



Nonlinear optical microscopy to visualize the architecture of connective tissues

Photonics Numerical and Nanosciences Laboratory (LP2N) - <https://www.lp2n.institutoptique.fr/>
IOGS - CNRS - University of Bordeaux, 1 rue François Mitterrand, 33400 Talence

Context - The mechanical properties of biological systems play a complex role in determining the physiological functions of tissues and appear to be dominant factors in many processes of development, homeostasis and pathology. Interestingly, tissues with properties as different as bone, skin or tendon are mainly composed of the same elementary units. Hence, their specific mechanical properties are directly linked to their sub-microscopic organisation. Nowadays, understanding the structure/function link in connective tissues faces the challenge of probing the multiple scales involved in constructing macroscopic properties from individual structures in highly complex samples. Indeed, standard techniques remains either invasive, limited to the surface, or not sufficiently resolving. The advent of multiphoton microscopy, based on the nonlinear interaction between laser pulses and the constituents of biological samples, has revolutionised the way we observe living organisms. Notably, Second Harmonic Generation (SHG) microscopy has recently emerged as the gold standard for collagen imaging in thick samples, enabling label-free visualization of fibrillar distribution with high intrinsic specificity and sub-micron resolution.

Objective - In this context, the aim of the research project is to implement a multimodal imaging platform, compatible with simultaneous mechanical assay, to probe the multiscale morpho-mechanical properties of connective tissues. **The first step, which is the objective of this Master project, is to set up a state-of-the-art SHG microscope.** Upon operational, this instrument will be validated on **mouse vocal folds** by probing and quantifying collagen architecture in the different layers, from *epithelium* to the *vocalis* muscle, through the *lamina propria*. As a proof-of-concept, monitoring fine changes after laser-induced lesions will demonstrate the potential of this method to characterize local alteration of the tissue at microscopic scale.

Environment - This project will take place in the Nano-BioMicroscopy team at **LP2N (Institut d'Optique d'Aquitaine)**. The team works at the crossroads between nanoscience, optics and bio-imaging to design and study innovative nanostructures and to investigate complex biological system at the nanoscale. In particular, the group has a well-known expertise in infrared imaging, super-resolution microscopy and single particle tracking.

Candidate - This project is **largely experimental** and involves aspects of nonlinear microscopy (femtosecond laser alignment, image acquisition), data analysis (ImageJ/Python/ Matlab) and basic tissue preparation. We are seeking for candidate with a background in **physics/experimental optics** and a strong motivation to work in an **interdisciplinary environment**. Notion in microscopy, programming (Python) and image/signal processing would be an asset.

To apply, please send a **CV**, a **motivation letter**, your **transcripts**, and at least one **reference letter** to Stéphane Bancelin (stephane.bancelin@cnrs.fr). Possibility to continue the project during a PhD with a secured ANR funding (project "HaBIm") to implement and validate the complementary imaging modalities (Brillouin and Raman).



Microscopie optique non linéaire pour visualiser l'architecture des tissus conjonctifs

Laboratoire Photonique Numérique et Nanosciences (LP2N) - <https://www.lp2n.institutoptique.fr/>
IOGS - CNRS - University of Bordeaux, 1 rue François Mitterrand, 33400 Talence

Contexte – Les propriétés mécaniques des systèmes biologiques jouent un rôle complexe dans la détermination des fonctions physiologiques des tissus, et apparaissent comme des facteurs dominants dans de nombreux processus de régénération ou pathologiques. A noter que des tissus aux propriétés aussi différentes que l'os, la peau ou la cornée sont principalement composés des mêmes unités élémentaires. Ainsi, leurs propriétés mécaniques spécifiques sont liées à leur organisation sub-microscopique. Aujourd'hui, la compréhension du lien structure/fonction dans ces tissus se heurte au défi de sonder, dans des échantillons complexes, les multiples échelles impliquées dans la formation des propriétés macroscopiques à partir de structures individuelles. En effet, les techniques standards demeurent soit invasives, soit limitées à la surface, soit trop peu résolutes. L'avènement de la microscopie multiphoton, basée sur l'interaction non-linéaire entre des impulsions lasers et les constituants des échantillons, a révolutionné notre façon d'observer le vivant. En particulier, la microscopie par génération du second harmonique (SHG) s'est récemment imposé comme la référence pour l'imagerie du collagène, permettant de visualiser sans marquage la distribution fibrillaire, avec une spécificité élevée et une résolution sub-micrométrique.

Objectif - Dans ce contexte, l'objectif de ce projet de recherche est de mettre en place une plateforme d'imagerie multimodale, compatible avec des essais mécaniques simultanés, pour sonder les propriétés morfo-mécaniques multi-échelles des tissus conjonctifs. La première étape, et objet de cette proposition de stage, vise à **construire un microscope SHG**. Une fois opérationnel, cet instrument sera validé sur des échantillons de **cordes vocales de souris** en sondant et en quantifiant l'architecture du collagène dans les différentes couches, de l'épithélium au muscle *vocalis*, en passant par la *lamina propria*. La preuve de principe sera réalisée en monitorant les modifications du tissu après des lésions induites par laser, démontrant le potentiel de cette méthode pour caractériser l'altération du tissu à l'échelle microscopique.

Environnement - Ce projet se déroulera au sein de l'équipe Nano-BioMicroscopie du **LP2N (Institut d'Optique d'Aquitaine)**. L'équipe travaille à la croisée des nanosciences, de l'optique et de la bio-imagerie pour concevoir des nanostructures innovantes et étudier des systèmes biologiques complexes à l'échelle nanométrique. En particulier, le groupe possède une expertise reconnue en imagerie infrarouge, en microscopie de super-résolution et en suivi de particules uniques.

Candidat(e) - Ce projet est **essentiellement expérimental** et implique des activités en microscopie non-linéaire (alignement laser, acquisition d'images), analyse de données (ImageJ /Python/ Matlab) et préparation d'échantillon. Nous cherchons un candidat ayant une formation en **physique/optique expérimentale** et une forte motivation à travailler dans un **environnement interdisciplinaire**. Des notions en microscopie, en programmation (Python) et en traitement du signal seraient un atout. Pour postuler, veuillez envoyer un **CV**, une **lettre de motivation**, vos **relevés de notes**, et au moins une **lettre de référence** à Stéphane Bancelin (stephane.bancelin@cnrs.fr). Possibilité de poursuivre en thèse, avec un financement ANR pour implémenter et valider les modalités d'imagerie complémentaires (Brillouin et Raman).