

Microscopie corrélative intégrée : fluorescence et microscopie électronique à balayage (iLSEM)

I. Pignot-Paintrand^{1,2}, K. Monier³, L. Voortman⁴, B. Burdin⁵ et J-P Chauvin⁶

¹ Univ. Grenoble Alpes, LMGP, F-38000 Grenoble, France

² CNRS, LMGP, F-38000 Grenoble, France

³ Laboratoire Joliot Curie, CNRS UMS 3010, ENS, F-69000 Lyon, France

⁴ Société Delmic, 2629 JA Delft, Netherlands

⁵ CTμ, UCB, F-69000 Lyon, France

⁶ Institut de Biologie du Développement de Marseille, UMR 7288, 13288 Marseille cedex 9, France

Différentes modalités de CLEM (Correlative Light Electron Microscopy) ont été rapportées, mais il faut savoir que toutes ces approches sont de façon générale un véritable challenge à plusieurs point de vue : 1) pour retrouver la région d'intérêt, 2) pour aligner avec précision les images de microscopie électronique et de microscopie optique, 3) pour collecter des données sur plusieurs structures, 4) requiert des utilisateurs expérimentés tant en microscopie photonique qu'en microscopie électronique. Une nouvelle stratégie permettant de réaliser de la microscopie corrélative intégrée, iCLEM, a été récemment développée, elle permet de réaliser la microscopie photonique à fluorescence et la microscopie électronique à balayage de l'échantillon dans le même microscope. L'avantage de la stratégie iCLEM est de pouvoir passer directement d'une modalité d'imagerie à une autre sur l'échantillon. Grâce à un système d'auto-alignement des 2 modalités d'imagerie, les 2 images sont directement superposables et le résultat est visualisé avec une précision de 50 nm. Cette stratégie intégrée est avantageuse en termes de gain de temps et du nombre accru de cellules analysables par rapport à la stratégie en deux temps. Nous rapportons les observations, de plusieurs types d'échantillons, réalisées en microscopie intégrée à l'aide de la plateforme SECOM insérée dans un MEB-FEG Quanta 250 FEI.