le métal [1]. Cette méthode permet d'éliminer les artefacts métalliques (Fig. 1b) et d'améliorer significativement la segmentation du carbone (Fig. 1c). Ainsi, nous avons pu obtenir des modèles 3D précis de divers catalyseurs et d'une électrode complète de 1 μm de large, qui ont été analysés quantitativement par la suite. Ces images 3D constituent une avancée majeure, offrant une première visualisation détaillée de la structure d'une électrode à cette échelle.

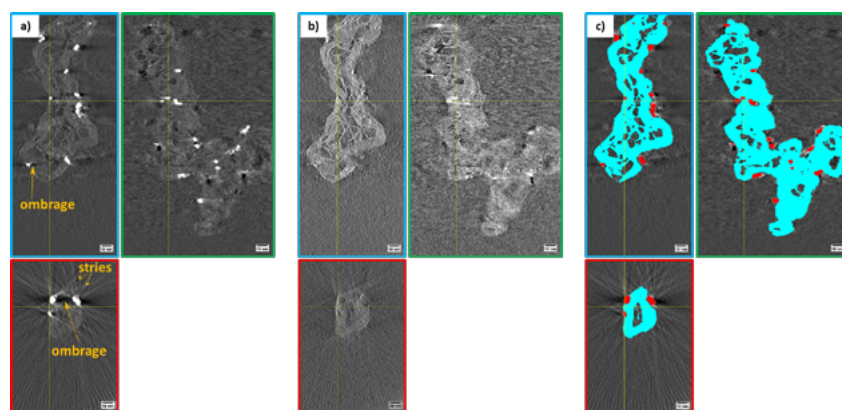


Figure 1 : Coupes transversales du modèle 3D reconstruit de la poudre du catalyseur Pt/C selon les 3 directions de l'espace : a) avant et b) après l'application de notre méthode de reconstruction, c) segmentation du carbone obtenue avec les coupes en b) et superposée avec le Pt sur celles en a).

[1] R. Pua, et al. *Journal of Computer Assisted Tomography*, vol. 40, n° 1, p. 131-141, 2016.

Adresse mail : mamadou.sangare@cea.fr

POSTERS SESSIONS COMMUNES

1. **Cédric BAUMIER, IJCLab, Orsay**, Le MET JANNuS-Orsay de la plateforme MOSAIC
2. **Matteo DE TULLIO, GPM, Rouen**, Amélioration des performances de la sonde atomique tomographique à impulsion terahertz monocyclique à l'aide de revêtement métallique
3. **Tom FRAYSSE, CEMES, Toulouse**, Optique catastrophique de particules chargées
4. **Amélie LEFORRESTIER, LPS, Orsay**, Utilisation des plaques de phase pour l'imagerie d'échantillons biologiques en milieu liquide par microscopie électronique en transmission
5. **Juliana GUIMARAES, IPCMS, Strasbourg**, Surveillance directe du processus de biominéralisation des nanoparticules d'or par la microalgue *Euglena gracilis* par microscopie électronique en transmission in situ en phase liquide
6. **Adrien MONCOMBLE, LMPQ, Paris**, AquaDenoising : Amélioration de video STEM in situ en milieu liquide par IA pour la quantification automatique de la croissance de nanoparticules
7. **Cyril LANGLOIS, MATEIS, Lyon**, Séries d'images en rotation au MEB : une signature de la microstructure
8. **Damien JACOB, UMET, Lille**, Approche par décomposition NMF pour la cartographie de phase d'échantillons d'astromatériaux par 4D-STEM
9. **Frédéric MOMPIOU, CEMES, Toulouse**, Segmentation des dislocations par apprentissage profond en MET
10. **Slavica JONIC, IMPMC, Paris**, Développement de méthodes d'apprentissage profond pour extraire les paysages conformationnels à l'échelle atomique à partir de données cryo-EM et cryo-ET
11. **Adriana PEREIRA CONTRERAS SANCHEZ, TBI, Toulouse**, L'immobilisation des cellules pour les mesures AFM modifie les propriétés biophysiques de la paroi des microalgues
12. **Emmanuel SOUBIES, IRIT, Toulouse**, Microscopie par sonde optique à balayage d'interférences
13. **Etienne DAGUE, LAAS-CNRS, Toulouse**, Nouvelle approche pour la fabrication de sondes AFM en verre à l'aide de la gravure laser sélective
14. **Kayode Olalere ODENIYI, TBI, Toulouse**, Effets de divers polluants environnementaux sur le métabolisme et les propriétés biophysiques des microalgues
15. **Simona SEBASTIANO, TBI, Toulouse**, Exploration de la biophysique des cellules *P. kessleri* et *S. cerevisiae* en coculture à l'aide de la microscopie à force atomique pour la production de biocarburants

Le MET JANNuS-Orsay de la plateforme MOSAIC

Cédric BAUMIER¹, Stéphanie JUBLOT-LECLERC ¹, Aurélie GENTILS ¹

¹ Université Paris-Saclay, CNRS/IN2P3, IJCLab

La plateforme MOSAIC se compose de différents équipements d'irradiation/implantation ionique (accélérateur ARAMIS, accélérateur Andromède, implanteur IRMA, séparateur d'isotopes Sidonie, Tancrede) et d'analyses structurale et chimique (RBS, ERDA, PIXE, PIGE, MSI, et MET, MEB, AFM). Le hall expérimental rassemblant l'implanteur IRMA, l'accélérateur ARAMIS, et les différentes lignes de faisceau associées est connu sous le nom de JANNuS-Orsay.

Le couplage du Microscope Electronique en Transmission (MET) avec ARAMIS et IRMA est unique au monde de par la diversité des éléments et énergies qu'il permet d'accélérer in situ dans le microscope[1]. Ce dispositif permet de caractériser in situ à l'échelle nanométrique l'évolution des modifications structurales et chimiques de matériaux soumis à un ou deux faisceaux d'ions. Le détail des possibilités d'expériences ainsi que des exemples sont présentés dans ce poster.

Références :

[1] *In situ Transmission Electron Microscopy Ion Irradiation Studies at Orsay*, M.-O. Ruault, F. Fortuna, H. Bernas, J. Chaumont, O. Kaïtasov, V.A. Borodin, *Journal of Materials Research* **20** (2005) 1758-1768 [doi](#)

Adresse mail : cedric.baumier@cnrs.fr

ENHANCING SINGLE-CYCLE TERAHERTZ-ASSISTED ATOM PROBE TOMOGRAPHY PERFORMANCES WITH METALLIC COATING TECHNIQUES

Matteo DE TULLIO^{1*}, Florant EXERTIER¹, Ivan BLUM¹, Emmanuel CADEL¹, Laurence CHEVALIER¹,
Jonathan HOUARD¹, Simona MOLDOVAN¹, Martin ANDERSSON², Gustav ERIKSSON², Marc
ROPITAUX³, Angela VELLA^{1*}

¹ Université Rouen Normandie, INSA Rouen Normandie, CNRS, GPM UMR 6634, F-76000 Rouen, France.

² Department of Chemistry and Chemical Engineering, Chalmers University of Technology Gothenburg 41296, Sweden.

³ Université Rouen Normandie, GLYCOMÉV UR4358, SFR Normandie Végétal FED 4277, Innovation Chimie Carnot, IRIB, F-76000 Rouen, France.

Session: Avancées instrumentales

Single-cycle terahertz (THz) pulses provide a promising approach for advancing atom probe tomography (APT) by improving temporal control and by reducing thermal effects compared to conventional laser-assisted APT [1]. However, non-metallic materials such as sol-gel silica, used for the embedding of biomolecules [2], lack the required free carriers for THz field enhancement, making THz-driven field evaporation particularly challenging [3].

To overcome these limitations and enhance the THz field on the sample, we explored two metallization techniques by fully covering the sol-gel silica: chromium coating via nanoscale sputtering and encapsulation with monolayer graphene sheets [4].

3D reconstructions confirmed successful coating, as both chromium and carbon species were detected, as shown in Fig. 1(a). Those metallizations enabled ionic emission with metallic-like behavior under positive THz pulses. As illustrated in the mass spectra comparison in Fig. 1 (b), coated solgel-silica samples clearly outperform the uncoated ones in terms of mass resolution and signal-to-noise ratio. Cr-coated silica improved mass resolution and reduced noise levels, while graphene encapsulation further improved the sharpness of the peaks, minimized thermal tails, and revealed previously undetected species, highlighted in the zoomed-in region of Fig. (c).

In addition to reducing thermal effects, these coatings improved the detection of weak ionic signals, which is particularly important for complex materials such as biological samples. These results illustrate how metallization of samples can expand the applicability of THz-assisted APT, achieving greater mass resolution power.

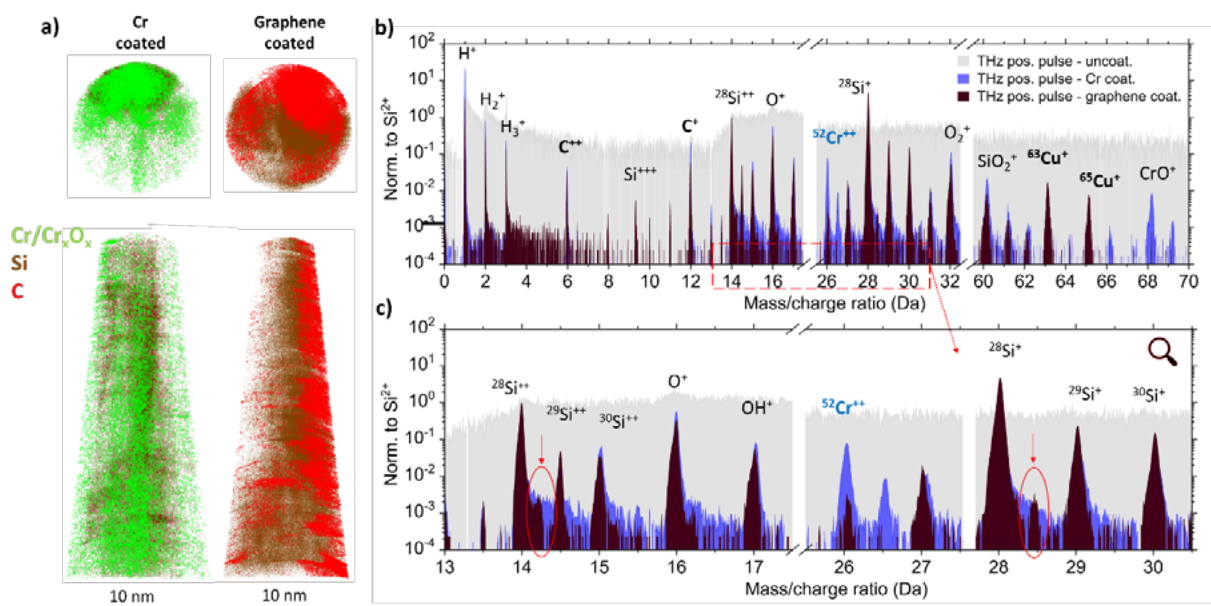


Figure: (a) 3D reconstruction of Cr-coated (left, 550k events dataset, THz pos. pulse) and graphene coated (right, 550k events dataset, THz pos. pulse) sol gel silica nanotips; (b) Si²⁺ normalized mass spectra of Cr (transparent blue) and graphene coated (black) analysis with THz positive pulse, in comparison with mass spectra obtained from uncoated samples THz positive pulse (grey); (c) Zoom on the range 13-30.5 Da evidences resolved peaks at 28.5 and 14.25 Da with graphene encapsulation (red arrows).

References :

- [1] Vella, *et al.* Sci. Adv. **7.7** (2021): eabd7259
- [2] G. Sundell, *et al.*, Small **15** (2019): 1900316.
- [3] M. De Tullio, *et al.*, Phys. Rev. B **111** (2025): 045428
- [4] V. R. Adineh, *et al.* Adv. Funct. Mater. **28** (2018): 1801439.

Adresse mail: angela.vella@univ-rouen.fr

CATASTROPHE CHARGED PARTICLES OPTICS

Tom FRAYSSE¹, Robin COURTS¹, Hugo LOURENÇO-MARTINS¹, Florent HOUELLIER¹

¹ CEMES, University of Toulouse and CNRS, 31055 Toulouse, France.

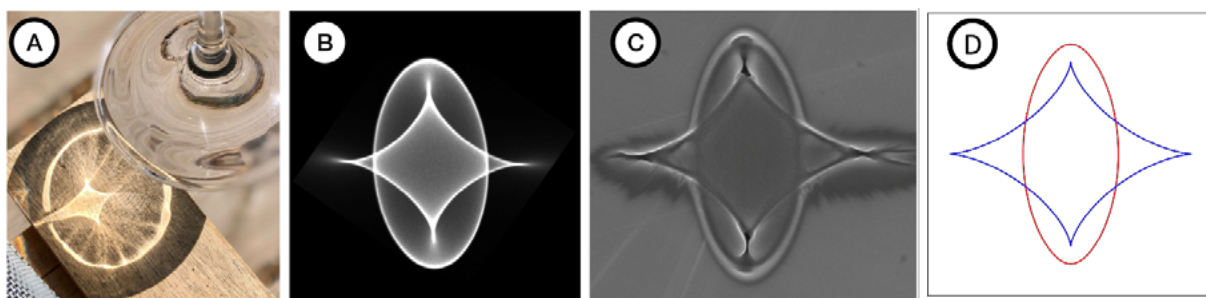
Common Session : Instrumental Advances

The majority of physicists who uses charged particles optical devices, such as transmission electron microscopes (TEM), has seen caustics on their screen. These figures' geometric shapes are characterized by high electron density patterns. They are caused by the optical system's aberrations, and their geometry is determined by the symmetry of the electromagnetic lenses. The goal of our study is to better understand how these geometrical structures arise. While this might be accomplished using normal ray tracing methods, we choose to apply René Thom's catastrophe theory [1,2], which provides a relevant formalism to describe caustics shapes.

There is a large body of literature on the study of caustics for light optics [3,4,5]. These methods based on catastrophe theory are known as catastrophe optics. Catastrophe theory is a mathematical formalism aiming at describing singularities of characteristic functions that cause sudden changes in the behavior of a physical system, known as catastrophes. When we apply this approach to optics, the optical path is the relevant characteristic function, while the caustics represent the catastrophes. What makes this formalism efficient is that we do not need to know the entire system to anticipate the shape of the caustics, but only the symmetry of this function. The other way around, simply looking at the caustics should enable us to predict which aberrations are present in the optical system. This might lead to promising applications in aberration measurement for charged particle optical systems such as ion beam instruments.

In this talk we will first discuss catastrophe theory and its application to light optics. We will then demonstrate how this framework may be applied to charged particle optics. Finally, we will provide some examples of how we may extract information about aberrations from caustics images.

Figure 1 : Images of caustics (A) with a beam of light, (B) with an electron beam (in a TEM), (C) with an ion beam and, (D) simulated with catastrophe theory.



Références :

- [1] R. Thom, Stabilité structurelle et morphogénèse : essai d'une théorie générale des modèles. Benjamin, 1972.
- [2] V. I. Arnold, Catastrophe theory, 3rd ed. Springer.

- [3] E. C. Zeeman, "Catastrophe theory," *Scientific American*, vol. 234, no. 4, pp. 65–83, 1976.
- [4] M. Berry and C. Upstill, "IV catastrophe optics: Morphologies of caustics and their diffraction patterns," in *Progress in Optics*. Elsevier, vol. 18, pp. 257–346.
- [5] J. F. Nye, "Symmetrical optical caustics," vol. 20, no. 7, p. 075612.

Adresse mail : tom.frayse@cemes.fr

USE OF PHASE PLATES FOR LIQUID CELL ELECTRON MICROSCOPY OF BIOLOGICAL MATERIAL

UTILISATION DES PLAQUES DE PHASE POUR LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE D'OBJETS BIOLOGIQUES EN PHASE LIQUIDE

Kahina VERTCHIK¹, Amélie LEFORESTIER¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, CNRS, Université Paris Saclay, Orsay

Les systèmes biologiques, ainsi que les systèmes moléculaires organisés en physique de la matière molle sont généralement caractérisés par des architectures complexes qui résultent de remarquables propriétés d'auto-assemblage. Si la cryo microscopie électronique (cryo-EM) permet de caractériser ces structures à haute résolution après vitrification à basse température, mais ne permet pas de suivre directement leur dynamique. Pour cela, la microscopie électronique en phase liquide en isolant des cellules ou des poches de liquide dans le microscope électronique permet de coupler structure et suivi dynamique en temps réel sur les échantillons natifs et non plus congelés. Cette technique connaît des développements spectaculaires dans le domaine de matériaux [1]. L'appliquer aux objets biologiques est plus complexe en raison de leur sensibilité au faisceau d'électrons, mais quelques résultats prometteurs ont été obtenus [2], [3].

En utilisant en parallèle, des cellules de SiN montées sur un porte objet et des sandwichs de graphène nous mettons en place les conditions d'imagerie sur un système simple, les bactériophages T5 en suspension. Nous testons l'influence de la nature du solvant (D_2O versus H_2O , $\pm$ DMSO). Nous testons également différents modes d'imagerie (TEM, STEM, defocus ou contraste de plaque de phase). Nous montrons en particulier que les plaques de phase permettent de réduire la dose d'électrons et/ou d'augmenter le contraste.

Ces résultats montrent le potentiel de l'imagerie de plaques de phase pour la microscopie en phase liquide de matériaux sensibles aux électrons et peu contrastés.

[1] Ross, *Science*, 350 (6267), aaa9886 (2015).

[2] Wang *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* 117, 3, pp. 1283–1292 (2020)

[3] Smith *et al. Science Advances*, 10 (16) (2024)

**DIRECT MONITORING OF THE BIOMINERALIZATION PROCESS OF GOLD NANOPARTICLES BY
THE MICRALGAE *Euglena gracilis* THROUGH LIQUID PHASE IN SITU TRANSMISSION
ELECTRON MICROSCOPY**

Juliana GUIMARÃES¹, Anaïs CARIO², Liubov GERASIMOVA², Zoe LECOMPTE², Sisareuth TAN³, Dris
IHIAWAKRIM¹, Maria DE MARCO¹, Olivier LAMBERT³, Clément SANCHEZ⁴, Samuel MARRE², Mona
TREGUER², Ovidiu ERSEN¹

¹ Institut de Physique et Chimie de Matériaux de Strasbourg (IPCMS), CNRS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France.

² Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux (ICMCB), CNRS, Université de Bordeaux, Bordeaux, France.

³ Chimie et Biologie des Membranes et des Nano-objets (CBMN), CNRS, Université de Bordeaux, Bordeaux, France.

⁴ Sorbonne Université, Collège de France, LCMCP, Paris, France.

⁵ Université de Strasbourg Institut d'Études Avancées (USIAS), Université de Strasbourg, Strasbourg, France.

Session : Multitechniques – approches multiphysiques

Biomining is a natural process by which living organisms synthesize mineral structures. This phenomenon has gained attention for its potential applications in green nanotechnology [1]. Among the various biological systems capable of biomining nanoparticles, microalgae can mediate the synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) [2]. The biosynthesis of AuNPs by microalgae involves both intracellular and extracellular mechanisms, through enzymatic reduction and biomolecular interactions, like proteins, polysaccharides, and pigments, playing an important role in nanoparticle nucleation, stabilization, and morphology [3]. Compared to conventional chemical and physical synthesis methods, the use of microalgae in AuNP biomining offers an eco-friendly and sustainable alternative, reducing the need for toxic reagents and minimizing energy consumption [3,4].

To elucidate the biomining process and the role played by microorganisms, we used liquid-phase *in situ* transmission electron microscopy (TEM) to monitor the formation, nucleation and growth, of AuNPs mediated by the microalgae *Euglena gracilis*. Additionally, energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) mapping was performed on the final nanoparticles to assess the purity of the produced nanoparticles (Figure 2).

Our results indicate that, compared to the control experiment (without microalgae), AuNPs produced by *Euglena gracilis* are smaller, and an organic matrix remains after particle formation (Figure 1). This suggests that the microorganism plays a crucial role in controlling nanoparticle size and shape, likely due to the secretion of molecules such as enzymes and polysaccharides. EDS mapping also revealed the presence of other elements, including phosphorus, copper, and sulfur (Figure 2), in addition to the gold.

The next steps involve repeating the experiment using liquid *in situ* TEM in flow mode and testing different metal precursors. This will help determine whether *Euglena gracilis* can mediate the production of other metal nanoparticles and whether the biomineralization process, in terms of activation conditions and kinetics, varies depending on the metal used.

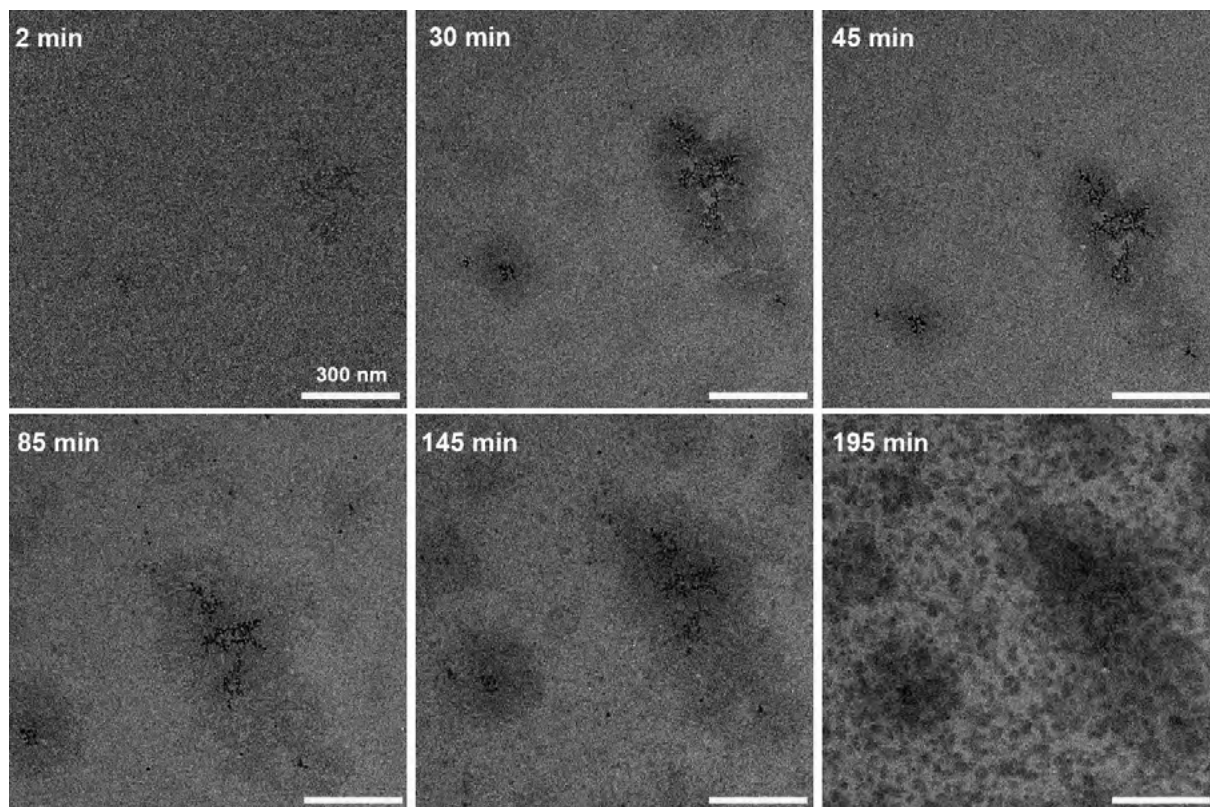


Figure 1 : Direct monitoring by *in situ* liquid TEM images of the AuNPs produced by microalgae.

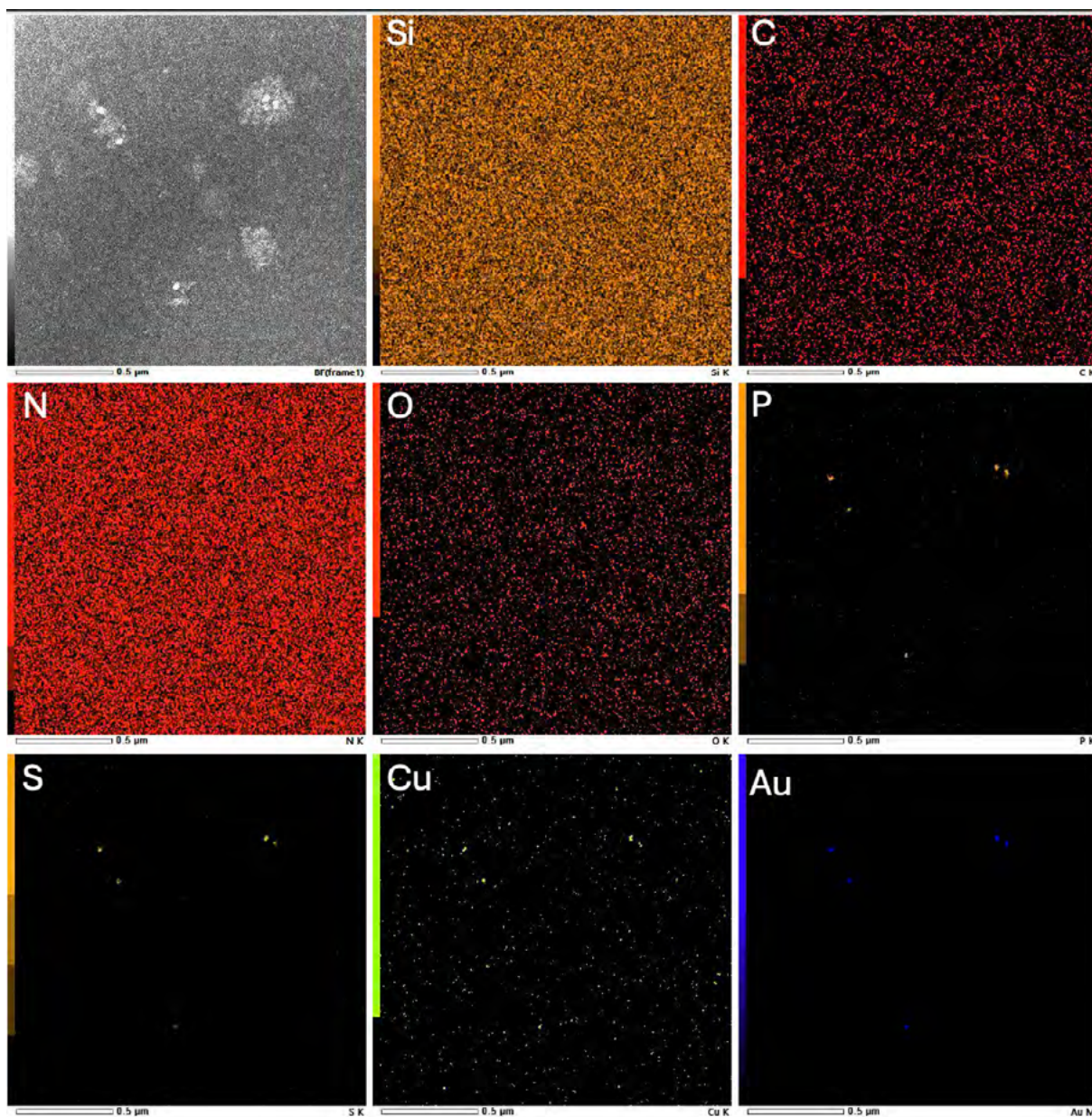


Figure 2 : EDS mapping of the AuNPs produced in the presence of microalgae, after the in situ liquid TEM experiment.

Références : exemple de format ci-dessous

- [1] Vigil & Spangler. Applied Nanomaterials (2024): 18626-18654.
- [2] Feurtet-Mazel *et al.* Environmental Science and Pollution Research (2016): 4334-4339.
- [3] Chaudhary *et al.* Biomolecules (2020): 1498.
- [4] Mikhailova. Journal of Functional Biomaterials (2021): 70.

Adresse mail : juliana.guimaraes@ipcms.unistra.fr

AQUADENOISING : AMELIORATION DE VIDEO STEM IN SITU EN MILIEU LIQUIDE PAR IA POUR LA QUANTIFICATION AUTOMATIQUE DE LA CROISSANCE DE NANOPARTICULES

Adrien MONCOMBLE¹, Damien ALLOYEAU¹, Maxime MOREAUD², Abdelali KHELFA¹,
Guillaume WANG¹, Nathaly ORTIZ-PEÑA¹, Hakim AMARA^{1,3}, Riccardo GATTI³, Romain MOREAU³,
Christian RICCOLEAU¹, Jaysen NELAYAH¹

¹ Université Paris Cité, CNRS, Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques, 75013 Paris, France

² IFP Energies Nouvelles, 69360 Solaize, France

³ Université Paris-Saclay, ONERA, CNRS, Laboratoire d'Etude des Microstructures, 92020 Chatillon, France

Session Commune : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

Ces dernières années, la compréhension des mécanismes de formation des nanoparticules (NPs) métalliques a majoritairement été rendue possible grâce à la microscopie électronique en transmission (MET) in situ en milieu liquide. Il s'agit d'une technique de caractérisation qui permet, entre autres, d'imager la nucléation et la croissance de NPs individuelles dans des milieux liquides. Toutefois, ces expériences restent limitées en termes d'acquisition et d'analyse des données, notamment parce que la dose d'électrons utilisée est généralement faible pour minimiser les effets indésirables dus à la radiolyse induite par les électrons primaires. La qualité du signal est également dégradée par la diffusion importante des électrons par le milieu liquide environnant et les membranes SiN des cellules liquides, ce qui entraîne des images peu contrastées et très bruitées incluant des signaux parasites provenant de NPs hors focus [Fig. 1] [1]. Dans ces conditions, l'amélioration du rapport signal sur bruit en utilisant des approches standard telles que le filtrage d'image, reste limitée, en raison de la difficulté à prendre en compte les contributions multiples à l'image MET liquide.

Dans cette contribution, nous présenterons aquaDenoising une méthode de restauration basée sur des réseaux de neurones de vidéos MET en champ sombre annulaire (STEM-HAADF) en milieu liquide, permettant d'augmenter le rapport signal sur bruit d'un facteur 20 à 30 [2]. L'algorithme d'apprentissage profond utilisé pour développer aquaDenoising est une variante du réseau de neurones convolutif d'apprentissage profond U-NET, entraîné sur des données synthétiques. Ces données sont obtenues par simulations ADF dans l'approximation cinématique [3], ce qui permet de reproduire la diversité de taille et de morphologie des NPs avec la prise en compte des NPs hors focus, à moindre coût. Appliqué à la restauration de vidéos STEM-HAADF de la croissance de NPs d'or dans l'eau, aquaDenoising permet d'augmenter le rapport signal sur bruit de 1,6 à 25 [Fig. 2], dépassant ainsi le seuil de 5 fixé par le critère de Rose [4].

En proposant une amélioration inédite de la qualité des images MET in situ en milieu liquide basée sur l'apprentissage profond, aquaDenoising marque une avancée majeure dans le domaine, ouvrant la voie à une meilleure exploitation des vidéos MET in situ en milieu liquide avec des statistiques améliorées.

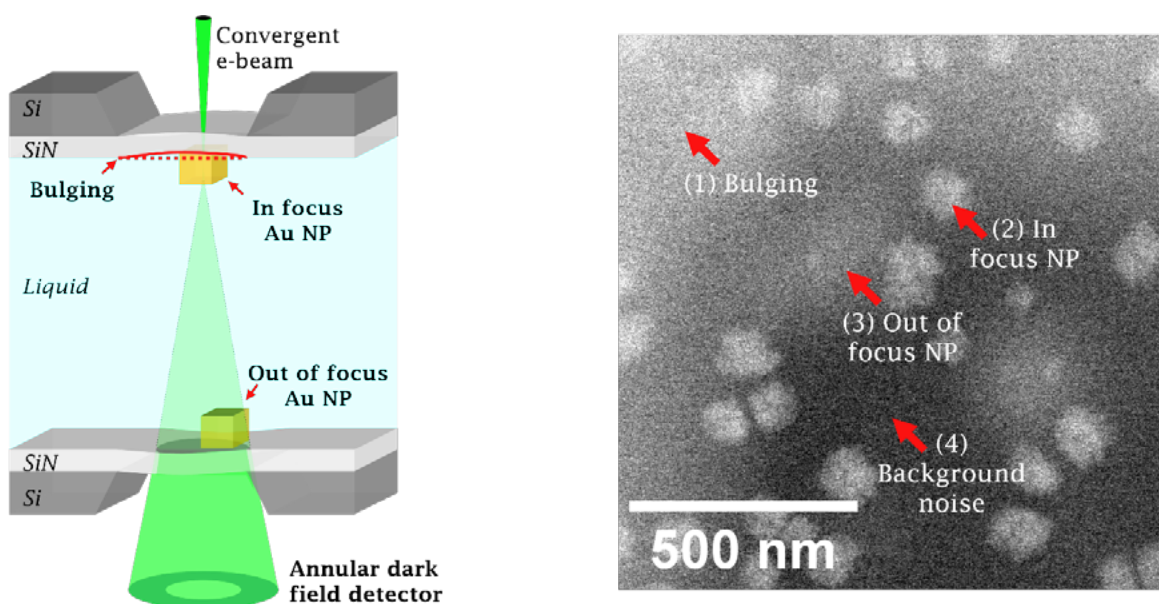


Figure 1 : (a) Schéma d'une cellule liquide contenant des nanocubes d'or. (b) Image expérimentale de nanoparticules d'or dans de l'eau. Les flèches rouges indiquent les différentes contributions présentes dans l'image. On peut noter : (1) la déformation de la fenêtre de SiN, (2) les particules au focus, (3) les particules hors focus et (4) le bruit de fond.

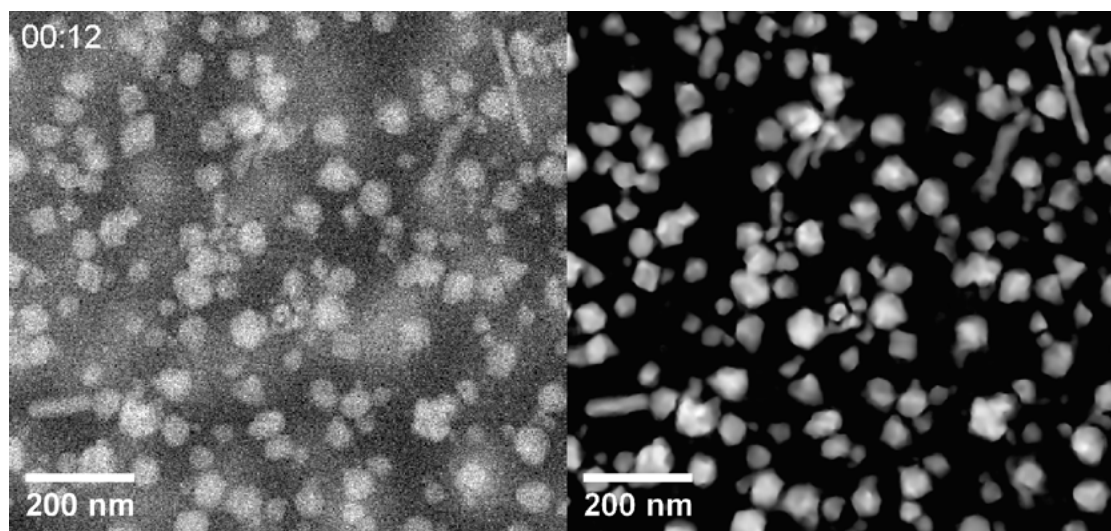


Figure 2 : (a) Image expérimentale issue d'une vidéo de la croissance de nanoparticules d'or dans de l'eau contenant un précurseur d'or suivi par STEM-HAADF in situ. (b) Image restaurée en utilisant la méthode aquaDenoising montrant une amélioration du rapport signal sur bruit d'un facteur de 20 environ.

Références :

- [1] Niels de Jonge, Ultramicroscopy, 187 (2018) 113-125.
- [2] Adrien Moncomble *et al*, Ultramicroscopy, 271 (2025) 114121.
- [3] Dongsheng He, Ziyu Li and Jun Yuan, Micron, 74 (2015) 47-53.
- [4] Albert Rose, Advances in Electronics and Electron Physics, 1 (1948) 131-166.

Adresse mail : adrien.moncomble@u-paris.fr

Séries d'images en rotation au MEB : une signature de la microstructure

Gabriel L'HÔTE¹, Joël LACHAMBRE¹, Thierry Douillard¹, Catherine Pothier², Cyril LANGLOIS¹

¹ INSA Lyon, CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, MATEIS, UMR5510, 69621 Villeurbanne, France

² INSA Lyon, CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, LIRIS, UMR5205, 69621 Villeurbanne, France

Session Commune : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

La grande majorité des constructeurs de MEB et MET propose maintenant de contrôler les microscopes via un programme en langage Python. Dans le cas de la technique **eCHORD** [1, 2], visant à obtenir des cartographies d'orientations cristallines sans recours à l'insertion d'une caméra dans la chambre du MEB, nous avons automatisé complètement la chaîne d'acquisition des images : rotation de l'échantillon // ajustement de la rotation du balayage // recentrage compucentrique // correction de dérive // acquisition de l'image // itération. Une acquisition correspond alors à une série d'images (entre 15 et 180 selon l'objectif) qui sont ensuite alignées entre elles de façon à obtenir, par analogie avec le STEM-EDX / EELS, un datacube avec un profil d'intensité associé à chaque pixel de la zone d'intérêt.

Sur un échantillon polycristallin, avec une préparation de surface similaire à l'EBSD, ce type d'acquisition est porteur d'une grande quantité d'informations relatives à la microstructure, qu'il s'agit d'extraire par des traitements appropriés que nous présentons dans ce travail. La majorité de ces traitements, notamment le débruitage des données, est réalisée actuellement **sans recours à l'IA**. A partir du datacube constitué de profils d'intensité traités, il est possible de construire plusieurs cartes de la zone d'intérêt mettant en évidence les grains, les différentes phases présentes, ou encore les zones déformées. A l'inverse, la partie indexation consistant à retrouver l'orientation cristalline correspondant à un profil ou un groupe de profils voisins peut être réalisée soit par traitement classique (recherche **GPU** dans une base de données de profils théoriques) soit en Deep Learning par entraînement sur base de données théoriques. Une classification des profils similaires par Machine Learning peut être réalisée en amont pour accélérer l'indexation. Les deux approches seront présentées.

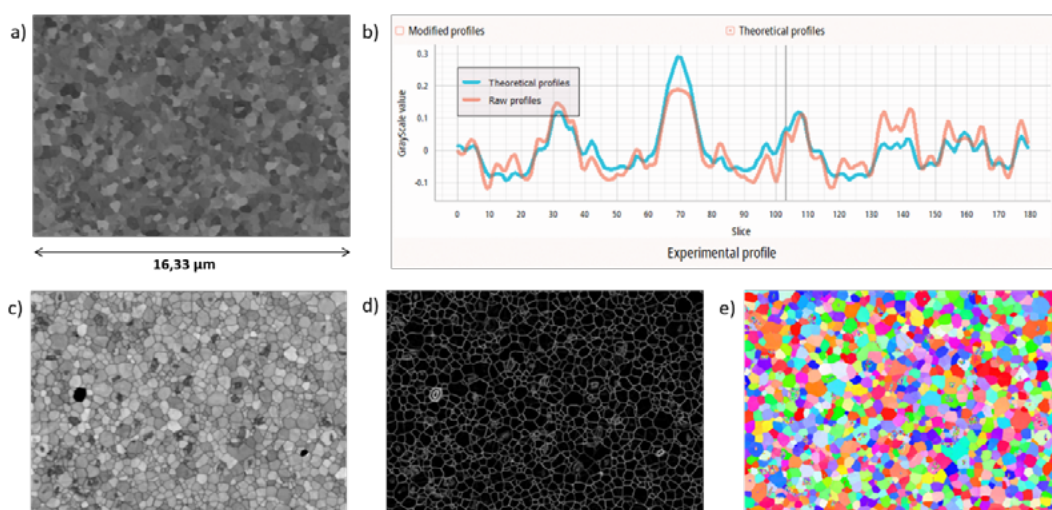


Figure 1 : à partir d'une série d'images BSE (a) d'un échantillon de zircone quadratique et des profils d'intensité issus du datacube (b), plusieurs cartes 2D sont calculées. (c) carte des écart-types des profils d'intensité, (d) carte KAD, (e) cartographie d'orientations cristallines correspondante (IPF-Z)

Références :

[1] Lafond, *et al.* Ultramicroscopy **186** (2017): 146-149

[2] Lafond, *et al.* Materialia **20** (2021): 101207

Adresse mail : cyril.langlois@insa-lyon.fr

NMF-BASED APPROACH FOR 4D-STEM PHASE MAPPING OF ASTROMATERIALS SAMPLES

Bahae-Eddine MOULOUD¹, Maya MARINOVA²,
Francisco DE LA PENA¹, Corentin LE GUILLOU¹, Hugues LEROUX¹, Damien JACOB¹

¹ CNRS, UMR 8207-UMET-Unite Matériaux et Transformations, Université de Lille, Villeneuve d'Ascq, France

² CNRS, FR 2638-IMEC-Institut Michel-Eugene Chevreul, Université de Lille, Villeneuve d'Ascq, France

Session : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

4D-STEM has become a robust and versatile method for exploring the structural features of materials at the nanometric scale. It enables the mapping of various physical properties, such as phase, orientation, strain, or magnetization, by fully exploiting the information contained in diffraction patterns and reconstructing virtual images from intensities collected at specific locations within these patterns.

However, due to the vast amount of data generated in a typical 4D-STEM experiment, automatic data processing methods are generally required to reduce dimensionality. Among these, unsupervised learning techniques such as Singular Value Decomposition (SVD) and Non-Negative Matrix Factorization (NMF) are widely used [1]. While these decomposition methods have shown significant success in analyzing single-phase samples, their application to more complex samples—composed of heterogeneous mixtures of multiple phases with various orientations—remains less explored.

In this study, we introduce an innovative approach for analyzing meteorite (Orgueil) and asteroid (Ryugu, from the recent JAXA Hayabusa2 mission [2]) samples. These samples are characterized by a phyllosilicate-rich matrix, where fine-grained constituents form a nanometer-scale mixture, leading to overlapping diffraction patterns from different phases and orientations. Additionally, the typical sample thickness of around 100 nm further complicates phase identification by intensifying diffraction overlap.

We successfully segmented our 4D-STEM data into distinct mineralogical phases, each with its own diffraction signature, using NMF decomposition of azimuthal profiles derived from 2D diffraction patterns. This approach transforms the analysis into a method resembling more to 3D-STEM rather than traditional 4D-STEM. Despite this apparent loss of dimensional information, our method yielded valuable insights into the microstructure of these complex samples.

Références :

[1] Eggeman, A. *et al.* Nature communications 6 (2015) : 7267.

[2] Mouloud, B.E. *et al.* Meteoritics & Planetary Science 59 (2024): 2002-2022

Adresse mail : damien.jacob@univ-lille.fr

Segmentation des dislocations par apprentissage profond en MET

Assya Boughrara¹, Daphné Da Fonseca³, Christine Viala¹, Fabien Onimus², T. Jourdan³,
Laurent Dupuy², Frédéric Momprou¹

¹CEMES-CNRS Université de Toulouse, 29 rue Marvig, 31055 Toulouse, France

²Université Paris-Saclay, CEA, Service de Recherche en Matériaux et procédés Avancés, F-91191 Gif-sur-Yvette, France

³Université Paris-Saclay, CEA, Service de recherche en Corrosion et Comportement des Matériaux, SRMP, F-91191 Gif-sur-Yvette, France

Session : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

La compréhension de la dynamique des dislocations est d'un intérêt fondamental pour prédire la résistance des matériaux. Nous observons leur mouvement directement, in situ, en MET, lors d'expériences de déformation, parfois en température et sous irradiation. Jusqu'à présent, l'analyse de la dynamique est effectuée manuellement, ce qui limite les traitements statistiques, bien qu'une grande base de données d'observations soit disponible. En outre, cette approche passe à côté d'une grande quantité d'informations en échantillonnant les observations et en calculant la moyenne des quantités. Ici, nous ambitionnons de tirer parti de méthodes d'apprentissage profond et de vision par ordinateur pour exploiter nos bases de données afin de construire des jumeaux numériques d'observations in-situ et récupérer des informations quantitatives qui pourraient être mises en œuvre dans des simulations à méso-échelle.

Nous présentons ici, les méthodes d'apprentissage profond basées sur des réseaux de neurones convolutifs entraînés de façon supervisée ou semi-supervisée sur des images de dislocations curvilignes ou sous forme de boucles d'irradiation, obtenues par imagerie en champ clair/champ sombre. Nous montrons que les modèles proposés sont capables de performer à un niveau similaire d'un expert dans le domaine. En guise d'application nous démontrons la possibilité d'analyser statistiquement des séquences dynamiques de croissance de boucles d'irradiation formées sous irradiation électronique dans l'aluminium.

Adresse mail : frederic.momprou@cemes.fr

Deep learning methods development for extracting atomic-scale conformational landscapes from cryo-EM and cryo-ET data

Florène Feyzi, Guchao Zeng, Ilyes Hamitouche, and Slavica Jonic

IMPMC-UMR 7590 CNRS, Sorbonne Université, MNHN, 75005 Paris, France

Session : Session SC3 : Méthodes émergentes pour le traitement des données de microscopie

This work is focused on the development of deep learning methods to extract conformational landscapes of biomolecular complexes from single particle cryo electron microscopy (cryo-EM) and cryo electron tomography (cryo-ET) data. In the previous work, we have developed two methods for obtaining atomic-scale conformational landscapes by combining molecular dynamics (MD) simulations with cryo-EM image analysis (MDSPACE method [1]) and cryo-ET subtomogram analysis (MDTOMO method [2]). We are currently developing supervised deep learning (DL) approaches to speed up these two MD simulation-based methods, by combining MDSPACE/MDTOMO with DL to obtain the entire conformational landscape faster than using MDSPACE/MDTOMO alone. Our current DL architecture is similar to the one of DeepHEMNMA [3], which we developed to speed up HEMNMA [4] (based on normal mode analysis for conformational landscape extraction from cryo-EM images). However, contrary to HEMNMA that describes the conformation using a few parameters (amplitudes of a few normal modes), MDSPACE/MDTOMO uses a much larger number of parameters (Cartesian coordinates of all atoms) to describe the conformation, which makes the task of learning the conformations from noisy cryo-EM/ET data more challenging. Here, we will present the current versions of DeepMDSPACE and DeepMDTOMO and their most recent results using synthetic data.

References:

- [1] Vuillemot R, Mirzaei A, Harastani M, Hamitouche I, Frechin L, Klaholz BP, Miyashita O, Tama F, Rouiller I, Jonic S. MDSPACE: Extracting Continuous Conformational Landscapes from Cryo-EM Single Particle Datasets Using 3D-to-2D Flexible Fitting based on Molecular Dynamics Simulation. *J Mol Biol.* 2023;435:167951.
- [2] Vuillemot R, Rouiller I, Jonic S. MDTOMO method for continuous conformational variability analysis in cryo electron subtomograms based on molecular dynamics simulations. *Sci Rep.* 2023;13:10596.
- [3] Hamitouche I, Jonic S. DeepHEMNMA: ResNet-based hybrid analysis of continuous conformational heterogeneity in cryo-EM single particle images. *Front Mol Biosci.* 2022;9:965645.
- [4] Jin Q, Sorzano CO, de la Rosa-Trevin JM, Bilbao-Castro JR, Nunez-Ramirez R, Llorca O, Tama F, Jonic S. Iterative elastic 3D-to-2D alignment method using normal modes for studying structural dynamics of large macromolecular complexes. *Structure.* 2014;22:496-506.

E-mail : Slavica.Jonic@upmc.fr

CELL IMMOBILIZATION FOR AFM MEASUREMENTS MODIFIES MICROALGAE'S CELL WALL BIOPHYSICAL PROPERTIES

Adriana P. C. SÁNCHEZ¹, Bruno LARTIGES², Cécile FORMOSA-DAGUE¹

¹Toulouse Biotechnology Institute (TBI), Université de Toulouse, INSA, CNRS, 135 avenue de Rangueil, 31400 Toulouse, France

²Géosciences Environnement Toulouse (GET), Université de Toulouse, IRD, UPS, CNRS, 14 avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France

Session commune : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Chlorella vulgaris is a model microalgal species for fundamental studies due to its potential biotechnological applications, including biofuel production. Its surface properties are crucial in key processes such as adhesion, aggregation, and mechanical stability, which can influence their efficiency in industrial and environmental settings¹. Atomic Force Microscopy (AFM) provides a powerful method for investigating these nanoscale properties, but accurate measurements demand proper cell immobilization². Specifically, the immobilization must be strong enough to prevent cell displacement during AFM scanning while maintaining the native surface structure. Common immobilization strategies involve electrostatic interactions on positively charged surfaces or adhesion through hydrophobic means. In this study, we examined how different immobilization techniques—hydrophobic versus positively charged surfaces—affect the surface properties of *C. vulgaris*. Using Chemical Force Microscopy (CFM) with thiol-functionalized AFM tips (CH₃ and COOH), we probed the hydrophobic properties of the cells and their surface charge at a fixed pH (pH 8). Our results indicate that cells immobilized on hydrophobic surfaces exhibit stronger adhesion forces when interacting with both hydrophobic and charged tips, whereas those on positively charged surfaces demonstrate lower adhesion. This suggests that the cells' surface physico-chemical properties vary depending on the immobilization method employed, potentially due to surface tension effects altering cell wall organization. Additionally, Young's modulus (YM) measurements were conducted, revealing significant differences in the nanomechanical properties of cells on the two different surfaces, which confirms changes in cell wall structure (Figure 1B). These findings highlight the substantial impact of immobilization techniques on microalgae surface properties. By understanding how these methods affect surface measurements, researchers can enhance the reliability of AFM analyses and achieve more accurate insights into microalgae cell wall properties. Ongoing research that incorporates super-resolution techniques will further refine our understanding of cell wall organization at the nanoscale across various immobilization approaches.

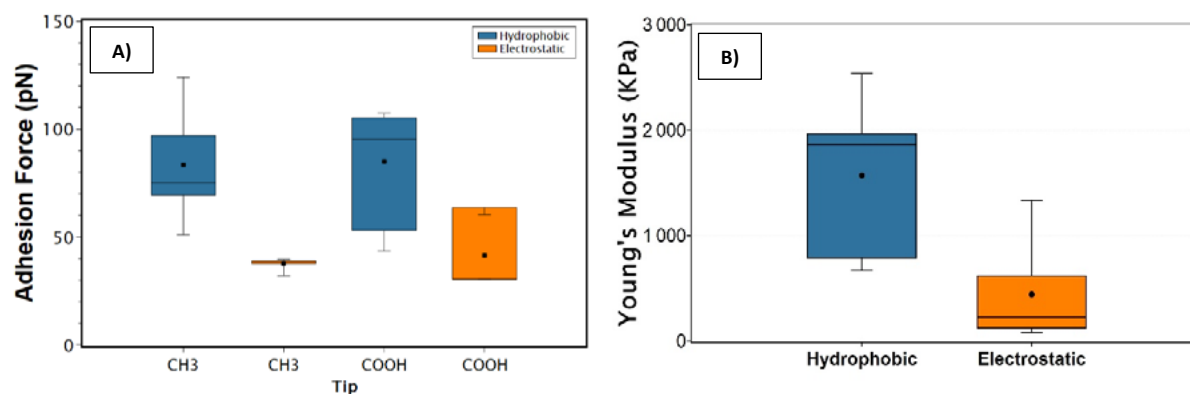


Figure 1. (A) Boxplot of *C. vulgaris* showing the adhesion Force (pN) obtained between CH₃-COOH functionalized AFM tips and the surface of *C. vulgaris* cells immobilized either on hydrophobic or electrostatic surfaces. **(B)** Young's modulus (KPa) of *C. vulgaris* immobilized in a Hydrophobic or electrostatic surface.

Références :

1. Demir-Yilmaz I, Schiavone M, Esvan J, Guiraud P, Formosa-Dague C. Combining AFM, XPS, and chemical hydrolysis to understand the complexity and dynamics of *C. vulgaris* cell wall composition and architecture. *Algal Research*. 2023;72:103102. doi:10.1016/j.algal.2023.103102
2. Demir-Yilmaz I, Guiraud P, Formosa-Dague C. The contribution of Atomic Force Microscopy (AFM) in microalgae studies: A review. *Algal Research*. 2021;60:102506. doi:10.1016/j.algal.2021.102506

Adresse mail : adriana.sanchez@insa-toulouse.fr

MICROSCOPIE PAR SONDE OPTIQUE À BALAYAGE D'INTERFÉRENCES

Emmanuel SOUBIES¹, Wolfgang BACSA²,

¹ IRIT, Université de Toulouse, CNRS

² CEMES, Université de Toulouse, CNRS

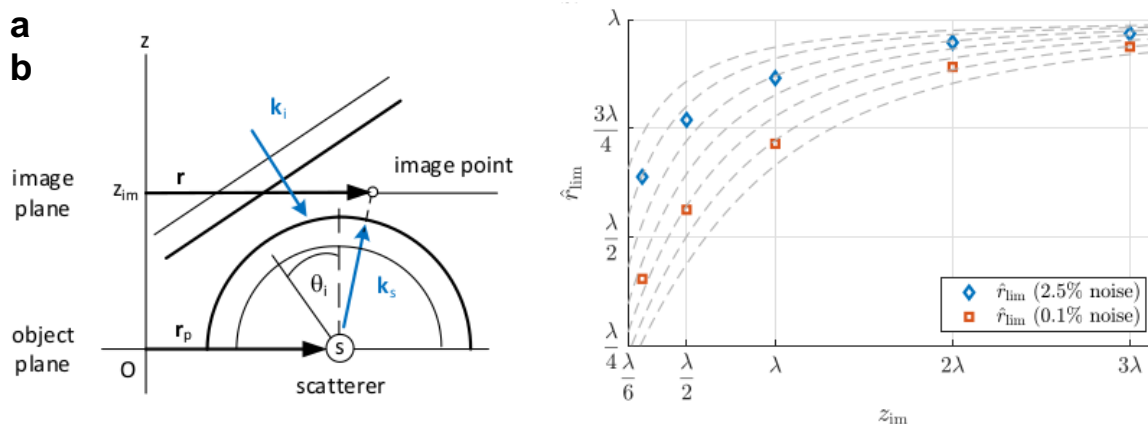
Session : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

La plupart des techniques de microscopie optique sans marqueur se divisent en deux grandes catégories selon qu'elles opèrent en champ lointain ou en champ proche. Alors que la résolution des méthodes en champ lointain est limitée par la diffraction, la microscopie optique en champ proche (Near Field Optical Microscopy, NSOM) [1] contourne cette contrainte en réalisant des mesures à des distances bien inférieures à la longueur d'onde de la lumière. Toutefois, la mise en œuvre de ces mesures à une distance de l'ordre de quelques nanomètres de l'échantillon s'avère intrusive, et la présence de la sonde peut engendrer des perturbations indésirables.

Dans la région intermédiaire—où les mesures sont effectuées à une distance comparable à la longueur d'onde de la lumière incidente—l'interférence entre les ondes diffractées et les ondes incidentes (ou réfléchies) génère des motifs d'interférences complexes (Figure 1.a). La microscopie ISOM (Interference Scanning Optical probe Microscopy) [2] exploite ce phénomène en combinant ces mesures d'interférence avec des techniques dites “d'inverse scattering” afin de reconstruire l'échantillon imagé.

Dans un travail récent [3], nous avons apporté un nouvel éclairage sur cette modalité de microscopie à travers une analyse approfondie dans le domaine de Fourier. Notre étude met en évidence des informations sur le pas d'échantillonnage requis ainsi que sur la limite de résolution du système (Figure 1.b). De plus, nous proposons deux nouvelles méthodes pour résoudre le problème inverse associé à la diffusion, exploitant la structure intrinsèque du modèle de formation d'image afin de réduire la complexité computationnelle et la sensibilité aux erreurs sur les paramètres du modèle. Enfin, nous illustrons nos résultats théoriques par des expériences numériques.

Figure 1 : a) Principe of ISOM. L'onde plane incidente et monochromatique (k_i) interfère avec l'onde diffusée (k_s) de l'objet nano-structuré. L'interférogramme est mesuré dans le plan à une distance z_{im} de l'ordre de la longueur d'onde de l'onde incidente. **b)** Limite de résolution théorique (courbes) en fonction de la distance entre l'objet et le plan image. Les points représentent des mesures numériques de cette résolution sur données synthétiques et pour deux niveaux de bruits différents. Les distances sont exprimées en fonction de λ , la longueur d'onde de la lumière incidente.



Références :

- [1] E. Betzig and J. K. Trautman. Science **257.5067** (1992): 189-195.
- [2] W. Bacsa and A. Kulik. Applied physics letters **70.26** (1997): 3507-3509.
- [3] E. Soubies and W. Bacsa, Submitted (2025)

Adresse mail : emmanuel.soubies@cnrs.fr, wolfgang.bacsa@cemes.fr

A Novel approach to open the world of silica-based AFM probes using selective laser etching

Koutayba SAADA¹, David BOURRIER¹, Etienne DAGUE¹, Laurent MALAQUIN¹

¹ LAAS-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France

Atomic force microscopy (AFM) cantilevers are indispensable for nanoscale imaging and force sensing of both materials and biological specimens. However, their traditional fabrication methods, which rely on silicon or silicon nitride bulk micromachining, suffer from complex fabrication processes, low throughput, and limited geometric flexibility [1],[2]. These limitations have driven the development of innovative AFM cantilevers made of silica glass through a novel, cost-effective approach, offering benefits such as chemical inertness, biocompatibility, reduced fabrication time and design flexibility to accommodate a wide range of applications. Our innovative approach involves fabricating cantilevers using selective laser etching (SLE), a subtractive laser technology capable of producing complex 3D glass structures with micron-level precision. The process consists in 3 sequential steps that are i) laser irradiation, ii) KOH etching, and iii) Ti/Au metallization. It begins with irradiating the transparent material with a focused femtosecond (fs) laser beam at 1030 nm, inducing localized modifications. The laser then writes the desired structure spot by spot in three dimensions (Figure 1a). Following fs Laser irradiation, the irradiated volume is etched in a 10 mol/l KOH solution at 90°C for 5 hours (Figure 1b). Upon completion, a bi-layer metal deposition is performed, consisting in 10 nm of Titanium (Ti) and 30 nm of Gold (Au), for the AFM laser reflection.

We fabricated cantilevers with spring constants ranging from 0.08 to 45 N/m, allowing for the characterization of both material surfaces and biological specimens. For the tip design, we developed pyramidal and semi-spherical probes in various dimensions (Fig. 1c,d). Pyramidal tips were used to perform topographical measurements on a range of calibration gratings (Fig. 1e,f). In parallel, force spectroscopy and imaging on living cells were carried out using the semi-spherical tips, enabling gentle and accurate probing of soft biological samples.

[1] F. J. Giessibl, 'Advances in atomic force microscopy', *Rev Mod Phys*, vol. 75, no. 3, 2003.

[2] A. S. Algamili *et al.*, 'A Review of Actuation and Sensing Mechanisms in MEMS-Based Sensor Devices', *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 16, no. 1, p. 16, Jan. 2021, doi: 10.1186/s11671-021-03481-7.

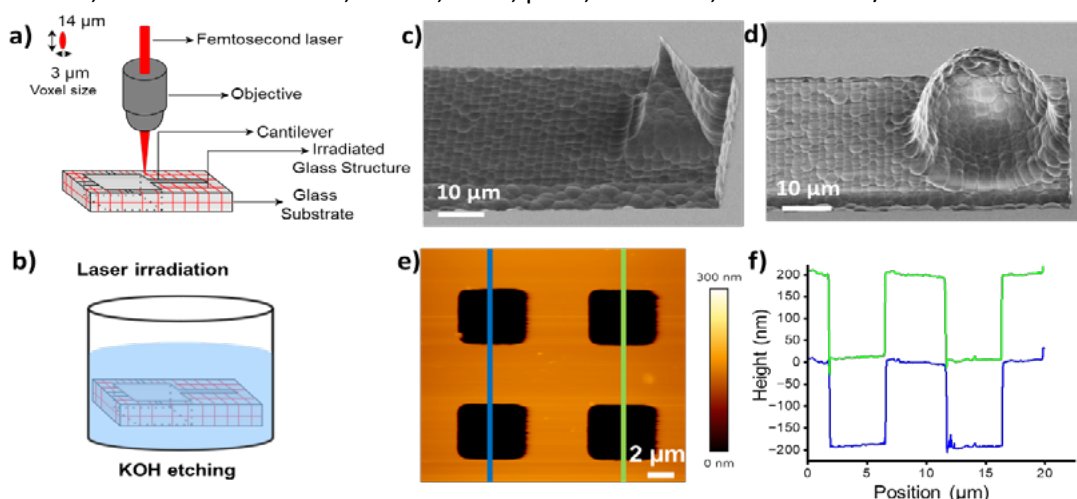


Figure 1 a) Femto-second laser writing of the cantilever. b) KOH wet etching. c) 10 μm thick rectangular cantilever with 30 μm cylindrical tip, $K=0.7$ N/m. d) 7 μm thick rectangular cantilever with 15 μm radius half-spherical tip. e) Topographic image of the height of the calibration grid (Calibration Gratings (P/N 498-000-026; Digital Instruments, NY) which has 10 μm pitch and 200 nm step depth in contact mode. f) topographical profile of the blue and green line in e.

EFFECTS OF VARIOUS ENVIRONMENTAL POLLUTANTS ON THE METABOLISM AND BIOPHYSICAL PROPERTIES OF MICROALGAE

Cécile FORMOSA-DAGUE¹, Maria Mar ARECO² and Olalere Kayode ODENIYI^{1,2}

¹ TBI, Université de Toulouse, INSA, INRAE, CNRS, 31400, Toulouse, France

² IIIA-UNSAM-CONICET, Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Escuela de Habitat y Sostenibilidad (EHyS), Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), Campus Miguelete, 25 de mayo y Francia, 1650, San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Session SC4 : Nouvelles frontières en microscopie à sonde locale

Aquatic ecosystems are increasingly burdened by pollutants like microplastics (MPs), heavy metals, and antibiotics, with microalgae serving as critical bioindicators and bioremediation agents. This research examines the effects of microplastics on the metabolism and biophysical properties of the freshwater microalgae species *Parachlorella kessleri*, using atomic force microscopy techniques. To achieve this, cells were exposed to polyethylene terephthalate (PET) microplastics (1-100 µm) coming from three sources: (1) untreated control, (2) oil-based container-derived, and (3) water-based container-derived. Using FluidFM, the interactions between single *P. kessleri* cells aspirated at the aperture of microfluidic cantilevers and the different types of microplastics were probed. The results obtained reveal that control PET exhibits significantly higher interactions with *P. kessleri* surfaces evidenced by greater adhesion forces and contact frequency compared to oil- and water-derived PET. Oil-based PET shows reduced interactions, possibly due to hydrophobic surface modifications of the plastic particles, while water-based PET displays intermediate binding. Quantitative Image mode using MLCT cantilever tips to image each PET variant, shows control PET with the highest roughness average (Ra) values, indicating greater surface irregularity than the smoother oil-based (hydrophobically modified) and water-based PET, which can also impact the adhesion of cells. Altogether, these results suggest that depending on the type of microplastics, the capacity of the particles to interact with cells varies, an indication of their potential harm on the ecosystems. Cell surface topography and cell wall mechanical measurements are underway to link these interactions to the biophysical changes observed so far, potentially influencing MP sequestration. Further studies will include metabolic profiling—photosynthesis, respiration, and oxidative stress studies to get insights on the physiology of the cells exposed to the different plastics. These preliminary findings with *P. kessleri* and PET variants underscore microalgae's nuanced responses to MPs, informing bioremediation strategies. By combining Fluid FM with metabolic data, this research aims to bridge nanoscale interactions and ecological applications, advancing environmental toxicology and sustainable pollution management in a contaminated world.

References:

- [1] V. Passucci, O. Thomas--Chemin, O. Dib, A.A. Assaf, M.J. Durand, E. Dague, M.M. Areco, C. Formosa-Dague, Investigating the role of extracellular polymeric substances produced by *Parachlorella kessleri* in Zn(II) bioremediation using atomic force microscopy, *Environ. Pollut.* 363 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.125082>.
- [1] Irem Demir-Yilmaz, Pascal Guiraud, Cécile Formosa-Dague, The contribution of Atomic Force Microscopy (AFM) in microalgae studies: A review, *Algal Research*, Volume 60, (2021) 102506, ISSN 2211-9264, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102506>.

Exploring the biophysics of *P. kessleri* and *S. cerevisiae* cells in coculture using atomic force microscopy for the production of biofuels

Simona SEBASTIANO¹, Pascal GUIRAUD¹, Cécile FORMOSA-DAGUE¹

¹Toulouse Biotechnology Institute (TBI), Toulouse, France

Session : Nouvelles frontières en microscopie en sonde locale

Microalgae are recognized for their ability to accumulate significant lipid quantities while thriving on cost-effective substrates [1]. However, their large-scale application is limited by low productivity, primarily due to slow growth rates. Both biomass and lipid production can be enhanced by coculturing algae with other microorganisms like yeasts [2] that create a symbiotic relationship based on gas exchanges. Indeed, yeasts supply CO₂ for microalgal photosynthesis, while microalgae produce O₂ that supports yeast metabolism [3]. While examples of such co-cultures have been reported [4], fundamental questions remain as to whether the presence of other microorganisms has an impact on the cell's biophysical properties or on how cells interact with each other's within the coculture. To address these questions, we used Atomic Force Microscopy (AFM) to analyze the impact of co-culture conditions on cell surface properties, focusing on morphology, ultrastructure, and roughness to assess surface changes. In addition, nanoindentation measurements were performed to measure the nanomechanical properties of cells and determine if co-culture induces cell wall modifications. Finally, interactions between the algae and yeast were probed using single-cell force spectroscopy with FluidFM to understand how the cells interact with one another and determine the nature and strength of the forces at play. So far, results obtained show that coculturing induces significant changes of the cell surface properties. Specifically, microalgal cells present significant alterations in morphology and mechanical properties likely due to the production of exopolysaccharides (EPS) in co-culture conditions. In contrast, yeasts do not present significant modifications of their nanomechanical properties. However, modifications in their surface ultrastructure indicate changes in the composition or organization of their cell wall. AFM analyses offer a molecular-level understanding of the interactions between the two species, making these findings essential for advancing of co-cultures on industrial scale, particularly for the designing an economically and environmentally sustainable process.

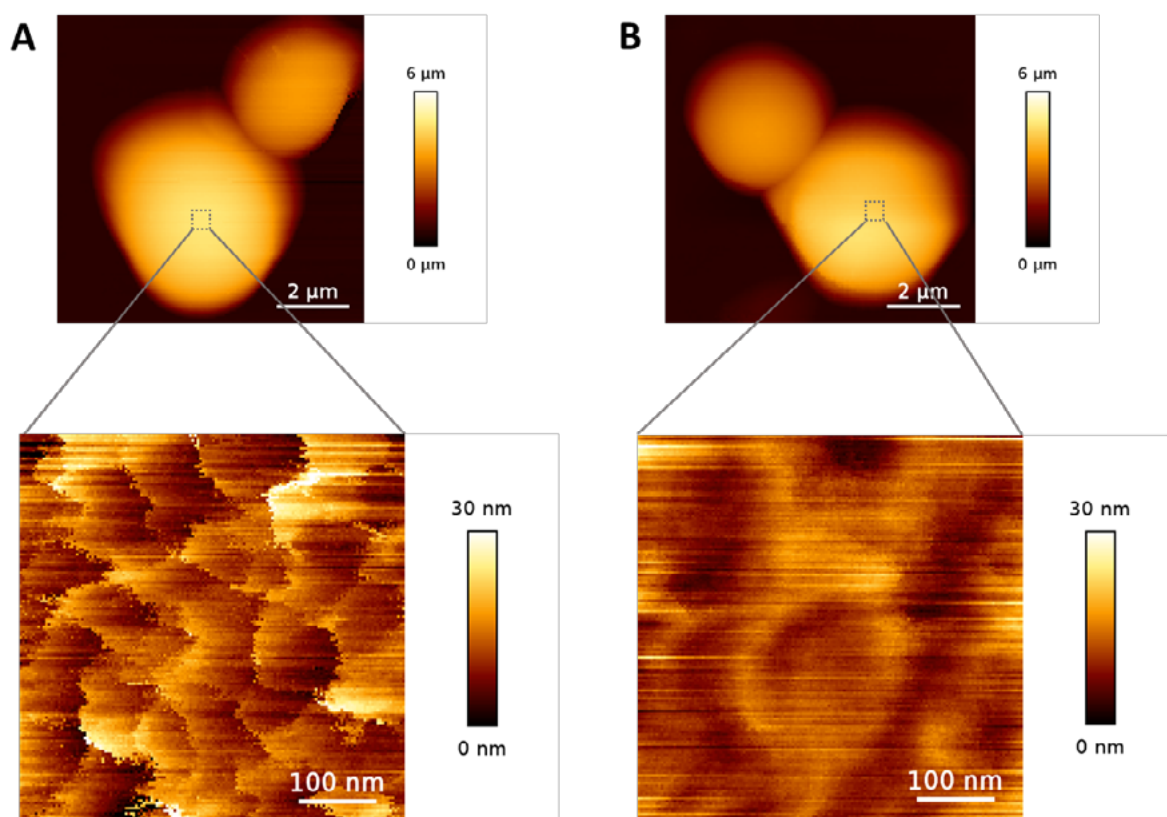


Figure 1: AFM height images of whole *S. cerevisiae* cells and of zoomed-in areas on top of them **(A)** control condition (monoculture in Yeast Extract, Peptone, Glucose) and **(B)** in coculture condition (BBM+ NO₃ with glucose and peptone).

References:

- [1] K. K. Sharma, H. Schuhmann, and P. M. Schenk, "High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production," *Energies*, vol. 5, no. 5, Art. no. 5, May 2012.
- [2] A. Ray, M. Nayak, and A. Ghosh, "A review on co-culturing of microalgae: A greener strategy towards sustainable biofuels production," *Science of The Total Environment*, vol. 802, p. 149765, Jan. 2022.
- [3] N. Arora, A. Patel, J. Mehtani, P. A. Pruthi, V. Pruthi, and K. M. Poluri, "Co-culturing of oleaginous microalgae and yeast: paradigm shift towards enhanced lipid productivity," *Environ Sci Pollut Res*, vol. 26, no. 17, pp. 16952–16973, Jun. 2019.
- [4] M. Takahashi, R. Yamada, T. Matsumoto, and H. Ogino, "Co-culture systems of microalgae and heterotrophic microorganisms: applications in bioproduction and wastewater treatment and elucidation of mutualistic interactions," *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 40, no. 11, p. 368, Nov. 2024

Adresse mail : sebastiano@insa-toulouse.fr

POSTERS SESSIONS SCIENCES DE LA VIE

16. **Félix WEIS, CEA, Grenoble**, National Titan Krios microscope CM02
17. **Gianluca CIOCI, TBI, Toulouse**, Integrative Use of Cryo-EM for the Study and Engineering of Carbohydrate-Active Enzymes
18. **Rafael FERREIRA VELOSO, IMPMC, Paris**, La structure par cryo-microscopie électronique du canal potassique humain KIR2.1 lié à l'activateur PIP2 révèle son mécanisme de régulation
19. **Aurélien ANCELIN, CBS, Montpellier**, Conception de novo et visualisation cryo-EM de sphères d'ADN
20. **Maximilian SEUSS, Bruker**, Améliorer la caractérisation mécanique biologie par microscopie à force atomique à grande échelle avec SmartMapping
21. **Etienne GONTIER, BIC, Bordeaux**, Étude de la bioarchitecture tissulaire d'hépatoblastome par imagerie volumétrique et mathématiques appliquées
22. **Christine PECHOUX-LONGIN, Plateforme Mima2, Jouy-en-Josas**, L'array-tomographie, une approche polyvalente pour la microscopie électronique en volumique et une méthode non destructive
23. **Anthony VIAL, CBMN, Bordeaux**, Étude du noyau cellulaire par microscopie corrélative AFM-fluorescence (TIRF/Confocal/STORM)
24. **Nathalie GENEIX, BIA, Nantes**, Analyse par microscopie multimodale de la cuticule des plantes
25. **Mélina PETREL, BIC, Bordeaux**, Préparations d'échantillons en microscopie électronique adaptées à l'analyse de la localisation du mercure par microscopie corrélative multimodale
26. **Carolin BORBECK, Photothermal Spectroscopy Corp. GmbH**, Avancer la spectroscopie vibrationnelle multimodale : Unir l'IR submicronique, le Raman et la microscopie de fluorescence pour les applications des sciences de la vie
27. **Noémie PIED, BIC, Bordeaux**, Optimisation des conditions cryogéniques : de la préparation des échantillons à la microscopie corrélative

National Titan Krios microscope CM02

Felix WEIS¹, Gregory EFFANTIN¹, Pauline JUYOUX², Eleftherios ZARKADAS², Guy SCHOEHN¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CEA, IBS, 71 avenue des Martyrs, F-38000 Grenoble, France

² Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CEA, EMBL, ISBG, 71 avenue des Martyrs, F-38000 Grenoble, France

Session SdV : Cryo-EM moléculaire et cellulaire

CM02 is a Titan Krios G4 (Thermo Fisher Scientific), equipped with a cold FEG, a Selectris X energy filter and a Falcon 4i electron detector. It is operated as an ESRF CRG beamline: one third of the beam time is allocated to ESRF users while the rest is available for French laboratories through a curated process. This cryo-electron microscope is able to carry out single-particle and tomography experiments. CM02 is part of the « France Cryo-EM » infrastructure financed by the “Plan Investissement d’Avenir 3” scheme which has enabled the purchase of 3 state-of-the-art 300 kV cryo-electron microscopes in France. It is maintained and operated by a team of 5 people from the IBS/ISBG (Grenoble).



Crédit photo: M. JARY, DR/CEA

Adresse mail : cm02.contact@ibs.fr

Integrative Use of Cryo-EM for the Study and Engineering of Carbohydrate-Active Enzymes

Gianluca CIOCI,¹ Nina COOPER,¹ Thibaud LAFFARGUE,¹ Simon LADEVEZE,¹ Ramteen SHAYAN,² David GUIEYSSE,¹ Guy LIPPENS,¹ Gabrielle POTOCKI-VERONESE,¹ Claire MOULIS,¹ Magali REMAUD-SIMEON¹

¹ Toulouse Biotechnology Institute (TBI), Université de Toulouse, CNRS, INRAE, INSA, Toulouse, France.

² Plateforme de Microscopie Electronique Intégrative, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France.

Session : Cryo-EM

Polymers are ubiquitous in modern life, from everyday products to high-end applications in medicine and diagnostics. Yet, less than 1% of the ~350 megatons produced annually are bio-based, with the majority still originating from fossil resources. The urgent need for sustainable and renewable alternatives has driven interest in bio-derived polymers that are recyclable, biocompatible, and potentially bioactive.

Carbohydrate polymerases and modification enzymes, capable of glycosylation, phosphorylation, sulfation, selective degradation, etc... offer powerful biosynthetic routes to such materials. However, engineering these enzymes requires a detailed understanding of their catalytic mechanisms, substrate interactions, and reaction dynamics, which are often obscured by their complex, multi-domain and dynamical architectures.

At TBI's Biocatalysis team, we are developing an integrative approach for characterizing these enzymes using a suite of structural biology techniques, including cryo-electron microscopy, X-ray crystallography, small-angle X-ray scattering and nuclear magnetic resonance, complemented by biochemical assays and molecular modeling. We will present recent structural insights into key enzyme families such as glucansucrases, glycoside phosphorylases or poly-saccharide kinases, and show how these complementary techniques help elucidate enzyme dynamics during catalysis, with a particular emphasis on cryo-EM. This integrated approach paves the way for rational enzyme engineering toward sustainable synthesis of biopolymers and glycosylated compounds.

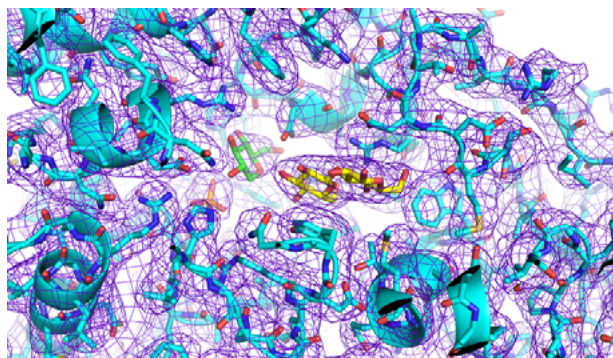


Figure: Active site of a carbohydrate phosphorylase as obtained by cryo-EM

Références :

- [1] Zhu Y., Romain C. & Williams C.K., *“Sustainable polymers from renewable resources”*, (2016) Nature 540, 354 (2016).
- [2] Molina M., Cioci G., Moulis C., Séverac E. & Remaud-Siméon M., *“Bacterial α -Glucan and Branching Sucrases from GH70 Family: Discovery, Structure-Function Relationship Studies and Engineering”*, (2021) Microorganisms, Jul 28;9(8):1607. doi: 10.3390/microorganisms9081607.
- [3] Li A., Benkoulouche M., Ladeveze S., Durand J., Cioci G., Laville E. & Potocki-Veronese G., *“Discovery and Biotechnological Exploitation of Glycoside-Phosphorylases”*, (2022) Int J Mol Sci. Mar 11;23(6):3043. doi: 10.3390/ijms23063043.

Adresse mail : cioci@insa-toulouse.fr

CRYO-ELECTRON MICROSCOPY STRUCTURE OF HUMAN KIR2.1 POTASSIUM CHANNEL BOUND TO THE ACTIVATOR PIP2 REVEALS ITS GATING MECHANISM

Rafael F. VELOSO^{1*}, Carlos A. H. FERNANDES^{1*}, Dania ZUNIGA¹, Andreas ZOUMPOULAKIS¹, Renaud WAGNER², Catherine VÉNIEN-BRYAN¹

¹IMPMC, Sorbonne Université, UMR 7590 - Paris (France)

²Impress Facility, UMR 7242, University Of Strasbourg - Illkirch (France)

* Co-first author

SdV2: Cryo-EM moléculaire et cellulaire

Kir2.1 Inward rectifier potassium channels are integral membrane proteins that control the permeation of K⁺ ions in cell membranes of various tissues and regulate electrical excitability. Genetic defects in Kir2.1 channels cause diseases like Andersen-Tawil syndrome (AS), a muscular disorder, for which treatments are ineffective. The first structure of the human Kir2.1 channel, including both transmembrane (TMD) and cytoplasmic (CTD) domains, allowed a better understanding of the channel's structural states. Kir2.1 gating is modulated by phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2). Cryo-EM data was collected using a Titan Krios G4 equipped with a Selectris X Image Filter (Institute Pasteur, Paris), and after multiple rounds of 3D refinement using Cryosparc, a final map at 3.26 Å resolution was achieved. The atomic structure of the Kir2.1/PIP2 complex was built from the cryo-EM map and refined in Phenix. Structural analysis revealed a network of interactions between PIP2 and a positively charged "pocket" in Kir2.1, through Arg 80, Arg 82, and Arg 189/Lys187. Compared to the apo-Human Kir2.1 structure, the pore diameter of the PIP2-Kir2.1 structure is wider, as is the outermost region of the pore. Conformational changes of Asp 255 and the G-loop region widen the structural region, resulting in channel opening and allowing K⁺ ion passage. These studies aim to better understand the functioning of Kir2.1 channels when interacting with ligands like PIP2, potentially leading to insights into diseases such as Andersen-Tawil syndrome.

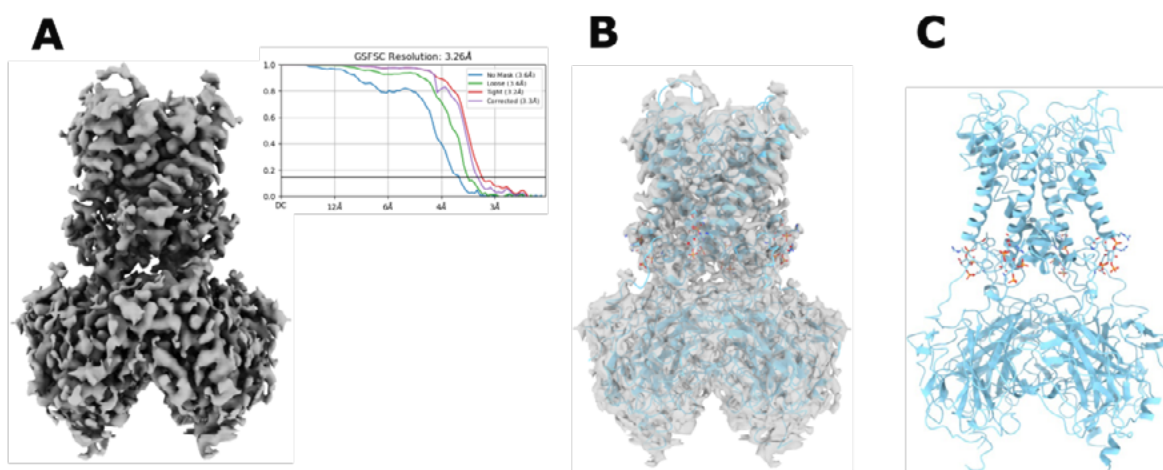


Figure 1: (A) Final cryo-EM map and FSC curves of the obtained map applying C4 symmetry; (B) Cartoon representation of the protein structure with PIP2 fitted in the final cryo-EM map (grey surface); (C) Cartoon representation of the protein structure with PIP2.

Références :

[1] Fernandes CAH, Zuniga D, Fagnen C, Kugler V, Scala R, Péhau-Arnaudet G, Wagner R, Perahia D, Bendahhou S, Vénien-Bryan C. Cryo-electron microscopy unveils unique structural features of the human Kir2.1 channel. *Sci Adv.* 2022 Sep 23;8(38): eabq8489.

Adresse mail : rafael.ferreira_veloso@sorbonne-universite.fr

De novo design and cryo-EM visualization of DNA spheres

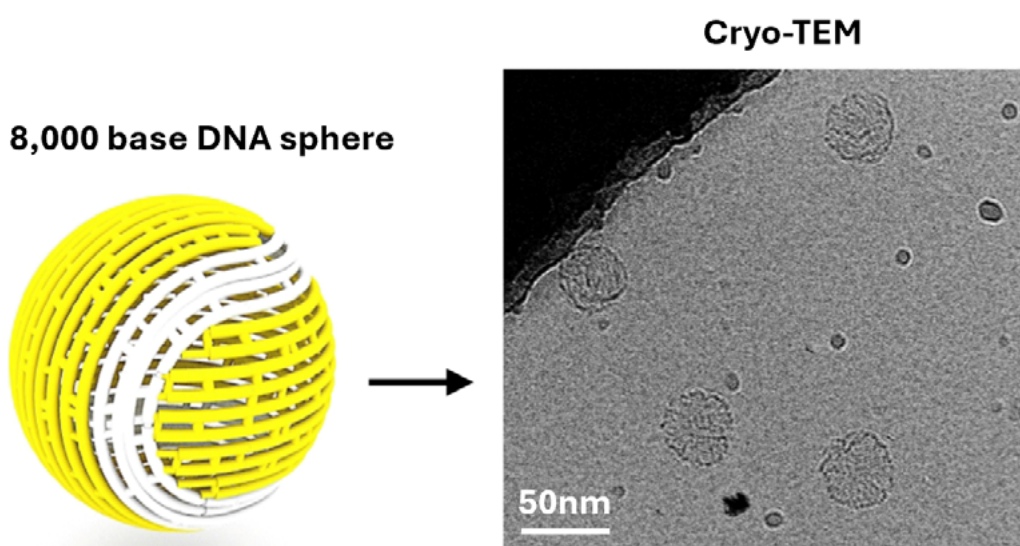
Aurélien ANCELIN¹, Anjelica KUCINIC, Julie FINKEL, Gerrit WILKENS, Gaëtan BELLOT

¹ Université de Montpellier, CNRS, INSERM, Centre de Biologie Structurale, F-34000 Montpellier, France

Session : Molecular and cellular cryo-EM

DNA is the ideal material with nanoscale spatial functionality and the ability to self-assemble into specific macromolecular structures. DNA nanotechnology^{1,2} has emerged as a promising field for the biomedical community with the ability to make precise biological tools. However, there are limitations in design and material constraints that make these tools challenging to produce. The de novo design³⁻⁷ of DNA origami nanostructures has also pushed the capabilities of macromolecular structure production, specifically in the 3D space⁴⁻⁶. Complex geometries like curves and spheres are found both in artificial constructions and in nature. Spheres are inherently advantageous in nature because of their increased surface area to volume ratio as well as their ability to carry biological loads. Structures like spheres or curved geometries are difficult to design with DNA because of limitations in design tools and mechanical properties of DNA. Inspired by biomimetic spherical structures like lipids and vesicles coupled with recent developments of DNA design tools and cryo-EM techniques^{8,9}, we can design DNA spheres for multiple biomedical applications. The goal of this work is to encapsulate biological materials like proteins or membrane receptors and deliver payloads or activate specific spaces¹⁰. Here, we show the design of a range of nanoscale DNA spheres and visualize using cryo-EM. The ability to visualize a 3D nanostructure with cryo-EM advances not only de novo design techniques of DNA constructs, but also the applications of these complex geometries.

Figure 1 : DNA origami sphere design and visualization via cryo-EM. Scale 50nm.



Références

1. Bathe M, Rothmund PWK. DNA Nanotechnology: A foundation for Programmable Nanoscale Materials. *MRS Bulletin*. 2017;42(12):882-888. doi:10.1557/mrs.2017.279

2. Dey S, Fan C, Gothelf KV, et al. DNA origami. *Nat Rev Methods Primers*. 2021;1(1):1-24. doi:10.1038/s43586-020-00009-8
3. Huang CM, Kucinic A, Johnson JA, Su HJ, Castro CE. Integrated computer-aided engineering and design for DNA assemblies. *Nat Mater*. 2021;20(9):1264-1271. doi:10.1038/s41563-021-00978-5
4. Levy N. ENSnano, a 3D graphical application for DNA nanostructures. Published online June 29, 2023. Accessed September 5, 2023. <https://github.com/thenlevy/ensnano>
5. Douglas SM, Marblestone AH, Teerapittayanon S, Vazquez A, Church GM, Shih WM. Rapid prototyping of 3D DNA-origami shapes with caDNAno. *Nucleic Acids Research*. 2009;37(15):5001-5006. doi:10.1093/nar/gkp436
6. Jun H, Shepherd TR, Zhang K, et al. Automated Sequence Design of 3D Polyhedral Wireframe DNA Origami with Honeycomb Edges. *ACS Nano*. 2019.
7. Veneziano R, Ratanaalert S, Zhang K, et al. Designer nanoscale DNA assemblies programmed from the top down. *Science*. 2016;352(6293):1534-1534. doi:10.1126/science.aaf4388
8. Bai XC, Martin TG, Scheres SHW, Dietz H. Cryo-EM structure of a 3D DNA-origami object. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Published online 2012. doi:10.1073/pnas.1215713109
9. Aissaoui N, Mills A, Lai-Kee-Him J, et al. Free-Standing DNA Origami Superlattice to Facilitate Cryo-EM Visualization of Membrane Vesicles. *J Am Chem Soc*. 2024;146(19):12925-12932. doi:10.1021/jacs.3c07328
10. Mills A, Aissaoui N, Maurel D, et al. A modular spring-loaded actuator for mechanical activation of membrane proteins. *Nat Commun*. 2022;13(1):3182. doi:10.1038/s41467-022-30745-2

Adresse mail :

ancelin@cbs.cnrs.fr

bellot@cbs.cnrs.fr

ENHANCING LARGE-SCALE BIOAFM MECHANICAL CHARACTERIZATION WITH SMARTMAPPING

Maximilian SEUSS¹, André KÖRNIG¹, Joan-Carles ESCOLANO¹, Alexander DULEBO¹, Thomas HENZE¹

¹ JPK BioAFM, Bruker Nano Surfaces, Am Studio 2D, 12489 Berlin, Germany

Session : 3D Cellular and Tissue Imaging

Atomic force microscopy (AFM) is crucial for nanoscale mechanical property mapping, offering high-resolution characterization of stiffness, adhesion, and viscoelasticity. This capability is essential for understanding material behavior in complex structures like living cells, tissues, and biomaterials, thereby driving forward studies of cell behavior, disease progression, and drug treatments. Nevertheless, challenges such as sample roughness and limited lateral scanning range often hinder large-scale mechanical mapping, particularly for complex and heterogeneous specimens like biopolymers, hydrogels, and tissues.

We have developed a new SmartMapping tool that addresses these challenges by coordinating AFM head motors and XYZ-piezo movement. This innovation enables continuous, high-resolution mapping over extensive areas without user intervention, enhancing the precision and efficiency of AFM. We successfully tested this feature for comprehensive analysis of hydrogels with different stiffnesses (1 kPa and 50 kPa), analyzing centimeter-scale areas and creating detailed mechanical property maps. Additionally, we evaluated the applicability of the new feature for analyzing 2D cell populations seeded on hydrogels and highly corrugated 3D spheroid SKOV-3 model lines exceeding 100 µm in height. Furthermore, we assessed 600 µm thick vibratome-sectioned neuroblastoma tumors with very low stiffness (50-100 Pa) embedded in low-melting agarose gels, demonstrating that despite their roughness, such tissue samples can be effectively analyzed.

The new SmartMapping feature significantly advances AFM capabilities, enabling precise and efficient large-scale mechanical mapping. This development opens new avenues for studying a wide range of samples, from complex biopolymers to soft biological tissues, enhancing the scope and impact of automated AFM in biomedical and biomaterial research.

Adresse mail : maximilian.seuss@bruker.com

STUDY OF HEPATOBLASTOMA TISSUE BIOARCHITECTURE BY VOLUMETRIC IMAGING AND APPLIED MATHEMATICS

Alexia CALOVOULOS ^{1,2}, Florian ROBERT ^{1,3,4}, Emilie INDERSIE ⁵, Stefano CAIRO ^{5,6,7}, Baudouin DENIS DE SENNEVILLE ^{3,4}, Etienne GONTIER ² and Christophe F. GROSSET ¹.

¹ University of Bordeaux, INSERM, MIRCADE team, Bordeaux Institute in Oncology, BRIC, U1312, 33000 Bordeaux, France.

² University of Bordeaux, CNRS, INSERM, Bordeaux Imaging Center (BIC), UAR 3420, US 4, F-33000 Bordeaux, France.

³ University of Bordeaux, CNRS, Institut de Mathématiques de Bordeaux (IMB), UMR5251, 351 cours Libération, F-33400 Talence, France.

⁴ INRIA Bordeaux, MONC team, 200 av Vieille Tour, F-33400 Talence, France.

⁵ XenTech Company, Genopole Campus 3, 4 Rue Pierre Fontaine, F-91000 Évry-Courcouronnes, France.

⁶ Istituto di Ricerca Pediatrica, Corso Stati Uniti 4, 35127 Padova, Italy.

⁷ Champions Oncology, Inc, Baltimore, Maryland, USA.

Session : SdV 3 : Imageries 3D cellulaire et tissulaire

Better understanding the ultra-structural organization of tumour tissues and its developmental steps requires advanced volumetric imaging approaches. Our work focused on the study of the bioarchitectural organization of hepatoblastoma (HB) tissues [1], the most common primary liver cancer in children.

In this study, we propose a comprehensive framework for unsupervised data exploration of 3D HB tissue organization using high-resolution three-dimensional imaging technique. Recently, we created a “digital twin” of a patient-derived xenograft (PDX) [2] HB tissue sample and analysed its spatial organization. For that, we applied an integrated technical procedure comprising the serial block face-scanning electron microscopy (SBF-SEM) imaging [3], applied mathematics, artificial intelligence and *machine learning* approaches. To automatically segment several biological elements of interest (cell, nucleus, mitochondria, lipid droplet, blood capillary,...) in the tumour tissue, we developed innovative methodologies and elaborated robust training datasets [4].

This approach is expected to greatly contribute to our better understanding of the bioarchitectural organization of HB tissues and to determine whether the internal tumor structure plays a role in therapeutic resistance mechanisms. This study established a comprehensive framework (Figure 1) for analyzing ultra-structural data, demonstrating its ability to explore tumor tissue organization in a detailed and quantitative manner. By integrating advanced segmentation techniques, robust bioarchitectural parameter definitions, and unsupervised *machine learning* approaches, this framework provided new perspectives for investigating in-depth complex biological systems [5].

Future works will involve the evaluation of tissue behavior at the cellular level under different pharmacological treatment approaches or following genetic modification, offering valuable insights into drug response, tumor tissue formation and microenvironment interactions. By facilitating a deeper understanding of tissue architecture and its functional implications, this framework holds significant potential for advancing both fundamental research and applied biomedical studies, ultimately contributing to the development of more targeted therapeutic strategies in adult and pediatric cancers.

Technical workflow to define Bioarchitectural parameters



Figure 1 : Workflow to characterize the 3D organization of a biological sample made of a plurality of biological elements

Références :

- [1] Hager, J. and C.M. Sergi, *Live Cancer* **8** (2021)
- [2] Liu *et al.*, *Signal Transduction and Targeted Therapy* **8.1** (2023): 1-24
- [3] Collinson *et al.*, *Nature Methods* **2.6** (2023) : 777–782
- [4] Robert *et al.*, *Computers in Biology and Medicine*, (accepted for publication) (2025)
- [5] Denis de Senneville *et al.*, *Communications Biology*, **4** (2021) : 1390

Adresse mail : etienne.gontier@u-bordeaux.fr

Array tomography, a versatile approach for performing volume EM and non-destructive method

Christine Péchoux^{1,3}, Vlad Costache^{2,3}

1. Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350, Jouy-en-Josas, France.
2. Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, MICALIS, 78350, Jouy-en-Josas, France.
3. Microscopy and Imaging Facility for Microbes, Animals and Foods: MIMA2 facility. Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, 78350, Jouy-en-Josas, France.

A central objective within cell biology is to produce high-resolution three-dimensional reconstructions of biological specimen. Volume electron microscopy (EM) is the preferred imaging method in this arena because of its unique ability to resolve features across a wide spectrum of spatial scales.

Array tomography (AT) is a versatile microscopy method that offers superlative opportunities to explore cell and tissue architectures in three dimensions. AT offers more flexibility than SBF-SEM and FIB-SEM because it preserves all sections. The separation of section collection from the imaging process is a crucial advantage for several scenarios: (1) Screening the section library before selectively imaging subvolumes at higher resolution, (2) Poststaining or labelling the sections, or manipulating them in other ways (3) (Re)imaging sections at any time ('random access'), choosing multiple regions of interest.

Materials – Method:

We applied the AT method to blocks of tissue and microorganisms fixed and embedded using conventional approach used for TEM, i.e. without the addition of heavy metal salts (i.e. rOTO). After surfacing and trimming, the blocks were cut into 60 nm sections and recovered on Si-wafers using ASH2 (Eden inst.). They are then directly imaged on a SEM (Hitachi S5000) at 15KeV using BSE detector. 3D Images are then reconstructed using iMOD software.

Results:

We were able to localize centrioles and organelles in lymphocytes in order to identify primary cilia in this cell type. We also localized the distribution of bacteriophages on *E. coli*.

The development of our preparation and observation method offers the advantage of being able to re-use previously prepared blocks. An open-access sample storage base within the microscopy facility will allow to directly explore various samples previously prepared in order to obtain new biological information thanks to the 3D dimension.

Study of the cell nucleus by correlative microscopy AFM-fluorescence (TIRF/Confocal/STORM)

Anthony VIAL¹

¹ Univ. Bordeaux, CNRS, Bordeaux INP, CBMN, UMR 5248, F-33600 Pessac, France

Session : SdV4 : Imagerie corrélative et multimodale

The nucleus is a central element of eukaryotic cells. However, its nanoscale study is often limited to electron microscopy techniques, which do not allow *in vivo* studies, or fluorescence microscopy, which is sometimes limited in resolution. These techniques also do not allow for the mechanical characterization of nuclei. Yet, the structure and nanomechanical properties of the nucleus and its components can be important for understanding cellular processes such as nuclear pore assembly or gene regulation. Atomic force microscopy (AFM) correlated with fluorescence or super-resolution microscopy offers the possibility of studying purified cell nuclei under native physiological conditions. It allows imaging of the nuclear membrane and its components, whose fluorescence signal can be co-localized with the structures observed by AFM [1], while also offering the possibility of understanding how variations in the structure of these nuclei affect mechanics at the scale of the entire nucleus. The presented approach describes how nuclei can be studied by correlative imaging [2] thanks to the coupling between a commercial AFM (generally used in Quantitative Imaging or PeakForce mode) with different fluorescence microscopy techniques. We also describe the possibilities provided by AFM as well as the limits and important points allowing the exploitation of this characterization and more generally the realization of the correlation between AFM and fluorescence microscopy.

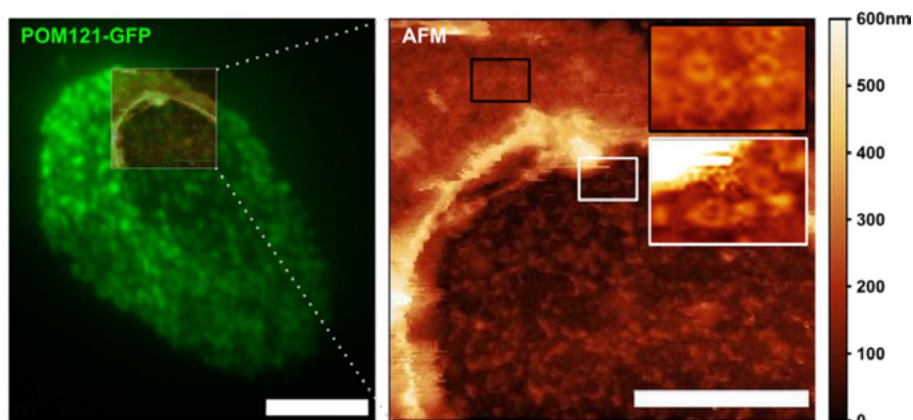


Figure 1 : AFM-TIRF correlative imaging of purified and open cell nucleus with nuclear pore protein labeling (POM121-GFP): AFM-TIRF overlay (left) and AFM image (right). Side scale 5 μ m and 2 μ m respectively. Figure adapted from [1].

Références :

- [1] Vial, A.; Costa, L.; Dosset, P.; Rosso, P.; Boutières, G.; Faklaris, O.; Haschke, H.; Milhiet, P-E.; Doucet C. M. *Nanoscale* **2023**, 15, 5756
- [2] Costes, E.; Vial, A.; Milhiet, P-E ; Doucet C. M. *Methods in Molecular Biology* 2025, (In press)

Adresse mail : anthony.vial@u-bordeaux.fr

ANALYSE PAR MICROSCOPIE MULTIMODALE DE LA CUTICULE DES PLANTES

Nathalie GENEIX¹, Nicolas REYNOUD¹, Ella PAULSEN¹, Johann PETIT³, Didier MARION¹, Christophe ROTHAN³, Angelina D'ORLANDO^{1, 2}, Marc LAHAYE¹, Bénédicte BAKAN¹.

¹INRAE, Unité Biopolymères, Interactions, Assemblages, BP71627, 44316 Nantes Cedex3, France;

²INRAE PROBE Research Infrastructure, BIBS Facility, F-44300 Nantes, France;

³INRAE, Univ. Bordeaux, UMR BFP, F-33140, Villenave d'Ornon, France;

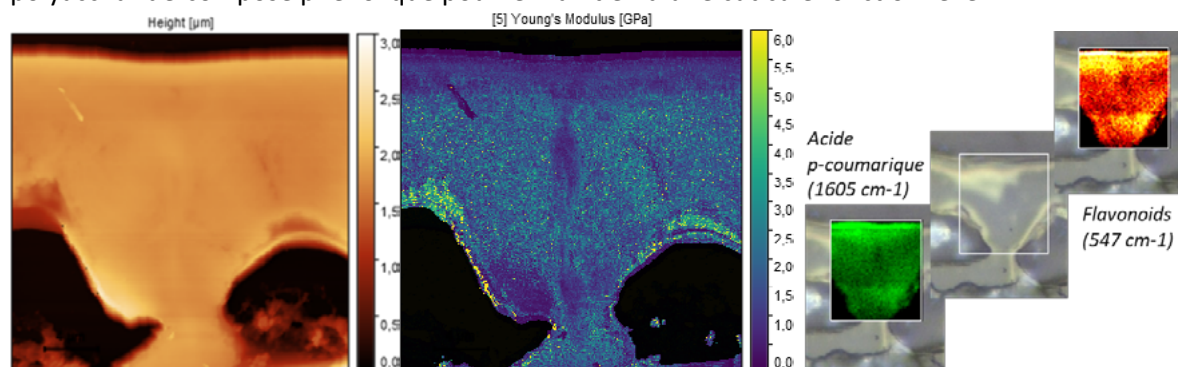
Session SdV: Imagerie corrélative et multimodale -

Résumé :

La surface des plantes est recouverte d'une cuticule, une couche protectrice essentielle contre les pathogènes et les stress environnementaux. Cette cuticule est un composite hydrophobe naturel, complexe puisqu'il contient une matrice de cutine (polyester insoluble d'acides gras en C16 hydroxylés) dans laquelle sont inclus des cires, des composés phénoliques ainsi que des polysaccharides (cellulose, hemicelluloses et pectines). L'architecture de cette structure lipidique et polysaccharidique influence directement les propriétés fonctionnelles de la cuticule et son processus de polymérisation.

En utilisant le fruit de la tomate (*Solanum lycopersicum*) comme plante modèle, nous avons analysé les propriétés nanomécaniques, chimiques et structurales de fruits de tomate de la variété Micro-Tom dont la composition et l'architecture de la cuticule sont altérées soit dans la synthèse de monomères ou dans sa polymérisation. Ces analyses ont été réalisées au stade mature (RR) en adoptant une approche multimodale corrélative.

Sur les mêmes coupes de cuticules les données topographiques et mécaniques (module de Young, adhésion...) obtenues par AFM-QNM, ainsi que la cartographie spatiale des caractéristiques chimiques via la spectroscopie Raman, ont permis d'obtenir des informations localisées et intégrées sur l'adaptation du continuum cutin-polyaccharide-composé phénolique pour le maintien d'une cuticule fonctionnelle.



Exemple de cartes de topographie, de module de Young et de Raman de la matrice de cutine d'un fruit mature sauvage de tomate (Micro-Tom).

[Références](#) (Philippe et al., 2020; N. Reynoud et al., 2021; Nicolas Reynoud et al., 2023; Nicolas Reynoud et al., 2022)

Philippe, Glenn, Geneix, Nathalie, Petit, Johann, Guillon, Fabienne, Sandt, Christophe, Rothan, Christophe, . . . Bakan, Benedicte. (2020). Assembly of tomato fruit cuticles: a cross-talk between the cutin polyester and cell wall polysaccharides. *New Phytologist*, 226, 809-822. doi:10.1111/nph.16402
Reynoud, N., Petit, J., Bres, C., Lahaye, M., Rothan, C., Marion, D., & Bakan, B. (2021). The Complex Architecture of Plant Cuticles and Its Relation to Multiple Biological Functions. *Front Plant Sci*, 12, 782773. doi:10.3389/fpls.2021.782773

- Reynoud, Nicolas, Geneix, Nathalie, D'orlando, Angelina, Petit, Johann, Mathurin, Jeremie, Deniset-Besseau, Ariane, . . . Bakan, Benedicte. (2023). Cuticle architecture and mechanical properties: a functional relationship delineated through correlated multimodal imaging. *New Phytologist*, 238(5), 2033-2046. doi:10.1111/nph.18862
- Reynoud, Nicolas, Geneix, Nathalie, Petit, Johann, J., D'orlando, Angelina, Fanuel, Mathieu, Marion, Didier, . . . Bakan, Benedicte. (2022). The cutin polymer matrix undergoes a fine architectural tuning from early tomato fruit development to ripening. *Plant Physiol*, 190(3), 1821-1840. doi:10.1093/plphys/kiac392

Adresse mail : nathalie.geneix@inrae.fr

ADAPTED EM SAMPLE PREPARATION FOR MERCURY LOCALISATION ANALYSIS WITH CORRELATED MULTIMODAL MICROSCOPY

Melina PETREL¹, Antoine LE GOHALEN², Maureen LE BARS², Mathilde MONPERRUS³, Sophie BARROUILHET², Etienne GONTIER¹, Marisol GONI-URRIZA², Marie-Pierre ISAURE²

¹ Bordeaux Imaging Center, Univ. Bordeaux, CNRS, INSERM, BIC, UAR 3420, F-33000 Bordeaux, France

² Université de Pau Et Des Pays de L'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM UMR 5254, F-64000 Pau, France.

³ Université de Pau Et Des Pays de L'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM UMR 5254, F64024, Anglet, France.

Session : SdV 4 : Imagerie Corrélatrice et Multimodale

Mercury (Hg) is a persistent pollutant, able to be converted into highly toxic monomethylmercury (MMeHg). MMeHg is a serious threat as it is a neurotoxic compound, which is bioaccumulated and bioamplified in food webs. Microorganisms such as sulfate-reducing bacteria (SRB) play a central role by controlling the production of MMeHg. Understanding the biotransformation processes of Hg is a key component of risk assessment of mercury in ecosystems and human health. The aim of our development was to create protocols and workflow, allowing to use several imaging approaches and determine the localization of Hg in the model SRB strain *Pseudodesulfovibrio hydrargyri* BerOc1.

Sample preparation was first developed for NanoSIMS approaches and optimized using High Pressure Freezing, cryosubstitution and cryoembedding in a methacrylate resin thus limiting the risk of the sample preparation [1]. Those protocols were then used for HR-STEM/X-EDS and Synchrotron analysis (nano-X ray Fluorescence, nano-XRF). In parallel, we also use cryosection after plunge freezing as a quick method to prepare sample without damaging the Hg distribution [2].

Those protocols allowed us to see the distribution of different pools of mercury in bacteria cultures, but until now, failed to localize precisely the metal at the subcellular compartment.

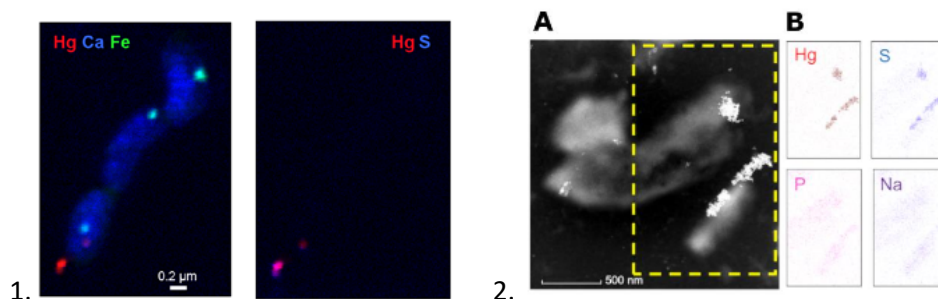


Figure 1: Tricolor and bicolor synchrotron nano X-ray fluorescence (nano-XRF) maps showing the distribution of Hg, Ca, Fe, and S in BerOc1 after 4h of exposure to 5 μM HgCl₂, on acrylic section.

Figure 2: STEM images of BerOc1 cells after exposure to 5 μM of HgCl₂. A show HAADF images and B show EDS elemental maps in the 314 yellow dashed lined zone defined in HAADF images.

Références :

[1] Isaure MP et al., M. Front Microbiol. (2020) 33154741

[2] Le Bars et al., ACS Earth and Space Chemistry (2025) sp-2024-00327a

Adresse mail : melina.petrel@u-bordeaux.fr

Advancing Multimodal Vibrational Spectroscopy: Uniting Submicron IR, Raman, and Fluorescence Microscopy for Life Science Applications

Carolin BORBECK¹, Miriam UNGER¹, Eoghan DILLON², Mustafa KANSIZ²

¹ Photothermal Spectroscopy Corp. GmbH, Mülheim an der Ruhr, Germany

² Photothermal Spectroscopy Corp., Santa Barbara, CA, USA

Session : SdV : Correlative and Multimodal Imaging

Recent advancements in Optical Photothermal IR (O-PTIR) spectroscopy have overcome the limitations of traditional IR microscopy, providing true submicron spatial resolution without requiring sample contact (as is the case in ATR) [1]. O-PTIR allows for FTIR-quality data comparable to traditional transmission/ATR methods. Additionally, it bridges the gap between conventional IR microspectroscopy and nanoscale IR spectroscopy, offering unique capabilities in vibrational analysis. Co-located IR+Raman imaging, enabled for the first time by O-PTIR, allows for the powerful combination of IR and Raman imaging at the same spot, the same time, and the same resolution.

A novel “counter-propagating” modality has been engineered, further enhancing IR spatial resolution and sensitivity. Using high NA refractive objectives, this development achieves ~300 nm spatial resolution for both IR and Raman measurements, improving image quality, sensitivity, and enabling studies with immersion objectives in fluid. This modality further facilitates a groundbreaking approach: the fluorescence signal enhances the IR signal and can act as a probe for widefield IR imaging, a new mode termed Fluorescence Enhanced O-PTIR.

Examples of successful applications of O-PTIR in life sciences from published literature will be highlighted, such as analysis of amyloid plaques in brain tissue, investigations of lipid metabolism in live cells in water, studies of stable isotope labeling of bacteria, tracing biomineralization in tissue and pharmaceutical applications.

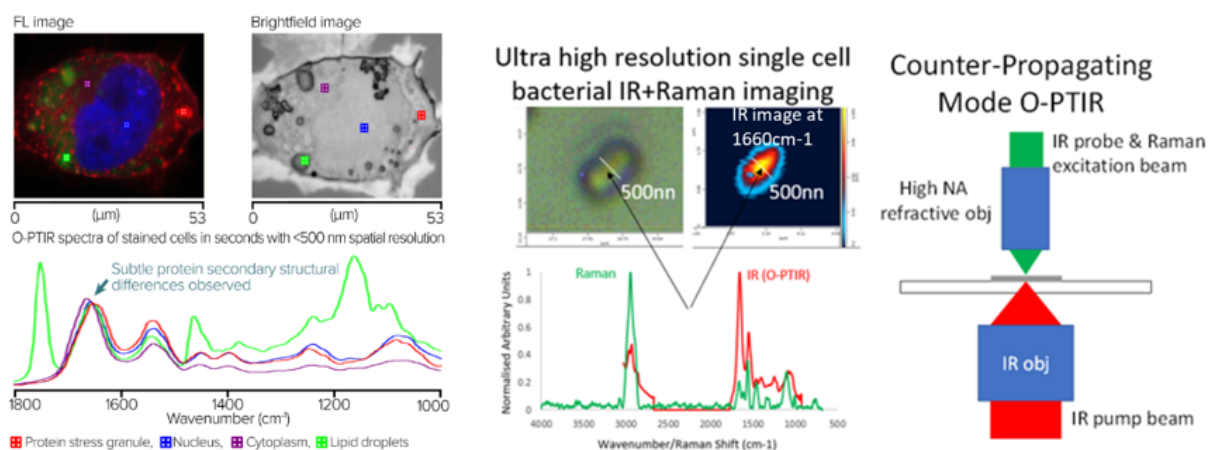


Figure 1 : Application examples of the counter-propagating mode in O-PTIR: Fluorescence-guided collection of spectra on stained cells (left), O-PTIR imaging of bacterial cells (middle), and schematical description of counter-propagating mode (right)

Références :

[1] Prater, *et al.* APL Photonics **9** (2024): 091101

Adresse mail : carolin@photothermal.com

OPTIMIZING CRYOGENIC CONDITIONS: FROM SAMPLE PREPARATION TO CORRELATIVE MICROSCOPY.

Noémie PIED¹, Robin ANGER², Daniel CHOQUET³, Rémi FRONZES², Grégory GIANNONE³, Matthieu SAINLOS², Mónica FERNANDEZ MONREAL¹

¹ Bordeaux Imaging Center, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux

² Institut Européen de Chimie et Biologie, 2 rue Robert Escarpit, 33607 Pessac.

³ Institut Interdisciplinaire de NeuroSciences, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux

Session SdV : Imagerie optique et multimodale

Correlative super-resolution fluorescence and electron microscopy (SR-CLEM) has emerged as one of the most powerful imaging techniques in cell biology, combining the specificity of fluorescence labeling at the nanoscale with the detailed cellular ultrastructure provided by electron microscopy. However, chemical fixation often introduces fluorescence aberrations and cellular artifacts, limitations that are significantly improved by cryo-fixation.

In Bordeaux, the Equipex+ NanoCryoCLEM consortium offers a workflow in cryogenic conditions, from sample preparation by plunge freezing, to screening and localizing regions of interest by using cryo-fluorescence microscopy (cryo-FM), prior to observing the samples by cryo-electron microscopy (cryo-EM) [see figure 1, top panel]. A major challenge with CLEM, however, lies in the resolution discrepancy between light and electron microscopy, which hinders accurate localization of target molecules and correlation with cryo-EM data. To address this, the BIC, in collaboration with the *Laboratoire Photonique Numérique & Nanosciences* (LP2N) and the Interdisciplinary Institute of Neuroscience (IINS), is developing **Cryo-PhotoActivated Localization Microscopy (Cryo-PALM)**, a method that aimed at overcoming this limitation. Our main objective is to screen photo-activable and photo-switchable fluorescent proteins to better understand their behavior under cryogenic conditions and exploit their photo-physics on cryo-fixed cells for cryo-PALM acquisition [see figure 1, bottom panel].

In parallel, we leverage the advantages of cryo-fixation for sample preparation. By adapting a published protocol [1], we perform freeze substitution of cryo-fixed cells, allowing for post-fixation fluorescent labeling while preserving cellular structures without introducing chemical artifacts. Our goal is to further advance these techniques by combining cryo-fixation to super-resolution imaging modalities, including **expansion microscopy and single molecule localization microscopy**, to enhance cellular imaging at unprecedented resolutions [see figure 1, bottom panel].

Cryo-CLEM workflow



Ongoing development

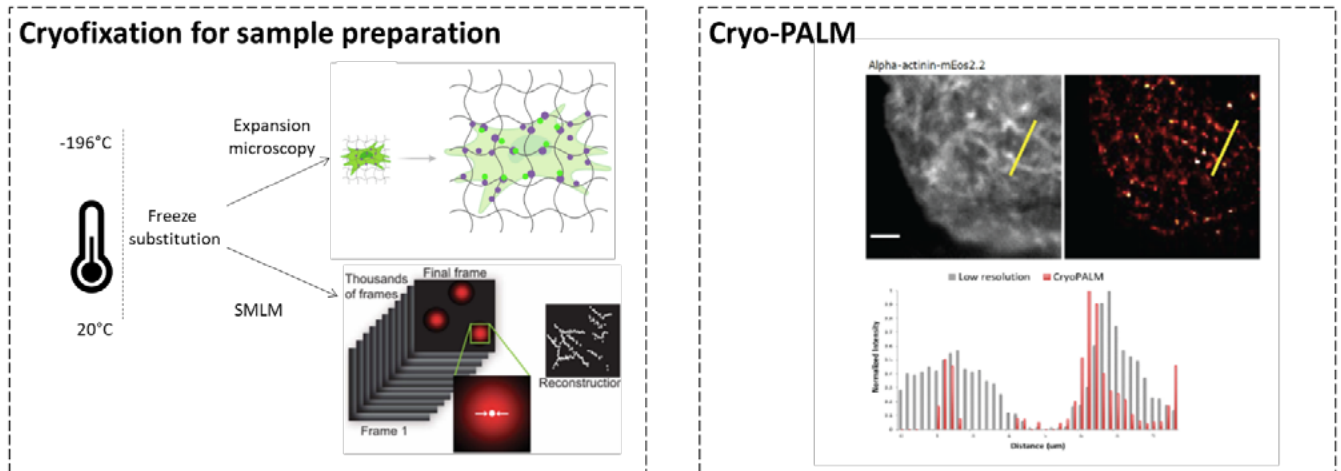


Figure 1 : Cryo-CLEM and alternatives paths.

The diagram illustrates the different steps, including cell culture, cryo-fixation by plunge-freezing, imaging with cryogenic fluorescence and electron microscopy, as well as data analysis using specialized software. Ongoing developments, such as improvements in fixation protocol using cryogenic conditions and the application of Cryo-PALM for super-resolution imaging, are also presented.

Références :

[1] Laporte, *et al.* Nat Methods. (2022): 216-222.

Adresse mail : noemie.pied@u-bordeaux.fr

POSTERS SESSIONS SCIENCES DE LA MATIÈRE

28. **Eric GAUTRON, IMN, Nantes**, Caractérisation des interfaces dans un matériau composite d'inclusions ferromagnétiques dans une matrice piézoélectrique : vers l'élaboration d'un aimant permanent à champ magnétique d'intensité modulable
29. **Janith KARIYAWASAM, Symbio**, Étude du point triple de la pile à hydrogène à membrane échangeuse de protons par microscopie électronique environnementale multi-échelle
30. **Loïc PATOUT, IM2NP, Marseille**, Arrangements spatiaux de réseaux de dislocations dans des interfaces de plaquettes de silicium (001) obtenues par collage moléculaire hydrophobe
31. **Ludovic LARGEAU, C2N, Paris**, Épitaxie de GaN sur substrat de graphène
32. **Magali BRUNET, CEMES, Toulouse**, Étude de l'interface alliage d'aluminium/primaire phosphatant à base de chromates par techniques de spectroscopies électronique et rayons X
33. **Thea FERLEY, PIIM, Marseille**, Structure, morphologie et caractérisation des impuretés des films minces à base de bore : conditionnement de paroi par boronisation dans le tokamak WEST pour ITER
34. **Antonia KOTRONIA, IMN, Nantes**, Facteurs affectant la réponse chimique et électrochimique lors des études de microscopie en transmission en phase liquide
35. **Nicholas BLANCHARD, Institut Lumière Matière, Villeurbanne**, Quantification de l'effet du champ électrique sur la cinétique de croissance des nanotubes de carbone mono-paroi grâce à la microscopie électronique in situ à haut débit
36. **Ahmed YOUSFI, LRCS, Amiens**, Investigation de la transformation de phase dans les cathodes LFP et LFMP par la Technique 4D-STEM et le Model de Champs de Phase
37. **Alessandro PUGLIARA, CIRIMAT, Toulouse**, Étude du mécanisme de la sphéroïdisation du graphite dans les fontes par microscopie électronique en transmission
38. **Alexis WARTELE, Institut Neel, Grenoble**, Impact des aberrations de faisceau sur la mesure de champs électriques par analyse template matching de données 4D-STEM
39. **Damien ALLOYEAU, MPQ, Paris**, Effets de la taille sur la transition de phase amorphe / cristal dans les colloïdes d'or ultra-petits
40. **Florian CHABANAIS, IMN, Nantes**, Analyse in situ de la stabilité thermique de films filtrés de MXene $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{Tz}$ par STEM
41. **Frédéric FOSSARD, LEM, Saclay**, Caractérisation en S/TEM de nanodiamants dopés bore synthétisés sur billes de silice par dépôt chimique en phase gazeuse
42. **Frédéric PAILLOUX, Institut Pprime, Poitiers**, Détermination de la densité d'hélium dans des bulles nanométriques : une approche couplée EELS et calculs Bethe-Salpeter
43. **Leo RUBIOLA, CEMES, Toulouse**, Investigations TEM/STEM d'isolants topologiques à base de Bi-Sb et Bi-Sb-Te
44. **Martiane CABIE, CP2M, Marseille**, Mesure MET de la taille et du contenu de bulles d'hélium dans des échantillons de tungstène implantés dans le contexte de la fusion nucléaire
45. **Mohammed ILHAMI, GPM, Rouen**, Cartographie in situ du champ électrique d'un échantillon de sonde atomique tomographique par 4D-STEM
46. **Murilo MARTINEZ-MOREIRA, CEMES, Toulouse**, Analyse quantitative de la miscibilité et de la ségrégation intrinsèques dans les nanoalliages AgAu par EDS-STEM : Implications pour l'étude des réarrangements chimiques en conditions réactives en catalyse

47. **Simon GARRIGOU, CEMES, Toulouse**, Sonder la chiralité des champs optiques par microscopie électronique
48. **Stéphanie KODJIKIAN, Institut Néel, Grenoble**, Synergie entre imagerie STEM et diffraction électronique 3D : exemple en cristallographie
49. **Xavier DEVAUX, Institut Jean Lamour, Nancy**, Lames minces électriquement connectées pour l'observation operando de la réduction électrochimique de couches minces de pérovskites
50. **Carolina RUIZ, LMPQ, Paris**, Analyse de la morphologie et de la composition de nanoparticules de CoNiPt obtenues par dépôt laser pulsé utilisant la microscopie électronique en transmission
51. **Bérangère DISIC, CEMES, Toulouse**, Mesure quantitative du potentiel électrique local de nanocondensateurs par holographie électronique operando et simulations
52. **Estelle LAGARDERE, CIRIMAT, Toulouse**, Corrosion sous contrainte des tubes de générateur de vapeur en alliage 690 : effets du S sur les mécanismes d'endommagement
53. **Malika KHELFALLAH, ER-C, Allemagne**, Holographie électronique automatisée pour l'analyse quantitative des nanoparticules magnétiques
54. **Rama BAALBAKI, MATEIS, Lyon**, Traitement thermique in situ des nanoparticules de PdPt : une méthode pour réduire la ramification
55. **Valentina GIRELLI CONSOLARO, EMAT, Belgique**, Étude de la microstructure des zéolithes par tomographie électronique et techniques de microscopie analytique
56. **Valentina GIRELLI CONSOLARO, EMAT, Belgique**, Quantification de Descripteurs de Chiralité dans les Nanoparticules d'Or par Tomographie Conventionnelle et Rapide
57. **Abdelali KHELFA, LPS, Orsay**, Transition métal-isolant résolue en temps dans (v1-xcrx)2o3 par spectroscopie STEM/EELS in situ monochromaté à faibles pertes
58. **Aurélien MASSEBOEUF, CEA, Grenoble**, Microscopies en transmission X et électronique low-cost
59. **Chen WEI, C2N, Paris**, Observation TEM in situ de la nucléation de nanofils de GaAs sur Si
60. **Hilaire MBA, IPCMS, Strasbourg**, Microscopie électronique résolue en temps utilisant des impulsions d'électrons dans l'étude des nanomatériaux photocommutateurs
61. **Hannah NICKLES JAKEL, IMN, Nantes**, Modèles de balayage alternatifs pour l'atténuation des dommages radiatifs dans les matériaux de batterie sensibles aux faisceaux
62. **Heyu WANG, LPS, Orsay**, Spectroscopie EELS et cathodoluminescence en coïncidence résolue spatialement de structures chirales plasmoniques tridimensionnelles
63. **Murilo MARTINEZ-MOREIRA, CEMES, Toulouse**, Cathodoluminescence résolue dans le temps avec un microscope électronique à transmission ultrarapide : application aux études GaN haute puissance
64. **Simona MOLDOVAN, GMP, Rouen**, Comportement des catalyseurs à base de Gallium / zéolites ZSM-5 sous environnements réactionnels
65. **Timmo WEIDNER, UMET, Lille**, Intégration de la tomographie électronique des dislocations dans les simulations de dynamique de dislocations discrètes
66. **Tom FRAYSSE, CEMES, Toulouse**, Optique quantique d'électrons libre dans l'espace des phases
67. **Valentin ROLLO, CEMES, Toulouse**, Vers la mise en forme d'un faisceau d'électrons dans un microscope électronique en transmission ultrarapide
68. **Weixi WANG, LPICM, Palaiseau**, Recuit in situ de nanocristaux poreux d'YVO4

- 69. **Emmanuel CADEL, GPM, Rouen**, Stratégies de cryo-préparation FIB et cryo-transfert pour sonde atomique
- 70. **Martiane CABIE, CP2M, Marseille**, Modification par laser femtoseconde de fibres optiques contenant des nanoparticules pour de nouvelles applications de capteurs
- 71. **Marwan PUAUD, LAAS-CNRS, Toulouse**, Comparaison des techniques de microscopie électronique pour la caractérisation de la microarchitecture des hydrogels : MEB, cryo-SEM, ESEM et MET
- 72. **Minh Anh LUONG, CEMES, Toulouse**, Étude sur la formation et la croissance de vides dans des alliages gesbte dopés n à l'aide de techniques d'imagerie TEM calibrée et EELS
- 73. **Nicolas GAUTIER, IMN, Nantes**, Études des joints de grains par S/TEM après densification d'une céramique conductrice de protons : BaZr_{0.7}Ce_{0.2}Y_{0.1}O_{3-δ}
- 74. **Chaima BOUAFIF, LMA et MATEIS, Lyon**, Identification des défauts optiquement actifs dans les miroirs pour mieux entendre les chuchotements de l'espace
- 75. **Mathilde TRENDEL, GPM, Rouen**, Étude de microscopie corrélative des propriétés compositionnelles, morphologiques et optiques des dispositifs photovoltaïques basés sur des puits quantiques InGaN
- 76. **Solène ROULAND, GPM, Rouen**, Méthodologie pour la microscopie corrélative MET-SAT : application aux aciers du nucléaire

Caractérisation des interfaces dans un matériau composite d'inclusions ferromagnétiques dans une matrice piézoélectrique : vers l'élaboration d'un aimant permanent à champ magnétique d'intensité modulable

Eric GAUTRON¹, Philippe MOREAU¹, Célia RAGON¹, Hadi ISSA², Damien BRAULT², Isabelle MONOT-LAFFEZ², Sarah DINE³, Virgile TRANNOY³, Frédéric SCHOENSTEIN³

¹ Nantes Université, CNRS, Institut des Matériaux de Nantes Jean Rouxel, IMN, 44000 Nantes, France

² GREMAN UMR7347, CNRS, Université de Tours, INSA-CVL, Parc Grandmont, 37200 TOURS

³ LSPM UPR3407, CNRS, Université Sorbonne Paris Nord, 93430 Villetaneuse, France

Session : SdM : interfaces

En adaptant le couplage entre deux composés de fonctionnalités différentes, il est possible d'optimiser le contrôle d'une fonctionnalité par une autre. Dans le cadre du projet ANR Compagnon [1], nous développons un matériau composite, combinant une matrice piézoélectrique avec des inclusions ferromagnétiques, dont les propriétés magnétiques seront modulables par un champ électrique. Une des originalités du projet consiste en la synthèse de matériaux répondant aux enjeux de développement durable (composé piézoélectrique sans plomb) et d'indépendance de la France vis-à-vis d'éléments stratégiques (phases magnétiques sans terres rares). A cette fin, nous avons synthétisé des poudres à base de Co (nanoparticules de CoFe_2O_4 ou nanobâtonnets de $\text{Co}_{80}\text{Ni}_{20}$) comme phase ferromagnétique et de $\text{K}_{0.5}\text{Na}_{0.5}\text{NbO}_3$ (KNN) comme phase piézoélectrique. La poudre à base de Co est ensuite dispersée dans la poudre de KNN par mélange long au turbula, avant frittage par Spark Plasma Sintering (SPS).

Les différentes poudres ont été caractérisées par MET [2] avant l'étape de frittage SPS. A titre d'exemple, on a ainsi pu quantifier la phase d'oxyde entourant le cœur métallique des nanobâtonnets de $\text{Co}_{80}\text{Ni}_{20}$ (Fig.1). Des lames MET ont été prélevées par FIB sur des échantillons massifs de mélanges de poudres à différents taux de charge de phase ferromagnétique CoFe_2O_4 dans KNN après frittage. Des cartographies de phases et d'orientation ont été obtenues par ACOM-TEM. Dans le cas de l'échantillon à 10 % en masse de CoFe_2O_4 dans KNN (Fig.2) la taille des grains de CoFe_2O_4 est nettement plus grande que dans la poudre d'origine. Les interfaces entre les phases ont aussi été étudiées : pour ce même échantillon les compositions entre les grains de CoFe_2O_4 et de KNN sont abruptes aux interfaces et il a été montré par EELS que le fer y est partiellement réduit.

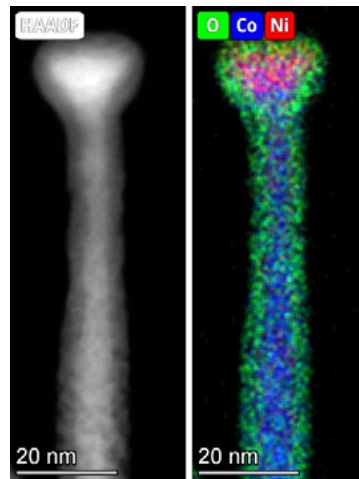


Figure 1 : image STEM-HAADF d'un nanobâtonnet de $\text{Co}_{80}\text{Ni}_{20}$ (à gauche) et cartographie EDX associée (à droite)

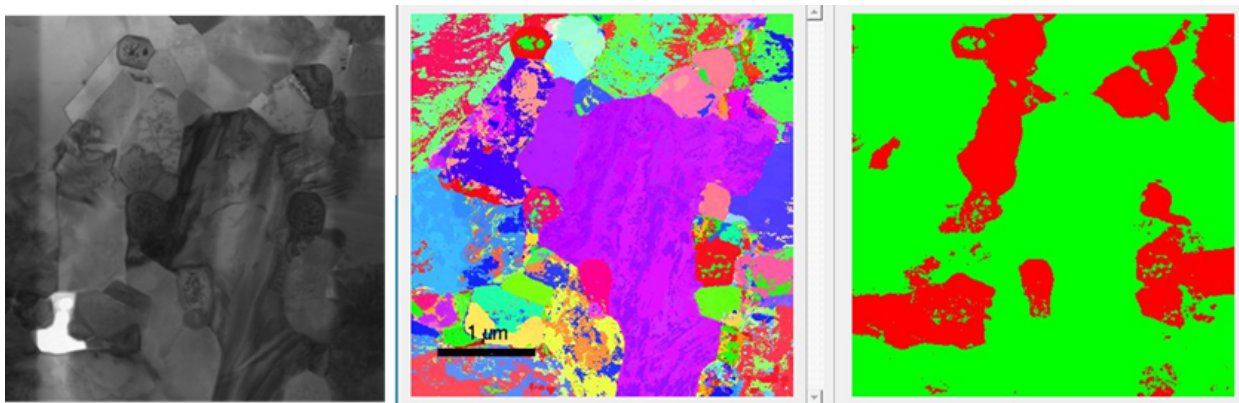


Figure 2 : image STEM-HAADF d'un massif obtenu par frittage de 10 % de CoFe_2O_4 dans KNN (à gauche). ACOM-TEM associé : cartographie d'orientation (au centre) et cartographie de phases (à droite, en rouge : CoFe_2O_4 , en vert : KNN)

Références :

- [1] Cette recherche a été soutenue par le projet ANR Compagnon (ANR-22-CE09-0023)
- [2] Des mesures ont été effectuées sur la plate-forme d'équipements PLASSMAT de l'IMN, Nantes, France.

Adresse mail : eric.gautron@cnr-s-imn.fr

Etude du point triple de la pile à hydrogène à membrane échangeuse de protons par microscopie électronique environnementale multi-échelle

Janith KARIYAWASAM^{1,2}, Victor TRILLAUD², Fanny HOENG¹, Karine MASENELLI-VARLOT², Lucian ROIBAN²

¹ SYMBIO, 10 Rue Spécia, Saint-Fons, France

² INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, MATEIS, UMR5510, Villeurbanne, France

Session : Interfaces

Les piles à combustible sont une technologie révolutionnaire en matière d'énergie propre, offrant une méthode prometteuse pour la production d'énergie durable. Les piles à membrane échangeuse de protons sont l'un des types de piles à combustible les plus étudiés et les plus commercialement viables. Le cœur de la pile est la MEA (Membrane Electrode Assembly), qui est constituée d'un ensemble de couches avec des caractéristiques différentes : GDLs (Gaz Diffusion Layers) et CCM (Catalyst Coated Membrane). [1] La CCM est composée de deux couches catalytiques (anode et cathode), qui sont les sièges des réactions électrochimiques, et d'une membrane échangeuse de protons. Les couches catalytiques se présentent sous forme d'encre que l'on vient déposer sur la membrane. Ces encres catalytiques sont un mélange de catalyseur de nanoparticules de Pt (environ 2-5 nm [2]) sur un support carboné (environ 30 – 50 nm [2]), d'un ionomère polymérique (environ 10 nm [3]) et de solvant.

Nous présentons ici une méthode d'imagerie multi-échelle qui permet la visualisation et la quantification du ionomère. Cette méthode est basée sur l'utilisation de microscopes environnementaux à balayage et en transmission (ESEM et ETEM), en phase liquide. L'étude a été menée sur l'encre en phase liquide, pour étudier la répartition des différents composants (Figure 1 a). Elle a été complétée par la caractérisation de la MEA en tomographie électronique pour identifier et quantifier les points triples Pt/C/ionomère (Figure 1b). Les résultats sont comparés avec la littérature obtenue par cryo-tomographie [4,5].

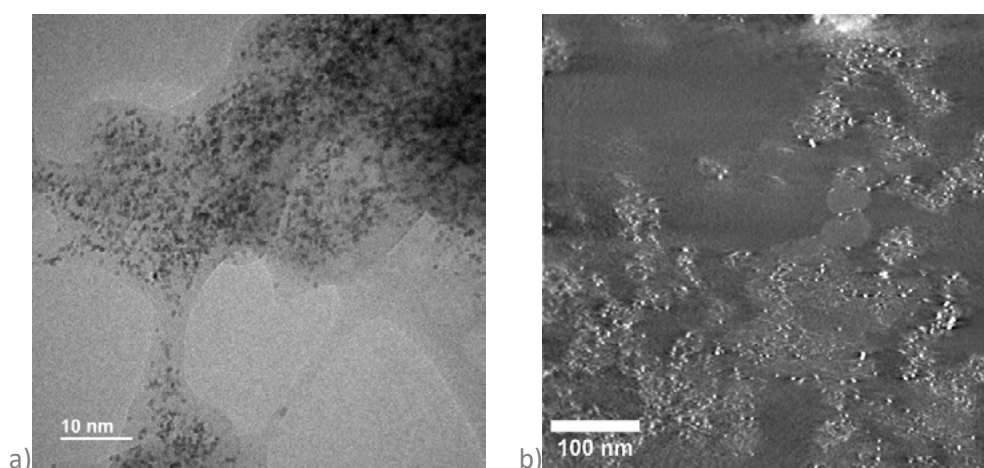


Figure 1 : a) Image du ionomère réalisée par microscopie électronique en mode liquide en ETEM. b) Section dans le plan XY du volume reconstruit de la MEA. Les nanoparticules de Pt sont brillantes, le support de carbone et le ionomère en gris plus clair.

Références :

1. Chun, *et al.* International Journal of Hydrogen Energy **48.71** (2023): 27790-27804
2. Kim, *et al.* Polymers in Membrane Electrode Assemblies (2012) 691-720.
3. Morawietz, *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces **8.40** (2016): 27044-27054
4. Girod, *et al.* Nature Catalysis, 6.5 (2023) : 383-391
5. Les auteurs remercient le Consortium Lyon Saint-Etienne de Microscopie (CLYM) pour l'accès aux microscopes.

Adresse mail :

janith.kariyawasam@symbio.one, Janith KARIYAWASAM Doctorant SYMBIO/INSA

ARRANGEMENTS SPATIAUX DE RESEAUX DE DISLOCATIONS DANS DES INTERFACES DE PLAQUETTES DE SILICIUM (001) OBTENUES PAR COLLAGE MOLECULAIRE HYDROPHOBE

Loïc PATOUT¹, Marc GAILHANOU¹, Claude ALFONSO¹, Marion DESCOINS¹, Frank FOURNEL²,
Dominique MANGELINCK¹ & Nathalie MANGELINCK-NOËL¹

¹Aix-Marseille Univ., Université de Toulon, CNRS, IM2NP, Marseille, France

²CEA-LETI, Université Grenoble-Alpes, Grenoble, France

Session : SdM - Interfaces

Des réseaux de dislocations ont été obtenus à l'interface entre 2 plaquettes de silicium (001) mises en contact pour différents angles de rotation par rapport à leur direction commune [110] (*Fig.1a*). Trois réseaux ont été préparés avec des angles respectivement de 0° (DN1), 90° (DN2) et 10° (DN3), puis caractérisés par microscopie électronique en transmission (MET) [1]. Pour DN1 et DN2, des motifs constitués par des longs (jaune) et courts (rouge) segments forment des figures hexagonales allongées (*Fig.1b*). Les analyses par MET montrent des caractéristiques différentes concernant l'arrangement spatial et la nature des dislocations. Le réseau DN1 présente deux familles de longs segments perpendiculaires de dislocations vis $a/2\langle 110 \rangle$ se dissociant en courts segments de type Schockley en dehors du plan d'interface. Le réseau DN2 ne présente qu'une seule famille de longs et courts segments tous orientés en dehors du plan d'interface. Ces caractéristiques sont reliées aux valeurs de désorientations et à la présence des terrasses atomiques à la surface des plaquettes initiales dues aux angles de coupe. Dans le cas de DN3, la structure d'interface présente deux réseaux superposés à des échelles différentes. Premièrement, un réseau planaire composé de lignes parallèles de dislocations coin $a\langle 100 \rangle$ a été observé. Deuxièmement, à l'échelle nanométrique, des images MET en haute résolution (HREM) ont révélé un réseau de moiré à l'intérieur duquel l'agencement des plans atomiques forme des motifs géométriques hexagonaux semblables à ceux obtenus dans les réseaux micrométriques. La nanostructuration et la présence de défauts atomiques assimilables à des boucles de dislocations prismatiques [2] sont discutées en considérant des traitements d'images HREM à l'aide de filtres de Bragg et des corrections sur les intensités des réflexions dans les transformées de Fourier. Des corrélations avec des simulations obtenues pour différentes valeurs de désorientations et d'épaisseurs de couches de Si ont aussi été analysées (*Fig.1c*).

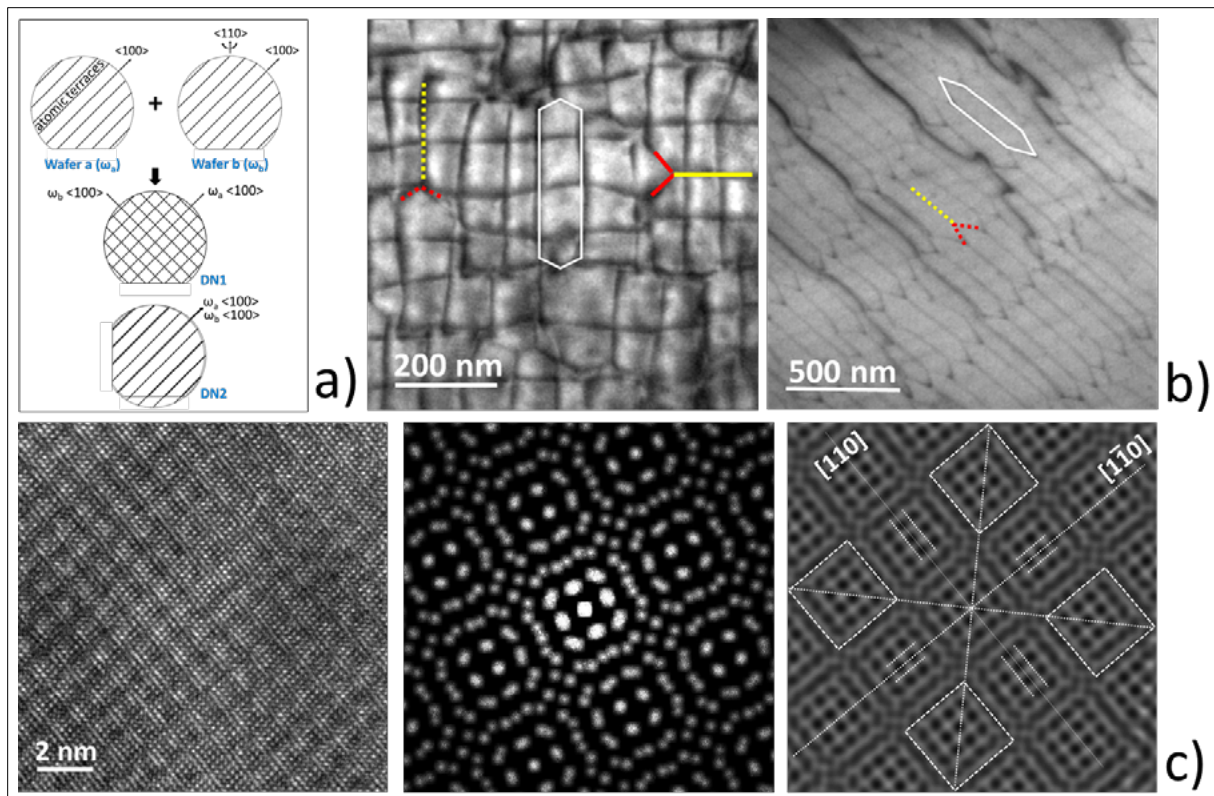


Figure 1 : (a) Schéma du procédé de collage moléculaire permettant d'obtenir les réseaux de dislocations interfaciales DN1 et DN2. (b) Images MET en vues planes par champ clair des réseaux de dislocations DN1 (gauche) et DN2 (droite); les réseaux montrent des motifs géométriques hexagonaux allongés (blanc) formés par des triple-nœuds constitués de courts (rouge) et longs (jaune) segments de dislocations. (c) Image HREM expérimentale (gauche), traitement de la FFT par filtre de Bragg (milieu) et simulation d'image HREM (droite) correspondant au réseau DN3 (c).

Références :

- [1] Patout, et al. Materials Science in Semiconductor Processing **184** (2024) 108814
- [2] Gavini, et al. Physical Review B **76** (2007) 180101

Adresse mail : loic.patout@im2np.fr

Epitaxie de GaN sur substrat de graphène

Ludovic LARGEAU¹, Camille BARBIER¹, Christophe DURAND², Joël EYMERY², Gilles RENAUD², Hervé MONTIGAUD³, Laurent TRAVERSS¹, M. TCHERNYCHEVA¹, F. GLAS¹ and J.-C. HARMAND¹

¹Université Paris-Saclay, CNRS, C2N, 10 Boulevard Thomas Gobert 91120, Palaiseau, France

²Université Grenoble Alpes, CEA, IRIG, 17 avenue des Martyrs, 38000 Grenoble, France

³Saint-Gobain, CNRS, Surface Verre & Interfaces, Aubervilliers, France

Session : Sciences de la Matière : Interfaces

Texte de l'abstract (calibri, 11, justifié, maximum 300 mots)

Nous explorons dans cette étude les mécanismes qui régissent la croissance épitaxiale par jets moléculaires (EJM) assistée par plasma d'azote de nanostructures de GaN sur graphène. L'utilisation du graphène comme substrat présente deux grands avantages. Ultimement mince, il représente une alternative aux substrats massifs. D'autre part, la croissance de nanostructures sur graphène permet de transférer l'ensemble sur d'autres supports, notamment flexibles pour le développement d'écrans souples. Nous avons démontré par des observations en MEB et en MET que le graphène peut imposer une relation épitaxiale au GaN, même sans substrat cristallin sous-jacent [1].

Nous avons analysé les changements de surface qui se produisent pendant la longue période d'incubation et qui sont à l'origine de la nucléation de GaN. Nous avons observé par AFM que l'exposition au plasma N produit de petites gravures dans la couche de graphène et la spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS) indique que des atomes de N s'incorporent dans des sites pyridiniques révélés par ces gravures. Ces atomes pourraient être les points d'ancrage des premiers germes de GaN.

Enfin, nous avons réalisé des tests de déplacement des nanofils à l'aide d'une pointe AFM qui ont révélé que nos nanostructures sont fortement liées au graphène.

Toutes ces observations tendent à montrer que, dans nos conditions, l'épitaxie entre le GaN et le graphène n'est pas uniquement due à des interactions faibles de type Van der Waals mais que des liaisons chimiques sont impliquées dans cette relation épitaxiale [2].

Nous avons ensuite réalisé des reprises de croissance MOCVD sur les nanofils EJM. Les analyses fines par MET ont révélé que les domaines de plusieurs microns ainsi obtenus ne contiennent aucun défaut, ce qui est prometteur pour la fabrication de dispositifs opto-électroniques. L'utilisation de marqueurs temporels nous permet de comprendre les cinétiques de croissance.

Références :

[1] V. Kumaresan, et al. Nano Lett. 16 (2016), 4895–4902.

[2] C. Barbier et al. Cryst. Growth Des. 23 (2023) 6517-6525

Adresse mail : ludovic.largeau@cnrs.fr

STUDY OF THE INTERFACE ALUMINIUM ALLOY / CHROMATE-BASED WASH PRIMER BY ELECTRON AND X-RAY SPECTROSCOPY TECHNIQUES

Magali BRUNET¹, Sébastien JOULIE¹, Christophe FAULMANN¹, Clément HOLE², Philippe SCIAU¹

¹ CEMES, CNRS, University of Toulouse, France

² ESRF, Grenoble, France

Session : SDM : Interfaces

Wash primers were developed in the 1940s to protect aluminium alloys from corrosion in aeronautical applications^[1]. They contain a designed zinc chromate (ZnCrO_4 , $n\text{Zn}(\text{OH})_2$)^[2] which is mixed upon application with phosphoric acid in an alcoholic medium and polybutyral vinyl (PVB) to form a thin layer before painting. In this work, painted samples were collected on a collection aircraft (Morane Saulnier 733, 1951). The primer was characterized with μ -X-ray Absorption Near Edge Spectroscopy (XANES) at the ID21 beamline of ESRF and Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) at CEMES. The complementarity of the two techniques was used to probe the speciation of key elements from microscale to nanoscale. The objective is to understand the chemical reactions that took place between the zinc chromate and phosphoric acid at the interface with the aluminium alloy substrate, in order to assess the protective efficiency of these primers. Inside the primer, the XANES spectra at Cr and Zn K-edges show that the zinc chromate pigment has been reduced during the application, i.e. the Cr(VI) content is lower than for the non-reacted pigment. At the interface Al alloy/primer a very thin layer (few nm) is formed containing O, Zn and P. The EELS spectra acquired at the interface (See Figure 1) reveals that the O K-edge exhibits a different shape as in the rest of the sample: an additional small pre-edge peak is present, that could be the sign of the oxygen atoms in tetrahedral unit of a phosphate (PO_4^{3-})^[3].

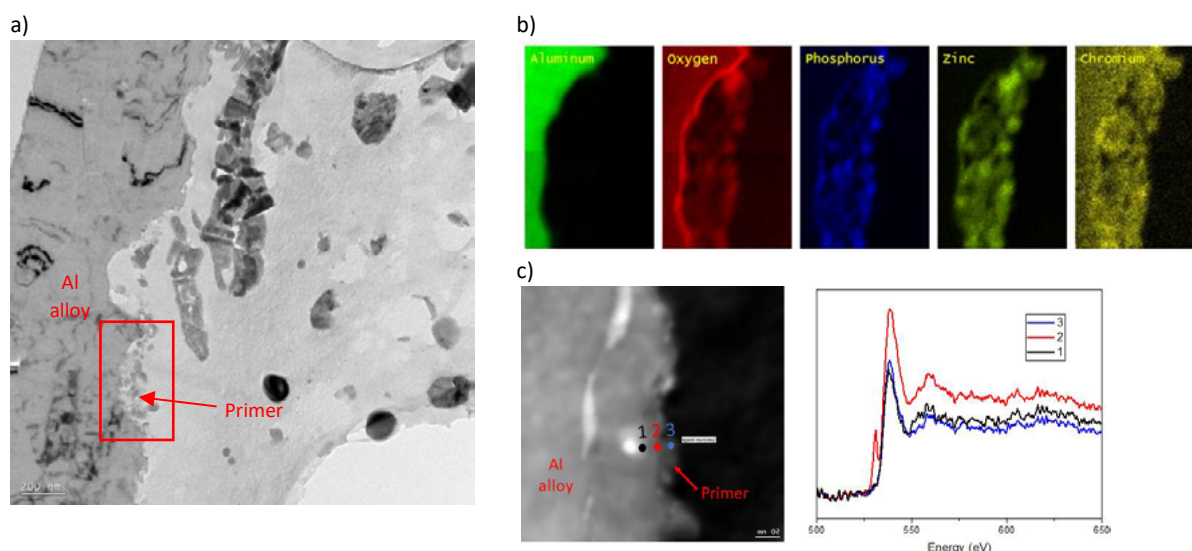


Figure 1 : Interface Al/primer observed and analysed by a) TEM (Bright field), b) EDS maps and c) EELS spectrum at O K-edge

Acknowledgment: The authors would like to thank Helmut Gnaegi for the microtomy preparation.

Références :

- [1] L.R. Whiting, P.F. Wangner, U.S.P. Office (Ed.) United States, **2,525,107** (1950).
- [2] W.W. Kittelberger, Industrial and engineering chemistry, **34.3** (1942) : 363-372.

Adresse mail : magali.brunet@cemes.fr

STRUCTURE, MORPHOLOGY AND IMPURITY CHARACTERISATION OF BORON BASED THIN FILMS: WALL CONDITIONING BORONIZATION IN WEST TOKAMAK FOR ITER

Thea FERLEY^{1,4}, Elodie BERNARD², Martiane CABIÉ³, Andrea CAMPOS³, Mathilde DIEZ², Martin GABRIELE³, Gregory GIACOMETTI¹, Cédric PARDANAUD¹ and Céline MARTIN¹

¹Aix Marseille Univ, CNRS, PIIM, Marseille, France

²CEA, IRFM, F-13108 St Paul lez Durance, France

³Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Med, FSCM, Marseille, France

⁴Technological University Dublin, School of Physics Clinical & Optometric Sciences, Grangorman, Ireland

Sciences de la matière - Interfaces

Nuclear fusion offers a sustainable energy source solution. ITER, the world's largest fusion experiment, is designed to demonstrate this potential by confining a hot hydrogen plasma inside a tokamak, a toroidal magnetic confinement device. Due to the extreme conditions inside the reactor, critical plasma-facing components such as the divertor and the first-wall surfaces are made from tungsten. The first-wall surfaces were originally beryllium-based but changed to tungsten as part of ITER's "rebaselining." However, tungsten's metallic nature introduces significant challenges for plasma stability, leading to the development of wall-conditioning techniques for tokamaks. Glow Discharge Boronization (GDB) is a wall-conditioning technique that uses a diborane low-temperature plasma generated within the reactor using electrodes, allowing the deposition of a thin boron layer inside the tokamak. This layer enhances plasma stability by reducing oxygen impurity release and sputtered tungsten from the wall, thereby improving hydrogen plasma confinement. The WEST tokamak supports ITER development by generating plasmas that simulate fusion reactor conditions, enabling the assessment of boron layers under varying boronization parameters. However, the reactivity and properties of boronized layers in tokamak environments are still poorly understood. Our research focuses on characterizing boronized tungsten samples from WEST and analyzing their interaction with hydrogen and oxygen under plasma exposure. A thin film of gold is deposited on select samples, preventing degradation during analysis and air storage. We aim to characterize the deposition and morphology of these boron and gold thin films (few tens of nanometer), as well as analyze their crystalline structure, spatial arrangement, thickness, uniformity, and impurity content both post-formation (GDB) and post-plasma exposure in WEST. To achieve this, we employ various microscopy techniques: SEM, TEM, FIB, EDX, confocal microscopy, and AFM. These findings will provide critical physicochemical data on boron's reactivity with deuterium and oxygen, helping to optimize boronization strategies for ITER.

Adresse mail : theaferley1@gmail.com and celine.martin@univ-amu.fr

FACTORS AFFECTING THE CHEMICAL AND ELECTROCHEMICAL RESPONSE DURING LIQUID PHASE SCANNING TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY STUDIES

Antonia KOTRONIA¹, Eric GAUTRON¹, Ivan T. LUCAS¹, Patricia ABELLAN¹

¹ Nantes Université, CNRS, Institut des Matériaux de Nantes Jean Rouxel, IMN, 44000 Nantes, France

Session SDM2: Quantitative measurement of properties by electron beam

Liquid phase (scanning) transmission electron microscopy (LP-(S)TEM) has become an indispensable tool to study electroactive materials, as it enables nanoscale imaging under near-operating conditions, providing the ability to control electrolyte flow, sample heating and electrical biasing. Despite recent innovations in sample holder design, interpreting EC-STEM data remains complicated due to artifacts arising from electrode geometry and confinement of the liquid phase, as well as beam-induced damage.¹ As an example, the type and positioning of the reference electrode (on-chip versus off-chip, pseudo-reference versus true reference) will affect both the Ohmic drop and potential drift during EC-STEM measurements. Additionally, the choice of supporting electrolyte salt can change the chemical reactivity, by altering the oxidizing/reducing power of the radicals generated during radiolysis.²

The aim of this study is to gain a deeper understanding of the factors that could affect EC-STEM measurements and provide insights for future experimental design. To achieve this, we start by revisiting the well-studied example of Cu-electrodeposition as a baseline, using an EC liquid Hummingbird holder.^{3, 4} Cu nanoparticle deposition and stripping are induced from a 0.1 M CuSO₄ solution via cyclic voltammetry (CV), and the evolution of the working electrode's morphology is monitored in STEM mode on a Themis Z G3 microscope. Electrochemical data obtained using an on-chip Pt pseudo-reference electrode are compared to data from an in situ generated Cu/CuSO₄ reference and an off-chip Ag/AgCl reference, and the respective advantages and limitations of each configuration are discussed. Moreover, examples of Cu-electrodeposition and beam-induced Cu chemistry are presented for different supporting electrolytes with/without the presence of halide salts (see Fig. 1), providing further insights into the critical role electrolyte composition plays in EC-STEM studies. The findings from this preliminary study on Cu electrodeposition are subsequently extended to explore other aqueous systems with potential applications in energy storage and sensing technologies.⁵

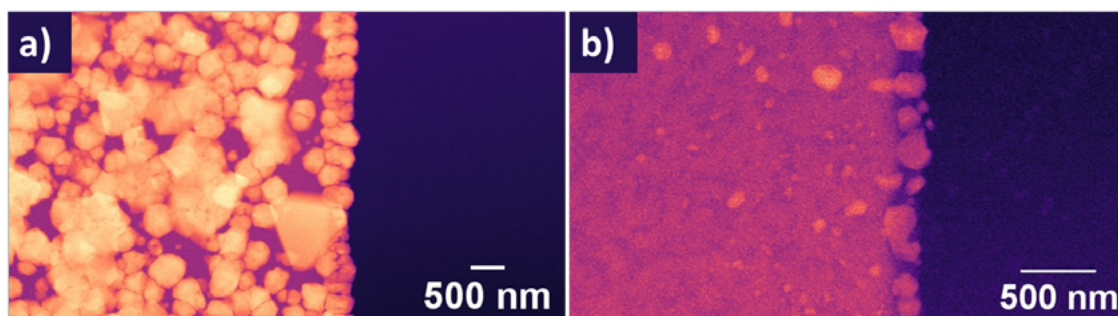


Figure 1: Examples of obtained Cu electrodeposits, plated from aqueous solutions containing either 0.1 M CuSO₄ (a) or 5 mM CuSO₄ and 12.5 mM KCl (b).

References:

- [1] Chee, *et al.* *Chemical Reviews* **123.23** (2023): 13374-13418.
- [2] Woehl and Abellan. *Journal of microscopy* **265.2** (2017): 135-147.
- [3] Parkin, *et al.* (2024): ozae044-604.
- [4] Yoon, *et al.* *Nature Materials* (2025).
- [5] This work is supported by the ERC-2023-CoG project DREAM-SWIM (Project # 101124066). Measurements were performed using the IMN's characterization platform, PLASSMAT, Nantes, France.

Email address: Antonia.KOTRONIA@cnrs-imn.fr

Quantifying the Effect of Electric Field on the Growth Kinetics of Individual Single Walled Carbon Nanotubes via High-Throughput *in-situ* Electron Microscopy

Quantification de l'effet du champ électrique sur la cinétique de croissance des nanotubes de carbone mono-paroi grâce à la microscopie électronique *in situ* à haut débit

V. Pimonov¹, F. Panciera², I. Florea³, C. Cojocaru³, A. Ayari¹, P. Legagneux⁴, S. Purcell¹, N. Blanchard¹, P. Vincent¹

¹ Univ Lyon, Univ Claude Bernard Lyon 1, CNRS, Institut Lumière Matière, F-69622, Villeurbanne, France.

² University of Paris-Saclay, CNRS, Centre for Nanoscience and Nanotechnology, 91120 Palaiseau, France.

³ Laboratory of Physics of Interfaces and Thin Films, UMR CNRS 7647, Ecole Polytechnique, IP-Paris, 91228 Palaiseau, France.

³ Thales Research and Technology, Palaiseau, France

Session : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Despite being discovered over three decades ago, carbon nanotubes (CNTs) still present numerous unresolved questions and challenges. One significant hurdle is the difficulty in controlling their growth kinetics and structure during synthesis, which has limited their widespread integration into electronic devices. To address this issue, our research focuses on studying the growth kinetics of CNTs using environmental transmission electron microscopy (ETEM). Growth is performed at approximately 700°C under low-pressure H₂/C₂H₂ gas conditions ($\leq 10^{-4}$ mbar) using a bespoke heating microchip, capable of applying a bias voltage, that serves as the substrate for electric field-directed synthesis (EFDS) [1]. The key advantage of this method lies in the alignment of nanotubes during growth, enabling the measurement of CNT kinetics at the sub-micron scale, along with *in-situ* field emission measurements [2].

Our observations of 3,000+ nanotubes grown at bias voltages ranging from -100 to +175 V reveal several in-depth insights. We observed linear growth kinetics for individual single-walled carbon nanotubes, with occasional rate changes (acceleration/deceleration). Analysis shows that the strength of the applied field significantly affects the growth rate of CNTs, surprisingly without any influence from the bias polarity. An inverse correlation between growth rate and duration, previously documented in atmospheric pressure synthesis, was also observed in our experiments. However, contrary to other studies, we found a negative dependence of kinetic parameters on the time of nanotube growth.

At low applied voltages, growing nanotubes may bridge the gap to the opposite electrode. This contact, combined with mechanical failure, is a primary cause of CNT destruction. High positive applied fields can trigger field emission from the nanotubes, leading to saturation or destructive processes, including a novel mechanism induced by self-oscillation. Additionally, a curious phenomenon was observed: a nanotube growing at its base while simultaneously evaporating at its apex.

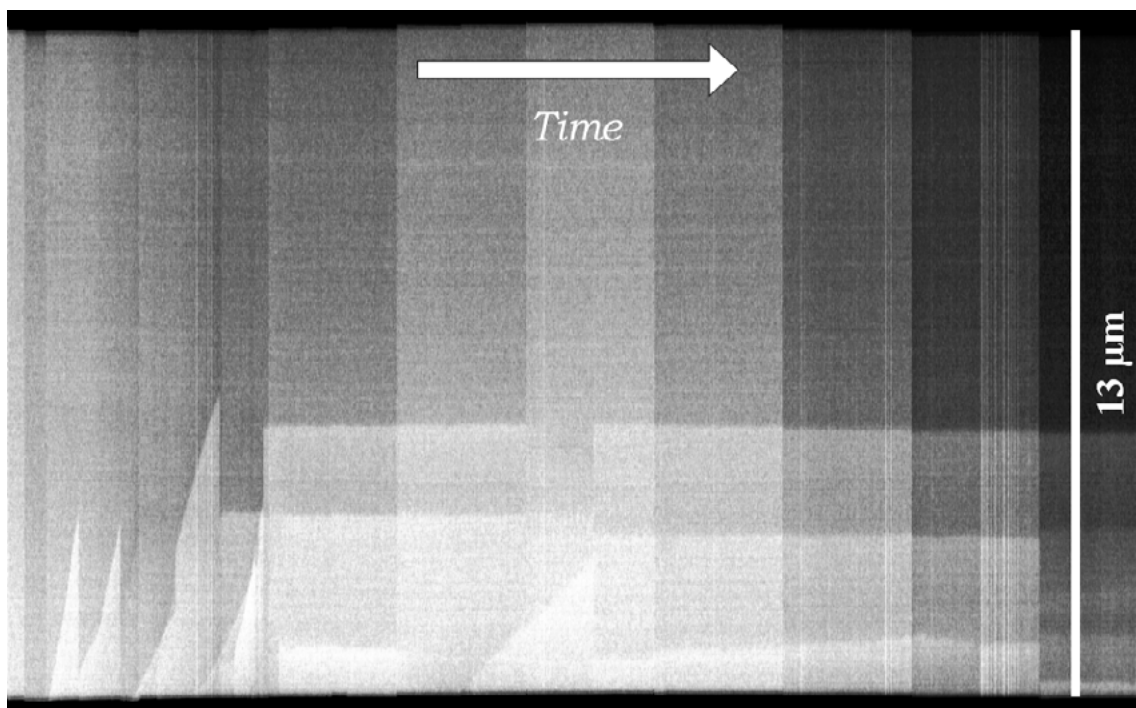


Figure 1 : Kymograph showing the kinetics of nanotube growth

Références :

- [1] P. Vincent, *et al.* Carbon, **213** (2023) 118272
- [2] P. Vincent, *et al.* J. Vac. Sci. Technol. B **42** (2024) 022802

Adresse mail : nicholas.blanchard@univ-lyon1.fr

INVESTIGATION OF PHASE TRANSFORMATION IN LFP AND LFMP CATHODES USING 4D-STEM TECHNIQUE AND PHASE-FIELD MODELING

Ahmed YOUSFI¹, Justine JEAN¹, Kevyn Gallegos¹, Guillaume Boussinot², Arnaud Demortière¹

¹ Laboratoire de Réactivité et Chimie des Solides/Centre National de Recherche Scientifique/Université de Picardie Jules Verne/RS2E, Amiens, France

² Access e.V Institute, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule (RWTH) Aachen University, Aachen, Germany

Session : SDM2 : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Lithium-ion batteries power portable electronics and electric vehicles but face challenges like lifespan limitations, capacity degradation, and safety risks. To better understand these issues, we investigate the rate capability of LFP and LFMP cathode materials by analyzing their performance at different C-rates over multiple charge-discharge cycles.

Following electrochemical testing, we extract the electrode powder for advanced structural analysis using the 4D-STEM technique. Phase mapping and crystal orientation are investigated through 4D-STEM ACOM (Acquisition of Crystal Orientation Maps) datasets [1, 2], providing insight into the material's transformation during cycling. Additionally, we aim to evaluate the local displacement field caused by elasticity and extract a strain map by using the same technique 4D-STEM ACOM.

Experimental results will be compared with phase-field model simulations (figure 1) with a real morphology particle where the boundary conditions are calculated by the Smoothed Boundary Method (SBM) [3, 4]. Here, we use an Allen-Cahn type phase-field approach to investigate the phase transition from LiFePO_4 to FePO_4 cathode crystals in the presence of Li-ion chemical potential difference with the surrounding liquid electrolyte [5].

The correlation between the phase-field model and the 4D-STEM results provides valuable insights into the complex dynamics of phase transformations and microstructure evolution, contributing to the understanding of key factors affecting the performance and lifetime of Li-ion batteries.

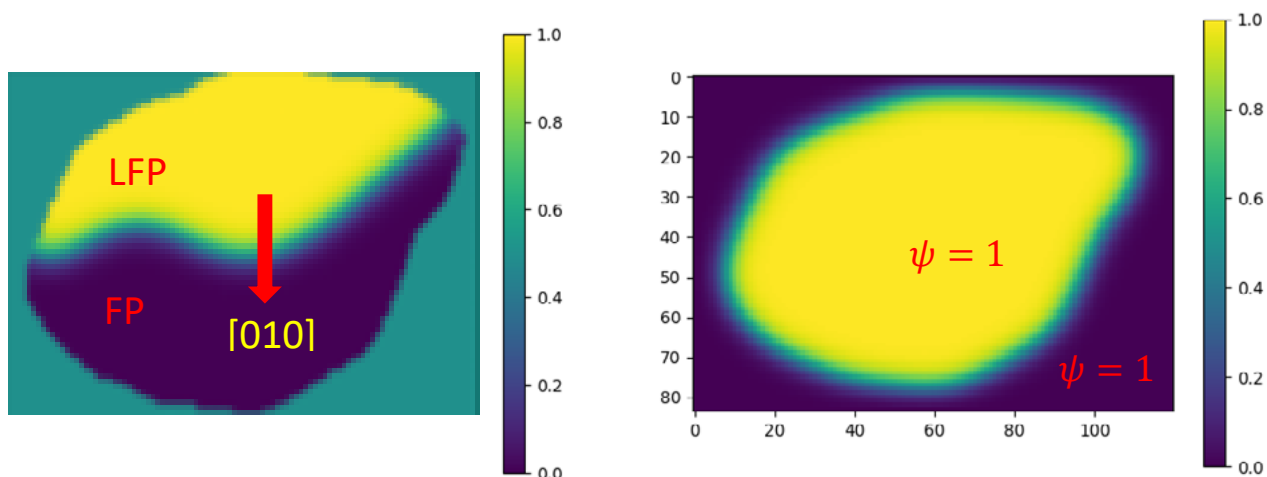


Figure 1 : (Left) Phase-field simulation illustrating the transformation from the LFP phase to the FP phase during lithiation. (Right) Representation of the Smoothed Boundary Method (SBM), where the particle is defined by the region where $\psi = 1$, and the electrolyte corresponds to $\psi = 0$.

Références :

- [1] N. Folastre, *et al.* Microscopy and Microanalysis **27** (2021): 3446-3447
- [2] A. Bhatia, *et al.* Small Methods **6** (2022) : 2100891
- [3] H.C. Yu, *et al.*, Modelling Simul. Mater. Sci. Eng. **20** (2012) 075008, 41
- [4] A. Yousfi, A. Demortière, G. Boussinot. Physical Review Materials (submitted)
- [5] M. Fleck, *et al.* Computational Materials Science **153** (2018), 288-296

Adresse mail : ahmed.yousfi@u-picardie.fr

ETUDE DU MECANISME DE LA SPHEROÏDISATION DU GRAPHITE DANS LES FONTES PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE EN TRANSMISSION

Alessandro PUGLIARA^{1,2}, Moukrane DEHMAS¹, Clément LONG², Jacques LACAZE¹

¹ CIRIMAT, Toulouse INP, Université Toulouse, CNRS, 4 allée Emile Monso - BP44362, 31030, Toulouse cedex 4, France

² Centre de microcaractérisation CASTAING, Université Toulouse, Toulouse INP, INSA Toulouse, CNRS, Espace Clément Ader, 3 Rue Caroline Aigle, 31400 Toulouse, France

Session : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Au milieu du XX^e siècle, il a été montré que de petites quantités de Mg ou de Ce ajoutées à la fonte (alliage à base Fe et C) permettent de transformer le graphite de lamelles interconnectées (allongées dans la direction prismatique a du graphite) à des sphéroïdes isolés dont la direction de croissance apparente est selon les plans basaux c du graphite. Depuis cette découverte, un grand intérêt s'est développé pour la compréhension du mécanisme de croissance des sphéroïdes de graphite et différents modèles ont été proposés.

Le présent travail a été conçu pour utiliser des moyens analytiques modernes afin d'étudier le rôle des sphéroïdiseurs (Mg ou Ce) sur le mécanisme de croissance du graphite sphéroïdal. Des échantillons de Fe-C-Ce ont donc été préparés et soumis à une séquence de solidification visant à accentuer la croissance du graphite primaire à partir du liquide. A partir de ces échantillons, un nodule de graphite sphéroïdal a été sélectionné et préparé par polissage ionique utilisant la microscopie à double faisceau combinant un canon à électron à émission de champ (MEB-FEG) et une colonne ionique (FIB). Les analyses de microscopie électronique en transmission à balayage (STEM), réalisées sur un microscope électronique en transmission équipé d'un correcteur Cs sonde permettant d'atteindre la résolution atomique en mode STEM, ont mis en évidence une distribution spécifique du Ce dans le graphite qui semble suivre la séquence de solidification. D'autres analyses structurales en microscopie électronique en transmission (MET) ont été réalisées pour décrire l'empilement du graphite et sa cristallinité. Contrairement aux observations précédentes dans lesquelles le graphite était parfaitement cristallin de la surface du germe à la surface extérieure du sphéroïde [1], nous montrerons que le graphite du sphéroïde étudié se composait d'une zone intérieure quasi-amorphe et d'une zone extérieure bien cristallisée.

Références :

[1] Laffont, *et al.* J. MATER. RES. TECHNOL. **9.3** (2020): 4665-4671

Adresse mail : alessandro.pugliara@toulouse-inp.fr

IMPACT OF BEAM ABERRATIONS ON ELECTRIC FIELD MEASUREMENTS VIA TEMPLATE MATCHING PROCESSING OF 4D-STEM DATASETS

Alexis WARTELLE¹, Matthew BRYAN², Yiran LU¹, Jean-Luc ROUVIÈRE³, David COOPER², Martien Ilse DEN HERTOOG¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP, Institut Néel, 38000 Grenoble, France

² Univ. Grenoble-Alpes, CEA leti, F38000 Grenoble, France

³ Univ. Grenoble-Alpes, CEA-IRIG, MEM, Grenoble, France

Session : SdM2 : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

The center-of-mass (CoM) processing of four-dimensional scanning transmission electron microscopy (4D-STEM) datasets is widely used nowadays in electric field mapping¹⁻² at the nanoscale. However, the images of the transmitted beam are often affected by electron diffraction³⁻⁴, which produces unwanted CoM contrast. An alternative consists in Template Matching^{1,3} (TM), *i.e.* the extraction of the electron beam shift based on the cross-correlation between data frames and a constructed template. Under the assumption of a rigid beam shift, the latter derives from the correlation peak as a maximum-likelihood estimate.

In this work, we investigate the limits of TM by way of a comparison between the conventional CoM method on one hand, and several template matching (TM) approaches on the other hand. Our focus being on methodology, we use data acquired on a well-known silicon p-n junction¹⁻² (326 nm of active material) for simplicity. The imaged area is a 128-pixels-side square [see Figure 1(a)], with a step size of 5.4 nm, our detector is a 256x256 pixels Merlin camera based on medipix technology from Quantum Detectors, and the TEM is operated at 200 kV, with a semi-convergence angle of 992 μ rad. We first evidence a lack of TM robustness with respect to template morphology, as illustrated in Fig. 1(b) with disk-based constructed templates.

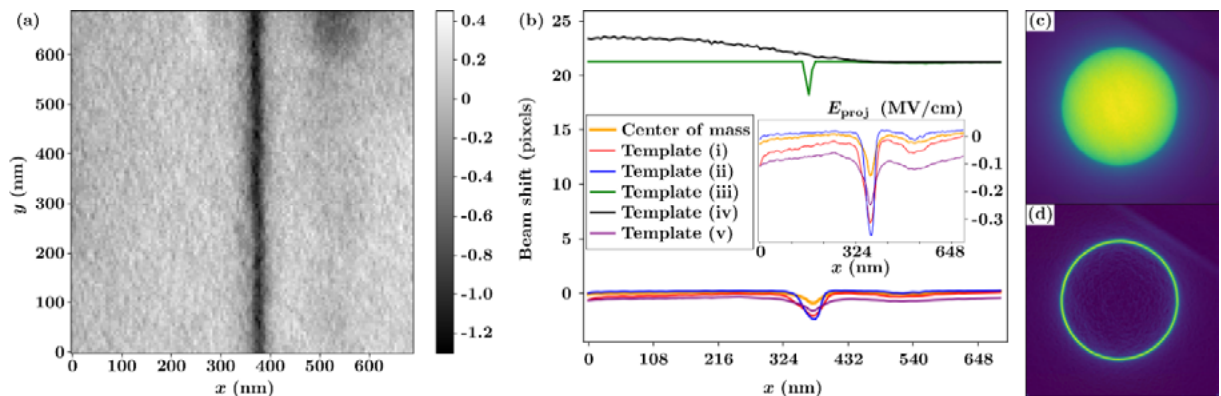


Figure 1 : (a) 4D-STEM CoM map of the p-n junction. (b) Extracted average profiles of horizontal beam shifts from CoM and template matching; inset: corresponding electric field E_{proj} . (c) Template (v) built from 20 data frames. (d) Norm of the gradient of gaussian-smoothed template (v), $\sigma=1$ pixel.

Since even data frames [cf. Fig.1(b-c)] do not match the CoM, we attempt an edge-enhancement strategy via the gaussian-filtered norm of the gradient⁵ of the images; a corresponding template example is shown in Fig.1(d). Yet, the resulting beam shift maps feature substantial junction broadening, along with unphysical vertical beam shifts. We show, via numerical simulations illustrated in Fig. 2, that these distortions likely derive from beam aberrations which break the symmetry about the x-axis. This behavior is expected to be general and therefore to impact any TM approach involving edge enhancement.

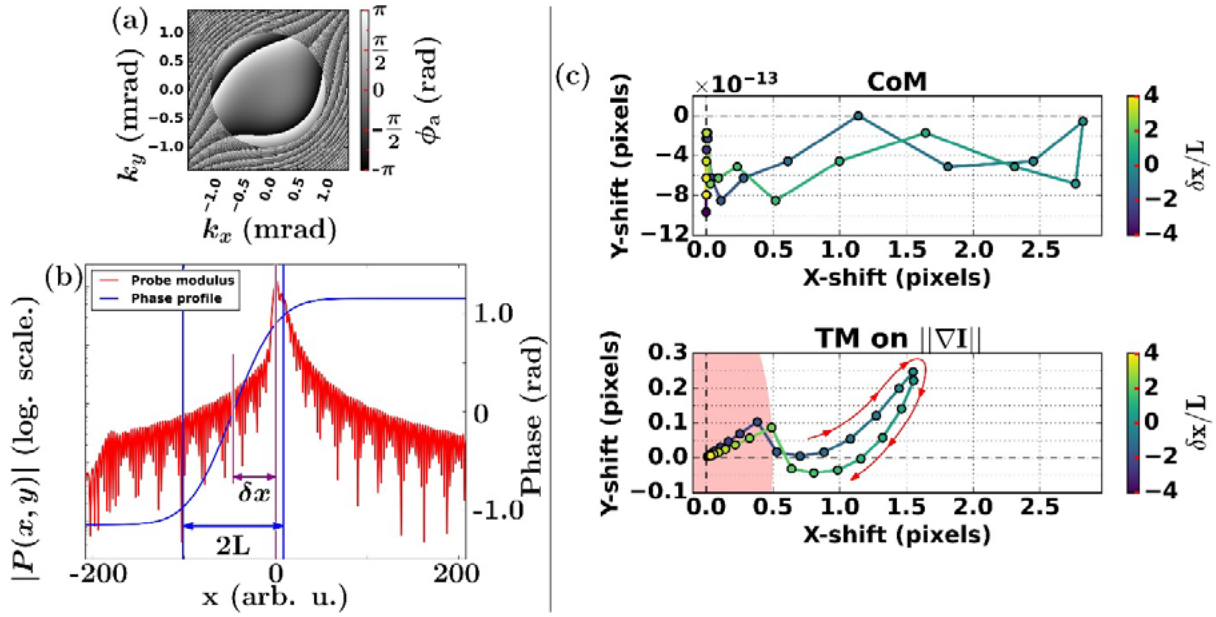


Figure 2 : (a) Wrapped phase error Φ_a applied to the simulated probe (with semi-convergence angle 1 mrad), mostly imparting axial coma. (b) Mid-height profile across the probe modulus (in red) and the phase profile approximating the p-n junction (blue). (c) 2D plots of the beam shift in the CoM (top) and TM (bottom) approaches, as a function of offset δx between probe and profile center, divided by the profile width L . The red shaded area indicates the width of gaussian smoothing $\sigma=0.5$ pixel.

Références :

- [1] Cooper, *et al.* Micron **179** (2024): 103594
- [2] da Silva, *et al.* Applied Physics Letters **121** (2022): 123503
- [3] Bruas, *et al.* Journal of Applied Physics **127** (2020): 205703
- [4] Grieb, *et al.* Ultramicroscopy **228** (2021): 113321
- [5] Canny, IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine **PAMI-8** (1986): p. 679

Adresse mail : alexis.wartelle@neel.cnrs.fr

Size effects on the amorphous-crystal phase transition in ultra-small gold colloids

Vinavadini Ramnarain¹, Adrien Moncomble¹ – Maxime Moreaud³ – Guillaume Wang¹ - Christian Ricolleau¹ – Jaysen Nelayah¹ – Hakim Amara^{1,2} – Nathaly Ortiz Peña¹ - Damien Alloyeau¹

¹ Université Paris Cité, CNRS, Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques, Paris, France

² Université Paris-Saclay, ONERA, CNRS, Laboratoire d'Etude des Microstructures, Chatillon, France

³ IFP Énergies Nouvelles, Solaize, France

Session : Session SdM: Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Understanding the atomic-scale mechanisms involved in the nucleation and growth of ultra-small metal nanoparticles (NPs) in solution is essential for generating new concepts and protocols in Nanochemistry. Moreover, given their wide applications in medicine and catalysis, investigating the phase diagram of metal colloids in the 0.5 to 3 nm size range is crucial for developing efficient nanotechnologies. Here, we study the nucleation and growth by Ostwald ripening of ultra-small gold NPs in graphene liquid cell by aberration-corrected TEM. The time and spatial resolution of these in situ HRTEM experiments (0.1 nm and 4 ms, respectively) provide unseen quantitative information on the size dependency of the amorphous-crystal phase transition in ultra-small gold clusters. As other metal NPs, [1, 2] the nucleation mechanisms of gold nanostructures go through an amorphous phase-mediated crystallization. This two-step process involves the formation and growth of amorphous nanoclusters in which crystallization occurs when the amorphous nanostructures reach a given size. Remarkably, we show that this amorphous-crystal transition occurs between 1.6 and 2.3 nm (Figure 1a). In this size range, NPs switch from one phase to the other very rapidly, indicating the presence of a biphasic regime. By revealing the amorphization of ultra-small nanocrystals in the very last steps of their dissolution (Figure 1b), we demonstrate that this size-dependent phase transition is reversible in the very same size range. Confirmed by molecular dynamic simulations, these results prove that the amorphous phase in ultra-small NPs corresponds to a size-dependent thermodynamic equilibrium rather than a non-equilibrium phase due to rapid nucleation and growth processes. The crucial link between the growth processes of amorphous clusters and the resulting nanocrystal structure will be also discussed.

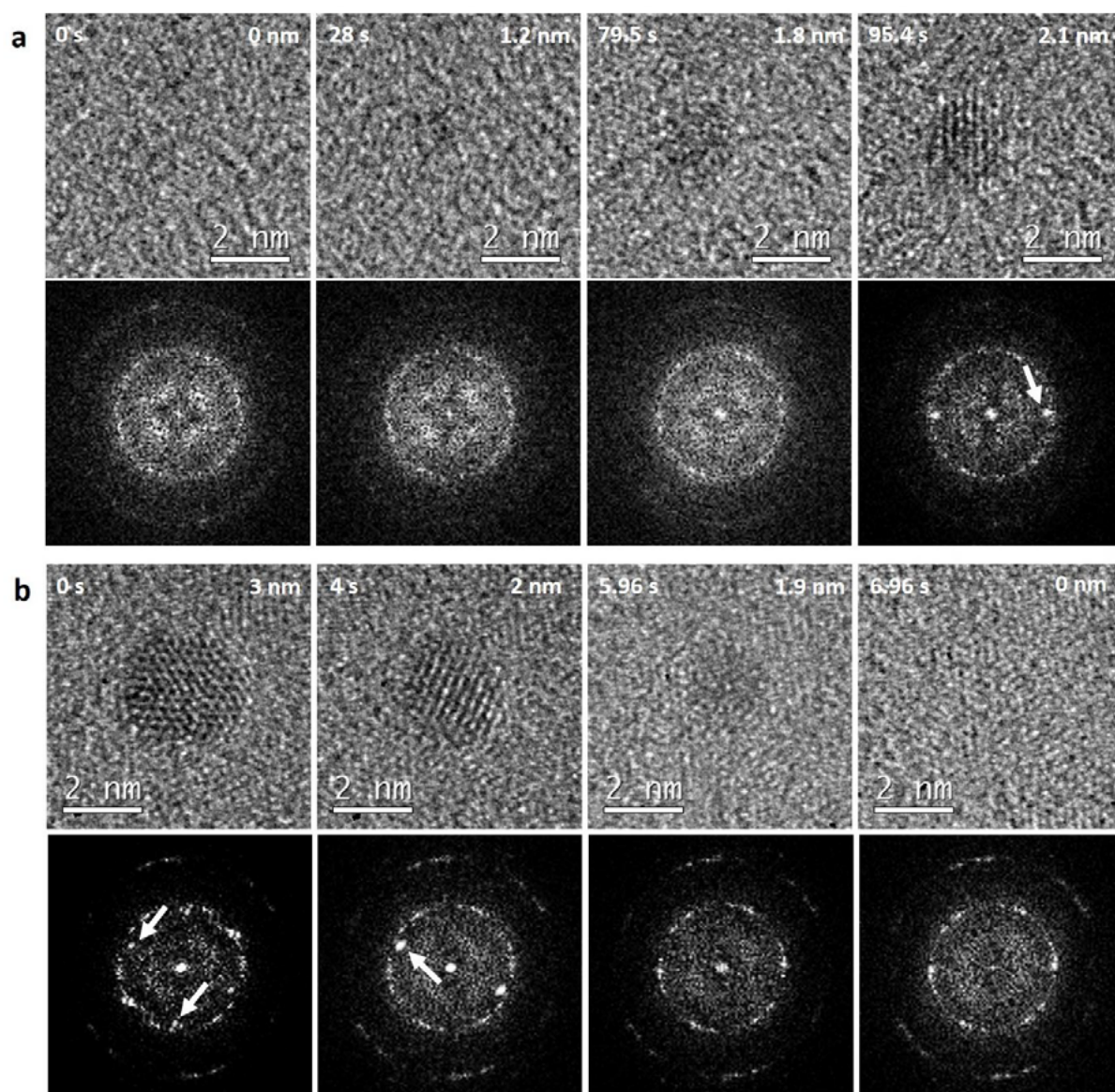


Figure 1: HRTEM image series acquired in a graphene liquid-cell filled with ultra-small gold colloids dispersed in water. The corresponding Fourier transform is shown below each image. When observed, the signal of the gold crystal lattice is indicated by white arrows. The acquisition time and the size of the observed NPs are indicated in the top left and right corners of HRTEM images, respectively. (a) Nucleation and growth by monomer attachments of an amorphous cluster that crystallizes when its size reaches 2.1 nm (b) Isotropic etching of a truncated octahedron that loses its crystallinity when its size reaches 1.9 nm.

Références :

- [1] Dachraoui, *et al.* Chemistry of Materials **35** (2023): 1201
- [2] Yang, *et al.* JACS **141** (2019): 763

Adresse mail : damien.alloyeau@u-paris.fr

***In Situ* Thermal Stability Analysis of Ti₃C₂T_z MXene Filtered Films Using STEM**

Florian CHABANAIS^{1*}, Leiqiang QIN², Johanna ROSÉN², Per O.Å. PERSSON¹

¹Thin Film Physics Division, Department of Physics, Chemistry and Biology (IFM), Linköping University, SE-581 83 Linköping, Sweden

² Materials Design Division, Department of Physics, Chemistry and Biology (IFM), Linköping University, SE-581 83 Linköping, Sweden

Session : SdM2 - Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Two-dimensional (2D) materials are an increasingly important area of materials physics research, since the first synthesis of graphene in 2004 [1]. This material, with its exceptional properties and fundamentally new 2D nature, has potential applications in a wide range of fields and paved the way for research into other compounds of this type. Since then, several other 2D materials have emerged with properties that are determined by the chemistry and structure together with the confined thickness of the layer, the spacing between the layers and the surface termination. These surface terminations can be tailored during synthesis or post synthesis [2], presenting both challenges and opportunities in terms of surface chemistry.

This work focuses on the Focused Ion Beam (FIB) sample preparation and scanning transmission electron microscopy (STEM) analysis of Ti₃C₂T_z filtered films, synthesized via vacuum-assisted filtration, yielding films with thicknesses of several microns. This film can exhibit an ultrahigh volumetric capacitance and an excellent pseudocapacitive energy storage [3], and are therefore of high importance to explore. Traditionally, filtered films are challenging to prepare, due to the weak bonding between layers that easily makes them delaminate when prepared by traditional techniques. Herein we propose a method to preparing STEM samples from filtered films using FIB (Figure 1a) that enables high magnification characterization by STEM-HAADF of the films structural properties (Figure 1b).

Furthermore, a thin lamella was prepared from a filtered film and positioned in an e-chip cell (Figure 2.a), allowing the temperature stability of the sample to be assessed through STEM-EELS (Figure 2.b). By combining STEM-HAADF and STEM-EELS, we demonstrate that the material is stable up to 700°C. And more, the use of e-chips also enabled the observation of the evolution of surface terminations (-F, -O, -OH) in various gaseous environments, particularly H₂ and Ar.

References

- [1] K. S. Novoselov *et al.*, "Electric field effect in atomically thin carbon films," *Science*, vol. 306, no. 5696, pp. 666–669, Oct. 2004, doi: 10.1126/science.1102896.
- [2] Per. O. Å. Persson and J. Rosen, "Current state of the art on tailoring the MXene composition, structure, and surface chemistry," *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, vol. 23, no. 6, p. 100774, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.cossms.2019.100774.
- [3] Z. Fan *et al.*, "A Compact MXene Film with Folded Structure for Advanced Supercapacitor Electrode Material," *ACS Appl. Energy Mater.*, vol. 3, no. 2, pp. 1811–1820, Feb. 2020, doi: 10.1021/acsaem.9b02259.

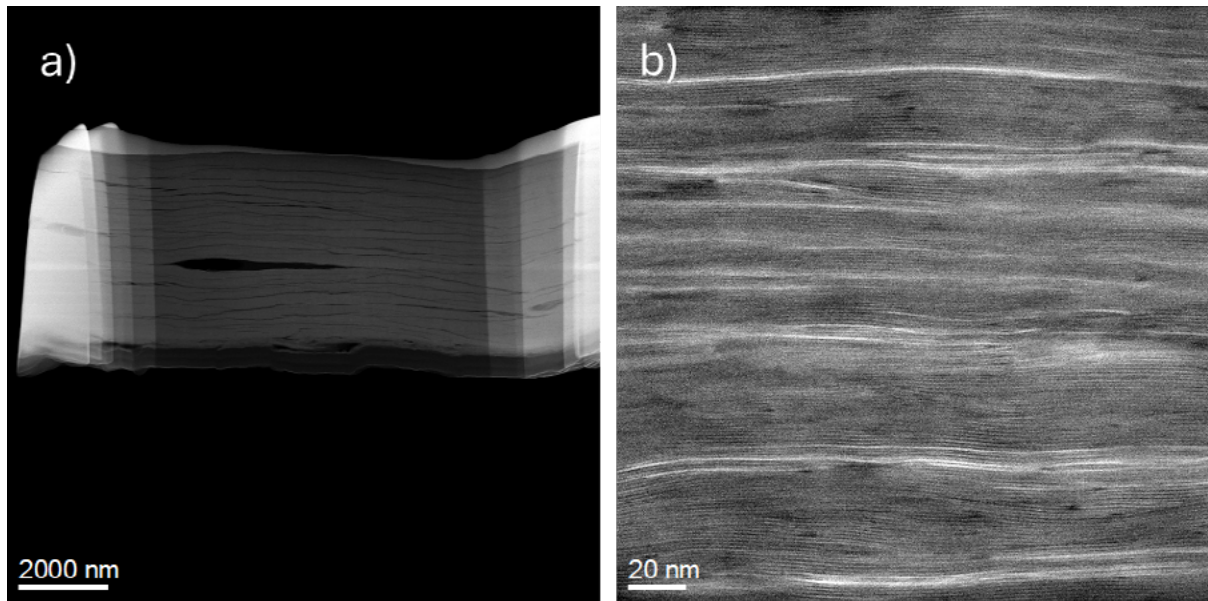


Figure 1: a) STEM-HAADF image of a FIB cross-section of a $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ film synthesized by vacuum assisted filtration. b) Observation of 2D MXene $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ layer stacking by STEM-HAADF.

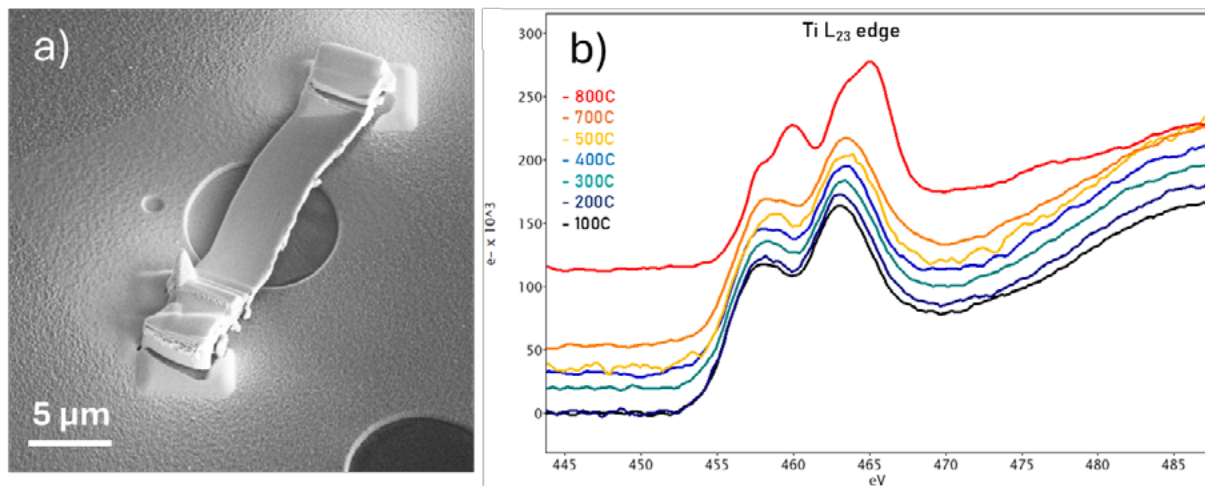


Figure 2: a) SEM image of $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXenes thin lamella on e-chips (prepared by FIB). b) Ti L_{23} edges at different temperatures (from 100°C to 800°C) of $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXenes thin lamella.

Adresse mail : [*florian.chabanais@liu.se](mailto:florian.chabanais@liu.se)

Caractérisation en S/TEM de nanodiamants dopés bore synthétisés sur billes de silice par dépôt chimique en phase gazeuse

Frédéric FOSSARD¹, Jean-Sébastien MEROT¹, Kamilia HENNI², Jean-Charles ARNAULT², Hugues GIRARD²

¹ Université Paris-Saclay, ONERA-CNRS, Laboratoire d'Etude des Microstructures, Châtillon, France

² Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, NIMBE, CEDEX, 91 191 Gif sur Yvette, France

Une tendance dans la synthèse des matériaux en diamant dopé au bore (BDD) consiste à augmenter les surfaces afin d'exalter la réactivité à l'interface BDD/électrolyte. Cet objectif peut être atteint soit par la structuration de la surface des films de BDD, soit par la croissance conforme sur des substrats 3D. Nous proposons ici une méthode pour obtenir des particules de diamant dopées au bore en utilisant une approche cœur-coquille, qui consiste à faire croître des couches de diamant sur des modèles de silice sphériques ensemencés avec des nanodiamants.

Plusieurs techniques de microscopie sont employées pour caractériser la nature et la densité des graines de diamant ainsi que les paramètres de croissance et leur influence sur la qualité cristalline des revêtements. La microstructure et l'incorporation du bore dans la coquille de diamant ont été étudiées par imagerie TEM à balayage (STEM), par spectroscopie à dispersion d'énergie (EDS) et par spectroscopie de perte d'énergie électronique (EELS) sur des particules et sur de minces sections transversales de coques préparées par broyage par faisceau d'ions focalisés (FIB). L'influence de la tension d'utilisation du microscope est également discutée.

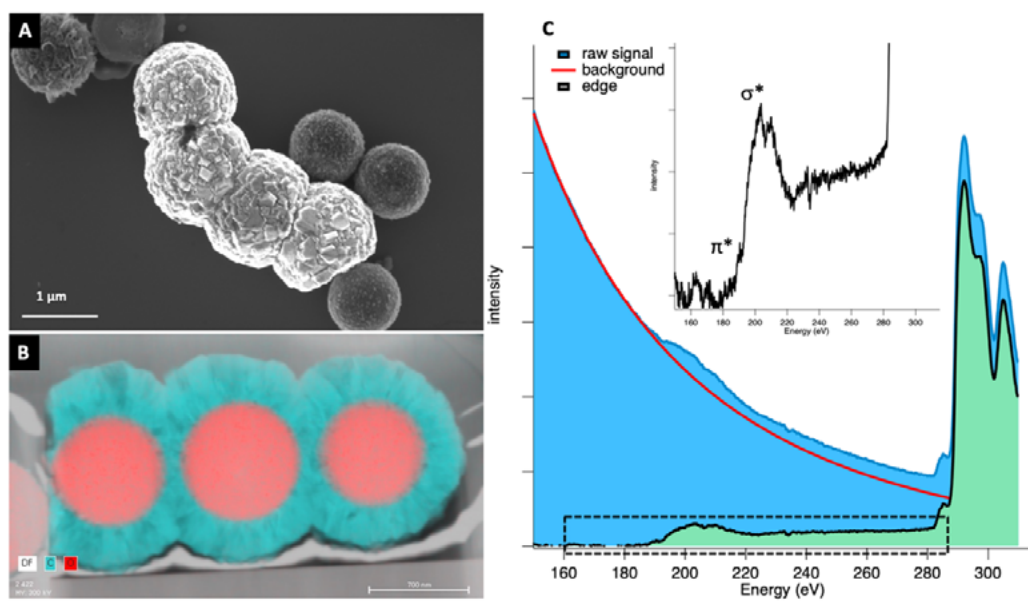


Figure 1 : A) image en MEB de particules de silice couvertes de nanodiamants ; B) Image composite LAADF (niveaux de gris) et signaux de fluorescence du carbone (bleu) et de l'oxygène (rouge) d'une section transverse du dépôt de diamants ; C) Spectre de perte d'énergie du diamant dopé bore au seuil K du Bore et du carbone.

Adresse mail : frederic.fossard@onera.fr

Combining EELS measurements and Bethe-Salpeter calculations for an accurate determination of the helium density in nanometric bubbles

Frédéric PAILLOUX¹, Fatema MOHAMED², Matteo GATTI², Lucia REINING², Laurent PIZZAGALLI¹ and Marie-Laure DAVID¹

¹ Institut Pprime, CNRS-Université de Poitiers, France

² LSI, CNRS-Polytechnique, France

Session : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Probing helium in materials at the nanoscale is of paramount importance for a wide field of scientific domains ranging from the space weathering of materials by the solar wind [1] to the defect-engineering in the semiconductors industry [2]. Since the seminal works of Walsh et al. [3], the helium density in nanobubbles is usually measured from the integrated intensity of the He 1s→2p transition observed in EELS spectra. However, this approach suffers from several weaknesses. The He-peak has to be extracted from a complex signal including several contributions: bulk-plasmon of the host matrix, low-energy elemental-edges, surface-plasmons due the cavity surface. The Begrenzung effect [4] and the inaccurate knowledge of the size of the nanobubble projected along the electron beam also complexify the situation. These quantities are all sources of errors in the He-density measurement. Last but not least, the inelastic scattering cross-section has to be calculated with a high accuracy level, whatever the state of helium (gaz, liquid or even solid) in the cavities; the modeling of the cross-section for high-density liquid-helium has been recently subjected to discussions [5]. To overcome these issues, we explore another route based on the robust measurement of the energy-position of the He-peak, coupled to state-of-the-art ab initio calculations obtained in the framework of the Bethe-Salpeter equation. Helium was implanted at high fluence in several host matrices (Si, Ge, SiC, GaN) in which it aggregates in the form of almost spherical nanobubbles (fig. 1). Spatially-resolved EELS data have been obtained from individual nanobubbles with diameters ranging from few nanometers to several tens of nanometers. The helium peak position ranges from 21.5 eV to more than 25 eV, depending on the bubble diameter, the e- irradiation time. These results supplemented with BSE calculations are compared to NRIXS data obtained on helium solidified under diamond anvil [6].

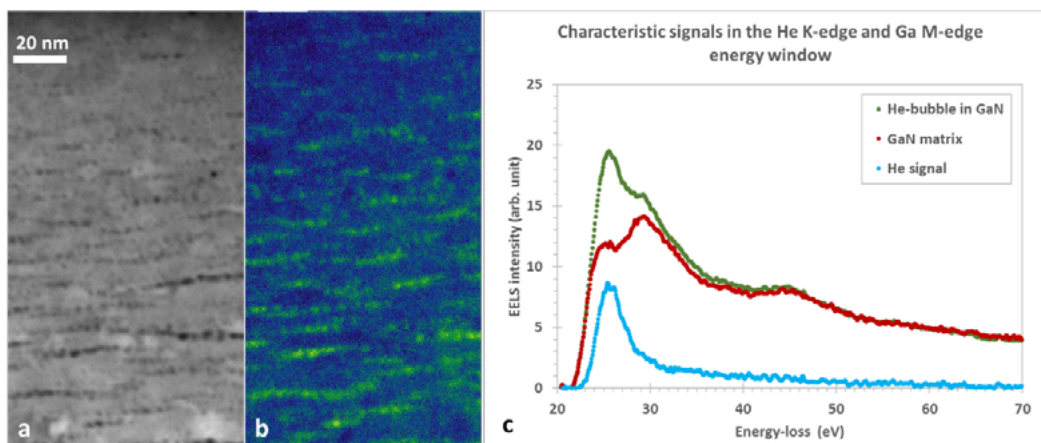


Fig 1: (a) HAADF-STEM micrograph of helium nanobubbles in GaN. (b) EF-STEM chemical map of helium nanobubbles (green) embedded in a GaN-matrix (blue). (c) Typical signals obtained for a single bubble (green) and the GaN-matrix (red); the contribution of helium (light-blue) is obtained by the difference of the two previous signals and shows a peak maximum at 25.8 eV.

[1] B.A. Cymes et al., Communication earth & environment 5 (2024), 189

[2] D. Alquier et al., Appl. Phys. Lett. 86 (2005), 211911

[3] C.A. Walsh et al., Philos. Mag. 80 (2000), 1507

[4] D. Taverna et al., Phys. Rev. Lett. 100 (2008), 035301

[5] N.C. Pyper et al., Proc. R. Soc. A 479 (2023), 20230081

[6] H.K. Mao et al., Phys. Rev. Lett. 105 (2010) 186404

TEM/STEM investigations of Bi-Sb and Bi-Sb-Te topological insulators

Léo RUBIOLA¹, Leonardo CANCELLARA², Cécile MARCELOT¹, Robin COURTS¹, Salima FEKRAOUI², Sébastien PLISSARD², Pier Francesco FAZZINI¹, Bénédicte WAROT-FONROSE¹

¹ CEMES-CNRS – Toulouse, France

² LAAS-CNRS – Toulouse, France

Session : SdM - Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Topological insulators form a new class of materials which has attracted a lot of attention lately. These materials differ from conventional insulators in virtue of their topologically nontrivial band structure, resulting in spin-polarized surface states. The first experimental observation of a 3D topological insulator was made in 2008 on bismuth antimony alloys ($\text{Bi}_{1-x}\text{Sb}_x$) [1]. However, BiSb alloys have very small band gaps, requiring them to work at low temperatures, therefore limiting potential uses in real-world devices. $(\text{Bi}_{1-x}\text{Sb}_x)\text{Te}_3$ alloys, on the other hand, presents the same interesting properties with wider band gaps, opening opportunities for applications at room temperature.

In a recent work [2], the MPN group at LAAS has developed state-of-the-art molecular beam epitaxy (MBE) methods to integrate epitaxial layers of BiSb and BiSbTe alloys on both GaAs and Si substrates.

Samples of both BiSb and BiSbTe alloys were characterized at CEMES to check the quality of the grown layers, as well as their structure and chemical composition. On the chemical side, Bi, Sb and Te are quite exotic elements for STEM-EDX, and accurate quantification of these layers is a challenging task.

From the imaging point of view, interesting contrasts were observed in HRTEM. Multislice TEM image simulations have been used to explain a HRTEM contrast asymmetry in BiSb. In BiSbTe, long-range order has been observed in BF-DF TEM as well as in SAED patterns (figure 1). The periodic lattice distortion ($\lambda \sim 10$ nm) could be evidence for Charge Density Waves (CDW) [3]. To see whether the order is due to CDW, in-situ heating/cooling observations will be carried out. As CDW are thermally activated, their behavior should change on changing T . In addition, correlation with STEM-EDX could allow us to see the dependence of the CDW characteristics to the chemical composition.

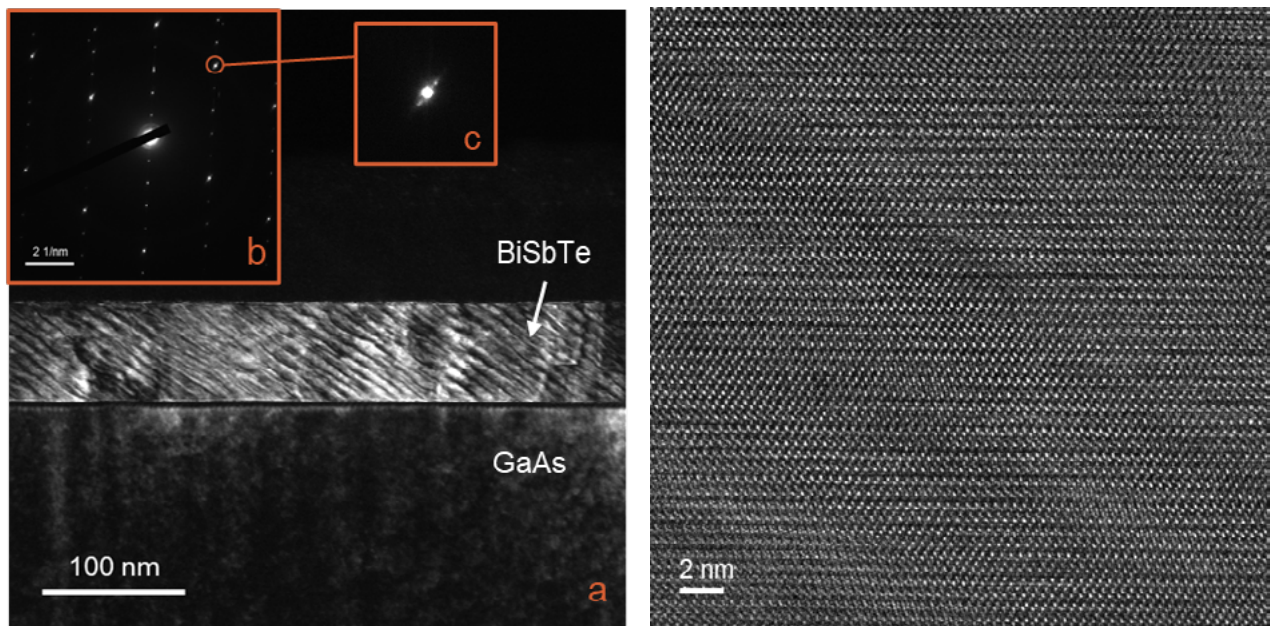


Figure 1. Left: (a) Dark Field TEM image showing the long-order range; (b) SAED pattern of the layer of BiSbTe; (c) Zoom on one of the diffraction spots, showing satellite peaks characteristic of the superstructure. Right : HRTEM image of the same sample.

References:

- [1] Hsieh, D., Qian, D., Wray, L. et al. A topological Dirac insulator in a quantum spin Hall phase. *Nature* 452, 970–974 (2008).
- [2] Dima Sadek, et al. Structural and Electrical Characterizations of BiSb Topological Insulator Layers Epitaxially Integrated on GaAs, *Crystal Growth & Design* 2022 22 (8), 5081-5091.
- [3] Corbett, James M., Transmission Electron Microscopy of CDW-Modulated Transition Metal Chalcogenides, in *Advances in the Crystallographic and Microstructural Analysis of Charge Density Wave Modulated Crystals*, 121-151, 1999.

Adresse mail : leo.rubiola@cemes.fr

TEM MEASUREMENT OF HELIUM BUBBLE SIZE AND CONTENT IN IMPLANTED TUNGSTEN SAMPLES IN THE CONTEXT OF NUCLEAR FUSION

Ayoub BENMOUMEN¹, Federica PAPPALARDO¹, Martiane CABIE², Thomas NEISIUS², Marco MINISSALE¹, Gilles CARTRY¹, Céline MARTIN¹

¹ Aix Marseille Université, CNRS, PIIM, UMR 7345, Marseille, France

² Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Med, FSCM, Marseille, France

Session SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

In magnetic confinement nuclear fusion reactors, the main plasma-facing component is exposed to extreme fluxes of helium (He) and hydrogen as well as high thermal loads. Tungsten (W) was chosen as the surface material for this component mainly because of its good thermo-mechanical properties and high melting point. However, due to the low solubility of He in W, He nanobubbles form near the surface of the W material. These bubbles can lead to bursting, severely damaging the microstructure, and consequently, affect the properties and lifetime of this material. The aim of this work is to contribute to the understanding of the He-W interaction by studying the formation and growth of He bubbles on polycrystalline implanted W samples. To this end, quantitative electron microscopy analyses were carried out to measure the size of nanoholes observed on the surface, and at depth the size and spatial distribution of bubbles and the quantity of trapped He. These results were compared to simulations using a simplified model for He clustering in W [1,2].

W polycrystalline samples were irradiated with He plasma at constant fluence of $4.5 \cdot 10^{23} \text{ m}^{-2}$, flux around $1 \cdot 10^{19} \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ and incident ions energies of 79 eV for temperatures of 400°C, 550°C and 700°C. To measure the bubble size distribution, defocused bright field TEM images were acquired (see Fig. 1). Particular attention has been paid to the imaging parameters (defocus and magnification) to ensure that the measured size is preserved. The He content in bubbles was measured using the spatially resolved STEM-EELS technique and a methodology developed by Walsh [3]. Measurements for single bubbles are essential as the size distribution of the bubbles is fairly dispersed, and the He density strongly depends on bubble size [2,4].

These results will be discussed considering He transport as a function of implantation flux and temperature.

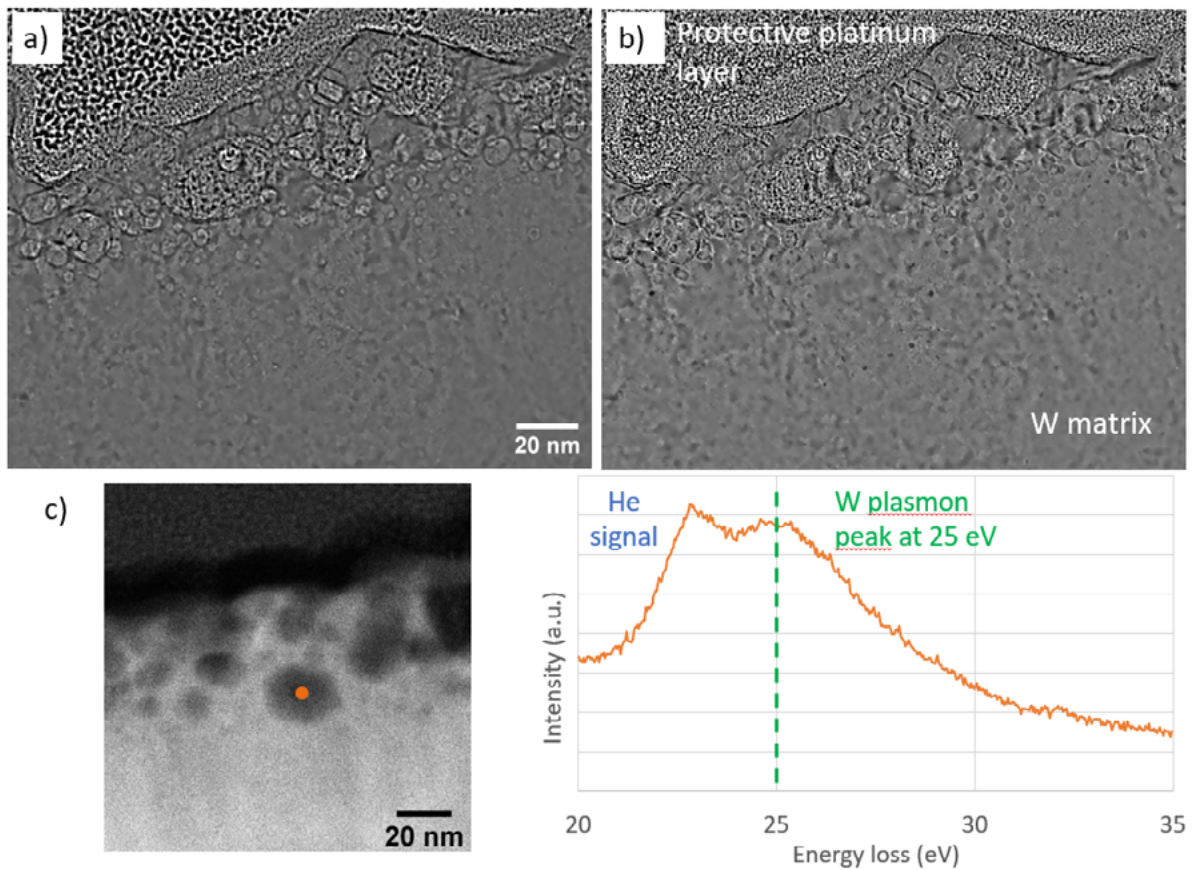


Figure 1 : Bright field TEM images of the W surface in a) underfocused and b) overfocused conditions. c) Deconvolved EELS spectrum (right) acquired at the center of a 25 nm He bubble observed in the HAADF STEM image on the left.

Références :

- [1] Faney, *et al.* Nuclear Fusion **55** (2015): 013014
- [2] Delaporte, *et al.* Scientific Reports **11** (2021): 14681
- [3] Walsh, *et al.* Philosophical Magazine A **80** (2000): 1507-1543
- [4] Ialovega, *et al.* Nuclear Fusion **62** (2022): 126022

Adresse mail : martiane.cabie@univ-amu.fr

CARTOGRAPHIE IN SITU DU CHAMP ÉLECTRIQUE D'UN ÉCHANTILLON DE SONDE ATOMIQUE TOMOGRAPHIQUE PAR 4D-STEM

Mohammed ILHAMI¹, Juan MACCHI¹, Celia CASTRO¹, Gerald Da COSTA¹, Francois VURPILLOT¹, Williams LEFEBVRE¹

¹ Univ Rouen Normandie, INSA Rouen Normandie, CNRS, Normandie Univ, GPM UMR 6634, F-76000 Rouen, France

Session : Session SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

L'intégration de la sonde atomique tomographique (SAT) dans un microscope électronique à transmission (MET) commercial a permis l'analyse corrélative in situ d'échantillons en forme d'aiguille, offrant simultanément une cartographie élémentaire en 3D et une imagerie microstructurale à haute résolution¹. Ce développement instrumental permet non seulement d'obtenir la composition élémentaire en 3D et des détails à haute résolution de la microstructure d'un matériau, mais aussi d'améliorer la façon dont l'analyse SAT est effectuée et d'améliorer les méthodes de reconstruction de volume en utilisant des images MET avant, pendant et après l'évaporation. La quantification précise de la distribution du champ électrostatique à l'échelle du nanomètre à proximité d'un échantillon polarisé est d'un grand intérêt pour améliorer les reconstructions 3D². Dans cette étude, nous présentons une méthode basée sur la théorie de la diffusion de Rutherford pour quantifier les cartographies de champ électrique obtenues par la microscopie électronique à transmission à balayage quadridimensionnelle (4D-STEM). Le champ électrique est obtenu à partir de l'angle de déviation du faisceau d'électrons transmis, en considérant le faisceau d'électrons comme un électron accéléré traversant un champ électrique généré par une charge positive (la pointe polarisée) à une distance du centre des charges. Figure 1 représente les résultats obtenus du champ électrique calculé par cette méthode (a - c), comparé avec les résultats obtenus par simulation (d - f) des éléments finis réalisé en utilisant le logiciels LORENTZ-2E™. La distribution du champ électrostatique, obtenue par la méthode proposée, peut être intégrée dans les algorithmes de reconstruction SAT pour rectifier les distorsions induites par le champ électrique, ce qui permet d'améliorer considérablement la fiabilité des méthodes actuelles et futures de reconstruction par sonde atomique.

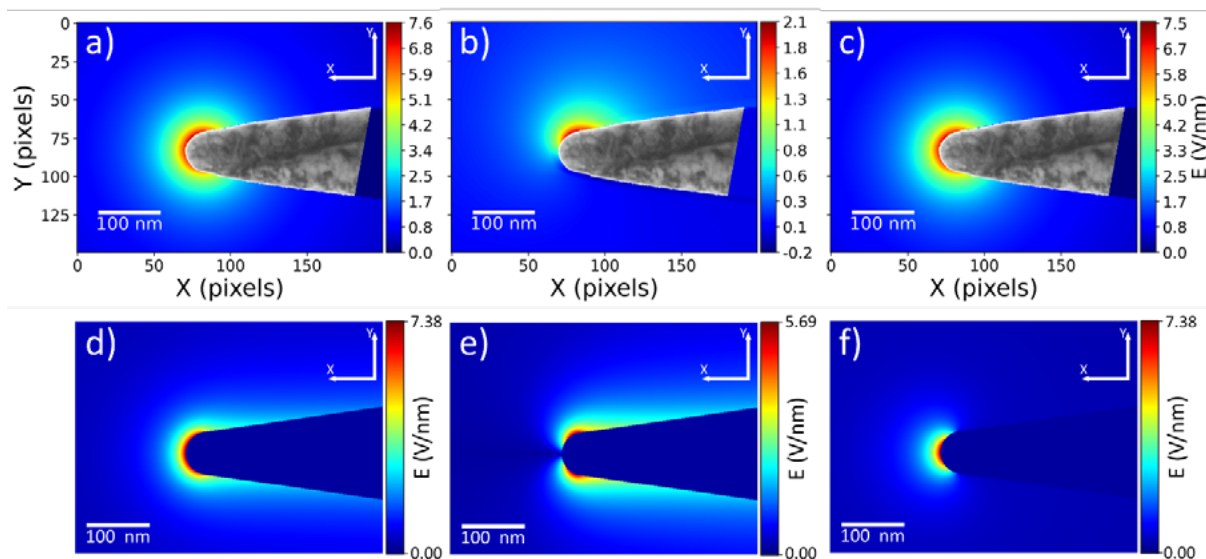


Figure 1 : Les cartographies de champ électrique calculées, représentant l'amplitude, les composantes y et x (a - c) avec une image BF superposée de la pointe. (d - f) Champ électrique autour d'une pointe virtuelle polarisée simulée à l'aide de LORENTZ-2E™.

Références : exemple de format ci-dessous

- [1] Da Costa, et al. *Nat Commun* **15** (2024): 9870
- [2] Beleggia, et al. *Journal of Applied Physics* **116** (2014): 024305

Adresse mail : mohammed.ilhami@univ-rouen.fr

Quantitative Analysis of Intrinsic Miscibility and Segregation in AgAu Nanoalloys Using EDS-STEM: Implications for studying chemical rearrangements under reactive conditions in catalysis

Murilo MOREIRA^{1,2}, Emmanuel COTTANCIN², Michel PELLARIN², Lucian ROIBAN³, Karine MASSENELLI-VARLOT³, Daniel UGARTE⁴, Varlei RODRIGUES⁴, Matthias HILLENKAMP²

¹ CEMES-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, UPR 8011, Toulouse, France

² Institute of Light and Matter, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5306, Villeurbanne

³ INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, MATEIS, CNRS UMR 5510, Villeurbanne, France

⁴ Institute of Physics Gleb Wataghin, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil

Session : Mesure quantitative des propriétés par faisceau d'électrons

Bimetallic nanoparticles (BNPs) have attracted increasing attention in fundamental and applied sciences in recent decades. Combining two or more metals on the nanoscale opens up a whole playground for the investigation and the fine-tuning of physicochemical properties and applications in nanoparticle-based devices. The addition of the second metal to the nanoparticles allows for the enhancement and control of their properties by choosing their composition, size, shape, and environment [1]. However, the internal chemical structure remains challenging to predict and experimentally access despite its critical impact on properties. Core-shell structures and random alloys, for example, exhibit distinct physicochemical behaviors. This challenge is exemplified by the extensively studied AgAu system, where the debate over gold and silver miscibility at the nanoscale persists [2,3].

In this presentation, I will present our recent works, resolving these contradictions by quantitatively determining the coexistence of an alloyed core and a 1–2 nm thick silver-enriched shell as the system's chemical ground state [4]. Our study demonstrates that previous inconsistencies primarily stem from metastable structures or environmental reactions. Employing Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) combined with Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM), we analyzed AgAu BNPs smaller than 10 nm. Advanced machine learning techniques, including Principal Component Analysis (PCA) and Nonnegative Matrix Factorization (NMF), were utilized to detect latent radial composition variations. The nanoparticles were encapsulated in an amorphous carbon layer and annealed at 300°C to ensure analysis in their chemical ground state. Examination of hundreds of BNPs consistently revealed silver surface enrichment, quantifying elemental distribution with precision.

This presentation quantitatively addresses nanoscale segregation in AgAu BNPs with chemical gradients determined within a 3 σ confidence interval, offering a method also applicable to complex multi-metallic systems. Additionally, it provides critical benchmark data for theoretical models and forms a basis for studying chemical rearrangements under reactive conditions for novel catalyst design.

Références :

- [1] Alloyeau, D., Mottet, C., and Ricolleau, C., editors. Nanoalloys: Synthesis, Structure and Properties. Springer-Verlag London, (2012).
- [2] Lasserus, M, et al. Nanoscale **10** (2018): 2017–2024
- [3] Gromoff, Q., et al., Nanoscale **16** 2023): 384
- [4] Moreira, M., et al., Small **21** (2025): 2411151

Adresse mail : murilo.martinezmoreira@cemes.fr

PROBING OPTICAL FIELD CHIRALITY WITH FAST ELECTRON

Simon GARRIGOU¹, Arnaud ARBOUET¹, Hugo LOURENÇO-MARTINS¹

¹ CEMES-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, 31000 Toulouse, France

Session : Session SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Over the last decades, a dense corpus of nano-optical experiments has reported several dichroic behaviors i.e., different responses of an optical system as a function of the handedness of the illumination. These dichroic effects – e.g. the chiral Purcell effect [1] – have motivated several theoretical works aiming at extending the concept of chirality to electromagnetic fields, thus leading to the recent discovery of optical chirality [2]. Arising from a fundamental duality symmetry of the electromagnetic field, optical chirality and its flow (called spin density) obey a conservation law, as stated by Noether's theorem [3]. Despite the extensive study of this problem over the last years, several conceptual tensions remain over its definition and properties, especially in presence of dissipative media [4]. Additionally, since all-optical techniques are constrained by the diffraction limit, there is still a lack of a versatile tool to probe chirality of optical fields down to the relevant scale i.e., the nanometric scale.

To address these problematics, we developed a theoretical framework based on earlier works on fast electron spectroscopies i.e., phase-shaped electron energy-loss spectroscopy (pEELS, [5]), polarization-resolved electron energy-gain spectroscopy (pEEGS, [6]) and polarization-resolved cathodoluminescence spectroscopy (pCL). In particular, we have demonstrated that a combination of pEELS, pEEGS and pCL enables the measurement of the optical spin density both in the near- and far-field regions. In addition, this new experimental framework motivated a new definition of optical chirality based on the full and radiative electromagnetic local density of states (EMLDOS, [7]).

In this conference, we will present this new theoretical framework. We will illustrate our finding with a comprehensive numerical investigation of the Born-Kuhn system [8] with a combination of pEELS, pEEGS and pCL, see figure 1, highlighting the similarities and specificities of each spectroscopies.

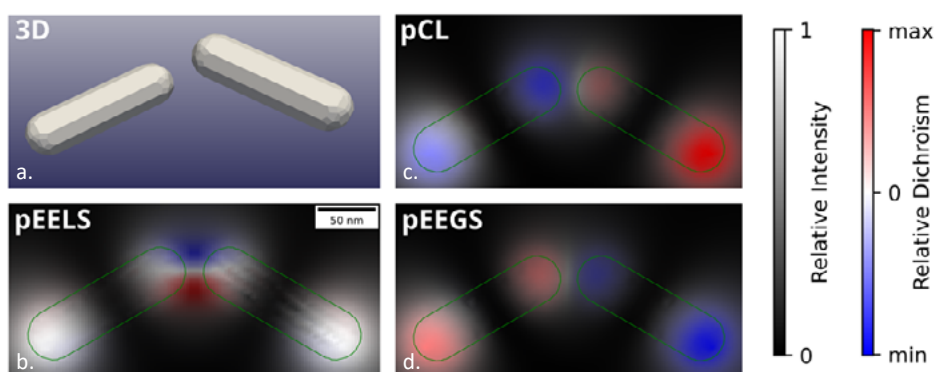


Figure 1 : (a) 3D representation of the BKS structure. Dichroic maps for the bonding mode (745nm) of a gold BKS structure for (b) pEELS, (c) pCL and (d) pEEGS

Références :

- [1] Y. Tang et A. E. Cohen, Science , vol. 332, n° 6027, pp. 333-36, 2011.
- [2] Y. Tang et A. E. Cohen, Physical Review Letters 104, n° 16, p. 163901, 2010.
- [3] K. Y. Bliokh, A. Y. Bekshaev et F. Nori, New Journal of Physics, vol. 15, p. 033026, 2013.
- [4] J. E. Vázquez-Lozano et A. Martínez, Physical Review Letters, vol. 121, n° 4, p. 043901, 2018.
- [5] H. Lourenço-Martins, D. Gérard et M. Kociak, Nature Physics , vol. 17, n° 5, p. 598 603, 2021.
- [6] T. R. Harvey, J.-W. Henke, O. Kfir, H. Lourenço-Martins, A. Feist, J. F. García de Abajo et C. Ropers,

Nano Letters , vol. 20, n° 6, p. 4377-83, 2020.

[7] A. Losquin et M. Kociak, ACS Photonics, 2015.

[8] X. Yin, M. Schäferling, B. Metzger et H. Giessen, Nano Letters, vol. 13, n°12, pp. 6238-43, 2013.

Adresse mail : simon.garrigou@cemes.fr

Synergie entre imagerie STEM et diffraction électronique 3D : exemple en cristallographie

Stéphanie KODJIKIAN¹, Antonin RAYNAL¹, Christophe LEPOITTEVIN¹, Fabio DENIS ROMERO¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP, Institut Néel, 38000 Grenoble, France

Session : Session Sciences de la matière : Mesures quantitatives de propriétés par faisceau d'électrons

En chimie du solide, il n'est pas rare que la recherche de nouvelles propriétés physiques conduise à la découverte d'un composé inconnu, surtout lorsque les synthèses se déroulent dans des conditions extrêmes de température et de pression. La microscopie électronique en transmission (TEM) est alors un outil de caractérisation très adapté, puisqu'elle permet d'associer l'information de composition chimique aux informations structurales sur une même particule, que ce soit grâce aux nouvelles méthodes de diffraction électronique 3D (3DED) ou par l'interprétation d'images STEM en contraste chimique.

C'est ainsi qu'un nouvel oxyde de Pb Fe Ge a été récemment découvert dans notre unité. Les données obtenues par diffraction des rayons X (DRX) sur monocristal ont conduit à un premier modèle structural satisfaisant, mais dont l'affinement n'a pas permis de déterminer avec certitude la répartition des atomes de Fe et de Ge sur les différents sites cristallographiques.

Une étude structurale approfondie a alors été entreprise sur le microscope STEM JEOL NEOARM* du laboratoire.

Bien que le résultat de l'analyse de composition (EDX) soit en bon accord avec le modèle structural obtenu par DRX, l'imagerie Z-contrast à la résolution atomique a révélé la présence de fautes d'empilement, désordre également mis en évidence par la présence de lignes de diffusion sur les clichés de diffraction électronique (fig.1 a et b).

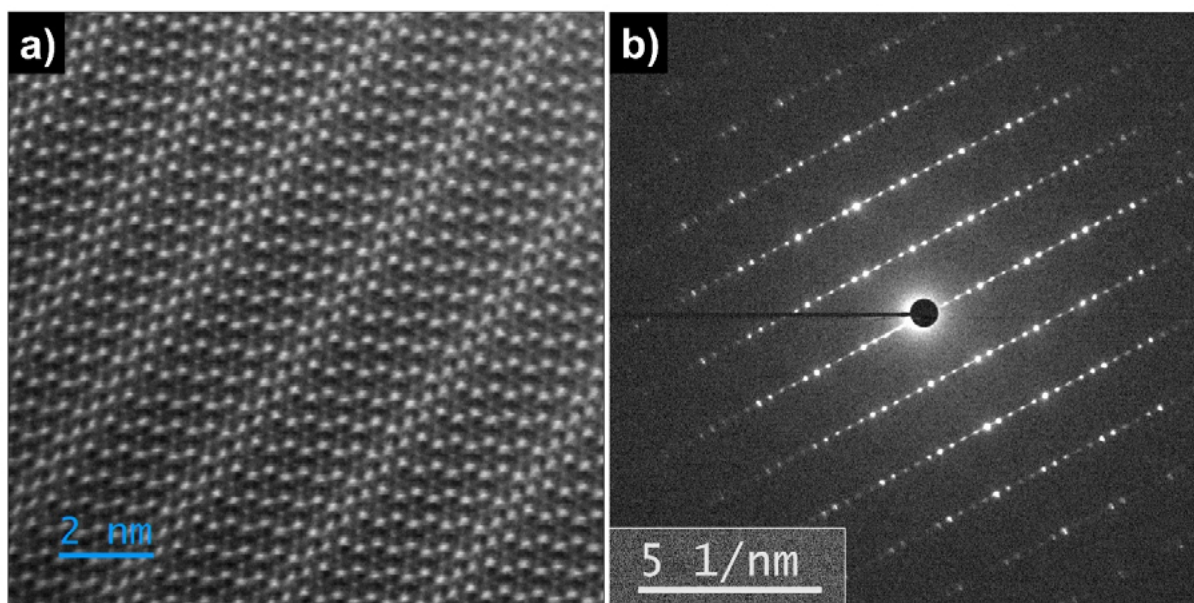


Figure 1 : fautes d'empilement mises en évidence par imagerie STEM-HAADF et cliché de diffraction électronique associé.

Nous présenterons les stratégies que nous avons testées pour pouvoir appliquer les méthodes de résolution structurale 3DED en présence de tels défauts, et les résultats obtenus.

*Le STEM JEOL NEOARM de Institut Néel-CNRS a été cofinancé par l'Union européenne dans le cadre du Fonds européen de développement régional (FEDER, contrat n° RA0023813).

Adresse mail : stephanie.kodjikian@neel.cnrs.fr

MIGRATION REVERSIBLE DE FLUOR ENTRE DEUX INTERFACES A TRAVERS UNE BARRIERE ORGANIQUE DANS UNE JONCTION TUNNEL MULTIFERROIQUE

Xavier DEVAUX¹, Abir NACHAWATY¹, Tongxin CHEN¹, Sylvie MIGOT¹, Antonio DA COSTA², Anthony FERRI², Rachel DESFEUX², Jean-Christophe LE BRETON³, Philippe SCHIEFFER³, Yuan LU¹

¹ Université de Lorraine, CNRS, Institut Jean Lamour, 54000 Nancy, France

² Université d'Artois, CNRS, Centrale Lille, Université de Lille UMR 8181, Unité de Catalyse et Chimie du Solide, 62300 Lens, France

³ Université de Rennes, CNRS, Institut de Physique de Rennes UMR 6251, 35000 Rennes, France

Session : Interfaces

L'intégration de l'effet de magnétorésistance à effet tunnel (TMR) dans les memristors est une voie pour la réalisation mémoires multi-états. À ce jour, la plupart des memristors combinés à la TMR ont été réalisés via des jonctions tunnel multiferroïques (MFTJ) [1], où une barrière ferroélectrique est prise en sandwich entre deux électrodes ferromagnétiques. La TMR obtenue dans différentes MFTJ est restée faible jusqu'alors (limitée à 100 %). En intercalant une couche mince (1-2 nm) de polyfluorure de vinylidène (PVDF) entre du $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_3$ (LSMO) et du Co, nous avons obtenu une TMR atteignant 266% [2]. Les cartographies STEM-EELS réalisées sur des lames minces prélevées dans des jonctions après plusieurs cycles de polarisation électrique ont permis d'observer la migration de fluor issu du PVDF d'un côté à l'autre de la barrière organique. Le fluor migre et se piège de façon réversible dans le cobalt lorsque le champ est orienté vers lui et inversement dans le LSMO lors que le champ est inversé. Nous montrons que l'origine du fluor mobile est dû à une réaction de décomposition du PVDF à l'interface PVDF-LSMO qui est occasionné lors de l'élaboration de la jonction par un recuit à basse température (120°C). Cela induit un piégeage initial du fluor dans les premiers plans atomiques du LSMO qui peut ensuite migrer sous l'effet d'un champ électrique. Après un grand nombre de cycles d'inversion de polarisation, les propriétés se dégradent en raison du piégeage du fluor de chaque côté de la jonction. Contrairement aux memristors à base de ferroélectricité (couche épaisse de PVDF) [3], nous prouvons que c'est la migration de F piloté par la tension qui permet de générer un énorme changement de résistivité qui est réversible sur une échelle de temps très courte.

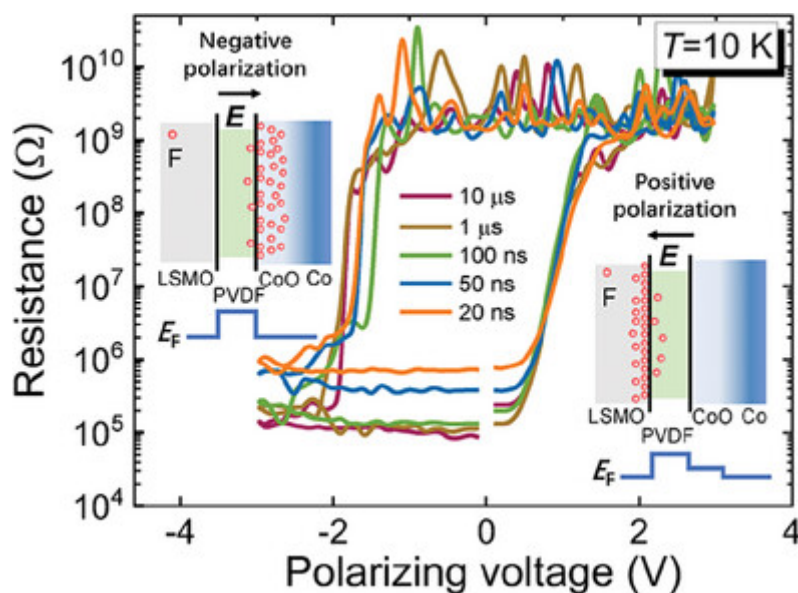


Figure 1 : Illustration de la migration du fluor sous l'effet d'un champ électrique dans une jonction LSMO/PVDF/Co observée par STEM EELS qui est à l'origine d'un changement important de la résistivité en fonction de la polarisation, avec une réversibilité accessible sur des échelle de temps de l'ordre de quelques ns.

Références :

- [1] W. C. Huang *et al.* Journal of Materiomics **1.4** (2015): 263-284
- [2] A. Nachawaty *et al.* Advanced Materials **36.33** (2024): 2401611
- [3] S. Liang *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces **10** (2018): 30314-30622

Adresse mail : xavier.devauux@univ-lorraine.fr

ANALYSIS OF MORPHOLOGY AND COMPOSITION OF CoNiPt NANOPARTICLES OBTAINED VIA PULSED LASER DEPOSITION USING TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY

Carolina RUIZ^{1,2}, Damien ALLOYEAU¹, Guillaume WANG¹, Vincent HUC², Christian RICCOLEAU¹

¹ Université Paris Cité, CNRS, Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques, Université Paris Cité, 10 Rue Alice Domon et Léonie Duquet Paris, 75013 Paris, - France

² Université Paris-Saclay, CNRS, Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay, Université Paris-Saclay, 17 Avenue des Sciences, 91400 Orsay -, France

Session: Material Sciences Sessions: Quantitative measurements of properties by electron beam

Ternary alloys containing platinum have been extensively studied due to their exceptional properties in electrocatalysis, magnetic applications, and mechanical characteristics, such as corrosion resistance, which make them ideal for industrial uses, including integration into microelectromechanical systems (MEMS)[1]. Transmission Electron Microscopy (TEM) has established itself as the gold standard for nanoobject characterization, with recent advancements in *in situ* TEM nanoindentation holders enabling detailed studies of deformation mechanisms. These investigations require precise control over sample synthesis to unveil intrinsic mechanical properties accurately.

In this study, CoNiPt nanoparticles were obtained via Pulsed Laser Deposition (PLD) in a high vacuum chamber, and control of its size and shape was made using the Flash Laser Annealing technique, which has been successfully tested on single metal (Ag) and binary systems (CoPt) [2][3]. Morphological transformations before and after laser ablation were analyzed using Transmission Electron Microscopy (TEM), establishing correlations between nanoparticle size and deposition temperature, nominal thickness of the initial percolated film, ablation energy, and the number of laser shots applied. Additionally, Energy Dispersive X-ray (EDX) spectroscopy confirmed the alloy composition and the uniform distribution of all three elements across the nanoparticles, as influenced by an increasing number of shots. Notably, the reshaping of CoNiPt nanoparticles was systematically observed for ablation series of 5, 10, 15, and 20 shots. It was concluded that a nominal initial thickness above 6 nm and a growth temperature of 500 °C facilitate the formation of homogeneous alloys with near-equiatomic composition and an average size of 120 nm [Fig. 1].

With the obtention of individual CoNiPt nanoparticles, it will be possible to perform mechanical tests at an individual nanoparticle level that will allow a better understanding of the mechanical phenomena of this promising ternary compound thanks to a combined technique of transmission electron microscopy that involves *in-situ* nanoindentation. Furthermore, this study sets a solid foundation for exploring the mechanical properties of more complex systems, such as High Entropy Alloys.

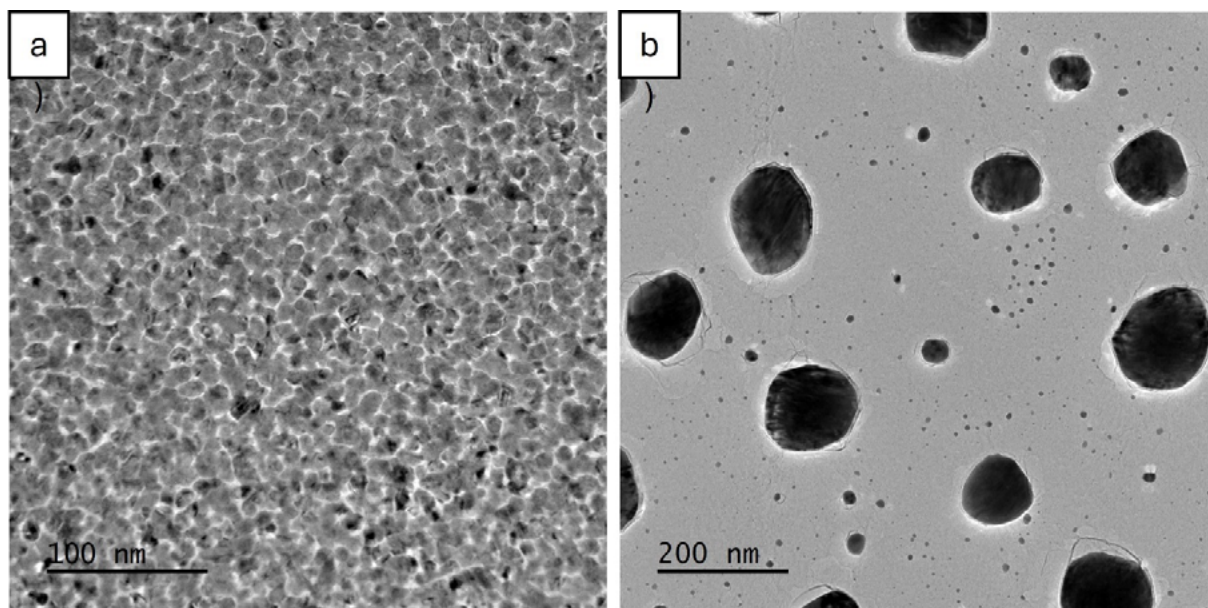


Figure 1: Morphological changes induced by laser irradiation on a CoNiPt percolated film: a) starting configuration prior to irradiation, b) After 20 laser shots at fluence $f = 28 \text{ mJ/cm}^2$.

References:

- [1] S. Grau, M. Montiel, E. Gómez, and E. Vallés, "Ternary PtCoNi functional films prepared by electrodeposition: Magnetic and electrocatalytic properties," *Electrochim. Acta*, vol. 109, pp. 187–194, 2013, doi: 10.1016/j.electacta.2013.07.097.
- [2] E. Haro-Poniatowski, E. Fort, J. P. Lacharme, and C. Ricolleau, "Patterning of nanostructured thin films by structured light illumination," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 87, no. 14, pp. 1–3, 2005, doi: 10.1063/1.2061857.
- [3] D. Alloyeau, C. Ricolleau, C. Langlois, Y. Le Bouar, and A. Loiseau, "Flash laser annealing for controlling size and shape of magnetic alloy nanoparticles," *Beilstein J. Nanotechnol.*, vol. 1, no. 1, pp. 55–59, 2010, doi: 10.3762/bjnano.1.7.

Adresse mail : carolina.ruiz@universite-paris-saclay.fr

Mesure quantitative du potentiel électrique local de nanocondensateurs par holographie électronique *operando* et simulations.

Bérangère DISIC¹, Leifeng ZHANG¹, Hidayat ELOURAJINI², Sylvia MATZEN², Martin HÏTCH¹, Christophe GATEL¹

¹ CEMES, Université de Toulouse, CNRS, 29 rue Jeanne Marvig, Toulouse Cedex 31055, France

² Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies (C2N), Université Paris-Saclay, CNRS, 91120 Palaiseau, France

Session : Session SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Les nanocondensateurs sont omniprésents dans les dispositifs de stockage d'énergies et en microélectronique. Les matériaux diélectriques qui les composent se polarisent lorsqu'ils sont soumis à un champ électrique et concentrent de nombreuses recherches fondamentales et appliquées. Les matériaux à forte constante diélectrique (« high-K ») sont particulièrement intéressants pour remplacer le dioxyde de silicium dans les nanodispositifs de la microélectronique. La mesure locale du champ électrique et l'identification des modes de piégeage des charges sont devenues essentielles pour approfondir la compréhension de ces matériaux et maîtriser les dispositifs associés.

Alors que les propriétés électriques macroscopiques peuvent être mesurées à l'aide de méthodes de caractérisations adaptées, la tâche est bien plus délicate à l'échelle nanométrique. Ce travail vise à étudier les propriétés électriques locales de ces nanocondensateurs. Des structures de type TiN/Diélectrique/TiN ont été élaborées par dépôt atomique en phase gazeuse (ALD) avec 20 nm d'épaisseur par couche. Nous avons étudié cette structure avec Al_2O_3 comme diélectrique par holographie électronique *operando* et obtenu une cartographie du potentiel électrique à l'intérieur du composant en fonction d'une tension appliquée (Figure 1). Ces résultats ont été complétés par des simulations numériques par la méthode des éléments finis (FEM) afin de prendre en compte les champs de fuite, les artefacts de préparation et autres effets de charge du faisceau (Figure 2).

Les mesures holographiques montrent une forte densité de charges piégées aux interfaces entre la couche métallique de TiN et la couche diélectrique de Al_2O_3 comme cela avait observé précédemment sur d'autres structure étudiées avec la même méthodologie par notre groupe [1-2].

Pour la suite, l'objectif sera d'utiliser de nouvelles structures (autres empilements d'isolants, ferroélectriques...) pour étudier les effets de charges, statiques et dynamiques, ainsi que les propriétés électriques des composants et de les comparer avec des caractérisations électriques macroscopiques.

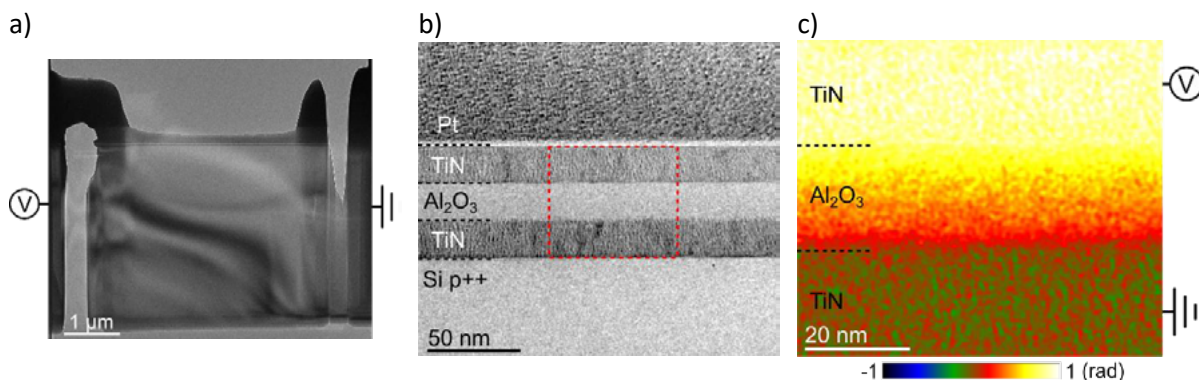


Figure 1 : a) Image MET montrant la préparation FIB de l'échantillon connecté. b) Image d'amplitude de la région active montrant le substrat de silicium fortement dopé, l'électrode du bas de TiN (20 nm), la couche isolante d'alumine (20 nm), l'électrode du haut de TiN (20 nm) et la couche de protection de platine. c) Cartographie de la phase du potentiel électrique projeté pour une différence de potentiel appliquée entre les électrodes de 4V (région en pointillés en b).

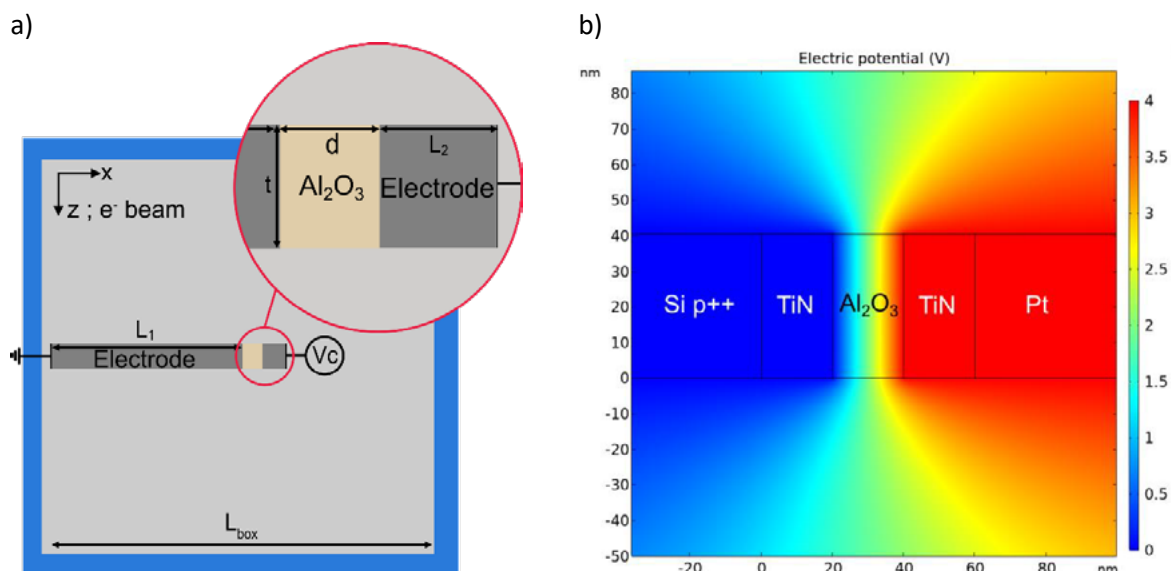


Figure 2 : a) Schéma 2D du modèle FEM. La zone bleue correspond à un domaine infini utilisé pour optimiser les effets du bord de la zone simulant le vide. b) Potentiel électrique retrouvé pour une différence de potentiel de 4V entre les électrodes.

Références :

- [1] C. Gatel, R. Serra, K. Gruel, A. Masseboeuf, L. Chapuis, R. Cours, L. Zhang, B. Warot-Fonrose, M.J. Hÿtch, Extended Charge Layers in Metal-Oxide-Semiconductor Nanocapacitors Revealed by *Operando* Electron Holography, Phys. Rev. Lett. 129 (2022) 137701. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.129.137701>.
- [2] L. Zhang, M.H. Raza, R. Wu, K. Gruel, C. Dubourdieu, M. Hÿtch, C. Gatel, Quantification of Interfacial Charges in Multilayered Nanocapacitors by *Operando* Electron Holography, Adv. Mater. 37 (2025) 2413691. <https://doi.org/10.1002/adma.202413691>.

Adresse mail : berangere.disic@cemes.fr

CORROSION SOUS CONTRAINTE DES TUBES DE GENERATEUR DE VAPEUR EN ALLIAGE 690 : EFFETS DU S SUR LES MECANISMES D'ENDOMMAGEMENT

Estelle LAGARDERE^{1,2}, Adil SHAIK³, Suraj PERSAUD³, Nicolas HUIN⁴, Ian de CURIERES², Lydia LAFFONT¹

¹CIRIMAT, Université de Toulouse, CNRS INP-ENSIACET, Toulouse, France

²ASNR (Autorité de Sûreté Nucléaire et de Radioprotection), Fontenay-aux-Roses, France

³Department of Mechanical and Materials Engineering, Queen's University, Kingston, ON, Canada

⁴CNL (Canadian Nuclear Laboratories), Chalk River, Canada

Dans les centrales nucléaires, les tubes de générateur de vapeur (GV) permettent le transfert de chaleur entre le circuit primaire et le circuit secondaire. La dégradation de ces tubes constitue un risque de perte de confinement et de relâchement de produits radioactifs dans l'atmosphère. Afin de maîtriser ce risque, il est nécessaire d'identifier l'effet des produits de corrosion et des polluants sur la dégradation des tubes de GV. Les recherches menées lors de cette thèse ont pour objectif d'analyser l'effet du soufre, polluant parfois présent dans le milieu secondaire, sur la sensibilité à la corrosion et corrosion sous contrainte (CSC) en paroi externe des tubes de GV.

Afin d'étudier ces phénomènes, des éprouvettes U-Bend ont été testées dans des conditions d'essais similaires aux conditions de fonctionnement des GV, c'est-à-dire en milieu aqueux et en milieu vapeur humide. Ces éprouvettes sont constituées d'Inconel 690 TT, l'alliage base nickel que l'on retrouve majoritairement dans les tubes de GV actuellement en France. L'endommagement des tubes de GV est étudié à l'aide de différentes techniques de caractérisation, allant de la microscopie optique à la microscopie électronique à balayage (MEB), en passant par la microscopie électronique en transmission (MET) associée à la spectroscopie de dispersion en énergie des rayons X (EDS).

Les faibles concentrations en soufre présentes dans le milieu secondaire (inférieures à 10 000 ppm en centrale et inférieures à 8 000 ppm dans le cas des essais) nécessitent l'utilisation de techniques de mesures très précises et un post traitement rigoureux lors de l'analyse des résultats. Des caractérisations par microscopie électronique ont permis de constater que la présence de soufre dans le milieu semble favoriser la croissance de pénétrations d'oxyde à la surface de l'alliage et favorise la fissuration intergranulaire sur des échantillons contraints.

Adresse mail : lydia.laffont@toulouse-inp.fr

Automated Electron Holography for Quantitative Analysis of Magnetic Nanoparticles

Malika KHELFAH¹, Sascha EHLERT², Thibaud DENNEULIN¹, Michael SCHNEDLER¹, Benjamin ZINGSEM¹, Juri BARTHEL¹, Marco BELEGGA³, Alexander CLAUSEN¹, Rafal E. DUNIN-BORKOWSKI¹

¹ Ernst Ruska-Center for Microscopy and Spectroscopy with Electrons, Forschungszentrum Jülich, 52425, Jülich, Germany

² Jülich Centre for Neutron Science (JCNS-1), Forschungszentrum Jülich, 52425 Jülich, Germany

³ Department of Physics, University of Modena and Reggio Emilia, 41125 Modena, Italy

Session SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Magnetic nanoparticles are of interest for applications in biomedical fields [1]. However, the relationship between their local magnetic interactions and their macroscopic properties is not yet fully understood. A thorough understanding of such interactions is essential for the design of novel magnetic materials. In this work, we study the self-assembly and collective magnetic behavior of magnetic nanoparticles using off-axis electron holography, a technique that provides quantitative magnetic information with a spatial resolution of a few nanometers [2]. The application of electron holography to such weakly magnetic samples poses experimental challenges, including the need for magnetic-field-free alignment, an optimized field of view and cumulative data acquisition. In order to address these requirements, we have developed a Python-based automated framework that optimizes the electron microscope for such holography experiments. The method takes into account the presence of the biprism in the field of view and reconstructs the complex wave in real time. The automated workflow currently allows for: (i) identification of regions of interest; (ii) correction of focus and astigmatism; (iii) streamlined data acquisition; (iv) application of external magnetic field and temperature. These developments enable the acquisition of statistically significant datasets and improved accuracy in the measurement of magnetization curves of nanoparticles.

In the present study, we investigate the influence of dipolar interactions on the magnetic states of magnetite nanocubes that have sizes of ~80 nm (Fig. 1). Magnetization curves measured from assembled and isolated particles (Fig. 2) reveal that dipolar interactions have a significant impact on macroscopic properties [3], especially in the presence of field-induced chaining, when particle alignment serves to modify the collective magnetic behavior. Moreover, the direct assessment of magnetocrystalline anisotropy is now possible. Our work contributes to the broader understanding of nanoscale magnetism and interacting materials, providing a quantitative framework for the development of future functional magnetic materials.

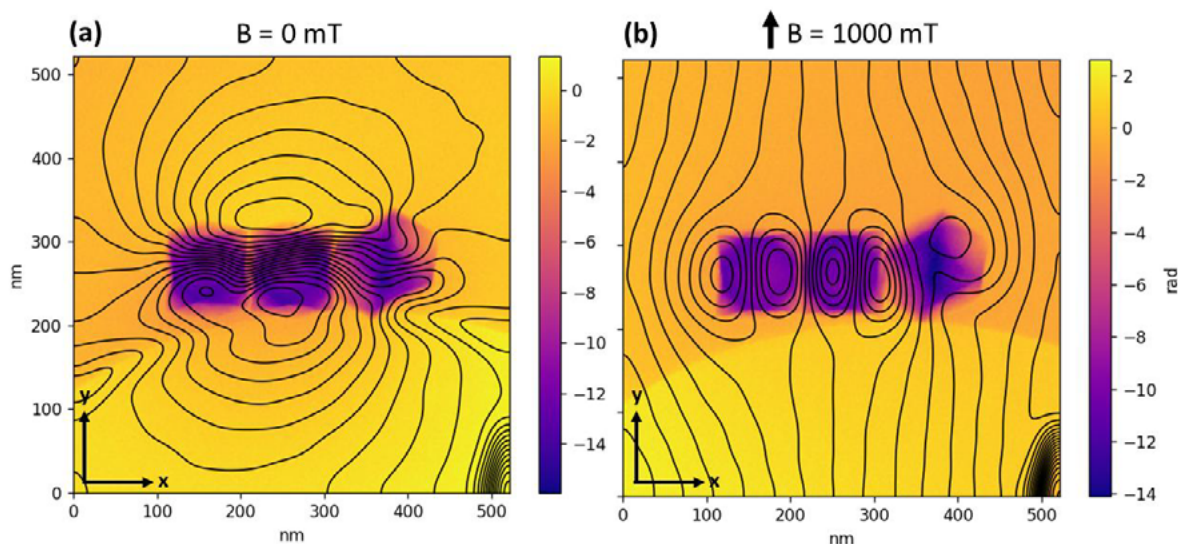


Figure 1 : Phase images with magnetic induction contour lines of nanocubes magnetized in-situ with (a) initial magnetic state in field-free condition (head-to-tails coupling) and (b) saturated before acquisition magnetic state along the y-axis (parallel coupling).

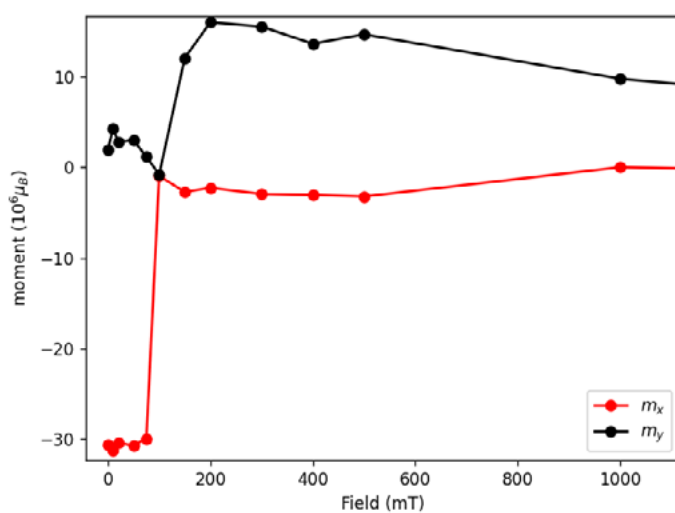


Figure 2 : In-situ magnetization curve measured on region from Fig. 1. Analysis of the saturation field provides an estimation for the magnetic anisotropy $K \approx 4 \text{ kJ/m}^3$.

Références : exemple de format ci-dessous

- [1] Reddy, L., *et al.* Chem Rev **112** (11) (2012); 5818–5878.
- [2] Beleggia, M., *et al.* Ultramicroscopy **110** (5) (2010); 425–432.
- [3] Khelfallah, M., *et al.* J. Phys. Chem. C **128** (31) 2024; 13162-13176

Adresse mail : m.khelfallah@fz-juelich.de

In Situ Heat Treatment of PdPt Nanoparticles: A Method to Reduce Ramification

Rama BAALBAKI¹, Lucian ROIBAN¹, Mimoun AOUINE², Matthias HILLENKAMP³, Karine MASENELLI-VARLOT¹

¹ INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, MATEIS, UMR5510, Villeurbanne, France

² CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, IRCELYON, UMR5256, Villeurbanne, France

³ Institute of Light and Matter, Universités Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5306, Villeurbanne F-69622, France

Session : SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Numerous catalytic reactions use metal nanoparticles (NPs) as catalysts [**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**], notably in heterogeneous, photo- and electrocatalysis. A very promising approach for the design of improved catalysts consists of combining several metals together. This fine-tunes their collective catalytic activity, especially their selectivity, but it also reduced the need for rare, expensive or polluting elements in favor of more sustainable metals [2].

This study concerns the characterization PdPt bimetallic nanoparticles (BNPs) of various shapes embedded in carbon and fabricated in a laser vaporization source. After deposition, not only are the particles highly ramified due to the fabrication process but also polycrystalline. In an effort to anneal the particles, the sample was heated progressively *in situ*, under vacuum, in Transmission Electron Microscopy using a DENS Solutions Wildfire sample holder.

As the temperature increases, the PdPt particles transition from a highly ramified shape to a more uniformly crystalline and spherical one, see Figure 1. The structure becomes increasingly spherical and atomically ordered when increasing the time at high temperature. By the end of the experiment, at 980°C, all particles imaged have improved sphericity, uniform crystallinity and the diameters range between 5 and 7 nm. The particles are embedded in an amorphous carbon layer which at the same time protects them against oxidation and prevents coalescence upon annealing. We therefore show that heat treatment under vacuum is efficient to anneal the PdPt BNPs. The optimum temperature and duration of the heat treatment will be proposed and the effect of electron irradiation will be discussed. Additionally, EDX measurements may be presented to quantitatively show the compositional change the particles might undergo after annealing, along with their beam sensitivity and knock-on damage susceptibility [3].

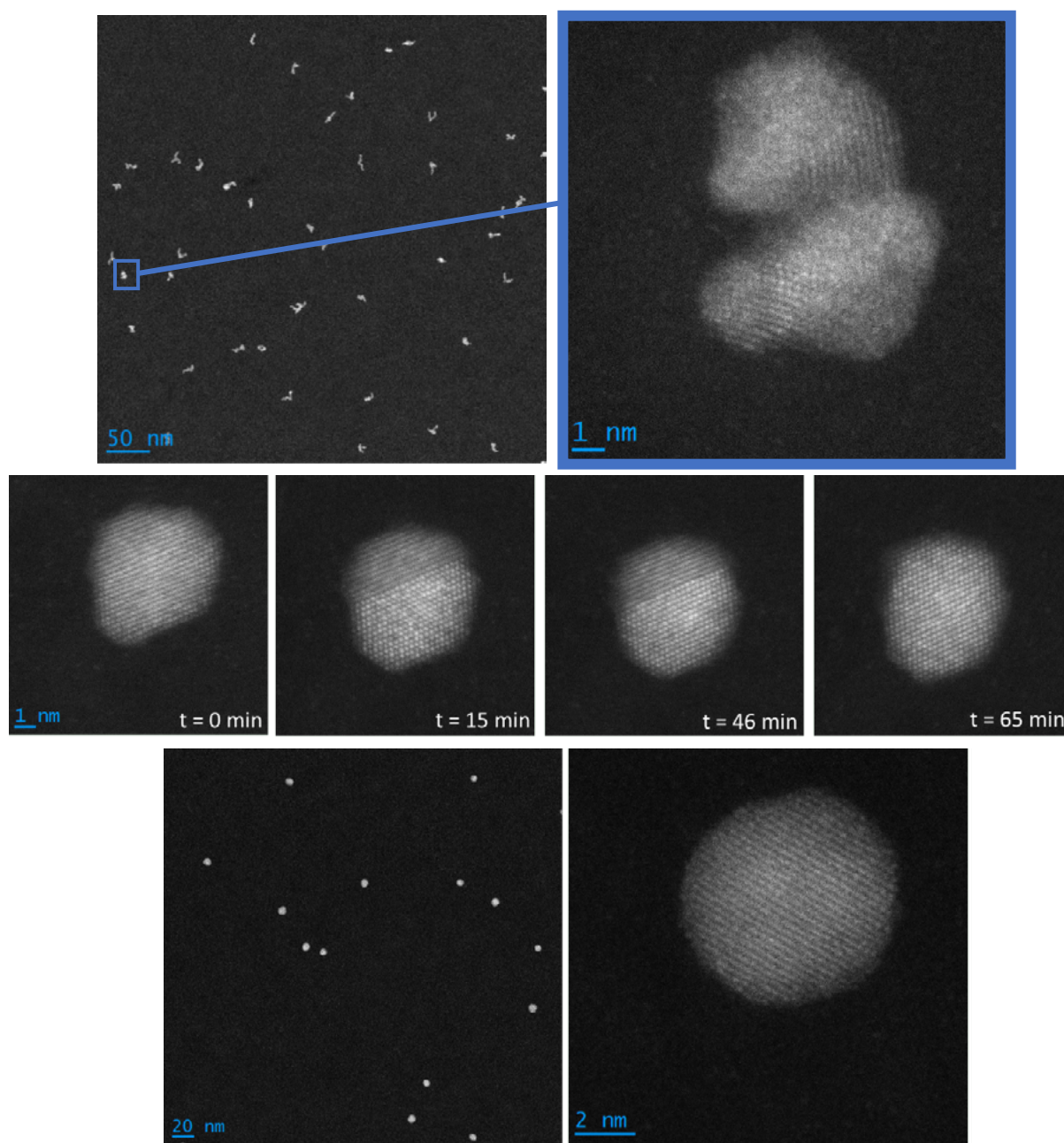


Figure 1: HAADF STEM images of a PdPt particle evolving with time taken at various temperatures.

Références :

- [1] Astruc Chemical Reviews **120.2** (2020): 461–463
- [2] Moreira, *et al.* ACS Applied Nano Materials **7.1** (2024): 1369-1378
- [3] Financial support is acknowledged from the French National Research Agency (ANR) via the project 'NACRE' (ANR-23-PEXD-0015) in the France 2030 framework of PEPR DIADEM. Les auteurs remercient le Consortium Lyon Saint-Etienne de Microscopie (CLYM) pour l'accès à l'ETEM.

Adresse mail : rama.baalbaki@insa-lyon.fr

ETUDE DE LA MICROSTRUCTURE DES ZEOLITHES PAR TOMOGRAPHIE ELECTRONIQUE ET TECHNIQUES DE MICROSCOPIE ANALYTIQUE

Valentina GIRELLI CONSOLARO^{1,2}, Virgile ROUCHON², Walid BAAZIZ¹, Maxime MOREAUD²
et Ovidiu ERSEN¹

¹IPCMS, 23 rue du Lœss, 67034 Strasbourg France

² IFPEN, Etablissement de Lyon, Rond-point de l'échangeur, 69360 Solaize, France

SdM : Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons/Techniques résolues en temps

La désalumination est un procédé industriel qui s'applique aux catalyseurs tels que les zéolithes. Cette classe d'aluminosilicates cristallins doit à sa structure microporeuse (diamètre poreux < 2 nm) le caractère de tamis moléculaire, et à sa chimie le caractère d'acide solide. Néanmoins, au cours d'une réaction catalytique, les zéolithes s'avèrent instables à hautes températures, et les pores qui mènent aux sites actifs de la catalyse sont facilement obstrués. La désalumination, c'est à dire le retrait de l'aluminium des positions cristallographiques à travers des traitements hydrothermiques et acides, représente une solution à ces défis. En agissant sur le rapport Si/Al, il est possible d'améliorer la stabilité du matériau mais surtout d'augmenter son acidité [1]. De la même façon, en modifiant sa structure, il est possible d'introduire une nouvelle classe de porosité au sein de la zéolithe : les mésopores (diamètre poreux entre 2 et 50 nm) [2]. Si d'un côté la désalumination reste une méthode répandue pour produire un catalyseur encore plus performant, les mécanismes fondamentaux d'extraction de l'Al et de formation de mésopores n'ont pas été totalement éclaircis. Cette étude nous a permis de suivre l'évolution à la fois structurale et chimique des zéolithes Faujasite Y à différents stades d'un cycle complet de désalumination. Pour cela, notre méthodologie s'appuie sur l'utilisation de la tomographie électronique pour révéler et quantifier les aspects morphologiques des mésopores et proposer un modèle de formation et croissance du réseau poreux. Des techniques de microscopie analytique telles que le (STEM) EDX et EELS nous ont permis d'évaluer les modifications du ratio Si/Al à l'échelle nanométrique. Nos résultats montrent une corrélation entre les défauts structuraux et le développement de la mésoporosité. Ils révèlent également, pour la première fois par ces techniques, une composition chimique hétérogène de la zéolithe, notamment sur sa bordure externe enrichie en Al.

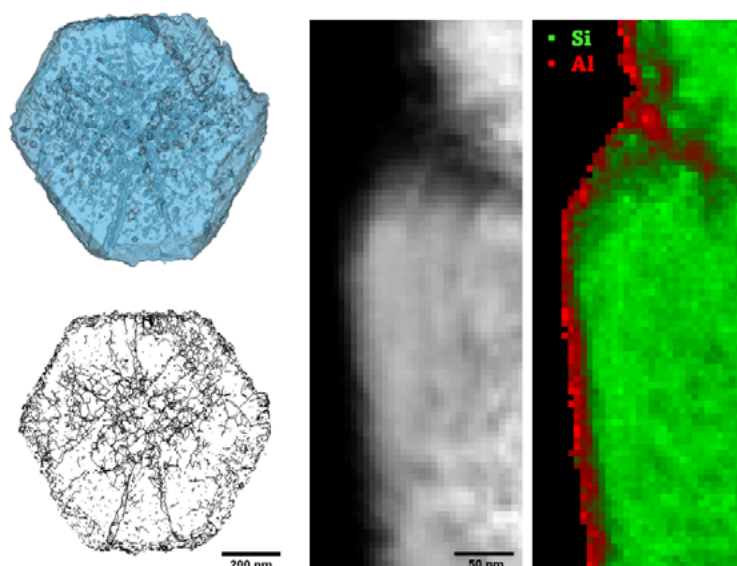


Figure 1 : A gauche, représentation 3D d'une zéolithe désaluminée et projection de son réseau mésoporeux. A droite, image spectrale en bordure du grain de zéolithe et mise en évidence de son hétérogénéité chimique vis-à-vis du signal du Si et de l'Al.

Références :

- [1] Silaghi, *et al.* Microporous and Mesoporous Materials **191** (2014): 82-96.
- [2] Zukal, *et al.* Zeolites **6.2** (1986): 133-136.

Adresse mail : Valentina.GirelliConsolaro@uantwerpen.be

QUANTIFICATION OF CHIRAL DESCRIPTORS IN GOLD NANOPARTICLES BY MANUAL AND FAST TOMOGRAPHY

Valentina GIRELLI CONSOLARO¹, Dakota VAN AERDEN¹, Robin GIROD¹, Kyle VAN GORDON², Luis M. LIZ-MARZAN^{2,3} and Sara BALS¹

¹ EMAT and NANOLight Center of Excellence, University of Antwerp, B-2020 Antwerp, Belgium

² CIC biomaGUNE, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), 20014 Donostia-San Sebastián, Spain

³ CINBIO, Universidade de Vigo, 36310 Vigo, Spain

SdM : Mesures quantitative de propriétés par faisceau d'électrons

Electron tomography (ET) is an outstanding technique to access 3D information about nanomaterials. However, even though a qualitative volumetric representation of the nano-object can be routinely obtained nowadays, the extraction of quantitative descriptors is less trivial. This is significant especially when comparing the averaged properties measured by bulk characterizations with the results retrieved by ET. That often calls for an appropriate and, inevitably, user-dependent choice of a representative specimen. Increasing the number of ET reconstructions would be a direct way to improve the statistical significance of the acquired datasets, but the time-consuming nature of tomography poses a clear challenge. For this reason, we have recently proposed a semi-automated ET software to optimize the acquisition of 2D tilt projections, by reducing the time of data collection from typically ≈ 1 h in a manual setup to less than 10 minutes [1]. What remains unclear is how this method would influence the extraction of samples' descriptors that are generally obtained by a manual approach. To investigate these aspects, we here employ two sets of gold plasmonic nanoparticles with a different type of morphological chirality: twisted and wrinkled nanoparticles [2]. For each sample we acquire HAADF STEM tilt series by both a manual and automated approach and we extract parameters of the surface that are related to the optical activity, such as helicity and asymmetry, defined in earlier work [3]. The preliminary results show that a faster tilt series acquisition exhibits consistency with the manually acquired dataset, paving the way to a more statistical use of ET. In addition, by reducing the time of exposure we encourage to extend the application of a semi-automated fast ET to beam-sensitive materials as well.

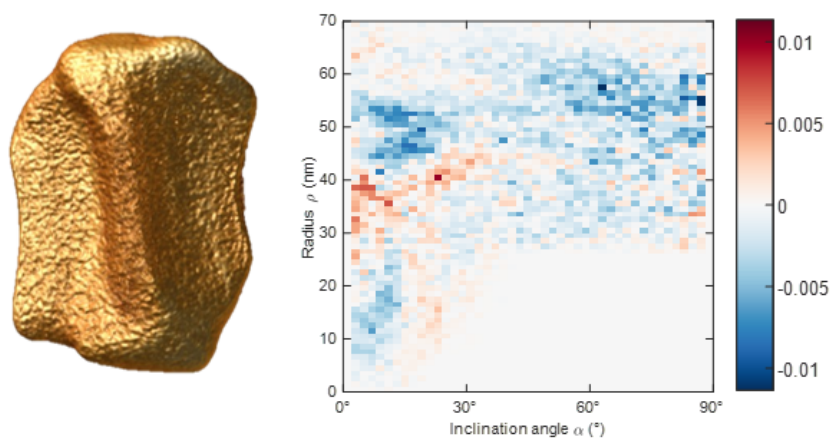


Figure 1 : Twisted Au nanoparticle synthesized with L-cystine (left). Helicity measurements performed on the surface of the nanoparticle showing predominance of left-hand features (right).

Références :

- [1] Vanrompay, *et al.* Ultramicroscopy **221** (2021): 113191
- [2] Van Gordon, *et al.* Angewandte Chemie **136.26** (2024): e202403116
- [3] Heyvaert, *et al.* ACS materials letters **4.4** (2022): 642-649.

Adresse mail : Valentina.GirelliConsolaro@uantwerpen.be

TIME-RESOLVED METAL-INSULATOR TRANSITION IN $(V_{1-x}Cr_x)_2O_3$ THROUGH *IN SITU* MONOCHROMATIZED LOW-LOSS STEM/EELS

Abdelali KHELFA¹, Jean-Denis BLAZIT¹, Luiz H. G. TIZEI¹, Yves MAIA AUAD¹, Florian CASTIONI¹, Xiaoyan LI¹, Etienne JANOD², Julien TRANCHANT², Benoît CORRAZE², Laurent CARIO², Odile STEPHAN¹ and Laura BOCHER¹

¹ Université Paris-Saclay, CNRS, Laboratoire de Physique des Solides, 91405, Orsay, France

² Institut des Matériaux Jean Rouxel (IMN), Université de Nantes, CNRS, 2 Rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

Session : Techniques résolues en temps

Understanding metal-to-insulator transitions (MIT) is crucial for applications like neuromorphic devices and resistive memories, yet the local electronic properties during MIT remain poorly understood. Using time-resolved low-loss electron energy-loss spectroscopy (EELS), we studied nanoscale phase separation during MIT (near 180 K) in Cr-doped V_2O_3 [1-4].

We employed a NION Hermes microscope with a monochromator to identify distinct electronic phases and detect subtle features at 1 eV and below, such as a plasmon intensity of 10^{-4} relative to the zero-loss peak (Figure 1b-d). A key experimental challenge was probing domain wall motion due to its ultrafast dynamics (picosecond scale) [5] and the resulting low EELS signal-to-noise ratio (SNR). To address this, we used a Timepix3 direct electron detector in event-based mode, recording individual electron arrivals as discrete events with precise timing and energy information. This approach provided higher intrinsic time resolution (1.56 ns) and reduced data volume compared to frame-based mode. We dynamically studied MIT mechanisms at the millisecond scale, acquiring successive hyperspectral data of (200x60) pixels at 4 μ s/pixel (48 ms/frame), totaling 14,000 frames during heating in 0.5 K steps. To manage the high data volume and minimize human bias, we used uniform manifold approximation and projection (UMAP) [6] and K-means clustering to identify two interfacial clusters between pure insulating and metallic regions (Figure 1). The "insulating-rich" cluster showed extra intensity at 1 eV and below compared to the main insulating cluster. The "metallic-rich" cluster exhibited a weaker 1 eV peak intensity than other metallic clusters, along with additional intensity below 1 eV. These effects are likely due to an interfacial plasmonic contribution. Upon increasing the temperature, we evidenced the domain wall and the two interfacial clusters' motion over tens of nanometers within 2.9 s.

These time-resolved findings are promising for our understanding of MIT dynamics.

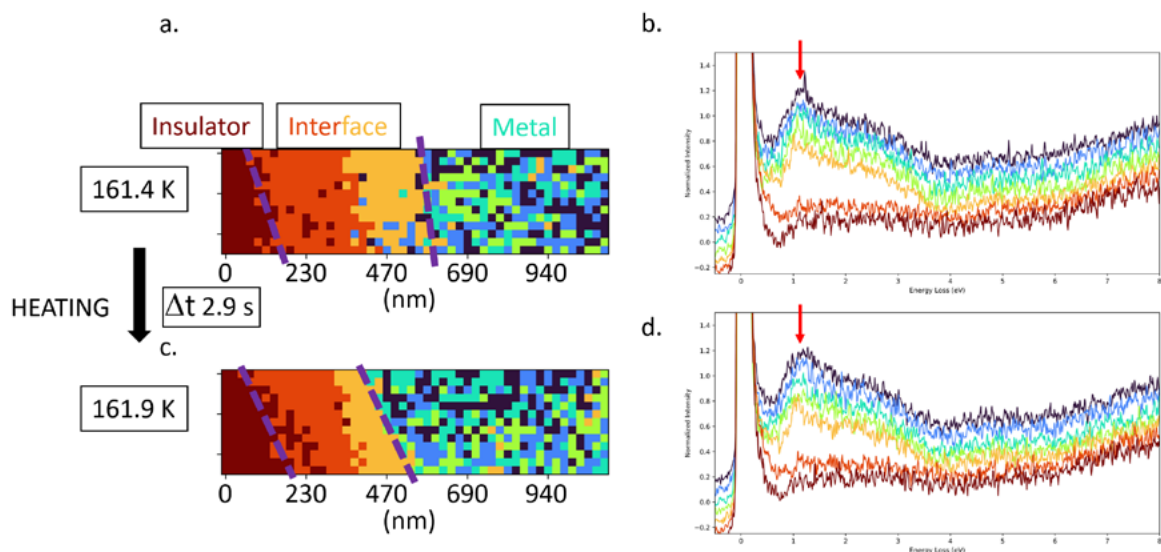


Figure 1: Event-based EELS clustering at the insulator/metal (I/M) domain wall before and after a temperature change. A time interval of 2.9 s between the two cluster maps and spectra was chosen to enhance the visualization of domain motion. Spatial binning by 16 and temporal binning by 200 (9.6 s) were applied to ensure sufficient SNR and reliable data analysis. A “rolling average” was applied to stacks of 200 frames over 20 frames (960 ms) to optimize the visualization of the I/M phase separation dynamics during the temperature change. Although not shown in this figure, the domain wall moves “instantly” between two adjacent “rolling average” stacks, confirming that the domain wall motion occurs much faster than 960 ms, as expected. **a and c.** EELS cluster maps identifying distinct regions on the studied surface at 161.4 K and 161.9 K, respectively. **b and d.** EELS spectra for each cluster at 161.4 K and 161.9 K, respectively. The red arrow indicates a peak around 1 eV, characteristic of the metallic phase.

Références :

- [1] E. Janod *et al.* Adv. Funct. Mater. **25** (2015): p. 6287-6305.
- [2] H. A. H. Abe *et al.* Jpn. J. Appl. Phys. **37** (1998): p. 584.
- [3] M. Querré *et al.* Phys. B: Cond. Mat. **536** (2018): p.327-330.
- [4] E. K. I. Koita PhD Thesis (2023).
- [5] T. Amano *et al.* Nature Physics **20** (2024): p. 1778-1785
- [6] L. McInnes *et al.*, J. Open Source Softw. **3** (2018): 861.
- [7] We acknowledge funding from the National Agency for Research under the JCJC program IMPULSE, the program of future investment TEMPOS-CHROMATEM.

Adresse mail : abdelali.khelfa@universite-paris-saclay.fr

Cheap time-resolved X-ray and Electron Transmission Microscopies

Aurélien MASSEBOEUF¹, Olivier FRUCHART¹, Niklas MARTIN¹, Lucia GOMEZ-CRUZ^{1,2}, Lucas PEREZ^{1,2} et Rachid BELKHOU³

¹ SPINTEC, CEA-CNRS-UGA, Grenoble, France

² Dpto. Fis. de Materiales, Univ. Complutense de Madrid, Spain

³ Synchrotron SOLEIL, Saint Aubin, France

As for now spatial resolutions in magnetic imaging through electron waves or X-rays probes are becoming closer to the nanometer scale, one needs to go further and develop means to expand the dynamic that is available to go beyond the pseudo-static time scale. The well known precessional regime of magnetism that is surrounding the Larmor frequency of magnetization damping, around the GHz frequency, is of importance as it is at the exact time scale of numerous application processes, ranging from memories to antennas including sensors. We will go through this presentation to a review of existing time-resolved approaches that can be combined with so-called Lorentz imaging with electrons and Magnetic Circular Dichroism with X-rays. We will propose how it is possible to implement sub-nanosecond time resolution either in the direct or reciprocal time-space with no major modifications of the instruments (namely a TEM or a Synchrotron) gaining from the core design of the experiment, the sample itself, and the particle used for the display : an electron beam, sensitive to high-speed electrostatic blanking in a TEM and the native pulse X-ray bunch in a Synchrotron. We will see then how it is possible to scrutinize important processes in the magnonic regime such as Ferromagnetic resonance and Spin-Wave propagation in nanowires.

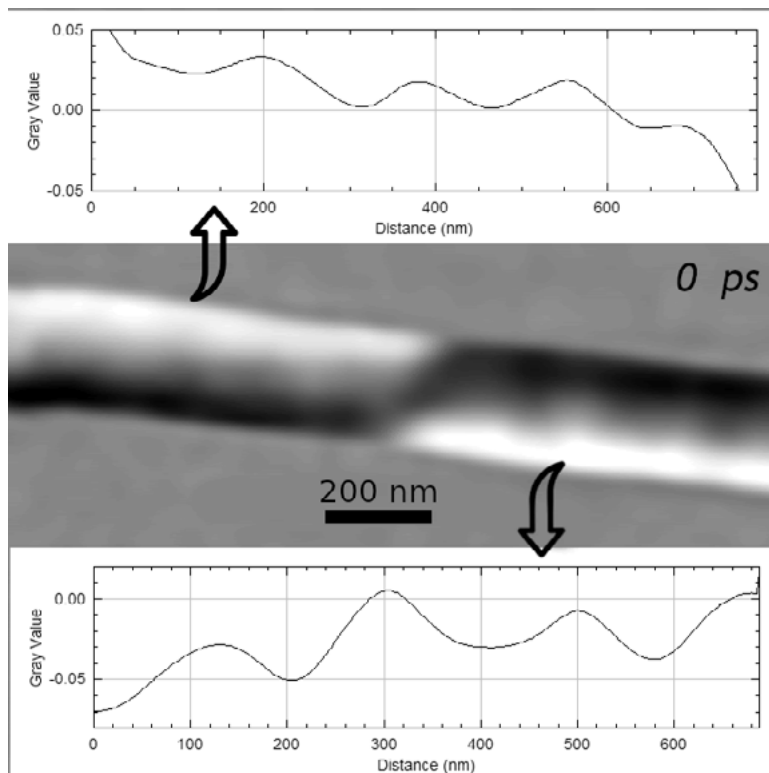


Figure : Spin-Wave observation in a Permalloy Nanowire through time-resolved XMCD Ptychography

Adresse mail : aurelien.masseboeuf@cnsr.fr

In-Situ TEM Observation of GaAs Nanowire Nucleation on Si

Chen Wei,¹ Abderrahim L. Alaoui,¹ Laurent Travers,¹ Julien Chaste,¹ Cléophanie Brochard,¹ Andrea Cattoni,¹ David Bouville,¹ Etienne Herth,¹ Jean-Christophe Harmand,¹ Federico Panciera,¹

¹ Université Paris-Saclay, CNRS, Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies, 91120, Palaiseau, France.

Session: Time-resolved techniques

In order to take advantage of the unique physical properties of nanowires (NWs), it is crucial to control their geometry, crystal structure and doping. This goal will ultimately be achieved by a deep understanding of the growth mechanisms.

The first stages of the growth process are the least understood and have been investigated almost exclusively by ex-situ techniques.[1,2] Here, we present real-time observations of the nucleation and growth of self-catalyzed GaAs nanowires using a transmission electron microscope (TEM) equipped with molecular-beam-epitaxy (MBE) sources.[3,4] Custom-made substrates, in the form of electron-transparent <111>-oriented Si membranes, were fabricated using MEMS technology (Figure 1). A combination of finite-element simulations and Raman spectroscopy was used to calibrate the sample temperature and to optimize its design. The results were in good agreement and further verified by the dimension and distribution of pre-deposited Ga droplets. Nanowires were grown directly on the membrane inside the microscope via vapor-liquid-solid mechanism and the process was monitored in situ and in real-time with high spatial and temporal resolution.

On the base of our direct observations (Figure 2), the main steps of this dynamic process, from Ga droplet deposition to crystal nucleation at the interface as well as the vertical growth of nanowires will be discussed.

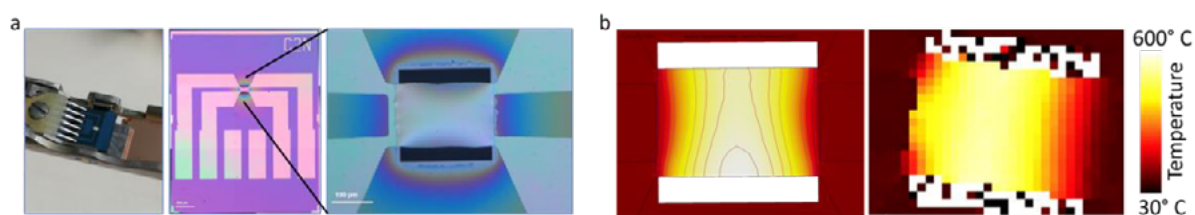


Figure 1 (a) TEM-compatible growth substrate realized by microfabrication; (b) Temperature maps of the Si membrane obtained by simulations (left) and Raman (right).

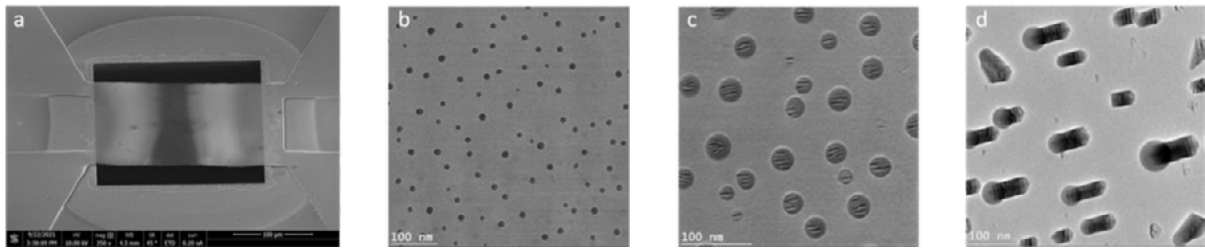


Figure 2 (a) post-growth SEM image of the growth substrate; (b) Ga droplet deposited on the substrate; (c) Crystal formation highlighted by moiré pattern; (d) GaAs nanowires growing epitaxially on Si <111>

Références :

- [1] Vukajlovic-Plestina et al. Fundamental aspects to localize self-catalyzed III-V nanowires on silicon. Nature communications 2019,10(1), 1-7.
- [2] Baraissov et al. "Growth Dynamics of Gallium Nanodroplets Driven by Thermally Activated Surface Diffusion." The Journal of Physical Chemistry Letters. 2019, 5082-5089.
- [3] Harmand et al. Atomic step flow on a nanofacet. Phys. Rev. Lett. 2018, 121, 166101.
- [4] Panciera et al. Phase selection in self-catalyzed GaAs nanowires. Nano Lett. 2020, 20(3), 1669-1675.

Adresse mail : chen.wei@universite-paris-saclay.fr

TIME-RESOLVED TEM USING NANOSECOND ELECTRON PULSES IN THE STUDY OF PHOTOSWITCHABLE NANOMATERIALS

Hilaire MBA¹, Yaowei HU¹, Hui ZHANG¹, Matthieu PICHER¹, Guillaume CHASTANET², Philippe RABILLER³, Maciej LORENC³, Florian BANHART¹

¹ Institut de Physique et Chimie des Matériaux (UMR 7504), Université de Strasbourg, CNRS, Strasbourg, France

² Institut de Chimie de la Matière Condensée (UMR 5026), Université de Bordeaux, CNRS, Bordeaux, France

³ Institut de Physique de Rennes (UMR 6251), Université de Rennes, CNRS, Rennes, France

Session : Techniques résolues en temps

When nanomaterials are subjected to laser pulses, electronic excitations, acoustic waves and thermal effects appear at timescales from femto- to microseconds. The size of the system determines the timescales of transitions when the laser-induced excitation (e.g., a sound wave or thermal diffusion) propagates. The different approaches of ultrafast or dynamic TEM give access to fast transformations that are detectable by imaging, electron diffraction or EELS. Reversible transitions are studied by the stroboscopic [1] and irreversible by the single-shot technique [2, 3]. In this contribution, thermal effects in nanomaterials occurring at the nanosecond timescale are described.

In a dedicated setup, two coupled nanosecond lasers are used to induce transitions of the specimen and to create photoelectron pulses. We use the stroboscopic mode for studying photoswitchable materials that undergo reversible phase transitions under electronic excitation or temperature changes. Results on spin-crossover (SCO) materials [4-6] and trititanium pentoxide (Ti₃O₅) crystals [7] are shown, where phase transitions at the nanosecond timescale occur. The onset of structural changes and the characteristic switching time of the materials is determined. Due to the high spatial and temporal resolution, the time-dependent behavior of individual nanocrystals can be studied.

Spin crossover nanoparticles undergo a phase transition where they change their size under laser irradiation. By encapsulating gold nanoparticles, plasmonic heating is achieved. The size changes are measured (Fig. 1), showing an expansion within tens of nanoseconds [4, 5]. In the same way, a phase transition in Ti₃O₅ nanoparticles is induced by laser pulses, and phase changes are detected by electron diffraction. It is found that the switching dynamics of Ti₃O₅ depends strongly on the size and shape of the system [6].

The work was funded by the Agence Nationale de Recherche under contracts ANR-11-EQPX-0041 and ANR-22-CE09-0033-01, the Interdisciplinary Thematic Institute ITI-QMAT and the METSA Network (FR CNRS 3507).

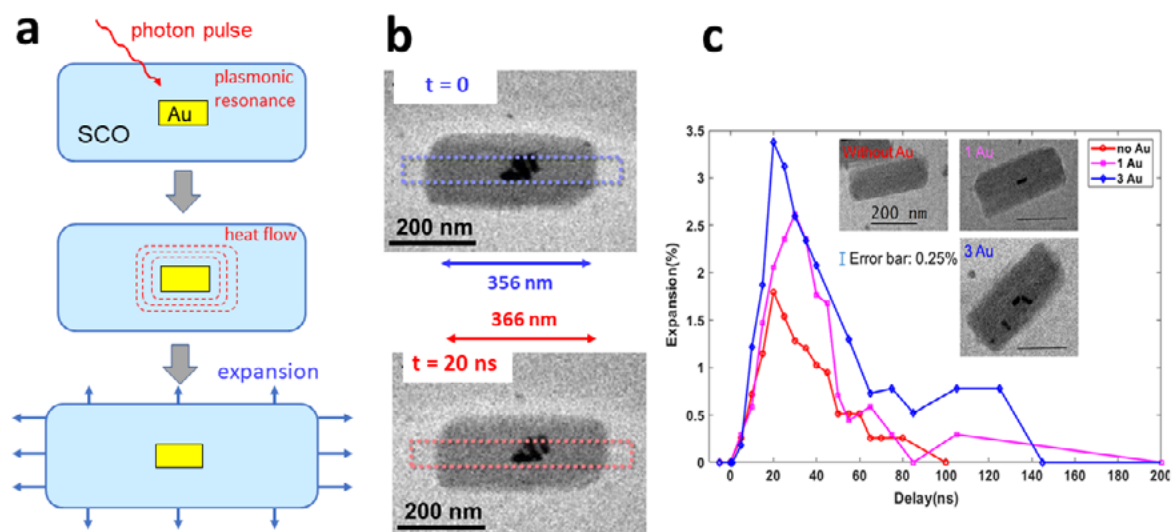


Figure 1: (a): A laser pulse heats SCO particles by plasmonic excitation of embedded Au nanorods. The SCO particles expand. (b): images of an SCO particle with 7 ns electron pulses before ($t = 0$) and 20 ns after the laser pulse. (c): Length measurements as a function of time. A pure SCO particle is compared with SCO particles where one or three Au nanorods are embedded.

References :

- [1] K. Bückner *et al.* Ultramicroscopy **171** (2016) : 8-18
- [2] M. Picher *et al.* Ultramicroscopy **188** (2018) : 41-47
- [3] S. K. Sinha *et al.* Nature Comm. **10** (2019) : 3648
- [4] Y. Hu *et al.* Adv. Mater. **33** (2021): 2105586
- [5] Y. Hu *et al.* Small **19** (2023) : 2303701
- [6] H. Mba *et al.* J. Phys. Chem. Lett. **14** (2023) : 8100-8106
- [7] Y. Hu *et al.* J. Phys. Chem. C **128** (2024) : 13991-13997

Adresse mail : hilaire.mba@ipcms.unistra.fr; florian.banhart@ipcms.unistra.fr

ALTERNATIVE SCAN PATTERNS TO MITIGATE RADIATION DAMAGE IN BEAM SENSITIVE BATTERY MATERIALS

Hannah NICKLES JÄKEL¹, Ece ARSLAN IRMAK², Eric GAUTRON¹, Pavel POTOCEK^{2,3}, Maurice PEEMEN²,
Philippe MOREAU¹ and Patricia ABELLAN¹

¹Nantes Université, CNRS, Institut des Matériaux de Nantes Jean Rouxel, IMN, F-44000 Nantes, France

²Thermo Fisher Scientific, Eindhoven, the Netherlands

³Saarland University, 66123 Saarbrücken,

Session : Time-resolved techniques in Material Sciences Sessions

Electron-beam sensitivity of battery materials hinders the full potential of high-resolution STEM-EELS insights on battery failure mechanisms. Even acquisitions with low cumulative fluence, can induce irreversible chemical changes in battery interfaces [1]. It is therefore important to understand how electron beam induced alterations can be minimized. Beam damage in STEM can be mitigated by adjusting electron probe properties such as beam size, current, and acceleration voltage, as well as by modifying dwell time [2] or scan pattern [3,4]. Velazco et al. [4] demonstrated a promising approach by increasing the spacing between successive probe positions while maintaining the same overall pixel distribution per frame as a raster scan. Their alternative scan reduced damage compared to conventional raster scanning for the beam sensitive sample zeolite [4]. Since beam damage is a process that is highly dependent on the type of material being irradiated, damage mitigation techniques require material-specific investigations to ensure effective adaptation of the scanning parameters.

In this presentation, we demonstrate that optimized scan patterns can reduce electron beam induced alterations and enable the potential for more reliable acquisition of pristine compositions in battery systems. Here we focus on achieving a reduction of radiation damage in beam sensitive battery materials such as LiF and carbonate electrolytes imaged in a liquid cell holder. We perform systematic comparisons of the observable radiation damage produced by conventional raster scanning to different “alternative” scanning (see Fig. 1 for a tested scan pattern and the effect on LiF thin films). Observable damage is quantified by a correlation between cumulative fluence and electron beam induced changes in HAADF image intensity. We found that alternative scanning can successfully mitigate radiation damage in the beam sensitive battery material LiF by 23%. Finally, we will focus on specific damage mechanisms and on the effect of alternative scanning in them.[5]

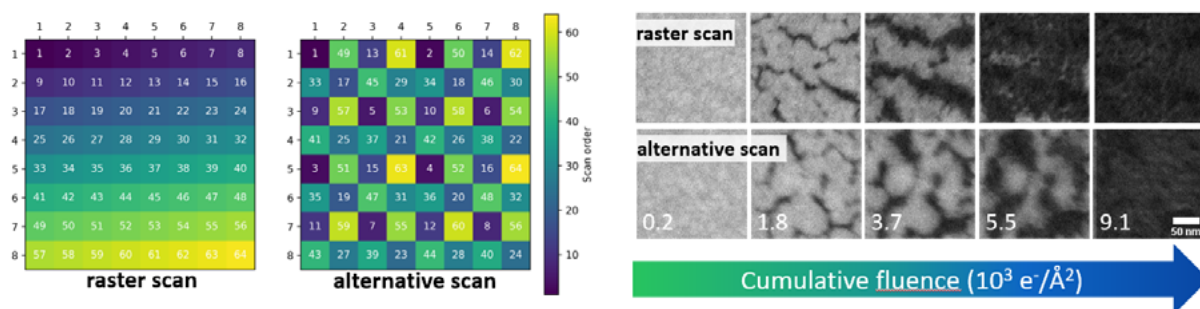


Figure 1: HAADF intensity decay for increasing cumulative fluence for conventional raster scan compared to alternative scan on a LiF thin film sample.

Références :

- [1] Koh H et al. ACS Energy Lett **10** (2025): 534–540.
- [2] Egerton RF. Micron **119** (2019): 72–87.
- [3] Nicholls D, et al. Ultramicroscopy **233** (2022): 113451.
- [4] Velazco A, et al. Ultramicroscopy **232** (2022): 113398.
- [5] Acknowledgements: The authors thank the OPINCHARGE project, which received funding from the European Union’s Horizon Europe research and innovation programme under grant agreement No 101104032. We acknowledge Battery2030+ for their support to the OPINCHARGE project. Measurements were performed using the IMN’s characterization platform, PLASSMAT, Nantes, France. The use of the liquid cell holder was funded by the ERC-2023-CoG project DREAM-SWIM (Project # 101124066).

Adresse mail : hannah.nickles@cns-imn.fr

Spectroscopie EELS et cathodoluminescence en coïncidence résolue spatialement de structures chirales plasmoniques tridimensionnelles

Heyu WANG¹, Malo Bézard¹, Y. Auad¹, J. Béal², F. Castioni¹, D. Gérard², O. Stéphan¹, M. Kociak¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides - Université Paris Saclay - CNRS, Orsay (91405), France

² Light, nanomaterials and nanotechnologies (L2n), CNRS-ERL 7004, Université de Technologie de Troyes, Troyes, France

Session : Session SdM : Techniques résolues en temps

La cathodoluminescence (CL) et la spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS) sont largement utilisées pour caractériser divers matériaux et nanostructures. La spectroscopie CLE (cathodoluminescence excitation spectroscopy), combinant temporellement CL et EELS [1], a récemment été développée pour étudier la dynamique des porteurs de charge dans les semi-conducteurs. Dans les systèmes photoniques, la détection en coïncidence de l'EELS et de la CL a été proposée pour générer des électrons ou photons annoncés (heralded photons/electrons) [2]. Dans cette présentation, nous étendons ce principe en mesurant en coïncidence l'émission de photons polarisés (pCL) et la perte d'énergie associée sur des systèmes chiraux plasmoniques. Nous cherchons ainsi à produire des photons annoncés polarisés.

Nous avons conçu et fabriqué des structures chirales tridimensionnelles de système Born-Kuhn (BKS) (Figure a) [3], constituées de nano-antennes d'argent décalées, adaptées à une étude en TEM [4]. L'expérience est menée avec un microscope monochromaté NION Hermes200 équipé d'un détecteur Timepix3 (ASI Cheetah) et d'un détecteur de cathodoluminescence (Attolight Mönch) modifié pour mesurer la polarisation (Figure b). Le détecteur Cheetah permet de mesurer les électrons sous forme d'événements résolus dans le temps avec une résolution de l'ordre de la ns, qui peuvent être corrélés temporellement avec la détection de photons polarisés circulairement effectuée en parallèle.

Les spectres-images des premières mesures sur les BKS sont réalisés en corrélant la détection de photons suivant deux polarisations circulaires opposées (Figure d et e). Pour comparaison, la Figure c montre la distribution typique d'intensité pour les plasmons dans les structures BKS dans l'EELS conventionnel. Nous observons une différence de la distribution d'intensité, révélant une corrélation électron-photon dépendant de la position du faisceau et de la polarisation. Nous discuterons dans cette présentation les conséquences de cette observation sur la possibilité de produire des photons annoncés polarisés grâce à des faisceaux d'électrons rapides.

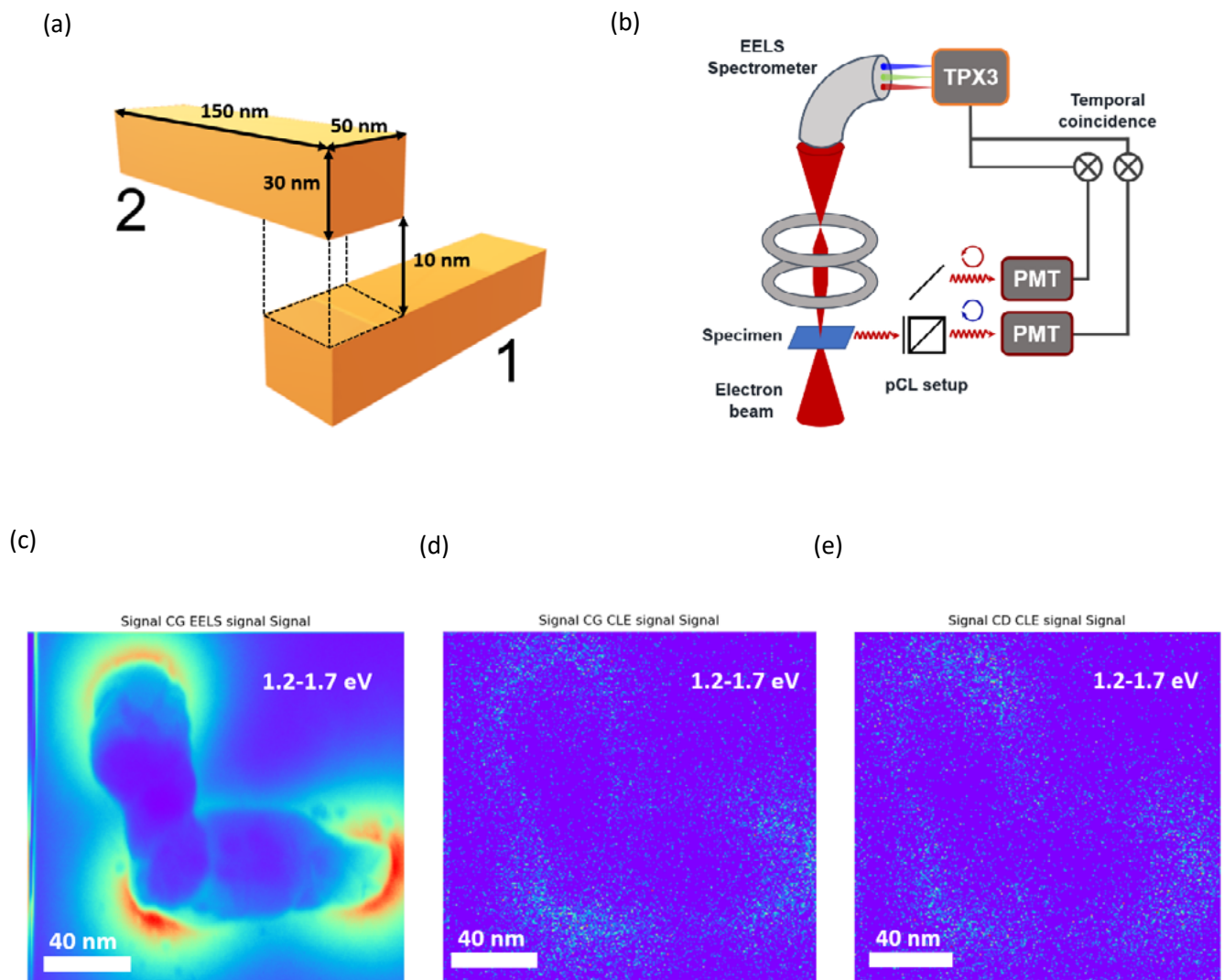


Figure : (a) Schéma d'une structure BKS avec les dimensions typiques. (b) Schéma du dispositif expérimental. (c) Spectre-image (filtré dans la gamme spectrale 1.2-1.7 eV) EELS conventionnel de BKS (d) Spectre-image CLE (filtré dans la gamme spectrale 1.2-1.7 eV) de BKS polarisé à gauche. (e) Spectre-image CLE (filtré dans la gamme spectrale 1.2-1.7 eV) de BKS polarisé à droite.

Références :

- [1] N. Varkentina, et al. Science Advances, 8(40), eabq4947.
- [2] Feist, Armin, et al. Science 377.6607 (2022): 777-780.
- [3] Yin. Xinghui, et al. Nano Letters 13.12 (2013): 6238-6243.
- [4] Malo. Bézard, et al. En préparation (2025).

Adresse mail : heyu.wang@universite-paris-saclay.fr, mathieu.kociak@universite-paris-saclay.fr

Time-resolved cathodoluminescence using an Ultrafast Transmission Electron Microscope: Application to High Power GaN Studies.

Murilo MOREIRA¹, Aidan ARTHUR TAYLOR², Cléo SANTINI¹, Adrien TEURTRIE¹, Sophie MEURET¹

¹ CEMES-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, UPR 8011, Toulouse, France

² Infineon Technologies Austria AG, 9500 Villach, Austria.

Session : « Techniques résolues en temps »

Gallium Nitride (GaN) is recognized for its high breakdown voltage, thermal conductivity, and electron mobility, making it a compelling alternative to silicon in high-power electronic applications. However, the transition to new semiconductor materials based on GaN may be limited by defects in the crystal lattice, for which no characterization workflow is predominant in the industry. It is in this context that electron probe-based characterization techniques can be adapted for high-power semiconductor devices. Time-resolved cathodoluminescence (TRCL) is an emerging technique that combines high spatial resolution with ultrafast optical characterization [1]. By synchronizing electron beam excitation with time-resolved luminescence detection, TRCL captures rapid emission events that can be used to study charge carrier dynamics and material defects. It is an essential technique for characterizing semiconductor materials for the direct correlation of their structural (defects, composition heterogeneities, strains, etc.) and optical/electronic properties.

Traditionally implemented in scanning electron microscopes (SEMs), TRCL has enabled sub-wavelength resolution studies—such as elucidating the effects of stacking faults in GaN excitons, silver layer interactions in YAG crystals, and stress influences in ZnO nanowires [2-4]. Recently, advances in transmission electron microscopy (TEM) have further pushed TRCL's capabilities, offering enhanced spatial resolution and integration with complementary electron-based spectroscopies [5,6]. Our TRCL experiments are performed in an Ultrafast TEM (UTEM) [7]. In this poster, we will discuss the use of TRCL in UTEM for III-N semiconductors and especially high-power GaN samples by TRCL measurements.

Références :

- [1] Merano, M., Sonderegger, S., Crottini, A. *et al.* "Probing carrier dynamics in nanostructures by picosecond cathodoluminescence". *Nature*. 438, p. 479–482, 2005.
- [2] P. Corfdir *et al.*, "Exciton localization on basal stacking faults in a-plane epitaxial lateral overgrown GaN grown by hydride vapor phase epitaxy," *J. Appl. Phys.*, vol. 105, no. 4, p. 043102, 2009.
- [3] R. J. Moerland, I. G. C. Weppelman, M. W. H. Garmin, P. Kruit, and J. P. Hoogenboom, "Time-resolved cathodoluminescence microscopy with sub-nanosecond beam blanking for direct evaluation of the local density of states," *Opt. Express*, vol. 24, no. 21, p. 24760, 2016.
- [4] X. Fu *et al.*, "Exciton Drift in Semiconductors under Uniform Strain Gradients: Application to Bent ZnO Microwires," *ACS Nano*, vol. 8, no. 4, pp. 3412–3420, 2014.
- [5] S. Meuret *et al.*, "Time-resolved cathodoluminescence in an ultrafast transmission electron microscope," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 119, no. 6, p. 6, 2021.
- [6] Y. J. Kim and O. H. Kwon, "Cathodoluminescence in Ultrafast Electron Microscopy," *ACS Nano*, vol. 15, no. 12, pp. 19480–19489, 2021.
- [7] F. Houdellier, G. M. Caruso, S. Weber, M. Kociak, and A. Arbouet, "Development of a high brightness ultrafast Transmission Electron Microscope based on a laser-driven cold field emission source," *Ultramicroscopy*, vol. 186, pp. 128–138, 2018.

ON THE BEHAVIOR OF GALLIUM ONTO ZSM-5 ZEOLITES UPON GAS ASSISTED REACTIVE TREATMENTS

Simona MOLDOVAN^{1*}, Thomas LEMAITRE², Cassandre KOUVATAS², Luis CARDENAS³ Christine CANAFF⁴, Aurelie VICENTE², Ludovic PINARD²

¹ Groupe de Physique des Matériaux (GPM), CNRS UMR 6634, INSA & Université Rouen, Normandie Univ., 76000 Rouen, France

² Laboratoire de Catalyse et Spectrochimie, LCS, UMR 6506, ENSICAEN, 14000 Caen, France

³ Institut de recherches sur la catalyse et l'environnement de Lyon, CNRS-IRCELYON UMR 5256, 69100 Villeurbanne

⁴ Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP), UMR CNRS 7285, 86073 Poitiers, France

Session : Sciences de la Matière : Techniques résolues en temps

In the context of stringent environmental protection laws and regulations, the conventional fuel vehicles are nowadays replaced by electric vehicles, resulting in a decline in the demand for gasoline and diesel. Since light olefins (ethylene and propylene) and BTX (benzene, toluene and xylene) are widely used as raw resources in all spheres of daily life, the petrochemical industry is converting from "fuel-type" to "chemical-type" production [1]. Nowadays, the production of high value-added chemicals is limited to two technologies: catalytic reforming and steam cracking of naphtha.

The catalytic performance of Ga modified ZSM-5 are found to be superior to other metallic cations in light hydrocarbon dehydroaromatization [2]. Even though significant progress has been made in zeolite design, there is still a significant gap in knowledge of the atomic/electron level description of active and spectator species during catalytic processes. The explicit identification of the active species in zeolites doped with Ga is hindered by two factors: the cations' low concentration and their kinematics inside the zeolite. The ex-situ analyses of Ga/HZSM-5 before and after reduction under H₂ allowed to identify the migration of Ga on the outer edges of the zeolite

crystal (Figure 1). Understanding the processes of Ga oxide mobility within the micro-porosity of a H-ZSM-5 zeolite coupled with identification of the nature of the active site under reaction conditions are a sine qua non condition for the development of active, selective and stable commercial catalysts dedicated to the production of BTX and hydrogen.

Under these circumstances, we report here on the use of complementary in-situ and operando methodologies: Environmental TEM (SEM-HAADF and EDS), FTIR, NMR, and NAP-XPS for the assessment of the microstructural and chemical changes within the Ga @MFI zeolites, in the course of the activation, catalytical reaction and the regeneration processes.

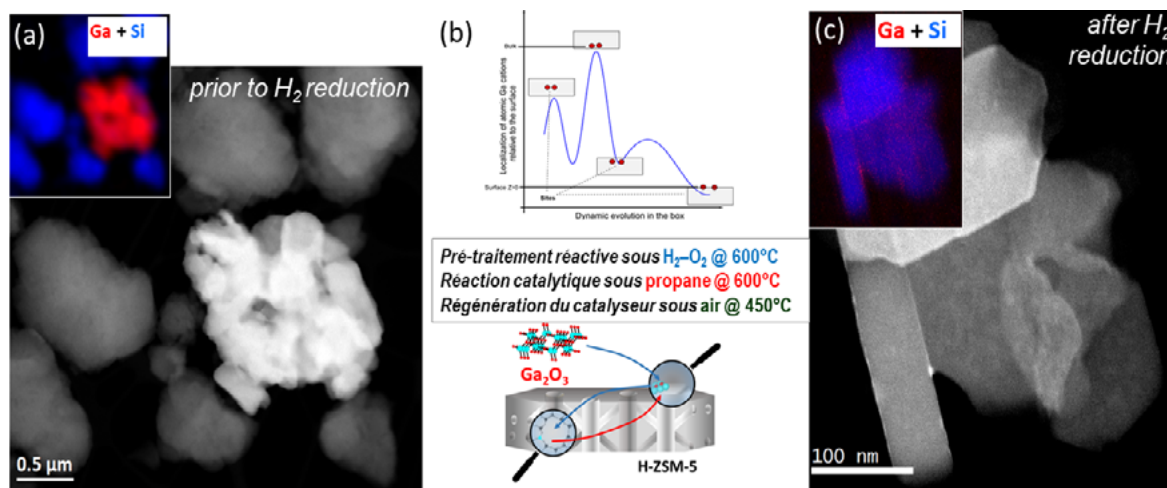


Figure 1. Gallium evolution of MEC-MFI upon H_2 assisted reduction(ex-situ images). In center, a tentative schematic representation of the Ga atoms/particles evolution and the catalytic reactions conditions.

References :

- [1] An updated roadmap to Net Zero Emission by 2050,
<https://www.iea.org/reports/net-zero-by-2050>.
- [2] Feng et al., Recent Advances on Gallium-Modified ZSM-5 for Conversion of Light Hydrocarbons, *Molecules* 26 (2021) 2234 [DOI](#)

Adresse mail: simona.moldovan@univ-rouen.fr

Integrating Electron Tomography of Dislocations into Discrete Dislocation Dynamics simulations

Timmo WEIDNER¹, Karine GOURIET¹, Laurent DUPUY², Alexandre MUSSI¹, Patrick CORDIER^{1,3}

¹ Université de Lille, UMET, Villeneuve d'Ascq, France

² Université Paris-Saclay, CEA, Service de Recherche en Matériaux et Procédés Avancés, Gif-sur-Yvette, France

³ Institut Universitaire de France, Paris, France

Transmission electron microscopy (TEM) is a key tool for investigating dislocation microstructures, but its conventional 2D imaging limits the characterization of complex dislocation networks. To address this, we employ electron tomography, providing a three-dimensional, quantitative view of dislocation structures.

This study marks a significant step forward by integrating real dislocation microstructures from tomography into Discrete Dislocation Dynamics (DDD) simulations using the NUMODIS framework [1]. Unlike conventional DDD simulations that rely on artificial microstructures, this approach enables dynamic modeling of experimentally observed dislocations. Using tomography results from a deformation experiment on an olivine single crystal, where we have full knowledge of all experimental parameters (including mechanical conditions and crystallographic orientations) we ensure accurate implementation into dislocation dynamics. This allows us to simulate the temporal evolution of dislocation networks under stress, bridging experimental observation and computational modelling.

Our proof-of-concept demonstrates that real dislocation networks can be successfully implemented in DDD simulations, allowing for direct observation of dislocation interactions over time. While the simple microstructure analyzed here limits the complexity of interactions, key mechanisms such as collinear annihilation and dislocation crossing align with experimental findings. Additionally, we observe the formation of a residual non-planar loop resulting from collinear interactions and a sessile climb dislocation segment.

Références :

[1] Drouet, et al. *Journal of Nuclear Materials* **449.1-3** (2014): 252-262

Adresse mail :

timmo.weidner@univ-lille.fr

FREE ELECTRONS QUANTUM OPTICS IN PHASE SPACE

Tom FRAYSSE¹, Axel LUBK^{2,3}, Mathieu KOCIAK⁴, Florent HOUELIER¹, Hugo LOURENÇO-MARTINS¹

¹CEMES, University of Toulouse and CNRS, 31055 Toulouse, France

²Leibniz Institute for Solid State and Materials Research Dresden, Helmholtzstraße 20, 01069 Dresden, Germany

³Institute of Solid State and Materials Physics, Technische Universität Dresden, 01069 Dresden, Germany

⁴Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Saclay and CNRS, 91405 Orsay, France

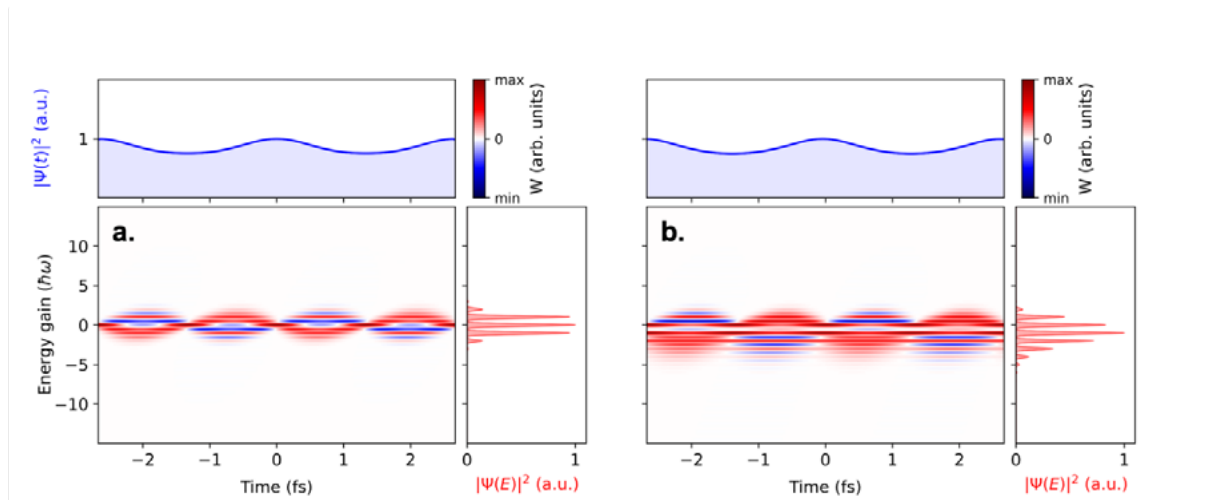
Material Science Session : Time-resolved techniques

Photon Induced Near-field Electron Microscopy (PINEM) denotes the modulations of free electrons by a sample – typically an optical cavity – pumped by a laser source. This effect has been theoretically predicted and experimentally demonstrated in an ultrafast transmission electron microscope (UTEM) more than a decade ago [1,2]. Following these seminal developments, PINEM has been used to reconstruct the temporal dynamics of nano-optical systems with an attosecond temporal resolution [3].

Due to recent experimental developments in integrated photonics [4,5], the problem of PINEM in the low occupation regime – i.e. when the cavity is populated by a weak number of photons - has drawn an increasing theoretical interest. Indeed, in this situation, the classical description of the electromagnetic field falls short to describe the electron-cavity interaction, and a full quantum description becomes required. Several works have already pioneered this problem [6,7] and predicted strong quantum mechanical effects in PINEM. The goal of our work is to pursue this effort and provide an alternative and intuitive approach to this problem by using tools borrowed from the field of quantum optics.

The object of our study is thus the electron-cavity state before and after inelastic interaction. To accomplish this, the overall approach can be summarized in three points : first, we use common quantum optics states to describe light ; second, scattering theory allows us to calculate and understand the electron-light interaction ; and third, we use the Wigner function - roughly speaking, a probability distribution of the quantum state in the phase space (energy-time) - as a powerful visualization tool, as shown in figure 1.

Figure 1 : Electronic Wigner function after interaction with (a) a classical electromagnetic field and (b) a quantized electromagnetic field. The Wigner function (central panel) provides a direct visualization of the energy distribution (right panel) and the temporal modulation (top panel) of the electron.



Références :

- [1] B. Barwick *et al.*, Nature 462, 902-906 (2006)
- [2] A. Feist *et al.*, Nature 521, 200–203 (2015)
- [3] J. H. Gaida *et al.*, Nature Photonics 18, 509–515 (2024)
- [4] J-W. Henke *et al.*, Nature 600, 653-658 (2021)
- [5] A. Feist *et al.*, Science 377, 777-780 (2022)
- [6] O. Kfir, Physical Review Letters 123, 103602 (2019)
- [7] V. Di Giulio *et al.*, Optica 6 (12), 1524-1534 (2019)

Adresse mail : tom.frayse@cemes.fr

TOWARDS ELECTRON BEAM SHAPING IN AN ULTRAFAST TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPE

ROLLO Valentin¹, WEBER Sébastien¹ and ARBOUET Arnaud¹

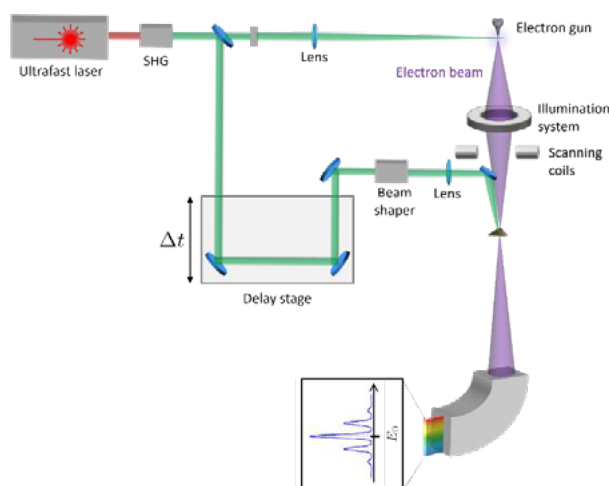
¹ CEMES, Toulouse, France

Session : SDM3 – Time resolved techniques

In 1933, Ernst Ruska developed the first Transmission Electron Microscope (TEM) which became the primary tool for studying matter. The picometer De Broglie wavelength and the numerous signals generated by an electron allow us to probe many properties of a sample at the atomic scale. Indeed, by analyzing the amplitude, phase, deflected angle and the energy of the electron beam after its interaction with the sample, we can fully reconstruct its chemical composition or its magnetic/electric properties. However, unlike conventional optics, where the amplitude, phase and polarization of a light beam can be fully controlled using e.g. a Spatial Light Modulator (SLM), the electron beam cannot be easily manipulated in a TEM, making electrons insensitive to certain fundamental properties such as chirality. In 2020 it has been proposed to shape the electron beam through inelastic electron-light interactions in Photon-Induced Near field Electron Microscopy (PINEM) experiments [1] (**figure 1**), inside a Ultrafast Transmission Electron Microscopes (UTEM). The PINEM interaction, based on a pump-probe experiment, relies on energy exchanges between an ultrashort electron pulse and a strong optical near-field induced on a sample by a femtosecond laser pulse. One of the main properties of this interaction is to imprint the laser beam phase on the wavefunction describing the electron after the interaction. Two years later, a first practical demonstration [2] illustrated the capability of this technique to generate Gaussian/Hermite-Gaussian electron beams.

The aim of our work is to develop an experimental set up for electron beam arbitrary shaping on a brand-new UTEM developed at CEMES [3]. This UTEM has been equipped with two sample stages, which would enable us to use the shaped electron beam to probe a sample of interest. This presentation will focus on the development of the optical set up and numerical simulations of the electron beam shaping capabilities.

Figure 1 : Ultrafast Transmission Electron Microscope and PINEM schematics



Références :

[1] Andrea Konečná and F. Javier García De Abajo. Electron Beam Aberration Correction Using Optical Near Fields. *Physical Review Letters*, 125(3):030801, July 2020.

[2] Ivan Madan, Veronica Leccese, Adam Mazur, Francesco Barantani, Thomas LaGrange, Alexey Sapozhnik, Phoebe M. Tengdin, Simone Gargiulo, Enzo Rotunno, Jean-Christophe Olaya, Ido Kaminer, Vincenzo Grillo, F.

Javier García De Abajo, Fabrizio Carbone, and Giovanni Maria Vanacore. Ultrafast Transverse Modulation of Free Electrons by Interaction with Shaped Optical Fields. *ACS Photonics*, 9(10):3215–3224, October 2022.

[3] Houdellier F, Caruso GM, Weber S, Kociak M, Arbouet A. Development of a high brightness ultrafast Transmission Electron Microscope based on a laser-driven cold field emission source. *Ultramicroscopy*. 2018 Mar;186:128-138. doi: 10.1016/j.ultramic.2017.12.015. Epub 2017 Dec 27. PMID: 29306810.

Adresse mail : valentin.rollo@cemes.fr

***In situ* annealing of porous YVO₄ nano crystals**

Weixi WANG¹, Wadhwa Ritika², Kassioyé Dembélé¹, Jean-Luc Maurice¹

¹ Laboratoire de Physique des Interfaces et Couches Minces, École polytechnique, CNRS, IP Paris, 91120 Palaiseau, France

² Laboratoire de Physique de la Matière Condensée, École polytechnique, CNRS, IP Paris, 91120 Palaiseau, France

Session : Material Science Session, techniques resolved in time

Eu-doped YVO₄ is a luminescent rare earth. Porous structures have formed by colloidal synthesis of Eu-YVO₄ nanocrystals, and uncontrolled porosity develops during annealing, which affects their luminescent properties [1]. This work studies the structure evolution of YVO₄ nanocrystals under controlled temperature and atmosphere via *in situ* TEM. The as-synthesized nanocrystals exhibits a spindle shape with some small pores and a monocrystalline YVO₄ structure. Upon *in situ* annealing in a mixture of N₂ and O₂ at 1000 °C, elongated pores grow along the long axis inside the nanocrystals while maintaining the monocrystalline YVO₄ structure. Whereas annealing in vacuum at 1000 °C results in nanocrystals with an open surface and irregular pores. *In situ* annealing in N₂ at 1000 °C reveals that in an oxygen-deficient environment promotes the formation of irregular pores and induces a phase transition to YVO₃. These findings provide insights into the controlled tuning of porosity and phase transitions in rare-earth luminescent materials.

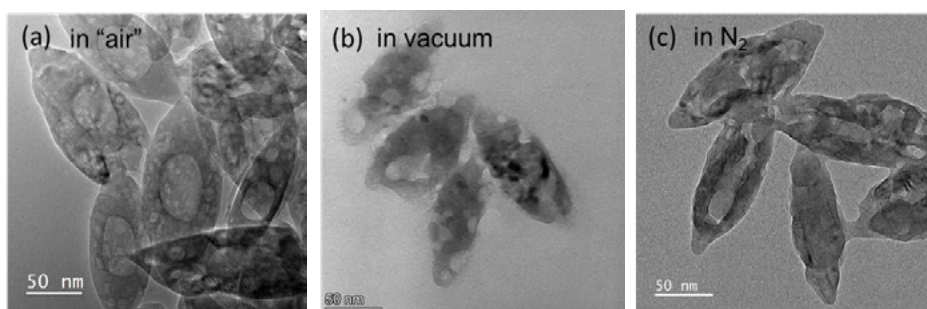


Figure 1 : *In situ* annealing of YVO₄ nano crystals in air, in vacuum and in N₂ at 1000 °C

Références : exemple de format ci-dessous

[1] Maurin, *et al.* Journal of Materials Chemistry C, **1** (2013): 13-22

Adresse mail : weixi.wang@polytechnique.edu

STRATEGIES DE CRYO-PREPARATION FIB ET CRYO-TRANSFERT POUR SONDE ATOMIQUE

Emmanuel CADEL¹, Fabien CUVILLY¹

¹ Univ Rouen Normandie, INSA Rouen Normandie, CNRS, Normandie Univ, GPM UMR 6634, F-76000 Rouen, France

Session : Multitechniques - approches multiphysiques

Dès l'essor de la sonde atomique tomographique (SAT) pulsée laser, les techniques classiques de "Lift-out" par MEB-FIB ont contribué à l'ouverture de la SAT aux matériaux semi-conducteurs par le développement de préparations localisées pour les pointes de SAT [1].

Outre les dégâts d'amorphisation ou d'implantation, l'échauffement local généré par un faisceau d'ions Gallium ou Xenon contribue à dénaturer l'extrême surface du matériau usiné, limitant le développement de ces applications sur les matériaux extrêmement sensibles.

Les techniques de Cryo-FIB permettent aujourd'hui de minimiser ces artefacts de préparation pour l'usinage des matériaux [2]. Associés à des outils de transfert UHV-Cryo, du MEB-FIB à la SAT (Figure 1), le couplage de ces deux solutions ouvre la sonde atomique à de nouveaux domaines d'application : les matériaux organiques, les interfaces liquide-solide [3], les polymères, les cellules photovoltaïques, les matériaux pour le stockage d'Hydrogène [4], ...

Nous présenterons ici les stratégies de Cryo-préparation et de Cryo-transfert d'échantillons pour l'analyse de matériaux sensibles par SAT (Figure 2). Les facteurs limitants, liés à la température cryogénique de l'échantillon, ainsi que les solutions proposées pour la préparation et le transfert seront abordés.

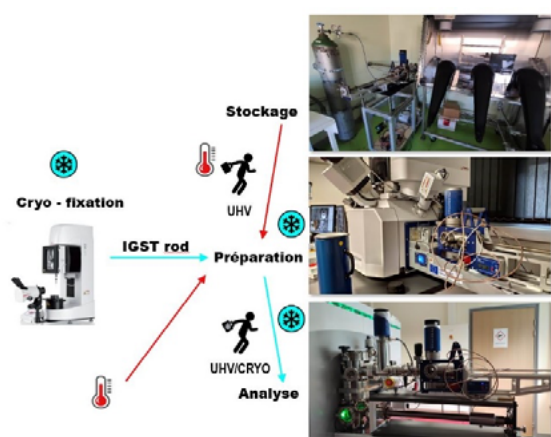


Figure 1 : "Workflow" Cryo MEB-FIB / SAT

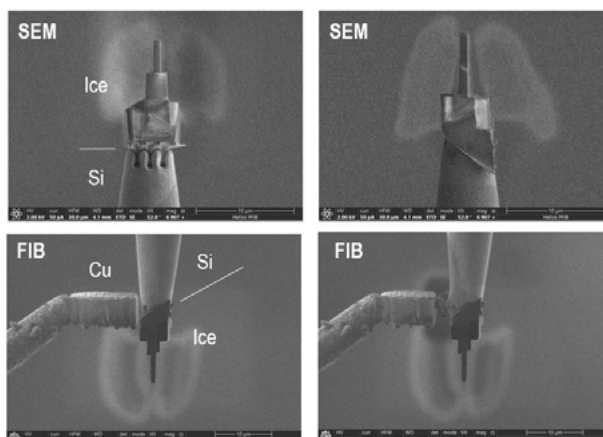


Figure 2 : Procédure Lift-Out à température Cryo

Références :

- [1] M.K. Miller, *et al.* Ultramicroscopy 102 (2005) : 287-298
- [2] Y. Chang, *et al.* Nature Communications 10, article number 942 (2019) : 1-10
- [3] D.E. Perea, *et al.* Materials Degradation 4, article number 8 (2020) : 1-7
- [4] B. Gault, *et al.* Microscopy and Microanalysis 30 (2024) : 1205-1220

Adresse mail : emmanuel.cadel@univ-rouen.fr ; fabien.cuvilly@univ-rouen.fr

NANOPARTICLE-DOPED OPTICAL FIBERS MODIFIED BY FEMTOSECOND LASER FOR NEW SENSOR APPLICATIONS

Floriane PELLERIN¹, Martiane CABIE², Thomas NEISIUS², Franck PIGEONNEAU³, Geoffroy AUBRY¹,
Matthieu BELLEC¹, Wilfried BLANC¹

¹ Université Côte d'Azur, CNRS, INPHYNI, France

² Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Med, FSCM, Marseille, France

³ Mines ParisTech, PSL Research University, CEMEF-Centre for Material Forming, UMR 7635, Sophia-Antipolis, France

Session SdM : Multitechniques – approches multiphysiques

Recently, optical fibers containing nanoparticles inside their cores have demonstrated a great interest for the development of new sensors [1,2]. This is due to their properties of light scattering linked to nanoparticle characteristics (size, density, ...). Nevertheless, the development of this type of sensors remains limited due to the lack of reliable processes to control the characteristics of the nanoparticles and the difficulties of working on small spatial scales. Here, we propose a process based on femtosecond laser structuring. This process is using local laser heating, via the nonlinear multi-photon absorption processes, that modify the characteristics of the nanoparticles and therefore the light scattering in these nanoparticle-doped fibers. Electron microscopy techniques as SEM, STEM/EDX and FIB/SEM tomography were used to characterise nanoparticles in the area modified by the laser. After irradiation, the change of the optical properties, in particular the backscattered signal, was measured using an optical backscatter reflectometer.

Our study is performed on lanthanum-silicate nanoparticle-doped optical fibers. The fiber diameter is 125 μm and the fiber core diameter containing the La-rich particles is around 8 μm as seen on the SEM image of a transversal section of the fiber (Fig. 1.a). The fibers were irradiated with a high repetition rate femtosecond laser emitting at 515 nm. The energy per pulse is 130 nJ. The laser is focused at the periphery of the core. As seen in figure 1.b, particles have melted in the irradiated zone. A 3D view of the irradiated zone was reconstructed after analysing this area by FIB/SEM tomography (Fig. 1.c.). The modifications observed will be discussed considering laser-mater interaction and thermodynamic effects.

This process demonstrates the possibility of adjusting the nanoparticles characteristics in order to adapt the optical loss to the length of the sensor envisaged.

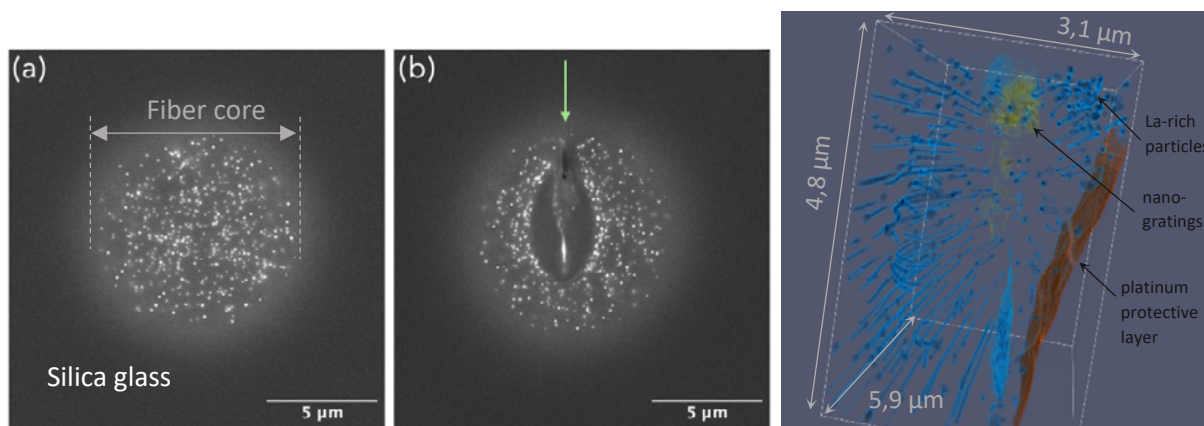


Figure 1 : BSE-SEM images of the transverse section of nanoparticle-doped optical fiber a) before and b) after irradiation by a femtosecond laser (the propagation direction of the laser is represented by the green arrow). c) 3D view of the irradiated zone analysed by FIB/SEM tomography.

Références :

[1] Blanc, *et al.* Optical Materials Express **12** (2022): 2635-2652

[2] Issatayeva, *et al.* Scientific Reports **11** (2021): 8609

Adresse mail : martiane.cabie@univ-amu.fr

COMPARATIVE ANALYSIS OF ELECTRON MICROSCOPY TECHNIQUES FOR HYDROGEL MICROARCHITECTURE CHARACTERIZATION : SEM, CRYOSEM, ESEM AND TEM

Marwan PUAUD¹, Jeanne MINVIELLE MONCLA^{1,3}, Jeanne AIGOIN¹, Bruno PAYRE², Mélanie ESCUDERO^{1,3}, Dominique GOUDOUNECHE², Daniel FERRI-ANGULO¹, Pierre-François CALMON¹, Christophe GUISSARD³, Laurence VAYSSE³, Philippe KEMOUN^{3,4,5}, Laurent MALAQUIN¹, Julie FONCY¹

¹ LAAS-CNRS, Toulouse

² CMEAB, Université de Toulouse, Toulouse

³ RESTORE Research Center, Université de Toulouse

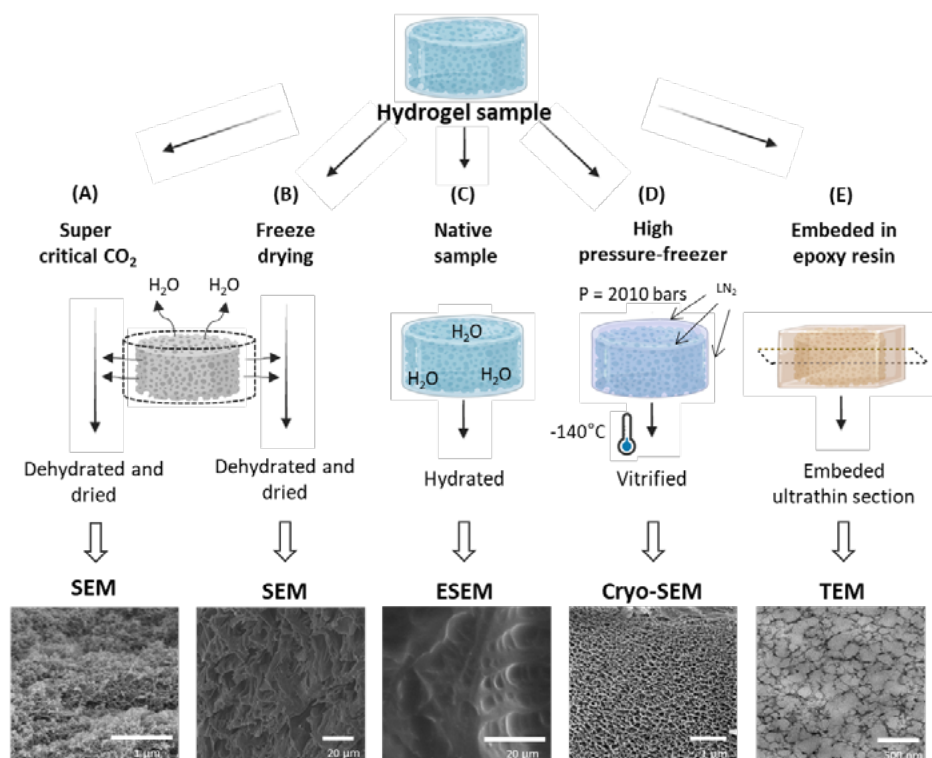
⁴ Université de Toulouse, Département Dentaire, Toulouse

⁵ CHU Toulouse, Service d'Odontologie, Toulouse

Session SdM: Multitechniques - approches multiphysiques

Hydrogels are a highly versatile class of materials widely used in the medical field, particularly in biomedical engineering, drug delivery, and tissue engineering. To better understand the relationship between the complex structural properties of hydrogels and their putative interactions with cells when combined, it is essential to analyze their structure and morphology in detail. In this study, four electron microscopy techniques are compared, including the sample preparation methods for each one: Scanning Electron Microscopy (SEM), Cryo-Scanning Electron Microscopy (Cryo-SEM), Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM). This comparative analysis aims to select the most suitable technique that will ensure preservation of the material's native state while obtaining high-resolution images. Based on this work, we propose a method built around machine learning tools for the quantitative analysis of TEM images to characterize and compare the network features of two semi-synthetic methacrylated hydrogels: Gelatin Methacrylate (GelMA) and Hyaluronic Acid Methacrylate (HAMA).

(i) Hydrogel micro-architecture observation by electronic microscopy



(ii) TEM images analysis

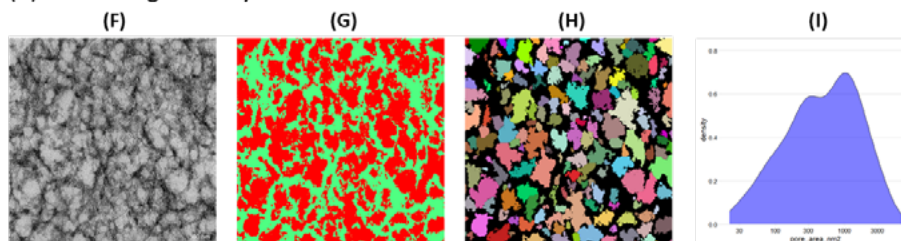


Figure 1: (i) Electron-based imaging techniques for hydrogels. Standard scanning electron microscopy (SEM) relies on sample dehydration and drying, including super critical CO₂ (A) or freeze-drying (B) followed by metal coating. Environmental SEM (ESEM) (C) does not require a particular sample preparation, as it remains hydrated within a humidified chamber. In cryogenic SEM (Cryo-SEM) (D), samples are vitrified using high-pressure freezer. For TEM (E) imaging sample are fixed with glutaraldehyde, dehydrated without drying and embedded in an epoxy resin before sliced into ultra-thin sections, usually less than 100 nanometers in thickness (70 nm). (ii) TEM imaging and treatment : (F) Raw image, (G) Trainable Weka Segmentation¹ output, (H) Distance Transform Watershed² output and (I) Measured areas distribution.

Références :

- [1] Arganda-Carreras, I. et al. Bioinformatics **33** (2017): 2424–2426
- [2] Legland, D., Arganda-Carreras, I. & Andrey, P. Bioinformatics **32** (2016): 3532–3534

Adresse mail : marwan.puaud@laas.fr

STUDY ON VOID FORMATION AND GROWTH IN GE-RICH N-DOPED GESBTE ALLOYS USING CALIBRATED TEM IMAGING AND EELS TECHNIQUES

Minh Anh LUONG, Sijia RAN, Saha SABYASACHI, Nikolay CHERKASHIN and Alain CLAVERIE

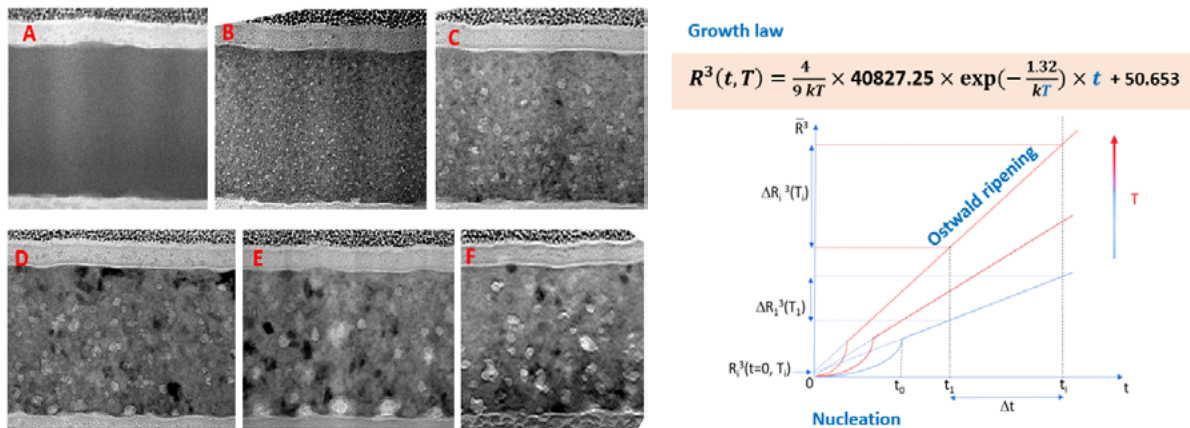
CEMES-CNRS and University of Toulouse, 29 Rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse, France

Session : SDM2 (Mesure quantitative de propriétés par faisceau d'électrons), SDM4 (Multitechniques - approches multiphysiques).

Texte de l'abstract :

Non-volatile phase change memories (PCMs) based on GeSbTe alloys are being investigated for data storage and embedded components in automotive applications [1-3]. While considerable focus has been placed on understanding structural and chemical evolution during the amorphous-to-crystalline phase transition, less attention has been given to device failure mechanisms related to structural degradation after millions of switching cycles. Initial studies on mushroom- PCM cells have revealed formation of voids between the bottom electrode and the active phase-switching region, disrupting the electrical pathway. We have studied in detail void formation and evolution in a Si(100)/N-doped Ge-rich GeSbTe (NGGST)/SiN thin film structure. We have systematically investigated the void size and density in samples subjected to isothermal and isochronal annealing. The evolution of film thickness was measured with high accuracy using a self-developed and fully calibrated TEM method. We observed that voids nucleate in the amorphous NGGST layer during phase separation prior to crystallization. The NGGST layer densifies, shrinking in thickness by approximately 2%. In contrast, the NGGST layer expands by 5-6% during crystallisation. During isothermal annealing, voids do not migrate but increase in size and decrease in density while the volume fraction remains constant about 4-5%. Voids grow following the Ostwald ripening mechanism, where small voids shrink while larger voids grow. The activation energy associated to the void growth, extracted from the isochronal annealing, was about 1.32eV. The growth law describing void evolution as a function of temperature and time was derived (Figure 1). Chemical analysis using STEM-EELS reveals that the voids are filled with argon, the vector gas used by sputtering process. This study provides valuable insights into the thermal behaviour of voids in NGGST materials, including the initial shrinking followed by expansion of the NGGST layer upon crystallization, the statistical analysis of void's size/density and volume fraction, and the growth law.

Figure 1: (A-F) Defocused, magnification-calibrated bright field TEM images of voids in Si/NGGST/SiN samples annealed at various temperatures and durations. The figure on the right shows the growth law derived from the change of size measured during isothermal and isochronal annealing, illustrating the dependence of void size on time and temperature.



Références :

- [1] RAHIER et al., ACS Appl. Electron. Mater. 2022, 4, 6, 2682–2688.
- [2] LUONG et al. Physica Rapid Research Ltrs. 2024, 2300421.
- [3] RAN et al., BIO Web of Conferences 129, 24011 (2024).

Adresse mail : minh-anh.luong@cemes.fr, nikolay.cherkashin@cemes.fr

**ETUDES DES JOINTS DE GRAINS PAR S/TEM APRES DENSIFICATION D'UNE CERAMIQUE
CONDUCTRICE DE PROTONS : $\text{BaZr}_{0.7}\text{Ce}_{0.2}\text{Y}_{0.1}\text{O}_{3-\delta}$**

Nicolas GAUTIER¹, Pablo CASTELLANI¹, Éric QUAREZ¹, Clément NICOLLET¹, Paul PERS², Gilles
TAILLADES², Olivier JOUBERT¹, Annie LE GAL LA SALLE¹

¹ Nantes Université, CNRS, Institut des Matériaux de Nantes Jean Rouxel, IMN, 2 rue de la
Houssinière, F-44000, Nantes, France

² Institut Charles Gerhardt de Montpellier, ICGM, 1919 route de Mende, 34293, Montpellier, France

Session : Session SdM : Multitechniques / approches multiphysiques

La céramique $\text{BaZr}_{0.7}\text{Ce}_{0.2}\text{Y}_{0.1}\text{O}_{3-\delta}$ présente une bonne conductivité protonique à moyenne température (500-600°C) ce qui la rend particulièrement intéressante pour une application comme électrolyte pour les piles à combustible ou les électrolyseurs tout solide (Proton Ceramic Fuel Cell ou Electrolyser Cell : PCFC ou PCEC). Cependant, le frittage reste le problème majeur de ce matériau céramique hautement réfractaire. Si on arrive actuellement à densifier ce type de matériau à 1600°C, il est nécessaire de réduire la température de frittage en deçà de 1400°C pour limiter les coûts de traitement et les contraintes thermiques.

Dans cette étude ^[1], 3 protocoles de frittage permettant d'abaisser la température tout en préservant la densification du matériau ont été étudiés : le procédé conventionnel, un processus de frittage à froid (CSP) ^[2] et un procédé utilisant une aide au frittage de synthèse, le ZnO ^[3] dopé au Li. Ces différentes méthodes de densification ont un impact direct sur la croissance des grains. Or, à basse température, la conductivité ionique aux joints de grains représente le facteur limitant de la conduction protonique. Une analyse approfondie par S/TEM des caractéristiques chimiques et morphologiques a été réalisée pour chacun des protocoles de frittage. Les différents échantillons frittés sous forme de pastilles ont été préparés par FIB afin de préserver au mieux la structure interne du matériau.

Des cartographies EDX, réalisées au niveau des joints de grains, ont montré que l'utilisation du ZnO-Li favorise la densification, mais influence aussi la chimie des joints de grains et leur épaisseur. Les analyses de l'échantillon conventionnel et de l'échantillon CSP montrent un joint de grain plus épais mais une répartition homogène des éléments. Or il a été démontré que ces variations chimiques et morphologiques ont une influence directe sur la conductivité au joint de grains ^[4].

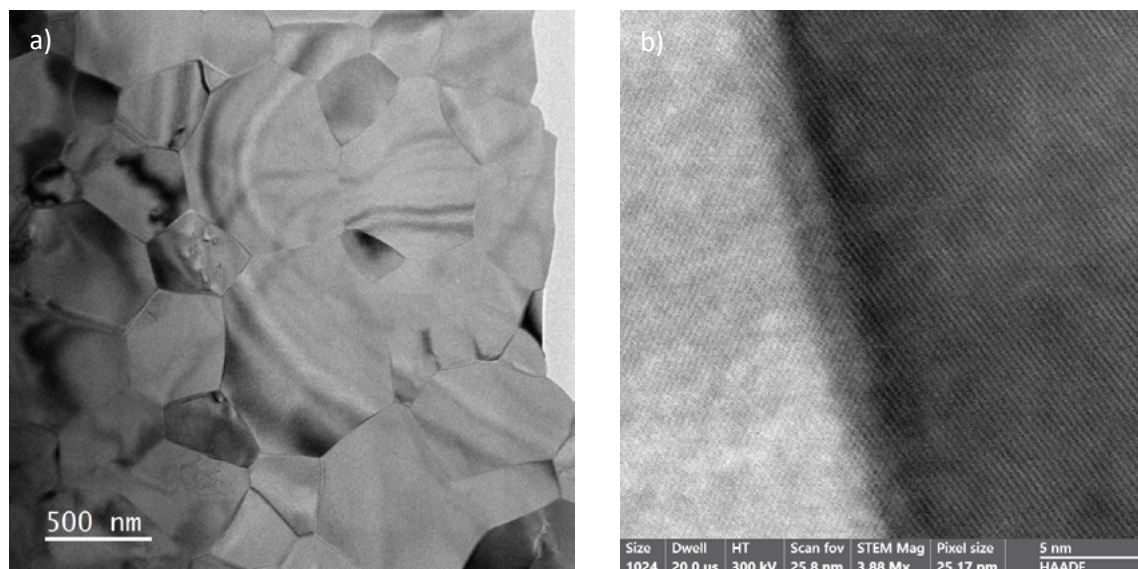


Figure 1 : Echantillon ZnO-Li après frittage, préparation par FIB. a) Image TEM mettant en évidence les différents grains b) Image STEM-HAADF d'un joint de grain.

Références :

- [1] P. Castellani *et al.* International Journal of Hydrogen Energy **54** (2024): 1343-1356
- [2] Y.Li *et al.* Ceram Int **44** (2018) : 15935–15943
- [3] J.Guo *et al.* Annu Rev Mater Res **49** (2019) : 275-295
- [4] R.Merkle *et al.* Annu Rev Mater Res **51** (2021) : 461–493

Adresse mail : nicolas.gautier@cnsr-imn.fr

IDENTIFICATION DES DEFAUTS OPTIQUEMENT ACTIFS DANS LES MIROIRS POUR MIEUX ENTENDRE LES CHUCHOTEMENTS DE L'ESPACE

Chaima BOUAFIF^{1,2}, Victor TRILLAUD², Karine MASENELLI-VARLOT², David HOFMAN¹, Matthieu COULON¹, Bérangère LESAINT², Thierry DOUILLARD², David ALBERTINI³, Benoît SASSOLAS¹

¹ IP2I Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, LMA, UMR5821, Villeurbanne, France

² INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, MATEIS, UMR5510, Villeurbanne, France

³ INSA Lyon, Ecole Centrale de Lyon, CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, CPE Lyon, INL, UMR5270, 9621 Villeurbanne, France

Session : SdM : Multitechniques – approches multiphysiques

Les détecteurs d'ondes gravitationnelles Advanced LIGO et Advanced Virgo sont des interféromètres de Michelson. Dans chaque bras, des miroirs constituent des interféromètres de Fabry-Pérot. Les miroirs sont les éléments clés pour la détection des ondes gravitationnelles. Ils sont constitués d'un empilement de différentes couches amorphes déposées par pulvérisation ionique sur un substrat en silice surfondue. Malgré leur excellente qualité, des défauts à la surface des miroirs diffusent la lumière laser (infrarouge, de longueur d'onde 104 nm), ce qui limite la sensibilité des détecteurs d'ondes gravitationnelles.

Dans le but de réduire le nombre de défauts à la surface des miroirs, nous présentons ici un protocole permettant d'étudier les défauts présents à la surface d'un miroir composé d'une seule couche de Ta₂O₅. Ce protocole a été mis au point pour tenir compte de la spécificité des échantillons : ils sont épais, transparents, isolants électriquement, parfaitement plans, et la surface utile des miroirs doit être préservée.

Nous montrerons tout d'abord comment les défauts sont mis en évidence par microscopie optique en champ sombre. Nous détaillerons ensuite la méthode utilisée pour les retrouver en microscopie électronique à balayage. En se basant sur la forme des défauts, leur taille et leur composition chimique, et en accord avec la littérature [1], nous proposerons une classification des différents défauts présents à la surface des miroirs. L'analyse sera complétée par des observations en AFM et en FIB/SEM pour obtenir une localisation plus précise des défauts dans le miroir [2].

Références : exemple de format ci-dessous

[1] Panjan, *et al.* Coatings 10 (2020): 47

[2] Les auteurs remercient le Consortium Lyon Saint-Etienne de Microscopie pour l'accès aux microscopes, et l'ANR pour l'aide financière (projet X-LOSM, n° ANR-23-CE08-0027-02)

Adresse mail : bouafif@lma.in2p3.fr

Correlative microscopic study of compositional, morphological and optical properties of photovoltaic devices based on InGaN quantum wells

M. Trendel¹, F. Exertier¹, M. Nicoletto², J. Houard¹, A. Vella¹, M. Buffolo², M. Meneghini², L. Rigutti¹

¹ Groupe de Physique des Matériaux, CNRS, University of Rouen Normandie, 76000 Rouen, France.

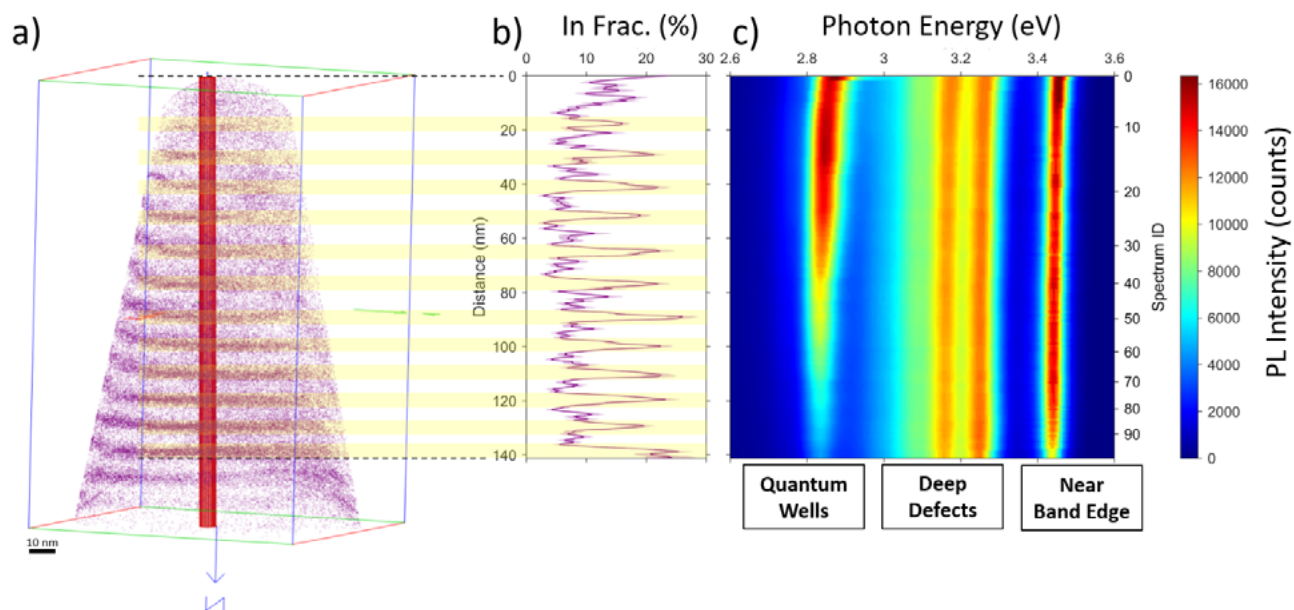
²Department of Information Engineering, University of Padova, 35131 Padova, Italy

Session : SDM4 : Multitechniques - Multiphysics approaches

We present a multi-microscopy correlative study of photovoltaic devices based on InGaN quantum wells, utilizing TEM- and SEM-based cathodoluminescence (CL) and Photonic Atom Probe (PAP) analysis [1]. This approach aims to localize specific defects, such as V-pits and trenches, using correlated electronic microscope images and CL hyperspectral maps, followed by PAP analysis of the identified volumes. A key feature of this technique is the measurement of photoluminescence (PL) from a sample tip during Laser-Assisted Atom Probe (La-APT) analysis, where the femtosecond laser pulse excites free charge carriers, and their recombination produces the PL signal. While PAP has been applied to study III-N and InGaN heterostructures [2], [3], using hyperspectral CL to localize regions of interest enables correlating optical signatures with the 3D distribution of chemical species at the nanoscale, offering high spatial resolution.

Our results demonstrate the potential of this approach, as most specimens can undergo the entire analysis process. However, challenges remain in precisely targeting and localizing defects within the field emission tips for PAP analysis. Despite this, the protocol is robust, as CL distinguishes defective areas, and PAP enables unambiguous attribution of PL spectral signatures to various device layers, including quantum wells in defective regions and GaN with different purity. The implications of these measurements for device operation and growth will also be discussed.

Additionally, we use Nextnano software to simulate electron and hole wavefunctions in strained semiconductors, relevant for APT analysis. The software allows us to calculate the electronic bandgap and analyze its variation with strain, while also exploring the quantum-confined Stark effect (QCSE), which affects carrier localization and electronic behavior. These simulations provide a better understanding of the effects of deformation during atom probe analysis, offering valuable insights into this 3-dimensional microscopic analysis technique.



Photonic Atom Probe analysis of an InGaN/GaN multi-quantum well structure (a) Reconstructed position of In atoms issued from the APT analysis (b) Composition profile along the sample axis and (c) Set of PL spectra recorded in situ during the APT analysis.

References:

- [1] J. Houard et al., Review of Scientific Instruments, vol. 91, no 8, p. 083704, (2020), doi: 10.1063/5.0012359.
- [2] I. Dimkou et al., ACS Appl. Nano Mater., vol. 3, no 10, p. 10133-10143, (2020), doi: 10.1021/acsnm.0c02106.
- [3] I. Dimkou et al, Microscopy and Microanalysis, vol. 29, no 2, p. 451-458, (2023), doi: 10.1093/micmic/ozac051.

Adresse mail : mathilde.trendel@univ-rouen.fr

A METHODOLOGY FOR TEM-APT CORRELATIVE MICROSCOPY: APPLICATION TO NUCLEAR STEELS

Alexandre RAKOTOMIZAO, Solène ROULAND, Bertrand RADIGUET, Cristelle PAREIGE

Univ Rouen Normandie, INSA Rouen Normandie, CNRS, Normandie Univ, GPM UMR 6634, F-76000 Rouen, France

Session : Session SdM : Multi-techniques, approche multiphysique

Correlative microscopy combines complementary techniques to analyze a single object. Transmission electron microscopy (TEM) and atom probe tomography (APT) are commonly used to study nanostructured materials. APT provides information on chemistry, 3D morphology, and size distributions, especially for the smallest objects. TEM, in contrast, offers insights into crystalline structures, chemistry (with signal convolution from the surrounding matrix), morphology (2D projection), and size distributions (often truncated below resolution limits). To overcome instruments limitations and fully characterize microstructures, both techniques are applied on the same sample.

Correlative TEM-APT [1] imposes constraints on TEM sample preparation. Unlike thin foils in TEM, APT examines a needle with a curvature radius of a few tens of nanometers, leading to thickness variations that can complicate contrast interpretation of TEM images. Focused ion beam is sometimes required for specimen preparation, but it introduces radiation damage. This issue is mitigated using low-voltage Ar⁺ ion cryo-milling with PIPS II (GATAN) [2] and optimized milling geometry for the final cleaning step.

Crystallographic poles in APT ensure reliable reconstructions but are not always present. In such cases, dynamic reconstruction is preferable [3]. Correlation challenges arise as crystal defects do not always exhibit chemical signatures. As alignments are easier if the information is similar, X-ray energy dispersive spectroscopy mapping without tilt is performed. Additionally, principal component analysis is used to limit acquisition time and reduce carbon contamination, which increases fracture risk in APT analysis.

This presentation details the methodology developed for TEM-APT correlative microscopy, applied to thermally aged ferrite from duplex steel and ion-irradiated bainitic steel weld. This combination of techniques plays a key role in elucidating nano-object formation in nuclear steels which is essential to maintain the long-term integrity of nuclear components.

Références :

- [1] Herbig et al., 2015. Ultramicroscopy.
- [2] Legras et al., 2016. EMC Proceedings.
- [3] Hatzoglou et al., 2019. Ultramicroscopy.

Adresse mail : solene.rouland@univ-rouen.fr

Marie Skłodowska-Curie Actions; Post-Doctoral Programme in Toulouse: AToUT

Develop your **own project**:

Interdisciplinary, international, intersectoral research;
in any of Toulouse's **143 labs**

Open to applicants of **all nationalities** (MSCA mobility rules)
holding a PhD



- Fully funded **postdoctoral positions for 2 years**

Substantial funding of research costs and mobility



- **Competitive salary & benefits**

Health care, family allowance, travel allowance



Strong career development programme through:

Mentoring, General meeting, Scientific animation and Continuing education,
to rise Professional, Soft, Scientific and Personal skills



AToUT's Post-Doctoral fellowship program

atout@univ-toulouse.fr

