

Société Française des Microscopies

11^{ème} Colloque

Paris, Atrium, 22-26 juin 2009



Organisé en collaboration avec le GN-MEBA
et le Cercle Français de Pathologie Ultrastructurale



Partenaires institutionnels



Sponsors institutionnels



Sponsors industriels



Remerciements : Nous tenons à remercier l'ensemble des institutions et des sociétés qui par leur support financier ont contribué au succès de SF μ -2009.

| Lundi 22 juin | | | |
|------------------|--|--|---|
| 08.00-18.00 | Ateliers | | |
| Mardi 23 juin | | | |
| 08.00-12.00 | Ateliers | | |
| 12.30-14.00 | Accueil et installation des posters | | |
| 14.00-16.00 | Symposium commun : Microscopies avancées | | |
| 16.00-16.30 | Pause café et session posters | | |
| 16.30-18.00 | Inauguration de l'exposition : remise des prix Favard | | |
| 18.30-19.00 | Hommage à Nicolas Boisset | | |
| 20.30-22.00 | Concert du Choeur Symphonique de Paris | | |
| Mercredi 24 juin | | | |
| 08.30-09.30 | Microscopie et matériaux d'usage | Accueil GN-MEBA | Microscopie dyn. et quantit. du vivant |
| 09.30-10.30 | | Microscopie et métaux | |
| 10.30-11.00 | Pause café | | |
| 11.00-12.00 | Session posters 1 | Microscopie et métaux | Session posters 1 |
| 12.00-13.30 | Déjeuner | | |
| 13.30-15.30 | Microscopie dynam. en sci. des matériaux | Microscopie et minéraux | Microscopie photon. et élect. corrélative |
| 15.30-16.30 | Présentation des exposants - 1 | | |
| 16.30-17.00 | Pause | | |
| 17.00-18.30 | Symposium commun : Microscopies alternatives | | |
| 20.00-22.00 | Réception à la mairie du 5 ^{ème} arrondissement | | |
| Jeudi 25 juin | | | |
| 08.30-10.30 | Minéraux/Biomin. et environnement | Microscopie et êtres vivants | Microscopie de champs proche |
| 10.30-11.00 | Pause café, session posters et exposition | | |
| 11.00-12.00 | Présentation des exposants - 2 | | |
| 12.00-13.30 | Déjeuner et Session posters 2 Structure et prop. des nanomatériaux | Déjeuner | Déjeuner et Session posters 2 |
| 13.30-14.00 | | Microscopie et nouveaux matériaux | Cryo-microscopie e⁻ molécul. et cellul. |
| 14.00-16.00 | | | |
| 16.00-16.30 | Pause café, session posters et exposition | | |
| 16.30-17.30 | Assemblée générale Sf μ | | Assemblée générale SF μ |
| 17.30-18.00 | Présentation de METSA | | Présentation de METSA |
| 19.00-20.00 | Conférence grand public - cinquantenaire de la Sf μ | | |
| 20.00-21.00 | Coktail | | |
| 21.00-23.00 | Soirée de Gala | | |
| Vendredi 26 juin | | | |
| 08.30-10.30 | Imagerie de liaisons chim. sub-eV, sub-nm | | Compart. et dynam. cellulaire (CFPU) |
| 10.30-11.00 | Pause café et session posters | | |
| 11.00-13.00 | Symp. commun : Nouv. microscopies optiques et imag. plasmonique | | |

- Symposiums communs. Amphi 43
- Symposiums Physique/Matériaux. Amphi 45A
- Symposiums GN-MEBA / Matière molle. Salle RC 37 (Atrium)
- Symposiums Biologie / Matière molle. Amphi 45B

Table des matières

| | |
|--|----------------|
| Préface | p. 1 |
| Comité d'organisation et comités scientifiques | p. 2 |
| Liste des symposiums et des ateliers | p. 4 |
| Présentations des exposants | p. 5 |
| Présentation détaillée des ateliers | p. 6 |
| Présentation détaillée des symposiums | p. 12 - p. 33 |
| Symp. Hommage à Nicolas Boisset..... | p. 12 |
| Symp. Microscopies avancées | p. 12 |
| Symp. Microscopies alternatives | p. 14 |
| Symp. Nouvelles microscopies optiques et imagerie plasmonique..... | p. 15 |
| Symp. Microscopie dynamique et quantitative du vivant | p. 16 |
| Symp. Microscopie photonique et électronique corrélative | p. 16 |
| Symp. Microscopie de champs proche..... | p. 18 |
| Symp. Cryo-microscopie électronique moléculaire et cellulaire..... | p. 19 |
| Symp. Compartimentation et dynamique cellulaire (CFPU)..... | p. 21 |
| Symp. Microscopie et matériaux d'usage..... | p. 22 |
| Symp. Microscopie dynamique en Science des Matériaux..... | p. 24 |
| Symp. Minéraux/Biominéraux et environnement..... | p. 25 |
| Symp. Structure et propriétés des nanomatériaux..... | p. 26 |
| Symp. Imagerie de liaisons chimiques sub-eV et sub-nm..... | p. 29 |
| Symp. Microscopie et métaux..... | p. 30 |
| Symp. Microscopie et minéraux..... | p. 31 |
| Symp. Microscopie et êtres vivants | p. 32 |
| Symp. Microscopie et nouveaux matériaux..... | p. 33 |
| Recueil des résumés : | p. 35 - p. 355 |
| Index des auteurs : | p. 357 |

Préface

La région Ile de France a toujours été un des acteurs majeurs en microscopie au niveau national. À l'heure où tous les grands centres de recherche dans le monde misent sur ces technologies et s'équipent avec une nouvelle génération d'instruments, le dynamisme de la région s'est traduit récemment par l'installation de plusieurs microscopes équipés de correcteurs d'aberration sphérique du système condenseur et d'autres machines de dernière génération tant dans le milieu académique qu'industriel. Au sein de la plateforme de nanotechnologie de l'université Paris Diderot – Paris 7, l'année 2009 sera marquée par l'arrivée d'un microscope électronique de toute dernière génération équipé d'un correcteur objectif. L'ensemble de ces événements nous ont fortement motivé pour être les organisateurs du 11^{eme} congrès national de la Société Française des Microscopies. Pour cela, nous bénéficions d'une architecture assez exceptionnelle sur le site de Jussieu rénové et du soutien logistique et financier des **Universités Paris 7 et Paris 6**.

Nous avons souhaité que ce congrès soit résolument tourné vers les nouveaux développements technologiques, comme les **microscopies quantitatives**, la **microscopie corrigée des aberrations**, la **spectroscopie de pertes d'énergie**, la **tomographie électronique**, et les **microscopies corrélatives et intégratives** ainsi que les nouvelles méthodes de préparation d'échantillons. Le développement de ces techniques nous permettra d'aller plus loin dans la connaissance ultime de la matière qui nous entoure.

Ces dernières années, les sciences du vivant ont vu se développer de façon magistrale la tomographie électronique moléculaire et cellulaire en bénéficiant à la fois des développements algorithmique et technique comme les canons à émission de champ et les filtres en énergie. En parallèle, les sciences de la Terre utilisent de manière systématique la spectroscopie de pertes d'énergie des électrons en combinaison avec l'imagerie filtrée en énergie pour répondre à des enjeux majeurs de la géophysique de notre planète.

Nous espérons que ce congrès sera l'occasion d'échanges fructueux entre physiciens, biologistes et géologues sur toutes ces questions. Pour favoriser ces échanges, nous avons organisé trois symposiums communs qui feront le point sur les connaissances actuelles dans les domaines transdisciplinaires suivants :

- **Microscopies avancées : nouvelles percées en UHRTEM, EELS et tomographie**
- **Nouvelles microscopies optiques et plasmoniques**
- **Microscopies alternatives : sonde atomique, spectroscopie Raman...**

qui seront complétés, comme pour les précédents colloques, par des symposiums plus spécialisés couvrant l'ensemble des activités de notre communauté scientifique.

L'exposition de matériel qui accompagne traditionnellement notre colloque occupera une place importante pour permettre aux constructeurs de présenter leurs dernières nouveautés. Suivant l'exemple de Grenoble, c'est durant l'inauguration de l'exposition qu'aura lieu la remise des **prix Favard** récompensant les meilleures thèses soutenues durant les deux dernières années dont l'outil principal est la microscopie.

Ce colloque sera aussi l'occasion de rendre hommage à Nicolas Boisset, ancien président de la Sf μ , qui nous a quitté au début de l'année dernière. Cet hommage sera marqué par un symposium et un concert du choeur symphonique de Paris organisés à sa mémoire.

Enfin, durant ce congrès se tiendra la célébration du **cinquantenaire de la Sf μ** qui sera marqué par une réception aux Cordeliers, une conférence grand public sur l'histoire de la microscopie et de la Sf μ donnée par Christian Colliex et une soirée gala.

Christian RICOLLEAU
Président de Sf μ -2009

Marc SCHMUTZ
Président de la Sf μ

Comité d'organisation

Le comité d'organisation, présidé par Christian Ricolleau, est constitué des personnes suivantes :

Raul Arenal - CNRS/ONERA (Châtillon)
Anne-Line Auzende - U. Paris VI (Paris)
Paul Ballongue - U. Paris XI (Orsay)
François Brisset - U. Paris XI (Orsay)
Eric Le Cam - CNRS/Institut Gustave Roussy (Villejuif)
Jean-Philippe Couzinié - U. Paris XII (Creteil)
Mathieu Kociak - U. Paris XI (Orsay)
Cyril Langlois - U. Paris VII (Paris)
Eric Larquet - U. Paris VI (Paris)
Sylvie Lartigue - ICMPE CNRS (Vitry)
Jean-Pierre Lechaire - U. Paris VI (Paris)
Amélie Leforestier - U. Paris XI (Orsay)
Yann Le Bouar - CNRS/ONERA (Châtillon)
Nicolas Menguy - U. Paris VI (Paris)
Gervaise Mosser - U. Paris VI (Paris)
Christian Ricolleau - U. Paris VII (Paris)
Philippe Vermaut - ENSCP (Paris)

Secrétariat : **Patricia Vives** (SF μ)

Conseil Scientifique Biologie / Matière molle

Emmanuel Beaufrepaire - CNRS (Palaiseau)
Alain Brisson - U. Bordeaux (Bordeaux)
Denis Chrétien - U. Rennes I (Rennes)
Marek Haftek - U. Lyon (Lyon)
Slavica Jonic - IMPC (Paris)
Amélie Leforestier - LPS/CNRS (Orsay)
Sandrine Levêque-Fort - LPPM (Orsay)
Sergio Marco - Inst. Curie (Orsay)
Nadine Peyrieras - CNRS (Gif-sur-Yvette)
Graça Raposo - Inst. Curie (Paris)
Jean Salamero - Inst. Curie (Paris)
Anna Sartori - Inst. Pasteur (Paris)
Simon Scheuring - Inst. Curie (Paris)
Danièle Spehner - IGBMC (Strasbourg)

Conseil Scientifique Physique / Matériaux

François Brisset - U. Paris XI (Orsay)
Philippe Buffat - EPFL (Lausanne)
Marie Cheynet - SIMaP-CNRS (Grenoble)
Patrick Cordier - USTL (Lille)
Thierry Epicier - MATEIS (Lyon)
Florent Houdellier - CEMES/CNRS (Toulouse)
Laurent Legras - EDF (Les Renardières)
Annick Loiseau - ONERA/CNRS (Châtillon)
Nicolas Menguy - U. Paris VI (Paris)
Christian Ricolleau - U. Paris VII (Paris)
Hervé Rignault - Insitut Fresnel (Marseille)
Sylvie Rousset - U. Paris VII (Paris)
Odile Stéphan - U. Paris XI (Orsay)

Liste des Symposiums

| | |
|---|-------|
| 0 – Hommage à Nicolas Boisset | p. 12 |
| 1 – Microscopies avancées | p. 12 |
| 2 – Microscopies alternatives | p. 14 |
| 3 – Nouvelles microscopies optiques et imagerie plasmonique | p. 15 |
| 4 – Microscopie dynamique et quantitative du vivant | p. 16 |
| 5 – Microscopie photonique et électronique corrélative | p. 16 |
| 6 – Microscopie de champs proche | p. 18 |
| 7 – Cryo-microscopie électronique moléculaire et cellulaire | p. 19 |
| 8 – Compartimentation et dynamique cellulaire (CFPU) | p. 21 |
| 9 – Microscopie et matériaux d’usage | p. 22 |
| 10 – Microscopie dynamique en Science des Matériaux | p. 24 |
| 11 – Minéraux/Biominéraux et environnement | p. 25 |
| 12 – Structure et propriétés des nanomatériaux | p. 26 |
| 13 – Imagerie de liaisons chimiques sub-eV et sub-nm | p. 29 |

Liste des Symposiums GN-MEBA

| | |
|---|-------|
| 1 – Microscopie et métaux | p. 30 |
| 2 – Microscopie et minéraux | p. 31 |
| 3 – Microscopie et êtres vivants | p. 32 |
| 4 – Microscopie et nouveaux matériaux | p. 33 |

Liste des Ateliers

| | |
|---|-------|
| 1 – Correlative Light and Electron Microscopy (CLEM) | p. 6 |
| 2 – Cryo et Tomographie Electronique en Biologie Cellulaire | p. 6 |
| 3 – Cryo-Microscopie Electronique de sections vitreuses (CEMOVIS) | p. 7 |
| 4 – Microscopie de Force Atomique (AFM) | p. 7 |
| 5 – ULTRASTEM | p. 7 |
| 6 – Programmation Digital Micrograph | p. 8 |
| 7 – Cryo-Microscopie et Tomographie Moléculaire | p. 8 |
| 8 – Cryo-ultramicrotomie et immunomarquage | p. 10 |
| 9 – FIB | p. 9 |
| 10 – ASTAR (EBSD-MET) : cartographies rapides des orientations cristallines et des phases | p. 10 |

Présentations des exposants

Présentations des exposants. Sessions 1 et 2

Mercredi 23 juin, 15:30-16:30 — Jeudi 24 juin, 11:00-12:00 — Amphi 43

Deux sessions d'une heure sont réservées à la présentation de nouveautés par les exposants suivants :

JEOL (T. Oikawa, S. Asahina)

GATAN (D. Monville)

FEI (J.J. Dupuy)

ELEXIENCE (V. Sublet)

LEICA (F. Gilleron)

Programme des ateliers

Atelier: Correlative Light and Electron Microscopy (CLEM)

Du lundi 22 juin au mardi 23 juin matin — Imagopole, Institut Pasteur, Paris.

Animateurs: Anna Sartori (Institut Pasteur, Paris) et Béatrice Satiat Jeunemaitre (CNRS, Gif-sur-Yvette)

La microscopie corrélative optique / électronique permet la visualisation du même évènement en combinant les deux techniques de microscopie. Ce défi méthodologique doit prendre en compte les différentes contraintes inhérentes à chaque approche. Deux axes de prospection permettent l'établissement de nouveaux protocoles :

- le développement de techniques de marquage (sondes à la fois fluorescentes et opaques aux électrons) ;
- le développement de méthodes d'analyse pour observer le même évènement à des résolutions différentes.

Dans cet atelier, ces récents développements dans ce domaine seront présentés et discutés, leurs applications sur des systèmes modèles démontrées.

Atelier: Cryo et Tomographie Electronique en Biologie Cellulaire

Du lundi 22 juin 8h30 au mardi 23 juin 12h — Locaux du Service de Microscopie Electronique (SME) de l'IFR83 - Campus de l'Université Pierre et Marie Curie - Jussieu, Paris.

Animateurs: Jean-Pierre Lechaire (Université Pierre et Marie Curie, SNV Jussieu, Paris)

Intervenants: Thomas Boudier, Ghislaine Frébourg, Jean-Pierre Lechaire, Vincent Richard (Gatan)

Appareillage: cryo-MET JEOL 2100HC

Lundi 22 juin : Tomographie sur coupes épaisses.

08h30 Accueil

08h45 - 10h45 Exposés « Principes de base »

08h45 - 09h45 Techniques de préparation : cryofixation, cryosubstitution (JP Lechaire, G. Frébourg)

09h45 - 10h45 Principes de la tomographie (T. Boudier)

10h45 - 11h00 Pause café discussion

11h00 - 12h30 Acquisition 1 : séries d'images tiltées (+/- 60°) sur coupes épaisses de 200 nm, mode equal (G. Frébourg)

12h30 - 14h00 Repas

14h00 - 15h30 Acquisition 2 : séries d'images tiltées (+/-60°) sur coupes épaisses de 200 nm, mode Saxton (G. Frébourg)

15h30 - 16h00 Pause café discussion

16h00 - 17h00 Réalisation d'un tomogramme avec logiciels dédiés : TomoJ, IMOD (T. Boudier)

17h00 - 17h30 Démo « Digital Micrograph reconstruction » (V. Richard, Gatan).

Mardi 23 juin : Cryo-MET

09h00 -12h00 Observation en cryo-MET (G. Frébourg) virus : coloration cryo-négative, liposomes...

Atelier: Cryo-Microscopie Electronique de sections vitreuses (CEMOVIS)

Du lundi 22 juin 9h au mardi 23 juin 12h (3 demi-journées) — Locaux du Laboratoire de Physique des Solides - Université Paris Sud Orsay.

Animateurs: Amélie Leforestier (LPS, Université Paris Sud Orsay)

Intervenants: Amélie Leforestier, Jeril Degrouard et Nicolas Lemercier (LPS, Orsay), Frédéric Gilleron (LEICA), Helmut Gnaegi (Diatome, Bienne)

Appareillage: cryo-ultramicrotome (LEICA UC6 FC6) en atmosphère contr ol e ; TEM JEOL 2010 (200kV équipé d'un filament LaB6)

Après un bref exposé des principes de la méthode (cryo-fixation, cryo-microtomie et cryo-microscopie électronique), la partie pratique sera consacr e en alternance à :

- la réalisation de cryosections ultramines (30-50nm)   partir d'échantillons vitrifiés fournis par les organisateurs (levures)
- l'observation des coupes par cryo-TEM et l'acquisition d'images.

Atelier: Microscopie de Force Atomique (AFM)

Lundi 22 juin de 9h   18h — Institut Curie, Paris.

Animateurs: Simon Scheuring et Nikolay Buzhynskyy (Institut Curie, Paris)

Intervenants: Simon Scheuring, Nikolay Buzhynskyy

L'atelier comportera une partie théorique qui présentera les principes de l'AFM. La partie pratique permettra aux participants d'acquérir des images hautes résolution en milieu aqueux sur un échantillon : la bact riohodopsine en membrane pourpre. Les principales difficultés de la technique et leurs solutions seront abord es.

Atelier: ULTRASTEM

Lundi 22 juin de 9h   18h — Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, Orsay.

Animateurs: Katia March et Mathieu Kociak (Laboratoire de Physique des Solides, Orsay)

Appareillage: STEM NION (Corrigé du Cs)

Cet atelier a pour but d'introduire aux participants les bases de l'imagerie en mode microscopie électronique à balayage en transmission (STEM), ainsi que les bases de la spectroscopie de perte

d'énergie électronique (EELS) résolue spatialement (spectre-image, SPIM). Ces techniques ont en effet connu des avancées majeures ces dernières années, en particulier avec l'arrivée des correcteurs de Cs permettant d'obtenir des images spectrales de très haute résolution, allant jusqu'à la colonne atomique unique. L'atelier se composera d'une série de trois cours et deux travaux dirigés/démonstration sur microscopes. Les cours, qui auront lieu dans la matinée, seront les suivants:

- Introduction aux techniques d'imagerie STEM.
- Introduction à l'EELS.
- Introduction aux techniques d'imagerie spectrales SPIM.

Les travaux dirigés seront les suivants:

- SPIM à l'échelle nanométrique. Ce TP sera donné sur un STEM VG-HB501.
- Imagerie HAADF, BF et SPIM à l'échelle atomique. Ce TP sera donné sur un STEM NION (Corrigé du Cs)

Atelier: Programmation Digital Micrograph

Du lundi 22 juin à 14h au mardi 23 juin à 12h (2 demi-journées) — Bâtiment Hall des Farines (4ème et 5ème étages), 10-16 rue Françoise Dolto, Paris 13ème. Accès : escalier C.

Animateurs: Nadi Braidy (CNRS-ONERA Laboratoire d'Etude des Microstructures, Châtillon)

Intervenants: Nadi Braidy

Les données générées par la microscopie électronique sont de plus en plus volumineuses et complexes. D'une part, l'automatisation devient donc essentielle et d'autre part, des outils d'analyse adaptés sont désormais nécessaires afin de mener une analyse personnalisée et efficace.

Le logiciel Digital Micrograph (DM) de Gatan est l'outil le plus adapté pour l'acquisition et l'analyse de données expérimentales de microscopie électronique. En plus des outils de base, le logiciel offre la possibilité d'écrire et d'exécuter des scripts.

Cet atelier de formation couvrira les notions de base et certaines notions intermédiaires de la programmation DM. L'objectif de l'atelier est de connaître les possibilités et les limites de la programmation DM tout en survolant la nomenclature et les différentes structures de programmation (variables internes/externes, opérations, fonctions, dialogues, interface avec C++, prise en main d'un microscope). L'atelier sera ponctué de travaux pratiques en vue d'assimiler les notions enseignées.

L'atelier sera fortement inspiré de celui qui a été donné par Bernhard Schaffer (maintenant au SuperSTEM, Daresbury) et Bernd Kraus (Gatan, GmbH) à l'occasion du 5ème Workshop sur EELS/EFTEM, tenu à Vienne, du 27 au 29 septembre 2006. Pour un aperçu, visitez : http://www.felmi-zfe.tugraz.at/dm_scripts/welcome.html.

Atelier: Cryomicroscopie et Tomographie Moléculaire

Du lundi 22 juin à 9h au mardi 23 juin à 12h (voir programme) — Locaux de l'IMPMC: <http://www.lmcp.jussieu.fr/impmc/Joindre/index.php>.

Animateurs: Eric Larquet et Slavica Jonic

Lundi 22 juin : Lieu : Salle de Microscopie de l'IMPMC (Barre 14-24, Sous-Sol, Pièce n°5)

9h00 Accueil

9h30-10h30 Préparation des échantillons en Cryomicroscopie

- Vitrification d'un échantillon
- Cryotransfert

10h30-12h30 Initiation à l'observation en faible dose en électrons (mode Low-Dose)

- Optimisation de l'alignement d'un MET en mode Low-Dose
- Calibration des doses, observation et prise de vues
- Rappels des notions de bases de l'observation en contraste de phase
- Etude et optimisation des paramètres optiques intervenant dans la fonction de transfert

de contraste (FTC) du microscope

- Choix des séries focales, simulation de la FTC, notion de résolution
- Cohérence spatiale (réglage et optimisation du spot size)

12h30-14h00 Repas

14h00-18h00 Tomographie Moléculaire

- Prise de vues dans le cadre d'une « conical tilt reconstruction »
- Tomographie sur molécule unique (utilisation des logiciels Digital Micrograph Gatan et Serial EM)

18h00-19h00 Questions, tests à la demande ...

Mardi 23 juin : Salle de Modélisation et Bioinformatique (niveau -1 de l'Atrium)

9h00-12h00 Initiation au traitement d'images (Travaux Pratiques)

Analyse 2D

- Sélection manuelle et semi-automatique des particules
- Analyse Statistique Multivariée des images
- Classification Hierarchique Ascendante, regroupement par classes d'intérêts

Reconstruction 3D

- Random Conical tilt Reconstruction

Atelier: FIB

Du lundi 22 juin à 9h au mardi 23 juin à 12h (3 demi-journées) — Locaux de l'IMPMC:
<http://www.lmcp.jussieu.fr/impmc/Joindre/index.php>.

Animateurs: Nicolas MENGUY (Institut de minéralogie et de physique des milieux condensés (IMPMC), Jussieu, Paris)

Intervenants: Jean-Claude Menard et Imène Machouk (Carl ZEISS SMT)

Appareillage: FIB Zeiss Neon et SEM/FEG ZEISS Ultra 55

Cet atelier a pour but d'introduire aux participants les bases de préparation d'échantillons MET par faisceau d'ions focalisés (FIB) ainsi qu'aux spécificités de leur étude en MEB (imagerie STEM - analyse XEDS). Programme détaillé de l'Atelier :

Lundi 22 juin

MATIN

- Aspects théoriques du FIB
- Spécificités de la colonne GEMINI
- Spécificités du Zeiss NEON

APRES-MIDI

- Applications du FIB sur échantillon (groupe 1)
- Analyse d'un échantillon mince par MEB (en parallèle sur l'Ultra 55 pour le groupe 2)

Mardi 23 Juin

MATIN

- Applications du FIB sur échantillon (groupe 2)
- Analyse d'un échantillon mince par MEB (en parallèle sur l'Ultra 55 pour le groupe 1)

Atelier: Cryo-ultramicrotomie et immunomarquage

Du lundi 22 juin (9h-18h) au mardi 23 juin (9h-12h) — Locaux de l'Institut Curie, CNRS-UMR144, Paris : http://www.curie.fr/recherche/themes/detail_unites.cfm/lang/_fr/id/5.htm.

Animateurs: Graça Raposo

Intervenants: Graça Raposo, Danièle Tenza, Ilse Hurbain, Maryse Romano (Institut Curie, CNRS-UMR144, Paris) ; Martin Sachse (Institut Pasteur, Paris) ; Danièle Spehner (IGBMC, Illkirch)

Appareillage: 3 Cryo-ultramicrotomes (1UC6 FC6 ; 2 UCT, Leica) ; 1 robot pour immunomarquage (IGL, Leica) ; 1 Microscope électronique Philips CM120 (FEI) équipé caméra KeenView (SIS)

L'atelier comporte une introduction théorique de la technique d'ultracryomicrotomie et immunomarquage à l'or colloïdal (technique de Tokayasu). Les nouveaux développements introduits dans ces approches seront discutés, notamment l'application aux cellules adhérentes et aux approches de microscopie corrélative (CLEM).

La partie pratique sera consacrée en alternance à:

- La préparation de blocs de cellules et leur congélation
- La réalisation de coupes ultrafines congelées
- L'immunomarquage, enrobage et contraste
- L'observation des immunomarquages au microscope électronique.

Atelier: Cartographies rapides des orientations cristallines et des phases en MET

Lundi 22 juin (10h-18h) — ELOISE SARL, Paris Nord II, 33 rue des chardonnerets Tremblay-en-France 95971 Roissy CDG Cedex.

Animateurs: Edgar Rauch (SiMaP Grenoble) et Stavros Nicolopoulos (NanoMEGAS, Bruxelles)

Intervenants: Edgar Rauch (SiMap, Grenoble), Daniel Bultreys, Stavros Nicolopoulos (NanoMEGAS)

Appareillage: MET Philips CM120 équipé avec un système de cartographie des phases/orientations ASTAR et système precession "spinning star"

Cet atelier a pour but d'introduire aux participants les applications dans le domaine des matériaux (métaux, oxides céramiques, semiconducteurs etc.) de la technique ASTAR développée au SiMaP Grenoble (technique similaire au EBSD - MEB).

La technique peut être adaptée dans n'importe quel MET et peut fournir des cartes ultra-rapides d'orientation et de phases des échantillons nanométriques sans préparation spéciale.

Conférences théoriques sur le sujet de 10:00 am à 13:00 pm. Démonstrations au microscope de 14:00 à 18:00 pm sur différents échantillons (métaux, céramiques etc.).

Programme des symposiums

Hommage à Nicolas Boisset

Symposium commun — Mardi 23 juin — 18:30-19:00 — Amphi 43

Animateurs: Eric Larquet et Slavica Jonic

Conférenciers

18:30-18:35 Introduction en hommage à Nicolas Boisset – E. Larquet

18:35-19:00 – **invité** – E.V. Orlova

Analysis of molecular dynamics by cryo-electron microscopy..... p. 35

Concert

20:30-22:00 Concert du chœur symphonique de Paris. Paroisse Notre Dame du Travail, 59 rue Vercingétorix 75014 Paris.

Microscopies avancées

Symposium commun — Mardi 23 juin — 14:00-16:00 — Amphi 43

Animateurs: Philippe Buffat et Sergio Marco

Le symposium sur les microscopies avancées a pour but de faire le point sur les progrès récents et de montrer une prospective sur les domaines où il est à prévoir des nouvelles percées pour la microscopie. Il s'adresse à l'ensemble des participants au colloque (biologistes, matériaux, physiciens...) et nous souhaitons qu'il permette à chacun de se faire une idée des possibilités, ainsi que des limites actuelles de ces techniques, même s'il n'est pas du domaine. Trois thèmes seront traités :

1. Tomographie rayons-X
2. HRTEM et holographie dans la perspective d'application à la cristallographie, l'analyse de contrainte et des défauts.
3. HRSTEM et EELS: haute résolution spatiale et énergétique

Conférenciers

14:00-14:40 – **invité** – J.P. Samama

Current developments of synchrotron radiation p. 37

14:40-15:20 – **invité** – F. Houdellier

La correction d'aberration sphérique image : applications en imagerie et diffraction p. 38

15:20-16:00 – **invité** – M. Kociak

Développements récents en spectroscopie de perte d'énergie électronique résolue spatialement p. 40

Posters

- P1-1** S. Giorgio, M. Cabié, C.R. Henry
Adsorption des gaz sur les surfaces de nano particules métalliques p. 41
- P1-2** P. Tchenio, A. Leforestier, L. Michot, P. Levitz, P. Guttman, T. Preat
X-ray tomography of Drosophila brains p. 42
- P1-3** S. Blestel, D. Chrétien, C. Kervrann
Segmentation of fibers in cryo-electron tomograms..... p. 44
- P1-4** G. Regula, M. Lancin, B. Pichaud
Faute d'empilement la plus stable dans 4H SiC intrinsèque ou dopé N p. 46
- P1-5** A. Semay, F. Curnier, J.P. Bruandet, S. Marco, C. Messaoudi
Accélération par carte graphique des algorithmes itératifs de reconstructions 3D de séries tomographiques à transmission p. 47
- P1-6** C. Pertel, M. Tencé, T. Birou, L. Pettiti, C. Roucau, B. Warot
Un détecteur de photons original dédié à l'imagerie et l'analyse EELS p. 49
- P1-7** G. Ji, J.-P. Morniroli
Une méthode systématique d'identification du symbole d'extinction d'un cristal à partir de clichés de précession électronique..... p. 51
- P1-8** F. Hüe, M.J. Hÿtch, F. Houdellier, H. Bender, A. Claverie
Mesures de déformation dans des n-MOSFETs par holographie en champ sombre..... p. 52
- P1-9** C. Carrétéro, L. Largeau, J.-L. Maurice, G. Patriarce, E. Jacquet, A. Barthélémy, K. Bouzehouane, M. Bibes
Raideur d'une interface à l'échelle atomique par HAADF et EDX en STEM à sonde corrigée p. 54
- P1-10** S. Giorgio, J.G. Mattei, C.R. Henry, N. El Kolli, S. Merad Bedrane, L. Delannoy, C. Louis
Ségrégations dans les agrégats de Au-Pd par ETEM..... p. 56
- P1-11** H. Mojziso, J. Olesiak, M. Zielinski, K. Matczyszyn, D. Chauvat, J. Zyss
L'analyse polarimétrique de l'organisation de l'ADN en phases des cristaux liquides..... p. 57
- P1-12** L. Roiban, I. Florea, L. Sorbier, F. Tihay, C. Pichon, J. Werckmann, O. Ersen
La microscopie électronique à 4D : développement de la cartographie chimique en 3D de catalyseurs, à l'échelle du nanomètre p. 58
- P1-13** I. Florea, L. Roiban, A. Deneuve, K. Chirazi, I. Janowska, D. Ihiawakrim, M. Drillon, Ch. Hirlimann, J. Werckmann, C. Pham-Huu, O. Ersen
Étude de nano-objets par tomographie électronique : morphologie, distribution spatiale et composition chimique p. 60
- P1-14** N. Cherkashin, M. Hÿtch, F. Houdellier, E. Snoeck, K. Bourdelle, A. Claverie
Mesure directe de la distribution de la contrainte dans du silicium implanté par des ions hydrogènes p. 63
- P1-15** T. Oikawa, C. Ricolleau, E. Okunichi, N. Endo, M. Lévy, F. Gazeau
Structural analysis of oxides at the sub-Angstrom resolution with C_s -corrected STEM ... p. 65

- P1-16** N. Braidy, M. Robertson, C. Ricolleau, Y. Le Bouar
Quantitative Annular Dark-Field Imaging of Co-Pt Nanoparticles p. 67

Microscopies alternatives

Symposium commun — Mercredi 24 juin — 17:00-18:30 — Amphi 43

Animateurs: F. Brisset et L. Beaunier

Cette série d'exposés à la fois technologiques et applicatifs va nous entraîner d'une part vers des méthodes d'analyses complémentaires aux microscopies électroniques en transmission et à balayage et d'autre part vers des systèmes d'analyse encore peu usités sur ces microscopes. La sonde tomographique, qui continue à accroître ses possibilités d'analyse et de reconstruction 3D au niveau atomique sur les mauvais conducteurs. Les détecteurs STEM utilisés dans des MEB et qui permettent d'accéder à des informations tout à fait intéressantes du fait des tensions (5 à 30kV) mises en jeu qui sont d'un ordre de grandeur au moins en dessous de celles utilisées en MET. L'automatisation de l'obtention de cartographies d'orientation en MET à l'instar de l'EBSD en MEB. La spectroscopie Raman qui se couple de plus en plus avec les sondes électroniques, trouve des applications à l'interface physique / biologie.

Conférenciers

- 17:00-17:20** – invité – D. Blavette
Tomographie atomique laser et Nanosciences p. 69
- 17:20-17:40** – invité – F. Grillon, P. Hallegot
MEB - STEM et applications biologiques p. 70
- 17:40-18:00** – invité – L. Legras, D. Loisnard, L. Saintoyant, A. Garcia
Complémentarité des cartographies d'orientation au MET et en EBSD au travers de quelques exemples d'étude de dégradations observées dans les matériaux pour le nucléaire p. 71
- 18:00-18:20** – invité – M. Cazayous
Optique et nano-structures p. 72

Posters

- P2-1** S. Benlekbir, T. Epicier, F. Danoix
HAADF-TEM "crystallographic" tomography of MgZn₂ precipitates in an Al-Zn-Mg alloy. 73
- P2-2** A. Bogner, T. Wolfrom, G. Thollet, J. Ferreira, C. Gauthier
Tomographie en ESEM en mode transmission : amélioration de la résolution p. 75
- P2-3** F. Hüe, A. Maiden, J.M. Rodenburg, P.A. Midgley
Ptychographie en microscopie électronique en transmission p. 77

| |
|--|
| Nouvelles microscopies optiques et imagerie plasmonique |
|--|

Symposium commun — Vendredi 26 juin — 11:00-13:00 — Amphi 43

Animateurs: Emmanuel Beaufrepaire et Mathieu Kociak

Un grand nombre de phénomènes physiques ou biologiques se manifestent à des tailles bien inférieures aux longueurs d'onde optiques, et sont donc en principe inaccessibles aux microscopies optiques traditionnelles. Ainsi, par exemple, observer les variations spatiales de plasmons à la surface de nanoparticules métalliques, ou étudier la plasticité et le trafic d'organelles subcellulaires n'est possible qu'à l'aide de microscopies originales. Ce symposium traitera des dernières avancées et applications, tant biologiques que physiques, de ces nouvelles microscopies visant à s'affranchir de la limite de diffraction optique.

Conférenciers

11:00-11:30 – invité – A. Schönle, S.W. Hell

Far-field optical nanoscopy : Switching markers on and off breaks Abbe's diffraction barrier p. 79

11:30-12:00 – invité – F. Charra

Emission de lumière près de nano-objets métalliques : effets moléculaires et plasmoniques.p. 80

12:00-12:12 N. Olivier, F. Aptel, A. Deniset-Besseau, J.M. Legeais, K. Plamann, M.C. Schanne-Klein, E. Beaufrepaire

Multimodal multiphoton imaging of intact eye tissues p. 82

12:12-12:24 G. Boudarham, M. Kociak, O. Stéphan, N. Feth, M. Wegener, S. Linden

Nano-optique de métamatériaux par spectroscopie de perte d'énergie des électrons résolue spatialement p. 85

12:24-12:36 N. Sandeau, H. Rigneault, H. Giovannini

Microscopie à 2 images : un moyen de doubler la résolution latérale des microscopes confocaux p. 87

12:36-12:48 J. Plain, L. Juan, M. Haggui, C. Hubert, P. Royer, S. K. Gray, G. P. Wiederrecht, R. Bachelot

Déplacements moléculaires photoinduits par le champ proche de structures plasmoniques p. 89

12:48-13:00 P. De Sa Peixoto, A. Deniset-Besseau, A. Anglo, C. Illoul, M.-C. Schanne-Klein, G. Mosser

La microscopie Multiphoton par Génération de Seconde Harmonique pour l'observation des solutions cristal-liquide de collagène I p. 91

Posters

P3-1 L. F. Zagonel, S. Mazzucco, R. Bernard, M. Kociak, O. Stéphan, M. Tencé, C. Colliex

Cathodoluminescence performed at the nanoscale with a STEM p. 93

P3-2 C. Odin, C. Heichette, D. Chrétien, Y. Le Grand

Second harmonic microscopy of axonemes p. 94

P3-3 J. Nelayah, L. Gu, W. Sigle, C. Koch, M. Kociak, O. Stéphan, C. Colliex, P.A. van Aken

Cartographie des modes plasmon de surface sur des nanoparticules métalliques par la spectroscopie de pertes d'énergie des électrons..... p. 95

Microscopie dynamique et quantitative du vivant

Symposium Bio / Matière molle — Mercredi 24 juin — 8:30-10:30 — Amphi 45B

Animateurs: Nadine Peyrieras et Sandrine Leveque-Fort

Les différents progrès réalisés en microscopie optique notamment associés à différentes modalités d'analyse mise en œuvre (FLIM, FRET, FCS ...) facilitent le suivi dynamique et quantitatif des systèmes biologiques in-vivo. Ce symposium illustrera différentes avancées dans ce domaine, comme par exemple le photocontrôle de l'activité d'une protéine à l'échelle de la cellule, la mise en évidence d'interactions macromoléculaires en cellules vivantes, ou la dynamique et la mécanique des surfaces cellulaires en biologie du développement.

Conférenciers

8:30-9:10 – invité – D.K. Sinha, P. Neveu, N. Gagey, I. Aujard, C. Benbrahim-Bouzidi, T. Le Saux, C. Rampon, C. Gauron, B. Goetz, S. Dubruille, C. Leucht, L. Goetz, M. Volovitch, D. Bensimon, L. Jullien

Photocontrol of protein activity in a single cell of a live organism p. 96

9:10-9:50 – invité – P.-F. Lenne

A microscopic view of macroscopic changes : how do subcellular forces shape embryos? . p. 98

9:50-10:30 – invité – K. Suhling, J. Levitt, P.-H. Chung, M. Kuimova, G. Yahioglu

Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM) of molecular rotors to map microviscosity in cells. p. 99

Posters

P4-1 M. Bourdon, O. Coriton, C. Cheniclet, S. Brown, M. Peypelut, C. Chevalier, J.P. Renaudin, N. Frangne

Increase of ploidy level in tomato fruit : what is the chromosomal mechanism? p. 100

Microscopie photonique et électronique corrélative

Symposium Bio / Matière molle — Mercredi 24 juin — 13:30-15:30 — Amphi 45B

Animateurs: Danièle Spehner et Anna Sartori

La microscopie corrélative permet de coupler sur un même échantillon biologique, une information dynamique et fonctionnelle obtenue au microscope à fluorescence à une information structurale de haute résolution sur le même échantillon biologique au microscope électronique. Ce symposium est dédié aux développements récents en microscopie corrélative que ce soit en microscopie classique ou en cryomicroscopie, cette dernière méthode ayant l'avantage de

préserver l'échantillon dans un stade natif. Nous discuterons des différentes techniques de marquage disponibles, en particulier des sondes à la fois fluorescentes et opaques aux électrons donc détectables en microscopie optique et électronique sur un même échantillon biologique.

Conférenciers

- 13:30-14:00 – invité –** H. Schwarz, M. A. Karreman, A. V. Agronskaia, H. C. Gerritsen, A. J. Verkleij, B. M. Humbel
Finding the Needle in the Haystack p. 102
- 14:00-14:15** C. Gaillard, A. Berquand, C. Karunakaran, H. Gnaegi, B. Bouchet, E. Larquet, A.P. Hitchcock
Imaging wheat grain tissue through a Fluorescence / AFM / TEM / STXM correlative microscopy approach p. 104
- 14:15-14:30** C. Spiegelhalter, I. Kolotuev, Y. Schwab
Dynamique cellulaire en microscopie photonique et ultrastructure en microscopie électronique : approche pratique de l'utilisation de la microscopie corrélative..... p. 106
- 14:30-15:00 – invité –** A. Sartori, A. Mallet, S. Guadagnini, E. Veiga, M. Bonazzi, S. Mostowy, L. Dortet, W. Baumeister, P. Cossart
Correlative Light/Electron Microscopy : a Tool for Investigating Infectious Diseases ... p. 107
- 15:00-15:15** D. Rudnicka, J. Feldmann, F. Porrot, S. Wietgreffe, S. Guadagnini, M.-C. Prévost, J. Estaquier, A. Haase, N. Sol-Foulon, O. Schwartz
Combined use of scanning electron microscopy (SEM) and correlative immunofluorescence - transmission electron microscopy (IF-TEM) to study HIV cell to cell transmission..... p. 109
- 15:15-15:30** N. Barois, B. Satiat-Jeunemaitre
Microscopie corrélative chez la plante : apport de la congélation sous haute pression et des sondes bi-fonctionnelles p. 110

Posters

- P5-1** S. Melser, B. Batailler, M. Peypelut, C. Poujol, V. Wattelet-Boyer, C. Cheniclet, P. Moreau
Glucosylceramide biosynthesis contributes to Golgi morphology and protein secretion in plant cells p. 111
- P5-2** I. Pignot-Paintrand, M. Augustin, A. Jones, Y. Le Petitcorps
Etude multi-échelles en microscopies de l'oeuf d'esturgeon au cours de sa transformation en caviar p. 112
- P5-3** C. Stigloher, D. Holmyard, M. Zhen, J.L. Bessereau
EM-Tomographic analysis of synaptic structures in *C. elegans* p. 114
- P5-4** M. Varna, G. Bousquet, E. Turpin, J. Lehmann-Che, M. El-Bouchtaoui, I. Ferreira, H. de Thé, A. Janin, P. Bertheau
Photonic and electron microscopy in therapeutic response assessment of breast cancers xenografts p. 115
- P5-5** C. Loussert, C. Machu, M. Guesnan, C.L. Forestier
Visualization of *Leishmania donivani* entry into host cell : a multi microscopical approche. p. 116

- P5-6** I. Dunia, H. Bloemendal, X. Gong, C H Xia, E. L. Benedetti
 Lens connexins and cataractogenesis p. 117
- P5-7** C. Spiegelhalter, V. Tosch, D. Hentsch, P. Kessler, M. Koch, F. Alpy, F. Legueux,
 J. Laporte, Y. Schwab
 Correlative Light and Electron Microscopy on cultured cells. p. 118

Microscopie de champs proche

Symposium Bio / Matière molle — Jeudi 25 juin — 8:30-10:30 — Amphi 45B

Animateurs: Simon Scheuring et Pierre Parot

Dans ce symposium, nous discuterons des récentes avancées en microscopie de champ proche pour l'étude de biomolécules à une résolution nanométrique. Grâce au très bon rapport signal sur bruit obtenu à l'aide de cette technologie, il est aujourd'hui possible d'imager des molécules individuelles dans leur environnement natif et dans un milieu physiologique. La place de la microscopie à champ proche dans l'ensemble de la biologie structurale ainsi que les développements techniques prometteurs seront également abordés.

Conférenciers

- 8:30-8:35** Introduction: Simon Scheuring et Pierre Parot
- 8:35-9:10** – **invité** – C. Le Grimellec, E. Lesniewska, P.E. Milhiet, M.C. Giocondi
 Atomic Force Microscopy Imaging of Membrane Domains in Model Systems p. 119
- 9:10-9:25** E. Le Cam, F.-Z. Boukhalfa-Heniche, P. Dupaigne, L. Hamon, A. De Cian, S. Baconnais, D. Pastré, O. Piétrement
 Apport de la microscopie à force atomique pour l'étude de l'ADN et des complexes nucléoprotéiques..... p. 120
- 9:25-9:40** M. Baranowska, A. Riaublanc, A. Berquand, M. Petit, O. Piétrement, N. Freslon, C. Gaillard
 AFM and fluorescence microscopy of food proteins involved in emulsions p. 122
- 9:40-9:55** S. Janel, Y. Ciczora, F. Lafont
 The use of atomic force microscopy to study host-pathogen interactions in living cells .. p. 124
- 9:55-10:30** – **invité** – P. Frederix, P. Bosshart, A. Engel
 High-resolution Scanning Probe Microscopy p. 125

Posters

- P6-1** P.E. Milhiet, D. Yamamoto, O. Berthoumieu, C. Le Grimellec, J.M. Verdier, S. Marchal, T. Ando
 Imagerie AFM à haute vitesse de la lithostathine, une protéine associée à la maladie d'Alzheimer p. 126
- P6-2** P. Bertoncini, F. Lefevre, G. Blais, O. Chauvet
 Structural characterization of hybrids made of bacteriorhodopsin photosensitive proteins and carbon nanotubes..... p. 127

P6-3 S. Mangenot, N. Buzhynskyy, S. Scheuring

Etude des membranes de cristallins sains et cataractiques par AFM à haute résolution. . p. 128

P6-4 N. Buzhynskyy, R.P. Gancalves, P. Sens, V. Prima, J.N. Sturgis, S. Scheuring

AFM study of protein organization in inner and outer membranes of mitochondria p. 129

Cryo-microscopie électronique moléculaire et cellulaire

Symposium Bio / Matière molle — Jeudi 25 juin — 14:00-16:00 — Amphi 45B

Animateurs: Denis Chretien, Slavica Jonic et Amelie Leforestier

Depuis son introduction dans les 80 par l'équipe de Jacques Dubochet à l'EMBL à Heidelberg, la cryo-microscopie électronique de spécimens biologiques vitrifiés est devenue une méthode de choix pour déterminer la structure d'assemblages macromoléculaires. Les efforts entrepris en parallèle visant à observer les composants cellulaires et tissulaires dans leur état natif se voient aujourd'hui récompensés, et offrent aux biologistes une nouvelle vision de l'architecture cellulaire au niveau moléculaire. Les orateurs invités nous permettrons de faire le point sur les dernières avancées dans ce domaine.

Conférenciers**14:00-14:40 – invité – A. Frangakis**

Cryo-electron tomography of vitreous sections p. 130

14:40-15:20 – invité – B. Klaholz

Single particle cryo-EM and integrative analysis of dynamic macromolecular complexes.p. 131

15:20-15:33 S. Jonic, E. Larquet, V. Skamnaki, N. Oikonomakos, N. Boisset, L. Johnson, C. Vénien-Bryan

The structure of Phosphorylase Kinase holoenzyme at subnanometer resolution, location of the catalytic subunit and the substrate glycogen phosphorylase p. 133

15:33-15:46 P. Guichard, A.M. Tassin, S. Blestel, C. Kervrann, S. Marco, D. Chrétien

Daughter centriole morphogenesis and structural details of isolated human centrosomes revealed by cryo-electron tomography p. 134

15:46-16:00 M. Sachse, G. Pehau-Arnaudet, E. Coutoure-Tosi, J.L. Ranck, P. Sylvestre, M. Mock

Structure of Bacillus anthracis spores analyzed by CEMOVIS p. 136

Posters**P7-1** D. Teboul, J.C. Robert, S. Harbi, J.J. Lacapère

Détermination de la structure de la TSPO par cristallographie électronique. p. 137

P7-2 M. Dezi, P.F. Fribourg, S. Marco, A. Di Cicco, C. Trometer, P. Falson, A. Di Pietro, D. Lévy

Structural analysis by EM of the human MultiDrug transporteur ABCG2 purified onto functionalized templates p. 138

- P7-3** A. Leforestier, F. Livolant
Structures des tores d'ADN condensé à l'intérieur de capsides de bactériophages..... p. 139
- P7-4** S. Blestel, D. Chrétien, C. Kervrann
Segmentation of fibers in cryo-electron tomograms p. 141
- P7-5** Z. Devaux, S. Jonic, L. Cladière, J.M. Guigner, Y. Méchulam, E. Larquet, E. Schmitt
Initiation de la Traduction chez les Archaea : Etude du Complexe de Pre-Initiation par Cryo-microscopie Electronique p. 143
- P7-6** S. Jonic, C.O.S. Sorzano, F. Tama, E. Larquet, N. Boisset
A hybrid method coupling normal mode analysis with projection matching to study structural flexibility of macromolecular assemblies p. 145
- P7-7** J.-C. Taveau, A. Desert, D. NGuyen, A. Perro, S. Ravaine, E. Duguet, O. Lambert
3D cryo-electron tomography of complex architectures..... p. 147
- P7-8** P. Bonnafous, M. Perrault, O. LeBihan, B. Bartosch, F.L. Cosset, F. Penin, O. Lambert, E.I. Pécheur
Molecular characterization of HCV pseudoparticles by cryo-electron microscopy using functionalized magnetic nanobeads..... p. 148
- P7-9** J.-L. Putaux, G. Potocki-Véronèse, A. Buléon
Glycodendrimères préparés *in vitro* par élongation enzymatique des chaînes de surface du glycogène..... p. 149
- P7-10** C. Carrière, S. Jonic, E. Larquet, J.-P. Mornon, C. Venien-Bryan, I. Callebaut, N. Boisset
New insights into the structure and function of rabbit skeletal muscle Phosphorylase Kinase p. 151
- P7-11** F. Weis, P. Bron, JP. Rolland, D. Thomas, B. Felden, R. Gillet
L'étape d'accommodation de la trans-traduction révélée par cryo-microscopie électronique p. 153
- P7-12** R. Ibrahim, C. Fisch, F. Livolant, S. Marco, P. Dupuis-Williams, A. Leforestier
Caractérisation ultra-structurale des cils et du cortex de Paramecium tetraurelia par CEMOVIS p. 154
- P7-13** J. Lai Kee Him, C. Gounou, E. Connell, A. Giniatullina, B. Davletov, A. Brisson
Cryo-TEM study of protein-lipid membrane interactions p. 156
- P7-14** J. Degrouard, M. Renouard, A. Toma, M. de Frutos, E. Raspaud, F. Livolant
Soluble protamine-DNA aggregates p. 157
- P7-15** B. Sung, J. Degrouard, F. Livolant
Cryo-electron microscopy of spermine-DNA toroids and fibers p. 158
- P7-16** F.M. Coquelle, K. Kinoshita, B. Vitre, S. Rybina, C. Heichette, E. Karsenti, I. Arnal, D. Chrétien
Effects of XMAP215 on Microtubule Dynamics and Structure p. 159

- P7-17** R. Al Kurdi, R. Phillips, E. Navarro Sanchez, K. Moncoq, F. Rey
 Studies of two-dimensional assemblies of post-fusion class II viral envelope proteins on lipids
 by Electron Microscopy p. 160

Compartimentation et dynamique cellulaire (CFPU)

Symposium Bio / Matière molle — Vendredi 26 juin — 8:30-10:30 — Amphi 45B

Animateurs: Marek Haftek et Graça Raposo

Pendant ce symposium, nous allons passer en revue différentes approches méthodologiques visant à étudier le trafic moléculaire dans les cellules. Avec ce sujet, nous entrons au coeur de la «machinerie» cellulaire, aussi complexe que la transduction du signal, mais visualisable à l'échelle microscopique. Les cellules en culture et les modèles animaux génétiquement modifiables se prêtant particulièrement à ce genre d'expérimentation, nous allons aborder les recherches dans des cultures cellulaires chez l'homme, la drosophile et la levure, avec nos conférenciers invités et participants.

Conférenciers

8:30-9:05 – **invité** – JM. Verbavatz, A. Rambourg

Trafic membranaire dans la voie sécrétoire de levure : étude en microscopie électronique. 161

9:05-9:40 – **invité** – C. Delevoye, I. Hurbain, D. Tenza, J.B. Sibarita, W. Geerts, A. Verkleij, J. Salamero, M. Marks, G. Raposo

De la microscopie optique à l'électronique pour aborder la biogenèse d'organites lysosomiaux p. 163

9:40-9:52 S. Tan, C. Gounou, S. Mornet, A. R. Brisson

Novel protein-functionalized gold nanoparticles for labelling apoptotic membranes and cell receptors p. 166

9:52-10:04 R. Ibrahim, A. Trembleau

Addressing the machinery for local synthesis of transmembrane proteins in axons of the mouse olfactory sensory neurons using cryomethods and electron tomography p. 167

10:04-10:16 O. Le Bihan, P. Bonnafous, S. Mornet, J.-C. Taveau, E. Gontier, T. Bickel, H. Talbot, O. Lambert

Nanoparticles transport across cell membrane p. 169

10:16-10:28 C. Péchoux, S. Chadi, L. Buscara, J. Laubier, J. Costa, E. Pailhoux, J.L. Villote, E. Chanat, F. Le Provost

Assessment of the role of R-spondin genes in mammary gland development p. 170

Microscopie et matériaux d'usage

Symposium Physique / Matériaux — Mercredi 24 juin — 8:30-10:30 — Amphi 45A

Animateurs: Marie Cheynet et Laurent Legras

Les microscopies électroniques à balayage (MEB) et en transmission (MET) ont connu ces dernières années, une évolution technologique très importante, avec entre autres pour la microscopie en transmission, le développement des correcteurs d'aberrations de sphéricité (sonde et lentille objectif), des monochromateurs, des détecteurs et pour la microscopie à balayage, l'explosion du champ d'application liée au FIB (Focussed Ion Beam). Simultanément, des travaux remarquables, en terme d'acquisition, de traitement, i.e. quantification des images, des clichés de diffraction et des spectres ont continué à être réalisés autour des machines dites « traditionnelles ». Ce symposium aura pour objectif d'illustrer l'impact de ces récents développements dans le domaine de la science des matériaux de structure (alliages et intermétalliques, céramiques, matériaux revêtus, à gradient, etc...) ou de fonction (semiconducteurs base Si et autres, matériaux de stockage de l'information, etc...).

Conférenciers

- 8:30-8:55** – invité – A.J. Craven, M. MacKenzie, P. Longo, S. McFadzean
EELS Spectrum Imaging of High-k Dielectric Systems..... p. 171
- 8:55-9:07** S. Schamm, P.E. Coulon, L. Calmels, L. Lamagna, C. Wiemer, S. Baldovino, M. Fanciulli
Etude HRTEM et STEM-EELS d'empilements semiconducteur/high-k p. 173
- 9:07-9:19** J.L. Rouvière, A. Béché, D. Cooper, J.M. Hartmann
Measuring strain by Transmission Electron Microscopy : a comparison between Nano Beam Electron Diffraction and Dark Field Holography..... p. 174
- 9:19-9:30** E. Guillotel, C. Langlois, S. Asahina, B. Domengès, G. Leo, T. Oikawa, C. Ricolleau
Etude comparative de méthodes d'amincissement ionique appliquées à des échantillons à zone d'intérêt localisée p. 177
- 9:30-9:55** – invité – C. Scott, L. Bracke, S. Allain, O. Bouaziz, J.L. Collet, A. Dumay
The contribution of modern microscopy techniques to the development of new ultra high strength and ductility steels..... p. 179
- 9:55-10:07** L. Boulanger, F. Legendre
Interaction entre nanoparticules d'oxyde et dislocations dans un acier ferritique à 19% Crp. 181
- 10:07-10:19** C. Leguen, M. Perez, T. Epicier, D. Acevedo, T. Sourmail
TEM characterization of the precipitation state in a model FeTiVNbCN alloy in relation with grain size control p. 183
- 10:19-10:30** G. Brunetti, A. Settefrati, S. Denis, E. Bouzy, A. Hazotte
Détermination des déformations dans un superalliage monocristallin à base nickel CMSX-2 par CBED et par calcul micromécanique par éléments finis..... p. 185

Posters

- P9-1** E. Oliviero, M.-O. Ruault, B. Décamps, F. Fortuna, E. Ntsoensok, O. Kaïtasov, S. Collin
Silicon dioxide implanted with Kr and Xe ions : nucleation and growth mechanisms p. 187
- P9-2** V. Madigou, R. Chmielowski, Ch. Leroux
Caractérisation par microscopie électronique des différentes phases dans des bicouches $\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9$ -/BLT p. 188
- P9-3** M. Couvrat, L. Chaffron, L. Boulanger, M.H. Mathon
Observation d'aciers ODS filés - Influence de la température de filage sur la nanostructure du matériau..... p. 190
- P9-4** L. Rapenne, C. Jimenez, T. Caroff, C. Millon, S. Morlen, F. Weiss, P. Bayle-Guillemaud, P. Odier
Etude par microscopie électronique à transmission de films $\text{La}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ déposés sur LaAlO_3 obtenus par méthodes chimiques (MOD et MOCVD) p. 192
- P9-5** E.I. Suvorova, F.Yu. Solomkin, M. Cantoni, P.A. Buffat
Investigation of the MnSi cubic phase in tetragonal Mn_4Si_7 crystals..... p. 193
- P9-6** A. Masseboeuf, T. Jourdan, C. Arm, F. Lançon, A. Marty, C. Gatel, E. Snoeck, P. Bayle-Guillemaud
Observation de défauts magnétiques nanométriques en Microscopie de Lorentz p. 195
- P9-7** B. Doisneau-Cottignies, A. Claudel, M. Audier, E. Blanquet, D. Chaussende, D. Pique, M. Pons
Caractérisation par microscopie électronique à transmission de couches de AlN déposées sur SiC et Al_2O_3 p. 197
- P9-8** C. Declairieux, P. Vermaut, R. Portier, P. Ochin, V. Kolomytsev
Structure et modes de maclage de la martensite dans le système Hafnium-Palladium. . . p. 198
- P9-9** P. Vennégues, J.M. Chauveau, Z. Bougrioua, J. Zuniga Perez, T. Zhu, D. Martin, N. Grandjean
Structure et microstructure de films de semi-conducteurs de structure wurtzite épitaxiés dans des orientations nonpolaires..... p. 199
- P9-10** M. Trassin, C. Ulhaq-Bouillet, N. Viart, G. Versini, S. Barre, G. Pourroy
Couches minces du composé magnétoélectrique $\text{Ga}_{2-x}\text{Fe}_x\text{O}_3$: la problématique de l'électrode conductrice p. 200
- P9-11** A.M. Papon, H. Dansas, L. Mollard
Préparation d'échantillons II-VI sans défauts..... p. 201
- P9-12** O. Dargaud, G. Calas, L. Cormier, L. Galois, M. Newville, N. Menguy
Evolution of *nano-t-ZrO₂* crystallisation during nucleation of *MgO-Al₂O₃-SiO₂* glass-ceramics p. 203
- P9-13** H. Okuno, P. H. Jouneau, J. L. Rouvière, B. Daudin, C. Bougerol, V. Fellmann, Y. Hori, K. Lorenz, P. Bayle-Guillemaud
Z-contrast imaging of rare-earth doped GaN quantum dots..... p. 205

- P9-14** S. Lartigue-Korinek, S. Hagege, C. Kisielowski, A. Serra
Disconnection arrays in a rhombohedral twin in α -alumina p. 207

Microscopie dynamique en Science des Matériaux

Symposium Physique / Matériaux — Mercredi 24 juin — 13:30-15:30 — Amphi 45A

Animateurs: Thierry Epicier et Joël Douin

L'observation de phénomènes très rapides ou à très courte durée de vie (réactions chimiques, déformations plastiques, transformations de phases localisées, ...) est un challenge pour la Microscopie Electronique à haute résolution spatiale, donc notamment la microscopie en Transmission. De telles études dynamiques peuvent être la clé pour une compréhension des processus de base au cœur de la chimie, de la biologie, de la science des matériaux en permettant une approche fondamentale de propriétés complexes, comme la réactivité chimique, la stabilité structurale, la rigidité... L'application de la MET à des processus dynamiques se heurte à des conditions d'observations extrêmement difficiles, dont les causes sont multiples : - la rapidité des phénomènes étudiés (temps caractéristique de la milliseconde à la femtoseconde) - la nature même des propriétés étudiées (cas des interactions solide/gaz qui nécessitent des approches environnementales à concilier avec les contraintes de vide du microscope) - les conditions pour lesquels ces phénomènes se produisent (solicitation 'thermo-mécanique' de l'échantillon dans le volume réduit des pièces polaires). Ce symposium couvrira ces différents aspects de la "microscopie dynamique". Des contributions sont souhaitées aussi bien au niveau des méthodologies expérimentales que des traitements et des résultats en sciences des matériaux.

Conférenciers

13:30-14:00 – invité – F. Mompou

Dynamique de la plasticité en MET *in-situ* p. 208

14:00-14:35 – invité – P.L. Gai, K. Yoshida, E.D. Boyes

Dynamic *in-situ* atomic resolution-ETEM and aberration correction p. 209

14:35-15:10 – invité – G.H. Campbell

Observing Nanosecond Phenomena at the Nanoscale with the Dynamic Transmission Electron Microscope p. 210

15:10-15:30 A. Masseboeuf, F. Cheynis, C. Arm, O. Fruchart, J.C. Toussaint, A. Marty, P. Bayle-Guillemaud

Observation *in-situ* par Microscopie de Lorentz du retournement d'un domaine de fermeture de Néel dans une nanostructure p. 211

Posters

P10-1 T. Hungria, A. Castro, F. Houdellier

In-situ study of Bi nanoparticle growth using aberration corrected HREM p. 213

- P10-2** F. Fortuna, O. Kaïtasov, M.-O. Ruault, B. Décamps, E. Oliviero, C. Bachelet, A. Gentils
An In-Situ Dual Beam TEM inside JANNuS Project for Nanoscience and Nuclear Simulation p. 215
- P10-3** M. Chassagne, M. Legros, D. Rodney
Interaction dislocation/macle : étude par microscopie in situ et simulation moléculaire.. p. 217
- P10-4** L. Joly-Pottuz, N. Herrbach, G. Thollet, A. Malchère, J. Chevalier
Suivi du frittage de céramiques dans un ESEM : optimisation des conditions d'imagerie p. 220
- P10-5** Q. Jeangros, A. Faes, J. Vanherle, J.B. Wagner, R. Dunin-Borkowski, A. Hessler-Wyser
Réduction et oxydation in situ de cellules de pile à combustible à oxyde solide dans un Titan ETEM..... p. 222

Minéraux/Biominéraux et environnement

Symposium Physique / Matériaux — Jeudi 25 juin — 8:30-10:30 — Amphi 45A

Animateurs: Patrick Cordier et Nicolas Menguy

La matière minérale est le support de la formation et de l'évolution de la Terre et des planètes telluriques. Les minéraux sont donc les marqueurs privilégiés des principaux processus impliqués dans l'évolution de notre planète. La vie représente un de ces processus majeurs et l'étude des biominéraux s'intègre dans ce paysage. Il en va de même des activités humaines, de leurs implications sur l'environnement ou de manière complémentaire de leur impact sur la santé. Ces études ont en commun le besoin de rechercher les traces des processus étudiés, à toutes les échelles, dans les minéraux. Ce symposium vise à rassembler des études concernant les sciences de la Terre et de l'Univers, la biologie et les sciences de l'environnement et ayant en commun l'étude de la matière minérale en microscopie.

Conférenciers

8:30-9:05 – invité – A. Baronnet

Maîtrise biologique de la croissance cristalline dans les coquilles de mollusques marins. Les microscopies parlent..... p. 224

9:05-9:30 E. Boulard, G. Fiquet, F. Guyot

Le cycle profond du carbone, approche expérimentale..... p. 225

9:30-10:05 – invité – T. Kasama, N. Church, J. Feinberg, R. Dunin-Borkowski, R. Harrison

Direct observation of the interaction between elastic and magnetic domain walls below the Verwey transition in magnetite using electron holography..... p. 227

10:05-10:30 J. Stodolna, D. Jacob, H. Leroux

Etude par MET Analytique d'échantillons cométaires de la mission Stardust p. 228

Posters

- P11-1** D. Jacob, P. Cordier, J. P. Morniroli
Transition α/β et macle du Dauphiné dans le quartz : une étude par diffraction électronique en précession..... p. 230
- P11-2** E. Bres
Les biominéraux humains, à quoi ça sert ?..... p. 232
- P11-3** S. Bernard, K. Benzerara, O. Beyssac, N. Menguy, F. Guyot, G.E. Brown Jr, B. Goffé
Étude de spores fossilisés dans des roches métamorphiques p. 233
- P11-4** N. Menguy, D. Faivre, D. Schueler, G. Ona Nguema, C. Carvallo, Ph. Saintavit
Croissance des magnétosomes dans les bactéries magnétotctiques p. 235
- P11-5** S. Grigorescu, J. Werckmann, I.N. Mihailescu
TEM study of Pulsed Laser Deposited hydroxyapatite films prior and after immersion in SBF p. 237
- P11-6** A-L. Auzende, J. Badro, G. Fiquet, F. Ryerson
FIB-TEM-NanSIMS coupling for Earth deep interiors studies p. 238

Structure et propriétés des nanomatériaux

Symposium Physique / Matériaux — Jeudi 25 juin — 14:00-16:00 — Amphi 45A

Animateurs: Sylvie Rousset et Annick Loiseau

Les objets de basses dimensionnalités présentent des propriétés propres qui sont depuis quelques années utilisées dans la conception de dispositifs dans des domaines variés de la physique ou qui peuvent, dans le cas d'objets naturels, fournir des informations sur l'histoire du milieu où ils sont apparus. Ces nouvelles propriétés dépendent de la nature, de la taille, de la morphologie de nano-objets mais également de leur environnement immédiat. L'étude de ces effets et leur utilisation passent en général par l'élaboration dans différents environnements de nanoparticules de structure et de taille parfaitement bien définies ou par l'organisation de nano-objets à 2D ou à 3D sur des surfaces. L'association de plusieurs matériaux aux caractéristiques différentes peut faire apparaître de nouvelles propriétés qui sont exploitées pour élaborer des dispositifs et des matériaux multifonctionnels.

La microscopie électronique en transmission et les microscopies à champ proches sont des outils incontournables pour étudier la structure et les propriétés physiques des nanostructures et des nanomatériaux et indissociables du développement des Nanosciences. L'identification, en 1991, des nanotubes de carbone par microscopie électronique de haute résolution est certainement un des exemples les plus saisissants du rôle capital de ces techniques.

L'objectif du symposium est de couvrir le champ des possibilités qu'offrent ces techniques pour étudier les nano-objets depuis leur structure atomique, chimique, leurs propriétés électroniques, magnétiques, optiques jusqu'à leur comportement dynamique sous des sollicitations diverses que l'on peut mettre en œuvre in situ : température, exposition à un gaz, effet d'un champ électrique, magnétique, irradiation, excitation optique...

Conférenciers

- 14:00-14:30 – invité – F. Banhart, J. Rodriguez-Manzo**
In-situ electron microscopy of nanoparticles with an aberration-corrected STEM..... p. 239
- 14:30-14:45 M. Cheynet, S. Lazar, G. Botton, O. Robbe, J. Habinshuti, B. Grandidier**
HR-TEM, HAADF and HR-EELS investigation of colloidal PbSe nanoparticles..... p. 240
- 14:45-15:00 T. Epicier, N. Blanc, F. Tournus, V. Dupuis**
HRTEM (and diffraction) quantitative determination of the order parameter of nanometric CoPt particles : expectations and limits p. 242
- 15:00-15:30 – invité – S. Chiang**
Structures and Phase Transitions of Metals on Ge(111) Measured by LEEM and STM .p. 244
- 15:30-15:45 T. Xu, J.P. Nys, A. Addad, O.I. Lebedev, A. Urbieto, B. Salhi, M. Berthe**
, B. Grandidier, D. Stiévenard
Structures atomiques des facettes sur les nanofils de silicium p. 245
- 15:45-16:00 E. Snoeck, C. Gatel, L.M. Lacroix, T. Blon, S. Lachaize, J. Carrey, M. Respaud, B. Chaudret**
Configurations magnétiques de nanomatériaux déterminées par holographie électronique p. 246

Posters

- P12-1 J.A. Rodriguez-Manzo, F. Banhart**
Nanostructures of carbon nanotubes and metal particles generated by in-situ electron microscopy..... p. 247
- P12-2 V. Dorcet, P. Boullay, O. Perez, C. Grygiel, W. Prellier, B. Mercey, M. Hervieu**
Structure determination of a brownmillerite $\text{Ca}_2\text{Co}_2\text{O}_5$ thin film by Precession Electron Diffraction..... p. 248
- P12-3 P. Beaunier, F. Ksar, G. Surendran, L. Ramos, B. Keita, L. Nadjo, H. Remita**
Nanostructures 1D, 2D, 3D de palladium induites par radiolyse : application à l'électro-oxydation de l'éthanol..... p. 250
- P12-4 P. Beaunier, D. Brouri, S. Casale, P. Da Costa, A. Davidson, N. El Hassan, P. Massiani, J. Van der Meer**
Silices poreuses SBA-15 et dérivés du cobalt pour l'obtention de catalyseurs pour la catalyse hétérogène et l'environnement..... p. 251
- P12-5 M. Korytov, M. Benaissa, J. Brault, T. Huault, T. Neisius, P. Vennégues**
Etude de boîtes quantiques GaN sur $(\text{Al}_{0.5}\text{Ga}_{0.5})\text{N}$: microstructure des barrières et morphologie des boîtes quantiques p. 253
- P12-6 L. Ajroudi, S. Villain, V. Madigou, N. Mliki, Ch. Leroux**
Nanoparticules de ferrites de cobalt pour la catalyse..... p. 255
- P12-7 O. Plantevin, A. Gentils, B. Décamps, F. Fortuna, A. Delattre, V. Monnier, P. Reiss, Y. Samson**
Light ion irradiation of FePt nanoparticles p. 257

- P12-8** D. Lantiat, C. Laberty-Robert, D. Grosso, V. Vivier, C. Sanchez
Elaboration et caractérisation par SEM, AFM, GISAXS et EIS de nanoparticules de FePt organisées dans des membranes nanostructurées de ZrO₂ p. 258
- P12-9** C. Lepoittevin, C. Dejoie, E. Dooryhée, P. Martinetto, H. Klein, M. Bacia, M. Anne
Caractérisation structurale d'un complexe formé par l'insertion d'un colorant organique dans une matrice inorganique poreuse p. 260
- P12-10** C. Bougerol, R. André, E. Bellet-Amalric, Y. Genuist, K. Kheng, J.P. Poizat, S. Tatarenko
Insertion of CdSe quantum dots in ZnSe Nanowires p. 262
- P12-11** C. Feral-Martin, I. Florea, F. Mompiau, S. Giorgio, C.R. Henry, O. Ersen, M. Tréguer-Delapierre, J. Majimel
Particules de CeO₂ de morphologie contrôlée : une voie vers l'optimisation des propriétés d'oxydo-réduction p. 264
- P12-12** F. Vidal, Y. Zheng, D. Demaille
Croissance de nanofils de Co dans une matrice de CeO₂ p. 266
- P12-13** S. Khazzan, N. Mliki, L. Bessais
Structure et propriétés magnétiques d'alliages Sm-Fe-Mo nanostructurés p. 267
- P12-14** H. Khelfane, C. Andreazza-Vignolle, P. Andreazza, C. Mottet, H.C.N. Tolentino, A. Ramos
Nanoparticules bi- et tri- métalliques de Co-(Pt/Ag) : stabilité morphologique et structurale p. 269
- P12-15** J.-P. Ayoub, C. Gatel, M.-J. Casanove
Structure and chemical order in FeRh thin films epitaxially grown on MgO(100) substrates p. 271
- P12-16** T.T. Tam Nguyen, F.X. Simon, M. Schmutz, P. Mésini
Nanotubes organiques auto-assemblés : utilisation comme gabarits pour mésopores et fonctionnalisations chimiques p. 273
- P12-17** A. Zobelli, A. Gloter, C.P. Ewels, C. Colliex
Carving nanotubes with an electron nano-beam. Theoretical and experimental aspects. . p. 274
- P12-18** D. Taverna, O. Stéphan, D. Crisan, M. Kociak, R. Kumar, A. Shukla
Etude des propriétés électroniques de particules graphéniques par spectroscopie de perte d'énergie d'électrons p. 275
- P12-19** M. Ou, V. Mauchamp, B. Mutelet, J.C. Le Bossé, S. Roux, O. Tillement, P. Perriat, T. Epicier
HRTEM and EELS study of nano-sized Gadolinium oxide particles p. 276
- P12-20** L. Largeau, G. Patriarche, G. Saint-Girons, J. Cheng, P. Regreny, G. Hollinger
Imagerie STEM-HAADF d'interfaces de semi-conducteurs III-V sur oxydes cristallins .. p. 278
- P12-21** R. Arenal, M.S. Wang, Z. Xu, A. Loiseau, D. Golberg
Electrical and mechanical properties of single-walled BNNTs via in-situ TEM studies... p. 280

- P12-22** V.V. Ivanovskaya, A. Zobelli, O. Stéphan, P.R. Briddon, C. Colliex
BN domains included into carbon nanotubes : role of the interface..... p. 282
- P12-23** R. Fleurier, J.-S. Lauret, E. Flahaut, A. Loiseau
Lien entre les propriétés structurales et optiques de nanotubes de carbones triés p. 283
- P12-24** Z. He, S. Enouz-Védrenne, J.-L. Maurice, L. Baraton, L. Gangloff, C. S. Cojocaru, A. Caillard, D. Pribat, P. Legagneux
Épitaxie entre nickel catalytique et plans graphitiques : fabrication de nanotubes de carbone, application à la production de feuillets de graphène p. 285
- P12-25** C. Langlois, M. Valamanesh, N. Braidy, C. Ricolleau
A l'intérieur des franges de moiré : étude par microscopie haute résolution..... p. 287
- P12-26** M. Materska, A. Demortiere, C. Ulhaq-Bouillet, R. Kozubski, S. Begin-Colin, G. Pourroy, V. Pierron-Bohnes
Configuration magnétique de couches minces de CoPt et de nanocubes de ferrite obtenues par holographie électronique p. 290
- P12-27** G. Perillat-Merceroz, P.-H. Jouneau, G. Feuillet, R. Thierry, M. Rosina, P. Ferret
Mécanismes de croissance des nanofils de ZnO par MOCVD..... p. 291
- P12-28** N. Braidy, Y. Le Bouar, D. Alloyeau, C. Ricolleau
Synthèse et caractérisation de nanoparticules de Co-Pt épitaxiées p. 293

Imagerie de liaisons chimiques sub-eV et sub-nm

Symposium Physique / Matériaux — Vendredi 26 juin — 8:30-10:30 — Amphi 45A

Animateurs: Virginie Serin et Cécile Hebert

Les performances remarquables des microscopes de dernières générations, en particulier du point de vue de leur résolution spatiale et énergétique, donne accès à des informations de plus en plus précises. L'analyse par EELS, lorsque l'on s'intéresse à l'excitation des électrons des seuils profonds, renseigne sur la distribution spatiale des éléments chimiques et sur leur structure électronique et ce à une échelle très locale. Ce symposium est dédié aux développements et à l'application des méthodes EELS et EFTEM pour accéder localement à la cartographie chimique et aux propriétés électroniques de l'échantillon.

Conférenciers

- 8:30-9:00** – invité – G. Kothleitner, B. Schaffer, F. Hofer, W. Grogger
Low-loss EELS measurements for bandgap and plasmon analysis p. 295
- 9:00-9:15** R. Arenal, H. Lin, O. Stéphan, A. Loiseau
Etude de la configuration atomique de l'azote dans les nanotubes monoparoi dopés (CN_x-SWNTs) par EELS p. 297
- 9:15-9:30** R. Serra, V. Serin, M. Hÿtch
Etude par MET d'une nouvelle génération de matériaux hydrurables à base de Nickel pour accumulateur p. 299

9:30-10:00 – invité – G. Radtke

Structure électronique et magnétisme de systèmes de spin 1/2 dimérisés : EELS et calculs ab initio p. 300

10:00-10:15 K. Benzerara, N. Menguy, M. Obst, J. Stolarski, M. Mazur, T. Tylicszak, G.E. Brown Jr, A. Meibom

Application de la microscopie X polarisée à l'étude de la croissance des coraux p. 301

10:15-10:30 M. Texier, J. Thibault-Pénisson, T. Neisius

SiC par Microscopie Electronique Haute Résolution Corrigée p. 303

Posters

P13-1 A. Mussi, A. Addad, F. Béclin, A. Bataille, G. Bernard-Granger, N. Benameur, K. Vanmeensel

Analyses EELS de défauts ponctuels au niveau des joints de grains de l'alumine dopée à 0.5% de fer et du spinelle $MgAl_2O_4$, élaborés par frittage flash p. 304

P13-2 C. Arm, P. Bayle-Guillemaud, L. Grenet, M. Jamet, B. Rodmacq, B. Dieny, E. Gautier

Etude structurale et chimique par microscopie électronique à transmission de tri couches Pt/Co/Alumine p. 307

P13-3 D. Imhoff, M. Walls, K. March, C. Colliex

Premières cartographies chimiques EELS à l'échelle atomique réalisées avec l'UltraSTEM sur des dispositifs pour l'oxytronique p. 309

P13-4 C. Mirguet, N. Brun, P. Hatto, C. Davies, L. Bedel, C. Colliex, V. Serin

New Fullerene like materials : chemical composition and structure identification p. 311

P13-5 F. de la Peña, M. López-Haro, S. Trasobares, M. Kociak, M.G. Walls

Model-less Spectrum Image quantification by Independent Components Analysis p. 312

Microscopie et métaux

Symposium GN-MEBA — Mardi 24 juin — 9:30-12:00 — Salle RC 37 (Atrium)

Animateurs: Sonia Achard et Jacky Ruste

Pour cette première série d'exposés, le thème général est l'apport de la microscopie électronique dans l'étude des métaux ou de leur propriétés, et ce qu'ils datent de plusieurs millénaires ou moins, ou qu'ils concernent des propriétés aussi étranges qu'acoustiques. Ainsi, le premier exposé présente une caractérisation EBSD d'alliages en laiton destinés à la réalisation d'instruments de musique aux différentes étapes de la mise en forme. La relation entre l'anisotropie observée des alliages et les propriétés acoustiques est envisagée. Mais, la microscopie peut aussi être d'une grande utilité dans la caractérisation et la conservation d'objets archéologiques. C'est ce qu'illustre le deuxième exposé par la détermination du traitement de surface d'épingles en alliage cuivreux, de l'identification de l'alliage d'une statuette méroïtique du Soudan, ou encore de pigments sur des manteaux amérindiens en peau animale. Le troisième exposé montre l'intérêt de la microscopie électronique dans la compréhension et le contrôle des mécanismes

métallurgiques qui interviennent lors la solidification, étape souvent prépondérante pour la qualité métallurgique de l'alliage. Enfin, durant plus d'un millénaire, les forgerons ont développé un savoir-faire extrêmement complexe dans la réalisation d'épées à base d'aciers forgés composites, les aciers damassés. Le dernier exposé montre l'apport de la microscopie électronique et la microanalyse à la compréhension de ces aciers.

Conférenciers

9:30-10:00 – invité – B. Bacroix

Influence d'un traitement thermomécanique complexe sur les évolutions microstructurales et les propriétés élastiques et acoustiques associées dans le cas d'un alliage de cuivre utilisé dans la fabrication d'instruments de musique p. 313

10:00-10:30 – invité – E. Pons

Les microscopies au service du patrimoine : études de cas traitées au laboratoire EDF-Valecra p. 314

11:00-11:30 – invité – D. Daloz

Utilisation du MEB dans l'étude de la solidification d'alliages..... p. 315

11:30-12:00 – invité – M. Durand-Charre

Les aciers damassés décryptés p. 316

Posters

P17-1 A. Fraczkievicz, B. Décamps, D. Colas, O. Calonne, F. Louchet

A new type of <001> junction, observed in a (B2) Fe-Al-Ni-B alloy by TEM in-situ straining p. 317

P17-2 N. Escalé, J. Douin, F. Pettinari-Sturmel, A. Coujou

Caractérisation par Microscopie Electronique en Transmission des micro-mécanismes de déformation d'alliages de Titane β -métastable. p. 319

P17-3 B. Kedjar, F. Pettinari-Sturmel, J. Douin, A. Coujou

Etude par MET du durcissement structural d'aciers martensitiques à précipitation intermétallique..... p. 320

P17-4 P. Vermaut, K. Chastaing, A. Denquin, R. Portier, D. Caillard

Caractérisation par MEHR de parois de translation dans les alliages à mémoire de forme RuNb p. 321

Microscopie et minéraux

Symposium GN-MEBA — Mardi 24 juin — 13:30-15:30 — Salle RC 37 (Atrium)

Animateurs: Monique Repoux et Lahcen Khouchaf

La richesse des minéraux réside dans leur vaste utilisation qui ne se limite pas à un domaine où une discipline. En revanche, ils font partie de la classe des matériaux céramiques. Leur utilisation s'étend à plusieurs domaines de la science : géoscience, science des matériaux, ... De plus, leurs propriétés sont liées à leurs compositions chimique et minéralogique et à leur microstructure.

Ainsi, les techniques de microscopie électronique et de microanalyse X permettent d'apporter de précieuses informations. Un exemple est donné par l'étude des verres et de leur élaboration. Nous pouvons noter également l'apport de ces techniques à la compréhension de l'origine de la terre et à sa préservation ainsi qu'à l'étude des météorites et des minerais. Des exemples d'application ainsi que différentes méthodologies seront présentés au travers des conférences proposées.

Conférenciers

- 13:30-14:00 – invité – S. Lahlil, I. Biron, M. Cotte, N. Menguy**
Utilisation de la microstructure comme critère d'identification du procédé de fabrication des verres anciens opacifiés aux antimoniates de calcium p. 322
- 14:00-14:30 – invité – G. Wille, C. Bény**
Microscopie électronique et géosciences, de l'origine de la terre à sa préservation p. 323
- 14:30-15:00 – invité – A. Jambon, O. Boudouma**
Applications de la microanalyse à l'étude des météorites p. 324
- 15:00-15:30 – invité – E. Baillet**

Posters

- P18-1 B. Van de Moortèle, L. Bezacier, G. Trullenque, B. Reynard**
Cartographies EBSD sur une serpentine et anisotropie sismique p. 325

Microscopie et êtres vivants

Symposium GN-MEBA — Jeudi 25 juin — 8:30-10:30 — Salle RC 37 (Atrium)

Animateurs: Jean-Pierre Lechaire et Christian Mathieu

Les techniques de microscopie sont largement utilisées en biologie et ce symposium illustrera cette diversité avec quelques exemples pris dans des domaines très différents. Ce sont des outils précieux dans le milieu médical pour aider au diagnostic comme vous pourrez le voir dans le cas de la tuberculose osseuse, grâce à l'utilisation du MEB à pression contrôlée et à la microanalyse X. Ce sont aussi des outils performants grâce d'abord aux techniques multiples qu'ils permettent, des techniques de préparation conventionnelles des échantillons aux techniques cryogéniques puis grâce aux instruments de plus en plus performants (microscopie confocale, MET et MEB) couplés aux techniques analytiques. Vous verrez que ces outils sont nécessaires pour assurer et contrôler le développement et la qualité d'un produit cosmétique. L'archéologie n'est pas en reste avec l'approche micro-archéologique qui utilise la microscopie électronique pour identifier les restes des graines et fruits conservés en contexte archéologique (carpologie). Le règne animal, et en particulier le monde des insectes, est riche en stratégies structurales photoniques pour gérer la lumière et la couleur à partir d'un nombre restreint de matériaux.

Conférenciers

- 8:30-9:00 – invité – E. Messenger, B. Deniaux**
Microscopie électronique et carpologie p. 326

9:00-9:30 – invité – S. Marull, E. Fernandez

La microscopie et le développement d'un produit cosmétique p. 327

9:30-10:00 – invité – S. Berthier

Structures photoniques multi-échelles naturelles p. 328

10:00-10:30 – invité – J. Durr, L. Khouchaf

Apport de la Microscopie Electronique à Balayage Environnementale équipée en Microanalyse X à la détection de la tuberculose osseuse p. 329

Posters

P19-1 N. Zambrano, P. Guichard, B. Cayrol, S. Marco, V. Arluison

Electron microscopy contributions to the study of the Sm-like Protein Hfq in the Post-transcriptional Regulation of Bacterial Cytoskeleton proteins p. 330

P19-2 M. Cantoni, G. Knott

FIB-Nanotomographie de tissus biologiques avec une taille de voxel de 5x5x5nm..... p. 332

P19-3 S. Callejon, Y. Sandjeu, J. Brandner, M. Haftek

Persistance des structures apparentées aux jonctions serrées dans la couche cornée de l'épiderme humain : implication possible dans le processus de desquamation et dans la fonction-barrière p. 333

P19-4 E. Fernandez, S. Marull

Caractérisation microscopique des corps lipidiques présents dans les graines de Jojoba (*Simmondsia chinensis*) et de Soja (*Glycine max*)..... p. 336

Microscopie et nouveaux matériaux

Symposium GN-MEBA — Jeudi 25 juin — 13:30-16:00 — Salle RC 37 (Atrium)

Animateurs: Alain Jadin et François Grillon

La maîtrise de nouveaux matériaux est un enjeu important pour la fabrication de produits aux fonctions spécifiques dans des domaines aussi variés que le stockage et la conversion d'énergie, l'aérospatiale ou encore la protection anti-corrosion. La microscopie électronique à balayage et les techniques associées offrent des moyens de caractérisation incontournables pour comprendre les propriétés de ces matériaux fonctionnels et améliorer leurs procédés d'élaboration. Les orateurs de ce symposium montreront l'apport de la microscopie électronique à balayage dans différentes études telles que : les électrodes pour batteries au lithium des véhicules électriques, les cellules photovoltaïques électrochimiques à base de CuInS_2 , les revêtements anti-corrosion constitués de polymères dopés par des nanoparticules de cérium, des films minces à base de précipités d'argent, et le modèle biomimétique de la libellule pour la réalisation de structures composites d'ailes battantes de microdrones.

Conférenciers

13:30-14:00 – invité – V. Bermudez, C. Ruiz, E. Saucedo, V. Izquierdo, A. Perez-Rodriguez

Les techniques microscopiques pour l'identification de l'origine de pertes de performance dans des cellules photovoltaïques à base de CIS p. 337

- 14:00-14:30 – invité – A. Luc-Bouhali**, A. Mavel, P. May
Apport de la microscopie électronique à balayage pour la conception d'aile de microdrone p. 338
- 14:30-15:00 – invité – J.F. Pierson**, C. Petitjean, C. Clément-Gendarme, D. Horwat
Formation de précipités d'argent après recuit à l'air de films minces à base d'oxydes ... p. 339
- 15:00-15:30 – invité – P. Moreau**
Apport de la microscopie électronique à l'étude des électrodes composites de batteries au lithium
..... p. 340
- 15:30-16:00 – invité – C. Arnoult**, O. Buchheit, D. Del Frari, F. Eddoumy, J. Di Martino,
D. Ruch
Apport de la microscopie électronique à balayage couplée à l'interférométrie à lumière blanche
lors de l'étude de revêtements anticorrosion à base de polymères dopés..... p. 341

Posters

- P20-1 H. Desmoulins**, S. Malo, S. Boudin, V. Caignaert, M. Hervieu
Polymorphisme de l'aluminate de Sr dopé au fer : les quatre formes de $\text{SrAl}_{1,5}\text{Fe}_{0,5}\text{O}_4$... p. 343
- P20-2 A. Letrouit**, R. Retoux, M. Hervieu, S. Boudin
Mise en évidence et étude de nouveaux aluminates d'antimoine par Microscopie Electronique
et Diffraction des Rayons X..... p. 345
- P20-3 P. Lakshmanan**, L. Delannoy, C. Potvin, K. Fajerweg, V. Richard, C. Louis
Characterization of Au/CeO₂-Al₂O₃ Catalysts using Energy-Filtered Transmission Electron
Microscopy (EFTEM) p. 347
- P20-4 F.-T. Huang**, A. Gloter, M.-W. Chu, F. C. Chou, C.-H. Chen, C. Colliex
Revisiting the Phase Diagram of Sodium Cobaltate above 0.5 : X-ray and Electron Investigation
..... p. 350
- P20-5 L. Bocher**, M. H. Aguirre, P. Wang, A. Bleloch, U. Bangert, A. Weidenkaff
Microstructural studies of potential thermoelectric perovskite-type manganate phases .. p. 351
- P20-6 R. Fernández-Pacheco**, F. J. de la Peña, O. Stéphan, M. Kociak, N. Brun, T.
Kociniewski, D. Débarre, J. Boulmer, F. Fossard, C. Colliex
STEM and EELS characterisation of boron-doped superconducting silicon..... p. 352
- P20-7 M.H. Chambrier**, A. Redjaïmia, A. Le Bail, S. Kodjikian, F. Goutenoire.
Analyse par micro-diffraction de la symétrie exacte de $\text{La}_{10}\text{W}_2\text{O}_{21}$ p. 354

Analysis of molecular dynamics by cryo-electron microscopy.

E.V. Orlova¹

¹ School of Crystallography, Birkbeck College and Institute of Structural Molecular Biology, Malet Street, London WC1E 7HX, UK

Single particle electron microscopy (EM) has achieved remarkable results in analysis of macromolecular complexes. By using cryo EM, macromolecular complexes can be captured in their native state and analysed without crystallisation. This approach can be applied to macromolecules, which would be intractable for crystallography because of their size, specific interactions between structural domains, and flexibility. However, the main approach used in cryo-EM analysis of biological macromolecules in solution is based on the hypothesis that complexes are the same in their composite and conformation but in different orientations with respect to the electron beam. On the other hand the native state of the biological molecules does not assume they are rigid structures that are locked in a certain state as in crystals. This fact imposes a limitation on the achievable resolution using classical methods of image analysis of single particles in EM. The advantage of cryoEM is having information from different molecular states of the complexes (heterogeneous ensemble) at the same time that would reflect their dynamics at conditions similar to those in cells. Finding a solution for separating images of molecules in different states has become increasingly important for EM structural analysis.

Heterogeneity in a biological sample can arise from several sources : (1) Partial occupancy of a ligand in a molecular complex [1], (2) structural dynamics that is reflected in few distinct reaction states or a gradual transformation with several intermediate states [2-4], and (3) different oligomeric states that result in changes of symmetry and/or size [5,6]. Ideally, distinct conformations should be trapped biochemically before imaging in an electron microscope [3], but this is not always experimentally possible. In these cases image separation has to be performed computationally.

Several approaches have been suggested and these that can be divided into three major categories based on the procedures used to identify and sort molecular heterogeneity. In the first category, recognition of heterogeneity and initial sorting are done in 2D only, prior to any 3D reconstruction. This '*a priori*' group of methods is based primarily on multivariate statistical analysis of features in the 2D images to detect variations between images. The separation procedure uses the sorting of images based on their major variations which are reflected in the low order eigenimages. The technique was shown to work with overall size variations as small as 5% [6-8].

In the second category an initial 3D map is required in order to separate the images into subsets where the images represent a molecular complex in similar orientations. Analysis of heterogeneity is then done in 2D for each image subset. This minimizes orientation variation within classes, and as a result facilitates recognition of conformational variations. The approach was applied both to the reconstruction of heterogeneous ribosome complexes [4] and to icosahedral viruses with symmetry mismatches or partial occupancy.

The third category is based on '*a posteriori*' analysis of 3D reconstructions by considering a population (many as possible) of 3D reconstructions in order to examine variations in maps. At least one hundred 3D maps should be reconstructed so they could be analysed for differences; the most representative ones are then used as initial models for refinement. In the so-called 'bootstrap' technique [9,10], 3D maps are calculated from randomly selected subsets of images

whose spatial orientations were determined by projection matching to a starting 3D map. The evaluation of variability in the resulting 3D maps and localization of areas with high variance allows assessment of the heterogeneity level, and estimation of covariance in the population enables classification of 3D maps. Once the region of major variation is localised in the 3D maps and in the corresponding 2D projections, images are sorted into subgroups according to average pixel density in the high variance region [9]. Another rather similar idea is the maximum likelihood-based classification of 3D maps that identifies conformational variability within the maps and then separates the different molecular states [11].

The aim of the work described here is to reveal, analyse heterogeneity, and separate mixed populations with conformational changes triggered by ligand binding using two-dimensional image analysis prior to 3D reconstruction. The approach is based on multivariate statistical analysis and comprises two successive classifications : the first based on features showing global variance of structural features due to different orientations followed by a second classification based on the features related to changes induced by ligand binding. These steps do not require angular orientation determination, so the technique is not biased to any 3D model. We demonstrate the feasibility of the approach in successful tests on heterogeneous model data sets and on real EM data of ribosome-EF-G complexes and GroEL-GroES-ADP/substrate complexes [12]. Our results demonstrate how the substrate can adopt different positions in the complexes and provide a possible sequence of interaction [13].

- [1] M. Halic, T. Becker, M.R. Pool, C.M. Spahn, R.A. Grassucci, J. Frank and R. Beckmann, *Nature*, 808-814, 427 (2004)
- [2] J.B. Heymann, N. Cheng, W.W. Newcomb, B.L. Trus, J.C. Brown and A.C. Steven, *Nat. Struct. Biol.*, 334-341, 10 (2003)
- [3] M. Valle, A. Zavialov, J. Sengupta, U. Rawat, M. Ehrenberg and J. Frank, *Cell*, 123-134, 114 (2003)
- [4] B.P. Klaholz, A.G. Myasnikov and M. Van Heel, *Nature*, 862-865, 427 (2004)
- [5] S.J. Tilley, E.V. Orlova, R.J.C. Gilbert, P.W. Andrew and H.R. Saibil, *Cell*, 247-256, 121 (2005)
- [6] H.E. White, E.V. Orlova, S. Chen, L. Wang, A. Ignatiou, B. Gowen, T. Stromer, T.M. Franzmann, M. Haslbeck, J. Buchner and H.R. Saibil, *Structure*, 1197-1204, 14 (2006)
- [7] S. Falke, F. Tama, C.L. 3rd Brooks, E.P. Gogol and M.T. Fisher, *J. Mol. Biol.*, 219-230, 348 (2005)
- [8] H.E. White, H.R. Saibil, A. Ignatiou and E.V. Orlova, *J. Mol. Biol.*, 453-460, 336 (2004)
- [9] P.A. Penczek, J. Frank and C.M.T. Spahn, *J. Struct. Biol.*, 184-194, 154 (2006a)
- [10] P.A. Penczek, C. Yang, J. Frank and C.M.T. Spahn, *J. Struct. Biol.*, 168-183, 154 (2006b).
- [11] S.H. Scheres, H. Gao, M. Valle, G.T. Herman, P.P. Eggermont, J. Frank and J.M. Carazo, *Nat. Methods*, 27-29, 4 (2007)
- [12] N. Elad, D.K. Clare, H.R. Saibil and E.V. Orlova, *J. Struct. Biol.*, 108-20, 162 (2008)
- [13] N. Elad, G.W. Farr, D.K. Clare, E.V. Orlova, A.L. Horwich and H.R. Saibil, *Mol. Cell*, 415-426, 26 (2007)

Current developments of synchrotron radiation

J.P. Samama¹

¹ Synchrotron SOLEIL, l'Orme des Merisiers, Saint Aubin

The current technical and methodological achievements in X-ray Microscopy and X-ray Spectromicroscopy techniques complement the ultrastructural information given by electron microscopy, and the dynamic information at medium resolution provided by light microscopy. These methods carry a high potential value, and their developments and implementations on medium energy third generation synchrotron sources like SOLEIL is actively pursued. Combining informations from X-ray microscopies and spectroscopies [W. Meyer-Ilse et al], TEM and photonic methods for imaging cells events at complementary spatial and temporal scales appears as a major achievement for life sciences and biomedical research in the near future.

Cellular cryo-electron tomography is currently reaching 4 nm and super resolution fluorescence microscopy, celebrated as method of the year 2008 by Nature Methods, is reaching sub 100 nm resolution. The remarkable improvements in optics and detector technologies over the last years and the use of soft and hard X-rays on synchrotron sources, now offer imaging methods for tomographic representation of whole hydrated cells and tissues at spatial resolutions that bridges the gap and complement TEM and fluorescence microscopies.

In this presentation, insights into the possibilities of soft X-Ray Transmission Microscopy (TXM), scanning hard X-ray nanoprobe spectroscopies and coherent diffraction imaging will be given. TXM in the "water window" is based on the strong absorption contrast of carbon-containing species over that of water and provides 30 to 50 nm resolution tomographic images of wet samples with spatial resolution better than 15 nm for 2D imaging [W. Chao et al]. New instruments such as the one operating at ALS in California provided images of sub-cellular compartments at the whole cell level [J.M. Ashcroft et al, W. Gu et al, D.Y. Parkinson et al]. The energy range at which TXM operates also allows Ca imaging at the same resolution without added probe. Scanning hard X-Ray nanoprobe exploit absorption and X-ray fluorescence contrasts. State-of-the art hard X-ray nanoprobe instruments provide 2D and 3D mapping at 30-150 nm spatial resolution of thick (>10 μ m) samples. Subcellular localisation of trace elements as well as valence/oxidation states can also be revealed by these techniques [M.J. Daly et al, P.J. Endres et al, L. Finney et al, K.M. Kemner et al, T. Paunesku et al]. Coherent X-ray diffraction imaging (CDI) is extending the methodology of X-ray crystallography by using a coherent probe over the sample and oversampling the diffraction pattern, thus allowing the structural determination of noncrystalline specimens. These techniques are under rapid development [B. Abbey et al, J. Miao et al, I.K. Robinson et al, D. Shapiro et al, C. Song et al, P. Thibault et al]. They are overcoming X-ray optical limitations to reach resolutions below 10 nm, and as such, they are considered as promising techniques for high spatial resolution 2D/3D X-ray imaging of internal structures of biological material.

La correction d'aberration sphérique image : applications en imagerie et diffraction

F. Houdellier¹

¹ CEMES-CNRS, 29 rue Jeanne Marvig, 31055 TOULOUSE

Dès le lancement de la microscopie électronique en transmission, les microscopistes ont su que les possibilités de leur machine seraient limitées par les aberrations des lentilles électromagnétiques. En 1936, Scherzer montre que les aberrations principales des lentilles rondes, i.e. l'aberration sphérique et l'aberration chromatique (Cs et Cc), seront toujours positives [1]. Il propose ainsi de remédier à ce problème en utilisant des combinaisons ingénieuses de lentilles à symétries non cylindriques afin d'introduire une composante négative en Cs [2]. La correction d'une image STEM ou d'une image TEM n'implique pas les mêmes problèmes. Dans le premier cas, seul le spot est corrigé, alors que le cas de l'imagerie est plus délicat puisque la correction doit être effective sur un grand champ de vue. C'est pourquoi les solutions dédiées à la correction du spot en STEM ont d'abord été étudiées. Citons par exemple la solution de Deltrap [3] basée sur cette idée (association de quadrupoles et d'octopoles), et fabriquée de nos jours par la société Nion (Fondée par Krivanek et Dellby) [4].

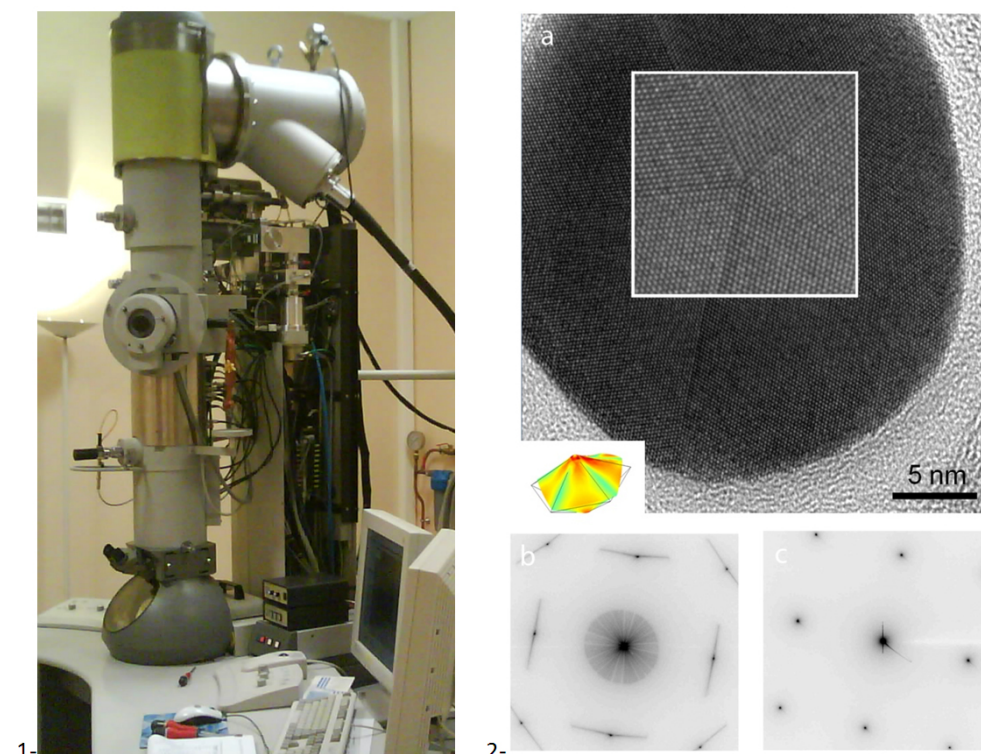
Les premières solutions TEM sont apparues dans les années 80 avec Crewe qui proposa l'utilisation d'une combinaison de deux hexapoles permettant la correction du Cs et de l'astigmatisme d'ordre 2 (A2) introduit par ces éléments multipolaires [5]. En 1990, Rose montre que les solutions de Crewe ne peuvent pas être utilisées pour corriger une image dans son ensemble en raison de la présence importante de coma d'ordre 2 (B2) qui rend le système non-isoaplanatique [6]. Se basant sur l'idée de Crewe utilisant deux hexapoles, il présente une solution consistant à rendre le système isoaplanatique et donc utilisable en tant que correcteur image [6]. La réalisation de cette idée ingénieuse par les élèves de Rose, regroupés dans la société CEOS (Fondée par Zach et Haider), pris un peu moins de 10 ans puisque les premiers résultats obtenus avec un correcteur hexapole image première génération, installé sur le CM200FEG de Jülich, seront publiés en 1998 [7].

C'est en 2004 qu'arrive au CEMES-CNRS de Toulouse, le premier microscope commercial de FEI équipé d'un correcteur hexapole (Figure 1). Le SACTEM-Toulouse (Spherical Aberration Corrected Transmission Electron Microscope), un TECNAI F20 équipé d'un biprisme électrostatique rotatif, d'un étage STEM ainsi que d'un GIF Tridien, nous permet actuellement de travailler dans la majorité des modes qu'offre le TEM, de la HRTEM à la spectroscopie EELS en passant par l'holographie [8]. L'apport du correcteur image est considérable et ne se réduit pas seulement au gain de résolution de cette machine (0.12nm de manière routinière), mais change complètement notre façon d'appréhender les expériences d'HRTEM. Elle a, de plus, permis de développer de nouvelles techniques inédites telles que le CHEF (CBED Holography Energy Filtered) [9], le LACDIF (LACBED en mode image) [10], l'EMCD (Electron Energy Loss Magnetic Chiral Dichroism) [11], l'holographie en champ sombre [12], ...

Durant cette présentation, je me concentrerai sur un premier bilan relatif à ces 5 années de recherche avec le SACTEM-Toulouse en insistant sur l'apport en imagerie haute résolution (résolution, signal/bruit, isoaplanaticité, phases géométriques pour les mesures de contraintes, ...) ainsi qu'en diffraction autour de la technique LACDIF classique ou annulaire [13] équivalente à la populaire technique de précession électronique utilisée lors d'étude cristallographique fine (Figure 2). J'insisterai en particulier sur les questions expérimentales qui reviennent souvent

lorsque l'on évoque des manip corrigées.

- [1] O.Scherzer Z.Physik 101, p593-603 (1936)
- [2] O.Scherzer Optik 2, p114-132 (1947)
- [3] J.H.M. Deltrap, Ph.D. Thesis, University of Cambridge, (1964)
- [4] O.L.Krivanek, N.Dellby and A.R.Lupini Ultramicroscopy 78, p1-11 (1999)
- [5] A.V.Crewe Optik 57, p313-327 (1980)
- [6] H.Rose Optik 85, 19-24 (1990)
- [7] M.Haider, H.Rose, S.Uhlemann, E. Schwan, B.Kabius, and K.Urban Ultramicroscopy 75, p53-60 (1998)
- [8] F.Houdellier, M.J.Hýtch, F.Hüe and E.Snoeck Chapter 6 in "Advances in Imaging and Electron Physics " Vol. 153 Edited by P.W.Hawkes p225-260 (2009)
- [9] F.Houdellier and M.J.Hýtch Ultramicroscopy 108, p285-294 (2008)
- [10] J.P.Morniroli, F.Houdellier, C.Roucau, J.Puiggali, S.Gesti and A.Redjaïmia Ultramicroscopy 108, p100-115 (2008)
- [11] B.Warot, F.Houdellier, M.J.Hýtch, L.Calmels, V.Serin and E.Snoeck Ultramicroscopy 108, p493-498 (2008)
- [12] M.J.Hýtch, F.Houdellier, F.Hüe and E.Snoeck Nature 453, p1086-1089 (2008)
- [13] F.Houdellier and S.Bals Proc. EMC 2008 14th European Microscopy Congress Aachen. DOI 10.1007/978-3-540-85156-1-15 (2008)



1- Le SACTEM-Toulouse 2- Exemples d'applications du correcteur de Cs image pour l'HREM et la diffraction a- Image HREM d'une nanoparticule decahedrale d'or b- Diagramme LACDIF en axe [001] du silicium avec les hexapoles desactivés c- avec les hexapoles activés (Tiré de [10])

Développements récents en spectroscopie de perte d'énergie électronique résolue spatialement

M. Kociak¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, Bâtiment 510, Université Paris-Sud, 91405 Orsay

La spectroscopie de perte d'énergie électronique (EELS) est une technique maintenant bien établie tant en physique qu'en biologie. Alliée à la résolution spatiale d'un microscope électronique, elle permet en effet maintenant d'obtenir, de façon plus ou moins routinière, des informations cruciales sur la composition chimique et la structure électronique d'objets d'intérêts biologiques ou physique à des échelles de quelques nanomètres.

En deçà de quelques nanomètres de résolution, le recours à la microscopie à balayage en transmission (STEM) devient intéressant si l'on désire bénéficier de toute l'information spectrale contenu dans un spectre EELS. On utilise alors un mode d'acquisition séquentiel - dit "spectre-image" (SPIM)- pour lequel un spectre EELS est enregistré pour chaque position de la sonde électronique. La démocratisation des modes STEM et SPIM dans des microscopes conventionnels rend accessibles ces techniques à un bien plus grands nombre d'utilisateurs et de problématiques. Dans le même temps, l'arrivée de correcteurs d' aberrations du troisième et du cinquième ordre de la sonde électronique ou des monochromateurs repoussent les limites de résolution spatiales et spectrales accessibles, permettant de résoudre de nouveaux problèmes tout en amenant de nouvelles questions sur l'interprétation des expériences d'EELS résolues spatialement.

Au cours de cet exposé, j'essayerai de présenter l'état de l'art sur les développements récents, tant matériels ou logiciels que conceptuels, en spectroscopie de perte d'énergie électronique résolue spatialement. En particulier, je discuterai :

- De l'utilisation de STEM corrigés des aberrations pour l'obtention de cartes chimiques résolues à l'échelle de la colonne atomique
- De l'application des modes SPIM à des domaines nouveaux comme la nanooptique

J'illustrerai mon exposé d'exemples obtenus par l'équipe STEM d'Orsay, en particulier à l'aide de l' UltraSTEM-100 de Nion, STEM corrigé des aberrations du cinquième ordre.

Finalement, je discuterai des limites actuelles, essentiellement en termes d'interprétation des résultats, que l'on rencontre avec les données acquises à l'aide de ces nouvelles techniques.

Adsorption des gaz sur les surfaces de nano particules métalliques

S. Giorgio¹, M. Cabié¹, C.R. Henry¹

¹ CINAM, Campus de Luminy, Case 913, 13288 Marseille Cédex 9

Les nanoparticules métalliques utilisées comme catalyseurs sont souvent caractérisées par microscopie électronique à transmission sous vide. Cependant, des modifications de la morphologie se produisent au cours des réactions dans un environnement gazeux. Dans le cas d'agrégats de Pt, H₂ and O₂ s'adsorbent sur les surfaces et diminuent les énergies des faces (111) et (001). Des calculs montrent que l'adsorption des gaz induit la croissance ou le fractionnement des agrégats alors que des expériences ex situ [1-2] montrent la formation de facettes (111) en milieu réducteur et l'arrondissement en milieu oxydant. Les interactions entre les gaz adsorbés et les agrégats métalliques sont maintenant étudiées in situ par microscopie électronique haute résolution environnementale [3-5].

La forme des nanoparticules de Pt est surtout limitée par des faces (111) et (001), avec un rapport d'anisotropie entre les énergies de surfaces $s_{100}/s_{111} = 0.97$. Ce rapport d'anisotropie varie suivant les tailles de particules et les gaz adsorbés sur les surfaces. Une série de 3 agrégats de Pt (fig.1) est observée au cours d'un cycle d'oxydo réduction, sous des pressions de O₂ et de H₂ égales à 3 mbar au niveau de l'objet.

Reduction des agrégats de Pt sous H₂ à 3 mbar Au cours de la circulation de H₂, les particules subissent en même temps des changements de morphologie en développant des faces (111) (fig.2). La forme obtenue correspond à un cuboctaèdre observé suivant une direction [110] limité par des faces (111) et tronqué par des faces (001). Oxydation des agrégats de Pt sous O₂ à 3 mbar Au cours de la circulation de O₂ pur, les 3 particules retrouvent leur forme limitée par des faces (001) (fig. 3). Les effets de O₂ sont observés en détails sur les images de haute résolution.

[1] A.S. Ramachandran, S.L. Anderson, A.K. Datye, Ultramic. 51 (1993) 282

[2] G. Rupprechter, H. J. Freund, Topics in Catalysis 14 (2001) 3-14

[3] S. Giorgio, S. Sao Joao, S. Nitsche, G. Sitja, C.R. Henry, Ultramicroscopy 106 (2006) 503

[4] P.L.Gai, E.D.Boyes, S. Helveg, P.L. Hansen, S.Giorgio, C.Henry, MRS Bulletin 32 (2007)1

[5] S. Giorgio, M. Cabié, C.R. Henry, Gold Bulletin, 41 (2008) 167

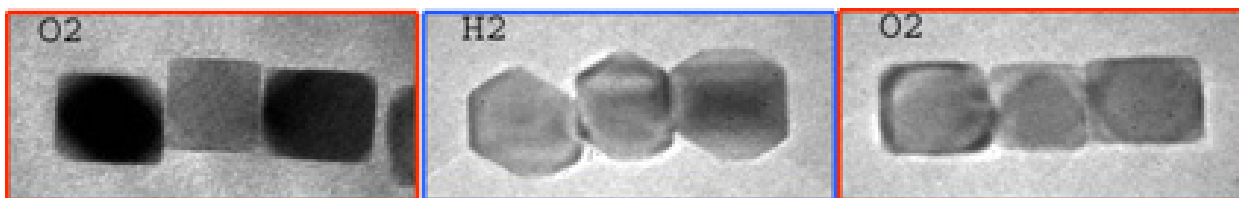


Figure : 3 agrégats de Pt /O₂ - mêmes agrégats de Pt / H₂ - mêmes agrégats / O₂

X-ray tomography of *Drosophila* brains

P. Tchenio^{1,2}, A. Leforestier³, L. Michot⁴, P. Levitz⁵, P. Guttman⁶, T. Preat¹

¹ GDSM, UMR7637, ESPCI, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris, France

² Laboratoire Aimé Cotton, CNRS, Bât. 505, Université de Paris 11, 91405 Orsay Cedex

³ LPS, UMR8502, Bâtiment 510, Université de Paris 11, 91405 Orsay Cedex, France

⁴ Laboratoire Environnement et Minéralurgie, CNRS-Nancy Université UMR 7569, 15 Avenue du Charmois, BP 40, 54501 Vandoeuvre CEDEX, France

⁵ PMC-CNRS, Ecole Polytechnique, route de Saclay, 91128 Palaiseau, France

⁶ BESSY, Albert Einstein Str 15, D-12489 Berlin, Germany

The main challenge faced by neuroscientists studying memory is to define the links between various organization levels, from molecules and cells to neuronal circuits, and finally to the global brain cognitive functions. *Drosophila melanogaster* represents a relevant model system for investigating associative learning and memory. In *Drosophila*, olfactory short-term memory (STM) can be induced through a single associative-learning trial, consisting of an odor accompanied by electric shocks followed by an odor presented alone. In addition to STM, *Drosophila* can also display long-term memory (LTM) after spaced and repeated presentation of the odor associated with electric shocks. LTM can last several days and depends on de novo protein synthesis. A brain structure, the mushroom bodies (MBs), plays a central role in STM and LTM [1,2]. Thus, LTM may involve ultrastructural modifications of neuronal connectivity of MB following conditioning. In particular, synapse strengthening may occur by local growth of neurons that may involve the activity of proteases and cytoskeleton proteins [3,4]. Ultrastructural modifications following LTM formation have not yet been described. The main limitation is technical. On the one hand, light microscopes have a resolution limited to about 200 nm, which is not sufficient to observe and quantify sub-cellular changes. On the other hand, electron microscopes have a resolution of about 1 nm, but the area that needs to be explored is about 5-15 μm thick which is out of range of Transmission Electron Microscopy possibilities. Low energy tomographic X-ray microscopy (TMX) is the only technique that could allow a direct visualization of Mushroom Bodies structure in *Drosophila melanogaster* [5]. The resolution of the TXM (around 30 nm) is particularly well-adapted to this problem. Furthermore due to the depth of focus inherent to low energy TXM, only a tomographic experiment can yield relevant biological information. Nevertheless, TXM presents serious challenges. An acceptable irradiation damage level requires maintaining the sample at cryogenic temperature during imaging. Moreover, the contrast mechanism precludes chemical fixation or resin embedding [6]. We will present first TXM images in *drosophila* brain.

[1] Isabel, G. Pascual, A. and Preat, T. (2004). Exclusive consolidated memory phases in *Drosophila*. *Science*, 304 : 1024-1027.

[2] Pascual A. and Preat T. (2001). Localization of long-term memory within the *Drosophila* mushroom body. *Science*, 294 :1115-1117.

[3] Comas, C., Petit, F. and Preat, T. (2004). Regulation of cathepsin activity is involved in *Drosophila* long-term memory formation. *Nature*, 430 : 460-3.

[4] Didelot G., Molinari F., Tchenio P., Comas D., Milhiet E., Munnich A., Colleaux L., Preat T. (2006). Tequila, A Neurotrypsin Ortholog, Regulates Long-Term Memory Formation In *Drosophila*. *Science*, 313(5788) : 851-853.

[5] Schneider G et al (2007). X-ray microscopy at BESSY : From nano-tomography to fs-imaging Editor(s) : Synchr. Radiat. Instruments., Book Series : AIP CONFERENCE PROCEEDINGS, 879 : 1291-1294

[6] Le-Gros, M. A., G. McDermott, and C. A. Larabell. (2005). X-ray tomography of whole cells. *Curr Opin Struct Biol* 15 :593-600.

Segmentation of fibers in cryo-electron tomograms

S. Blestel¹, D. Chrétien², C. Kervrann^{1,3}

¹ INRIA, Centre de Rennes Bretagne Atlantique, IRISA/Univ. Rennes I, F-35042 Rennes

² CNRS, UMR 6026, IFR 140, F-35042 Rennes

³ INRA, UR341 Mathématiques et informatique appliquées, F-78352 Jouy-en-Josas

Introduction. Cryo-electron tomography enables the 3D visualization of biological specimens frozen at liquid nitrogen temperature. Segmentation of cryo-electron tomograms is a hard task, particularly because of the low signal-to-noise ratio, and the general methods for image segmentation [1] are not entirely satisfying or uneasy to initialize. We propose an automatic method to segment microtubules (fibers of the cytoskeleton of ~ 25 nanometers in diameter) or other fibers in tomograms. This two-step method performs segmentation independently for each 2D slice of the tomogram. The first step is the segmentation of one slice by energy minimization, and the second step aims to automatically initialize the next slice segmentation.

Segmentation of a 2D slice. Image segmentation consists in our case in determining for each pixel s if it belongs to the "background" B or to the foreground, that is the "objects" O of interest. Within the Bayesian estimation framework, our problem can be written as the minimization of a Markov-based energy defined as :

$$E(X) = \sum_{s \in S} V_d(x_s, y_s) + \sum_{\langle s, t \rangle \in \mathcal{C}} V_r(x_s, x_t),$$

where y_s is the observation at pixel s (e.g. image intensity), $X = \{x_s \in \{B, O\}\}$ is the label set and $\langle s, t \rangle \in \mathcal{C}$ is the set of neighbor pixels. The energy $E(X)$, minimized by a "min cut/max flow" algorithm [3] to guarantee the optimal solution, is composed of two terms :

1. the regularization (or smoothing) term $V_r(\cdot, \cdot)$ is an Ising model that favors neighbor pixels having the same label and avoids the detection of isolated pixels ;
2. the fidelity or data term $V_d(\cdot)$ favors the labeling of the pixel s knowing the observation y_s . In our model, each label is represented by a square patch M_{x_s} (pictorial element) which depends on the label $x_s \in \{B, O\}$ and can depend on the pixel location. The potential $V_d(x_s, y_s)$ is the euclidean distance between the patches M_{x_s} and M_{y_s} , where M_{y_s} is the patch observed at pixel s . The patches representing each class are defined as follows :
 - the background patch $M_{x_s=B}$ has a constant intensity value equal to the local mean intensity of the background ;
 - the "objects" patch $M_{x_s=O}$ is the average of patches selected along a curve passing through a microtubule wall. Such a curve can be estimated using the "Fast-Marching" algorithm [2], which enables to find the shortest geodesic path between two points of the microtubule wall.

The use of patches enables to take into account the pixel neighborhoods, and thus to increase robustness to noise.

Segmentation of the whole tomogram. This above algorithm produced satisfying results in 2D and has been extended to process the whole volume. The 2D algorithm is initialized by manual selection of pairs of points that initialize several "Fast-Marching" algorithms and enable to extract "objects" patches. Since the global mean intensity of the slices of the tomogram varies, the set of patches is updated on each slice. To automatically detect points of the microtubule

walls, we exploit the tubular shape of the microtubules, observed longitudinally : They form straight or slightly curved lines and can be identified on the segmented slice k by applying the Hough transform to this slice. The Hough transform identifies lines in a segmented image, which correspond in our case to microtubule walls. The point locations detected on the slice k enable to initialize several "Fast-Marching" algorithms on slice $k + 1$ useful to compute new "objects" patches (see Figure 1).

The algorithm initialization is easy and fast, and the 3D-visualization of segmented tomograms is clearly improved (see Figure 1). We present the algorithm in the particular case of microtubule segmentation, but it can be applied to segment other fibers or macromolecular assemblies with lineal structures or preferred orientations.

[1] K. Sandberg, *Methods in Cell Biology*, 769-798, 79 (2007)

[2] L. Cohen and R. Kimmel, *International Journal of Computer Vision*, 57-78, 24 (1997)

[3] Y. Boykov and V. Kolmogorov, *Proceedings of the International Workshop on Energy Minimization Methods in Computer Vision and Pattern Recognition*, 359-374 (2001)

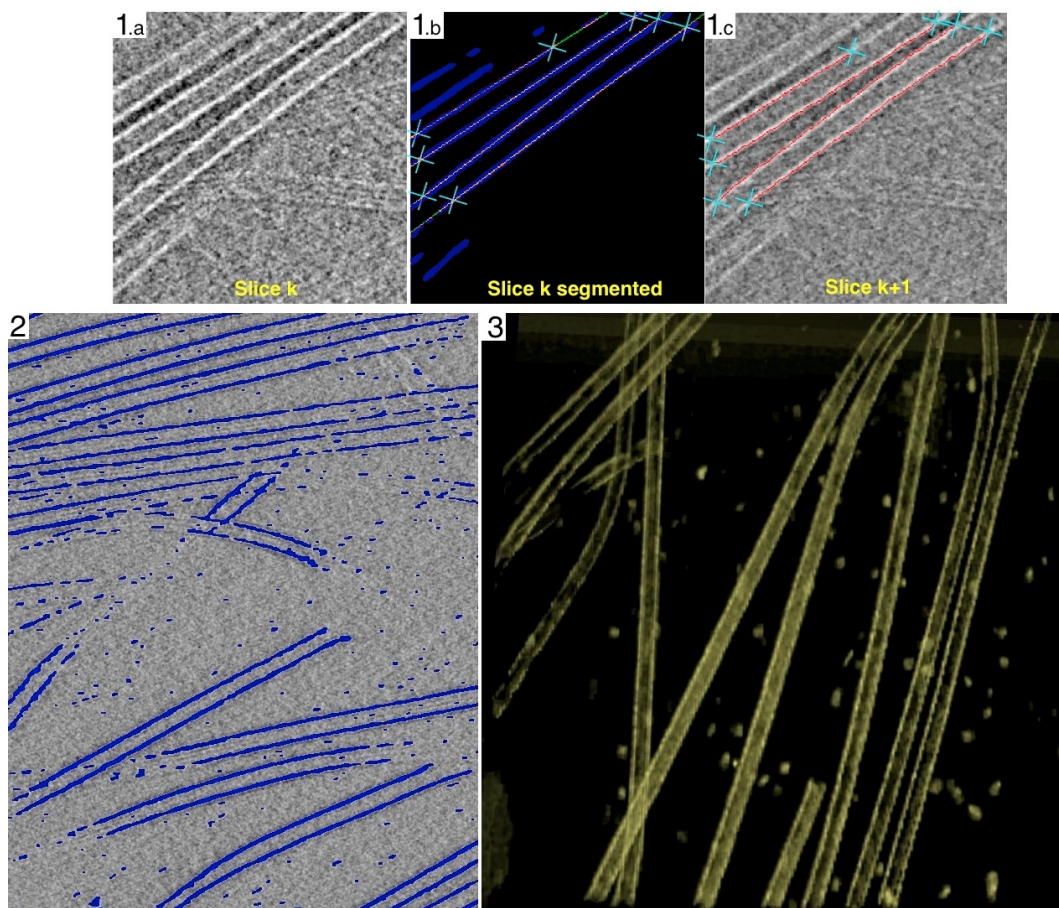


Figure 1 : (1) A Hough transform is applied to the segmented image (1.b) to detect lines (yellow) and microtubule extremities (blue crosses). Extremity points are used to initialize several "Fast-Marching" algorithms (red curves) on the next slice (1.c). Experimental results : (2) 2D view of a segmented tomogram with pixels labelled as "objects" in blue ; (3) segmented volume visualized with CHIMERA software (www.cgl.ucsf.edu/chimera/).

Faute d'empilement la plus stable dans 4H SiC intrinsèque ou dopé N

G. Regula¹, M. Lancin¹, B. Pichaud¹

¹ IM2NP, IM2NP-CNRS UMR 6242

Le SiC 4H dopé N ($> 2 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3}$) ayant un intérêt technologique, ses propriétés ont été l'objet de nombreux travaux. En particulier, de nombreux auteurs ont étudié les défauts qui se propagent lors des recuits à 1100°C , température nécessaire à la réalisation de diodes et qui se situe dans le domaine fragile. Les auteurs ont observé la formation de double fautes d'empilement (DSFs) qui sont constituées de deux fautes tirées par deux partielles de Schockley dans deux plans de glissement successifs dans lesquels les dumbbells ont la même orientation. La propagation de ces DSFs peut être due à des forces mécaniques mais la plupart des auteurs invoquent une force électronique appelée quantum well action (QWA). En effet, ces fautes, de structure cubique dans la matrice 4H, forment des puits quantiques.

Pour évaluer le poids du QWA, nous avons étudié les défauts grâce au microscope 300 kV Titan avec correction de Cs. Ils sont nucléés par rayure de la surface et se propagent par recuit dans du 4H intrinsèque ou dopé N. Compte tenu des teneurs en N, nous avons choisi une température de recuit de 700°C afin que le QWA puisse être possible dans le 4H dopé et impossible dans le 4H intrinsèque. Dans les deux matériaux, nous avons constaté que tous les défauts sont constitués de $n = 2p$ (p entier ≤ 3) simples fautes d'empilement (SSFs). Dans le plus grand nombre des cas $p = 1$ et ceci prouve que la DSF est le défaut élémentaire caractéristique de la structure 4H. Dans les zones les plus endommagées, outre des DSFs parfois distantes de 1nm (cf photo), on observe des multiples fautes avec p égal 2 ou 3. Cet élargissement du puits quantique n'est dû qu'à une relaxation de contraintes localement plus importante. Le QWA peut aider la propagation des fautes mais n'a pas un rôle majeur.

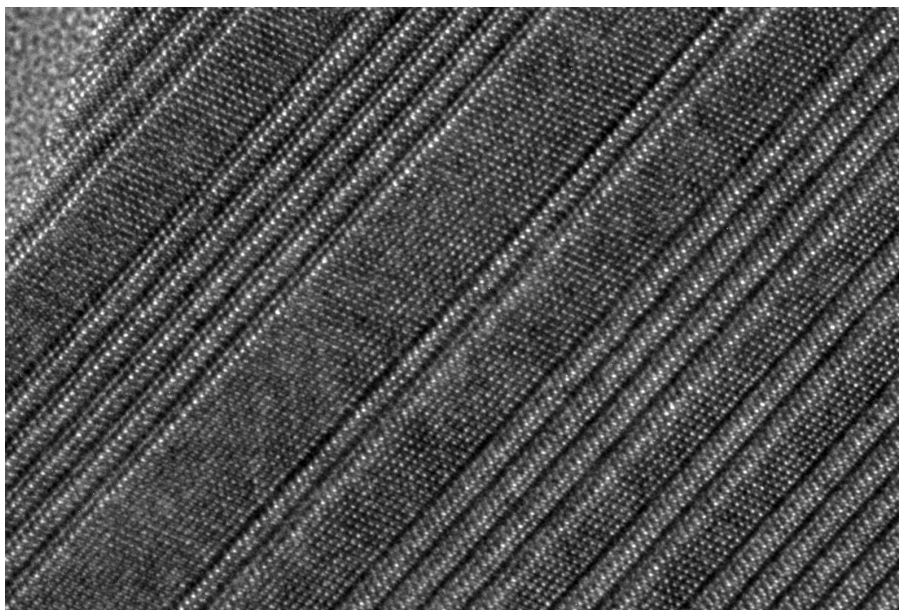


Figure : Fautes d'empilement caractéristiques du SiC 4H intrinsèque ou dopé N

Accélération par carte graphique des algorithmes itératifs de reconstructions 3D de séries tomographiques à transmission

A. Semay³, F. Curnier³, J.P. Bruandet³, S. Marco^{1,2}, C. Messaoudi^{1,2}

¹ Institut Curie, Centre de Recherche, F-91405 France

² INSERM, U759, Orsay, F-91405 France

³ Digisens SA (<http://www.digitalscanservice.com>) 13, B Chemin du Levant, FIT. 01210 Ferney-Voltaire.

La tomographie électronique permet de calculer des reconstructions 3D d'objets à partir de projections obtenues en tournant l'échantillon autour d'un axe (séries d'inclinaison) ceci dans les différents modes d'acquisition existant dans un microscope électronique à transmission. Le développement actuel de la technique permet d'acquérir plusieurs séries d'inclinaison par jour. Cependant une fois les séries acquises, la tomographie se heurte au problème du calcul des reconstructions avec des algorithmes (ART, SIRT; [1,2]) robustes contre le manque d'information, inhérent à la méthode d'acquisition et connu sous le nom de "missing wedge" [3]. La compensation de ce manque d'information entraîne inévitablement une augmentation des temps de calculs qui deviennent alors supérieurs aux temps d'acquisition. De plus, le développement des cameras utilisées pour l'acquisition a conduit à une augmentation de la taille des images à traiter, des volumes reconstruits et du temps nécessaires pour les obtenir. Dans ce contexte, il serait souhaitable de pouvoir disposer des algorithmes de reconstruction robustes implémentés dans des systèmes informatiques permettant de calculer des volumes de grand taille avec des temps inférieurs aux temps d'acquisition pour éviter un blocage dans l'obtention des résultats. La solution consistant à augmenter le nombre processeurs (CPU) dédiés aux calculs en augmentant le nombre d'ordinateurs pour accroître les possibilités de calculs réalisés en parallèle est coûteuse. Une alternative récente à faible coût est l'utilisation de cartes graphiques (GPU) pour réaliser des calculs massifs. Récemment, l'un des principaux constructeurs de cartes graphiques (Nvidia) a mis en place un environnement de programmation (CUDA) conçu pour faciliter la manipulation des données entre CPU et GPU ainsi que sur le GPU [4]. Ceci nous a permis de programmer sous CUDA les algorithmes SART et SIRT, utilisés dans le logiciel de reconstruction de tomographie électronique TomoJ [5], et ainsi de réduire les temps de calcul de plus de 30 fois. L'implémentation de ces algorithmes a été réalisée dans le logiciel DigiCT [6] développé par Digisens pour la tomographie X, la visualisation 3D et le rendu de volumes. La validité des implémentations a été prouvée par un test de réciprocity des deux étapes clés des méthodes itératives, projection et rétroprojection, ainsi que par le calcul de plusieurs reconstructions sur des données expérimentales, en géométrie parallèle et conique, en tomographie électronique et à rayons X. Nos résultats montrent qu'une itération de SIRT, pour un volume de dimension 1024x1024x100 voxels, nécessite moins de 2'20" pour être calculé au lieu de 1h06' habituellement obtenue sur une version CPU. En conséquence, des reconstructions performantes peuvent être calculées en moins d'une heure à la place de 1 journée. De plus, l'évolution des cartes graphiques Nvidia laisse envisager une amélioration à la fois des temps de calculs et du volume de données traitable. Ainsi, les futures générations devraient contenir deux fois plus de cellules de calculs et trois fois plus de mémoire. Le gain de temps de calcul à faible coût (les cartes graphiques Nvidia équipent un grand nombre d'ordinateurs PCs du marché) ouvre les possibilités à l'utilisation des approches des différents modes de tomographie électronique à des fins de control de qualité ou des statistiques en 3D.

- [1] Herman G.T., Lent A., Rowland S.W., J Theor Biol, 1-32, 42 (1973)
- [2] Gilbert P., J Theor Biol, 105-117, 36 (1972)
- [3] Hoppe W., Hegerl R., Three-dimensional structure determination by electron microscopy. In computer processing of electron microscope images. Edited by Hawkes PW. Heidelberg : Springer-Verlag ; 1980 :127-186.
- [4] Nvidia CUDA, Programming guide. http://developer.download.nvidia.com/compute/cuda/1_1/NVIDIA_CUDA_Programming_Guide_1.1.pdf
- [5] Messaoudi, C., Boudier, T., Sorzano, C.O.S., Marco, S. BMC Bioinformatics, 288-297, 8 (2007)
- [6] DigiCT, logiciel de reconstruction tomographique, de visualisation et d'analyse 3D, Digisens SA, <http://www.digisens.fr>

Un détecteur de photons original dédié à l'imagerie et l'analyse EELS

C. Pertel¹, M. Tencé², T. Birou¹, L. Pettiti¹, C. Roucau¹, B. Warot¹

¹ CEMES-UPR8011, Toulouse

² LPS-UMR8502, Orsay

Les fonctionnalités et performances de ce nouveau détecteur nous offrent un outil remarquable d'acquisition de données en Imagerie et en spectroscopie de pertes d'énergie d'électrons en MET. Notre dispositif est utilisé pour former des images en sortie du microscope électronique (Fig. 1) ou détecter les électrons d'un spectre de pertes d'énergie formés sur un microscope équipé d'un spectromètre disposé en bas de colonne (Fig. 2). Le principe de base vise à assurer le contrôle simultané du microscope et du système d'acquisition de données.

Le système repose sur une caméra CCD totalement réalisée par nos services. La conversion électrons-photons est réalisée par un scintillateur déposé sur un hublot. Le transfert optique permet de former l'image ou le spectre sur la partie sensible d'un CCD refroidi en dessous de -30°C, sous un vide limite de 10⁻² mBar. Le CCD comporte 2048 x 2048 pixels de 14 x 14 μ m. Le mode binning hardware permet de réaliser les opérations de mise au point et d'augmenter le rapport Signal/Bruit (en mode mise au point). Hors temps de pose, la lecture complète du CCD peut être ajustée de 1s (en mode haute résolution) à 0.26s (en mode mise au point). Nous utilisons toutes les subtilités du CCD pour trouver le compromis optimal entre sensibilité et vitesse d'acquisition, sans augmenter les problèmes de diaphonie entre les 4 cadrans (Fig. 3.). Notre caméra remplace donc la caméra vidéo habituellement utilisée pour les mises au point et la caméra à haute sensibilité pour l'enregistrement des images. Il faut noter que le champ de vision est constant dans les deux modes.

La caméra en mode "Imageur" est opérationnelle au CEMES depuis 4 ans, et constitue un outil précieux dans l'instrumentation du microscope. Des essais en astronomie ont démontré que les fonctionnalités étaient facilement transférables à d'autres disciplines et d'autres modes de fonctionnement. Notamment, la caméra a montré une efficacité remarquable pour les études en diffraction sur un microscope CM20 LaB₆ (Fig. 4), due à ses performances en sa grande dynamique. Des mesures complémentaires en sensibilité nous ont montré qu'il est possible de détecter un seul électron.

L'application originale de nos développements en spectroscopie quantitative EELS a fait l'objet d'un brevet [1]. Ce dispositif dans son mode "spectroscopie" est installé dans 2 laboratoires français (sur un VG510 au LPS d'Orsay et sur un CM20FEG au CEMES). La caméra permet d'avoir accès à l'affichage simultané des pertes proches et lointaines avec une dynamique mesurée supérieure à 10⁸, dans une gamme d'énergie de 10⁴ (1000eV à 0.1eV/Canal). Le décalage des spectres sur le CCD permet d'accumuler 1000 spectres/s, augmentant le rapport signal/bruit du détecteur. Ce développement a reçu le soutien du programme européen de microscopie électronique ESTEEM.

Fort de l'expérience conjuguée des membres de notre équipe technique et scientifique, nous sommes confiants sur le champ d'action d'un tel instrument, interfacé avec le contrôle du microscope et spectromètre. La maîtrise des éléments d'analyse est essentielle dans le développement des nouvelles méthodes scientifiques de microscopie électronique.

[1] Pinna H., Tencé M., Patent N°04/08633



Fig. 1. Caméra en Imagerie



Fig. 2. Caméra en Détection EELS

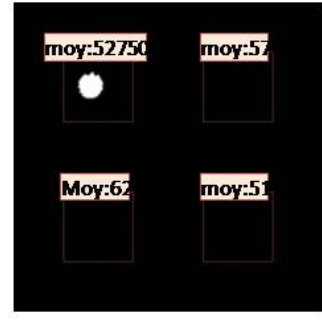


Fig. 3. Diaphonie imperceptible

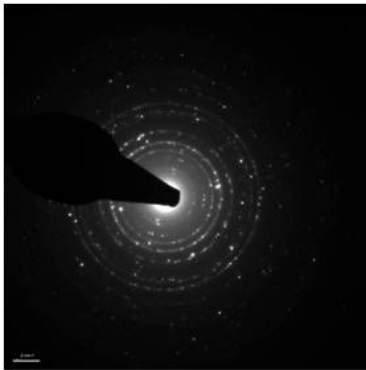


Fig. 4. Clichés diffraction de nanoparticules d'argent sur un vase Italien du 16ème siècle. Les clichés PSGDA correspondent à l'engobe de poteries pré-sigillées (sources C. Roucan)

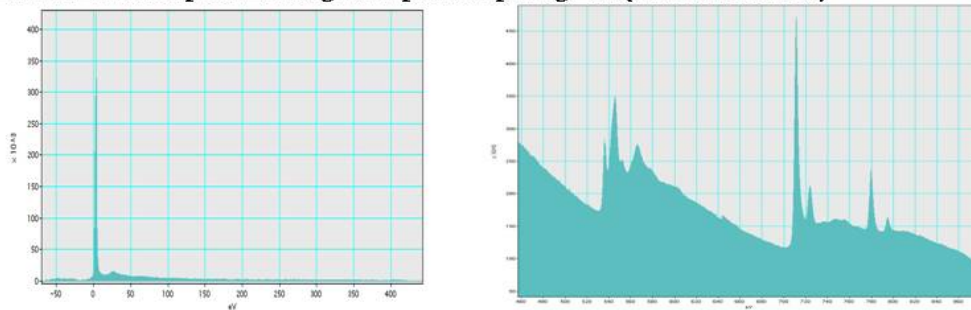
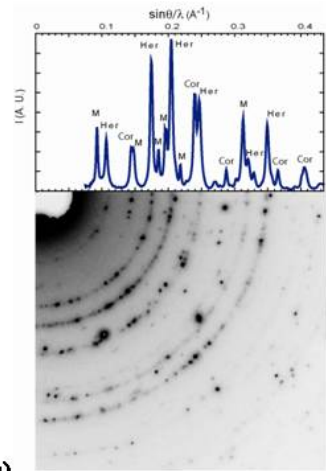
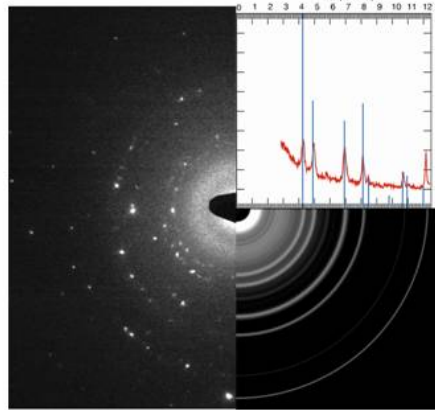


Fig. 5. Spectres EELS d'une couche mince de CoFe_2O_4 (sources B. Warot)

Une méthode systématique d'identification du symbole d'extinction d'un cristal à partir de clichés de précession électronique

G. Ji ¹, J.-P. Morniroli

¹ Laboratoire de Métallurgie Physique et Génie des Matériaux, UMR CNRS 8517, USTL and ENSCL, Cité Scientifique, 59650 Villeneuve d'Ascq, France

En 1992, nous avons proposé une méthode systématique d'identification des possibilités de groupe spatial d'un cristal à partir de l'observation de quelques clichés de microdiffraction électroniques [1]. La méthode était principalement basée sur l'observation des décalages et des différences de périodicité entre les réflexions situées dans la zone de Laue 1 par rapport à celles situées dans la zone de Laue 0, ces décalages et ces différences de périodicité étant typiques du mode de Bravais et des plans de glissement. Malgré quelques difficultés expérimentales, la méthode a prouvé son efficacité et a été utilisée dans de nombreux cas par différents auteurs. La précession électronique [2] s'est développée ces dernières années grâce à la disponibilité d'équipements commerciaux adaptables aux microscopes électroniques à transmission. Cette méthode possède deux propriétés particulièrement utiles pour l'identification du groupe spatial :

-Les clichés de précession électronique contiennent plus de réflexions que les clichés conventionnels. Cette propriété permet d'identifier de façon aisée et surtout très sûre les décalages et les différences de périodicité entre les zones de Laue.

-Durant le mouvement de précession du faisceau incident, peu d'ondes sont simultanément excitées. Il en résulte une diminution drastique des parcours de double diffraction surtout à grands angles de précession. Il devient ainsi possible d'identifier les réflexions cinématiquement interdites dues aux plans de glissement et aux axes hélicoïdaux (ces derniers n'étaient pas pris en compte dans la méthode proposée en 1992).

On peut utiliser ces deux propriétés pour identifier sans ambiguïté tous les symboles d'extinctions [3] et en déduire ainsi les possibilités de groupes spatiaux. Pour favoriser cette identification nous avons représenté de façon schématique et pour chacun des sept systèmes cristallins, les clichés de diffraction correspondant à tous symboles d'extinction ainsi que des tableaux qui connectent ces clichés avec les symboles d'extinctions et les groupes spatiaux correspondants. L'identification définitive du groupe spatial peut se faire à partir de clichés de diffraction en faisceau convergent qui permettent de déterminer la classe de symétrie.

[1] J.P. Morniroli and J.W. Steeds, *Ultramicroscopy*, 219-239, 45 (1992)

[2] R. Vincent and P.A. Midgley, *Ultramicroscopy*, 271-282, 53 (1994)

[3] *International Tables for Crystallography*, Vol. A, Ed. T. Hahn, Springer 2005

Mesures de déformation dans des n-MOSFETs par holographie en champ sombre

F. Hüe^{1,2}, M.J. Hÿtch¹, F. Houdellier¹, H. Bender³, A. Claverie¹

¹ CEMES-CNRS, Toulouse, France

² University of Cambridge, United Kingdom

³ IMEC, Leuven, Belgium

Dans le monde de la nanoélectronique, les contraintes font désormais partie intégrante des nouveaux processeurs à hautes performances. Ces dernières années, de nombreux progrès ont été faits en termes de techniques de caractérisation afin de mieux comprendre les phénomènes intervenant à l'échelle nanométrique [1-3]. Nous avons déjà montré qu'il été possible de cartographier les déformations d'un cristal contraint par microscopie électronique en haute résolution (par analyse des phases géométriques) [4] dans le cas d'un transistor $p - MOSFET$ comprenant des sources et drains en $Si_{1-x}Ge_x$ exerçant une contrainte, dite uniaxiale, sur le canal. Par cette méthode nous atteignons un champ d'observation de 200 nm par 200 nm , une résolution spatiale de 2 nm et une précision sur la mesure de déformation de $0,2\%$.

Faisant suite à cette étude, nous avons développé au sein du CEMES-CNRS à Toulouse, une nouvelle technique de microscopie électronique en transmission appelée holographie en champ sombre (Holo Dark)[5]. Cette technique, dérivée de l'holographie $off - axis$ classique, nécessite une bonne cohérence et impose l'utilisation d'un canon à émission de champ ainsi qu'un biprisme électrostatique situé dans le plan SA . Tout comme pour l'analyse des phases, l'holographie en champ sombre permet une mesure direct des champs de déformation mais reste une méthode relative : elle nécessite la présence d'un cristal de référence. L'ensemble des expériences ont été menées sur le SACTEM de Toulouse : un *Tecnai* F20 (*FEI*) équipé d'un correcteur d'aberrations image (CEOS), d'un biprisme rotatif et d'une caméra rétractable (*Gatan*) de 2048 par 2048 pixels . Plusieurs types de composants de la microélectronique ont été étudiés ($p - MOS$, *multicouche*, *SOI*, $n - MOS$) et nous présentons ici les résultats obtenus pour une technologie avancée de $n - MOSFETs$ composés de source et drain en $Si_{1-y}C_y$ agissant comme tenseurs sur le canal.

L'holographie en champ sombre présente deux intérêts majeurs sur les techniques communément utilisées que sont la diffraction en faisceau convergent (CBED) ou encore la nano beam diffraction (NBD) : Elle est capable de cartographier les déformations en deux dimensions et ce, sur de longues étendues (300 nm sur $1,6\text{ }\mu\text{m}$).

La croissance des échantillons et leur amincissement par FIB ont été effectués à l'*IMEC*. Il s'agit d'échantillons test sans contacts ni aucune étape de métallisations. Une grille fictive en Si_3N_4 a tout de même été introduite pour simuler la présence d'une réelle grille de polysilicium. La longueur de canal est de 65 nm et la profondeur des sources et drains est de 100 nm . Les acquisitions des hologrammes en champ sombre ont été réalisées en coupant la lentille objectif et en utilisant la première lentille de transfert du correcteur comme une lentille de *Lorentz*. Cela permet de cartographier les déformations sur l'ensemble du composant en augmenter la zone de recouvrement dans le plan image. Le biprisme est porté à un potentiel positif allant de 80 à 110 V . L'analyse des hologrammes est réalisée à l'aide d'une version modifiée du plugin GPA Phase 2.0 (*HREMResearch*) sous *DigitalMicrograph*. Après traitement dans l'espace de Fourier, la résolution spatiale est de 4 nm . Les mesures de la déformation longitudinale (ϵ_{xx}) montre d'excellents résultats tant en terme de précision qu'en terme de reproductibilité.

Les valeurs sont très faibles ($<1\%$) mais l'holographie en champ sombre arrive sans difficultés à cartographier les champs de déformation. La représentation en couleur de la déformation ϵ_{xx} montre très nettement les zones en compression (sources et drains) et les zones en tension (canaux). A l'intérieur du canal, la déformation maximale est obtenue à l'interface avec l'oxyde de grille et atteint une valeur moyenne de $0,58 \pm 0,02\%$ (en intégrant sur 65 nm suivant x).

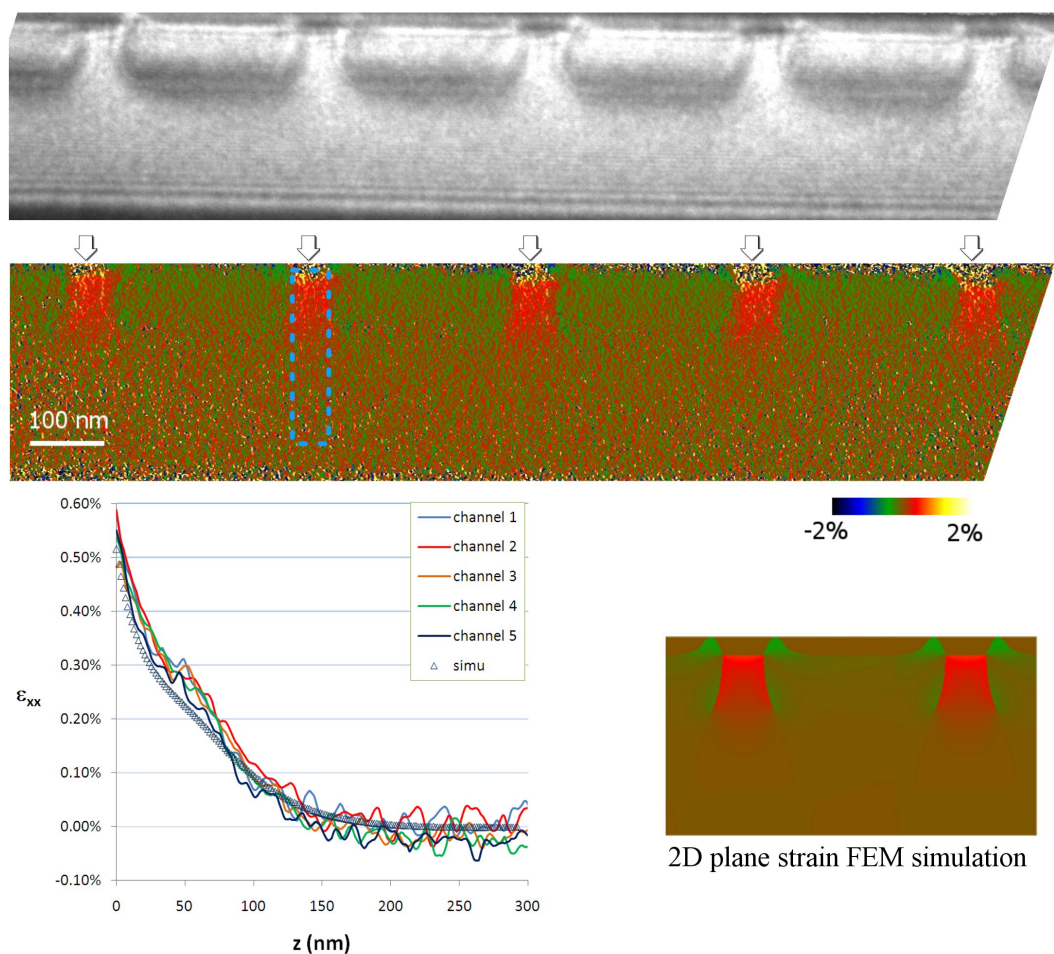
[1] J. Huang et al., Probing nanoscale local lattice strains in advanced Si complementary metal-oxide-semiconductor devices, Appl. Phys. Lett., 89, 063114 (2006)

[2] F. Houdellier et al., Quantitative analysis of HOLZ line splitting in CBED patterns of epitaxially strained layers, Ultramicroscopy, 106, 10, 951-959 (2006)

[3] Peng Zhang et al., Direct strain measurement in a 65 nm node strained silicon transistor by convergent-beam electron diffraction, Appl. Phys. Lett., 89, 161907 (2006)

[4] Florian Hüe et al., Direct Mapping of Strain in a Strained Silicon Transistor by High-Resolution Electron Microscopy, Phys. Rev. Lett. 100, 156602 (2008)

[5] M.J. Hÿtch et al., Nanoscale holographic interferometry for strain measurements in electronic devices, Nature, 453, 1086-1090 (2008)



Hologramme en champ sombre obtenu par interférence des faisceaux (220). Profils de la déformation longitudinale pris dans les différents canaux (profils en pointillés bleus allant de l'oxyde de grille vers le substrat). Les valeurs sont comparées aux valeurs simulées par éléments finis.

Raideur d'une interface à l'échelle atomique par HAADF et EDX en STEM à sonde corrigée

C. Carrétéro¹, L. Largeau², J.-L. Maurice^{1,3}, G. Patriarche², E. Jacquet¹, A. Barthélémy¹, K. Bouzehouane¹, M. Bibes¹

¹ Unité mixte de physique CNRS/Thales, 1 avenue A. Fresnel, Campus de Polytechnique, 91767 Palaiseau cedex

² Laboratoire de photonique et nanostructures, CNRS, Route de Nozay, 91460 Marcoussis

³ Laboratoire de physique des interfaces et des couches minces, CNRS/École polytechnique, 91128 Palaiseau cedex

La mesure de la raideur d'une interface vue en coupe, à l'échelle atomique en microscopie électronique à haute résolution (HRTEM ou STEM-HAADF) pose le problème de la fonction réponse de l'appareil (en TEM : la transformée de Fourier de la fonction de transfert ; en STEM : la fonction dont le module au carré est l'intensité de la sonde). Si cette fonction a de "grands pieds" il sera difficile de donner une mesure de l'interdiffusion ou de la rugosité à l'échelle atomique. Ainsi, même avec un microscope ayant une résolution point par point de 0.2 nm, il sera illusoire de mesurer une rugosité inférieure au nm. Il faut donc corriger au moins l'aberration sphérique pour mesurer efficacement une rugosité atomique à une hétérointerface. Mais faut-il le faire en mode TEM ou en mode STEM ? En TEM, sauf dans les cas rares où la qualité des surfaces de la lame permet de travailler à très faible épaisseur, la correction de l'aberration sphérique de la lentille objectif ne supprime pas la complexité du contraste et de son rapport au potentiel projeté de la lame. Nous avons donc préféré utiliser ici une sonde corrigée, en mode STEM-HAADF, non pas parce que la formation d'image y est plus simple (ce serait plutôt le contraire!!!), mais parce qu'il est effectivement plus simple d'interpréter le contraste obtenu en terme d'interdiffusion, étant, en général, d'autant plus intenses que le Z de la colonne atomique est 'elev'e. Or, la raideur de l'interface est un point clé dans un système très étudié depuis quelques années : LaAlO₃/SrTiO₃ (LAO/STO) (001). En effet, on observe un gaz d'électrons à haute mobilité dans ce système formé de matériaux isolants, gaz qui peut s'avérer confiné au voisinage immédiat de l'interface dans certaines conditions de croissance[1]. L'origine de ce gaz peut être intrinsèque dans le cas d'une interface abrupte, lié au déséquilibre des charges cationiques entre La³⁺Al³⁺ d'un côté et Sr²⁺+Ti⁴⁺ de l'autre ; et c'est d'ailleurs l'hypothèse qui avait guidé les découvreurs de cet effet[2]. Mais ce dopage peut également être dû à la diffusion de cations au voisinage immédiat de l'interface. Seule une mesure de la composition à l'échelle atomique peut trancher cette question. C'est donc ce que nous avons fait avec le Jeol 2200FS du LPN, qui est doté d'un correcteur de C_S "sonde", sur l'échantillon qui montrait le plus grand confinement dans nos études précédentes[1]. La fig. 1 montre une image HAADF de cet échantillon, où l'on distingue, côté STO, les colonnes atomiques composées de Sr (Z = 38) plus intenses, des colonnes TiO (Z = 30). Dans le LAO, les colonnes La (Z = 57) masquent complètement les colonnes AlO (Z = 21). La fig. 2 montre un profil de composition déduit d'analyses EDX aux points indiqués fig. 1. Ce profil a été obtenu après ajustement de l'épaisseur dans les corrections d'absorption et de fluorescence de manière à obtenir un taux d'oxygène constant. L'épaisseur ainsi évaluée ressort à 100 nm environ, décroissant lentement de la gauche vers la droite. L'interface paraît peu rugueuse, de l'ordre de la taille effective de la sonde (0.5 nm). Cependant, un échange cationique a eu lieu entre la couche et le substrat, comme le montrent les taux significatifs de Sr et de Ti dans la couche de LAO.

- [1] M. Basletic, J.-L. Maurice, C. Carrétéro, G. Herranz, O. Copie, M. Bibes, É. Jacquet, K. Bouzouane, S. Fusil, A. Barthélémy, *Nature Materials* 7, 621 (2008).
- [2] A. Ohtomo and H. Y. Hwang, *Nature (London)* 427, 423 (2004).

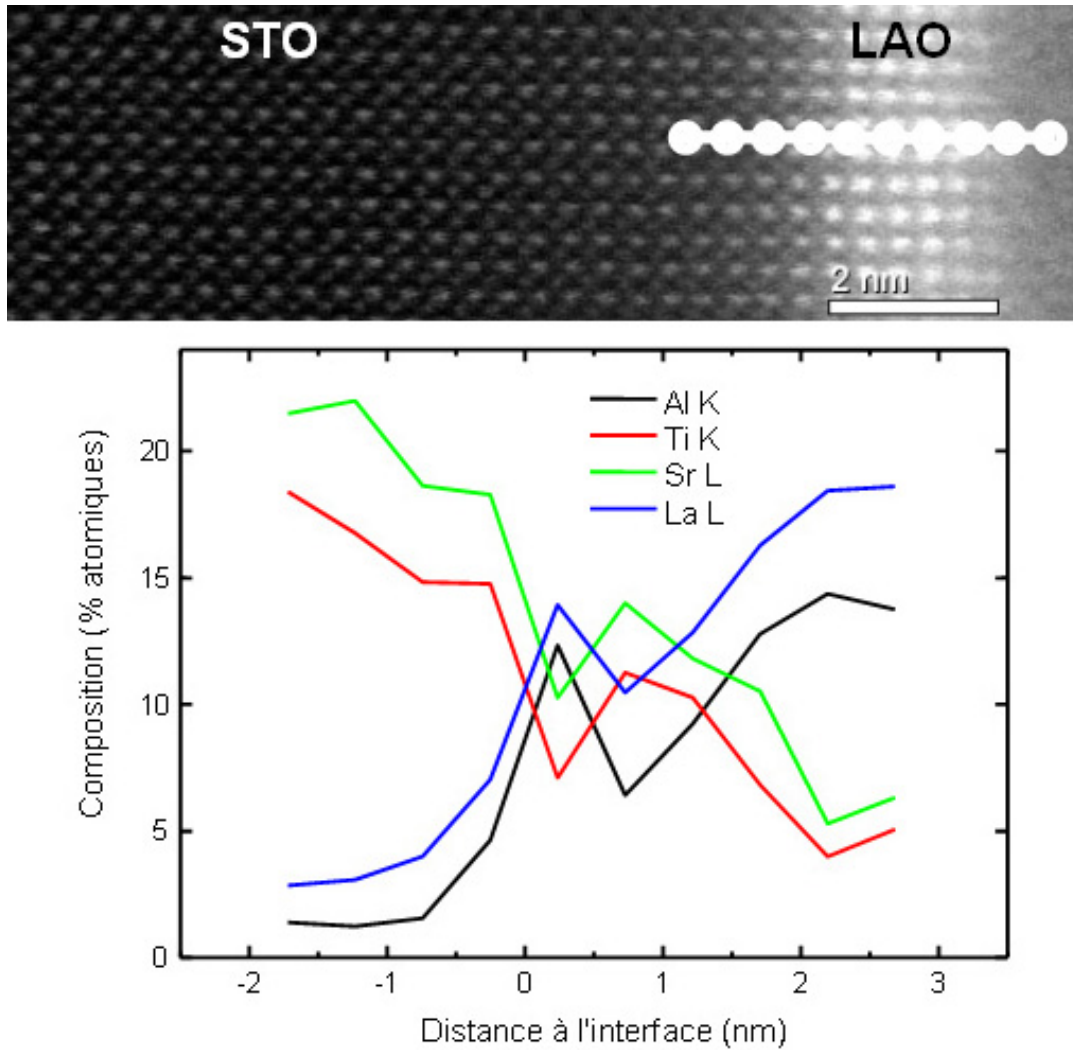


Figure : image STEM-HAADF de l'interface LAO/STO et profil EDX.

Ségrégations dans les agrégats de Au-Pd par ETEM

S. Giorgio¹, J.G. Mattei¹, C.R. Henry¹, N. El Kolli², S. Merad Bedrane², L. Delannoy², C. Louis²

¹ CINAM-CNRS, Campus de Luminy Case 913, 13288 Marseille Cédex 9

² Laboratoire de Réactivité de Surface, UMR CNRS 7197, UPMC, Paris, France

Mots clefs : adsorption, morphologie, énergies de surface, nanoparticules d'or.

La réactivité exceptionnelle des agrégats d'or de taille inférieure à 4 nm vis-à-vis de l'oxydation du CO à T ambiante, a été étudiée par de nombreux auteurs [1-2]. La réactivité des alliages de Au-Pd est également intéressante pour cette réaction, voire pour d'autres réactions comme l'hydrogénation sélective de diènes en alcènes. Des agrégats d'alliages de Au-Pd ont été préparés par co-dépôt-précipitation à l'urée sur un support d'oxyde [3]. Les résultats présentés concernent un échantillon de Au-Pd supportés sur TiO₂, contenant 8 pds d'Or et un rapport atomique Au/Pd = 4. Les échantillons ont été réduits ex situ sous H₂ à 500°C. La structure et la morphologie de ces agrégats sont déterminées par MET standard, les ségrégations dues à l'adsorption de gaz sont étudiées par microscopie haute résolution environnementale in situ. Les agrégats ont des tailles comprises entre 3 et 5 nm. Les images de haute résolution sous vide correspondent à une structure désordonnée cfc (figure 1). Au cours de la circulation de O₂ sous une pression de 4 mbar à T ambiante, des ségrégations se produisent dans les agrégats et conduisent à une structure "cœur-coquille" avec du Pd à l'extérieur (figure 2). La migration du Pd vers les faces externes en présence de O₂ a déjà été mise en évidence par d'autres techniques [4]. La microscopie environnementale montre que ces transformations sont réversibles sous flux de H₂ à la même pression et à T ambiante. Ces résultats peuvent être expliqués par des considérations sur les variations des énergies de surfaces dues à l'adsorption des gaz.

[1] R. Zanella, C. Louis, C. Shin, S. Giorgio, C. Henry, J. Catalysis, 222 (2004) 357

[2] Catalysis by gold, G.C. Bond, C. Louis, D. Thompson, Imperial College Press, 2006

[3] R. Zanella, S. Giorgio, C. Henry, C. Louis, J. Phys. Chem. B, 106 (2002) 7634

[4] X. Teng, et al. J. Am. Chem. Soc., 130 (2008) 1093

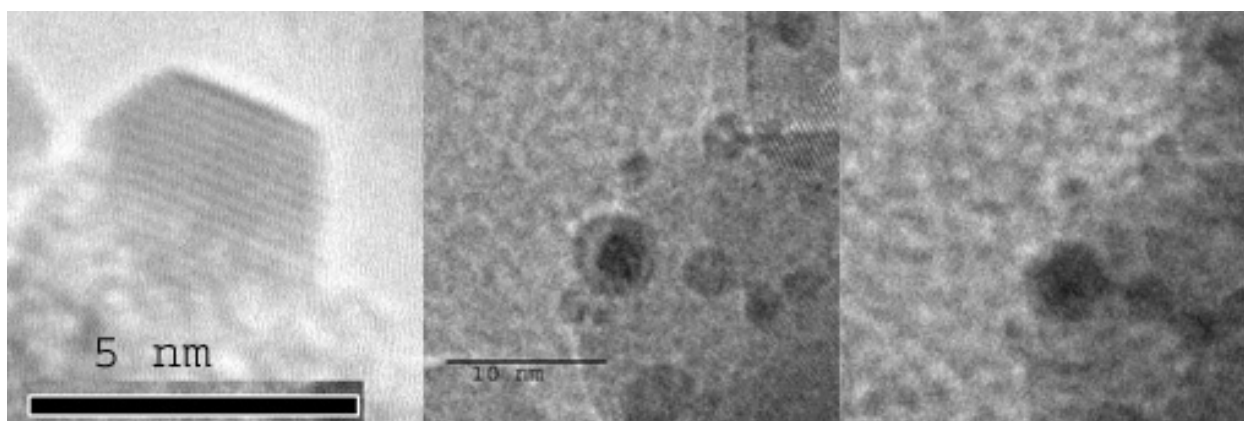


Fig. 1 Agrégat de Au-Pd Fig. 2 Agrégats de Au-Pd observé sous flux de O₂ à 4 mbar Fig. 3 mêmes agrégats en cours de réduction sous H₂ à 4 mbar.

L'analyse polarimétrique de l'organisation de l'ADN en phases des cristaux liquides

H. Mojziso^{1,2}, J. Olesiak³, M. Zielinski¹, K. Matczyszyn³, D. Chauvat¹, J. Zyss¹

¹ LPQM, Institut d'Alembert, Ecole Normale Supérieure de Cachan, 61 avenue du Président Wilson, 94235 Cachan, Cedex, France

² LBPA Institut d'Alembert, Ecole Normale Supérieure de Cachan, 61 avenue du Président Wilson, 94235 Cachan, Cedex, France

³ Laboratory of the Materials Research, Institute of Physical and Theoretical Chemistry,

Dans les conditions physiologiques, les molécules d'ADN de longueur de quelques centimètres sont fortement condensées dans un volume micrométrique. Dans cet état fortement concentré l'ADN montre des propriétés d'auto-organisation et forme des domaines ordonnés de cristaux liquides. En plus de leur implication potentielle dans les processus physiologiques, ces structures ordonnées présentent un modèle intéressant pour le développement de nouvelles techniques expérimentales pour l'étude de l'orientation moléculaire des matériaux biologiques. Dans ce travail nous présentons l'analyse par polarimétrie nonlinéaire des cristaux liquides d'ADN marqué par des fluorophores. Dans un premier temps, les paramètres de fixation de deux marqueurs spécifiques d'ADN, Hoechst et Iodure de Propidium sont déterminés. Ensuite, l'analyse polarimétrique de la fluorescence à deux photons émise par ces marqueurs permet d'étudier l'orientation des double brins d'ADN dans différents domaines des cristaux liquides. Les résultats présentés montrent que la polarimétrie nonlinéaire est une technique prometteuse pour l'analyse de l'ordre supérieur d'organisation des structures biologiques

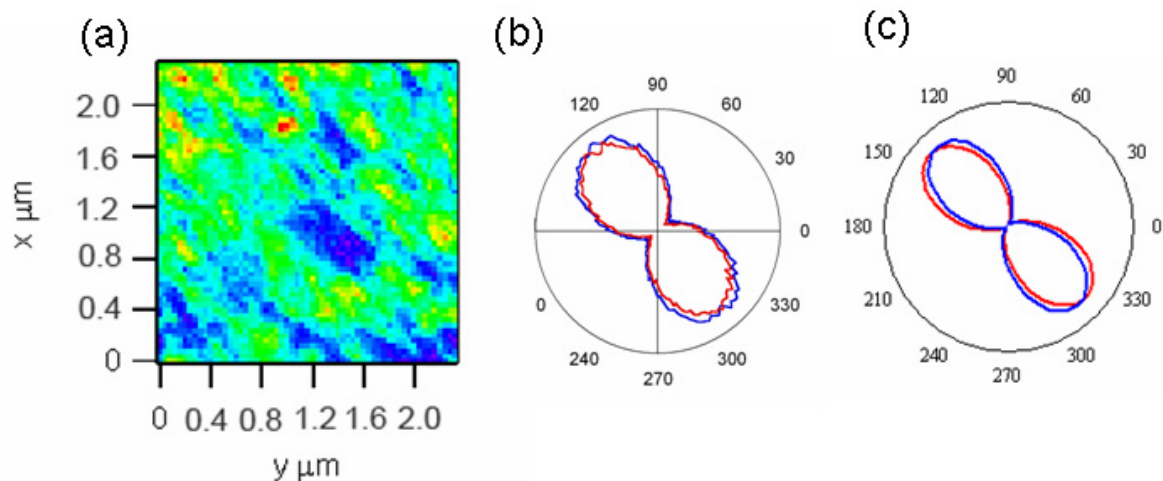


Fig.1 : (a) Fluorescence à deux photons de l'ADN, marqué par Hoechst et organisé en cristaux liquides. Polarogrammes expérimentaux (b) et théoriques (c) représentant la fluorescence émise par les fluorophores en fonction d'angle de la polarisation incidente indiquent l'orientation des dipôles d'émission.

La microscopie électronique à 4D : développement de la cartographie chimique en 3D de catalyseurs, à l'échelle du nanomètre

L. Roiban¹, I. Florea¹, L. Sorbier², F. Tihay², C. Pichon², J. Werckmann¹, O. Ersen¹

¹ Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg (IPCMS), 23 rue du Loess, BP 43, 67034 Strasbourg Cedex 2, France

² Institut Français de Pétrole (IFP-Lyon), BP 3, 69360 Solaize, France.

Les nanomatériaux sont présents dans de nombreux domaines dont certains d'un grand intérêt pour l'industrie pétrolière. On peut citer notamment les matériaux pour le stockage d'hydrogène, les catalyseurs, les membranes. Les propriétés macroscopiques de ces matériaux dépendent étroitement de leur structure, morphologie et composition à l'échelle nanométrique. La compréhension de leurs propriétés et leur amélioration passent alors par une caractérisation fine à l'échelle du nanomètre.

Pour résoudre toutes les caractéristiques des nanomatériaux qui ont la plupart du temps un caractère tridimensionnel, nous pouvons faire appel à la tomographie électronique, une technique relativement nouvelle dans le domaine des matériaux, mais qui a déjà bien démontré son utilité. Il s'agit d'une méthode de reconstruction 3D basée sur la combinaison d'une série de projections, enregistrées à différents angles, de l'objet observé. Le développement des méthodes d'automatisation pour l'acquisition des images ainsi que l'augmentation de la puissance de calcul et de stockage des ordinateurs a facilité sa mise en œuvre, lui permettant de devenir aujourd'hui une technique relativement abordable [1]. En particulier dans le domaine de la catalyse, ses applications potentielles sont très nombreuses : la détermination de la géométrie externe ou interne des supports de catalyseurs, l'accessibilité des mésopores, la visualisation de leur connectivité, la détermination de morphologies compliquées, la localisation de particules au sein ou en périphérie d'un grain de support [2,3,4,5].

Une deuxième technique dérivée de la microscopie électronique et utilisée de plus en plus pour l'étude des nanomatériaux chimiquement inhomogènes, est l'imagerie filtrée en énergie. Grâce à sa capacité de " n'éclairer " qu'un seul élément, elle ouvre la voie de l'imagerie chimiquement sélective dans laquelle une image chimique est obtenue à partir de plusieurs images filtrées enregistrées à travers un spectromètre qui sélectionne les électrons ayant subi des pertes d'énergie caractéristiques des éléments présents dans l'échantillon [6].

Une forte avancée concernant les techniques d'investigation des nanomatériaux est rendue possible par la mise en place de la tomographie électronique en mode analytique qui combine les deux techniques évoquées ci-dessus, la tomographie électronique et l'imagerie filtrée. Cette nouvelle technique très puissante permet, grâce à sa double sélectivité, la caractérisation morphologique et chimique de l'objet. Par rapport à la tomographie classique, ici on enregistre à chaque angle de tilt une série d'images filtrées à différentes énergies. Ceci va nous permettre de reconstruire plusieurs volumes mais cette fois-ci chimiquement sélectifs (voir Figure). Leur représentation et analyse simultanée vont nous permettre d'étudier par exemple l'agencement en 3D des différents éléments chimiques constituant l'objet. La détermination de la distribution chimique à 3D permettra un meilleur contrôle de la synthèse des nanomatériaux et en particulier des catalyseurs.

Comme premier exemple d'application de la tomographie analytique nous présentons une étude réalisée sur une famille de supports de catalyseurs mixtes de type silice-alumine. Dans les images ci-dessous nous présentons quelques sections typiques par les volumes chimiquement

sélectifs de l'Al et du Si, ainsi que par celui correspondant à la densité moyenne. Sur l'échantillon présenté, nous pouvons constater que les volumes d'Al et Si sont complémentaires et que leurs répartitions spatiales sont bien séparées, en accord avec la méthode de préparation basée sur un mélange mécanique des deux composants. Deux types de porosités ont été observés, la première entre les différents clusters de silice et d'alumine et la deuxième, plus fine, à l'intérieur de l'alumine. La matrice du grain étudié est formée par la silice, tandis que sa porosité est dictée essentiellement par l'alumine. Une modélisation de l'ensemble est également présentée et correspond à une cartographie chimique relative.

[1] P.A. Midgley, M. Weyland, *Ultramicroscopy*, 96, 413 (2003)

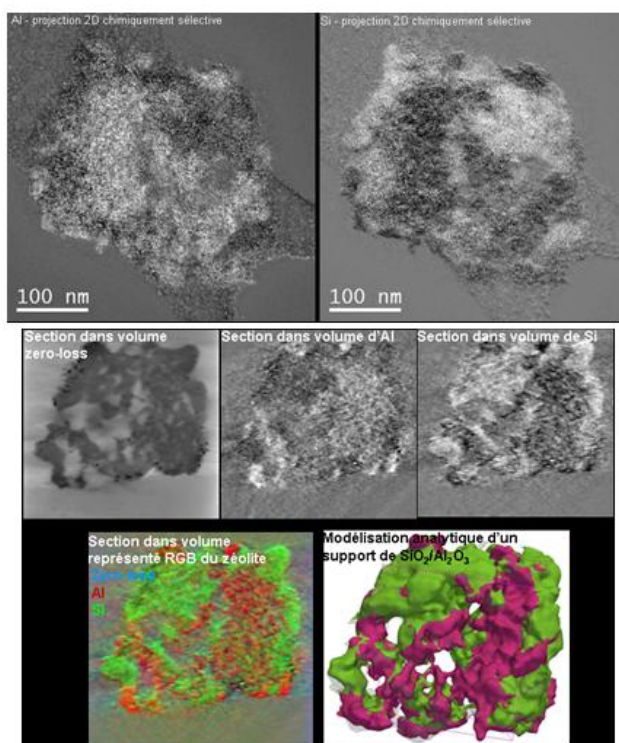
[2] M. Weyland, *Topics in Catalysis*, 21, 175 (2002)

[3] K. P. de Jong, A. J. Koster, *Chemphyschem*, 3, 776 (2002)

[4] O. Ersen, J. Parmentier, L. A. Solovyov, M. Drillon, C. Pham-Huu, J. Werckmann, P. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.*, 10, 16800 (2008)

[5] O. Ersen, C. Hirlimann, M. Drillon, J. Werckmann, F. Tihay, C. Pham-Huu, C. Crucifix, P. Schultz, *Solid State Sciences*, 9, 1088 (2007)

[6] P.J. Thomas, P.A. Midgley, *Topics in Catalysis*, 21, 109 (2002)



Etude par tomographie analytique d'un support de catalyseurs de type silice-alumine. En haut : exemples de projections chimiques de l'Al (donc de l'alumine) et du Si (donc de la silice) pour un angle de tilt donné. Au milieu : sections xy par les volumes calculés ; dans la section par le volume de la densité moyenne sont visibles la porosité et la forme externe de l'objet, tandis que les sections par les volumes chimiques apportent les distributions chimiques de l'Al et du Si. En bas : section par la cartographie chimique relative Si/Al et modélisation 3D de la distribution chimique en surface.

Étude de nano-objets par tomographie électronique : morphologie, distribution spatiale et composition chimique

I. Florea¹, L. Roiban¹, A. Deneuve², K. Chirazi², I. Janowska², D. Ihiwakrim¹, M. Drillon¹, Ch. Hirlimann¹, J. Werckmann¹, C. Pham-Huu², O. Ersen¹

¹ Laboratoire des Matériaux, Surfaces et Procédés pour la Catalyse (LMSPC)

² Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg (IPCMS)

Le développement rapide de nouvelles méthodes de synthèse permet de réaliser aujourd'hui des nano-objets et des nanomatériaux toujours plus complexes. La compréhension de l'origine physique de leurs nouvelles propriétés est particulièrement intéressante d'un point de vue fondamental, mais surtout indispensable à l'amélioration de méthodes de préparation permettant d'obtenir les propriétés d'intérêt recherchées pour des applications spécifiques. À titre d'exemple, le comportement de l'ensemble que constitue une phase active et son support en catalyse hétérogène dépend étroitement de leur structure, de leur organisation interne, de la composition chimique et de la distribution spatiale d'un composant par rapport à l'autre. Une caractérisation de ces paramètres à l'échelle du nanomètre s'impose, afin de s'affranchir des effets de moyenne inhérents aux études d'ensemble. Cependant, la plupart de techniques classiques d'imagerie et de spectroscopie reposent sur la projection de l'objet d'étude sur un plan et les informations sont intégrées sur toute la direction d'observation. Afin de résoudre les caractéristiques de nano-objets dans les trois dimensions de l'espace, il faut pouvoir reconstruire leurs volumes à partir des observations projetées bidimensionnelles. Nous nous intéressons ici à la tomographie électronique.

La tomographie électronique est une technique qui consiste à reconstruire le volume d'un objet à partir d'une série de ses projections enregistrées en l'inclinant pas rapport à l'axe du faisceau électronique autour d'un axe de tilt orthogonal. Ceci peut s'effectuer dans les différents modes de travail usuels en microscopie électronique [1,2]. Grâce à sa capacité de reconstruction de la troisième dimension de l'objet, elle est devenue ces dernières années un outil indispensable dans l'étude des nanomatériaux, car la plupart présentent des propriétés qui dépendent étroitement de leur caractère tri-dimensionnel [3,4]. Très récemment, les progrès réalisés par les constructeurs de microscopes et les fabricants de logiciels d'exploitation des données ont rendu possible la mise en place d'une nouvelle technique, la tomographie en mode analytique, qui permet de construire des images chimiquement sélectives à trois dimensions à l'échelle nanométrique. Les résultats obtenus s'appliquent à tous les domaines de la science des matériaux : catalyse, microélectronique, nanomagnétisme etc.

Pour illustrer toutes les potentialités de la tomographie électronique nous avons choisi l'étude d'un système dans lequel une matrice de SiC est utilisée comme support d'insertion de nanoparticules métalliques, pour des applications en catalyse. En analysant la matrice de SiC en imagerie 3D classique, nous avons constaté l'existence d'une porosité bimodale, de petite taille à l'intérieur des clusters de SiC, et de plus grande taille entre les clusters. En étude classique de microscopie électronique conventionnelle, la porosité de petite taille est généralement masquée par la porosité de grande taille. Ces deux porosités ont pu être quantifiées en termes de volume poreux et de surface spécifique proposée par les pores (environ 50% pour les deux). En analysant les systèmes mixtes SiC/nanoparticules (Pd), nous avons déterminé précisément les distributions en taille des particules et leurs positions exactes par rapport au support. Ce qui est particulièrement intéressant ici est que la localisation spatiale des nanoparticules dé-

pend du type de solution utilisée comme précurseur pour insérer les particules : en utilisant de l'éthanol les particules sont localisées préférentiellement dans la faible porosité des clusters, tandis qu'avec une solution aqueuse les particules sont situées dans la porosité plus large des canaux entre les clusters (voir Figure). Cette localisation sélective démontre la possibilité de la préparation de systèmes catalytiques plus complexes présentant deux phases actives de réactivité différente et de localisation spatiale bien identifiée. Ce dépôt sélectif des nanoparticules peut s'expliquer par une différence de mouillabilité entre les deux surfaces poreuses, qui serait donc plus faible pour la surface correspondant à la grande porosité. L'hypothèse la plus simple pour rendre compte de la différence de mouillabilité repose sur une différence d'oxydation entre les deux types de surfaces intérieure et extérieure aux clusters. Pour confirmer cette hypothèse, nous avons analysé par tomographie électronique, mais cette fois-ci en mode analytique, un échantillon de SiC poreux oxydé volontairement pour maximiser le signal provenant de la couche superficielle d'oxyde. En comparant les reconstructions volumiques correspondant aux éléments chimiques (C, O, et Si), nous avons pu mettre en évidence la différence d'oxydation entre les surfaces intérieure et extérieure et de manière encore plus générale, montrer comment le processus d'oxydation dépend du degré d'accessibilité à la surface.

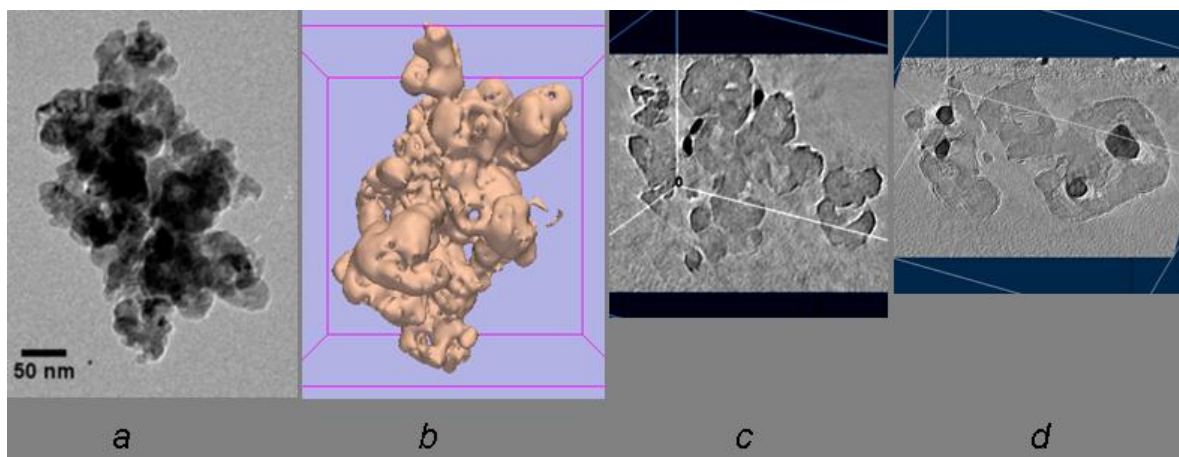
Un deuxième type d'étude dans lequel la tomographie électronique en mode analytique s'est avérée indispensable pour résoudre conjointement la morphologie et la distribution spatiale des éléments chimiques, concerne la détermination spatiale de l'azote dans des nanotubes de carbone dopés à l'azote. Ces nanotubes présentent des morphologies de type "bambou", composées de feuilles de graphène enroulées (comme dans les nanotubes de carbone) mais également des arches transverses qui se ferment au fur et à mesure de la croissance le long du tube. L'épaisseur et la densité de ces arches dépend du dopage en azote. Comme précédemment, il s'agit d'un système dont la morphologie pourrait être présagée en supposant une symétrie autour de l'axe du tube, mais la localisation spatiale de l'azote responsable des nouvelles propriétés de ces tubes, est bien plus délicate à obtenir par les méthodes conventionnelles. L'analyse par tomographie électronique classique et analytique, nous a permis de résoudre la morphologie en tube et en arches des nanotubes mais surtout de résoudre la distribution spatiale de l'azote par rapport à la typologie des arches arrondies ou droites. Ces informations ont été comparées à des études par haute résolution effectuées sur les mêmes échantillons, afin d'établir une corrélation entre l'insertion de l'azote et la présence de défauts cristallographiques dans les plans graphitiques.

[1] P.A. Midgley, M. Weyland, *Ultramicroscopy*, 96, 413 (2003)

[2] A.J. Koster, U. Ziese, A.J. Verkleij, A.H. Janssen and K.P. de Jong, *J. Phys. Chem. B*, 104, 9368 (2000)

[3] O. Ersen, J. Werckmann, M. Houllé, M. Ledoux, C. Pham-Huu, *Nano Lett.* 7, 1898 (2007)

[4] O. Ersen, J. Parmentier, L.A. Solovyov, M. Drillon, C. Pham-Huu, J. Werckmann, P. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 16800 (2008)



Etude par tomographie du système Pd/SiC : a) Projection SiC; b) Modélisation SiC; c), d) Sections par Pd/SiC avec des solutions précurseurs de type éthanol / eau.

Mesure directe de la distribution de la contrainte dans du silicium implanté par des ions hydrogènes

N. Cherkashin¹, M. Hÿtch¹, F. Houdellier¹, E. Snoeck¹, K. Bourdelle², A. Claverie¹

¹ CEMES/CNRS, Toulouse, France

² SOITEC, Crolles, France

L'implantation d'hydrogène dans des matériaux comme le silicium ou le germanium est à l'origine de la formation d'une fine bande enrichie en hydrogène à quelques centaines de nanomètres de la surface. Un recuit thermique, précédé par le collage d'un autre substrat sur la surface via une méthode de collage moléculaire, permet la nucléation de précipités (nommés platelets) contenant de l'hydrogène gazeux sous pression. Sous certaines conditions, la croissance des platelets ainsi qu'une diminution de la largeur de la bande enrichie peuvent être observées lors du recuit. Le recouvrement du champ des contraintes conduit alors à la fracture du matériau implanté. Ce phénomène est à la base du procédé SmartCut™. Il est notamment utilisé dans la fabrication de matériaux SOI (Silicon On Insulator) pour les composants électroniques. La distribution de la contrainte en fonction de la profondeur joue un rôle déterminant dans le procédé SmartCut™ du début jusqu'à la délamination et le transfert d'une couche fine sur un autre substrat. En fait, l'implantation elle-même crée une zone de dommage, typiquement devant le profil d'hydrogène, qui est remplie de défauts ponctuels. Cela peut générer une distorsion de la matrice dans cette zone, conduisant à l'apparition d'une contrainte. En plus, une autre zone est présente et elle ne coïncide pas nécessairement avec la précédente. Elle correspond au profil de la distribution d'H⁺ implanté. Grâce à la haute réactivité chimique des atomes d'H, différents agglomérats d'atomes d'H mélangés avec des interstitiels ou des lacunes se forment dans cette zone. Comme conséquence, un autre profil de la contrainte en fonction de la profondeur peut apparaître. Lors d'un recuit, la précipitation de l'hydrogène en forme de platelets se produit donc dans le champ de contrainte précédemment décrit. Ainsi, l'occurrence des différentes familles cristallographiques de platelets dépend de leur orientation vis-à-vis de la contrainte résultant de l'implantation d'hydrogène dans la couche. La présence du gaz à l'intérieur des platelets est responsable à la déformation de la matrice autour. Donc, le profil de la distribution de platelets en fonction de la profondeur, la répartition de leurs familles cristallographiques et la déformation de la matrice autour des platelets individuels sont responsables de la nouvelle distribution de la contrainte lors du recuit thermique. La fracture est alors due au recouvrement des champs de contraintes ainsi générés. Cela montre qu'il est nécessaire de pouvoir mesurer la distribution de la contrainte en fonction de profondeur à chaque étape du procédé SmartCut™. Jusqu'à présent cela était presque impossible. En effet, la seule méthode permettant d'obtenir la distribution de la contrainte en fonction de profondeur dans un substrat implanté était les rayons X en haute résolution [1]. Toutefois, cette méthode souffre de quelques défauts. Le profil de la contrainte est obtenu par un paramétrage sur un modèle théorique afin de retrouver les franges obtenues expérimentalement. De plus, cette méthode nécessite une matrice cohérente. Cela n'est pas le cas en présence de platelets. Dans ce travail, on présente les résultats de la mesure directe de la distribution de la contrainte en fonction de la profondeur dans des structures de Si implantées par H⁺ avec et sans recuits. Pour cela, on a utilisé la méthode d'holographie électronique en champs sombre [2]. Cette méthode permet de réaliser des mesures macroscopiques de contraintes, notamment la cartographie bidimensionnelle

de la contrainte à partir de l'interférence holographique des faisceaux électroniques passant à travers le substrat non distordu et la zone sous contrainte. Ces résultats vont être comparé avec la distribution d'H implanté obtenue par SIMS, la distribution des dommages obtenue par les simulations IMSIL, et avec la distribution des platelets obtenues par microscopie électronique en transmission.

[1] N. Sousbie, L. Capello, C. Lagahe, J. Eymery et F. Rieutord, *J. Appl. Phys.* 99, 103509 (2006)

[2] M.J. Hÿtch, F. Houdellier, F. Hüe, and E. Snoeck, *Nature* 453, 1086-1089 (2008)

Structural analysis of oxides at the sub-Angstrom resolution with C_s -corrected STEM

T. Oikawa^{1,2}, C. Ricolleau², E. Okunichi³, N. Endo³, M. Lévy⁴, F. Gazeau⁴

¹ JEOL(Europe) SAS, Allée de Giverny, 78290 Croissy-sur-Seine, France

² MPQ, Université Paris 7/CNRS, UMR 7162, 2 Place Jussieu, 75251 Paris, France

³ JEOL Ltd., 1-2 Musashino 3-chome, Akishima, 196-8558 Tokyo, Japan

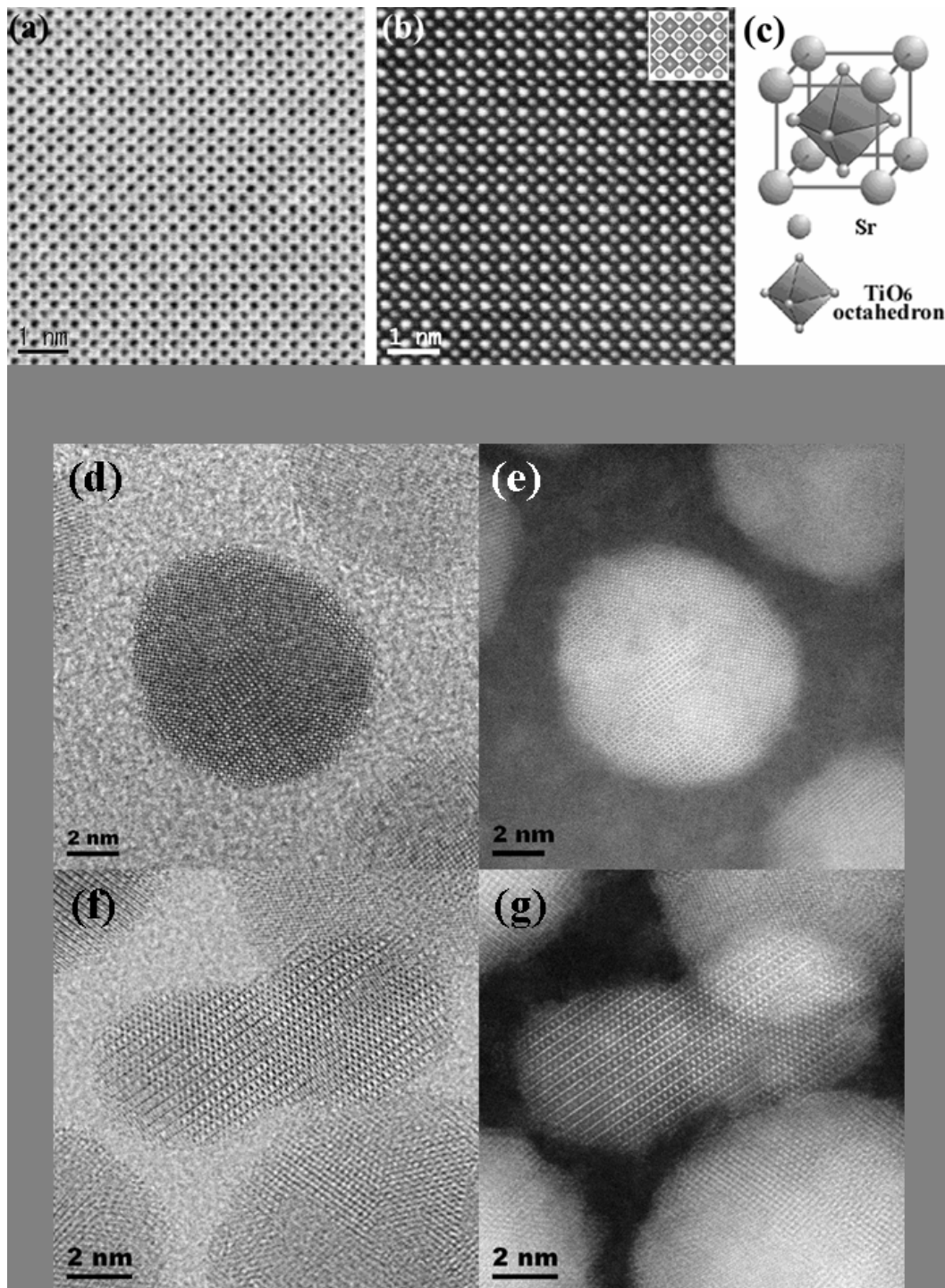
⁴ MSC, Université Paris 7/CNRS, UMR 7057, 2 Place Jussieu, 75251 Paris, France

Recently, Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) has made huge progress owing to a stable field emission gun (FEG) [1] and sophisticated spherical aberration corrector (C_s -corrector) [2], which is now becoming widely spread as commercial instrument. In the STEM, a High Angle Annular Dark Field (HAADF) image is formed in incoherent condition [3] and it provides images which are sensitive to the Z number of the elements (Z contrast imaging); therefore an image interpretation is easier than in conventional bright-field High Resolution Transmission Electron Microscopy (HRTEM). The C_s -corrector for probe forming lens system enables us to illuminate a specimen with a small diameter of the probe at sub-Angstrom scale, thus, the sub-Angstrom resolution imaging is attainable. In addition, a higher intensity of the probe owing to the C_s -corrected STEM provides an elemental analysis at atomic scale resolution. In this paper, very high-resolution structural analyses were successively performed on Fe_2O_3 nanoparticles and on a $SrTiO_3$ perovskite single crystal, with a C_s -corrected STEM. The instrument used in this experiment is the newly developed JEM-ARM200F (Atomic Resolution analytical Microscope, 200 kV FEG TEM/STEM) equipped with C_s -corrector for probe forming lens. In the microscope, the analytical instruments, such as STEM BF and DF detectors, an EDS detector and an electron energy-loss spectrometer (EELS, Gatan Enfina) were mounted. Figures a, b and c shows respectively a comparison of bright-field (BF), dark-field (DF) (HAADF) images and atomic model of $SrTiO_3$ oriented along the [100] zone axis orientation. The probe diameter was 0.08 nm and both images were acquired simultaneously. The inset on (b) is showing atomic model in the same scale and the same orientation as the HAADF image. The BF image shows dark contrast at atom locations of Sr and Ti-O, however, it is difficult to identify the element from the image contrast, directly. The HAADF image shows bright contrast at atom locations of Sr and Ti-O, and heavier atoms of Sr were shown in brighter contrast. It is easy to understand the Sr atom location from the contrast, directly. Elemental maps were reconstructed on the same area from an EELS Spectrum Imaging (SI) data cube. The maps (not shown here) show that the detected elemental signals have good S/N ratio and Sr, Ti-O and O location (atom column) are well resolved at atomic resolution. The same procedure was applied to iron oxide nanoparticles in order to determine the occupation sites of oxygen atoms. For that purpose, nanoparticles in different zone axis orientations have been recorded in BF and DF HAADF modes (Figures d, e, f and g). According to these experiments, it is ascertained that the C_s -corrected STEM is able to realize atomic resolution imaging and elemental analysis. It is expected to observe and get more detailed and precise information of nanomaterials using C_s -corrected HR and analytical electron microscope.

[1] T. Honda et al., *Ultramicroscopy*, 54 (1994), 132.

[2] M. Haider et al., *Nature*, 392 (1998) 768.

[3] S. J. Pennycook and D. E. Jesson, *Phys. Rev. Lett.*, 64 (1990) 938.



Comparison of STEM BF-image (a), DF-image (b) and atomic model (c) of SrTiO₃ single crystal oriented along the [100] zone axis. Both images were acquired simultaneously. Probe diameter was 0.08 nm. The inset on (b) is showing atomic model at the same scale and in the same orientation as the DF image. STEM HAADF images of iron oxide nanoparticles oriented along the [001] zone axis orientation : (d) BF and (e) DF and oriented along the [112] zone axis : (f) BF and (g) DF.

Quantitative Annular Dark-Field Imaging of Co-Pt Nanoparticles

N. Braidy^{1,3}, M. Robertson², C. Ricolleau¹, Y. Le Bouar³

¹ Université Paris 7 Denis Diderot– Matériaux et Phénomènes Quantiques

² Department of Physics, Acadia University, 12 University Ave, Wolfville, NS B4P 2R6 Canada.

³ CNRS/ONERA – Laboratoire d’Étude de Microstructures - 29, Av de la Division Leclerc – Châtillon 92322 – France

The properties of nanoparticles (NPs) and their potential use in technologically relevant applications are largely dependent on their structure and size. Given their large magnetocrystalline anisotropy, CoPt NPs in the $L1_0$ phase are considered as potential candidates for their use in high-density storage devices. However, it was recently observed [1] that below a critical diameter of 3-5 nm, the $L1_0$ phase is no longer stable with respect to the FCC phase. Moreover, the occurrence of surface segregation in these small clusters could degrade the magnetic properties of such promising materials.

High-angle-annular-dark-field (HAADF) imaging in a scanning transmission electron microscope (STEM) is an imaging mode that can lead to directly interpretable image contrast, provided that dynamical electron scattering are minimized. The use of an aberration corrector can further improve the resolution and the interpretability of the observed structures. Here, we explore the conditions for which the aberration-corrected image intensity of an atomic column, I_C , of Co-Pt nanoparticles can be interpreted by a simple phenomenological relation :

$$I_C = \sum_i Z_i^\alpha + P \otimes \Gamma \quad (1),$$

where the sum is carried over all the species of an atomic column having an atomic number Z_i , ($I = \text{Co or Pt}$) with α , a constant in the range 1.5–2. The second term models the background and is phenomenologically represented as the convolution between the probe profile, P and the NP projected shape, Γ , of the particle. The purpose is to find the conditions for which the above relation can be used to map the atomic concentration from the aberration-corrected HAADF image of a Co-Pt NP.

We first generated the atomic positions of a NP supercell using a program which allowed a number of NP parameters to be selected, such as the size, long-range order parameter, orientation, presence of a core-shell structure, substrate, etc. The ADF image simulation program, based on the multislice algorithm of Kirkland [2], allowed the user to set the TEM imaging conditions, such as the probe characteristics and simulation parameters. The program outputs the radial intensity at each pixel, and ADF images can be simulated by summing the intensities falling on a virtual ADF detector with a specified geometry.

Fig. 1a is a typical unit cell of a NP used in the simulations. The model consisted of a spherical Co-Pt NP, having the $L1_0$ structure wrapped in a monolayer of Pt. The particle is oriented with the electron beam parallel to the [100] axis in order to highlight the alternating rows of Co and Pt-rich atoms of the ordered $L1_0$ phase (c axis).

The 200 kV electron probe profile was optimized given a fifth-order aberration coefficient set to 5 nm. For a 256×256 pixel image, in order to simulate the radial intensities up to 180 mrad, a wave functions with dimension of 1024×1024 was computed. The parallel version of the code was run on a computer cluster of 64 nodes for 2 h. The ADF images were then generated from the radial intensities for different detector geometries (Fig. 1b). As expected, at a low angle, the image is similar to a bright-field STEM image. Dynamical diffraction effects were apparent even

in inner detector angles as large as 50 mrad. With increasing detector angle, the incoherent character of the signal increases and the HAADF image approaches the projected potential.

The profiles shown in the top panel of (Fig. 1c) trace the intensity along the central row of the NP along the arrow, in Fig. 1b, for all the shown detector geometries, while the bottom panel shows the number of Co and Pt atoms per atomic positions. The dynamical effects are apparent from the lack of coherency between the respective number of projected atoms and the local maximum intensity. When the inner angle detector angle was greater than 80 mrad, the agreement between the number and type of the atoms and the peaks is better, although some dynamical effects persisted. For instance, columns 3 and 5 are composed of 8 and 10 atoms of Pt, respectively, although they exhibited similar intensity (around 145 au).

A more precise extraction of the intensity will be performed by considering the image as a set of overlapping 2D-Gaussians, from which the amplitude, position and widths (in orthogonal directions) will be fitted. We intend to correlate the analysis of the individual Gaussians widths to the peak broadening resulting from thermal diffuse scattering. Further development also includes the analysis of channeling effects by tracking the probe density along the z direction.

[1] D. Alloyeau et al., *Ultramicroscopy*, 656-662, 108 (2008)

[2] E. Kirkland, *Advanced Computing in Electron Microscopy*, Kluwer Boston Inc. (1998)

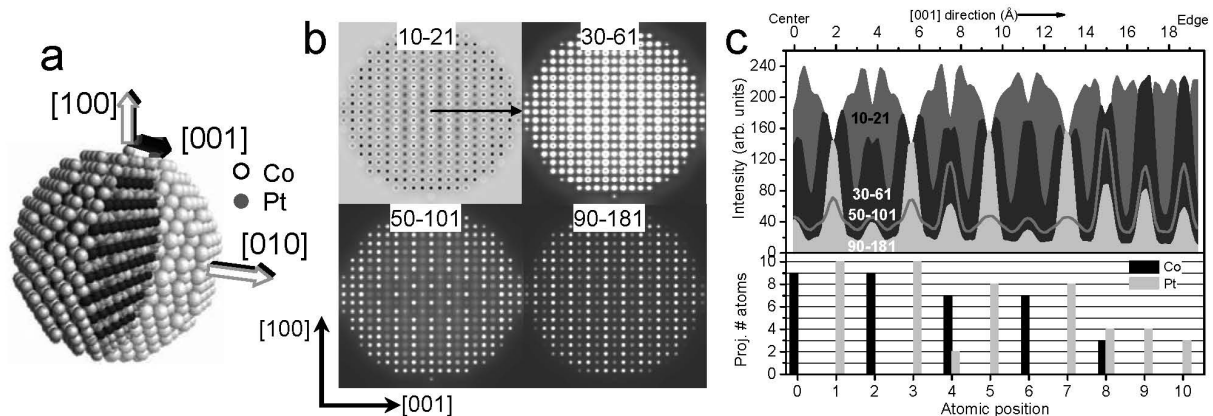


Fig.1 : (a) Cross-section of an atomic model of a 4-nm diameter ordered ($L1_0$) Co-Pt with a monolayer Pt shell (total of 10 unit cells across). (b) Simulated annular dark-field images of the cluster in (a) with increasing detector angle (inner and outer angles, in mrad, are indicated on the top of the figure). (c) Top panel : Intensity profiles taken along the central row of the simulated images in (b). Bottom panel : Respective number of projected Co and Pt atoms in each atomic row along displayed profiles.

Tomographie atomique laser et Nanosciences

D. Blavette¹

¹ Institut Universitaire de Groupe de Physique des Matériaux, UMR CNRS 6634, Université de Rouen, France

La sonde atomique tomographique conçue au GPM dans les années 90 [1], est la seule classe de microscope analytique produisant des cartographies 3D de la distribution des espèces chimiques avec une résolution atomique. Le volume analysé ($40 \times 40 \times 100 \text{ nm}^3$) est proche de celui accessible par simulation Monte-Carlo de sorte qu'une confrontation directe peut être menée pour l'étude par exemple des chemins cinétiques de transformation (précipitation, mise en ordre).

La tomographie atomique a produit des résultats marquants sur la précipitation dans les alliages (superalliages, aciers, bases Aluminium...), la ségrégation d'impuretés (le bore) sur les défauts cristallins, qu'il s'agisse des joints de grains dans les superalliages, des fautes d'empilement ou des dislocations dans les intermétalliques *FeAl* [2]. Avec le développement des techniques d'amincissement par FIB (focussed ion beam), des résultats marquants ont été obtenus en nanosciences, en particulier sur les multicouches magnétiques.

Le laboratoire vient de concevoir une nouvelle génération de sonde atomique tomographique " grand angle " assistée par des impulsions laser ultra-rapides femto-seconde (*LaWaTAP*, laser assisted wide angle tomographic atom probe) ouvrant l'instrument aux matériaux mauvais conducteurs de l'électricité. La *LaWaTAP*, conçue conjointement et commercialisée par CA-MECA permet l'analyse des semi-conducteurs et oxydes, matériaux clé en microélectronique [3].

Ce exposé fait le point sur ces derniers avancements et applications notamment en nanosciences, notamment en microélectronique et l'électronique de spin. Après une présentation succincte des principes de la tomographie, une confrontation au SIMS de résultats sur les semi-conducteurs sera présentée. Divers exemples en nanosciences seront ensuite donnés. Parmi les résultats récents, citons la mise en évidence d'amas (*BICs*) dans le silicium implanté [4], ou encore la mise en évidence d'effets d'interface dans les multicouches magnétiques magnétostrictives *TbCo₂/Fe* ou encore dans les jonctions tunnel *MgO/Fe/MgO*.

[1] D. Blavette, A. Bostel, J. M. Sarrau, B. Deconihout and A. Menand, *Nature*, 432-435, 363 (1993)

[2] D. Blavette, E. Cadel, A. Fraczkiewicz, A. Menand, *Science*, 2317-2319 (1999)

[3] B. Gault, F. Vurpillot, A. Vella, M. Gilbert, A. Menand, D. Blavette, B. Deconihout, *Rev. Sci. Instr.*, 043705, 77 (2006)

[4] O. Cojocar-Miredin, E. Cadel, F. Vurpillot, D. Mangelinck, D. Blavette, *Scripta Mater.*, 285-288, 60 (2009)

MEB - STEM et applications biologiques

F. Grillon ¹, P. Hallegot ²

¹ ENSMP

² L'Oréal

La forte brillance et la finesse des sondes électroniques équipant les MEB FEG, permettent d'accéder à des résolutions spatiales compatibles avec l'étude des systèmes biologiques. Beaucoup de ces études nécessitent de pouvoir visualiser les compartiments intracellulaires, accessibles dans le MEB après fracture ou section de l'échantillon. C'est cependant par la microscopie électronique à transmission de coupes ultra-fines contrastées par des métaux lourds que sont traditionnellement conduites la plupart des observations. Les techniques de préparation d'échantillons destinés au MET permettent également une observation en mode STEM et en particulier en mode MEB STEM. L'attrait de la technique MEB STEM en est son accessibilité et sa facilité de mise en œuvre. Il convient cependant de positionner cette technique vis-à-vis de la microscopie électronique à transmission. Pour cela, nous avons comparé les résultats obtenus en MEB STEM et en TEM à partir de coupes de 90 nm d'épaisseur d'un échantillon biologique. Cet échantillon a été post fixé de façon conventionnelle au tétr oxyde d'osmium, puis les coupes ont été contrastées, comme cela est couramment pratiqué, au citrate de plomb et à l'acétate d'uranyle. D'autre part, du fait de sa conception, le détecteur STEM dans un MEB autorise, malgré des tensions d'accélération des électrons incidents modestes par rapport au TEM, l'exploration d'échantillons épais. Afin d'évaluer cet attrait du MEB STEM, nous avons observé, sous des tensions d'accélération de 5 kV à 30 kV, des échantillons biologiques d'épaisseur variant de 100 nm à 5 μ m. Les images obtenues à partir des échantillons biologiques d'épaisseurs croissantes, sont comparées entre elles, et également avec les images obtenues à partir des mêmes sections observées par MET, MET filtrée, et SCEM (scanning confocal electron microscopy).

Complémentarité des cartographies d'orientation au MET et en EBSD au travers de quelques exemples d'étude de dégradations observées dans les matériaux pour le nucléaire

L. Legras¹, D. Loisnard, L. Saintoyant, A. Garcia

¹ EDF RetD, Les Renardières

Etude de l'effet de la contrainte sur la recristallisation d'un alliage de Zr pour tube de gainage

Des études préliminaires [1] de l'effet de la contrainte sur la recristallisation des alliages de Zr ont montrées que la contrainte influe sur la germination des nouveaux grains recristallisés. L'étude de cette germination est rendue très délicate et même impossible en EBSD du fait de sa limite de résolution spatiale. Les résultats présentés viseront à montrer l'apport de la cartographie d'orientation au MET à l'aide du système ACT[2] pour étudier ce phénomène.

Etude du comportement en fatigue d'un acier inoxydable 304L

La fatigue thermique des aciers inoxydables conduit à la formation de fautes d'empilement, micromaclage, martensite, cellules, . . . en fonction de la sollicitation appliquée [3]. Un des objectifs de cette étude menées à l'aide du système ACT, du système conçu par Edgar Roch [4] et commercialisé sous le nom d'ASTAR et de l'EBSD est d'étudier les faibles désorientations entre les cellules et surtout dans les cellules.

Etude de la répartition et de la texture de la zircone formée en milieu primaire sur des alliages de Zr.

Les couches de zircones formées en milieu primaire sur les alliages de Zr sont composées de grains équiaxes d'environ 50nm de diamètre et de grains colonnaires (50 nm de diamètre et plus de 100nm de long). Une des hypothèses serait que la cinétique de croissance de cet oxyde est lié à l'alternance entre de la zircone tétragonale et la zircone monoclinique. Les résultats présentés ont pour but de montrer que seuls des systèmes de cartographie d'orientation au MET permettent de répondre à cette question où les paramètres de maille sont très proches et les objets étudiés nanométriques.

[1] L. Saintoyant, L. Legras and Y. Brechet EMC 2008

[2] S.I. Wright and D.J. Dingley, Materials Science Forum 273-275 (1998)

[3] A. Garcia, L. Legras, M. Akamatsu and Y. Bréchet EMC 2008

[4] E.F Rauch, M Veron, J. Portillo, D. Bultreys, Y. Maniette and S. Nicopoulos, Microscopy and Analysis 22 S5-S8, (2008)

Optique et nano-structures

M. Cazayous¹

¹ Laboratoire MPQ

Présente dans l'industrie où elle sert, par exemple, à caractériser la qualité des vitres de pare brise à réflexion infra rouge ; dans l'art, où elle permet d'analyser de manière non invasive les composants chromiques de statues grecques ; ou encore présente dans l'espace pour l'analyse in situ des roches sur Mars par les missions Rover, la spectroscopie Raman se déploie depuis plus de 75 ans. Si la diffusion Raman est présente dans de nombreux développements applicatifs, elle n'a pas encore cédé au philistinisme. La maîtrise de la structuration de la matière à l'échelle nanométrique a ouvert de larges champs d'investigation en physique et aux interfaces physique/biologie renouvelant les possibilités fondamentales de la spectroscopie Raman. Les développements techniques des spectroscopies Raman résolues spatialement (confocale et champ proche) et temporellement soutiennent cette recherche à l'échelle du nanomètre. Non limitée à des études vibrationnelles, la spectroscopie Raman donne accès aux excitations élémentaires et à leur interaction dans les systèmes supraconducteurs, les fils et boîtes quantiques de semiconducteur, les systèmes moléculaires et biologiques (ADN,...) et se couple désormais aux autres sondes locales de la microstructure comme le STM, le TEM ou le HRTEM.

HAADF-TEM "crystallographic" tomography of MgZn₂ precipitates in an Al-Zn-Mg alloy

S. Benlekbir ¹, T. Epicier ¹, F. Danoix ²

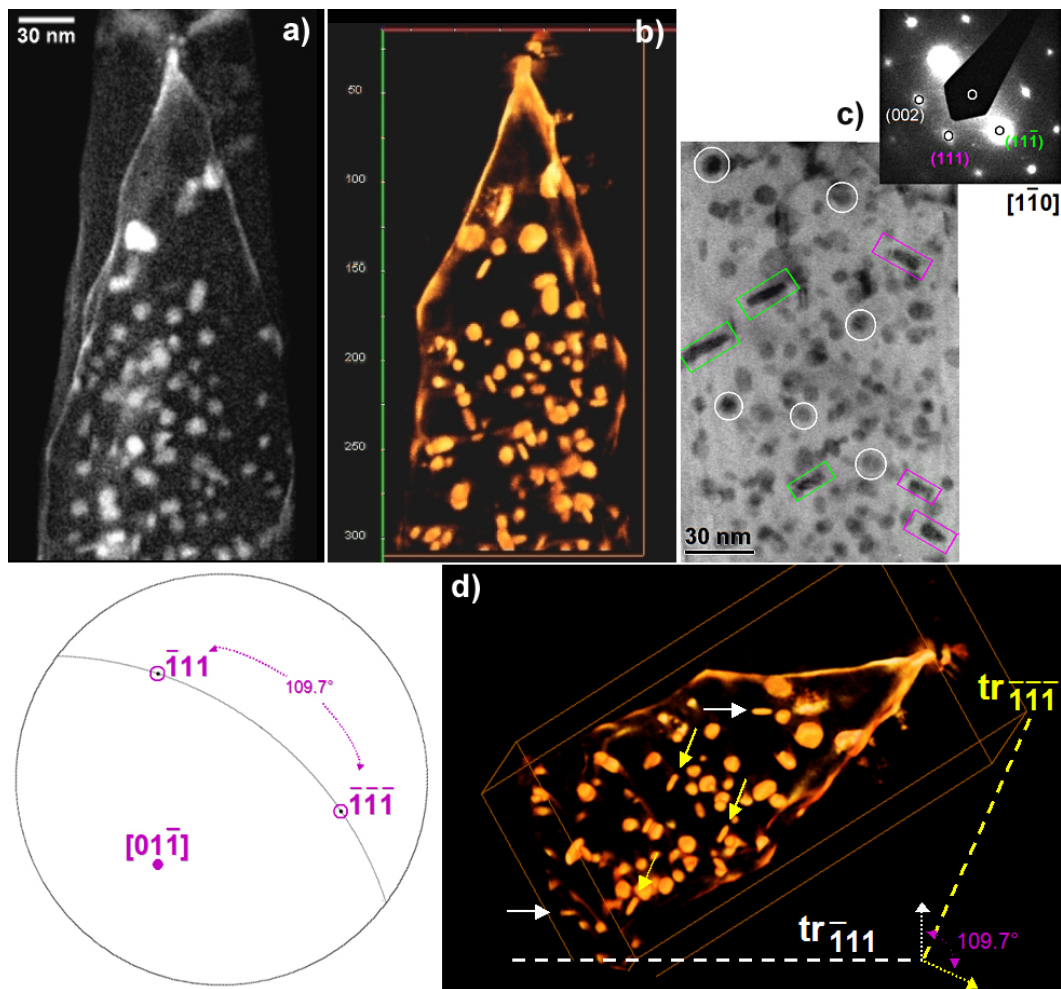
¹ Université de Lyon; INSA-Lyon, MATEIS, umr CNRS 5510, bât. B. Pascal, F-69621 Villeurbanne Cedex

² Groupe de Physique des Matériaux, UMR CNRS 6634, University of Rouen, F-76801 Saint Etienne du Rouvray Cedex

Nano-tomography in Transmission Electron Microscopy (TEM) has been recently and successfully applied to the characterization of various precipitates embedded in a matrix (see for example [1,2]). In this context we have undertaken a study of the precipitation state of MgZn₂-based particles in the Al-Mg-Zn system. The material is a medium-strength commercial alloy extensively used for automotive applications, where weldability is an important feature. A previous characterization by means of TEM, Small-Angle X-ray Scattering (SAXS) and Atom Probe Tomography (APT) [3] has shown that two types of precipitates co-exist in the so-called T7 tempering state (6 hrs. at 170°C) : (i) the stable η -MgZn₂ phase (hexagonal P63/mmc structure) mainly precipitates under the form of spheres (ii) minor variants, called η' , adopt a platelet shape. These authors also reported that the total precipitated volume fraction, as measured by SAXS, is 2.54 ± 0.3 %, and the precipitates mean radius is 3.6 nm with a standard deviation of 1.0 nm. According to these size and volume fraction, TEM tomography appears as an interesting alternative tool to SAXS, with which it can be delicate to discern the η and η' particles, and to APT, for which the density of precipitates makes any statistical approach hazardous. Nano-tomography has thus been conducted in the STEM mode on a JEOL 2010F microscope, equipped with an HAADF (High Angle Annular Dark Field) detector. The material was prepared under the form of tips as for APT experiments. They were mounted on a home-made modified tip of the simple-tilt commercial specimen holder, compatible with a -80 to +80° tilting range with an Ultra-High Resolution pole-pieces. Some further experimental details can be found in [4]. Although the HAADF contrast remains relatively poor owing to a small "Z" difference between the Al matrix and the MgZn₂ precipitates, 3D reconstruction could be performed with the algebraic reconstruction technique (ART) implemented in the TOMOJ software [5]. Figure 1 illustrates a typical reconstructed tip : the HAADF micrograph in fig. 1a) has been extracted from a tilt series of images acquired over a tilt range of 121° with a step of 1°, with the use of a home-made script developed under Digital Micrograph (Gatan). Fig. 1b) shows the corresponding tomogram. It can be noted that some precipitates appear to be elongated. As previously mentioned, these particles should correspond to the few 111_{Al} η' platelets present in the T7 state, as clearly evidenced in figure 1 c). It is then tempting to associate the 3D analysis with a crystallographic one to better highlight this minor phase. By recording some diffraction patterns during the tilt series, the orientation of the matrix could easily be determined by classical (although old-fashioned) stereographic analysis. The corresponding tomogram can consequently be oriented as-well, and tilted in any desired and known orientation. Figure 1 d) shows a example where the tomogram is viewed along a $[01-1]_{Al}$ direction, which obviously reveals the two sets of $(-111)_{Al}$ and $(111)_{Al}$ edge-on η' platelets.

From the present experiments performed on several tips, a mean precipitate radius of 4.0 nm, and a volume fraction of 2.35 % were deduced, in perfect agreement with the previous results of Dumont et al. [3,6].

- [1] Kaneko K., Inoke K., Sato K., Kitawaki K., Higashida H., Arslan I., Midgley P.A., *Ultramicroscopy*, 108, (2008), 210
- [2] Inoke K., Kaneko K., Weyland M., Midgley P.A., Higashida K., Horita Z., *Acta Materialia*, 54, (2006), 2957
- [3] Dumont M., Lefebvre W., Doisneau-Cottignies B., Deschamps A., *Acta Materialia*, 53, (2005), 2881
- [4] Benlekbir S., Epicier T., Bausach M., Aouine M., Berhault G., *Phil. Mag. Lett.*, 89, 2, (2009), 145
- [5] Messaoudi C., Boudier T., OscarSanchez Sorzano C., Marco S., *BMC Bioinformatics*, (2007), doi :10.1186/1471-2105-8-288
- [6] The CLYM (Centre Lyonnais de Microscopie) is gratefully acknowledged for the access to the 2010F microscope



STEM tomography of an Al,Mg,Zn tip. a) typical HAADF micrograph from a tilt series, b) tomogram showing the reconstructed volume. c) precipitation microstructure as revealed in conventional bright field TEM imaging in the $[1-10]_{Al}$ azimuth. crystallographic analysis of the tomogram : according to the stereographic determination of the sample orientation (on the left), the tomogram (on the right) can be tilted in any low-index direction, such as $[01-1]_{Al}$, where the η' platelets lying in the $(-111)_{Al}$ and $(111)_{Al}$ planes appear edge-on (arrows).

Tomographie en ESEM en mode transmission : amélioration de la résolution

A. Bogner¹, T. Wolfrom¹, G. Thollet¹, J. Ferreira¹, C. Gauthier¹

¹ Université de Lyon, INSA-Lyon, Laboratoire MATEIS

Des travaux récents au laboratoire ont montré qu'il était possible de réaliser une tomographie dans un ESEM en mode transmission. Les avantages de cette nouvelle technique de tomographie découlent directement de ceux de l'ESEM ainsi que ceux du mode STEM en basse tension avec une détection de type champ sombre annulaire [1].

La première génération de porte-objet développée, "tomo-STEM1" [2], a permis de réaliser l'étude tridimensionnelle de matériaux variés avec satisfaction. Tout d'abord, du point de vue résolution spatiale du volume reconstruit, cette technique de caractérisation trouve naturellement sa place entre la tomographie X et la tomographie réalisée dans un TEM : une résolution de quelques dizaines de nms a été obtenue lors de la caractérisation d'un objet de type bâtonnet, une pointe de tungstène supportant des nanofils de SiC. Par ailleurs, elle est adaptée aux objets non conducteurs et présente des intérêts en terme de contrastes obtenus et d'épaisseur de matériau caractérisée [3] ce qui résulte en des volumes reconstruits importants : ceci a été mis en évidence lors de l'étude d'un composite à matrice PVC au sein de laquelle différentes familles de charges submicrométriques ont pu être identifiées [4].

La présente communication concerne une étude visant à repousser les limites de résolution atteintes jusqu'alors en tomo-STEM. Nous nous sommes attachés à caractériser un nanocomposite polymère/nanotubes de carbone [5], plus exigeant en termes d'irradiation, de contraste charges/matrice mais aussi de résolution, les détails à caractériser étant plus fins. La figure 1 montre une image acquise dans le mode STEM utilisé : elle présente un contraste polymère/nanotubes important et une résolution de l'ordre de la dizaine de nm. La tomographie de cet objet a d'abord été réalisée avec tomo-STEM1 en optimisant la procédure de réglage et de prise de vues. Un porte-objet deuxième génération a ensuite été développé dans le but d'automatiser la prise de vues et d'améliorer la résolution via notamment la précision des mouvements du porte-objet.

[1] A. Bogner, P.-H. Jouneau, G. Thollet, D. Basset, C. Gauthier, A history of scanning electron microscopy developments : towards 'wet-STEM' imaging, *Micron* 38 (2007) 390–401

[2] P. Jornsano, G. Thollet, K. Masenelli-Varlot, C. Gauthier, FR Patent 06-09-708, (2006)

[3] A. Bogner, thèse INSA-Lyon (2006)

[4] P. Jornsano, thèse INSA-Lyon (2008)

[5] F. Dalmas, thèse INSA-Lyon (2005)

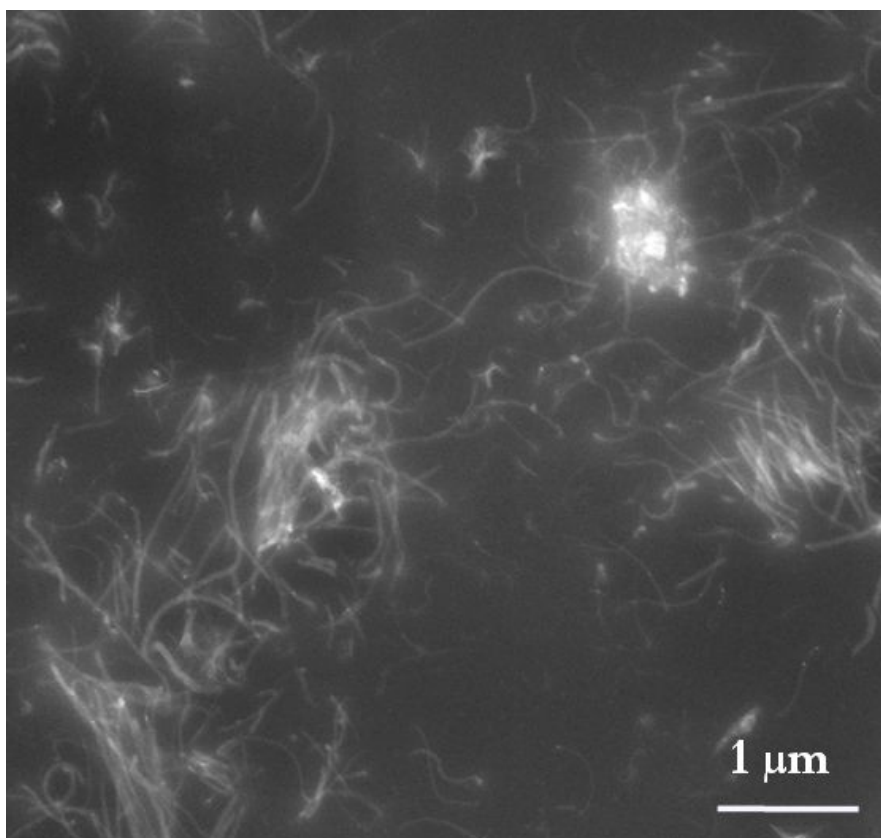


Figure 1 : Image STEM réalisée sur une coupe préparée par ultramicrotomie du nanocomposite polymère/nanotubes de carbone

Ptychographie en microscopie électronique en transmission

F. Hüe¹, A. Maiden², J.M. Rodenburg², P.A. Midgley¹

¹ University of Cambridge, UK

² University of Sheffield, UK

La ptychographie est une technique récente basée sur un algorithme itératif (Fig 1), *PIE* (*Ptychographical Iterative Engine*) [1], permettant de retrouver la phase d'un objet à partir d'une série de clichés de diffractions avec une illumination connue et un fort recouvrement entre les différentes zones illuminées par la sonde. Cette technique connaît de bons résultats dans les domaines de l'optique et des rayons-X [2-4] et nous montrons ici, qu'il est possible de l'utiliser en microscopie électronique en transmission.

Grace à cette méthode il est possible de remonter à la valeur complexe d'un objet en se basant uniquement sur l'amplitude de clichés de diffractions enregistrés. L'algorithme nécessite seulement quelques renseignements sur la sonde utilisée lors de l'illumination ainsi qu'une bonne connaissance de sa position (par rapport à l'objet) pour chaque diffraction enregistrée. Une version optimisée de l'algorithme est utilisée [5] et permet à la fois de retrouver la phase et l'amplitude de l'objet ainsi que de mettre à jour les valeurs concernant la sonde utilisée.

Les résultats présentés ont été obtenus sur un Tecnai F20 équipé d'une caméra 1k (*Gatan*) située après le GIF ayant une gamme dynamique de 15000 coups. Plusieurs configurations d'illumination ont été testées et notre choix s'est porté sur un faisceau microprobe convergent. Les particules imagées sont des particules de $Fe_{30}Ni_{70}$ avec la lentille objectif active dans un premier temps. A partir de 21 enregistrements de diffractions, avec un recouvrement de 80%, 200 itérations seulement ont permis de calculer la phase et l'amplitude de l'objet (Fig 2). La résolution obtenue est de 1 nm et les valeurs de déphasage sont en accords avec celles obtenues par holographie off-axis.

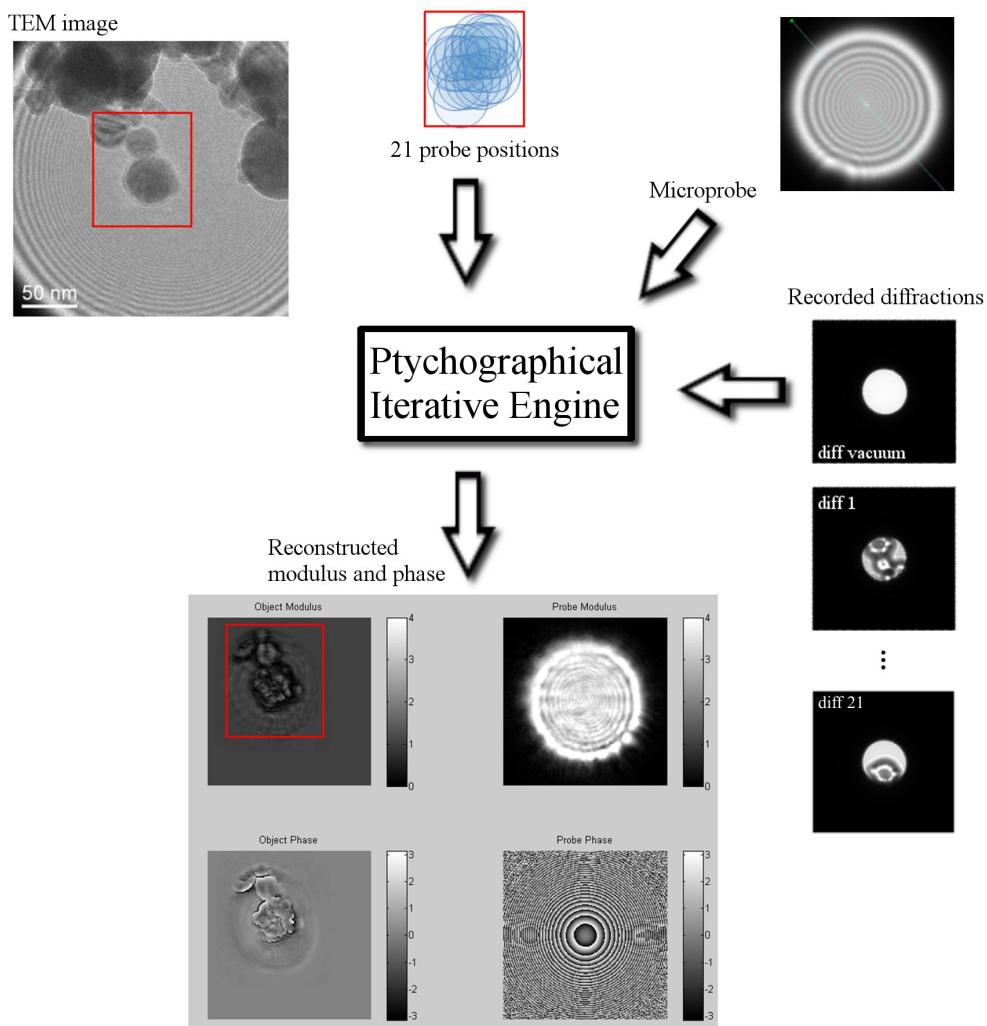
[1] J. M. Rodenburg and H. M. L. Faulkner. A phase retrieval algorithm for shifting illumination. *Appl. Phys. Letts.*, 85(20) :4795-4797, 2004.

[2] J. R. Rodenburg, A. C. Hurst, and A. G. Cullis. Transmission microscopy without lenses for objects of unlimited size. *Ultramicroscopy*, 107 :227-231, 2007.

[3] J. R. Rodenburg, A. C. Hurst, A. G. Cullis, B. R. Dobson, F. Pfeiffer, O. Bunk, C. David, K. Jefimovs, and I. Johnson. Hard-X-Ray Lensless Imaging of Extended Objects. *Phys. Rev. Lett.*, 98 :034801, 2007.

[4] P. Thibault, M. Dierolf, A. Menzel, O. Bunk, C. David, and F. Pfeiffer. High-resolution Scanning X-ray Diffraction Microscopy. *Science*, 321 : 379-382,2008.

[5] A.M. Maiden, J.M. Rodenburg, An Improved Ptychographical Phase Retrieval Algorithm for Diffractive Imaging, *Ultramicroscopy* (submitted)



Imagerie par diffraction. Détermination de la phase et l'amplitude d'un objet par ptychographie itérative.

Far-field optical nanoscopy : Switching markers on and off breaks Abbe's diffraction barrier

A. Schönle¹, S.W. Hell¹

¹ Department of NanoBiophotonics, Max-Planck-Institute for Biophysical Chemistry, Am Fassberg 11, 37077 Göttingen, Germany

It has been common knowledge that the resolution of every far-field microscope is limited by diffraction. This resolution barrier, formulated quantitatively by Ernst Abbe in 1873, is indeed an unalterable fact for all purely optics-based systems and therefore it was assumed that in consequence the resolution of every far-field optical microscope operating with visible light is fundamentally limited to $\sim 250nm$.

Nevertheless, fluorescence imaging with resolutions of better than 10nm has recently become a reality : STED microscopy [1], the first technique to break the diffraction barrier was introduced in 1994 and several other approaches were successfully implemented since then. All of them are based on the insight that the imaging process need not be purely optical but can include a clever utilization of the marker's spectroscopic properties to circumvent the limitations posed by the wave-nature of light. By switching dyes between bright and dark states, time-multiplexed readout of spatial information is achieved, which would otherwise be obscured by diffraction [2].

Two complimentary approaches to implement this principle can be distinguished : In RESOLFT microscopes such as STED or ground-state depletion (GSD) microscopes all emitters in certain regions of the sample are switched simultaneously in order to confine the bright state to sub-diffraction sized spots or lines. In single marker switching based nanoscopy [3-6], on the other hand, individual, well separated emitters are turned on, leaving the vast majority in their dark state. Because the position of such isolated spots can be determined with sub-diffraction precision if enough photons are collected, a super-resolved image can be reconstructed mathematically as a position histogram. We exemplify the applicability and potential of all these approaches [7,8].

- [1] S.W. Hell and J. Wichmann, J., Opt. Lett., 780-782, 19 (1994)
- [2] S.W. Hell, Nature Biotechnol., 1347-1355, 21 (2003)
- [3] M.J. Rust, M. Bates and X. Zhuang, Nat Meth, 793-796, 3 (2006)
- [4] E. Betzig et al., Science, 1642-1645, 313 (2006)
- [5] S.T. Hess, T.P.K. Girirajan and M.D. Mason, Biophys. J., 4258-4272, 91 (2006)
- [6] A. Egner et al., Biophys. J., 3285-3290, 93 (2007)
- [7] S.W. Hell, Science, 1153-1158, 316 (2007)
- [8] S.W. Hell, Nature Methods, 24-32, 6 (2008)

Emission de lumière près de nano-objets métalliques : effets moléculaires et plasmoniques.

F. Charra ¹

¹ CEA, Nanophotonics Lab, Saclay, France

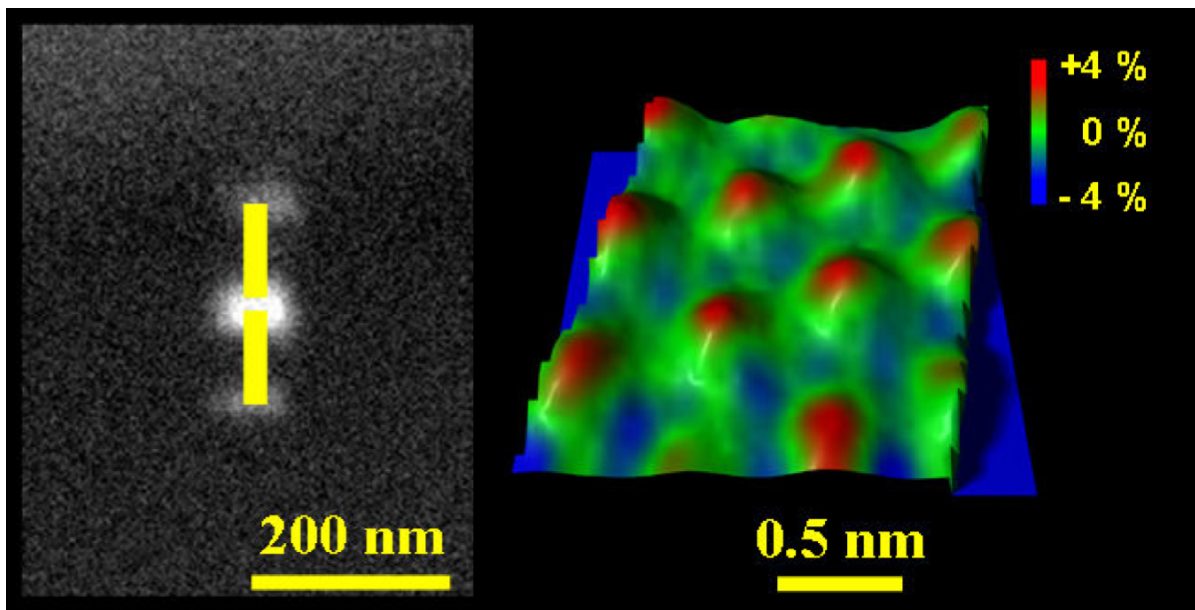
La réduction de la taille d'un objet métallique jusqu'à l'échelle nanométrique induit d'importantes modifications de sa réponse à une sollicitation optique. Elles ont pour origine l'apparition de modes d'oscillation collective des électrons libres du métal – les modes plasmons – et se traduisent par des exaltations locale des champs électromagnétiques et des comportements d'antennes optiques. Les applications de ces phénomènes motivent d'intenses recherches visant à comprendre, d'une part, les interactions de tels objets avec le champ électromagnétique, d'autre part, le rôle de médiateur que ces modes de plasmons peuvent exercer dans l'interaction entre des objets photoniques quantiques – tels que des molécules fluorescentes – et le champ électromagnétique.

Pour cela, une étape clé est la détermination de la distribution spatiale des champs optiques pour chacun des modes considérés, à une échelle bien inférieure à la longueur d'onde de la lumière. Une technique de microscopie basée sur les photo-électrons émis par excitation multi-photonique aux fréquences de résonance plasmon commence à se développer (M-PEEM pour Multiphoton Photo-Emission Electron Microscopy) [1]. En reportant l'imagerie sur les électrons plutôt que sur les photons, elle permet de contourner la limite de diffraction optique sans recourir à des techniques de sonde locale et donc en évitant les erreurs dues aux perturbations électromagnétiques de cette dernière. Par cette technique, nous avons par exemple pu analyser les modes de bâtonnets d'or de seulement $30nm$ de diamètre obtenus par lithographie électronique. Pour de telles dimensions, les modes de plasmon correspondent aux oscillations stationnaires d'ondes longitudinales dites 'fortement couplés' et dont la longueur d'onde est bien inférieure à la longueur d'onde de la lumière dans le vide et même à celle des ondes de plasmon de surface classiques. La résolution spatiale qu'offre la M-PEEM a ainsi permis d'étudier ces modes pour la première fois dans l'espace réel [2].

Une catégorie particulièrement intéressante de modes plasmoniques est constituée par les modes dits de 'gap' se développant entre deux objets métalliques à distance nanométrique. L'image M-PEEM d'un tel mode est représenté sur la figure 1. De tels modes existent en particulier dans la jonction pointe-surface d'un microscope à effet tunnel (STM) opérant avec une pointe métallique sur un substrat lui aussi métallique [3]. Les processus photoniques pouvant éventuellement se produire sous la pointe se trouvent alors fortement exaltés. De plus, les modes de plasmon de surface se propageant le long de la pointe assurent le relai vers le champ lointain, formant ainsi une configuration d'antenne optique quasiment idéale. Cette situation peut être exploitée dans des techniques originales d'analyse photonique en champ proche d'objets en surface. Ces techniques se distinguent par la nature du processus optique produit : dans un STM, il peut s'agir de l'émission de photon résultant de transitions inélastiques des électrons du courant tunnel. Ainsi, en détectant les photons émis par une jonction tunnel, nous avons pu imager des modes 'de gap' entre nanoparticules de $4nm$ de diamètre seulement, avec une résolution spatiale de l'ordre du nanomètre [4]. Par ailleurs, les contrastes induits par la présence de molécules adsorbées sur des surfaces atomiquement planes (voir figure 1) permettent d'analyser des propriétés électroniques originales de ces systèmes.[5] L'analyse temporelle des photons émis donne alors accès à des paramètres dynamiques, tels que des phénomènes de

diffusion moléculaire en surface, avec des résolutions temporelles inférieures à la nanoseconde [6], inaccessibles en STM standard. Outre l'émission de photons induite par le courant tunnel, de nombreux autres processus optiques peuvent être exploités, comme par exemple la génération de second harmonique optique induite par le champ électrique local [7], offrant toute une panoplie de techniques de microscopie optique en champ proche sensibles à différents aspects, géométriques, électroniques ou optiques, des échantillons étudiés.

- [1] L. Douillard et al., Journal of Applied Physics 083518, 101 (2007)
- [2] L. Douillard et al., Nano Letters, 935-940, 8 (2008)
- [3] K. Kusova, F. Charra, G. Schull and I. Pelant, Surface Science, 345-348, 602 (2008)
- [4] Silly, F., A.O. Gusev, A. Taleb, F. Charra and M.P. Pileni, Physical Review Letters, 5840-5843, 84 (2000)
- [5] K. Perronet, Ann. Phys. Fr., 1-147, 30 (2005)
- [6] K. Perronet, G. Schull, P. Raimond and F. Charra, Europhysics Letters, 313-319, 74 (2006)
- [7] I. Berline, C. Fiorini-Debuisschert, C. Royal, L. Douillard and F. Charra, Journal of Applied Physics, 103113, 104 (2008)



A gauche : Image de microscopie par photo-émission multi-photonique (M-PEEM) montrant l'exaltation de champ optique à la jonction de deux nano-bâtonnets d'or, schématiquement superposés en jaune sur l'image. A droite : Image de luminescence excitée par microscopie à effet tunnel (STL) obtenue sur une monocouche d'alcane-thiols auto-assemblés sur une surface d'or (111). L'émission est exaltée par le mode de plasmon de la jonction or-or, et le contraste montre l'influence des molécules individuelles sur cette source de lumière nanométrique.

Multimodal multiphoton imaging of intact eye tissues

N. Olivier ¹, F. Aptel ^{2,3}, A. Deniset-Besseau ¹, J.M. Legeais ², K. Plamann ³, M.C.-Schanne-Klein ¹, E. Beaufrepaire ¹

¹ Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique - CNRS - INSERM, 91128 Palaiseau, France. www.lob.polytechnique.fr

² Laboratoire Biotechnologie et Œil, Université Paris V, Hôpital Hôtel Dieu, 1 place du parvis Notre Dame, 75181 Paris, France

³ Laboratoire d'Optique Appliquée, ENSTA - Ecole Polytechnique - CNRS, Chemin de la Hunière, 91761 Palaiseau, France

Abstract. We evaluate three combined modalities of multiphoton microscopy, second-harmonic generation (SHG), third-harmonic generation (THG), and two-photon-excited fluorescence (2PEF) for imaging the anterior segment of intact eye tissue.

Introduction. Non-invasive optical methods that enable in vivo or in situ visualization of tissue components are of particular relevance in ophthalmology because they provide key information about the physiology and pathologies of the eye. Commonly used techniques such as optical coherence tomography (OCT) and reflectance confocal imaging provide three-dimensional cell-scale information. However, as their contrast mechanism relies on spatial variations of refractive indices, they may sometimes offer limited contrast and specificity. Therefore multimodal multiphoton imaging [1] (Fig.1a) appears as a promising alternative method for obtaining virtual biopsies. In this study we evaluated three modalities of multiphoton microscopy for imaging the anterior segment [2] of intact human eye tissue : second-harmonic generation (SHG), third-harmonic generation (THG), and two-photon-excited fluorescence (2PEF).

Imaging experiments. Imaging was performed on a custom-built upright laser scanning 2PEF/SHG/THG microscope [1]. Excitation was performed alternatively using a titanium :sapphire oscillator (Coherent, Inc. and Spectra-Physics, Inc.) and a synchronously pumped optical parametric oscillator (OPO) (APE) delivering 100-150 fs pulses at the focus of the objective. The microscope incorporated galvanometer mirrors (GSI Lumonics), a motorized water-immersion objective (0.9 NA, Olympus) and photon-counting photomultiplier modules (ET enterprises). Detection channels were installed in the backward (epi) and forward (trans) directions each consisting of one or two detectors, depending on the experiment. THG excitation was performed at red-shifted wavelengths (typ. 1200 nm) in order to minimize two-photon absorption by endogenous species. Simultaneous THG/SHG imaging was usually performed with trans-detection of both signals. Simultaneous 2PEF/SHG imaging was generally performed with 730 nm or 860 nm excitation, with epidetection of the 2PEF signal and trans-detection of SHG. The three imaging modalities provide complementary information on intact tissue over the entire thickness of the cornea and in the trabecular meshwork. THG imaging reveals the tissue morphology, including the epithelium and endothelium structure with sub-cellular resolution. SHG imaging probes the distribution of stromal collagen lamellae organization. 2PEF imaging reveals the elastic component of the extra-cellular matrix and the distribution of fluorescent organelles in epithelial, stromal and endothelial cells. Typical images of unstained epithelium and stroma are presented in figures 1b-f.

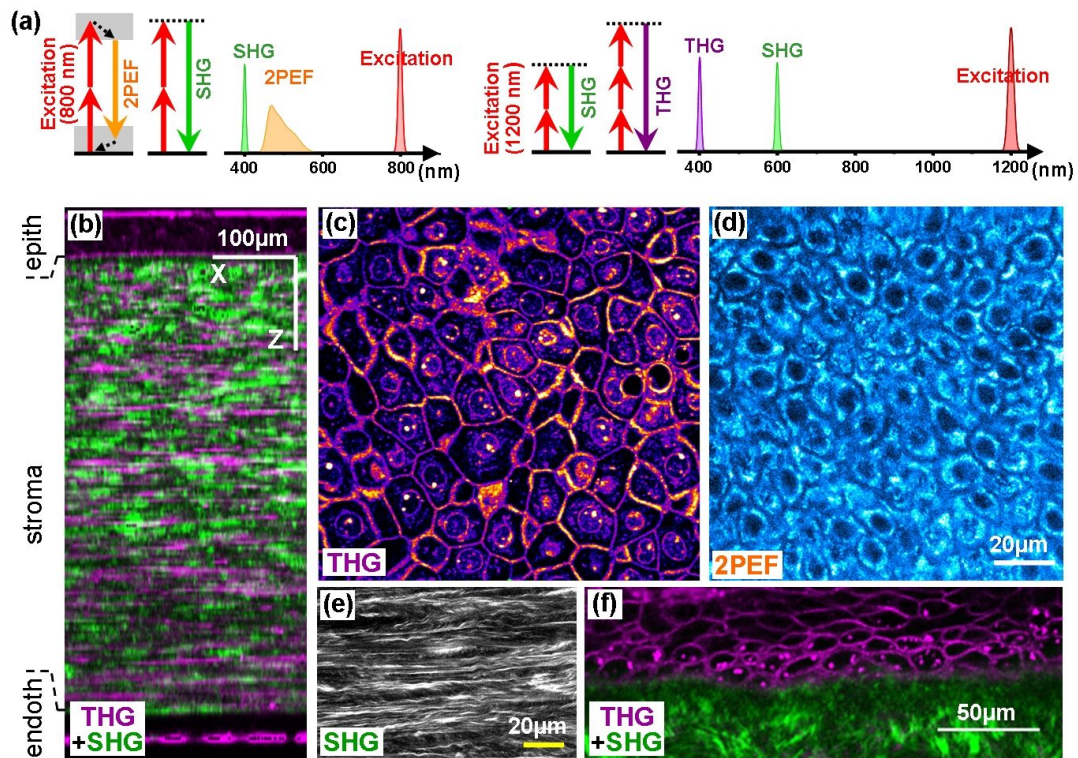
These experiments show that multimodal imaging provide rich morphological information

about several corneal components. We point out that coherent nonlinear images (SHG, and more particularly THG) rely on specific contrast mechanisms, and that their interpretation requires a careful analysis. We will discuss the main contrast mechanisms in these images, based on our previous studies [3,4,5,6].

Conclusion. Our data show that combined SHG/THG/2PEF microscopy is a very effective method for to evaluating corneal microstructures in intact tissue. This imaging approach should prove particularly appropriate for studying corneal and glaucoma physiopathologies.

Acknowledgments. Human cornea specimen were obtained under permission from the Banque Française des Yeux (French Eye Bank), Paris. This work was partly supported by the Délégation Générale pour l'Armement and by the Fondation de la Recherche Médicale.

- [1] D. Débarre, W. Supatto, A.-M. Pena, A. Fabre, T. Tordjmann, L. Combettes, M.-C. Schanne-Klein et E. Beaurepaire, *Nat. Methods* 3, 47 (2006).
- [2] V. Nuzzo, K. Plamann, M. Savoldelli, M. Merano, D. Donate, O. Albert, P. Gardeazábal Rodríguez et G. Mourou, J.-M. Legeais, *Journal of Biomedical Optics* 12(06), 064032 (2007).
- [3] D. Débarre, W. Supatto et E. Beaurepaire, *Opt. Lett.* 30(16), 2134-2136 (2005).
- [4] D. Débarre et E. Beaurepaire, *Biophys. J.* 92(2), 603-612 (2007).
- [5] A.-M. Pena, T. Boulesteix, T. Dartigalongue et M.-C. Schanne-Klein, *J. Am. Chem. Soc.* 127(29), 10314-22 (2005).
- [6] M. Strupler, A.-M. Pena, M. Hernest, P.-L. Tharaux, J.-L. Martin, E. Beaurepaire et M.-C. Schanne-Klein, *Opt. Express* 15, 4054-4065 (2007)



Multiphoton imaging of intact human cornea. (a) Wavelengths and nonlinear processes involved. (b) X-Z projection of a XYZ combined THG/SHG image stack over the entire corneal thickness. Imaging was performed from the epithelium (top side). Scale bars : 100 μm . (c) SHG imaging of a transverse section cornea reflecting collagen microarchitecture. (d) THG imaging of corneal epithelium reveals the tissue architecture including cell junctions and nucleus/cytoplasm interfaces. (e) 2PEF imaging (different sample) of intracellular fluorophores in epithelium. (f) Combined THG (purple) and SHG (green) image of the epithelial-stromal junction.

Nano-optique de métamatériaux par spectroscopie de perte d'énergie des électrons résolue spatialement

G. Boudarham¹, M. Kociak¹, O. Stéphan¹, N. Feth², M. Wegener², S. Linden²

¹ Laboratoire de Physique des Solides (UMR CNRS 8502), Bâtiment 510, Université Paris-Sud, 91405, Orsay, France

² Institut für Angewandte Physik, Universität Karlsruhe, 76131 Karlsruhe, Allemagne

En 1967, Victor Veselago considéra, théoriquement, un matériau possédant simultanément une permittivité et une perméabilité négative. En 2000, John Pendry proposa une réalisation de ces matériaux à l'aide d'une structure périodique métallique formée d'anneaux concentriques fendus, appelés split-ring resonators (SSR) et de fils métalliques. Pendry avait montré, en effet, qu'un arrangement périodique de fils métalliques parallèles a une permittivité négative à basse fréquence et qu'un réseau périodique de SSR présente une perméabilité négative autour d'une fréquence de résonance. En réunissant ces deux réseaux, on obtient un matériau composite ayant simultanément une permittivité et une perméabilité négative dans un domaine étroit autour de la fréquence de résonance du SSR. Des applications de ces métamatériaux ont été proposées : fabrication de super-lentilles à haute résolution [1], de pièges à lumière, de miroirs de Bragg, d'antennes compactes et très directives ou même, plus futuriste... de "capes d'invisibilité" [2].

Récemment, nous avons montré que la spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS) résolue spatialement (SPIM) permettait de cartographier les plasmons à l'échelle du nm dans le domaine spectral du proche IR/visible/proche UV [3,4].

Il est vraisemblable que les propriétés optiques des SSR sont entièrement déterminées par celles de leurs plasmons de surfaces. Leur caractéristique à l'échelle du SSR individuel est donc requise.

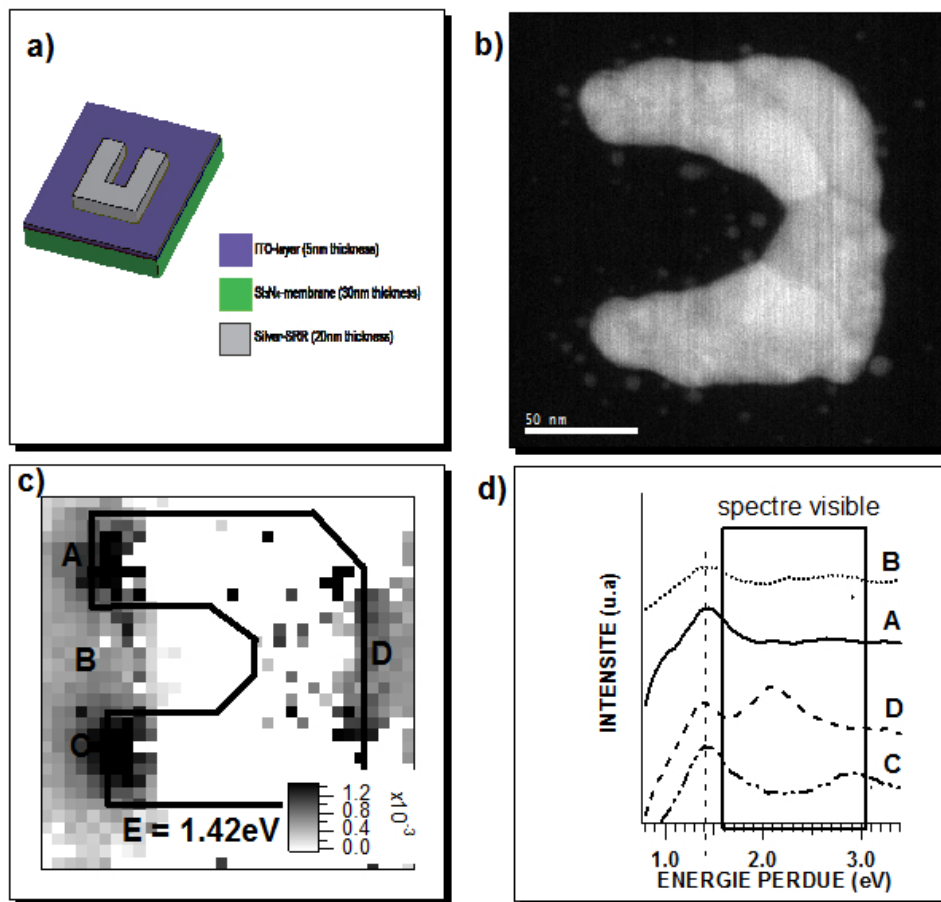
Nous présenterons ici les premières cartographies, dans le domaine spectral du visible, des modes plasmons de surface d'un SSR unique obtenues par spectroscopie de pertes d'énergie des électrons (EELS) dans le contexte d'un microscope électronique à transmission à balayage (STEM VG HB 501) résolu spatialement. Afin de s'affranchir des effets de moyenne statistique, nous avons étudié des SSR individuels. La taille des échantillons nous a permis de les étudier dans le domaine spectral du visible et du proche infrarouge (voir figure).

[1] J.B. Pendry, Negative Refraction Makes a Perfect Lens, *Phys. Rev. Lett.*, 3966, 85 (2000)

[2] J.B. Pendry, Metamaterial Electromagnetic Cloak at Microwave Frequencies, *Science* (2006)

[3] J.N. Nelayah, Mapping surfaces plasmons on a single metallic nanoparticles, *Nature Physic*, 348-353, 3 (2007)

[4] L.R. Lorenzo, Zeptomol Detection Through Controlled Ultrasensitive Surface-Enhanced Raman Scattering, *Journal of the American Chemical Society*, 4616-4618, 131 (2009)



a) Schéma représentant un SSR sur un substrat d'ITO et de Si_3N_4 . b) Image de fond noir du SSR obtenue avec le STEM VG HB 501 en mode HADDF. c) Carte représentant l'intensité des électrons ayant perdu une énergie centrée sur 1.42 eV. d) Spectres EELS montrant la résonance plasmon vers 1.42 eV, localisée en A, B, C et D. On distingue aussi un autre mode à plus haute énergie.

Microscopie à 2 images : un moyen de doubler la résolution latérale des microscopes confocaux

N. Sandeau ¹, H. Rigneault ², H. Giovannini ²

¹ ANBioPhi FRE 3207, CNRS, Université Pierre et Marie Curie

² Institut Fresnel UMR 6133, CNRS, Université Aix Marseille

L'augmentation de la résolution des microscopes optiques aura probablement un impact majeur sur la compréhension des mécanismes cellulaires. La résolution 3D des microscopes à balayage est définie par une fonction d'efficacité de détection (DEF), résultat du produit d'une fonction d'efficacité d'excitation (EEF) et une fonction d'efficacité de collection (CEF). Ainsi, pour augmenter la résolution, il suffit de réduire les dimensions du volume de détection en réduisant celles des volumes d'excitation ou de collection. Depuis le début des années 1990, plusieurs techniques ont été utilisées pour réduire la dimension axiale (la plus grande) de la DEF. Les microscopies TIRF [1], 4Pi [2–4] ou I5M [5] permettent d'atteindre des résolutions axiales inférieures à 100nm. Plus récemment d'autres méthodes [6–9] ont été développées pour augmenter la résolution latérale des microscopes. Alors que la plupart d'entre elles [6, 7, 9] agissent sur l'excitation, nous en avons proposé une qui réduit les 3 dimensions de la CEF [8] des microscopes 4Pi. Cette idée a ensuite été adaptée aux microscopes confocaux classiques [10]. Dans ce nouveau microscope (cf. Fig. 1), que nous appelons "2-Image microscope", un interféromètre nous permet de créer 2 images cohérentes et symétriques (par rapport à l'axe optique) pour chaque point source de l'échantillon (spatialement incohérent). Ce concept permet d'atteindre une résolution latérale égale à $\frac{1.22\lambda}{4NA}$ [11] c'est-à-dire deux fois mieux que la limite classique de $\frac{1.22\lambda}{2NA}$. Cette augmentation vient du fait que toutes les fréquences spatiales collectées par l'objectif sont utilisées dans le processus d'imagerie [12]. Il est à noter que cette technique est indépendante des paramètres et du mode d'excitation utilisés; il est donc possible de coupler ce système aux microscopies TIRF, 4Pi ou SNOM, de travailler en mode d'excitation multi-photonique [13] voire sans excitation optique c'est-à-dire avec des matériaux chimi-luminescents.

[1] D. Axelrod et al., J. Microsc-Oxford, 19-28, 129 (1983)

[2] S. Hell, European Patent EP0491289 (1992, filed dec. 18 1990)

[3] C. J. R. Sheppard et al., Optik, 129-132, 87 (1991)

[4] S. Hell et al., J. Opt. Soc. Am. A, 2159-2166, 9 (1992)

[5] M. G. L. Gustafsson et al., J. Microsc-Oxford, 10-16, 195 (1999)

[6] S. W. Hell et al., Opt. Lett., 780-782, 19 (1994)

[7] M. G. L. Gustafsson, J. Microsc-Oxford, 82-87, 198 (2000)

[8] N. Sandeau et al., J. Opt. Soc. Am. A, 1089-1095, 23 (2006)

[9] J. Wenger et al., Biophys. J., 913-919, 92 (2007)

[10] N. Sandeau et al., World Patent WO/2007/141409 (2007, filed June 8 2006)

[11] N. Sandeau et al. "Increasing the lateral resolution of scanning microscopes by a factor of two using 2-Image microscopy," JEOS RP, (In submission)

[12] K. Wicker et al., Opt. Express, 12206-12216, 15 (2007)

[13] N. Sandeau et al., Opt. Commun., 123-129, 264 (2006)

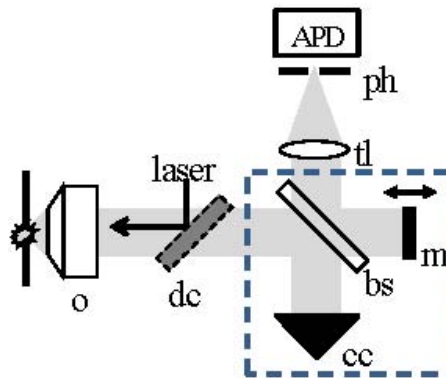


Schéma d'un microscope à 2 Images. Un interféromètre de type Michelson a été inséré dans le tube d'un microscope confocal classique : o est un objectif, dc un miroir dichroïque, bs une lame séparatrice, m un miroir, cc un coin de cube, tl la lentille de tube et ph le trou confocal. Le coin de cube est vide et métallique afin d'éviter les problèmes de chromatisme. Il sert à créer une seconde image cohérente et symétrique à l'image géométrique. Ce montage permet de doubler la résolution latérale quelque soit le type d'excitation : linéaire, multi-photonique voire simplement chimique.

Déplacements moléculaires photoinduits par le champ proche de structures plasmoniques

J. Plain ¹, L. Juan ¹, M. Haggui ¹, C. Hubert ¹, P. Royer ¹, S. K. Gray ², G. P. Wiederrecht ², R. Bachelot ¹

¹ Laboratoire de Nanotechnologie et d'Instrumentation Optique, ICD CNRS FRE 2848, Université de Technologie de Troyes

² Center for Nanoscale Materials, Argonne National Laboratory, USA

Depuis une dizaine d'années, les propriétés physiques (optiques, thermiques...) des nano particules métalliques suscitent un intérêt croissant aussi bien dans les communautés de physiciens que celles de chimistes et biologistes. Ces propriétés sont variées, riches et complexes. Elles sont principalement régies par les oscillations collectives des électrons de conduction appelées " plasmons ". En particulier, la physique des plasmons-polaritons associés à des champs évanescents optiques permet d'envisager une optique nanométrique basée sur les nano-métaux [1]. L'imagerie des champs optiques des structures plasmoniques reste un challenge que certaines microscopies émergentes abordent depuis peu avec succès. Parmi elles, citons la microscopie optique en champ proche [2], la microscopie à émission de photoélectrons [3] et la spectroscopie électronique à perte d'énergie [4]. Dans ce papier, nous présentons une approche photochimique d'imagerie plasmonique basée sur la caractérisation de déplacements moléculaires photo induits à l'échelle nanométrique. Cette approche se repose sur l'utilisation d'un polymère photosensible contenant des molécules d'azobenzène dites de Disperse Red 1 (DR1, car elles absorbent la lumière verte) greffées à une matrice de PMMA. Ce composant copolymère est communément appelé PMMA-DR1. Sous l'action de la lumière, les molécules d'azobenzène subissent une isomérisation réversible. Les cycles d'isomérisation provoquent un déplacement moléculaire induisant des mouvements de matière dont l'amplitude et la nature dépendent de la distribution en intensité et polarisation de la lumière excitatrice. Ces mouvements de matière conduisent à des déformations de la surface du photopolymère qui peuvent être caractérisées par microscopie à force atomique (AFM). Notre méthode d'imagerie consiste à déposer une couche de PMMA-DR1 sur une structure plasmonique et à caractériser par AFM, après un éclairage laser du système, la topographie de surface photoinduite. Les images obtenues peuvent être considérées comme une empreinte du champ optique local diffracté en champ proche par la structure plasmonique. Nous présentons trois exemples d'études illustrant les potentialités de cette approche : - étude des modes plasmons dipolaires de particules sphériques et de bâtonnets d'argent ou or [5] - étude de triangles d'argent et d'antenne optiques de type "bow tie" (cf. Figure 1) [6] - étude de points chauds électromagnétiques à la surface de nanobâtonnets d'argent. Dans tous les cas, les images obtenues donnent des informations non seulement sur la distribution locale d'intensité au voisinage des structures métalliques mais aussi sur la direction de polarisation du champ proche impliqué. En effet, les molécules d'azobenzène sont fortement polaires et très sensibles à la direction du champ électrique de la lumière qu'elles absorbent. Enfin, nous présentons un modèle stochastique permettant de prévoir les déplacements de matière photoinduits du PMMA-DR1 à l'échelle moléculaire [7].

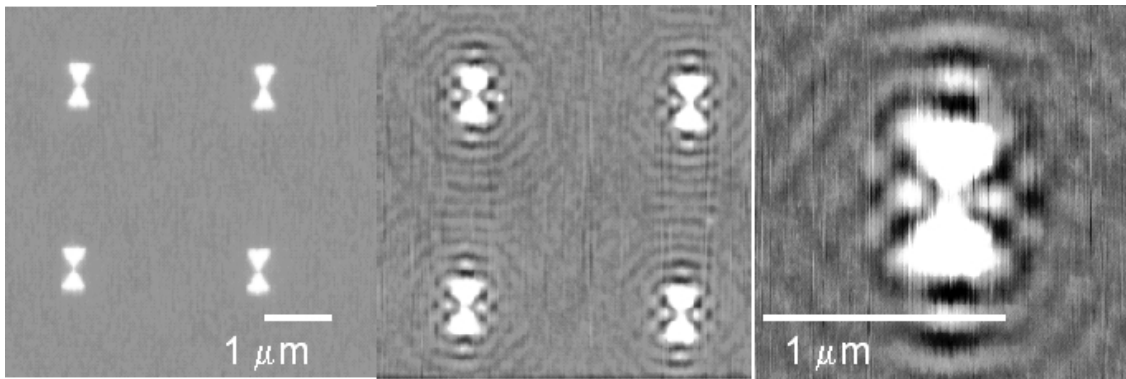
[1] A. V. Zayats and I. Smolyaninov, *J. Opt. A : Pure Appl. Opt.* 5, S16 (2003)

[2] A. Bouhelier, M. R. Beversluis, and L. Novotny, *Ultramicroscopy* 100, 413 (2004)

[3] L. Douillard et al., *Nanoletters* 8 935 (2008)

[4] J. Nelayah et al., *Nature Physics* 3 453 (2007)

- [5] C. Hubert et al., Nanoletters, 5 615 (2005)
[6] C. Hubert et al., J. Phys. Chem. C. 112, 4111 (2008)
[7] M. Juan et al., Appl. Phys. Lett. 93, 153304 (2008)



Imagerie photochimique de nanotriangles d'argent. Images AFM avant exposition laser (gauche), apres exposition laser (centre). Droite : zoom de l'image centrale.

La microscopie Multiphoton par Génération de Seconde Harmonique pour l'observation des solutions cristal-liquide de collagène I

P. De Sa Peixoto¹, A. Deniset-Besseau², A. Anglo¹, C. Illoul¹, M.-C. Schanne-Klein², G. Mosser¹

¹ Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique - CNRS - INSERM, 91128 Palaiseau, France

² Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée, CNRS - Université Paris 6, 75252 Paris, France

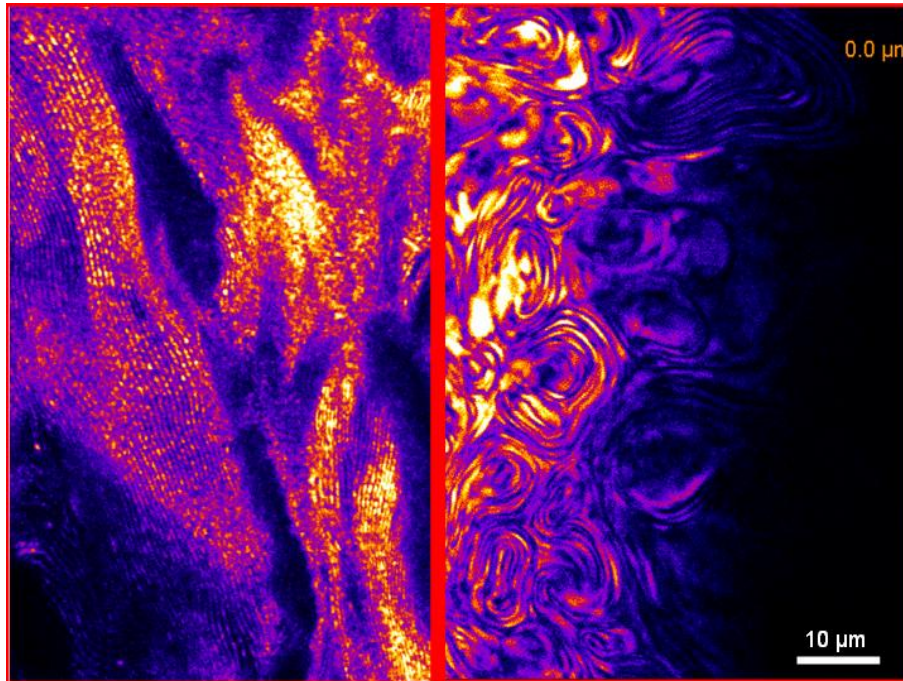
Le collagène I est un biopolymère composé de trois chaînes polypeptidiques d'environ 1000 amino-acides chacune, s'entourant en une super - hélice gauche de 300 nm de long. C'est une protéine fibrillaire majeure, trouvée au sein de la matrice extra-cellulaire qu'elle structure et organise. La matrice extra-cellulaire est organisée de manière différente et spécifique dans chacun des tissus et nous avons ainsi une organisation ondulée dans le tendon, hélicoïdale dans l'os, aléatoire dans le derme etc... Ces organisations permettent d'assurer les propriétés physiques nécessaires à chacun des tissus et elles sont donc modulées en fonction de la localisation du tissu dans le corps [1]. Il a été montré que le collagène I possédait des propriétés cristal-liquide qui pouvaient être avantageusement utilisées pour reproduire in vitro des matrices de collagène présentant des organisations similaires à celles trouvées dans les tissus vivants et principalement celle trouvée au niveau de l'os compact [2, 3] La microscopie optique à lumière polarisée est classiquement utilisée pour étudier les phases cristal-liquide, et notamment celles du collagène. Dans le cadre de ce travail, nous avons exploré les avantages de la Microscopie Multiphoton par Génération de Seconde Harmonique [4] dans le suivi de la mise en place des phases cristal-liquide en fonction d'une concentration progressive d'une solution diluée de collagène I. Les résultats montrent une qualité remarquable des images de second harmonique liée à la spécificité de ce signal pour les structures denses et alignées [5] et à sa résolution axiale intrinsèque. Celle-ci permet non seulement d'avoir une image des textures dans un plan, mais aussi de suivre leur organisation tridimensionnelle dans la profondeur de l'échantillon. De plus, nous avons imagé simultanément le signal de fluorescence multiphoton du collagène et nous l'avons calibré afin de pouvoir corréler les textures observées à une concentration en collagène. L'ensemble des résultats obtenus sur la problématique des phases cristal liquide du collagène démontre la puissance de la Microscopie Multiphoton par Génération de Seconde Harmonique pour l'étude de ces systèmes.

[1] Giraud-Guille, M.-M., Mosser G., and Belamie Current Opinion in Colloid and Interface Science, 303-313, 13, (2008)

[2] Giraud-Guille, M.-M, Molecular Crystals and liquid Crystals, 15-30, 153, (1987).

[3] Mosser, G. Anglo, A., Helary, C., Bouligand, Y., Giraud-Guille, M.-M., Matrix Biol., 3-13 25, (2006).

[4] Zipfel, W. R., Williams, R. M., Christie, R., Nikitin, A. Y., Hyman B. T. and Webb, W. W. , Proc. Natl. Acad. Sci. USA 7075-7080, 100, (2003).



Cholesteric phase of high concentrated collagen acidic solution (pH=2.5 HCl) imaged by SHG-MPM ($\lambda_{exc}=860$ nm, objective : 60x, 1.2 NA)

Cathodoluminescence performed at the nanoscale with a STEM

L. F. Zagonel¹, S. Mazzucco¹, R. Bernard¹, M. Kociak¹, O. Stéphan¹, M. Tencé¹, C. Colliex¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, CNRS, Université Paris Sud 11, 91405 Orsay, France

The mapping of electronic transitions in the optical range of single nanoparticles has been achieved recently by Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) performed in the Low Loss regime on Transmission Electrons Microscopes.[1,2] Such studies have put in evidence the importance of the particle's shape and the variations of the optical response within one metallic nanoparticle. However, this approach has some important drawbacks, notably the poor energy resolution and the difficult access to transitions at very low energies even if monochromatic electrons are used.

Such difficulties can be overcome exploring Electron Induced Radiation Emission; that is performing cathodoluminescence in a Scanning Transmission Electron Microscope (STEM) capable of nanoscale resolution. This signal provides very high energy resolution and gives access to a broad energies range including ultra-violet, visible and near IR.[3] Moreover, the comparison between cathodoluminescence spectral images (SI) and EELS SI allow the unambiguous distinction between radiative and non-radiative plasmon modes.

In this contribution we discuss some instrumental aspects of a cathodoluminescence system developed for a STEM VG-HB501. Some results recently obtained will be shown and discussed.

[1] J. Nelayah, M. Kociak, O. Stéphan, F. J. G. de Abajo, M. Tence, L. Henrard, D. Taverna, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzan and C. Colliex, *Nature Physics* 3 (2007) 348.

[2] M.-W. Chu, V. Myroshnychenko, C. H. Chen, J.-P. Deng, C.-Y. Mou, and F. J. García de Abajo, *Nano Lett.* 9 (2009) 399.

[3] R. Gómez-Medina, N. Yamamoto, M. Nakano, F. J. García de Abajo, *New Journal of Physics* 10 (2008) 105009.

Second harmonic microscopy of axonemes

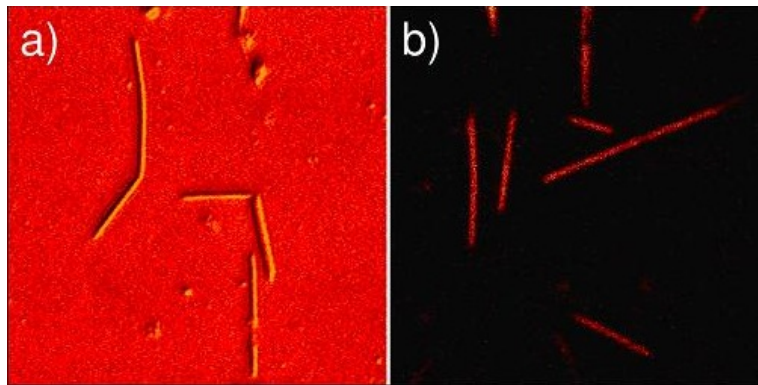
C. Odin ¹, C. Heichette ², D. Chrétien ², Y. Le Grand ¹

¹ Institut de Physique de Rennes, UMR-UR1 CNRS 6251, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France

² Institut Fédératif de Recherche 140, Génétique Fonctionnelle et Santé, UMR CNRS 6026, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France

We performed second harmonic microscopy (SHM) of axonemes obtained from sea urchin sperm. Using orientation-field SHM and a trade-off between signal and photodamage, we were able to determine, for the first time to our knowledge, the nonlinear susceptibility $\chi_{zxx}/\chi_{xzx} = 1.1 \pm 0.2$ and $\chi_{zzz}/\chi_{xzx} = 4 \pm 0.5$ of axonemes [1].

[1] Second harmonic microscopy of axonemes, submitted.



DIC (a) and second harmonic (b) microscopy images of axonemes (23.5 × 23.5 μm^2)

Cartographie des modes plasmon de surface sur des nanoparticules métalliques par la spectroscopie de pertes d'énergie des électrons

J. Nelayah¹, L. Gu¹, W. Sigle¹, C. Koch¹, M. Kociak², O. Stéphan², C. Colliex², P.A. van Aken¹

¹ Max Planck Institute for Metals Research, Stuttgart Center for Electron microscopy, Heisenbergstr. 3, D-70569 Stuttgart, Allemagne

² Laboratoire de Physique des Solides (UMR CNRS 8502), Bâtiment 510, Université Paris-Sud, 91405, Orsay, France

Aux échelles sous-longueur d'onde, les propriétés optiques des particules métalliques sont dictées par l'excitation de résonances plasmon de surface. Les caractéristiques telles que leur fréquence, temps de vie,... de ces excitations collectives des électrons de valence/conduction liées aux interfaces, sont fortement dépendantes, entre autres, de la forme, la composition ou l'environnement local du nano-objet considéré [1]. La détermination des propriétés optiques des nanoparticules aux échelles sous-longueur d'onde via la détection des SPRs nécessite l'utilisation de technique locale d'analyse. La spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS) dans le contexte d'un microscope électronique en transmission s'est dernièrement imposés dans la cartographie à l'échelle nanométrique des modes plasmons dans le visible. Les cartes SPRs peuvent être acquises suivant deux modes :

1. Le mode spectre-image. Dans ce mode, l'information spectrale concernant les SPRs est enregistrée de manière séquentielle dans l'espace, c.à.d. le faisceau d'électrons focalisé est balayé sur une région 1D ou 2D de l'échantillon et en chaque point du balayage, un spectre complet sur la gamme d'énergie étudiée est enregistré [2,3].

2. L'imagerie filtre. Ce mode opératoire permet une acquisition complète de l'information spatiale associée aux SPRs pour chaque perte d'énergie. Dans ce cas, information spatiale et spectral sont acquises respectivement en parallèle et séquentiellement [4,5].

Dans cette contribution, nous illustrerons la complémentarité de ces deux techniques pour l'étude des SPRs sur des nanoparticules métalliques individuelles et couplées.

[1] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, and G. C. Schatz, *J. Phys. Chem. B* 668, 107 (2003).

[2] M. Bosman, V. J. Keast, M. Watanabe, A. I. Maarof, and M. B. Cortie, *Nanotechnology*, 165505, 18 (2007)

[3] J. Nelayah, M. Kociak, O. Stéphan, F. J. García de Abajo, M. Tencé, L. Henrard, D. Taverna, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzán, and C. Colliex, *Nat. Phys.* 348, 3 (2007)

[4] B. Schaffer, U. Hohenester, A. Trügler, F. Hofer, *Physcial Review B*, 79/4, (2009)

[5] J. Nelayah, L. Gu, W. Sigle, C.T. Koch, L. Pastoriza-Santos, L.M Liz-Marzan, and P.A. van Aken, *Optics Letters* 1003, 34 (2009)

Photocontrol of protein activity in a single cell of a live organism

D.K. Sinha ¹, P. Neveu ^{1,2,10}, N. Gagey ², I. Aujard ², C. Benbrahim-Bouzidi ², T. Le Saux ², C. Rampon ³, C. Gauron ³, B. Goetz ⁴, S. Dubruille ⁵, C. Leucht ⁶, L. Goetz ⁶, M. Volovitch ⁷, D. Bensimon ^{8,9}, L. Jullien ²

¹ Ecole Normale Supérieure, Laboratoire de Physique Statistique, UMR 8550 CNRS, 24, rue Lhomond, 75231 Paris Cedex 05, France

² Ecole Normale Supérieure, Département de Chimie, UMR 8640 CNRS ENS UPMC-Paris 6 PASTEUR, 24, rue Lhomond, 75231 Paris Cedex 05, France

³ Université Paris Diderot - Paris 7, U770 INSERM, 80, rue du Général Leclerc, Bat G. Pincus, 94276 Le Kremlin-Bicêtre Cedex, France

⁴ Ecole Normale Supérieure, Département de Chimie, UMR 8642 CNRS ENS UPMC-Paris 6 BIOSYMA, 24, rue Lhomond, 75231 Paris Cedex 05, France

⁵ Institut Curie, UMR 176 Institut Curie-CNRS, 26, rue d'Ulm, 75005 Paris, France

⁶ Helmholtz Zentrum Muenchen, German Research Center for Environmental Health, Department Zebrafish Neurogenetics, Institute of Developmental Genetics, Ingolstaedter Landstrasse 1, D-85764 Neuherberg Germany

⁷ Ecole Normale Supérieure, Département de Biologie, UMR 8542, 46, rue d'Ulm, F-75231 Paris Cedex 5, France

⁸ Ecole Normale Supérieure, Département de Biologie, 46, rue d'Ulm, F-75231 Paris Cedex 5, France

⁹ Department of Chemistry and Biochemistry, UCLA, Los Angeles, USA

¹⁰ Kavli Institute for Theoretical Physics, University of California at Santa Barbara, Santa Barbara CA 93106, USA

Cells respond to external signals by modifying their internal state and their environment. In multicellular organisms in particular, cellular differentiation and intra-cellular signaling are essential for the coordinated development of the organism. While some of the major players of these complex interaction networks have been identified, much less is known of the quantitative rules that govern their interaction with one another and with other cellular components (affinities, rate constants, strength of non linearities such as feedback or feedforward loops, etc.). To investigate these interactions (a prerequisite before understanding or modeling them), one needs to develop means to control or interfere spatially and temporally with these processes.

In the preceding context, we have retained the principle of a small lipophilic molecule to photo-activate several properly engineered proteins *in vivo*. We have adopted a steroid-related inducer as various proteins (e.g. Engrailed, Otx2, Gal4, p53, kinases such as Raf-1, Cre and Flp recombinases) fused to a steroid receptor were shown to be activated by binding of an appropriate ligand [1]. In its absence, the receptor forms a cytoplasmic assembly with a chaperone complex : the fusion-protein is inactivated. Its function is restored in the presence of the steroid ligand which binds to the receptor and disrupts the complex, see Fig.1.

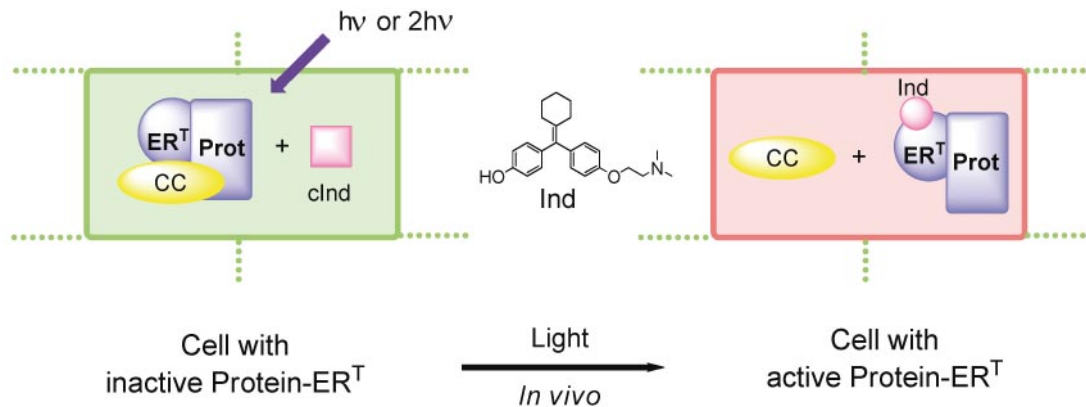
The present non-invasive optical method has been implemented for the fast control of protein activity in a single cell of a live zebrafish embryo [2]. In particular, we labeled single cells transiently (by activating a fluorescent protein) or irreversibly (by activating a Cre recombinase in an appropriate transgenic animal). The present method could be used more generally to investigate important physiological processes (for example in embryogenesis, organ regeneration and carcinogenesis) with high spatio-temporal resolution (single cell and faster than minute

scales).

Acknowledgements : This work has been supported by the Association pour la Recherche sur le Cancer (ARC, contract n°3787), the ANR (PCV 2008, Proteophane), the NABI CNRS-Weizmann Institute program (for a fellowship to D.K.S.), and the Ministère de la Recherche (for fellowships to N.G. and P.N.). P.N. is supported in part by the National Science Foundation under Grant No. PHY05-51164. D.B. acknowledges partial support of a PUF ENS-UCLA grant. Work in L.B-C. laboratory is supported by the Volkswagen Association, the EU 6th Framework programme (ZF-Models IP, contract n°LSHC-CT-2003-503466) and the Center for Protein Science-Munich. The authors thank P. Leclerc and B. Matthieu for their kind help with confocal imaging, A. Joliot, K. Kawakami, D. Metzger and F. Tronche for providing the HEK derivative with a loxP-rfp-nls-loxP-gfp-mb stable insertion, the unpublished pT2KXIG in construct, the plasmids coding the *Cre - ER^T*, and the CV1-5B Cre reporter cell line respectively. They are also thankful to Dr. V. Jullien and Prof. G. Pons at Service de Pharmacologie Clinique, Saint Vincent de Paul Hospital Paris, for access to their HPLC-MS instrument.

[1] D. Picard, *Curr. Op. Biotech.*, 511-515, 5 (1994)

[2] D.K. Sinha et al., submitted



A protein fused to the ER^T receptor is inactivated by the assembly formed with a chaperone complex. Upon photoactivation of a caged precursor (cInd), a non-endogeneous inducer (Ind, 4-hydroxy-cyclofen) is released, binds to the ER^T receptor and sets the protein fusion free from its assembly with the chaperone complex.

A microscopic view of macroscopic changes : how do subcellular forces shape embryos ?

P.-F. Lenne¹

¹ Institut de Biologie du Développement de Marseille-Luminy, UMR 6216 CNRS/Université de la Méditerranée, Campus de Luminy case 907 , 13288 Marseille cedex 9, France

Recent developments in microscopy have provided new tools to analyse quantitatively cell dynamics and tissue morphogenesis. I will present our contribution to this field by addressing the following question : how do subcellular forces drive cell shape changes and orient tissue morphogenesis? Using quantitative imaging, laser nano-dissection and physical modelling, we probed the mechanics of a morphogenetic process, the elongation of *Drosophila melanogaster* embryos, which results from polarized cell neighbour exchanges. I will discuss our current understanding of this process by connecting different levels of description and analysis.

[1] Rauzi M., Verant P., Lecuit T. and Lenne P.-F. *Nature Cell. Biol.* , 1401-1410, 10 (2008)

[2] Lecuit T. and Lenne P.-F. *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.* 633-644, 8 (2007)

Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM) of molecular rotors to map microviscosity in cells

K. Suhling¹, J. Levitt^{1,2,10}, P.-H. Chung², M. Kuimova², G. Yahioglu²

¹ Department of Physics, King's College London, Strand, London WC2R 2LS, UK

² Chemistry Department, Imperial College London, Exhibition Road, London SW7 2AZ, UK

³ PhotoBiotics Ltd, 21 Wilson Street, London EC2M 2TD, UK

Fluorescence lifetime imaging (FLIM) can report on photophysical events that are difficult or impossible to observe by fluorescence intensity imaging[1]. We report on FLIM of modified BODIPY dyes that act as molecular rotors, and show that the fluorescence lifetime of these probes is a function of the microviscosity of their environment[2,3]. Incubating cells with these hydrophobic dyes, we find a punctate and continuous distribution of the dye in cells. Imaging the fluorescence lifetimes of the BODIPYs and converting them into a microviscosity yields a considerably higher viscosity than that of water and of cellular cytoplasm[2,3]. In summary, we have developed a practical and versatile approach to measuring the microviscosity of the environment of molecular rotors in living cells.

[1] F. Festy, S.M. Ameer-Beg, T. Ng and K. Suhling. Imaging proteins in vivo using fluorescence lifetime microscopy. *Molecular BioSystems* 3(6), 381-391, 2007.

[2] M.K. Kuimova, G. Yahioglu, J.A. Levitt and K. Suhling. Molecular Rotor Measures Viscosity of Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging *J. Am. Chem. Soc.*, 130(21), 6672–6673, 2008

[3] J.A. Levitt, M.K. Kuimova, G. Yahioglu, P.-H. Chung, K. Suhling, and D. Phillips. Membrane-bound molecular rotors measure viscosity in live cells via fluorescence lifetime imaging. *J Phys Chem C* in press DOI : 10.1021/jp9013493

Increase of ploidy level in tomato fruit : what is the chromosomal mechanism ?

M. Bourdon ¹, O. Coriton ², C. Cheniclet ^{1,3}, S. Brown ⁴, M. Peypelut ³, C. Chevalier ¹, J.P. Renaudin ¹, N. Frangne ¹

¹ UMR 619 Biologie du Fruit, INRA, Université de Bordeaux, France

² UMR 118 Amélioration des Plantes et Biotechnologies Végétales, Plateforme Cytogénétique Moléculaire Végétale, INRA, Université de Rennes, France

³ Plateau Technique Imagerie Cytologie IFR 103, Bordeaux, France

⁴ Institut des Sciences du Végétal, UPR 2355 CNRS, Gif-sur-Yvette, France

In the course of plant development, an increase of ploidy level is often observed in differentiating cells of vegetative and/or reproductive organs of many Angiosperm species. This process, commonly referred to as endopolyploidization, is an event of nuclear DNA duplication which is not followed by mitosis and cell division. Although this phenomenon has been observed in many tissues of major plant models such as Arabidopsis, maize and tomato, with identification of several genetic determinants, little is known about the role of this process. Several hypotheses have been proposed : endopolyploidy could promote cell expansion, increase transcription level and/or metabolite synthesis, or contribute to protect DNA against damages. However none of these hypotheses has been really validated so far [1].

At the chromosome level, endopolyploidization can be performed mainly by two mechanisms : (i) the duplicated chromatids remain attached to the same centromere, in this case the chromosomes become polytenic and their number does not increase : this process is usually called endoreduplication, or (ii) the duplicated chromosomes separate from each other and move independently in the whole nuclear volume (their number is doubled) : this process is called endomitosis [1,2].

In tomato (*Solanum lycopersicum*), a diploid species, we have shown that most pericarp cells undergo polyploidization in the course of fruit development. By the end of fruit growth the ploidy levels reached in pericarp cells range from 2C to 256C (corresponding to 7 endocycle rounds) and the cell sizes are also dramatically different. Additionally, there is a positive correlation between mean ploidy level and mean cell size during pericarp development [3].

To investigate the mechanism of endopolyploidization in tomato, we used the BAC-FISH technique on nuclei isolated from pericarp, with a probe which had previously been proved to produce a specific FISH signal in one pair on metaphase chromosomes (Coriton O., unpublished data). Our results show that the hybridization spots are always distributed in two clusters and not evenly distributed in the whole nuclear volume. This clustering strongly suggests that the chromatids remain attached to the same centromere and therefore that tomato fruit chromosomes are polytenic. This mode of endopolyploidization seems to be the most frequent in plants.

The same experiments were carried out on pericarp nuclei sorted according to their ploidy level by flow cytometry and confirmed these results. Additionally the number of hybridization spots in each cluster was determined and the average number proved to correspond to the ploidy level of the sorted nucleus population.

This FISH technique will therefore be applied to pericarp tissue in order to determine the ploidy level of individual nuclei in situ. Our aim is to map the progression of nuclear ploidy level during all stages of fruit development, using tomato varieties and mutants very different

in this respect, thus opening the way to further studies on the role of endoreduplication in fruit development.

[1] Edgar and Orr-Weaver, *Cell*, 297-306, 105 (2001)

[2] D'Amato, in *Embryology of Angiosperms* (Johri, B.M. eds.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 519-66 (1984)

[3] Cheniclet et al., *Plant Physiol.*, 1984-1994, 139 (2005)

Finding the Needle in the Haystack

H. Schwarz¹, M. A. Karreman², A. V. Agronskaia³, H. C. Gerritsen³, A. J. Verkleij²,
B. M. Humbel²

¹ Max-Planck-Institute for developmental Biology, Spemannstrasse 35, D-72076 Tübingen, Germany.

² Electron Microscopy and Structure Analysis, Cellular Architecture and Dynamics, Utrecht University, Padualaan 8, NL-3584 CH Utrecht, The Netherlands.

³ Molecular Biophysics, Utrecht University, Princetonplein 1, NL-3584 CC Utrecht, The Netherlands.

There are different approaches for correlative light microscopy. The most intimate is observing the living cells in the light microscope and on the moment supreme fix the action either chemically or by cryo-fixation. After working-up to electron microscopy compatibility, the cell of interest is sectioned and analysed at high resolution in the electron microscope. Here, I will discuss a different approach, using correlative electron microscopy to find a single cell in a large piece of tissue : Finding the Needle in the Haystack. The samples are directly prepared according to an established protocol for electron microscopy, e.g., cryo-fixation, freeze-substitution and low-temperature embedding. Then a semi-thin section, ca. 500 nm, followed by ultra-thin sections, 70-100 nm, is cut. The sequence of sections, semi-thin, one ultra-thin are mounted on glass coverslips and an ultra-thin on an electron microscopy grid. The semi-thin section is stained with a histological stain, e.g., Toluidin blue. This section serves for the overall orientation in the tissue. The ultra-thin section on the coverslip is labelled for the antigen of interest, using a fluorescence marker. Here, in a fluorescence light microscope the labelled cells can be cartographed in relation to the image of the stained section, positioning it in the context of the tissue. The large field of view of the light microscope, the large variety of excellent fluorescence marker, the unmatched Z-resolution of a thin section combined with high numeric aperture objectives result in fast finding of the cell and high quality fluorescence images. The section on the grid is labelled with the same antibody and with a gold marker. With the help of the map retrieved from light microscopy, the area of interest is easily found in the electron microscope. Zooming in will reveal the distribution of the label and give high resolution information of the location of the protein of interest in relation to cellular organelles. There are two further developments to fasten the cartographing and the retrieval of the positions of the labelled structures in the electron microscope. One is a light microscope with an integrated cryo-stage, connected to an imaging tool that also runs on the electron microscope. This approach will be discussed by Anna Sartori in the session. Our approach is to integrate the light microscope into the electron microscope. Sections, resin or Tokuyasu cryo-sections, are mounted on an electron microscopy grid and labelled fluorescently for the antigen of interest, e.g., a marker for a certain disease. In the light microscope mode the labelled cells are searched and mapped. Then in the electron microscope they are analysed a high resolution. Using this approach we were able to identify a new structure in the cell nucleus of UV damaged cells.

Further reading

[1] Agronskaia AV, Valentijn JA, van Driel LF, Schneijdenberg CTWM, Humbel BM, van Bergen en Henegouwen PMP, Verkleij AJ, Koster AJ, Gerritsen HC. 2008. Integrated fluorescence and transmission electron microscopy. *J Struct Biol* 164 :183-189.

[2] Biel SS, Kawaschinski K, Wittern K-P, Hintze U, Wepf R. 2003. From tissue to cellular

ultrastructure : closing the gap between micro- and nanostructural imaging. *J Microsc* 212 :91-99.

[3] Grabenbauer M, Geerts WJC, Fernandez-Rodriguez J, Hoenger A, Koster AJ, Nilsson T. 2005. Correlative microscopy and electron tomography of GFP through photooxidation. *Nat Methods* 2 :857-862.

[4] Gruska M, Medalia O, Baumeister W, Leis A. 2008. Electron tomography of vitreous sections from cultured mammalian cells. *J Struct Biol* 161 :384-392.

[5] Karreman MA, Agronskaia AV, Verkleij AJ, Cremers FFM, Gerritsen HC, Humbel BM. 2009. Discovery of a new RNA containing nuclear structure in UVC-induced apoptotic cells by integrated laser electron microscopy. *Biol Cell* 101 :287-299.

[6] Manninen A, Verkade P, Le Lay S, Torkko J, Kasper M, Füllekrug J, Simons K. 2005. Caveolin-1 is not essential for biosynthetic apical membrane transport. *Mol Cell Biol* 25 :10087-10096.

[7] Micheva KD, Smith SJ. 2007. Array tomography : a new tool for imaging the molecular architecture and ultrastructure of neural circuits. *Neuron* 55 :25-36.

[8] Sartori A, Gatz R, Beck F, Rigort A, Baumeister W, Plitzko JM. 2007. Correlative microscopy : Bridging the gap between fluorescence light microscopy and cryo-electron tomography. *J Struct Biol* 160 :135-145.

[9] Schwarz H, Humbel BM. 2007. Correlative light and electron microscopy using immunolabeled resin sections. In *Electron Microscopy : Methods and Protocols*, Kuo J. (ed). Humana Press Inc : Totowa, NJ ; 229-256.

[10] Schwarz H, Humbel BM. 2008. Correlative light and electron microscopy. In *Handbook of Cryo-Preparation Methods for Electron Microscopy*, Cavalier A, Spehner D, Humbel BM. (eds). CRC Press : Boca Raton ; 527-555.

[11] Verkade P. 2008. Moving EM : the Rapid Transfer System as a new tool for correlative light and electron microscopy and high throughput for high-pressure freezing. *J Microsc* 230 :317-328.

Imaging wheat grain tissue through a Fluorescence / AFM / TEM / STXM correlative microscopy approach

C. Gaillard¹, A. Berquand², C. Karunakaran³, H. Gnaegi⁴, B. Bouchet¹, E. Larquet⁵, A.P. Hitchcock⁶

¹ Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unité Biopolymères Interactions Assemblages (BIA), Nantes, France

² Life Science Applications Scientist Veeco Instruments GmbH, Mannheim, Germany

³ Canadian Light Source Inc., U. Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada S7N 0X4

⁴ Diatome Ltd, P.O. Box 1164, CH-2501 Biel, Switzerland

⁵ Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, Université Pierre et Marie Curie UMR7590 CNRS, F-75252, France

⁶ BIMR, McMaster University, Hamilton, ON, Canada L8S 4M1

Despite numerous studies made on the ultrastructure of cereal grains, the ability to perform finer characterisation at the cellular level by microscopy is always of key interest, given the unique nutritional properties of cereals, which are an important part of global food. In particular, the ultrastructure of wheat grain has a strong impact on cereal technology and its derived products. Product properties and qualities are dictated by the organization of biopolymer components at the nanometer scale [1]. Development of new methods of microscopy investigation may help to better understand the nanoscale architecture of wheat grain and its relationship to macroscopic properties.

Two approaches for preparing wheat tissue samples will be presented. The first approach consists of high pressure fixation followed by a cryo-substitution step to embed the sample in LR-white resin. Ultrathin slices were cut by ultramicrotomy from the same zones of the sample and placed either on carbon-coated copper grids for energy-filtering TEM and on glass slices for fluorescence/AFM correlative microscopy (see fig. 1). The new HarmoniX AFM mode [2] has been used to map the adhesion, force peak, and dissipation properties from ultrathin slices of wheat tissues. In parallel, AFM images of the corresponding resin-embedded wheat blocks that had been smoothed by ultramicrotomy, using a home-made device adapted for both the AFM and ultramicrotome, will be given for comparison purposes.

The second approach had as its main objective to preserve the chemical composition of the specimen while preserving the ultrastructure. For that, the wheat grain was directly processed to smooth the surface for AFM examination (see fig. 2A). Also, ultrathin slices were cut from the same zone of the native grain and then investigated by TEM and scanning transmission X-ray microscopy (STXM) [3,4]. The goal of the correlative study was to demonstrate that this sample preparation method allows both analytical electron microscopy and analytical X-ray microscopy on the same sample (see figs. 2B and 2C).

The ultrastructure of the outer part of the wheat grain (pericarp, aleurone layer and starchy endosperm) as imaged by the different microscopies will be compared, focusing on the advantages and drawbacks of each one.

Acknowledgement : X-ray microscopy performed at the spectromicroscopy facility of the Canadian Light Source (CLS), which is supported by NSERC, CIHR, NRC and the University of Saskatchewan.

[1] T. Evers and S. Millar, Cereal grain structure and development : some implications for quality, *Journal of Cereal Science* 261-284, 36 (2002)

[2] A. Berquand, C. Gaillard and B. Bouchet, Investigating the ultrastructure and mechanical properties of wheat grain tissues using optical microscopy and HarmoniX, Veeco Instruments Application Note (2008)

[3] H. Ade and A.P. Hitchcock, NEXAFS microscopy and resonant scattering : Composition and orientation probed in real and reciprocal space, *Polymer*, 643-675, 49 (2008)

[4] K.V. Kaznatcheev et al., Soft X-ray Spectromicroscopy Beamline at the CLS : commissioning results, *Nucl. Inst. Meth.*, 96-99, A582 (2007)

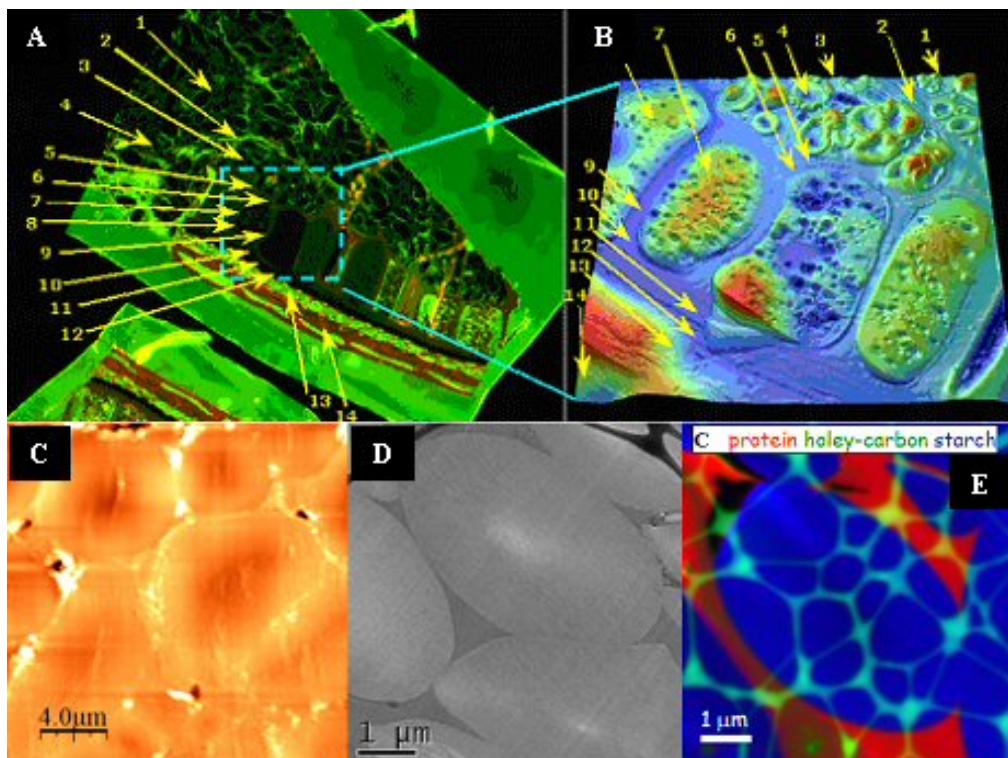


Figure 1. A-B : Correlation between epifluorescence (A) and AFM height (B) images from ultrathin slices of resin-embedded outer wheat tissue samples ; C-D : Correlative microscopy of native wheat grain : the starchy endosperm zone : (C) AFM height image ; (D) Bright field TEM, and (E) color composite of chemical maps of protein (red), holey carbon support (green) and starch (blue), derived from a STXM C 1s image sequence. 1 = Starchy endosperm ; 2 = Starchy endosperm wall ; 3 = Sub-aleurone layer ; 4 = Starch granule ; 5 = Sub-aleurone wall ; 6 = Aleurone cell wall ; 7 = Aleurone cell from the aleurone layer ; 8 = Aleurone protein body ; 9 = Aleurone cell wall between two aleurone cell ; 10 = Cellular junction ; 11 = Nucellus epidermis ; 12 = Tube cells ; 13 = Cross cells ; 14 = External pericarp. Optical image was acquired using a 10x dry objective. AFM image (110 x 110 x 5 -m) was generated by contact mode in air.

Dynamique cellulaire en microscopie photonique et ultrastructure en microscopie électronique : approche pratique de l'utilisation de la microscopie corrélative.

C. Spiegelhalter ^{2,3}, I. Kolotuev ^{1,3}, Y. Schwab ^{2,3}

¹ Département de Biologie Cellulaire et Développement

² Centre d'Imagerie

³ IGBMC, Illkirch

Les sondes fluorescentes utilisées dans des cellules ou organismes vivants sont des outils puissants lorsqu'il s'agit d'aborder la physiologie cellulaire. Avec les progrès récents de la microscopie photonique, des approches dynamiques à des résolutions de plus en plus grandes sont possibles. La microscopie électronique de son côté a nettement amélioré ses techniques de préparation et d'observation des échantillons. Avec notamment l'utilisation des cryométhodes telles que la congélation haute pression suivie de cryosubstitution, il est possible de figer et d'étudier les cellules dans un état proche de l'état natif. Depuis quelques années, d'importants efforts sont consacrés à la combinaison des deux techniques, dans le but de pouvoir corréler les informations fonctionnelles et dynamiques de la microscopie photonique avec la richesse d'informations anatomiques et la haute résolution de la microscopie électronique. C'est dans ce contexte que le Centre d'Imagerie de l'IGBMC développe de nouveaux outils pour faire de la microscopie corrélative une technique largement accessible pour l'étude dynamique et ultrastructurale de modèles cellulaires ou animaux. Parmi eux, un nouveau support de culture sera présenté. Incluant un système de coordonnées, il permet de repérer une cellule d'intérêt avec précision lors de l'acquisition confocale, juste avant la congélation haute pression. Conservées tout au long des étapes de préparation, les coordonnées sont toujours visibles lors des observations en microscopie électronique. Pour des échantillons de plus grande taille, comme des nématodes, nous avons développé des protocoles permettant d'acquérir en microscopie photonique des images 3D et 4D sur des animaux vivants, juste avant leur congélation haute pression. En améliorant les procédures de cryosubstitution, ces techniques permettent également d'établir une cartographie précise des échantillons inclus dans des résines epoxy ou acryliques. Des régions d'intérêt à l'échelle subcellulaire peuvent ainsi être sélectionnées rapidement par ultramicrotomie pour être analysées en MET.

Correlative Light/Electron Microscopy : a Tool for Investigating Infectious Diseases

A. Sartori¹, A. Mallet¹, S. Guadagnini¹, E. Veiga², M. Bonazzi³, S. Mostowy³, L. Dortet³, W. Baumeister⁴, P. Cossart³

¹ Imagopole, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75015 Paris, France

² Immunology Department, Hospital de la Princesa, Diego de Leon, 62, 28006, Madrid, Spain

³ Department of Cell Biology and Infection, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75015 Paris, France

⁴ Department of Molecular Structural Biology, Max Planck Institute of Biochemistry, am Klopferspitz 18, Martinsried, Germany

The tremendous advances in the microscopy world are bringing a fundamental contribution to unraveling the complex mechanism of host-pathogen interaction. Different imaging modalities, spacing from light to electron microscopy-based techniques, provide us with different type of information on cellular responses to the infectious agent (pathogenic infection) at different resolutions. At the light microscopy level, the dynamic interaction of a pathogen with its host can be captured with fluorescent-light microscopy (FLM) by highlighting with fluorescent markers the molecular players involved in the infectious process. The spatial resolution of FLM until recently limited by optical diffraction to $\sim 200nm$ can now reach a few tenth of nanometers thanks to the new super-resolution light microscopy based techniques (like photo-activated localization microscopy (PALM), stimulated emission depletion (STED) microscopy and structured illumination). However, only the tagged molecules of interest can be detected, while the information on their structural organization with respect to the other cellular components is missing. This complementary information can be retrieved by investigating the same with electron microscopy (EM).

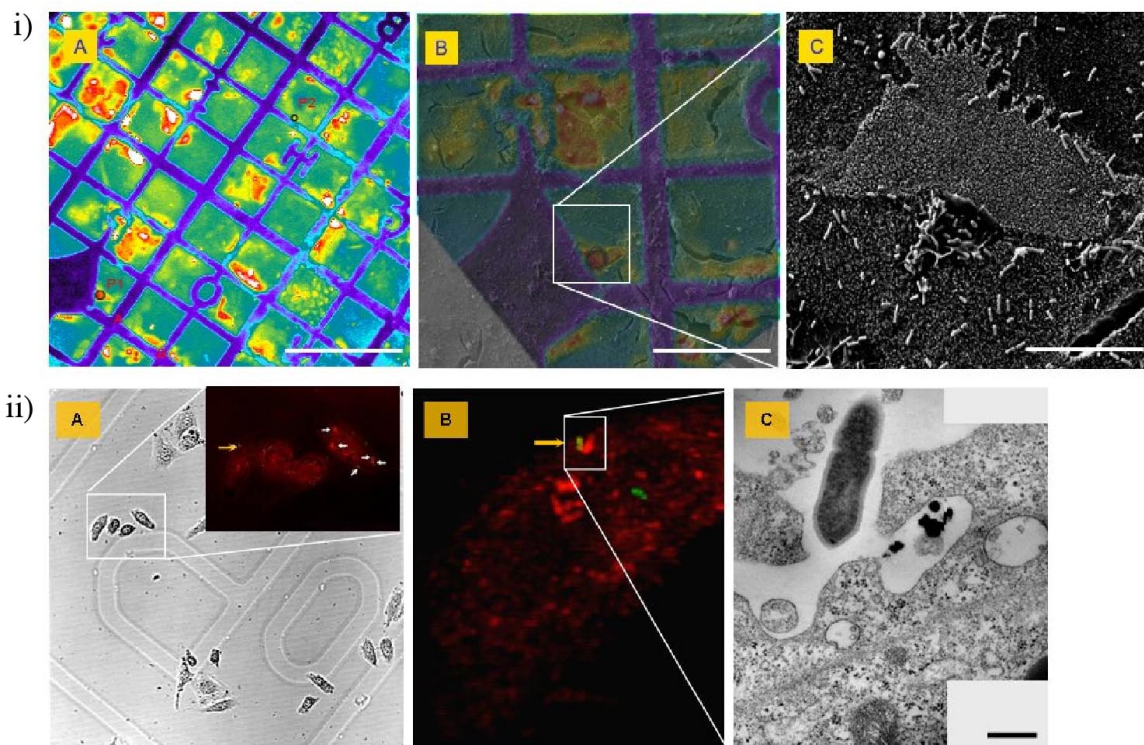
The combination of FLM with EM techniques (CLEM) is a powerful method for correlating a dynamic functional information from FLM with a static high resolution structural information from EM. For instance, specific time points or rare events of a dynamic process – like the entry of a pathogen into a host cell – can be captured in 3D by FLM and subsequently relocated and imaged in 2D or in 3D in the electron microscope. The relocation of the labeled structures of interest is a crucial step in a correlative microscopy approach. It involves the transfer of the sample and of the coordinates of the area of interest to the electron microscope. The possibility of growing or depositing the infected cells on supports provided with markers, like cell-locate glass slides or finder grids (see Fig.1 i), is a fundamental prerequisite for CLEM. The accuracy of the relocation depends on the type of molecular markers used, on the resolution at the FLM level and on the error on the coordinates transfer. The highest accuracy is reached with probes that are both fluorescent and electron dense - like antibodies coupled simultaneously to a fluorescent dye and to a gold particle (fluoronanogold) or to quantum dots.

We have successfully developed and implemented a CLEM approach for scanning (SEM) and for transmission electron microscopy (TEM). Our method can be applied both at room temperature (see Fig.1 i) and ii) on classically prepared samples and in cryo-conditions on samples that are rapidly frozen in their native state. In the cryo-CLEM approach, the same event is imaged with cryo-FLM followed by cryo-EM and cryo-electron tomography [1]. This approach ensures the highest structural preservation of the biological material but, unlike the

classic CLEM approach, is generally not compatible with immunocytochemistry.

We are applying both CLEM approaches to the investigation of the clathrin-mediated endocytosis of *Listeria Monocytogenes* and large beads into host cells. This new process was recently established by Veiga and Cossart [2] with a combination of biochemical methods and fluorescence microscopy observation. We aim at determining how clathrin is delivered and assembled around entering bacteria and large ligand-coated beads. Our room temperature approach combines 3D confocal microscopy both on transfected and on immunolabelled cells with 3D reconstructions from serial sections and tomography acquisitions. We are currently optimising our system for a cryo-CLEM approach, which is emerging as a promising tool for studying isolated pathogens or host-pathogen interactions, especially in combination with cryo-preservation and cryo-sectioning [3].

- [1] A. Sartori et al., J. Struct. Biol., 1192, 6 (2000)
- [2] E. Veiga et al., Nat. Cell Biol., 894, 7 (2005)
- [3] M. Cyrklaff et al., Imaging and Microscopy, 50, 9 (2007)



i) Polarised CaCo-2 cells invaded by Shigella identified by calcium responses (see cells P1 and P2 in A, scale bars : A 200µm, B 100µm, C 20µm).

ii) Clathrin (red) mediated entry of Listeria Monocytogenes (green) in HeLa cells grown on cell-locate coverslips. The same entry event is localised with fluorescence microscopy (inset in A and B) and then (C) relocated and imaged in the electron microscope (C, scale bar = 500nm).

Combined use of scanning electron microscopy (SEM) and correlative immunofluorescence - transmission electron microscopy (IF-TEM) to study HIV cell to cell transmission

D. Rudnicka ¹, J. Feldmann ¹, F. Porrot ¹, S. Wietgreffe ², S. Guadagnini ³, M.-C. Prévost ³, J. Estaquier ⁴, A. Haase ², N. Sol-Foulon ¹, O. Schwartz ¹

¹ Virus and Immunity Unit, Department of Virology, Institut Pasteur, Paris, France

² Department of Microbiology, University of Minnesota Medical School, Minneapolis, USA

³ PFMU - Imagopole, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ INSERM U841, Faculté de Médecine Henri Mondor, Créteil, France

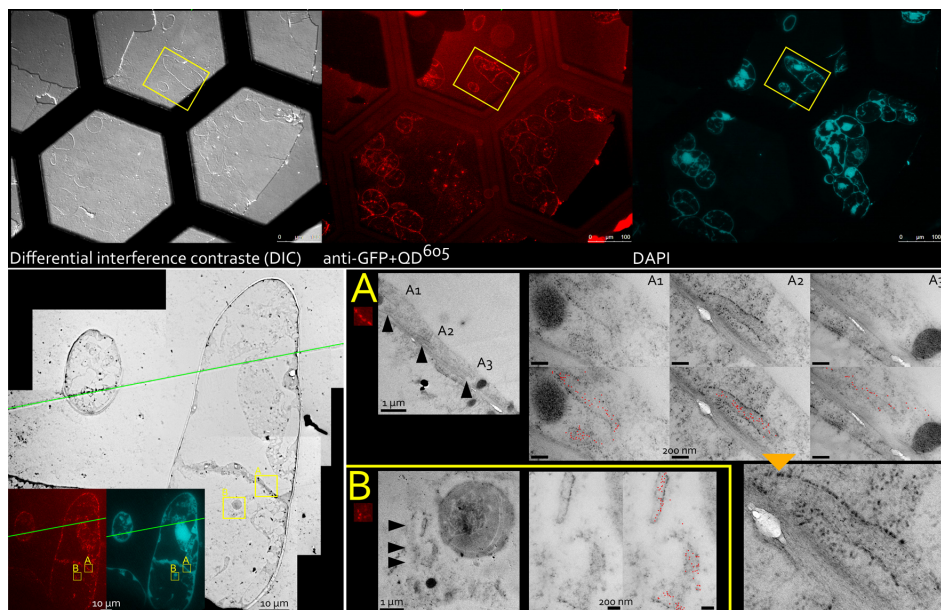
Human immunodeficiency virus (HIV-1) efficiently propagates through cell-to-cell contacts, which include virological synapses (VS), filopodia and nanotubes. Here, we quantified and characterized further these diverse modes of contact in lymphocytes. We report that viral transmission mainly occurs across VS and through “polysynapses”, a rosette-like structure formed between one infected cell and multiple adjacent recipients. Polysynapses are characterized by simultaneous HIV clustering and transfer at multiple membrane regions. HIV Gag proteins often adopt a ring-like supramolecular structure at sites of intercellular contacts and colocalize with Env, CD63 tetraspanin and raft components GM1, Thy-1 and CD59. The combined use of scanning electron microscopy (SEM) and correlative immunofluorescence - transmission electron microscopy (IF-TEM) indicates that the Gag and Env signals detected by IF in polysynapses correspond mostly to viral particles at various stages of budding, release, extracellular accumulation, and binding to targets. In HIV-infected individuals, these structures, by promoting concomitant infection of multiple targets in the vicinity of infected cells, may facilitate exponential viral growth as well as viral escape from immune responses. Viruses often hijack normal cellular processes, suggesting that polysynapses represent an underestimated mode of communication between immune cells.

Microscopie corrélative chez la plante : apport de la congélation sous haute pression et des sondes bi-fonctionnelles

N. Barois¹, B. Satiat-Jeunemaitre¹

¹ Laboratoire Dynamique de la Compartimentation Cellulaire, Institut des Sciences du Végétal (CNRS UPR 2355/IFR 87 La Plante et son Environnement), Bâtiment 23/24, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex

La microscopie corrélative combine plusieurs techniques de microscopie ayant différentes résolutions pour observer une même structure ou un même marquage dans une même cellule, dans une même population de cellules ou un même tissu. Nous développons des techniques de microscopie corrélative sur coupes ultrafines de spécimens inclus dans des résines acryliques utilisant la microscopie photonique à épifluorescence pour localiser une protéine dans une population cellulaire ou un tissu chez la plante puis la microscopie électronique à transmission pour relier ce marquage à l'ultrastructure cellulaire. La préparation du spécimen par congélation sous haute pression est comparée à celle par fixation chimique. Nous utilisons des sondes bi-fonctionnelles à la fois fluorescentes et denses aux électrons telles que les quantum dots ou les nanoparticules d'or fluorescentes suivi d'un accroissement de taille par déposition d'argent. Les apports mais aussi les contraintes et compromis amenés par l'utilisation de la congélation sous haute pression, de résines acryliques et des sondes bi-fonctionnelles seront discutés.



Cellules végétales BY2 exprimant la protéine HDEL-GFP localisée dans le réticulum endoplasmique. Image en haut : section sur une grille observée en microscopie photonique à épifluorescence (objectif $\times 20$), contraste à gauche, marquage anti-GFP révélé avec des quantum dots au milieu et marquage DAPI du noyau à droite. Image en bas à gauche : une même cellule observée en microscopie photonique à épifluorescence (objectif $\times 63$) puis en microscopie électronique à transmission (grandissement $\times 400$). Image en bas à droite : zones d'intérêt observées au niveau de l'ultrastructure cellulaire (grandissements de $\times 6000$ à $\times 15000$). Les quantum dots sont visibles au niveau du réticulum endoplasmique.

Glucosylceramide biosynthesis contributes to Golgi morphology and protein secretion in plant cells

S. Melser ¹, B. Batailler ², M. Peypelut ², C. Poujol ³, V. Wattelet-Boyer ¹, C. Cheniclet ², P. Moreau ^{1,2}

¹ Laboratoire de Biogenèse Membranaire, CNRS UMR5200, Bordeaux

² Plateau Technique Imagerie Cytologie IFR103, Bordeaux

³ Plateforme d'Imagerie PICIN, Institut des Neurosciences François Magendie, Université Bordeaux 2

Lipids are mostly considered as structural components of membranes or as signalling molecules but less as potential molecular actors in protein secretion. Compared to animal and yeast cells, little is known about the putative role of sphingolipids, and especially glucosylceramide (GlcCer), in plant physiology.

GlcCer is a sphingolipid enriched in the plasma membrane and particularly abundant in lipid microdomains, as it is known for sterols [1,2]. We have investigated the influence of GlcCer biosynthesis by GlcCer Synthase (GCS) on the efficiency of protein transport through the plant secretory pathway, and on the maintenance of normal Golgi structure. Confocal microscopy observations of the expression of GFP-tagged AtGCS in tobacco leaf epidermal cells determined that GlcCer is synthesized at the beginning of the secretory pathway (mainly ER). We determined that D,L-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-propanol (PDMP) is a specific inhibitor of GCS activity both *in vitro* and *in vivo*. In tobacco leaves, 50 μ M PDMP led up to 70% decrease in GlcCer amounts. *In vivo*, tobacco leaves infiltrated with PDMP showed that the decrease in GlcCer biosynthesis disturbed the transport of membrane and secretory proteins to the cell surface, as these proteins were partly retained intracellularly in the ER and/or Golgi. Electron microscopy observations of *A. thaliana* roots after high-pressure freezing and freeze-substitution evidenced strong morphologic changes in the Golgi bodies, pointing to a link between decreased protein secretion and perturbations of Golgi structure following inhibition of GlcCer synthesis in plant cells.

[1] Mongrand et al., J Biol Chem, 36277-36286, 279 (2004)

[2] Laloï et al., Plant Physiol., 461-472, 143 (2007)

Etude multi-échelles en microscopies de l'oeuf d'esturgeon au cours de sa transformation en caviar

I. Pignot-Paintrand¹, M. Augustin², A. Jones³, Y. Le Petitcorps⁴

¹ Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV-CNRS), affilié à l'Université Joseph Fourier et membre de l'Institut de Chimie Moléculaire de Grenoble, BP53, 38041 Grenoble cedex 9, France

² Laboratoire Départemental Analyse et Recherche, Conseil Général de la Dordogne, 161 Av. W. Churchill, 24660 Coulounieix-Chamiers Cedex, France

³ Sturgeon, 1 chemin du Poteau, 17240 St Génis de Saintonge, France

⁴ Université Bordeaux 1, 351, Cours de la libération 33405 Talence Cedex, France

Introduction

Lors de la fabrication du caviar, les œufs d'esturgeon subissent différentes actions chimiques influençant la pression osmotique (lavage, salage) et mécaniques (tamisage, pression) susceptibles d'endommager leur surface et de modifier leur tenue mécanique. Un dispositif de mesure de la résistance à la compression a été mis au point pour suivre les différentes phases de la préparation du caviar et en maîtriser la fabrication [1]. Nous avons réalisé une étude multi-échelles en microscopies pour caractériser les modifications structurales des œufs au cours de leur transformation en caviar.

Matériel et Méthodes

Les œufs d'esturgeon de type *Acipenser baerii* ont été fixés par du glutaraldéhyde à 2.5% en tampon cacodylate 0.1M pH7.2.

Pour la microscopie électronique en transmission, les œufs ont été post-fixés par du tétroxyde d'osmium à 1%, puis déshydratés par des concentrations croissantes d'alcool et inclus dans la résine époxy. Des coupes semi-fines et ultra-fines ont été réalisées. Les coupes semi-fines sont colorées à chaud par du bleu de toluidine, puis observées au microscope optique Zeiss Axioplan 2. Les coupes ultrafines sont recueillies sur des grilles de cuivre (HF14), puis contrastées à l'aide d'acétate d'uranyl à 5% dans l'eau et de citrate de plomb puis observées au microscope électronique en transmission Philips CM200 CryoMET.

Pour la microscopie électronique à balayage, les œufs ont été déshydratés par des concentrations croissantes d'alcool, puis immergés dans l'hexaméthylsilazane (HMDS) [2] et laissés sous hotte, jusqu'à évaporation complète. Les échantillons ont été métallisés par sputtering d'AuPd, puis observés au microscope électronique à balayage Jeol JSM6100.

Résultats

La figure 1 représente une coupe semi-fine sur laquelle on distingue les différentes couches de l'enveloppe de l'œuf [3], [4], [5]. La thèque externe est constituée de cellules, la couche gélatineuse est un réseau poreux en contact avec la zone radiaire. La microscopie électronique en transmission met en évidence que tout comme la couche gélatineuse, la zone radiaire est un réseau poreux.

C'est la couche gélatineuse qui se modifie le plus lors du processus de fabrication du caviar. La mesure de l'épaisseur des couches gélatineuse, radiaire externe et radiaire interne, met en évidence une compression de la couche gélatineuse après le lavage, puis une dilatation de cette même couche après salage. Par contre on observe une compression de la couche radiaire externe après salage. Après salage, les canaux de la couche gélatineuse ne sont plus visibles (fig. 2).

En conclusion, l'enveloppe de l'œuf d'esturgeon est conçue pour résister à la déformation.

Les cellules de la thèque assurent la protection de la couche gélatineuse, elles sont sensibles à la différence de pression osmotique et sont lysées dès le lavage. L'eau pénètre dans l'œuf en passant par les pores des différentes couches, l'œuf en gonflant comprime la couche gélatineuse et plaque la lame basale sur la couche gélatineuse. La lame basale alors tendue perd sa tenue mécanique.

[1] M. Augustin, L. Ley, H. EL Moueffak, A. Jones, J.-B. Bomy, Y. Le Petitcorps, *Matériaux et Techniques*, 47-52, 95 (2007)

[2] D.F. Bray, J. Bagu and P. Koegler, *Microscopy Research and Technique*, 489-495, 26 (1993)

[3] S.I. Doroshov, G.P. Moberg, J.P. Van Eenennaam, *Environmental Biol. Fishes*, 265-278, 48 (1997)

[4] J. Linares-Casenave, J.P. Van Eenennaam, S.I. Doroshov, *J. Appl. Ichthyol.*, 382-390, 18 (2002)

[5] M. Gussoni, F. Greco, A. Vezzoli, M.A. Paleari, V.M. Moretti, B. Lanza, L. Zetta, *Magnetic Resonance Imaging*, 117-128, 25 (2007)

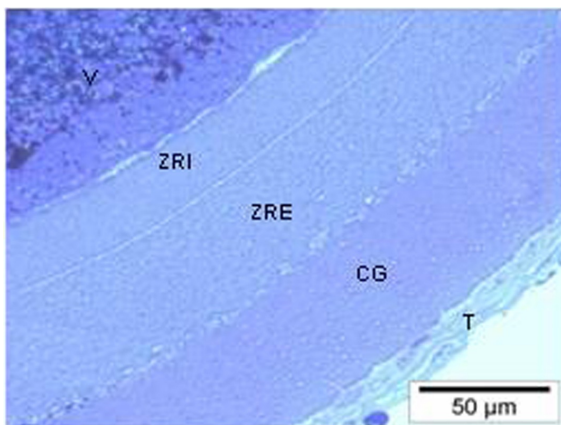


Figure 1 : Coupe semi-fine de l'enveloppe de l'œuf : T = thèque, CG = couche gélatineuse, ZRE = zone radiale externe, ZRI = zone radiale interne, V = vitellus

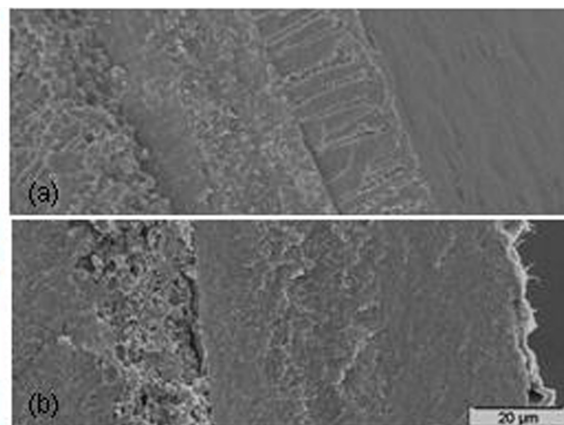


Figure 2 : Section d'un œuf avant (a) et après lavage et salage (b) observée en MEB. noter l'absence de canaux dans la couche gélatineuse

EM-Tomographic analysis of synaptic structures in *C. elegans*

C. Stigloher¹, D. Holmyard², M. Zhen², J.L. Bessereau¹

¹ Ecole Normale Supérieure, Paris, France

² Samuel Lunenfeld Research Institute, Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada

The functionality of a synapse is crucially linked to the spatial organization of its ultrastructural components. To perform electron microscopy on synapses in a close-to-native status, we froze living *Caenorhabditis elegans* nematodes under high pressure, which results in instant immobilization of the synaptic structures in amorphous ice. After processing, samples can be observed by classical imaging or used for immuno-EM analyses. We have previously shown that UNC-10/Rim is localized at the active zone, next to the dense projections which are the organizing centers of presynaptic specializations at *C. elegans* synapses. Genetic disruption of *unc-10* causes a redistribution of membrane-contacting vesicles out of the active zone[1]. Our spatial analysis of the effect of loss of UNC-10/Rim function has up to now been hampered by the low resolution of classical EM imaging in the z-axis. In order to produce a seamless 3D model of synaptic structures, we are adapting EM-tomography for use in the *C. elegans* model. EM-tomography yields high resolution ultrastructural images in three dimensions in samples with up to several hundred nm thickness. Specifically, we can visualize filamentous structures emanating from dense projections and contacting synaptic vesicles. With the resulting high resolution 3D maps of synaptic ultrastructure, we will be able to compare wild-type and mutant organization. In particular, this might provide a better insight into the function of UNC-10/Rim. Moreover, our approach can easily be applied to the study of other candidate synaptic proteins.

[1] R. Weimer et al., The Journal of Neuroscience, 8040-8047, 26 (2006)

Photonic and electron microscopy in therapeutic response assessment of breast cancers xenografts

M. Varna¹, G. Bousquet^{1,2}, E. Turpin^{3,4}, J. Lehmann-Che^{3,4}, M. El-Bouchtaoui^{1,2}, I. Ferreira^{1,6}, H. de Thé^{3,4}, A. Janin^{1,5}, P. Bertheau^{1,5}

¹ INSERM U728, Paris, F-75010, France

² AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Paris, F-75010, France

³ CNRS, UMR 7151, Université Paris 7 Denis Diderot, Paris, F-75010, France

⁴ AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Service de Biochimie B, Paris, F-75010, France

⁵ AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Service de Pathologie, Paris, F-75010, France

⁶ Université Paris 7, IUH, Paris, F-75010, France

The strongest long-term prognostic factor for breast cancer patients treated by first-line chemotherapy is therapeutic response. We have previously shown that complete responses to high doses epirubicin – cyclophosphamide were observed only in human tumors bearing a TP53 mutation. To further understand the mechanism of response to these treatments we used electron microscopy and photonic microscopy to analyse and quantified the different types of cell death (apoptosis, mitotic catastrophe, necrosis), cellular senescence and cell proliferation of tumour cells in xenograft mouse models with (TP53mut tumors) or without TP53 mutation (TP53wt tumor). The TP53wt tumour showed a strong early induction of senescence-like phenotype with overexpression of SA- β -gal at day 1 and p21CIP1 at day 3. Mitotic counts were not statistically different before and after treatment. The number of apoptotic cells increased after treatment in all tumors, with a statistically significant increase reaching 50% of cells for TP53wt at day 5 ($p=0.01$) and for TP53mut2 at day 7 ($p=0.01$). In contrast both TP53 mutated tumors showed no sign of cell cycle arrest or senescence. The number of abnormal mitoses on semi-thin sections significantly increased in TP53 mutated tumours, especially at day 5 for TP53mut1 ($p=0.02$) and at day 3 for TP53mut2 ($p=0.06$). Abnormal mitoses were not found in TP53wt before or after treatment. In this in vivo model, the combined electron microscopy and photonic microscopy studies allowed us to demonstrate that senescence was dominant in TP53 wild-type tumours, with transient cell cycle arrest and subsequent resistance to treatment. Conversely in TP53 mutated tumours, epirubicin-cyclophosphamide treatment induced abnormal mitoses that lead to mitotic catastrophe and tumour chemosensitivity.

Visualization of *Leishmania donovani* entry into host cell : a multi microscopical approche.

C. Loussert¹, C. Machu¹, M. Guesnan², C.L. Forestier²

¹ IMAGOPOLE, Institut Pasteur 25 rue du Dr Roux, 75015 Paris

² Groupe à 5 ans de Virulence parasitaire, Institut Pasteur 25 rue du Dr Roux, 75015 Paris

Leishmaniasis is a disease caused by intracellular protozoan parasites of the genus *Leishmania*. The most severe form of this disease, visceral leishmaniasis, is caused by *Leishmania donovani*. This parasite will develop and multiply in the liver, the spleen and the bone marrow of mammalian hosts, distant from the cutaneous site of inoculation by an infected female sandfly [3 ; 4 ; 5]. The entry of this parasite into macrophages [1] and dendritic cells [2] has been already described. The authors reported that after entry, *Leishmania donovani* is present in a phagosomal vacuole. Furthermore, in their studies the *Leishmania* containing phagosome did not undergo the normal phagosomal maturation process due to the inhibition of the phagosome-endosome fusion. Using a variety of different microscopical approaches including immunoEM and correlation of EM with live cell imaging, we pointed out that lysosomes are recruited at the entry site of the parasite in the host cell. Moreover, we observe that lysosomes fuse with the phagosome containing *Leishmania donovani*. We also observed that a large amount of LPG, a glycolipid localized at the plasma membrane of the parasite, stays at the surface of the host cell after the entry of the parasite. With our different and complementary approaches we focus on the events of entry of *Leishmania donovani* in macrophages and dendritic cells. With this we were able to monitor the changes of the parasite during uptake and its trafficking inside the host cell.

[1] M. Desjardins and A. Descoteaux, Res. Immunol. 689-692,149 (1998).

[2] P. Gueirard, A. Laplante, C. Rondeau, G. Milon and M. Desjardins, Cell Microbiol. 100-111, 10 (2008).

[3] B.L. Herwaldt, Lancet 1191–1199, 354 (1999).

[4] H.W. Murray, J.D. Berman, C.R. Davies and N.G. Saravia, Lancet. 1561–1577, 366 (2005).

[5] M.E. Wilson, S.M. Jeronimo and R.D. Pearson, Microb. Pathog. 147–160, 38 (2005).

Lens connexins and cataractogenesis

I. Dunia ¹, H. Bloemendal ², X. Gong ³, C H Xia ³, E. L. Benedetti ¹

¹ Institut Jacques Monod CNRS-Université Paris 7, Paris, France

² Biochemistry, University of Nijmegen, Nijmegen, The Netherlands

³ School of Optometry, University of California, Berkeley, USA

⁴ Institut Jacques Monod CNRS-Université Paris 7, Paris, France

In this study we quantify the changes of the overall organization of the fiber cells in Connexin 46 knockout (Cx46^{-/-}) and in Connexin 50 knockout (Cx50^{-/-}) mouse lenses [1,2]. Morphometric analyses and correlative immunocytochemical techniques revealed that in Cx46^{-/-}, the process of post-natal fiber cell differentiation is characterized by an increased number of smaller fiber cells. Conversely in Cx50^{-/-}, microphthalmia is present. The lens is characterized by a small number of fiber cells added during the post-natal period; the process of terminal differentiation is impaired and generated larger fiber cells still possessing cytoplasmic organelles [2]. Fiber Cx46 and Cx50, have a cooperative role in cell-cell communication. In addition Cx50 plays a role in the control of fiber cell growth and differentiation following the antero-posterior lens regulatory pattern [2].

Fracture-labeling (FL) and immunofluorescence revealed that the junctional assembly, packing organization and topographic interactions between connexons and MP26 differed when Cx46 and Cx50 were coassembled in the wild type or expressed separately in the two distinct knockout phenotypes [2-4].

Filipin cytochemistry provided an indirect evidence that Cx46 or Cx50 expressed alone are recruited into different lipid environments.

Our results provide evidences that interactions of connexins and MP26, contribute to the overall organization of the fiber cells [2].

The generation of double fiber connexin knockout mice demonstrated that a loss of lens fiber gap junctions leads to extensive cataract formation as well as abnormal distribution of lens proteins [5,6].

[1] Rong P, Wang X, Niesman I, Wu Y, Benedetti E.L., Dunia I, Levy E, Gong X. *Development*. 129, 167-174 (2002)

[2] Dunia I, Cibert C, Gong X, Xia CH, Recouvreur M, Levy E, Kumar N, Bloemendal H, Benedetti EL. *Eur. J. Cell Biol.* 85,729-752 (2006)

[3] Dunia I, Recouvreur M, Nicolas P, Kumar N, Bloemendal H, Benedetti E L. *J Cell Sci.* 111, 2109-2120 (1998)

[4] Dunia I, Recouvreur M, Nicolas P, Kumar NM, Bloemendal H, Benedetti EL. *Methods Mol. Biol.*, 154, 33-55 (2001)

[5] Xia, C. H., Cheng, C., Huang, Q., Cheung, D., Dunia, I., Benedetti, E.L., Horwitz, J., Gong, X. *Exp. Eye Res.*, 83, 688-696 (2006)

[6] Cheng, C., Xia, C. H., Lin, Li, White, T., Niimi, J., Gong, X. *Exp. Eye Res.*, 86, 966-974 (2008)

Correlative Light and Electron Microscopy on cultured cells.

C. Spiegelhalter ¹, V. Tosch ², D. Hentsch ¹, P. Kessler ¹, M. Koch ¹, F. Alpy ³, F. Legueux ³, J. Laporte ², Y. Schwab ¹

¹ IGBMC - Centre d'Imagerie

² IGBMC - Département neurobiologie et génétique

³ IGBMC - Département biologie du cancer

Our work is focused on the development of new tools and protocols that enable high resolution snapshots of dynamic events in adherent cultured cells. Inspired from protocols developed by others, we used high pressure freezing to arrest the cells that have been observed live with a light microscope (time lapse and/or confocale) at specific time points. To overcome the problem of regions of interest localization, we've designed a new culture substrate that includes reference coordinates and which can be directly frozen by HPF. These space cues are conserved through the whole sample preparation process and are visible on the ultra-thin sections observed in TEM. We've applied this technique on various cell models in which GFP – tagged proteins have been over-expressed. We then were able to precisely locate GFP containing subcellular compartments (lysosomes) and also to capture dynamic phenomenon (protein aggregation) with a delay of ten seconds between the live confocale LM recording and the TEM image of the HPF arrested cell.

Atomic Force Microscopy Imaging of Membrane Domains in Model Systems

C. Le Grimmelc¹, E. Lesniewska², P.E. Milhiet¹, M.C. Giocondi¹

¹ Nanostructures and Membrane Complexes, Centre de Biochimie Structurale, INSERM U554, CNRS UMR 5048, Université de Montpellier, France

² CLIPP, Institut Carnot Bourgogne CNRS UMR 5209, Faculty of Sciences Mirande, University of Bourgogne, France

The asymmetric distribution (and orientation) of proteins, sugars and of most lipids between the inner and outer leaflet of plasma membrane was established forty years ago. In contrast, in plane lateral organization of membrane constituents remains a matter of debates. Existence of membrane microdomains would account for many observations linking changes in membrane function to lipid composition. Lipid model systems like Langmuir-Blodgett films (LB), supported lipid bilayers (SLB), black lipid membranes, multilamellar, small, large and, recently, giant unilamellar vesicles were developed to better understand the behaviour of lipid mixtures in biomembranes. By its capacity to image soft matter in air or under liquid with a $\sim 1nm$ lateral and $\sim 1\text{\AA}$ vertical resolution, Atomic Force Microscopy (AFM) has provided a powerful tool for characterizing lipid organization and lipid/peptide interactions in LB and SLB. In particular, AFM has given a direct access to the nanometerscale lateral organization of binary and ternary lipid mixtures of biological interest. With the help of selected examples, we will illustrate the uniqueness of the information AFM allows to collect. Complementarities between this information and those obtained by more classical techniques like Cryo-fracture/Electron Microscopy, ESR, NMR, fluorescence and the influence of the model chosen on the data acquired will be discussed. Finally, the impressive possibilities opened by the new high-speed AFMs in the understanding of structural dynamics of membranes will be presented.

Apport de la microscopie à force atomique pour l'étude de l'ADN et des complexes nucléoprotéiques

E. Le Cam¹, F.-Z. Boukhalfa-Heniche¹, P. Dupaigne¹, L. Hamon², A. De Cian¹, S. Bacconnais¹, D. Pastré², O. Piétrement¹

¹ Laboratoire de microscopies moléculaires et cellulaire, CNRS UMR 8126, Institut de cancérologie Gustave Roussy, 39 Rue Camille Desmoulins 94805 Villejuif Cedex

² Laboratoire structure-activité des biomolécules normales et pathologiques, INSERM, U829 et Université Evry-Val d'Essone, 91025 Evry

La compréhension des mécanismes impliqués dans la maintenance des génomes (réparation, réplication, et recombinaison) nécessite, en association avec les méthodes biochimiques conventionnelles, des approches d'imagerie moléculaire permettant l'étude de la conformation et de la structure des complexes nucléoprotéiques associés, ainsi que l'étude dynamique de leur assemblage et de leur remodelage sous l'action de moteurs moléculaires comme les hélicases. À ce titre, la microscopie à force atomique (AFM) apparaît comme un outil de premier choix pour ces études grâce à sa résolution nanométrique et à sa capacité à travailler en milieu liquide à l'échelle de la molécule unique qui ouvre la voie aux études dynamiques. Cependant, une des principales difficultés rencontrées pour les études par AFM était de pouvoir contrôler l'adsorption des molécules dans des conditions compatibles avec la formation de complexes ADN-protéines et pertinentes d'un point de vue biologique. Nous avons ainsi développé récemment de nouvelles approches méthodologiques de contrôle de l'adsorption des biomolécules permettant ainsi la caractérisation par AFM des propriétés conformationnelles et structurales des acides nucléiques (ADN simple et double brin, ARN) et des complexes nucléoprotéiques, avec une résolution nanométrique [1,2]. Après un rappel sur la problématique de l'étalement des biomolécules et des méthodes que nous avons développées au cours de ces dernières années, nous présenterons différents exemples de travaux menés [2-4] dans notre équipe qui permettront d'illustrer le potentiel exceptionnel de l'AFM pour l'étude de l'assemblage des complexes nucléoprotéiques et de leur remodelage sous l'action de moteurs moléculaires. Enfin, nous présenterons également les perspectives qu'offre l'imagerie moléculaire par AFM dans le cadre des bionanosciences pour la manipulation et la caractérisation de l'auto-assemblage de biomolécules.

[1] Pastré D., Hamon L., Landousy F., Sorel I., David M.O., Zozime A., Le Cam E. and Piétrement O, *Langmuir*, 6651-6660, 22 (2006)

[2] Hamon L., Pastré D., Dupaigne P., Le Breton C., Le Cam E. et Piétrement O., *Nucl. Acids Res.* 35 :e58 (2007)

[3] Dupaigne P, Mortier-Barrière I., Velten M., Mirouze N., Piétrement O., McGovern S., Fichant G., Martin B., Noirot P., Le Cam E., Polard P. et Clavery J.-P., *Cell*, 824-836, 130 (2007)

[4] Dupaigne P., Lavelle C., Justome A., Lafosse S., Mirambeau G., Lipinski M., Piétrement O. et Le Cam E. *PLoS ONE* 3, e3643 (2008)

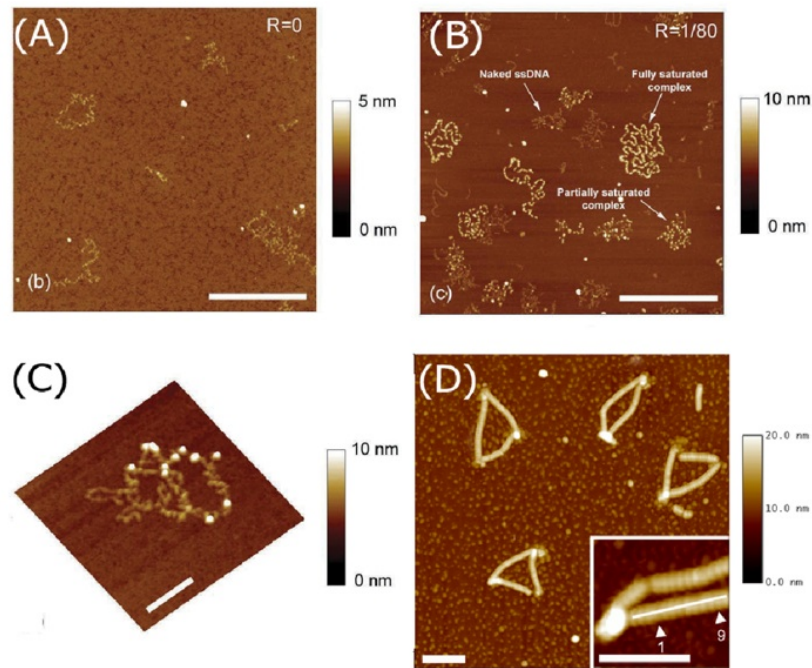


Figure 1 : (A) image AFM d'ADN simple brin (ADNsB) sur une surface de mica. (B) protéines SSB (single-stranded binding protein) se fixant coopérativement sur l'ADNsB. (C) image haute résolution d'un complexe ADNsB/SSB. (D) Illustration de l'activité de remodelage de la chromatine du nucléofilament Rad51. Insert : image haute résolution permettant de mesurer le pas du nucléofilament Rad51.

AFM and fluorescence microscopy of food proteins involved in emulsions

M. Baranowska¹, A. Riaublanc¹, A. Berquand², M. Petit³, O. Piétrement⁴, N. Freslon¹, C. Gaillard¹

¹ Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unité Biopolymères

² Life Science Applications Scientist Veeco Instruments GmbH, Mannheim, Germany

³ UMR CEISAM - Chimie Interdisciplinarité, synthèse, analyse, modélisation, Université de Nantes, France

⁴ LM2C UMR CNRS 8126 "Interactions Moléculaires et Cancer" Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

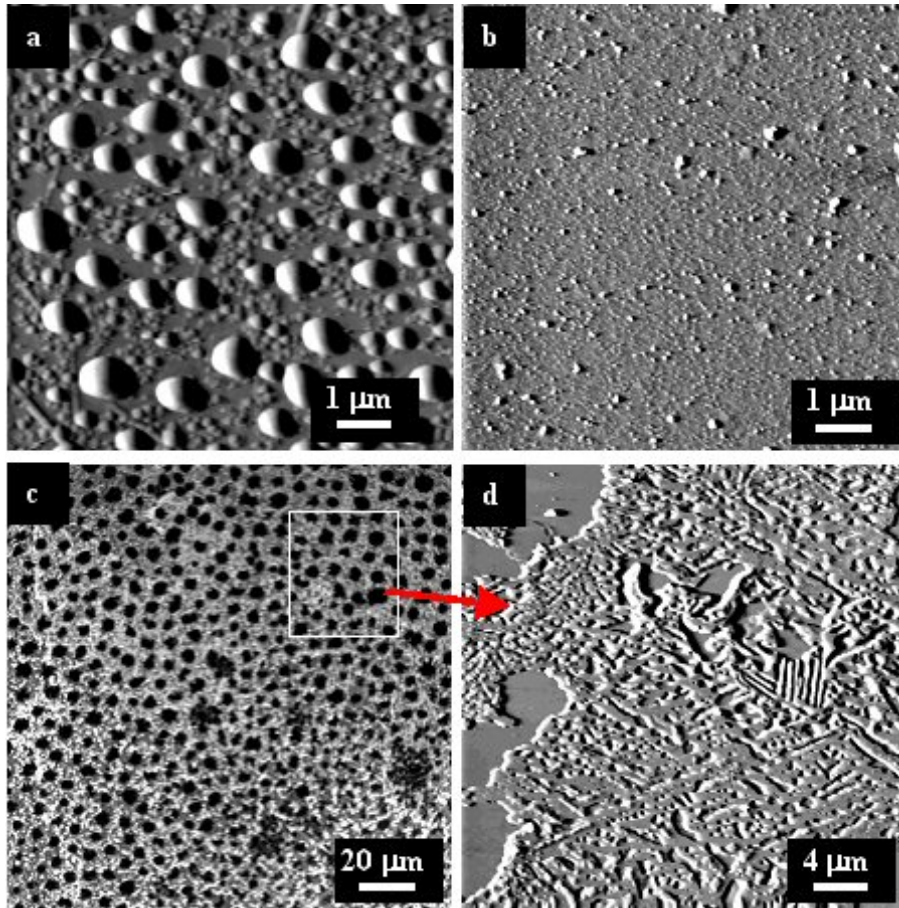
Proteins play an important role for stabilising oil droplets in numerous emulsions and foams from food interest [1]. Combining information obtained from both fluorescence microscopy and AFM, it may be possible to get fine details on the organisation of the proteins and their molecular interaction in the oil-water interface at the nanometer scale. AFM has been widely applied in the biological field, more recently in the food colloid science [2]. AFM provides a number of unique features as compared with other conventional microscopy techniques as the ability to probe the food biopolymers and their small aggregates or association keeping their natural environment. Applying chemical modification on the AFM tip allow to measure surface interaction forces or single molecular bonds. However AFM investigation usually depend to the corresponding sample preparation method. In particular, for air-dried AFM observation that is commonly used for high resolution imaging, proteins may be involved in aggregative associations during the drying step of the sample. It appears as a crucial step before analysing new families of proteins to elucidate the relation between experimental sample preparation methods and the spreading of the proteins, in order to be able to separate artefacts from the true information. When the proteins are implied in emulsions, the most common sample preparation method to probe the protein behaviour remains to deposit Langmuir-Blodgett films taken from the oil-water interface on hydrophilic mica.

We aim here to show the AFM investigation of food proteins from aqueous solutions, in a first part, and from built model systems in the example of oil-water emulsions, in a second part. The behaviour of plant or milk proteins when spreading aliquots of aqueous solution on support for air-dried AFM observation will be presented and discussed in regard to the used sample preparation way. We will demonstrate the importance of the nature of the support and compare the effect of cationic pre-treatments of glass and mica on the spread protein, and of the influence of the global charge of the protein that is varied by using different buffer solutions (see fig. 1). These results will be compared with the observation obtained by fixing the proteins on supports thought covalent bonding using reactive intermediates.

In a second part, we will show the AFM characterisation of emulsions focusing on the efficiency of the food proteins in the stabilisation of oil-water interfaces. For that, Langmuir- Blodgett films from several emulsion systems in which the oil/protein ratio or pH values were varied, had been systematically studied by both AFM and fluorescence microscopy (see fig. 2). Correlating the results provides additional information about the structure of the emulsion and the role of the protein organisation around the oil droplets.

[1] Mackie AR, Gunning AP, Wilde PJ, Morris VJ , "Orogenic Displacement of Protein from Oil/ Water Interface", *Langmuir*, 16, 2242-2247, (2000)

[2] Yang H, Wang Y, Lai S, An H, Li Y, Chen F , "Application of Atomic Force Microscopy as a Nanotechnology Tool in Food Science", Journal of Food Science, 72, Nr.4, (2007)



AFM images of b-casein spread on (a) graphite and (b) mica with a La³⁺ recovering; (c) Fluorescence microscopy and (d) AFM images of a Langmuir-Blodgett film of b-casein/DPPC stained with 2% Alexa 546.

The use of atomic force microscopy to study host-pathogen interactions in living cells

S. Janel¹, Y. Ciczora¹, F. Lafont¹

¹ CNRS UMR8161-Institut Pasteur de Lille - Université de Lille Nord-de-France

Infectious diseases are the second leading cause of mortality worldwide. To develop novel therapeutic weapons against pathogens, scientists devote increasing time to the study of the molecular basis involved in the interaction between microorganisms and their hosts. This so-called Cellular Microbiology field is based on the recent development of imaging techniques and methods inherited from the Cell Biology field. We decided to use atomic force microscopy as it allows to monitor infectious processes at the molecular scale. Using this technique we investigate interactions forces between receptors hijacked by pathogen-derived molecules, the elasticity of the cell and of the cell membrane mobilized during this interaction. To do so we acquired expertise in tip coating and functionalization; and we have developed a software for reliable treatment of AFM force curves. We present here two examples on different experimental systems. Using AFM we have analyzed morphological changes of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes and furthermore established a phenotype-genotype link. We also showed differences in the interaction forces between the *Listeria monocytogenes* adhesin internalin B and its cell surface receptor Met, related to the siRNA-based knock down expression of membrane and cytoskeleton-associated septin proteins. This work performed in collaboration with several laboratories illustrates how AFM can be used in living cells.

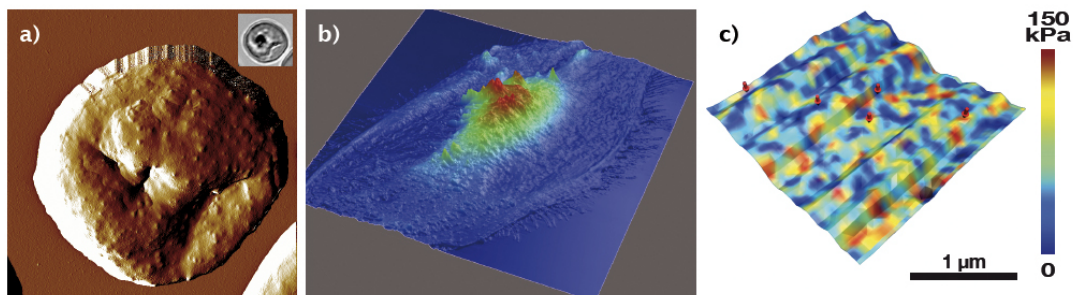


Fig1 : a) TM Amplitude error image of a *Plasmodium Falciparum* FCR3 infected erythrocyte b) 3D rendering of a living *Septin11* depleted HeLa cell imaged in buffer c) Force scan showing topography (3D), elasticity (colors), unbinding events (arrows)

High-resolution Scanning Probe Microscopy

P. Frederix ¹, P. Bosshart ^{1,2}, A. Engel ^{1,3}

¹ Maurice E. Müller Institute, Biozentrum, University of Basel, 4056 Basel, Switzerland

² BioTechnological Center, University of Technology D-01307 Dresden, Germany

³ Department of Pharmacology, Case Western, Cleveland, Ohio 44106 USA

High-resolution scanning probe microscopes allow single molecules to be imaged, measured and manipulated. In 1986 Binnig and colleagues presented the atomic force microscope (AFM), which measures the deflection of a highly flexible cantilever with a sharp tip that is raster-scanned over the sample [1]. By keeping this deflection constant, forces acting on the sample can be reduced to a level that prevents significant deformations of soft biological material. This operation can be executed while the sample is submerged in a physiological salt solution and kept at room temperature. Biomolecules can thus be observed at work [2].

Progress in imaging biological samples with the AFM was not only a matter of instrumentation, but required advances in sample preparation and imaging conditions. Recent experiments provided new insights into the organization of different native biological membranes [3, 4]. New avenues emerge for assessing not only the surface topography at high spatial resolution with the AFM but also the local electronic properties of single membrane proteins [5].

The possibility to manipulate single molecules using the AFM tip emerged in the nineties, when Gaub and co-workers measured the forces required to disrupt the biotin-avidin interaction or the unfolding of titin molecules [6]. Single bacteriorhodopsin molecules were pulled out of the purple membrane and the related vacancy imaged [7]. The technology of single molecule force spectroscopy (SMFS) was developed to a truly useful tool for studying protein unfolding, and measuring molecular interactions [8,9]. Protein unfolding experiments can now be analyzed quantitatively and understood to the single amino acid level and provide indirect information on the 3D atomic structure of the addressed proteins and their interaction with ligands, adjacent proteins, and lipids.

[1] Binnig, G, Quate, CF, and Gerber, C (1986) *Phys Rev Lett* 56, 930-933.

[2] Engel, A, and Müller, DJ (2000). *Nature Structural Biology* 7, 715-718.

[3] Fotiadis, D, et al. (2003) *Nature* 421, 127-128.

[4] Scheuring, S, and Sturgis, JN (2005) *Science* 309, 484-487.

[5] Frederix, PLTM, et al. (2008) *Nanotechnology* 19, 384004

[6] Rief, M, Pascual, J, Saraste, M, and Gaub, HE (1999) *J Mol Biol* 286, 553-561.

[7] Oesterhelt, F, et al. (2000) *Science* 288, 143-146.

[8] Kedrov, A, Janovjak, H, Sapra, KT, and Muller, DJ (2007) *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 36, 233-260.

[9] Bosshart P, et al. (2008) *Nanotechnology* 19, 384014

Imagerie AFM à haute vitesse de la lithostathine, une protéine associée à la maladie d'Alzheimer

P.E. Milhiet¹, D. Yamamoto², O. Berthoumieu³, C. Le Grimellec¹, J.M. Verdier⁴, S. Marchal⁴, T. Ando²

¹ Structurale, UMR5048 CNRS, UMR554 INSERM, Université Montpellier I et II

² Department of Physics, Kanazawa University, Japan

³ Oxford University Biomembrane Structure Unit, U.K.

⁴ MMDN, UMR710 INSERM, Université Montpellier 2

Les maladies neurodégénératives sont généralement associées à des lésions neuronales qui semblent induites par l'accumulation extracellulaire de protéines présentant une maturation anormale. La lithostathine est une protéine retrouvée sous forme de dépôts fibrillaires dans le cerveau de patients atteints de maladie d'Alzheimer et de maladies à prions [1,2]. Une automaturation protéolytique de sa partie N-terminale génère un polypeptide responsable de sa polymérisation et de la formation de fibrilles. Afin de caractériser la structure et la dynamique des fibres de lithostathine, nous avons utilisé le microscope AFM à haute vitesse, développé dans le laboratoire du Pr Ando au Japon [3]. Nous avons pu mettre en évidence la structure hélicoïdale des fibrilles de lithostathine, formée à partir de 2 protofibrilles. Ces protofibrilles ont une forte tendance à s'associer pour former des faisceaux. L'acquisition d'images à haute vitesse a permis de visualiser l'élongation des fibrilles et de donner quelques indices sur les mécanismes de leur formation.

[1] L. Duplan, B. Michel, J. Boucraut, S. Barthellémy, S. Desplat-Jego, V. Marin, D. Gambarelli, D. Bernard, P. Berthézène, B. Alescio-Lautier, J.M. Verdier, *Neurobiol. Aging*, 22, 79-88. (2001).

[2] E. Laurine, C. Grégoire, M. Fändrich, S. Engemann, S. Marchal, L. Thion, J. Thimonier, M. Mohr, B. Monsarrat, B. Michel, C.M. Dobson, E. Wanker, M. Erard, J.M. Verdier, *J. Biol. Chem.*, 278, 51770-51778. (2003).

[3] T. Ando, T. Uchihashi, N. Kodera, D. Yamamoto, M. Taniguchi, A. Miyagi, H. Yamashita, High-speed atomic force microscopy for observing dynamic biomolecular processes. *J. Mol. Recognit.* 20 :448-458 (2007).

Structural characterization of hybrids made of bacteriorhodopsin photosensitive proteins and carbon nanotubes

P. Bertoncini¹, F. Lefevre¹, G. Blais¹, O. Chauvet¹

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

In our research activities, we are interested in forming hybrids made of proteins and carbon nanotubes (CNT) in order to combine their intrinsic properties, in understanding the interactivity of both components and in studying protein adsorption and functionality.

The protein we choose in this study is the photosensitive membrane protein bacteriorhodopsin (BR). It is the key protein for the halobacterial photosynthetic capabilities, enabling the organisms to use light energy directly to drive bioenergetic processes by the generation of a proton gradient and it occurs in crystalline form in nature. This protein possesses outstanding properties : high stability towards thermal or chemical degradation, optical properties of BR can be monitored by exchanging a few amino acids... Furthermore, the physical mechanisms of BR are understood on a molecular level. BR has been established as a model material for attempting to generate new functional materials and is employed as a photoelectric, photochromic or energy-converting element [1].

BR/single-walled carbon nanotubes hybrids are synthesized in aqueous solutions, using purple membrane as starting material or monomers of BR. The morphology and micro-(nano-)structure of the hybrids are characterized using Atomic Force Microscopy (AFM) and Transmission Electron Microscopy (TEM). We show that the BR proteins are able to fix onto the CNT sidewall and cover the CNT. Complementary measurements are performed on the hybrids with Infrared Attenuated Total Reflection measurements (ATR) to give access to the conformational changes of the protein when adsorbed onto the CNT.

[1] N. Hampp, Chemical Review , 1755, 100 (2000)

Etude des membranes de cristallins sains et cataractiques par AFM à haute résolution

S. Mangenot ^{1,2}, N. Buzhynskyy ¹, S. Scheuring ¹

¹ Curie, Equipe INSERM Avenir, UMR168-CNRS, 26 Rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France

² Université Paris-Sud, 15 Rue Georges Clémenceau, 91405 Orsay cedex, France

La microscopie à Force atomique (AFM) est un outil très performant dans l'étude des membranes. Il est possible d'obtenir des topographes avec des résolutions subnanométriques dans des conditions physiologiques (conditions ioniques et de pression) sur des membranes natives contenant différents complexes membranaires. Dans ce travail, nous utilisons l'AFM comme nano-outil d'imagerie médicale.

Nous avons été en mesure d'imager individuellement, à haute résolution, des canaux transmembranaires au sein des membranes issues de cristallins sains mais aussi dans les tissus pathologiques de patients atteints de cataracte.

Dans le cas de cristallins sains, les membranes de cristallins sont essentiellement constituées d'Aquaporine permettant le passage de l'eau et de connexons permettant le passage des petites molécules de poids moléculaire <1kDa. Les aquaporines s'organisent alors en microdomaines jonctionnels délimités par des connexons. Au contraire, pour des cristallins cataractiques, dus à l'âge ou au diabète, les connexons ne sont jamais observés à la périphérie des microdomaines d'Aquaporine. En conséquence, les cellules dans le cristallin ne sont plus alimentées, ceci pouvant entraîner la formation de la cataracte.

AFM study of protein organization in inner and outer membranes of mitochondria

N. Buzhynskyy ¹, R.P. Gancalves ¹, P. Sens ², V. Prima ³, J.N. Sturgis ³, S. Scheuring ¹

¹ Institut Curie, UMR168-CNRS, 26 Rue d'Ulm, 75248 Paris, France

² ESPCI, CNRS-UMR 7083, 75231 Paris, France

³ UPR-9027 LISM, IBSM, CNRS, 13402 Marseille, France

The atomic force microscope (AFM) has developed into a powerful tool in membrane protein research. The AFM allows high-resolution topographies of biological samples to be acquired near physiological conditions, i.e. in buffer solution at ambient temperature and pressure. Featuring an exceptional high signal-to-noise ratio, the AFM allows imaging individual molecules, and is for that reason to date the only technique that allows studying native supramolecular membrane protein assemblies in native membranes at submolecular resolution. We performed an AFM study on supramolecular organisation of ATP synthase in inner mitochondrial membranes and Voltage-Gated Anion Channel (VDAC) in outer membranes of mitochondria. The ATP synthase is the major energy transducer protein in all cells, a nanometric molecular rotary machine that uses a transmembrane electrochemical gradient to form. The structure of most components of the ATP synthase is known, and their organisation has been largely solved. However, the precise supramolecular assembly of ATP synthases in biological membranes remained unclear. Using AFM, we showed with sub-molecular resolution the organisation of ATP synthases in yeast inner mitochondrial membranes. The ATP synthase molecules form dimers with characteristic 15nm distance. Furthermore, a small fraction of dimers have a different morphology, with 10nm distance between rotor axes, in line with IF1-inhibition ATP synthase dimers. Such an organisation elucidates the role of the ATP synthase in mitochondrial morphology, explains the rotational torque compensation and the regulation of the ATP hydrolysis by modifications of the supramolecular structure of ATP synthase dimers. VDAC is the most abundant protein in outer membrane of mitochondria, the gate connecting mitochondria with the cell cytoplasm. It was suggested that VDAC's channel behavior depends on its surface density, both the high-density and the low-density domains are of significant functional interest. AFM imaging of mitochondrial outer membranes revealed organization of VDAC in native membranes. We showed that the mitochondrial porin can associate in mobile groups of highly variable numbers or form densely packed patches, probably in a function-related manner. The obtained results are interesting for development of potential approaches in cancer treatment.

Cryo-electron tomography of vitreous sections

A. Frangakis¹

¹ EMBL Heidelberg, Meyerhofstraße 1, 69117 Heidelberg, Germany

Desmosomes are cadherin-based intercellular junctions that primarily provide mechanical stability to tissues such as epithelia and cardiac muscle. Desmosomal cadherins, which are Ca^{2+} -dependent adhesion molecules, are of central importance in mediating direct intercellular interaction. The close association of these proteins, with intracellular components of desmosomes ultimately linked to the cytoskeleton, plays an important role in tissue morphogenesis during development and wound healing. X-ray crystal structures of isolated extracellular domains of cadherins have provided compelling evidence of the mutual binding of the highly conserved N-terminal residue, Trp(2), from opposing proteins. This binding interface was also implicated by biochemical and cell-adhesion assays and mutagenesis data to be the primary adhesive interface between cells. We have performed cryo-electron tomography of epidermal desmosomes at a resolution of about $3.4nm$, showing cadherin molecules interacting at their tips. Our tomograms have sufficient resolution to distinguish individual cadherin molecules, and visualize the molecular architecture.

Image processing :

We have developed a toolbox for three-dimensional (3D) electron microscopy (EM) in Amira, a commercial software package, used by many laboratories in the network. Our toolbox integrates a number of established procedures specifically tailored for 3D EM. These include input-output, filtering, segmentation, visualization and ray-tracing functions, which can be accessed directly from a user-friendly pop-up menu. They allow performing denoising and segmentation tasks directly in Amira, without the need of other programs, and ultimately allow the visualization of the results at photo-realistic quality with ray-tracing. They also allow a direct interaction with the data, such that, e.g., sub-tomograms can be directly extracted, or segmentation areas can be interactively selected. The implemented functions are fast, reliable and intuitive, yielding a comprehensive package for visualization in EM.

Single particle cryo-EM and integrative analysis of dynamic macromolecular complexes.

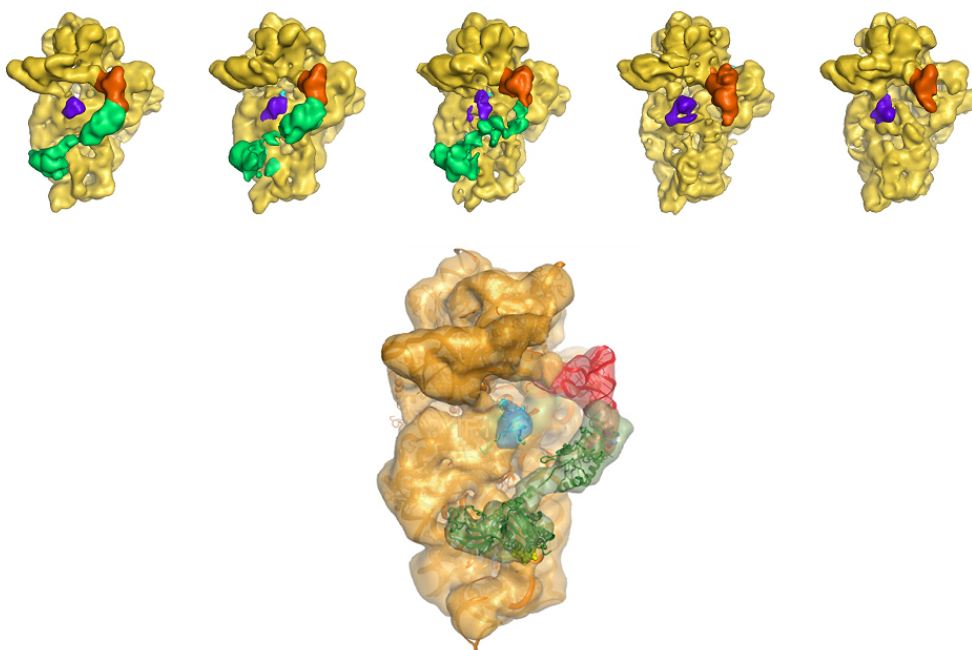
B. Klaholz¹

¹ IGBMC, Illkirch, Department of Structural Biology and Genomics

Cryo-electron microscopy (cryo-EM) has made major progress in the last few years and is increasingly becoming a tool for data integration across different scales by bridging atomic, molecular and cellular levels. Single particle cryo-EM and 3D reconstruction is an approach that relies on averaging techniques such as most biophysical and structural methods (with the exception of for example tomography or single molecule studies). Reaching a resolution of 10 angstroms or better – which greatly facilitates structure interpretation and integration – requires not only high-quality electron microscopes and processing of large data sets, but also implies addressing sample heterogeneity. Structural and functional heterogeneity of a sample is usually considered as a major obstacle for 3D structure determination using 2D projections of single particles. However, when heterogeneity can be handled through advanced image processing and particle sorting it turns into an advantage by opening the possibility of simultaneously studying multiple states in equilibrium with each other, thus providing a 4D view of dynamics and macromolecular transitions related with a precise biological function. We have developed an approach that allows separating multiple states based on statistical analysis of 3D structures. The method is referred to as 3D sampling and classification (3D-SC) and is based on random resampling of sub-ensembles of object populations and their sorting into 3D classes. 3D-SC principally opens the possibility to simultaneously study many different states within a biological sample, and improve the resolution of each individual structure. This approach has enabled the structure determination of the 30S translation initiation complex (9 angstroms resolution), a sample that turned out to be highly heterogeneous despite of careful biochemical optimisation of the complex formation. 3D-SC has allowed separating the image data into several consistent subsets (with low intra-class and high inter-class 3D variance) that differ in the presence/absence or conformation of initiation factors, mRNA or tRNA [1]. The possibility of revealing such structural differences in a sample has important implications for the general analysis of biological function. As an example of data integration, we will discuss the role of mRNA structure in translation initiation regulation of the protein synthesis machinery. A combination of biochemistry, cryo-EM, modeling and bioinformatics sequence analysis revealed the molecular basis for pre-initiation docking and ribosome stalling by mRNAs containing 5' structured regions [2]. After unfolding, the mRNA moves into the mRNA channel allowing interactions with the initiator tRNA and thus promoting translation initiation. The structure and sequence analysis suggests the existence of a conserved mRNA binding site on the small ribosomal subunit that is now being examined functionally. Together, detailed insights into the working mechanism of a cellular machinery are obtained by visualizing and characterising individual key reaction intermediates of the molecular process.

[1] A. Simonetti, S. Marzi, A. G. Myasnikov, A. Fabbretti, G. Yusupova, M. Yusupov, C. O. Gualerzi, B. P. Klaholz. *Nature*, 416-420, 455 (2008).

[2] S. Marzi, A. G. Myasnikov, A. Serganov, C. Ehresmann, P. Romby, M. Yusupov et B. P. Klaholz. *Cell*, 1019-1031, 130 (2007).



The structure of Phosphorylase Kinase holoenzyme at subnanometer resolution, location of the catalytic subunit and the substrate glycogen phosphorylase

S. Jonic¹, E. Larquet¹, V. Skamnaki^{2,3}, N. Oikonomakos², N. Boisset¹, L. Johnson³, C. Vénien-Bryan³

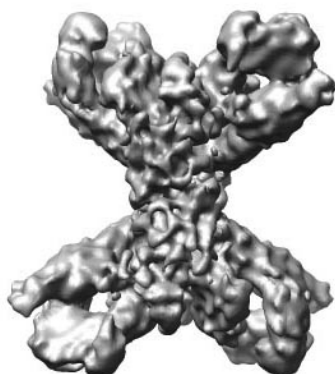
¹ Institute of Organic and Pharmaceutical Chemistry, The National Hellenic Research Foundation, 48 Vassileos Constantinou Avenue, 116 35 Athens, Greece

² Laboratory of Molecular Biophysics, Department of Biochemistry University of Oxford, South Parks Road, OX1 3QU Oxford, UK

³ IMPMC-UMR 7590, CNRS, Universités Paris 6 et Paris 7, IPGP, 75015 Paris, France.

Phosphorylase kinase (PhK) coordinates hormonal and neuronal signals to initiate the breakdown of glycogen. The enzyme catalyzes the phosphorylation of inactive glycogen phosphorylase b (GPb), resulting in the formation of active glycogen phosphorylase a (GPa) and the stimulation of glycogenolysis. PhK is one of the largest of the protein kinases (MW 1.3 x 106) and contains four copies of four subunits : α, β, γ and δ . Here we present a 9.9Å resolution structure of PhK determined by electron cryo-microscopy single-particle reconstruction. The enzyme has a butterfly-like shape comprised of two lobes with 222 symmetry. This 3D structure has allowed us to dock the catalytic γ domain, whose crystal structure is known, to the PhK holoenzyme at a location that is towards the ends of the lobes. The kinase domain is not involved in homo-dimer interactions. We have also determined the structure of PhK decorated with GPb at 18Å resolution, which shows GPb located at the end of the lobes. Comparison of PhK/GPb complex with the volume of density for the GPb dimer derived from the X-ray model indicates that only one subunit of GPb is localized. Careful examination of the electron microscope images revealed a mixture of large and small PhK particles. In addition to the large particles described above we have determined the reduced size particles at 9.8Å resolution. This structure was consistent with a proteolysed activated form of PhK that had lost the α subunit and possibly the γ subunit.

[1] Vénien-Bryan C., Jonic S., Skamnaki V., Brown N., Bischler N., Oikonomakos N.G., Boisset N., Johnson L.N., *Structure*, 17 :117-127 (2009).



Surface representation of Phosphorylase Kinase holoenzyme at 9.9Å resolution

Daughter centriole morphogenesis and structural details of isolated human centrosomes revealed by cryo-electron tomography

P. Guichard^{1,2}, A.M. Tassin^{1,2}, S. Blestel³, C. Kervrann^{3,5}, S. Marco^{1,2}, D. Chrétien

⁴

¹ Institut Curie, Centre de Recherche, Orsay, F-91405 France

² INSERM, U759, Orsay, F-91405 France

³ INRIA, Centre de Rennes Bretagne Atlantique, IRISA/Univ. Rennes I, F-35042 Rennes

⁴ CNRS, UMR 6026, IFR 140, F-35042 Rennes

⁵ INRA, UR341 Mathématiques et informatique appliquées, F-78352 Jouy-en-Josas

Centrosomes are ubiquitous organelles present in most of the eukaryotic species except land plants. They consist of a core structure, the centriole pair, linked together by a matrix, the pericentriolar matrix. Centrioles are conserved nine-fold symmetrical microtubule-based organelles essential for cilia formation, cell skeleton and mitotic spindle organization in mammals. Centriolar microtubules are organized in doublets and triplets. During the cell division cycle, centrosomes reproduce by duplicating their centrioles and matrix. When a centriole duplicates, the new centriole (daughter centriole) does not use the existing centriole (mother centriole) as a template, raising the question of how the daughter centriole assembly microtubule doublets and triplets reproducing mother centriole organization. We have approached this question by computing 3D-reconstructions from cryo-electron tomographic series of isolated human centrioles. Computed tomograms provide details on structures, such as subdistal appendages organization, previously described by tomographic reconstructions of identical material performed in epon embedded sections [1]. More interestingly, tomograms allows visualization of microtubule arrangement, providing new insights on the daughter and mother centriole organization (figure 1) going from details on microtubule caps to number of microtubules composing daughter centrioles at different morphogenesis steps. Results discard a model in which microtubule of a doublet grow simultaneously and support the idea that nine single microtubules grow from a capping structure before microtubule doublets are formed. Methods : Centrosomes were isolated from lymphoid KE37 cells [2] and frozen in liquid ethane at -178°C using a Leica CPC cryo-station onto holey-film copper grids. Images were acquired using a Gatan US-ssCCD camera in a Jeol 2200FS cryo-electron microscope operated at 200KV and equipped with an in-column energy filter using a 6eV energy slit centered at the Z-loss peak. Images were aligned using eTomo [3] and TomoJ [4] software. Volumes were computed using ART [5] in TomoJ.

[1] R. Ibrahim R, C. Messaoudi, F.J. Chichon, C. Celati and S. Marco, *Microsc Res Tech.* 42-8, 72 (2009)

[2] M. Bornens, M. Paintrand, J. Berges, M.C. Marty and E. Karsenti, *Cell Motil Cytoskeleton.* 238-49, 8 (1987)

[3] J.R. Kremer, D.N. Mastronarde and J.R. McIntosh, *J Struct Biol.* 71-6, 116 (1996)

[4] C. Messaoudi, T. Boudier, C.O. Sanchez Sorzano and Marco S. *BMC Bioinformatics.* 8, 288 (2007)

[5] G.T. Herman, A. Lent and S.W. Rowland *J Theor Biol* 1-32, 42 (1973)

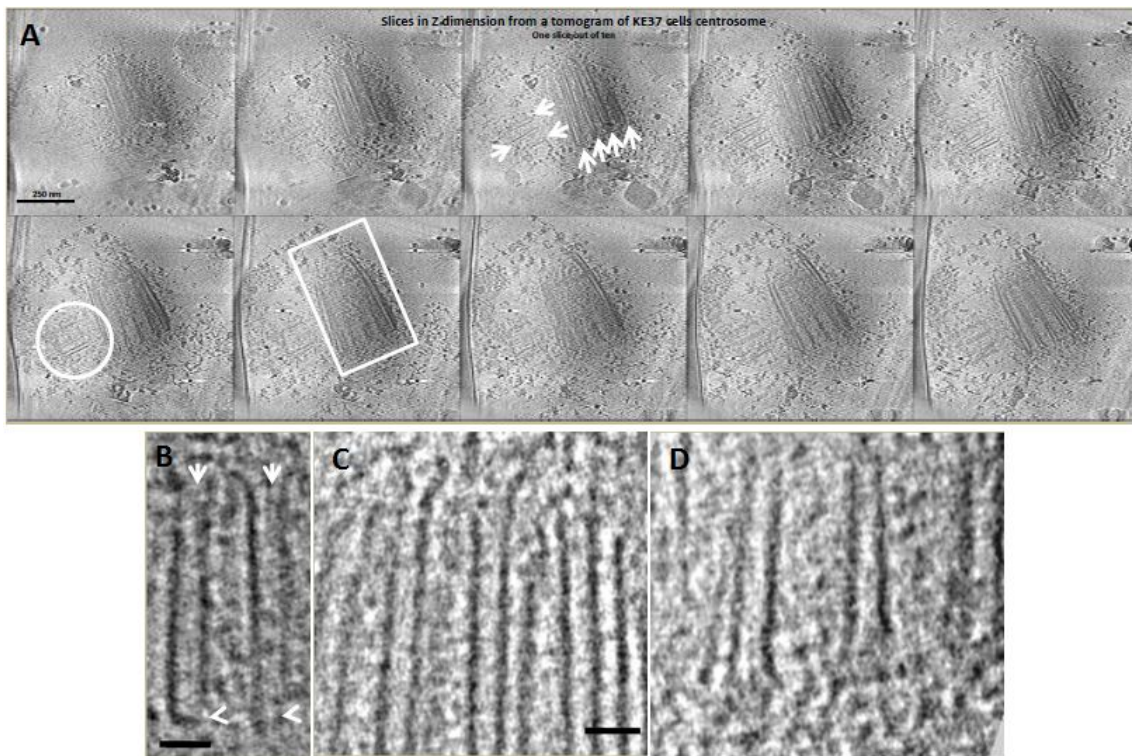


Figure 1 : Isolated centrosome cryo-tomograms. A) Z-slices extracted from reconstructed volume. Circled region shows daughter centriole and boxed region shows father centriole. Arrows points microtubules. B) Microtubule details in daughter centriole. Distal region (arrow) is opened whereas proximal region (arrow head) is capped. C) and D) Microtubule details in father centriole. Microtubule ends in both, distal (C) and proximal (D) regions are opened.

Structure of *Bacillus anthracis* spores analyzed by CEMOVIS

M. Sachse¹, G. Pehau-Arnaudet¹, E. Coutoure-Tosi², J.L. Ranck², P. Sylvestre², M.-Mock²

¹ Plateforme de Microscopie ultrastructurale, Institut Pasteur, Paris

² Unité des Toxines et Pathogénie Bactérienne, Institut Pasteur, Paris

Bacillus anthracis is a Gram+, aero-anaerobic, endospore-forming bacterium and the causative agent of anthrax disease. Within the life cycle of the bacteria the endospores represent the disseminating agent that is taken up from the environment by mammals. The transformation of the dormant spore into a vegetative cell is an important step in the pathogenesis of the bacterium. We analyzed the ultrastructure of the spore by Cryo-Electron Microscopy Of Vitri-fied Sections (CEMOVIS), which allows the observation of the sample as close to the native state as currently possible. After high pressure freezing the sample is sectioned in the frozen, hydrated state and the sections are observed at -180°C. With aldehyde fixation, dehydration and embedding in EPON the mature spore consists of an electron dense core successively sur-rounded by the inner membrane, the cortex, the outer membrane, followed by the coat and finally the outermost structure, the exosporium. On CEMOVIS sections, the core of the spore provides a surface with fractures, likely to be caused by the dense structure of the material. As observed after aldehyde fixation, the coat consists of several layers. However, on the CEMOVIS sections we identified a new repetitive structure representing the outer layer of the coat. We only observed this new structure on frozen hydrated sections and not with any other prepara-tion techniques for electron microscopy. We analyzed the morphological changes of the spore during the process of germination, which involve rehydration of the spore core, the formation of the vegetative peptidoglycan layer and the synthesis of the capsule. During all this process we did not observe a change in the structure of the coat and exosporium. Our data suggest that coat and exosporium have a protective role but are not involved in the morphological changes during germination.

Détermination de la structure de la TSPO par cristallographie électronique

D. Teboul¹, J.C. Robert¹, S. Harbi¹, J.J. Lacapère¹

¹ Inserm U773, Centre de Recherche Biomédicale Bichat Beaujon (CRB3), Université Paris 7 Denis Diderot, BP 416, F-75018 Paris, France.

La protéine translocatrice (TSPO), anciennement appelée récepteur périphérique des benzodiazépines [1], est un des constituants protéiques de la membrane externe des mitochondries. Sa fonction la mieux caractérisée est l'importation du cholestérol vers la matrice mitochondriale, où il sert de précurseur à la synthèse des stéroïdes et des sels biliaires [2]. La caractérisation moléculaire de ces mécanismes de transport nécessite la détermination de la structure de cette protéine qui n'appartient à aucune famille structurale connue. Les études structurales ont établies que la TSPO est constituée de cinq domaines transmembranaires structurés en hélices et de petits domaines extra-membranaires [3, 4]. Notre démarche est de résoudre la structure de la TSPO entière en membrane par cristallographie électronique. Nous utilisons la forme recombinante exprimée dans des bactéries, purifiée en détergent à laquelle nous substituons le détergent par des lipides. Nous recherchons les conditions de formation de cristaux bidimensionnels en faisant varier différents paramètres physico-chimiques. L'environnement lipidique optimal est obtenu à des rapports lipides / protéines supérieurs à 0,25 masse / masse. Les paramètres physico-chimiques optimaux suggèrent un pH alcalin, 100 mM d'ions monovalents ou 0,1 mM d'ions divalents. La présence du ligand exogène de haute affinité, le PK11195, une isoquinoline, induit une " stabilisation " de la TSPO en accord avec les études structurales menées par dichroïsme circulaire et résonance magnétique nucléaire sur la TSPO en détergent [3], mais aussi les mesures de liaison de ligand sur des protéoliposomes [5]. Pour l'instant aucun cristal n'a été observé, nous continuons à optimiser les paramètres et tester d'autres ligands connus de la TSPO, comme le cholestérol.

[1] V. Papadopoulos, M. Baraldi, T. R. Guilarte, T. B. Knudsen, J. J. Lacapere, P. Lindemann, M. D. Norenberg, D. Nutt, A. Weizman, M. R. Zhang and M. Gavish, *Trends Pharmacol Sci*, 402-409, 27 (2006).

[2] J. J. Lacapere and V. Papadopoulos, *Steroids*, 569-585, 68 (2003).

[3] S. Murail, J. C. Robert, Y. M. Coic, J. M. Neumann, M. A. Ostuni, Z. X. Yao, V. Papadopoulos, N. Jamin and J. J. Lacapere, *Biochim Biophys Acta*, 1375-1381, 1778 (2008).

[4] E. Joseph-Liauzun, P. Delmas, D. Shire and P. Ferrara, *J Biol Chem*, 2146-2152, 273 (1998).

[5] J. J. Lacapere, F. Delavoie, H. Li, G. Peranzi, J. Maccario, V. Papadopoulos and B. Vidic, *Biochem Biophys Res Commun*, 536-541, 284 (2001).

Structural analysis by EM of the human MultiDrug transporteur ABCG2 purified onto functionalized templates

M. Dezi¹, P.F. Fribourg¹, S. Marco², A. Di Cicco¹, C. Trometer³, P. Falson³, A. Di Pietro³, D. Lévy¹

¹ Institut Curie, UMR CNRS 168, Paris.

² Institut Curie, INSERM U759, Orsay.

³ Equipe labellisée, IBCP, UMR 5086 CNRS-Université Lyon 1, Lyon.

In humans, efflux of anticancer drugs represents one of the main mechanisms of cellular resistance to chemiotherapeutic treatments. Drugs efflux is mediated by the membrane transporters of the ABC family Pgp (ABCB1), MRP1 (ABCC1) and BCRP (ABCG2). Up to now no atomic structure of eukaryotic ABC transporter is available, likely due to their eukaryotic heterologous and homologous expression and purification lead to low amounts of proteins. We have developed functionalized templates to purify and concentrate proteins in a single step by specific recognition of His-proteins. Furthermore, these templates are directly analyzable by electron microscopy. Here we report the use of these templates for the structural analysis of the human transporter ABCG2. Functionalized templates provide the complete purification of ABCG2, MW 72 kDa, in a single step starting from solubilized membranes. This allowed bypassing the long and often harmful steps of the classical purification procedures involving affinity columns and ionic exchange columns chromatographies and the final concentration of the solubilized proteins. Here, a few tens of nanogrammes of ABCG2 were completely purified from a solubilized membrane containing more than 99.5 percents contaminants. ABCG2 bound and concentrated to the functionalised templates were suitable for single particle analysis that revealed a tetrameric organization of the protein. This approach opens the structural analysis by single particle analysis of proteins fragile and/or difficult to overexpress.

Structures des tores d'ADN condensé à l'intérieur de capsides de bactériophages

A. Leforestier¹, F. Livolant¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, CNRS UMR8502, Bât. 510, Université Paris-Sud, 91405 Orsay

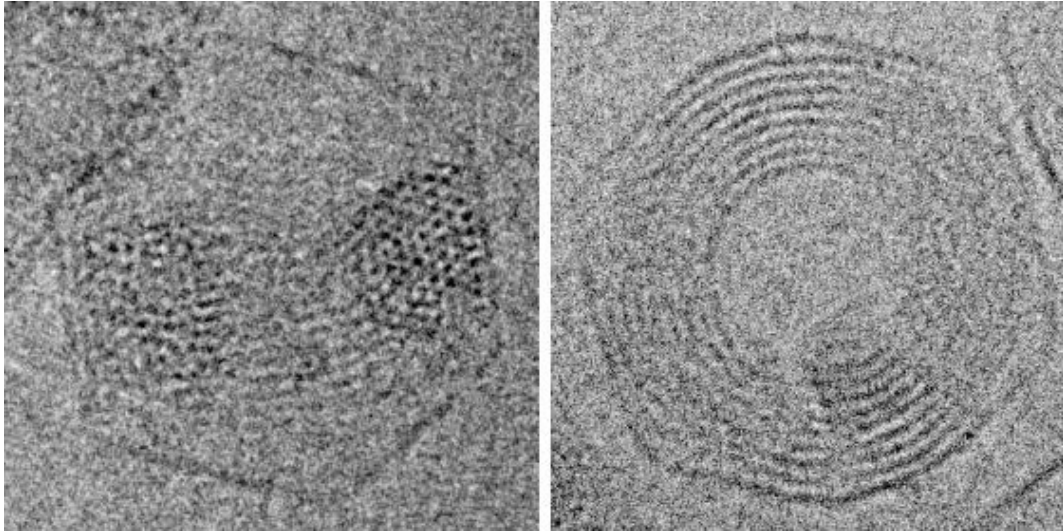
En présence de cations multivalents (spermine⁴⁺, spermidine³⁺, $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$, ...) ou de protéines basiques (H1), la chaîne d'ADN s'effondre sur elle-même pour former des structures toriques ou en bâtonnets [1]. Il n'existe que peu de données sur la structure fine de ces formes condensées. Une étude de cryo-microscopie électronique a montré il y a quelques années l'existence d'un ordre de type hexagonal au sein de tores obtenus en présence de $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ [2]. Une des principales limitations à l'étude des structures toriques de l'ADN vient de la difficulté à les préparer en concentration suffisante tout en les isolant les uns des autres (tendance à l'agrégation) et en contrôlant la longueur et le nombre de molécules d'ADN les constituant. L'utilisation des bactériophages permet de s'affranchir de ces limitations. Après éjection partielle de l'ADN du bactériophage T5 en présence de son récepteur bactérien FhuA, l'ADN restant dans la capsid est condensé par addition de spermine à une concentration choisie pour induire un ordre hexagonal entre segments d'ADN. La spermine diffuse à travers la capsid protéique et chaque chaîne (dont la longueur varie de 3000 à 55000 paires de bases (pb)) s'effondre à l'intérieur de sa propre capsid (80 nm de diamètre). Nous disposons ainsi de tores, isolés les uns des autres par la capsid, et tous mono-moléculaires. Les tores confinés sont ensuite analysés par cryo-microscopie électronique. Non seulement la taille mais la forme du tore varie avec la longueur de la chaîne, en raison du confinement dans la capsid. Des tores de diamètre très inférieur à celui de la capsid se forment lorsque la longueur de l'ADN est inférieure à 28500 pb. Cette très forte courbure permet d'optimiser les contacts entre segments d'ADN pour les molécules les plus courtes. Les images de cryo-microscopie révèlent que l'organisation de l'ADN dans les tores est plus complexe qu'un réseau hexagonal simple. Nous mettons tout d'abord en évidence une rotation du réseau hexagonal le long du tore et la présence de parois de twist. Ces deux phénomènes résultent de la compétition entre l'ordre hexagonal dense et la chiralité de la molécule d'ADN [3]. Nous montrons également l'existence d'un phénomène de "phasage" des doubles hélices dans ces structures toriques. Différents types de phases, dont l'existence a été prédite par des modèles théoriques [4] mais dont il n'existait jusqu'à présent que très peu d'évidences expérimentales, sont observés. Nous montrons comment le "phasage" des doubles hélices, combiné à la forte courbure du tore confiné, impose des variations du pas hélicoïdal de l'ADN. Un modèle géométrique du tore, décrit comme une structure complexe ordonnée à 3 dimensions est proposé.

[1] voir par exemple Gosule LC, et Schellman JA (1978) DNA condensation with polyamines. *J. Mol. Biol.* 121, 311-326.

[2] Hud NV, et Downing KH (2001) Cryoelectron microscopy of lambda phage DNA condensates in vitreous ice : the fine structure of DNA toroids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 14925-14930.

[3] Leforestier A, Bertin A, Richter K, Sartori N, Dubochet J et Livolant F. (2008) Expression of chirality in columnar hexagonal phases of DNA and nucleosomes. *C. R. Chimie* 11, 229-244.

[4] voir par exemple Kornyshev A, Lee D, Leikin S, Wynveen A (2007) *Rev. Modern Physics* 79, 943-996 ; Lorman V, Pordgornik R, Zeks B (2001) *Phys. Rev. Lett.* 87, 218101-218104.



Tores d'ADN confiné dans la capsid du bactériophage T5. La capsid icosaédrique a un diamètre de 80 nm. En vue de profil (à gauche) on peut visualiser directement le réseau hexagonal formé par l'ADN dans le tore. Sur la vue apicale (à droite) on observe des couches successives qui correspondent aux plans réticulaires du réseau hexagonal. Dans nos conditions ioniques, la distance d entre les plans réticulaires est égale à 25 angström.

Segmentation of fibers in cryo-electron tomograms

S. Blestel¹, D. Chrétien^{1,2}, C. Kervrann³

¹ INRIA, Centre de Rennes Bretagne Atlantique, IRISA/Univ. Rennes I, F-35042 Rennes

² INRA, UR341 Mathématiques et informatique appliquées, F-78352 Jouy-en-Josas

1. Introduction Cryo-electron tomography enables the 3D visualization of biological specimens frozen at liquid nitrogen temperature. However, such tomograms are very noisy and their analysis is difficult without image processing. Segmentation of cryo-electron tomograms is a hard task, particularly because of the low signal-to-noise ratio, and the general methods for image segmentation [1] are not entirely satisfying since they are not robust to noise or hard to initialize. Several denoising algorithms are available [1] but we prefer first avoiding a pre-processing that may damage the image information. We propose a semiautomatic method to segment microtubules (fibers of the cytoskeleton of ~ 25 nanometers in diameter) or other fibers in tomograms. This method segments independently each 2D slice of the tomogram, and it is composed of two main steps that will be presented respectively in sections 2 and 3 : the segmentation of one slice by energy minimization, and the estimation, using the previous segmented slice, of the parameters required to initialize the next slice segmentation. The second step relies on the microtubule shape, assuming they are observed longitudinally.

2. Segmentation of a 2D slice Image segmentation consists in our case in determining for each pixel s if it belongs to the "background" B or to the "object" O we want to segment. So we assign to each pixel s a label $x_s = B$ or O . We consider a Markov model for the image. Within the Bayesian estimation framework, our problem can be written as the minimization of the energy defined by :

$$E(X) = \sum_{s \in S} V_d(x_s, y_s) + \sum_{\langle s, t \rangle \in \mathcal{C}} V_r(x_s, x_t),$$

where y_s is the observation in pixel s (generally given by its intensity), $X = \{x_s \in \{B, O\}\}$ is the label set and $\langle s, t \rangle \in \mathcal{C}$ is the set of neighbor pixels. The energy $E(X)$ is composed of two terms : - the regularization (or smoothing) term $V_r(\cdot, \cdot)$ is an Ising model that favors neighbor pixels having the same label and avoid the segmentation of isolated pixels ; - the fidelity or data term $V_d(\cdot)$ penalizes or favors the labeling of the pixel s knowing the observation y_s . It relies on the use of patches (pictorial elements) : each label is represented by a patch M_{x_s} which depends on the label $x_s \in \{B, O\}$ and can depend on the pixel location. The potential $V_d(x_s, y_s)$ is the euclidean distance between the patches M_{x_s} and M_s , where M_s is the patch observed in pixel s (the patch M_s thus corresponds to a local neighborhood of s). In our algorithm, we used square patches centered on pixel s . The patches representing each class are defined as follows : * the background patch $M_{x_s=B}$ has a constant intensity value equal to the local mean intensity of the background ; * the "object" patch $M_{x_s=O}$ is the mean patch of a set of patches selected along a curve passing within a microtubule wall. Such a curve can be estimated using the "Fast-Marching" algorithm [2], which enables to find the shorter path between two points of the microtubule wall in the sense of a metric defined on the image. The use of patches enables to take into account the pixels neighborhood. If the patch width is large enough, $M_{x_s=O}$ reflects the microtubule orientation, its contrast and its mean intensity ; if the patch width is close to 1, $M_{x_s=O}$ only contains the microtubule mean intensity and the algorithm will be noise sensitive. We use large patches (a few pixels more than the microtubule wall width), so that the algorithm is robust to noise. Nevertheless, microtubules having an orientation too different from the orientation reflected by the "object" patch may be bad segmented. So we use several patches to represent

the "object" class, to reflect all the microtubule orientations. The energy $E(X)$ can be globally minimized by a "min cut/max flow" algorithm [3].

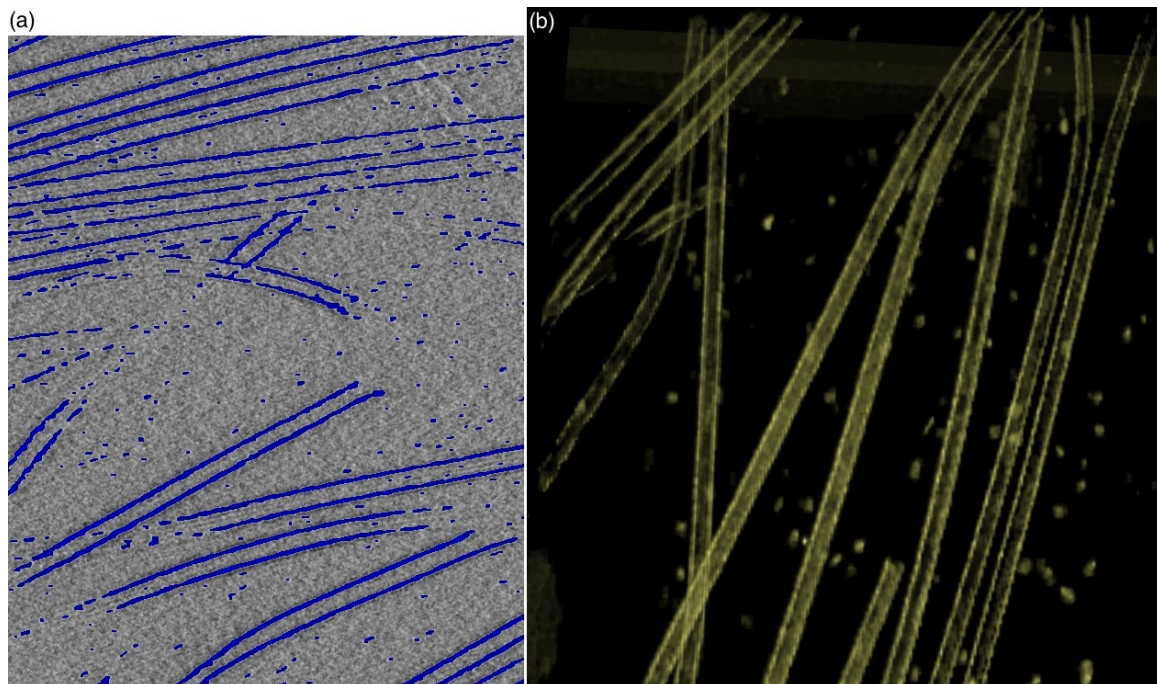
3. Segmentation of the whole tomogram The above algorithm is relatively satisfying in two dimensions, so we adapted it to segment the whole volume. The 2D algorithm is initialized by the manual selection of couples of points which initialize "Fast-Marching" algorithms and enable to extract several "object" patches. However, the global mean intensity of the slices of the tomogram can vary so new patches have to be extracted on each slice. To automatically detect points of the microtubule walls, we exploit their particular shape : as the microtubules are observed longitudinally, they form straight or little curved lines. Thus microtubules can be identified on the segmented slice k by applying the Hough transform to this slice. The Hough transform identifies lines in a segmented image, which correspond in our case to microtubule walls. The point locations detected on the slice k initialize "Fast-Marching" algorithms on slice $k + 1$ that enable to compute new "object" patches.

The algorithm initialization is easy and fast, and the 3D-visualization of segmented tomograms is clearly improved (see figure). Nevertheless, some parts with lower contrast or thinner are not extracted. We present the algorithm in the particular case of microtubule segmentation. However, it can be applied to segment other fibers or macromolecular assemblies with lineal structures or preferred orientations.

[1] K. Sandberg, *Methods in Cell Biology*, 769-798, 79 (2007)

[2] L. Cohen and R. Kimmel, *International Journal of Computer Vision*, 57-78, 24 (1997)

[3] Y. Boykov and V. Kolmogorov, *Proceedings of the International Workshop on Energy Minimization Methods in Computer Vision and Pattern Recognition*, 359-374 (2001)



(a) 2D view of a segmented tomogram (pixels in blue have "object" label; their original intensity is kept); (b) Segmented volume visualized with CHIMERA (www.cgl.ucsf.edu/chimera/)

Initiation de la Traduction chez les Archaea : Etude du Complexe de Pre-Initiation par Cryomicroscopie Electronique

Z. Devaux¹, S. Jonic¹, L. Cladière², J.M. Guigner¹, Y. Méchulam², E. Larquet¹, E. Schmitt²

¹ IMPMC - UMR 7590, CNRS, Universités Paris 6 et Paris 7, IPGP, 140 rue de Lourmel, 75015 PARIS

² Laboratoire de Biochimie, Ecole Polytechnique, UMR 7654 du CNRS 91128 PALAISEAU Cedex

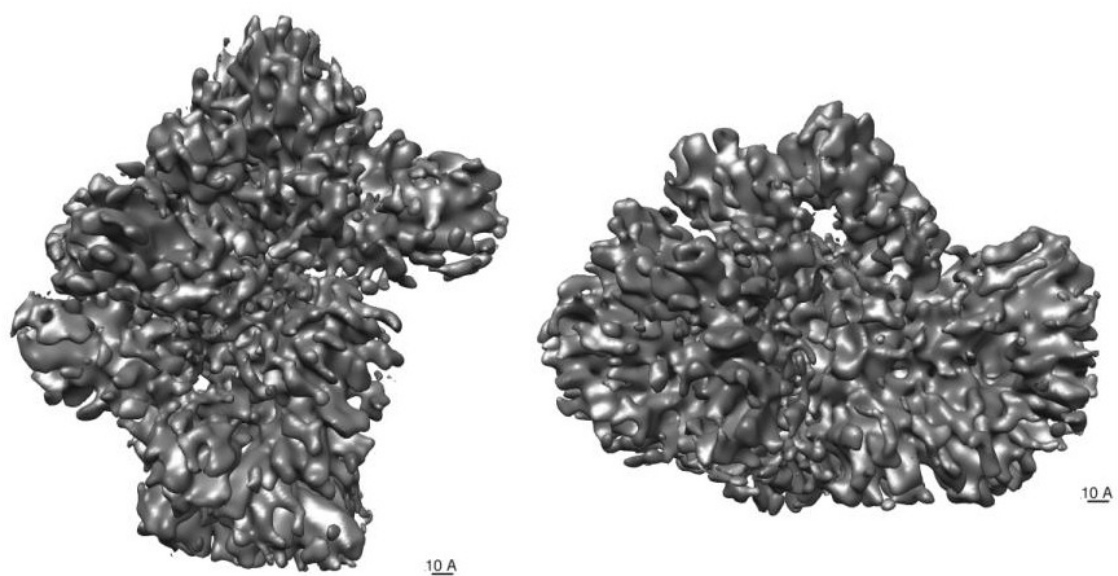
La traduction est une étape clé du cycle cellulaire : les protéines sont synthétisées grâce au décodage fidèle par le ribosome de l'information génétique portée par les ARN messagers (ARNm). Le recrutement de l'ARNm, la reconnaissance du codon d'initiation et son association avec l'anti-codon porte par l'ARNt-initiateur-Méthionine (ARNti-Met) font intervenir de nombreux facteurs appelés facteurs d'initiation (IFs). La phase d'initiation de la traduction est ici étudiée d'un point de vue structural chez une archae. Ces organismes permettent d'établir un modèle simplifié du mécanisme eucaryote car les processus d'initiation sont similaires (hormis le recrutement de l'ARNm) mais les archae utilisent un nombre réduit d'IFs [1]. Les complexes composés de la sous-unité ribosomale 30S, des facteurs d'initiation aIF1, aIF1A, aIF2, de l'ARNt-initiateur-Met, de GDPNP (analogue non hydrolysable du GTP) et d'un ARNm 22mers sont observés en cryomicroscopie électronique. A partir de 54 images d'échantillon vitrifié dans l'éthane liquide, 9898 particules sont sélectionnées et utilisées pour la reconstruction tri-dimensionnelle du complexe. Cette reconstruction est réalisée en utilisant le logiciel SPIDER [2] et permet d'obtenir un volume préliminaire à 1.9 nm de résolution. Pour améliorer cette résolution, 259 micrographes sont réalisés sur plan film. 212 de ces plans films sont conservés à partir desquels 61272 particules sont isolées et 55114 utilisées lors de plusieurs étapes d'affinement du précédent volume. Le volume final à la résolution de 0.97 nm a été calculé en utilisant 46764 particules et en appliquant la stratégie de reconstruction précédemment employée au laboratoire afin d'obtenir des structures à résolution subnanométrique [3].

Afin de déterminer la localisation des différents IFs sur la sous-unité 30S et les modifications de conformation du complexe liées à leur fixation, des reconstructions de complexes délétés en co-facteurs seront réalisés lors de la poursuite du projet.

[1] Kapp L.D. and Lorsch J.R., *Ann Rev Biochem*, 657-704, 73, (2004)

[2] Frank J. and Radermacher M., Penczek P., Zhu J., Li Y., Ladjadj M. and Leith A., *J Struct Biology*, 190-199, 116, (1996)

[3] Cotteville M., Larquet E., Jonic S., Petoukhov M.V., Caprini G., Paravisi S., Svergun D.I., Vanoni M.A. and Boisset N., *J Biol Chem*, 8237-49, 283, (2008)



Vues du complexe à 0.97 nm de résolution.

A hybrid method coupling normal mode analysis with projection matching to study structural flexibility of macromolecular assemblies

S. Jonic¹, C.O.S. Sorzano², F. Tama³, E. Larquet¹, N. Boisset¹

¹ IMPMC-UMR 7590, CNRS, Universités Paris 6 et Paris 7, IPGP, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris, France.

² Centro Nacional de Biotecnología - CSIC Campus Univ. Autónoma s/n, 28049 Cantoblanco, Madrid, Spain.

³ University of Arizona, 1041 East Lowell Street - BSW 448, 85721 Tucson, Arizona, AZ, USA.

A hybrid approach that integrates Normal Mode Analysis (NMA) [1] into a rigid-body, projection matching method [2-3] has been developed to study conformational changes in macromolecular assemblies (large-scale structural rearrangements). The novelty of this approach is that it allows exploring all intermediate conformations contrary to the existing methods that explore only a few distinct conformations. It applies the normal modes on three-dimensional (3D) atomic coordinates of a macromolecular complex to determine the deformation of the 3D model giving the projection that matches best with the experimental two-dimensional (2D) image. The deformation parameters and the 3D-to-2D alignment parameters are determined simultaneously. This method is currently used to study the swelling mechanism of the Tomato Bushy Stunt Virus (TBSV) [4] (Figure 1). In this work, we describe the NMA-based 3D-to-2D alignment method and show the results of its tests using synthetic data as well as experimental, cryo-electron microscopy (cryo-EM) data of the TBSV at different stages of swelling. In the future work, this method will be tested on dynamical studies of other macromolecular complexes.

[1] Tama F, Miyashita O, Brooks 3rd CL, *J Struct Biol*, 315-326, 147 (2004)

[2] Sorzano COS, Jonic S, El-Bez C, Carazo JM, De Carlo S, Thévenaz P, Unser M, *J Struct Biol*, 381-392, 146 (2004)

[3] Jonic S, Sorzano COS, Thévenaz P, El-Bez C, De Carlo S, Unser M, *Ultramicroscopy*, 303-317, 103 (2005)

[4] Aramayo R., C. Mérigoux C, Larquet E, Bron P, Pérez J, Dumas C, Vachette P, Boisset N, *Biochimica et Biophysica Acta*, 345-354, 1724 (2005)

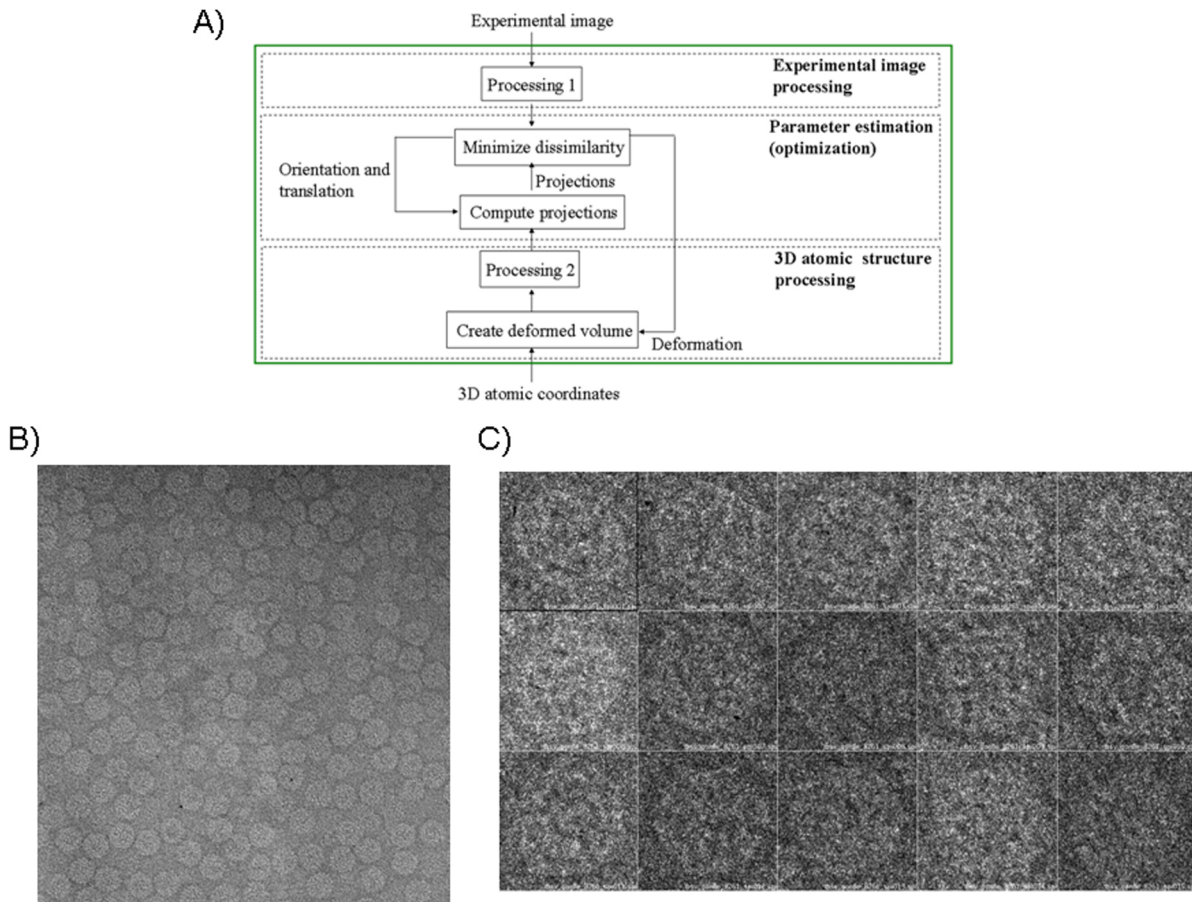


Figure 1 : Study of dynamics of macromolecular complexes by cryo-EM. A) Simplified algorithm coupling normal mode analysis with projection matching to study structural flexibility of macromolecular assemblies. B) Zone of a cryo-EM image containing TBSV at different states of swelling. C) Selection of TBSV particles from B) showing different states of swelling.

3D cryo-electron tomography of complex architectures

J.-C. Taveau¹, A. Desert^{1,2}, D. NGuyen^{2,3}, A. Perro^{2,3}, S. Ravaine³, E. Duguet², O. Lambert¹

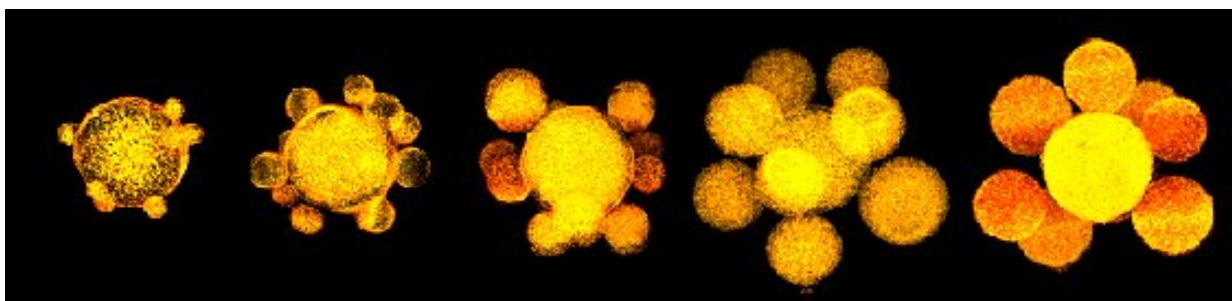
¹ Architecture of Membrane Complex and Cell Process. UMR-CNRS 5248, Université Bordeaux-1, ENITAB, IECB, Av. des Facultés, F-33405, Talence

² ICMCB, CNRS, Université Bordeaux-1, 87 avenue du Dr Albert Schweitzer, F-33608, Pessac Cedex.

³ Centre de Recherche Paul Pascal, Avenue du Dr Albert Schweitzer, F-33600, Pessac.

Cryo-electron tomography has allowed for the first time the investigation of the nucleation and growth of polystyrene (PS) nodules on 170 nm silica seeds under emulsion-polymerization conditions[1]. Three-dimensional (3D) arrangements were reconstructed from samples collected at several polymerization times (from 5 to 120 min). Early samples display the presence of small PS nodules bound to silica particles in a random distribution. For longer polymerization times, the number of PS nodules per silica seed decreases leading to octopod-like morphologies. The tomographic method allowed us to measure the contact angle that the growing PS nodules form with the silica bead surface. The average value of 142.4° remains constant over all of the observed period of the polymerization reaction. This contact angle appeared to be one of the key parameters for controlling the morphology of PS-silica biphasic particles.

[1] J.-C. Taveau, D. Nguyen, A. Perro, S. Ravaine, E. Duguet, O. Lambert, *Soft Matter*, 311-315, 4 (2008)



Molecular characterization of HCV pseudoparticles by cryo-electron microscopy using functionalized magnetic nanobeads.

P. Bonnafous¹, M. Perrault², O. LeBihan¹, B. Bartosch³, F.L. Cosset⁴, F. Penin², O. Lambert¹, E.I. Pécheur²

¹ Architecture des complexes membranaires et processus cellulaires, CBMN UMR-CNRS 5248, Université Bordeaux, ENITAB, IECB, Avenue des Facultés, F-33405 Talence

² Institut de Biologie et Chimie des Protéines, UMR CNRS 5086, Université Lyon 1, IFR128 Lyon Biosciences Gerland, 69007 Lyon

³ , U871, 69003 Lyon, France; Université Lyon 1, IFR62 Lyon-Est, 69008 Lyon, France; Hospices Civils de Lyon, Hôtel Dieu, Service d'hépatologie et de gastroentérologie, 69002 Lyon

⁴ Université Lyon 1, IFR128 Lyon Biosciences Gerland; INSERM, U758; Ecole Normale Supérieure de Lyon, Lyon, F-69007

Cell entry and fusion of the hepatitis C virus (HCV) depend on its envelope membrane fusion glycoproteins E1E2. A good study model is HCV pseudotyped particles (HCVpp), closely mimicking early steps of HCV lifecycle. However no structural characterization of HCVpp is available yet. Cryo-EM revealed HCVpp as regular 100-nm spherical structures containing the dense retroviral nucleocapsid surrounded by a lipid bilayer. E1/E2 glycoproteins were hardly visible at the membrane surface. Pseudoparticles bearing the E1/E2 glycoproteins of the Semliki forest virus (SFVpp) looked similar, whereas influenza hemagglutinin-pseudotyped particles (HApp) exhibited surface spikes. To further characterize HCVpp structurally, we designed a novel method based on protein A-coated magnetic beads covered with anti-E2 antibodies, to enrich our samples in particles harboring E1E2 at their surface. HCVpp could be efficiently sorted by this strategy, which also proved useful at sorting SFVpp with an appropriate anti-SFV antibody. Sorted HCVpp were then observed by cryo-EM in the absence or presence of liposomes. After acidification HCVpp displayed similar morphology as at neutral pH and were closely contacting liposomes. These are the first visualizations of early HCV fusion event(s) at this scale. Our study therefore brings several new molecular details to HCVpp characterization and our efficient strategy of virion immuno-sorting with magnetic nanobeads is direct, efficient and adaptable to extensive characterizations of any virus at a nanometric resolution.

Glycodendrimères préparés *in vitro* par élongation enzymatique des chaînes de surface du glycogène

J.-L. Putaux¹, G. Potocki-Véronèse², A. Buléon³

¹ Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, CNRS, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9

² Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, INSA-INRA-CNRS, 135 Av. de Ranguueil, 31077 Toulouse Cedex 4

³ Institut National de la Recherche Agronomique, BP 71627, 44316 Nantes Cedex 3

L'amylose, homopolymère linéaire d'unités glucosyles liées en $\alpha(1,4)$ et l'un des deux principaux constituants de l'amidon natif, peut être synthétisée *in vitro* par l'amylosaccharase de *Neisseria polysaccharea* à partir de saccharose comme unique substrat [1]. Lorsque l'amylose est synthétisée en milieu homogène, nous avons montré que la morphologie et la structure des produits issus de sa cristallisation, ainsi que la longueur de chaîne finale et la concentration critique de précipitation, dépendaient uniquement de la concentration initiale en saccharose [2]. Par ailleurs, nous avons utilisé l'amylosaccharase comme outil de glucosylation pour allonger les chaînes externes du glycogène, glucane hyper-ramifié pour lequel la grande affinité de l'enzyme a été démontrée [3]. Des particules de glycogène d'huître de 30 nm de diamètre (Figure 1a) ont été incubées avec l'amylosaccharase en présence de saccharose. Les produits formés en utilisant différents rapports massiques saccharose/glycogène initiaux ont été visualisés par microscopie électronique en transmission (MET) conventionnelle et cryo-MET à différents stades d'élongation. Avec un rapport saccharose/glycogène initial élevé (de l'ordre de 350), après 2h45 d'incubation, nous avons observé des particules d'un diamètre moyen de 200 nm, constituées d'un cœur de glycogène et d'une couronne diffuse de chaînes linéaires de type amylose résultant de l'élongation des chaînes externes du glycogène (Figure 1b) [4]. Après 13 h, les particules sont plus petites mais semblent plus denses (Figure 1c). Les segments linéaires constituant la couronne ont formé des doubles hélices qui se sont associées pour former un réseau semi-cristallin. Pour un rapport saccharose/glycogène initial proche de 1, l'élongation des chaînes externes du glycogène est faible et le diamètre des particules augmente très peu. Néanmoins, les chaînes ont été suffisamment allongées pour former des doubles hélices et s'associer en petits cristallites. Ces "glycodendrimères" d'un nouveau type, préparés en phase aqueuse sans chimie de synthèse, pourraient piéger et, le cas échéant, relarguer de petites molécules (alcools, lipides, arômes, etc.) par formation de complexes cristallins avec la couronne d'amylose [5]. Ils présenteraient alors des propriétés intéressantes pour différentes applications agroalimentaires, pharmaceutiques ou phytosanitaires.

[1] G. Potocki de Montalk, P. Sarçabal, M. Remaud-Siméon, R.M. Willemot, V. Planchot, P. Monsan, FEBS Lett. 219-223, 471 (2000)

[2] G. Potocki-Véronèse, J.-L. Putaux, D. Dupeyre, C. Albenne, M. Remaud-Siméon, P. Monsan, A. Buléon, Biomacromolécules 1000-1011, 6 (2005)

[3] G. Potocki De Montalk, M. Remaud-Siméon, R.M. Willemot, P. Monsan, FEMS Microbiol. Lett. 103-108, 186 (2000)

[4] J.-L. Putaux, G. Potocki-Véronèse, M. Remaud-Simeon, A. Buléon. Biomacromolécules 1720-1728, 7 (2006)

[5] A. Buléon, G. Véronèse, J.-L. Putaux, Aust. J. Chem. 706-718, 60 (2007)

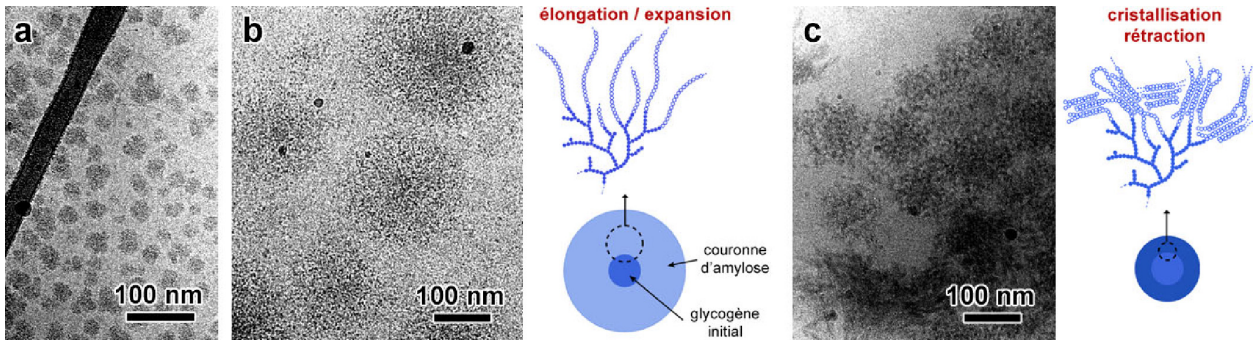


Figure 1. a) Glycogène initial; b) particules observées après 2h45 d'incubation avec l'amylo-saccharase en présence de saccharose. Le modèle à droite décrit l'allongement des chaînes de surface du glycogène par l'enzyme; c) particules observées après 13 h. Les chaînes synthétisées forment des doubles hélices et la couronne se rétracte par cristallisation. Les images ont été enregistrées par cryo-MET au moyen d'un microscope Philips CM200 'Cryo'.

New insights into the structure and function of rabbit skeletal muscle Phosphorylase Kinase

C. Carrière ¹, S. Jonic ¹, E. Larquet ¹, J.-P. Mornon ¹, C. Venien-Bryan ², I. Callebaut ¹, N. Boisset ¹

¹ IMPMC-UMR 7590, CNRS, Universités Paris 6 et Paris 7, IPGP, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris, France

² Laboratory of Molecular Biophysics, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 3QU, United Kingdom

During a physical exercise, the activity of the Phosphorylase Kinase (PhK) is very high, promoting an optimal level of glucose in skeletal muscle. Its major role is to catalyze the conversion of the inactive Glycogene Phosphorylase (GPb) to an active form (GPa) by phosphorylation. The PhK is composed of four copies of the alpha, beta, gamma and delta subunits forming a hexadecameric structure (total mass : 1.3 MDa, alpha : 138 kDa, beta : 125 kDa, gamma : 45 kDa, delta : 17 kDa). This structure is organised into two lobes with D2 symmetry. Each lobe comprises one octamer, and the lobes are connected by bridges. The alpha and beta subunits account for two-thirds of the protein mass. They have similar sequences, which is probably due to gene duplication. The delta subunit is a typical calcium binding protein, calmodulin, which is bound tightly to the complex. The gamma subunit is the catalytic subunit, whose function is to phosphorylate serine and threonine residues on PhK alpha and beta, and GPb. Despite the importance of the PhK and several studies devoted to the analysis of its biochemistry and structure, very little is known about the intricate Ca²⁺-sensitive communication network among the subunits of the enzyme and the allosteric regulation of the holoenzyme activity in response to effector ligands.

We coupled several approaches to improve our understanding of the structure and function of the PhK such as 3D reconstruction from images acquired in a cryo-electron microscope (cryo-EM), 3D structure prediction by homology modelling, and fitting of modelled and experimental atomic 3D structures of the subunits into the 3D cryo-EM density map. Indeed, before we started this work, only the experimental structures of the catalytic domain of the gamma subunit and of the delta subunit (both at atomic resolution), and a low-resolution, negative-stain EM structure of the entire PhK (at the resolution of 2.2 nm) have been available. We have employed cryo-EM and associated image processing to obtain high-resolution structure of the entire PhK. This methodology led to the resolution of the structure of the entire PhK at 0.99 nm [1], and is presented in the companion paper at this meeting.

To predict the structures of the alpha and beta subunits at an atomic level, we have chosen sensitive approaches of sequence analysis, such as Hydrophobic Cluster Analysis (HCA) to detect remote relationships between these subunits and proteins of known structure from the available structural database. A comparative analysis of the PhK alpha and beta subunits from different species allowed the prediction of the probable limits of four domains (labelled A, B, C and D). Domain A shares significant similarities with members of the Glycoside Hydrolase family 15 (GH15). The alignment of domain A with GH15 of known 3D structures was refined to build an accurate model of its 3D structure [2]. Domains C and D are related to each other, and share significant similarities with Calcineurin B-like (CBL) proteins, which are members of the EF-hand family involved in the regulation of plant specific kinases [3]. The 3D model of domain D suggests the conservation of a regulatory switch in the C terminal extension of the domain,

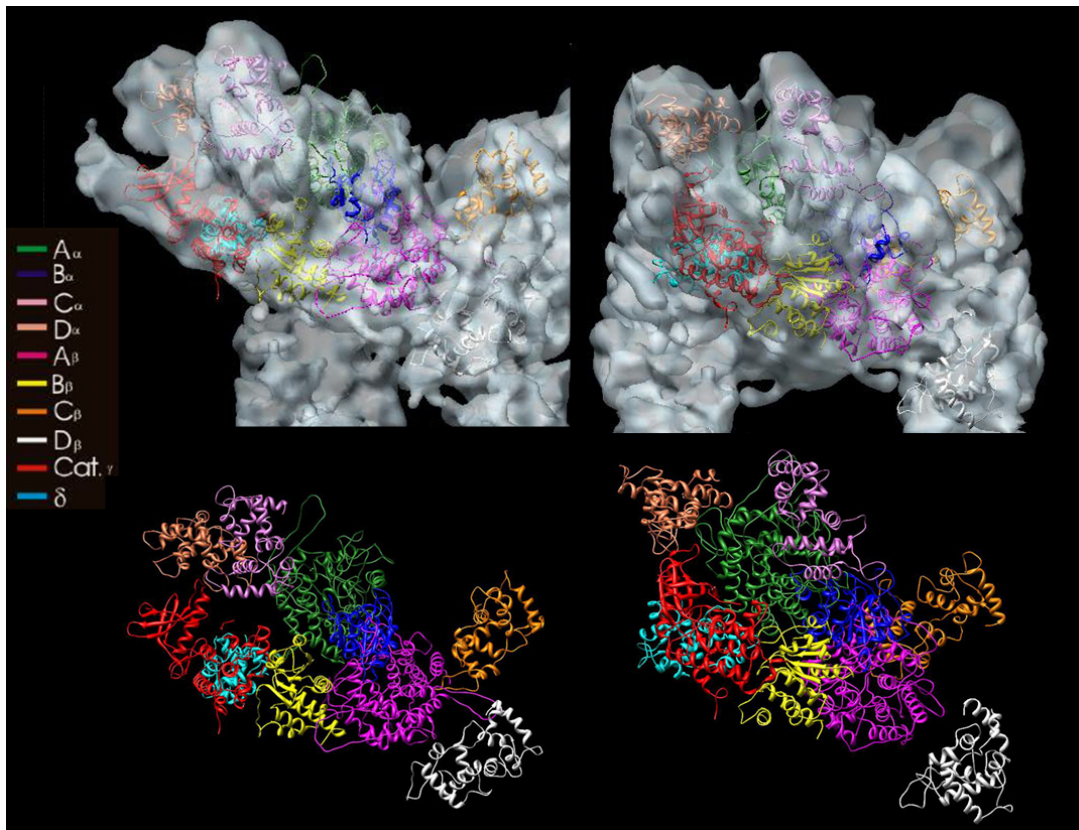
which in the uncomplexed CBL structure occupies the crevice involved in the interaction with the regulatory extension of the kinase subunit. The 3D models of domains A (GH15) and D (CBL-like) were also exploited to map missense mutations associated to the PhK alpha subunit and leading to glycogenosis [2]. Sequence similarities of the domain B with other proteins are currently investigated, in order to provide valuable templates for homology modelling of the only domain for which no 3D structure can yet be ascribed.

Preliminary results of fitting modelled and experimental 3D structures at atomic resolution in the asymmetric unit of the 3D cryo-EM map of the PhK at the resolution of 0.99 nm are shown for two PhK views in Figure 1 (top). Pseudo-atomic model of a PhK tetramer is also shown in Figure 1 (bottom : images from the top after removing the cryo-EM map).

[1] C. Vénien-Bryan, S. Jonic S, V. Skamnaki V, N. Brown, N. Bischler, N.G. Oikonomakos, N. Boisset and L.N. Johnson, *Structure*, 117-127, 17 (2009)

[2] C. Carrière, S. Jonic, J.-P. Mornon and I. Callebaut, *Biochim Biophys Acta*, 664-670, 1782 (2008)

[3] C. Carrière, J.-P. Mornon, C. Venien-Bryan, N. Boisset and I. Callebaut, *Proteins*, 1597-1606, 71 (2008)



L'étape d'accommodation de la trans-traduction révélée par cryo-microscopie électronique

F. Weis¹, P. Bron², JP. Rolland², D. Thomas², B. Felden¹, R. Gillet¹

¹ Université de Rennes I, Inserm U835, UPRES JE 2311, Biochimie Pharmaceutique, 2, avenue du Professeur Léon Bernard, 35043 Rennes, France

² Université de Rennes I, UMR-CNRS 6026, Equipe " Structure et Dynamique des Macromolécules ", Bat. 13, campus de Beaulieu, 35042 Rennes, France

La biosynthèse des protéines, assurée par le ribosome, est un mécanisme vital permettant de traduire précisément l'information génétique de tout organisme vivant en une séquence d'acides aminés. Les bactéries ont développé un système de " contrôle-qualité " de cette traduction, nommé trans-traduction. Lorsque le ribosome se bloque sur un ARN messager (ARNm) tronqué, l'ARNtm, qui fonctionne à la fois comme un ARN de transfert (ARNt) et un ARNm, intervient. Associé à la petite protéine basique SmpB, il permet de libérer les ribosomes et de détruire les protéines défectueuses engendrées. De précédents résultats structuraux nous ont permis de mieux appréhender les étapes précoces de la trans-traduction, mais des zones d'ombre persistent encore quant aux étapes ultérieures. Notre travail a consisté à reconstituer in vitro des complexes ribosomiques bloqués après l'étape d'accommodation de l'ARNtm et départ du facteur d'élongation EF-Tu. Les échantillons ont été vitrifiés par congélation ultrarapide et observés sous faible dose d'électrons à une tension de 200kV à l'aide d'un microscope Tecnai G2 Sphera (FEI). Les négatifs ont été enregistrés à un grandissement nominal de 50 000. Sur 500 négatifs réalisés, 168 ont été sélectionnés et numérisés. L'extraction et l'analyse en particules isolées du complexe a été réalisée à l'aide du logiciel Imagic5. En utilisant la technique in silico de " Classification Focus " [1, 2] nous avons séparé les particules et reconstruit plusieurs structures différentes, dont le complexe accommodé. La structure de ce complexe sera discutée au regard des données biochimiques et génétiques de cette étape clé de la trans-traduction.

[1] B.P. Klaholz, A.G. Myasnikov and M. Van Heel Nature, 427, 862-865 (2004).

[2] P.A. Penczek, J. Frank and C.M.T. Spahn, J. Struct Biol, 154, 184-194 (2006)

Caractérisation ultra-structurale des cils et du cortex de *Paramecium tetraurelia* par CEMOVIS

R. Ibrahim¹, C. Fisch², F. Livolant³, S. Marco¹, P. Dupuis-Williams², A. Leforestier³

¹ Institut Curie, Centre de Recherche, INSERM, U759, 91405 Orsay, France

² U829 INSERM UEVE, 91025 Evry, France

³ Laboratoire de Physique des Solides, UMR 8502, Bât. 510, Université Paris-Sud, 91405 Orsay, France

Paramecium tetraurelia est un organisme eucaryote unicellulaire de grande taille ($\sim 100\mu m$) qui comme les autres ciliés est caractérisé par la présence de cils vibratiles (plus de 4000 par cellule) en surface. Sous la membrane externe, le cortex de la paramécie est une mosaïque complexe formant des mailles polygonale où alternent crêtes et bassins [1]. Chaque cil, ancré au niveau d'un corps basal, traverse le cortex au niveau de la dépression de l'unité corticale. Nous analysons ici le cil et zone corticale de *Paramecium tetraurelia* par cryo-microscopie électronique de sections vitreuses (CEMOVIS), après vitrification du cortex par 'slam-freezing' à l'hélium liquide [2]. Cette approche permet d'avoir accès aux structures cellulaires dans un état hydraté, proche de l'état natif [3].

Contrairement aux images obtenues par les techniques classiques de microscopie électronique, la membrane plasmique autour des cils et du cortex est lisse et tendue. Au niveau des cils, elle peut localement se décoller de l'axonème et former des 'ampoules' ou des 'pincements' (a, b, flèches). L'origine et le rôle de ces structures sont encore inconnus, mais nos images suggèrent qu'elles pourraient être impliquées dans le transport intraflagellaire, qui n'a encore jamais été localisé chez la paramécie. Sur la surface externe de la membrane plasmique, nous montrons l'existence d'une couche dense (b-d) de 25 à 40 nm d'épaisseur. Cette région présente une striation de période 3 à 3.5 nm (flèches), suggérant l'existence d'un réseau fibrillaire de surface, probablement de nature polysaccharidique.

Le cortex de la paramécie est sous-tendu par trois réseaux de fibres dont nous déterminons la structure : les fibres kinéto-desmales formées de filaments intermédiaires qui relient les corps basaux à la membrane cellulaire, les bandes striées qui sous-tendent les invaginations corticales de la membrane plasmique, et les fibres du réseau infracillaire, principalement composé de centrines qui forment un réseau ordonné à trois dimensions.

Le cortex de la paramécie est également un lieu de trafic membranaire, incluant des processus d'endo- et d'exocytose et la présence d'un appareil de Golgi par unité corticale. Chaque unité est sous-tendue par un sac alvéolaire dont la fonction présumée est le stockage du calcium intracellulaire. Nous montrons l'existence de saccules, intercalés entre le sac alvéolaire et la membrane plasmique (i), et localisés dans un coin de l'unité corticale. La résolution apportée par la méthode de CEMOVIS, permet l'analyse de la connectivité de ces saccules (j) qui forment un réseau complexe sous la membrane plasmique (k).

Enfin, des images du corps basal (g) ont été obtenues, montrant en particulier la présence d'une structure dense à l'intérieur des triplets de microtubules (h), non détectée par les techniques classiques de microscopie électronique [4]. La comparaison avec les données obtenues en parallèle sur centrioles isolés *in vitro* (voir Guichard *et al.* : 'Daughter centriole morphogenesis and structural details of isolated human centrosomes revealed by cryo-electron tomography'), devrait permettre de progresser dans la connaissance du corps basal et du centriole.

Ces résultats montrent comment la technique de CEMOVIS permet de visualiser la structure

fine de la paramécie avec une résolution inégalée ($< 1.5\text{nm}$). Elle est en particulier bien adaptée à l'analyse des structures membranaires et fibrillaires [6]. Ces données seront complétées par une analyse 3D des cryosections par cryo-tomographie électronique (CETOVIS).

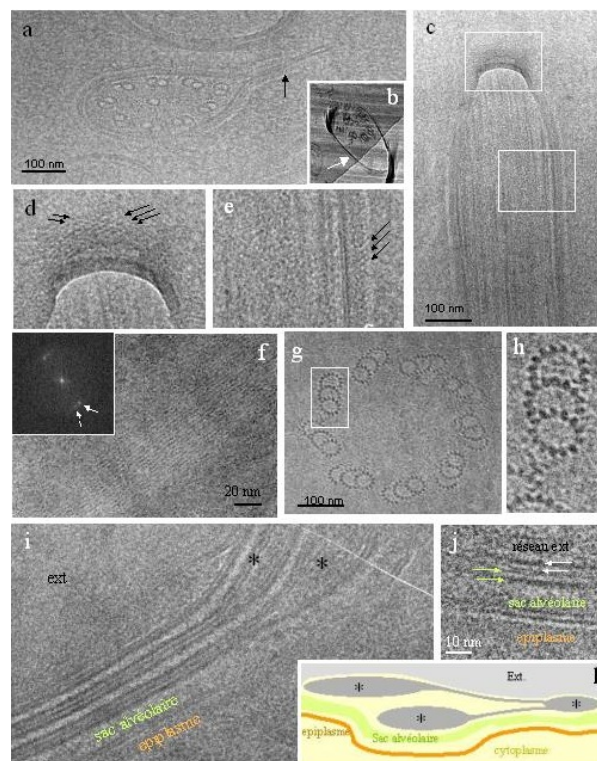
[1] R.D. Allen, J. Cell Biol., 1-20, 49 (1971)

[2] J. Escaig, J. Microsc., 221-229, 126 (1982)

[3] Al-Amoudi et al., EMBO J., 3583-3588, 23 (2004)

[4] P. Dupuis-Williams, A. Fleury-Aubusson, N. Garreau de Loubresse, H. Geoffroy, L. Vayssie, A. Galvani, A. Espigat., J. Rossier, J. Cell Biol., 1183-1193, 158 (2002)

[5] J. Dubochet, B. Zuber, M. Eltsov, C. Bouchet-Marquis, A. Al-Amoudi, F. Livolant F., Methods Cell Biol., 385-406, 79 (2007)



(a,b) Coupes transversales de cils présentant un pincement (a, flèche) ou un gonflement (b, flèche) de la membrane plasmique.

(c) Coupe longitudinale d'un cil recouvert d'une couche dense de 25 – 30nm d'épaisseur.

(d,e) Un agrandissement des zones encadrées permet de visualiser un réseau strié (de période 3 à 3.5nm) selon deux directions croisées.

(f) Saccules (*) localisés entre la membrane plasmique et les sacs alvéolaires.

(g) La connectivité des compartiments est mise en évidence par l'analyse fine des bicouches membranaires. Ici la bicouche de la membrane plasmique (flèches blanches) est séparée de la bicouche de la membrane du sac alvéolaire (flèches vertes) par une distance $d = 1.8\text{nm}$.

(h) Schéma des compartiments sous jacents à la membrane externe de la paramécie.

(i) Coupe transversale d'un corps basal.

(j) Les microtubules formant les triplets présentent une densité centrale, bien visible au niveau du microtubule externe.

Cryo-TEM study of protein-lipid membrane interactions

J. Lai Kee Him¹, C. Gounou¹, E. Connell², A. Giniatullina², B. Davletov², A. Brisson¹

¹ IECB, UMR-CNRS 5248, Université Bordeaux 1, F-33405 Talence, France

² MRC, Laboratory of Molecular Biology, Hills Road, Cambridge, CB2 0QH, UK

Annexins are soluble proteins that bind to biological membranes containing negatively charged phospholipids in a calcium-dependent manner. Annexin A5 has the property to self-assemble into ordered 2D arrays of trimers upon binding to a membrane surface [1]. A chimerical A5-dimer molecule has been designed and possesses all the binding properties of an individual A5 protein. Thus, this chimerical A5-dimer can bind to two phospholipid membrane surfaces, creating a protein-lipid membrane junction. These membrane junctions were visualised and characterised by cryo-TEM. Synaptotagmin are vesicular proteins implicated in many membrane trafficking events. They are highly conserved and possess tandem C2 domains (also known as C2AB) connected to a single transmembrane region with a variable-length linker. These C2 domains are involved in the phospholipid binding in a calcium-dependent manner. Cryo-TEM images show that tandem C2 domains trigger membrane apposition at a defined distance of approximately 9 nm (Figure 1) [2].

[1] F. Oling, W. Bergsma-Schutter, A. Brisson, *J. Struct. Biol.* 55-63, 133 (2001)

[2] E. Connel, A. Giniatullina, J. Lai-Kee-Him, R. Tavare, E. Ferrari, A. Roseman, D. Cojoc, A.R. Brisson, B. Davletov, *J. Mol. Biol.* 42-50, 380 (2008)

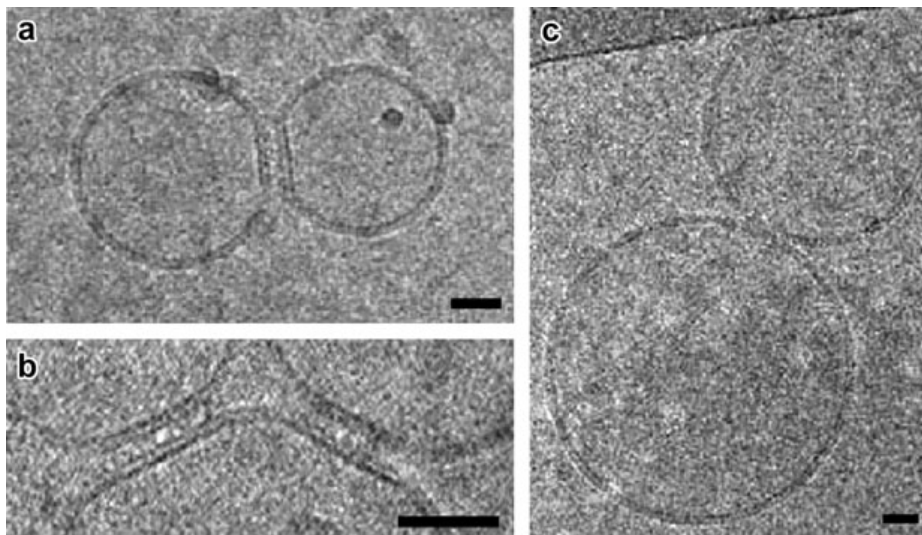


Figure 1. Cryo-TEM images indicate close apposition of two phospholipid membranes by synaptotagmin 1 C2AB : a,b) C2AB (0,1 μM) membrane junctions in the presence of 1 mM calcium ; c) in the absence of calcium, C2AB did not promote the formation of junctions between membranes. Scale bars : 50 nm.

Soluble protamine-DNA aggregates

J. Degrouard¹, M. Renouard¹, A. Toma¹, M. de Frutos¹, E. Raspaud¹, F. Livolant

¹ Laboratoire de Physique des Solides, UMR8502 CNRS-Université Paris Sud 11, 91405 Orsay cedex, France

DNA condensation induced by multivalent cations has attracted much attention from physicists and physical-chemists during the last few decades. DNA is one of the most negatively charged polymers and is consequently an appropriate system to study electrostatic interactions in general. Another motivation is related to the high biological relevance and the therapeutic applications for which DNA compaction in a small volume is required. In this study we considered the DNA condensation by the salmon protamine, a highly basic protein carrying 21 positive charges out of 30 aminoacids. We first determined conditions of precipitation of DNA by exploring a large range of ionic conditions ($1\text{mM} < \text{CNaCl} < 1\text{M}$) and +/- ratios up to 3000 (positive charges being carried by protamines and negative charges by phosphate groups along DNA) [1]. In the low salt range, the precipitation domain is very narrow, and centered at a ratio +/- close to 1. For lower and higher ratios, soluble aggregates are formed. We focus here on the structure of these aggregates formed with 50nm DNA fragments (146bp) that have been analyzed i) by electrophoretic mobility, showing that they are either negatively or positively charged, respectively below or above the precipitation domain, ii) by electrophoresis where multiple discrete bands can be seen and iii) by cryoelectron microscopy in thin vitrified films. We show that DNA fragments are aligned and hexagonally packed to form bundles of finite dimensions.

[1] A. Toma, PhD thesis, University Paris XI, Orsay, December 2008.

Cryo-electron microscopy of spermine-DNA toroids and fibers

B. Sung^{1,2}, J. Degrouard¹, F. Livolant¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, UMR 8502 CNRS-Université Paris Sud 11, 91405 Orsay cedex, France

² Biomedical Physics Laboratory, Department of Physics and Astronomy, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea

The collapse of DNA chains into well-defined nanometer scale particles can be induced by addition of multivalent cations, polypeptides or proteins and results in the formation of toroids, rods or spherical globules [1]. This phenomenon has been studied for years as a model of DNA packing in living systems, particularly in viruses. Cryoelectron microscopy revealed the local hexagonal packing of DNA [2] and these spectacular images raised many questions that are still pending. Much less attention has been devoted to the understanding of the parameters that would control the presence of toroids versus rods and globules, and their structural details. By using cryo-TEM, we analyzed the structure of DNA condensates using Lambda-phage DNA (48 kbp) and the tetravalent polycation spermine (sp) in 10mM Tris buffer. The DNA concentration was fixed at 0.03 mM, and the spermine concentration varied from 0.05 to 400 mM to explore a large range of conditions, starting at the onset of precipitation up to above the re-solubilization limit. Isolated toroids and globules can be found at $C_{sp}=0.05\text{mM}$ and 100 mM whereas they always aggregate at $C_{sp}=1\text{mM}$. Bundles are also found under a large range of ionic conditions. They are predominant at $C_{sp}=200\text{mM}$, with diameters ranging from 10 to 50nm. At $C_{sp}=400\text{mM}$, outside of the precipitation domain, DNA chains form a network of thin fibrils 4-6nm in diameter. Attempts have also been made to follow the kinetics DNA condensation for a spermine concentration (0.05 mM). Samples have been frozen at different times after the initiation of the reaction. No condensed sates of DNA are found at $t=6\text{s}$. At $t = 9\text{ s}$, toroids, globules, and rods are observed, and most of them are connected to fine bundles or to fibers. Their sizes, morphologies, and densities are very diverse. After 20 s, a lot of isolated toroids, small globules and long bundles are found. The toroids are usually larger (outside diameter 120-160 nm) and often linked to bundles. Intermediate shapes between rods and toroids are also found. Large bundles form after 60 s, most of them being stuck (or connected) to toroids. Structural details of the toroids and bundles will also be presented, showing that not only the shape but also the structure of the bundles and toroids varies with the ionic conditions and with time.

[1] LC. Gosule and JA. Schellman, *J.Mol. Biol.*, 121, 311-326 (1978). DK. Chatteraj, LC. Gosule and A. Schellman, *J.Mol. Biol.*, 121 327-333 (1978). J. Widom and RL. Baldwin, *J. Mol. Biol.*, 144, 431-453 (1980)

[2] NV. Hud and KH. Downing, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 14925-14930 (2001)

Effects of XMAP215 on Microtubule Dynamics and Structure

F.M. Coquelle¹, K. Kinoshita², B. Vitre¹, S. Rybina³, C. Heichette¹, E. Karsenti³, I. Arnal¹, D. Chrétien¹

¹ Université de Rennes 1 - CNRS, UMR 6026, Rennes, France

² Chromosome Dynamics Laboratory, RIKEN, Wako, Japan

³ EMBL, Cell Biology and Biophysics Unit, Heidelberg, Germany

Microtubules undergo dynamic instability, an intrinsic property characterized by stochastic transitions between growing and shrinking phases. This remarkable microtubule behavior, which is essential for various cellular functions including cell division and morphogenesis, is finely tuned *in vivo* by numerous MAPs (Microtubule-Associated Proteins). XMAP215 is a highly conserved *Xenopus* MAP described primarily as a potent factor stimulating microtubule growth rate. Although the effects of XMAP215 on microtubule dynamics have been extensively studied in cells and *in vitro*, the detailed molecular mechanisms sustaining its specific activity are still unclear and the proposed models remain controversial. Here we describe how XMAP215 affects the dynamics and structure of microtubules built up from pure tubulin. Using video-enhanced differential interference contrast light microscopy and turbidimetry, we found that XMAP215 promotes spontaneous nucleation and growth of microtubules, and stimulates catastrophes (transitions from growth to shrinkage). Electron cryomicroscopy showed that XMAP215 significantly inhibits the assembly of highly stressed microtubule lattices, and strongly reduces local lattice defects (i.e. changes in lattice configuration along the same microtubule). Therefore, while promoting microtubule assembly, XMAP215 seems to process tubulin-sheet closure into energetically favorable microtubule configurations. We are currently investigating the precise localization of XMAP215 on microtubules using electron cryotomography.

[1] B. Vitre, F.M. Coquelle, C. Heichette, C. Garnier, D. Chrétien and I. Arnal, *Nature Cell Biology*, 415-421, 10 (2008)

[2] V. Hunyadi, D. Chrétien and I.M. Jánosi, *Journal of Molecular Biology*, 927-938, 348 (2005)

[3] D. Chrétien and S.D. Fuller, *Journal of Molecular Biology*, 663-676, 298 (2000)

Studies of two-dimensional assemblies of post-fusion class II viral envelope proteins on lipids by Electron Microscopy

R. Al Kurdi¹, R. Phillips¹, E. Navarro Sanchez¹, K. Moncoq¹, F. Rey

¹ Structural Virology Unit, Department of Virology, Pasteur Institute, Paris - France

All enveloped viruses enter cells by inducing the fusion of the viral and cellular membranes. This process is induced by a conformational change in the viral surface glycoprotein – triggered upon interactions with the host cell - which insert a “fusion peptide” into the target membrane in the first step of membrane fusion. Structural studies have provided snapshots of the fusogenic proteins both in their pre- and post-fusion conformations [1-3], but the pathway of the structural transition is not known. Furthermore, a key aspect is the interaction of the fusion peptide with lipids, which includes formation of higher order interactions between adjacent trimers of the fusogenic proteins on the membranes, which cannot be studied by X-ray crystallography of the solubilized proteins. The goal of the present project is to use electron crystallography to complete our understanding of the process of protein-induced membrane fusion – which is central not only to viruses but to all forms of life. Recombinant forms of the fusion proteins E1 from three Togaviridae, the alpha- Semliki Forest (SFV), Chikungunya (CHK) and Rubella (RV) viruses, but also the West Nile flavivirus envelope fusion protein, are produced in the *Drosophila* S2 cells and the purified recombinant proteins are used for growing 2D crystals at the surface of a lipid monolayer. The collected 2D crystals are followed by cryo-electron crystallography and image analysis. Indeed, electron diffraction from 2D crystals is the only method capable of providing high resolution information of the interaction of fusion proteins with lipids in membrane.

[1] Rey FA, Heinz FX, Mandl C, Kunz C, Harrison SC. The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. *Nature*. 375(6529) :291-8 (1995)

[2] Gibbons DL, Vaney MC, Roussel A, Vigouroux A, Reilly B, Lepault J, Kielian M, Rey FA. Conformational change and protein-protein interactions of the fusion protein of Semliki Forest virus. *Nature*. 427(6972) :320-5 (2004)

[3] Gibbons DL, Erk I, Reilly B, Navaza J, Kielian M, Rey FA, Lepault J. Visualization of the target-membrane-inserted fusion protein of Semliki Forest virus by combined electron microscopy and crystallography. *Cell*. 114(5) :573-83 (2003)

[4] Bressanelli S, Stiasny K, Allison SL, Stura EA, Duquerroy S, Lescar J, Heinz FX, Rey FA. Structure of a flavivirus envelope glycoprotein in its low-pH-induced membrane fusion conformation. *EMBO J*. 23(4) :728-38 (2004)

Trafic membranaire dans la voie sécrétoire de levure : étude en microscopie électronique

JM. Verbavatz¹, A. Rambourg¹

¹ IBITEC-S et URA2096 CEA-CNRS, CEA-Saclay, Gif-sur-Yvette et LRA17V, Université de Paris-Sud-11, Orsay, France

Dans les cellules eucaryotes, la voie sécrétoire est le processus qui conduit à l'exocytose et à la sécrétion de protéines grâce à un transport membranaire polarisé du réticulum endoplasmique (RE) vers l'appareil de Golgi, suivi d'un transport de vésicules ou grains de sécrétion qui fusionnent avec la membrane plasmique pour relarguer leur produit de sécrétion. Dans les cellules animales et végétales, en microscopie électronique, l'appareil de Golgi apparaît généralement comme un empilement de saccules plats, avec un face 'cis' tournée vers le RE péri-nucléaire et une face 'trans' du côté opposé, et d'un réseau de tubules membranaires et de grains de sécrétions appelé 'Trans Golgi Network' (TGN), à l'extrémité 'trans' du Golgi. Sur des coupes fines, ces saccules apparaissent entourés de vésicules. Le long de la voie sécrétoire, les protéines provenant du RE subissent une maturation, à travers des modifications post-traductionnelles et l'addition progressive de carbohydrates de la face 'cis' à la face 'trans' de l'appareil de Golgi. Le tri des produits de sécrétion est alors réalisé au niveau du TGN. L'existence d'un transport rétrograde, à contre courant de la voie sécrétoire a également été mis en évidence.

Jusqu'à ces dernières années il était généralement admis que le transport antérograde dans la voie sécrétoire du RE vers le Golgi, puis entre saccules golgiens et enfin de la face trans du Golgi vers les membranes plasmiques était assuré par des vésicules. C'est la théorie du 'trafic vésiculaire'. Cependant, une théorie plus récente, dite 'de la maturation' propose que les saccules golgiens, néo-formés du côté 'cis' pourraient migrer en bloc à travers l'appareil de Golgi au cours de la maturation progressive de leur contenu. Sur la face 'trans', le produit de sécrétion des saccules matures, serait trié et fragmenté au niveau du TGN. Dans ce modèle, les vésicules péri-golgiennes permettrait d'assurer le transport rétrograde, notamment pour assurer le retour des enzymes résidentes du Golgi et du RE à contre-courant du flux de maturation. L'ensemble de ces conclusions repose notamment sur des observations biochimiques, in-vitro, sur des observations de cellules ou de coupes en microscopie. Cependant, seule la microscopie électronique (ME) apporte la résolution nécessaire à la détermination de la structure de l'appareil de Golgi. Malheureusement, la ME ne permet pas l'observation de cellules vivantes. De plus, la détermination de l'organisation tridimensionnelle des endomembranes cellulaires est limitée dans l'espace par l'observation de coupes fines.

Depuis quelques années, nous avons tenté de mettre en oeuvre des techniques permettant de surmonter ces limites de la microscopie électronique. Chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, des mutants thermosensibles de la voie sécrétoire ont été obtenus : à température restrictive, le trafic intracellulaire peut être bloqué, de manière réversible, à différents étapes, précoces ou tardives le long de cette voie. L'utilisation de ces mutants permet ainsi de décomposer les différentes étapes de la sécrétion pour en reconstituer ensuite le déroulement. Chez la levure sauvage ou à température permissive, l'appareil de Golgi ne présente pas d'empilement de saccules ; il est constitué d'un réseau de tubules et de grains de sécrétion qui évoquent le TGN. Dans des mutants *sec7* de levure à température restrictive, on observe l'accumulation de des zones tubulaires, puis leur empilement et leur remplissage progressifs, conduisant à la formation de saccules semblables au Golgi de plantes ou d'animaux. Ces observations suggèrent que les

sacculs golgien résultent de l'accumulation de membrane en amont du TGN dans le cadre d'un flux continu de sécrétion. Dans le cadre de ces études, nous utilisons la tomographie électronique sur des coupes épaisses de levure pour préciser l'organisation tridimensionnelle des endomembranes de la voie sécrétoire. Contrairement aux observations sur coupes fines, nous n'avons pas observé de vésicules associées à l'appareil de Golgi sur des coupes épaisses de levure. Par contre, la voie sécrétoire semble être constituée de réseaux de fins tubules dont la section en coupe fine est semblable à celle de vésicules. L'ensemble de ces observations suggère que dans la levure *Saccharomyces cerevisiae*, l'appareil de Golgi pourrait être constitué d'un réseau tubulaire continu, qui conduit progressivement à la maturation et à la ségrégation de grains de sécrétions. Lorsque la sécrétion est ralentie en aval du Golgi, on observe un l'empilement et le remplissage progressif des zones tubulaires. Ainsi la structure de l'appareil de Golgi dans la levure ne ressemble pas à un système sacculaire fixe et discontinu comme proposé par la théorie vésiculaire ou celle de la maturation, mais plutôt à un système tubulaire continu dont la structure dépend du flux membranaire de l'amont vers l'aval de l'appareil de Golgi.

De la microscopie optique à l'électronique pour aborder la biogenèse d'organites lysosomiaux

C. Delevoye ¹, I. Hurbain ¹, D. Tenza ¹, J.B. Sibarita ¹, W. Geerts ², A. Verkleij ², J. Salamero ¹, M. Marks ³, G. Raposo ¹

¹ Institut Curie, CNRS, UMR144, Paris, France

² Department of Cellular Architecture and Dynamics, Universiteit Utrecht

³ Dept. of Pathology et Laboratory Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia

Les mélanosomes sont le lieu de synthèse de la mélanine, responsable de la pigmentation de la peau, des yeux et des cheveux et dont un des rôles majeurs est la photoprotection contre les radiations ionisantes. Dans les mélanocytes de la peau, les mélanosomes sont une population hétérogène d'organites qui peuvent être identifiés de par leur morphologie [1]. Leur biogenèse est un processus qui nécessite des étapes multiples de tri des protéines mélanosomales dans les voies d'endocytose et d'exocytose [2]. Nos données expérimentales exploitant la potentialité des différentes méthodes d'imagerie optique et électronique mettent en évidence la complexité de la voie d'endocytose de ces cellules spécialisées et les projets développés visent à élucider : - comment les mélanocytes utilisent les organites de la voie d'endocytose pour former des mélanosomes et comment opèrent de concert les différents mécanismes moléculaires du trafic intracellulaire. Nos travaux montrent que la protéine Pmel17 est elle même responsable de la morphogénèse des mélanosomes en tant que constituant des striations intraluminales après son clivage par une pro hormone convertase [3]. Nous avons déjà commencé d'abordé les événements qui suivent le clivage de Pmel17 et qui conduisent à la formation des fibres de type amyloïde sur lesquelles se dépose le pigment. Nous avons optimisé la préservation ultrastructurale des compartiments mélanosomiaux et nous avons utilisé la tomographie électronique pour résoudre à haute résolution leur organisation tridimensionnelle [4]. Ces approches nous ont permis de visualiser des intermédiaires endosomiaux dans lesquels des structures fibrillaires sont détectées de façon précoce avant leur organisation en feuillets. Ces approches de tomographie mettent en évidence un processus de nucléation des fibres à partir des vésicules membranaires intraluminales [4]. Ces études montrent ainsi pour la première fois que les fibres générées lors du clivage de Pmel17 sont formées dans les compartiments endosomiaux et que les vésicules intraluminales jouent vraisemblablement un rôle de "nucléateur" de part leur composition lipidique particulière. Ces résultats sont un accord avec la nécessité de lipides, en particulier de type "raft", dans le processus d'amyloïdogénèse. Un autre aspect de nos recherches concerne le trafic des enzymes indispensables à la synthèse de mélanine et maturation des mélanosomes. Des candidats régulant ces étapes sont des protéines et des complexes moléculaires codés par des gènes mutés dans des maladies génétiques accompagnées de défauts de pigmentation (les maladies "lysosomales" comme le syndrome d'Hermansky Pudlak)[2]. Nous avons analysé la participation du complexe adaptateur AP-3 dans la reconnaissance du domaine cytoplasmique des enzymes et dans leur transport vers les mélanosomes [5]. De plus, nos travaux récents montrent que les complexes protéiques BLOC-1 et BLOC-2 (Biogenesis of Lysosomal related Organelles) sont de nouveaux régulateurs du trafic endo-mélanosomal [6]. Une altération de la fonction de ces complexes par des mutations a pour conséquence des modifications importantes de la distribution des enzymes mélanosomales, et en particulier de la Tyrp-1. Plus récemment nous avons montré que les défauts de pigmentation dans les mutants BLOC-1 sont non seulement la conséquence d'une rétention de la Tyrp-1 dans les endosomes. Dans ces mutants, la Tyrosinase ne peut être char-

gée en cuivre du a une accumulation du transporteur de cuivre ATP7A dans les endosomes [7]. Le défaut de pigmentation peut alors être restauré par addition de cuivre. Il s'agit maintenant de comprendre comment ces complexes opèrent en étroite collaboration et de concert avec d'autres régulateurs moléculaires (petites GTPases de la famille Rab et protéines SNAREs) et les domaines endosomiaux concernés. Parmi les protéines Rab, nous avons déjà montré que Rab38 et Rab 32 exprimées dans les mélanocytes jouent un rôle important dans la mélanogenèse. Nous avons également pour objectif d'élargir nos connaissances sur : - L'organisation et dynamique du réseau endo-melanosomal tel qu'on peut le visualiser par microscopie optique en temps réel combiné à des approches de reconstruction tridimensionnelle en microscopie électronique – les différents domaines des endosomes des mélanocytes - les mécanismes cellulaires et moléculaires régulant le transport des enzymes mélanosomales et la communication endosome-mélanosome. L'ensemble de ces travaux nous permet de proposer un modèle conceptuelle de la biogenèse des mélanosomes qui sert de base a la compréhension de situations pathologiques comme le mélanome et les maladies lysosomales.

[1] Raposo, G., Tenza, D., Murphy, C., Berson, J., and Marks, M.S. (2001). *J Cell Biol* 152, 809-824.

[2] Raposo, G., and Marks, M.S. (2007). *Nat Rev Mol Cell Biol* 8, 786-797.

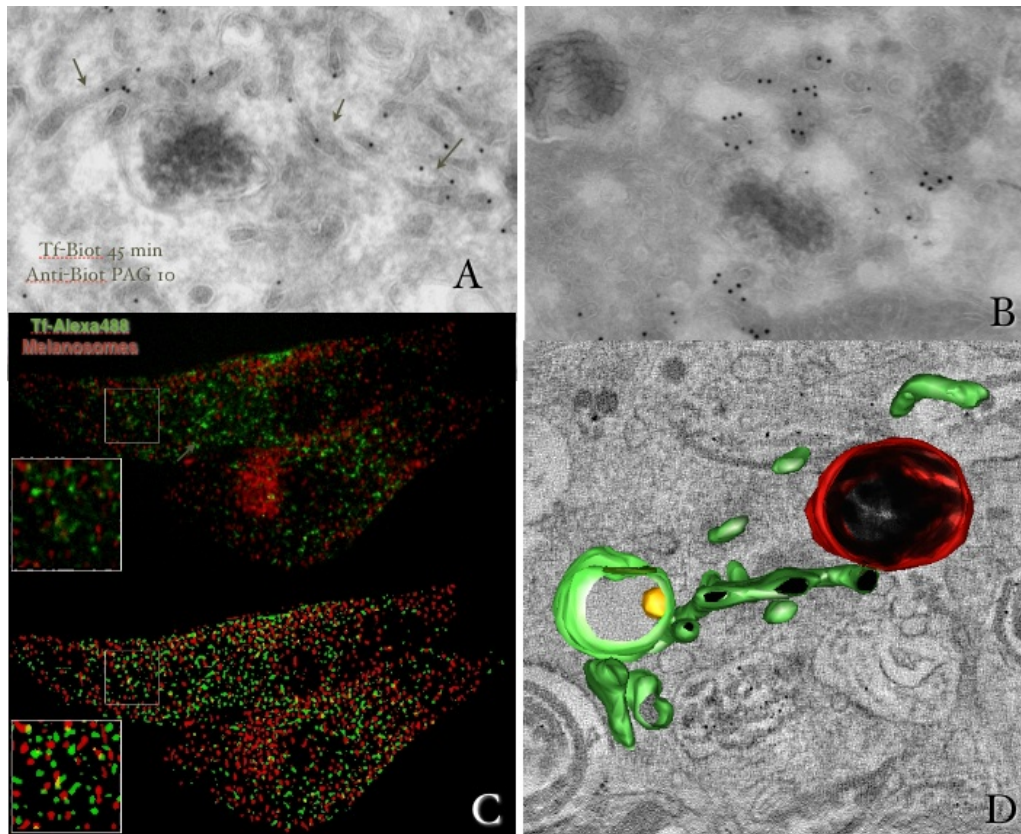
[3] Berson, J.F., Theos, A.C., Harper, D.C., Tenza, D., Raposo, G., and Marks, M.S. (2003). *J Cell Biol* 161, 521-533.

[4] Hurbain, I., Geerts, W.J., Boudier, T., Marco, S., Verkleij, A.J., Marks, M.S., and Raposo, G. (2008). *Proc Natl Acad Sci U S A* 10519726-31, 19726-19731.

[5] Theos, A.C., Tenza, D., Martina, J.A., Hurbain, I., Peden, A.A., Sviderskaya, E.V., Stewart, A., Robinson, M.S., Bennett, D.C., Cutler, D.F., Bonifacino, J.S., Marks, M.S., and Raposo, G. (2005). *Mol Biol Cell* 16, 5356-5372.

[6] Setty, S.R., Tenza, D., Truschel, S.T., Chou, E., Sviderskaya, E.V., Theos, A.C., Lamoireux, M.L., Di Pietro, S.M., Starcevic, M., Bennett, D.C., Dell'Angelica, E.C., Raposo, G., and Marks, M.S. (2007). *Mol Biol Cell* 18, 768-780.

[7] Setty, S.R., Tenza, D., Sviderskaya, E.V., Bennett, D.C., Raposo, G., and Marks, M.S. (2008). *Nature* 454, 1142-1146.



Le réseau endo-melanosomal visualisé par immuno marquage a l'or colloidal (Tokayasu) (A et B), par microscopie dynamique (C) et par Tomographie électronique (D).

Novel protein-functionalized gold nanoparticles for labelling apoptotic membranes and cell receptors

S. Tan ¹, C. Gounou ¹, S. Mornet ², A. R. Brisson ¹

¹ Group Molecular Imaging and NanoBioTechnology, IECB, UMR-CNRS 5248, University of Bordeaux, Avenue des Facultés, F-33405 Talence, France

² ICMCB, 87 Avenue du Docteur Albert Schweitzer, F-33608 Pessac, France

The use of gold nanoparticles as markers of cellular components in Electron Microscopy of biological specimens stems from their intrinsic large electron scattering property and from the relative simplicity with which various types of molecular elements can be deposited at their surface. However, the development of protein-functionalized gold particles faces well-known drawbacks of lack of stability, lack of controlled orientation and limited density. We have developed an original method allowing the covalent coupling of proteins in a desired orientation and at controlled density on gold nanoparticles [1]. The strategy was validated with gold particles functionalized with Annexin-A5 (Anx5) which is a marker of biological processes -including apoptosis and blood platelet activation- characterized by the exposure of phosphatidylserine lipid molecules on the outer surface of plasma membranes. The approach was extended to antibody-binding proteins derived from Anx5 [2]. Various applications will be presented, including the high-density labelling of apoptotic bodies or the specific labelling of receptors exposed at the surface of activated platelets in atherosclerotic plaques.

[1] S. Mornet and A. Brisson. Functionalization of gold nanoparticles with oriented proteins. Application to the high-density labeling of cell membranes. Patent WO2007122259 -

[2] A. Brisson. A device for binding a target entity to a bait entity and detection methods using the same. Patent WO2005114192.

Addressing the machinery for local synthesis of transmembrane proteins in axons of the mouse olfactory sensory neurons using cryomethods and electron tomography

R. Ibrahim¹, A. Trembleau¹

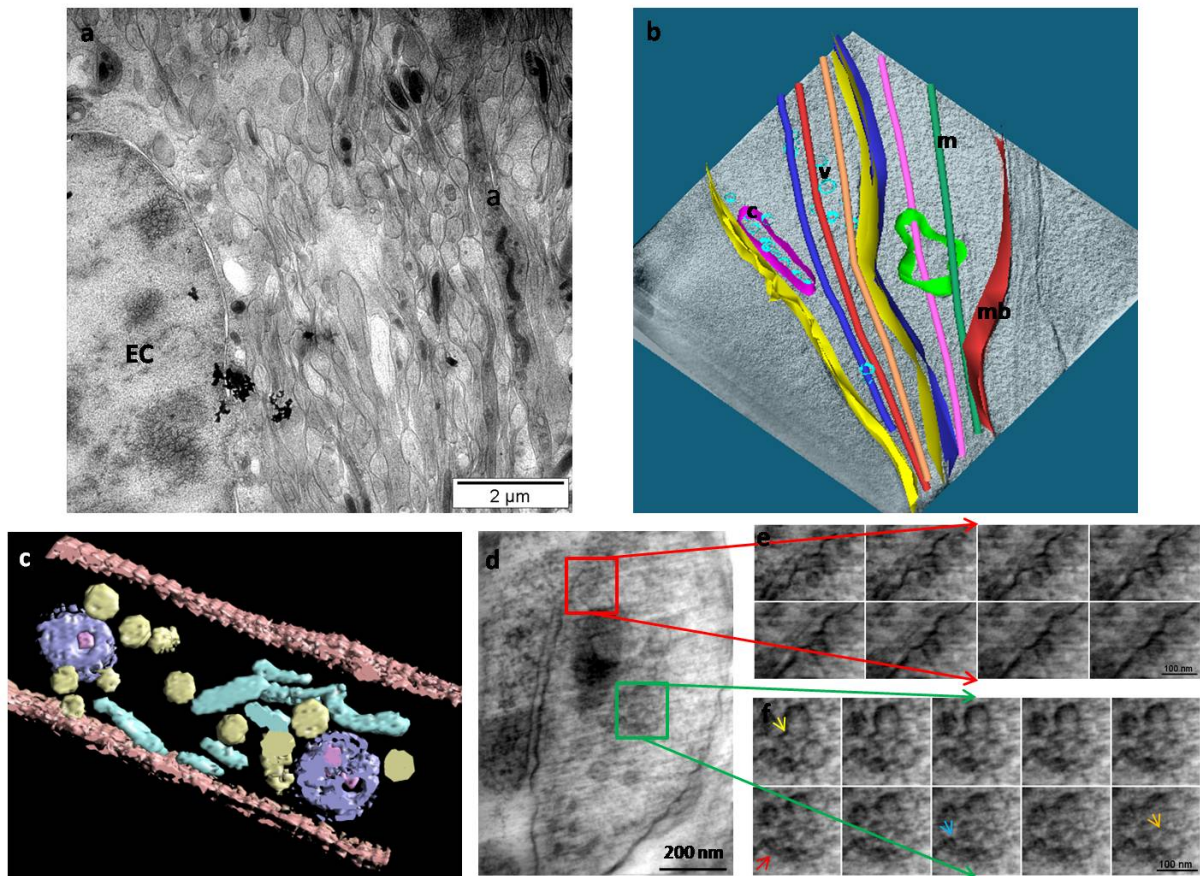
¹ Avenir INSERM et FRM Team “Development and Plasticity of Neural Networks”, CNRS UMR 7102 et UPMC - Université Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, France.

For many years, it has been considered that the axonal compartment of vertebrate neurons were devoid of the protein synthesis machinery, and that all the axonal proteins were synthesized in the neuronal perikaryon before being transported to the axon. During the nineties however, several mRNAs were unambiguously localized, using in situ hybridization, in axons of the adult rodent brain, including the hypothalamo-neurohypophyseal axons [1] and the axon of olfactory sensory neurons (OSNs) [2],[3]. In the latter system, odorant receptor (OR) mRNAs were shown to be transported all along the sensory axons including its terminal part located in glomeruli of the olfactory bulb. Interestingly, OR proteins were documented in the distalmost segment of these axons [4],[5], leading us to address their possible local synthesis in axons. Using a biochemical approach combining a highly sensitive RT-qPCR approach with a polysomal preparation protocol, we recently demonstrated that significant amounts of OR mRNAs are associated to polysomes in OSN axons of the adult mouse olfactory bulb (OB), and that the transport and translation levels of OR mRNAs in axons is developmentally regulated and positively correlated to the level of axonal growth into the OB (Dubacq, Jamet, Trembleau, in preparation). Our data indicate that the local synthesis of OR proteins occurs in axons of the mouse olfactory system, and that this process most likely takes place in immature axons as they grow into the olfactory bulb. Since ORs are transmembrane proteins belonging to the G-Protein Coupled Receptors (GPCR) family, their functional synthesis necessitates the secretory machinery for their insertion into the plasma membrane, i.e. RER and Golgi-like membrane systems. The aim of the present projet is to characterize OSN axons in view of determining whether they contain organelles and molecular markers allowing the plasma membrane sorting of locally synthesized ORs. For this purpose we developed cryo-methods involving high pressure freezing of mice olfactory bulbs followed by cryo-substitution protocols allowing subsequent electron tomographic analyses on thick (200 nm) sections or immunogold labelling on thin sections.

Preliminary tomographic analyses were performed in the olfactory nerve layer of neonatal mice olfactory bulbs that contain more growing OSN axons than the adult tissue. While many axon profiles contain only a few microtubules and mitochondria, a number of OSN axon profiles contain, in addition to cytoskeletal elements (microtubules and smaller filaments), numerous vesicles, cisternae, and multivesicular membranous compartments. These latter axons are probably immature, as highly suggested by some pre-embedding immunoperoxidase experiments in which a marker for immature axons, GAP-43, labeled similar axonal profiles on vibratome sections from chemically-fixed tissue. We are currently acquiring further tomograms, in order to characterize the detailed morphological organization of these intra-axonal organelles. We also develop post-embedding immunolabeling approaches, using specific markers for ER and Golgi, in view of characterizing the molecular identity of these organelles.

This work is supported by CNRS, INSERM (Avenir program 2007), ANR (06-NEURO-039-01) and FRM (DEQ20071210561). Experiments are performed at the SME, IFR 83.

- [1] A Trembleau, M Morales and FE Bloom, *Journal of Neuroscience*, 39-53, 14, (1994)
 [2] K. J. Ressler, S. L. Sullivan and L. B. Buck, *Cell*, 1245-1255, 79, (1994)
 [3] Vassar R, Chao SK, Sitcheran R, Nuñez JM, Vossball LB and Axel R. *Cell*. 981-91, 79(6), (1994)
 [4] Barnea G, O'Donnell S, Mancina F, Sun X, Nemes A, Mendelsohn M and Axel R. *Science*. 304, 5676, (2004)
 [5] Strotmann J, Levai O, Fleischer J, Schwarzenbacher K and Breer H. *J Neurosci*. 7754-61, 24(35), (2004)



a) Tracking area of axons for electron tomography, in the nerve layer neighbored by ensheathing cells (EC). (a) Axon filled with vesicles compartments and cytoskeletal elements b) 3D representation of an axon showing vesicles (v) binding to microtubules (m) and showing a cluster of vesicles embedded in a cistern (c) close to the plasma membrane (mb) c) 3D representation of another axon : stacking cisterns in blue, vacuoles in yellow and multivesicular compartments in purple d) Plane from axon tomogram e) Membrane vesicles on plasma membrane coupled to each others with filaments f) Cluster of vesicles bound all together with filaments

Nanoparticles transport across cell membrane

O. Le Bihan¹, P. Bonnafous¹, S. Mornet², J.-C. Taveau¹, E. Gontier³, T. Bickel⁴, H. Talbot⁵, O. Lambert¹

¹ Architecture de complexes membranaires et processus cellulaire CBMN UMR-CNRS 5248, Université Bordeaux, ENITAB, IECB Avenue des Facultés, F-33405 Talence

² ICMCB, CNRS, Université Bordeaux, 87 avenue du Dr. A. Schweitzer, F-33608 Pessac

³ PME-CGFB, Université Bordeaux, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex

⁴ CPMOH, Université Bordeaux, 316 cours de la Libération, F-33405 Talence

⁵ ESIEE, BP99, 2 Bd Blaise Pascal, F-93162 Noisy-le-Grand cedex

The growing interest for nanoparticles is motivated by potential developments in nanotechnology, biotechnology or in medicine, but is also due to the health risk associated with their use. Toxicological effects have been already identified and further investigations are needed to examine fundamental mechanisms underlying these undesirable biological responses. Among predictive pathways leading to nanoparticle toxicity, that allowing the nanoparticle to cross cell membrane is recently one of main concerns. We analyzed the interaction of silica nanoparticles incubated with the plasma membrane of culture cells and their fate within the cell using electron tomography. We distinguished two pathways for nanoparticle transport into the cell. One is driven by an endocytotic process leading to a formation of a vesicle containing several nanoparticles. The other pathway revealed the entry of isolate nanoparticles surrounded by a lipid bilayer that evidenced a novel mechanism for nanoparticle transport. We then studied the silica nanoparticle transport across lipid membrane on model membrane (large unilamellar liposomes) with using cryo-EM and cryo-electron tomography (cryo-ET). We observed the internalization of silica nanoparticles into the liposome via an invagination of the liposome driven by adhesive forces. These results shed light on unexpected mechanism for nanoparticle cell entry and may be of importance for discovering mechanism of particle cytotoxicity.

Assessment of the role of R-spondin genes in mammary gland development

C. Péchoux¹, S. Chadi², L. Buscara², J. Laubier², J. Costa², E. Pailhoux³, J.L. Villote², E. Chanat¹, F. Le Provost²

¹ UMR1196 Génomique et Physiologie de la Lactation, Institut National de la Recherche Agronomique, 78350 Jouy-en-Josas, France

² UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, Institut National de la Recherche Agronomique, 78350 Jouy-en-Josas, France

³ UMR 1198, Biologie du Développement et Reproduction, Institut National de la Recherche Agronomique, 78350 Jouy-en-Josas, France

R-spondins are a family of secretory proteins that share structural domains including an N-terminal signal peptide, a cysteine rich region with two furin like domains, a thrombospondin type 1 repeat motif and a C-terminal region containing positively charge amino acids. The recent discovery that the four R-spondin family members represent a novel class of signalling ligands that can activate Wnt signalling, prompt us to investigate their potential involvement in the development of the mammary gland tissue. RT-PCR analysis of the expression of the four R-spondin genes in the mouse mammary gland, at various stages of growth and development, has shown differential profiles, the expression profile of *Rspo1* being similar to that of *Wnt 4*, a gene known to play a key role in mammary gland development. We therefore focused our study on *Rspo1*. Immunofluorescence study on the localisation of *Rspo1* in mouse mammary gland during gestation and lactation revealed the presence of the protein in mammary epithelial cells. We also found that, at mid pregnancy, *Rspo1* partly relocated from the cytoplasm to the basal domain of the cells. Finally, during early lactation, *Rspo1* signal appeared to be concentrated in the basement membrane zone of the epithelia. Localisation of *Rspo1* during mammary gland differentiation was investigated more precisely using electronic microscopy coupled to the Tokuyasu cryo section method for immunogold labelling and semi-quantitative analysis. This approach revealed that *Rspo1* was present in the cytoplasm of mammary epithelial cells and at the basal plasma membrane at mid-pregnancy, and was essentially associated with the basal plasma membrane and basement membrane during lactation. On the other hand, whole mammary mount analysis from virgin (8-weeks) *Rspo1*^{-/-} female mice revealed absence of lateral branches along the secondary ducts (tertiary side branches) compared to wild type animals. Transplantation experiments in wild type “cleared” fat pad host confirmed this phenotype and allowed us to observe that the defect in branching persist during pregnancy and is obviously associated with a default in alveolar development at the end of pregnancy and early lactation. These data clearly demonstrate that *Rspo1* play a key role in the development of the mammary gland tissue and raise further question about the signalling pathways activated by *Rspo1* for normal tertiary side branching.

EELS Spectrum Imaging of High-k Dielectric Systems

A.J. Craven¹, M. MacKenzie¹, P. Longo¹, S. McFadzean¹

¹ Department of Physics and Astronomy, University of Glasgow, Glasgow, G12 8QQ, UK

When functional materials are used in modern devices, dimensions on the nanometre scale are frequently involved. Scanning transmission electron microscopy and associated analytical techniques such as electron energy loss spectroscopy (EELS) are crucial to understanding the structure, composition and local chemistry of such devices. Because of the small size of the “bulk” regions, the interfaces between them play a key role. Investigations of semiconductor systems involving high-k dielectrics are used to illustrate how high spatial resolution EELS spectrum imaging [1] can provide critical information.

Metal (*TiN*, *Ta₂N*) inserted hafnia-based high-k gate stacks on *Si* are in current use for MOSFET applications while gallium oxide/gallium gadolinium oxide gate stacks on III-V semiconductors (*GaAs*, *InGaAs*, *AlInAs*) are under investigation for possible future MOSFET applications. The combination of light, medium and heavy elements in multilayers with widths down to 1nm is a major challenge for EELS spectrum imaging, especially as the interfaces in such systems can have significant roughness on this scale.

Semiconductor systems, such as those mentioned above, typically involve a number of elements covering a wide range of atomic number. Thus there are many ionisation edges in the spectrum. Near the low loss region there can be many overlapping edges and influence from multiple scattering. Thus while the signal level is high, extracting the information is difficult. On the other hand, high energy loss edges are well separated and so their intensities can be obtained relatively easily, at least in principle, but the signal level is low. Thus it is essential to have good coupling of the spectrometer to the column and low instrumental background, something manufacturers need to pay more attention to. Since the edges are well separated, a low energy dispersion is also valuable.

Fig. 1 shows the elemental profiles in an *InGaAs/AlGaAs/GaAs/Ga₂O₃/Gd_xGa_{0.4-x}O_{0.6}* gate stack capped with *Pt*. A 0.7nm probe of half angle 9mrad was scanned over 12x22 pixels with a step size of 1.4nm. The half angle of collection was 22mrad, the dispersion was 1eV/ch and sub-pixel scanning was used within each pixel. The spectra were recorded over the energy range 480eV to 1820eV. The dose per pixel was limited to prevent radiation induced change and so the signal to noise ratio was increased by summing the spectra along lines parallel to the interface. Analysis is based on the procedure described in [2]. The *OK* – and *AsL_{2,3}* – edge intensities were extracted using power law backgrounds. A power law background was fitted before the *GaL_{2,3}* – edges and the overlapping *GdM_{4,5}* – edges were separated from it using the shape of the *GaL_{2,3}* – edges from *GaAs*. Use of simple power law backgrounds gives problems for the *OK* – edge in the presence of *In* and the *AsL_{2,3}* – edges in the presence of *Gd*, causing the extracted signals to go negative in the regions where *O* and *As* are not present. The edge intensities at each point were made proportional to the numbers of atoms per unit area using *Gd₃Ga₅O₁₂* and *GaAs* as standards. However, no correction was made for the effect of image contrast or local specimen thickness. A key point to note is that while the *Ga₂O₃* template layer is only nominally 1nm wide and the step size is 1.4nm, the presence and width of the template is clearly defined by the fact that the *O* signal rises before the *Gd* signal while the *As* signal drops before the *Ga* signal as the template layer is crossed. This is a very useful when the probe size is limited or the interface is rough.

Image contrast and local thickness changes can both be large because of the wide range of atomic number and the heterogeneous nature of the layers. Recording both the low loss and the core loss information at each pixel allows correction for the effects of both image contrast and varying local specimen thickness [3]. It also allows deconvolution of multiple scattering which both improves background subtraction and makes the use of reference edge shapes more reliable. If suitable cross-sections and mean free paths are available, absolute atoms per unit area and per unit volume can be obtained [3]. However, neither cross-sections nor mean free paths are known to high accuracy. Fig. 2 shows an example from a *Si/SiO₂/HfSiO/TiN/poly-Si* gate stack. Here *HfSiO* is a co-deposition of *HfO₂* and *SiO₂* and phase separates on thermal processing. It proved extremely difficult to extract the intensity of an *Hf* edge in the energy loss range recorded for this data set i.e. up to 700eV. However, the differences in the ELNES on the *OK* – edges from *SiO₂* and *HfO₂* allowed the *Hf* content at each pixel to be extracted using multiple least squares fitting of the experimental spectra with these reference edge shapes. The intensity of the *TiL_{2,3}* – edges drops before the *NK* – edge intensity at the *TiN/poly-Si* interface while the *OK* – edge intensity peaks indicating the formation of a *Si(O, N)* reaction layer. This is confirmed by the ELNES on the *NK* and *SiL_{2,3}* – edges [4]. From the table, it is clear that the values obtained for *atoms/nm³* in the “bulk” regions are in reasonable agreement with known values despite the uncertainty in the cross-sections and mean free paths.

The smaller probe size and higher currents available in recent aberration corrected STEMs will improve sensitivity up to the limit set by radiation damage. The key thing now is to improve the information collected per incident electron by careful orchestration of data acquisition and by ensuring that collection efficiencies are as high as possible and backgrounds as low as possible.

Acknowledgements : This work was supported by EPSRC grants GR/S44280 and EP/F002610 ; the authors would like to thank Prof S de Gendt (IMEC), Dr M Holland and Prof I G Thayne for materials and Mr B Miller for specimen preparation.

[1] C. Jeanguillaume and C. Colliex, *Ultramicroscopy*, 252-257, 28 (1989)

[2] P Longo, A.J. Craven, J. Scott, M. Holland and I. Thayne, *Springer Proceedings in Physics*, 317-320, 120 (2008)

[3] J. Scott, P.J. Thomas, M. MacKenzie, S. McFadzean, J. Wilbrink, A.J. Craven and W.A.P. Nicholson, *Ultramicroscopy*, 1586-1594,108 (2008)

[4] M. MacKenzie, A.J. Craven, D.W. McComb, S De Gendt, F.T. Docherty, C. McGilvery and S. McFadzean, *Electrochemical and Solid-State Letters*, G33-G35, 10 (2007)

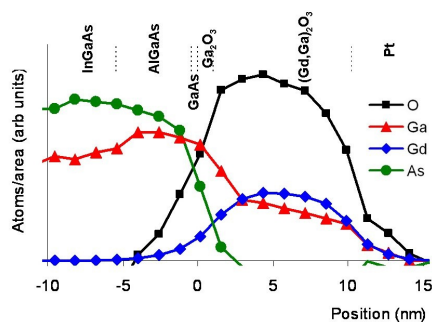


FIG. 1. Atoms per unit area across (Ga,Gd)₂O₃/Ga₂O₃ on a III/V heterostructure with no correction for image contrast or specimen thickness.

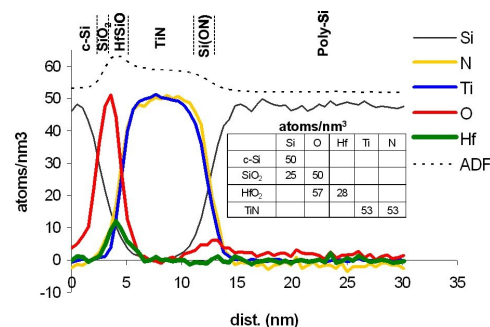


FIG. 2. Atoms per nm³ across a metal inserted high-k gate stack on silicon. The table gives the number of atoms per nm³ in the bulk materials

Etude HRTEM et STEM-EELS d'empilements semiconducteur/high-k

S. Schamm¹, P.E. Coulon¹, L. Calmels¹, L. Lamagna², C. Wiemer², S. Baldovino², M. Fanciulli^{2,3}

¹ CEMES-CNRS, Université de Toulouse, 31055 Toulouse cedex 04, France

² Laboratorio Nazionale MDM, CNR-INFN, 20041 Agrate Brianza (MI), Italy

³ Dipartimento di Scienza dei Materiali, Università degli Studi di Milano-Bicocca, Milano, Italy

Le succès de la miniaturisation pour les applications logique et mémoire de l'industrie de la microélectronique impose de trouver de nouvelles générations de diélectrique de grille comme alternative à SiO_2 , SiON et les composés à base d'Hf introduits récemment dans la production. Un des nombreux objectifs consiste à améliorer la densité de capacité du film mince diélectrique en maintenant une épaisseur physique raisonnable pour limiter les courants de fuite. Ces oxydes à grande permittivité, supérieure à celle de SiO_2 , sont appelés couramment "high-k". Ces oxydes alternatifs sont à base d'éléments de transition et de terres rares. Leur introduction s'accompagne d'effets secondaires d'importance. En particulier, il se forme inévitablement à l'interface avec le substrat semiconducteur une couche de faible permittivité qui nuit à la permittivité totale de l'empilement et qu'il est nécessaire de contrôler. Par ailleurs, ces films sont cristallins pour la plupart, au moins après l'étape de recuit à très haute température nécessaire au procédé de fabrication du MOS. Stabiliser la phase de plus grande permittivité devient donc impératif. Dans ce contexte, nous proposons de montrer comment la microscopie électronique à haute résolution (HRTEM) couplée à la spectroscopie de pertes d'énergie d'électrons en mode balayage (STEM-EELS) est indispensable pour apporter les informations quantitatives nécessaires à la description détaillée et complète d'empilements semiconducteur/high-k en relation avec la mesure de leurs propriétés électriques une fois intégrés dans une capacité MOS (permittivité, densité de défauts interfaciale). Ces informations concernent la description topographique ainsi que l'état structural et chimique des couches présentes dans l'empilement (couche interfaciale et film cristallin). Les résultats que nous avons obtenus sur des oxydes binaires et ternaires d'éléments de transition et/ou terre rare (Zr, La, Er, Hf) illustreront notre démarche [1, 2]. Ces oxydes sont préparés sous forme de films minces sur substrat semiconducteur (Si, Ge) par "atomic layer deposition" (ALD), une méthode de préparation mature pour le transfert technologique et qui permet le contrôle détaillé du processus de dépôt. Ces travaux ont été réalisés avec le microscope *Tecnaï*TM F20 ayant une source FEG, un correcteur d'aberration de sphéricité objectif, un étage STEM, une détection ADF et un filtre en énergie Tridim. Les discussions des propriétés diélectriques des films reposeront sur des profils élémentaires de composition chimique extraits de spectres-ligne acquis à la traversée de l'interface semiconducteur/high-k et dans le film, mis en corrélation avec les images haute-résolution, ainsi que sur la base de l'analyse de structures ELNES expérimentales et calculées.

[1] S. Schamm, P. E. Coulon, S. Miao, S. N. Volkos, L. H. Lu, L. Lamagna, C. Wiemer, D. Tsoutsou, G. Scarel and M. Fanciulli, *Journal of the Electrochem. Soc.*, 156 (1), H1-H6 (2009)

[2] D. Tsoutsou, L. Lamagna, S. N. Volkos, A. Molle, S. Baldovino, S. Schamm and P. E. Coulon and M. Fanciulli, *Appl. Phys. Lett.*, 94, 053504 (2009)

[3] This work was supported by the European FP6-Program "REALISE" (Grant No. IST-NMP 016172)

Measuring strain by Transmission Electron Microscopy : a comparison between Nano Beam Electron Diffraction and Dark Field Holography

J.L. Rouvière¹, A. Béch e¹, D. Cooper², J.M. Hartmann²

¹ CEA-Grenoble, INAC, SP2M, LEMMA, 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble

² CEA-LETI, Minatec, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble

For many years, INAC at CEA-GRenoble has tried to develop different transmission electron microscopy (TEM) tools to measure strain in materials. High Resolution-TEM (HRTEM) was first used, either using direct space [1,2] or reciprocal space [3,4] method. Then CBED [5] and Moir e fringes [6] were tested. More recently, thanks to the availability of a FEI-TITAN microscope and thanks to collaborations within the new Electron Microscopy centre at Minatec Grenoble (GEM-Minatec), two new methods have been explored and will be shown in this presentation : (i) NanoBeam Electron Diffraction (generally named NBD, but we prefer to call it NBED in similarity to CBED) [7]. (ii) Dark Field (DF) Holography [8].

Both of these techniques took benefits of some special properties of the FEI-TITAN microscope : among them, mechanical and electrical stabilities, scanning microprobe, Lorentz lens and 3 condensers illumination. NBED was realised at 300kV. DF-holography was performed at 200KV. These techniques were tested on a Si_{0.68}Ge_{0.32} layer embedded in Si. Samples were grown by MOCVD on a (001) Si substrate. Samples were prepared by Focus Ion Beam (FIB) with low energy Ga ions (5keV). Strain relaxations in the thin FIB lamella were simulated by finite element method.

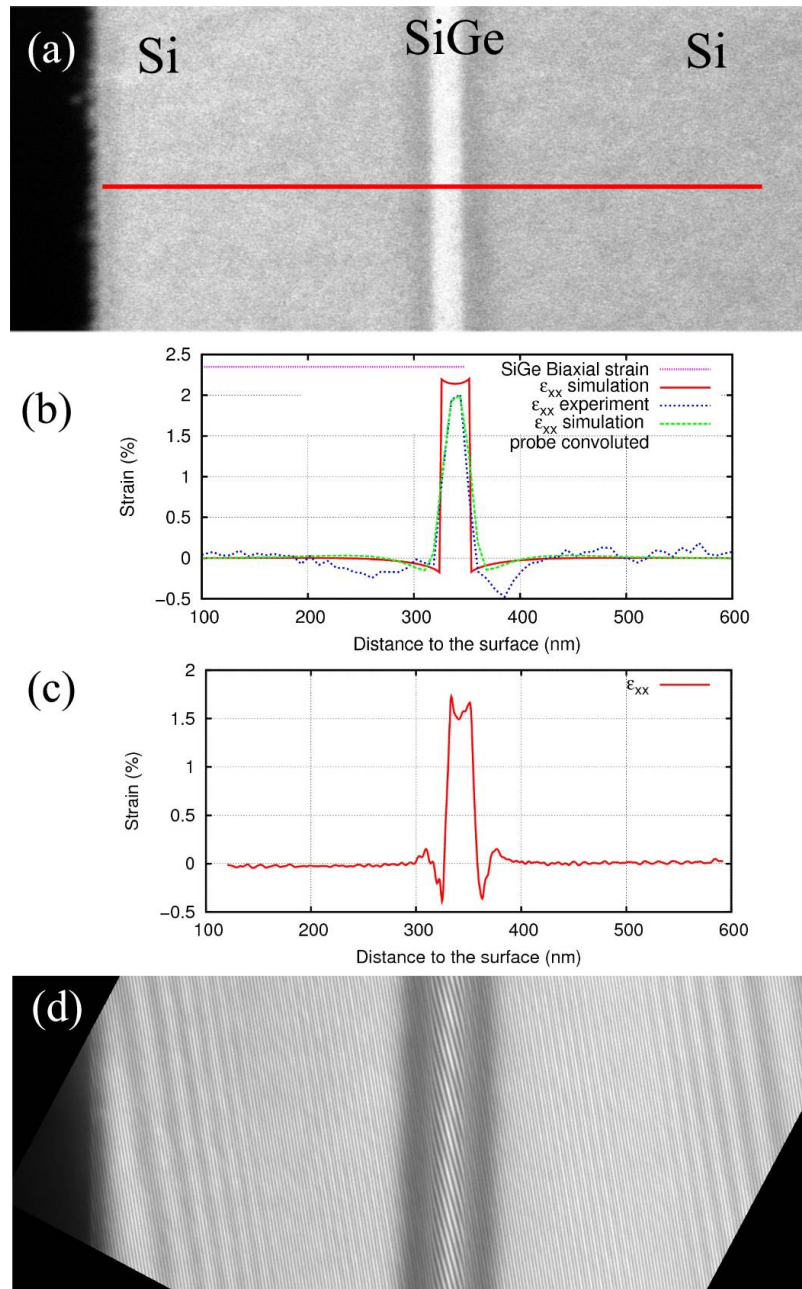
NBED consists in scanning a nearly parallel probe on the sample and acquiring a spot-diffraction pattern at each position. Figure 1 summarises the NBED results. A probe diameter of 2.7 nm (measured at half height) and a divergence of 0.5 mrad (half convergence angle of the probe) have been obtained with a condenser aperture of 50 μ m. Compare to literature, this probe size is twice small as that has been obtained, even by using apertures as small as 10 μ m [9,10]. The accuracy of the technique has been evaluated by measuring the noise in the Si substrate far from the SiGe layer. A root mean square (rms) of 5.10^{-4} is measured. This is a good value compared to the estimated accuracy published in different papers (10^{-3}). We will show that this residual rms value is mainly due to the bad surface quality of FIB prepared sample.

DF-holography consists in making an interference between a given local diffracted beam $g(x, y)$ coming from the region of interest (ROI) (here the SiGe layer and its surrounding) with a diffracted beam g_{ref} coming from a reference area (up to now the Si substrate situated far from the ROI). In figure 2, local $g(x, y)$ and g_{ref} vectors are (004)-type diffracted beams. The interference fringes are then analysed and give access to the lattice mismatch between the two diffracted vectors $g(x, y)$ and g_{ref} . Local strain measurements $\varepsilon_{x,y} = (g_{ref} - g(x, y))/g(x, y)$ are then obtained along the g_{ref} direction. A similar analysis can then be realised with a second type of diffracted beam. In our case, there is no strain in the second direction perpendicular to (004). Our results are very encouraging : the rms of the strain in the Si-substrate is very low, smaller than 10^{-4} on a large profile (averaged on a width of 100 nm) and about 2.10^{-4} on a smaller average profiles. This rms is the best accuracy ever achieved in strain measurement. However, there is a small discrepancy between the expected strain value in the SiGe layer and the measured one (figure 2) : in the SiGe layer, NBED gives a strain along (004) of about 2%

whereas DF-holography gives a strain of about 1.6% (biaxial strain is about 2.4%).

At the conference, we will discuss the eventual origins of this discrepancy and explain why this technique has a so outstanding accuracy.

- [1] P.H. Jouneau, A. Tardot, G. Feuillet, H. Mariette, J. Cibert, *J. Appl. Phys.*, 7310, 75, (1994)
- [2] J.L. Rouviere, M. Arlery, A. Bourret, R. Niebuhr and K. Bachem, *Microscopy Of Semi-conducting Materials 1995*, 285, 146, (1995)
- [3] J.L. Rouviere and E. Sarigiannidou, *Ultramicroscopy*, 1, 106, (2005)
- [4] E. Sarigiannidou, E. Monroy, B. Daudin, J. L. Rouviere and A. D. Andreev, *Applied Physics Letters*, 203112, 87, (2005)
- [5] L. Clement, R. Pantel, L. Kwakman, J. L. Rouviere, *Appl. Phys. Lett.*, 651, 85, (2004)
- [6] To be published
- [7] To be published
- [8] M. Hytch, F. Houdellier, F. Hue, and E. Snoeck, *Nature*, 1086, 453, (2008)
- [9] J. Liu, K. Li, S. Pandey, F. Benistant, A. See, M. Zhou, L. Hsia, R. Schampers and D. Klenov, *Applied Physics Letters*, 93, (2008)
- [10] K. Usuda, T. Numata, S. Takagi, *Mat. Science In Semicond. Processing*, 155, 8, (2005)



Figures from top to bottom : a) STEM image of the SiGe layer (vertical bright part) embedded in the Si. NBED patterns were acquired along the horizontal line and all the following profiles are taken along this line. b) Different simulated and experimental strain profiles obtained by analysing the diffraction patterns acquired along the line perpendicular to the SiGe layer c) Experimental strain profile calculated from the dark field hologram of figure d). d) Dark field hologram of the SiGe layer

Etude comparative de méthodes d'amincissement ionique appliquées à des échantillons à zone d'intérêt localisée

E. Guillotel¹, C. Langlois¹, S. Asahina², B. Domengès³, G. Leo¹, T. Oikawa², C. Ricolleau¹

¹ Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques, CNRS-UMR 7162, Université Paris Diderot, Case courrier 7021, 75205 Paris Cedex 13, France

² JEOL (Europe) SAS, Espace Claude Monet - 1 Allée de Giverny, 78290 Croissy-sur-Seine, France

³ Laboratoire de Microélectronique ENSICAEN-NXP (LaMIPS), ENSICAEN, CNRS, Université de Caen, 2 Rue de la Girafe 14000 Caen, France

Dans la dernière décennie, de grands progrès ont été réalisés en microscopie électronique en transmission (MET) en repoussant les limites de résolution spatiale et énergétique. Les MET aux aberrations sphériques corrigées peuvent résoudre des distances interplanaires de 0.08 nm et la résolution énergétique des sondes électroniques monochromatées dans des MET 200 keV avoisine aujourd'hui quelques dixièmes d'eV. Toutefois, la qualité des résultats d'analyses structurales ou chimiques au MET dépend grandement de la qualité des lames minces et même les meilleurs équipements ne peuvent corriger les artéfacts produits par une préparation inadéquate de lames minces. [1,2]

Nous nous sommes intéressés à l'amincissement de guides d'onde optiques en GaAs/AlGaAs de $3 \times 3 \mu\text{m}^2$. Grâce à l'insertion, dans un cœur en GaAs, de fines couches d'AlGaAs (35 nm) transformé en oxyde d'aluminium (AlOx) par un procédé d'oxydation sélective, ces guides permettent la conversion non linéaire de fréquences. [3,4] Au cours de l'oxydation, la morphologie du cœur est modifiée et les pertes de propagation optique augmentent de 0.1 cm^{-1} à 0.5 cm^{-1} . Pour améliorer l'efficacité de ces guides d'onde non linéaires il est impératif de réduire ces pertes. En raison des dimensions de l'objet étudié, seule une étude au MET permet une caractérisation structurale et chimique des couches d'AlOx afin d'identifier l'origine des pertes et d'optimiser le procédé de fabrication.

Dans le cas d'échantillons avec une zone d'intérêt localisée cette préparation de lames minces n'est pas triviale. Nous avons comparé la qualité de lames minces obtenues via l'utilisation d'un FIB (faisceau de Ga^+) ou du PIPS ou de l'ion slicer (faisceau d' Ar^+), en fonction de plusieurs critères quantitatifs : épaisseur de la zone transparente aux électrons, degré d'amorphisation, contraste d'image HRTEM et facilité de mise en oeuvre. Les résultats de cette étude sont présentés ici.

Nous n'avons pas réussi à produire de lame avec le PIPS qui ne dispose d'aucun moyen de contrôle de la zone d'amincissement. Toutefois nous avons aminci une lame témoin, sans guide d'onde et d'une épaisseur variant de 40 à 100 nm, pour le reste de l'étude. L'ion slicer (IS), quoique assez similaire au PIPS, bénéficie d'une caméra in-situ autorisant un contrôle du positionnement de l'échantillon grâce à une platine micro-contrôlée et nous a permis de produire une lame de 100 nm d'épaisseur, constante sur près de $1 \mu\text{m}$. Enfin, la production d'une lame mince avec un FIB est de loin la plus efficace en terme de localisation de la zone amincie mais ne nous a pas permis de produire une lame de moins de 160 nm d'épaisseur.

Outre une épaisseur la plus réduite possible, il est important que les lames obtenues ne soient pas endommagées par le faisceau d'ions (dégât d'amorphisation). Nous avons acquis des images HR qui nous renseignent à la fois sur l'épaisseur des lames (amplitude du contraste) et

sur l'amorphisation induite (brouillage des franges du réseau cristallin). On voit sur la figure 1, les images HR des lames préparées par PIPS (1a), FIB (1b) et IS (1c) ainsi qu'un zoom des zones entourées par un rectangle pointillé noir et leur profil d'intensité associé (1d, 1e et 1f respectivement). Les préparations PIPS et IS ne semblent par induire d'amorphisation, contrairement à la préparation FIB.

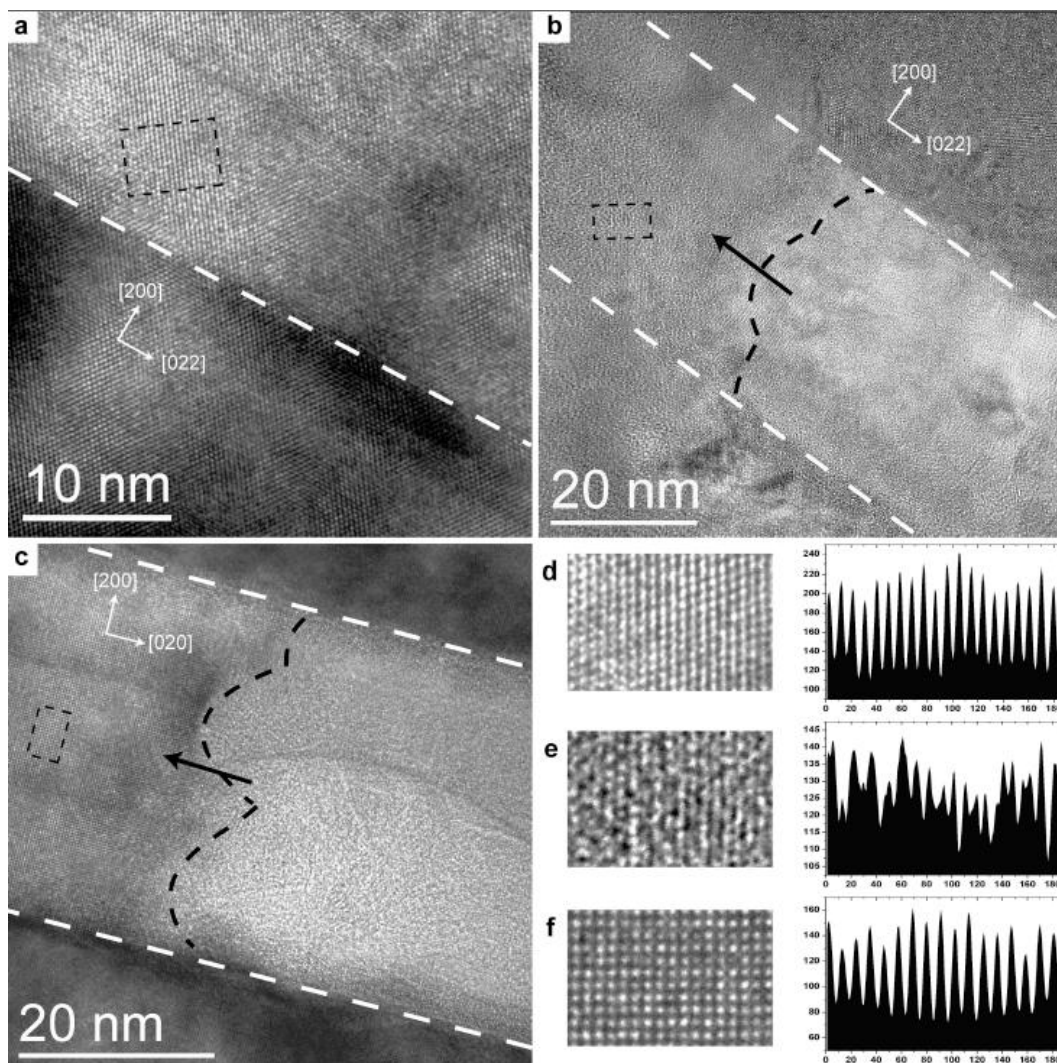
En conclusion, nous avons constaté que seul l'IS permettait un amincissement localisé, sans variation d'épaisseur sur une zone de 1 μm et sans endommager la zone d'intérêt. De plus, nous avons montré que les lames minces résultantes sont parfaitement adaptées à toutes les techniques d'investigation MET.

[1] D.J. Barber, *Ultramicroscopy*, 101-125, 52 (1993)

[2] J.P. McCaffrey, M.W. Phaneuf, L.D. Madsen, *Ultramicroscopy*, 97-104, 87 (2001)

[3] A.R. Sugg, N. Holonyak Jr., J.E. Baker, F.A. Kish, J.M. Dallesasse, *Applied Physics Letters*, 1199-1201, 58 (1991)

[4] A. Fiore, V. Berger, E. Rosencher, S. Crouzy, N. Laurent, J. Nagle, *Applied Physics Letters*, 2587-2589, 71 (1997)



The contribution of modern microscopy techniques to the development of new ultra high strength and ductility steels

C. Scott¹, L. Bracke², S. Allain¹, O. Bouaziz¹, J.L. Collet³, A. Dumay⁴

¹ ArcelorMittal Research, Maizières-lès-Metz, France

² University of Ghent, Belgique

³ INP Grenoble, France

⁴ Ecole de Mines de Nancy, France

Meeting the challenge of stricter CO_2 target emissions will require automotive manufacturers to achieve significant weight reductions in the vehicle body in white. Faced with this opportunity, steel manufacturers have two possible approaches :

- short term strategies for incremental improvements in the mechanical properties of existing products which can then be produced in thinner gauge strips with equivalent functional properties,
- longer term solutions involving the development of breakthrough products such as ultra high strength ductile austenitic steels or lower-density steels alloyed with light elements (e.g. Al, Mg, Si).

Restricting our discussion to the second point, one development which is of special interest at the moment is based on ultra high strength Fe-Mn-C austenitic steels with TWinning Induced Plasticity (TWIP). Like the Hadfield steels to which they are related, these grades exhibit remarkable strain hardening properties far in excess of other ferrous alloys. It is known experimentally that the highest ductility in the Fe-Mn-C system is obtained when the 'kinetics' of mechanical twinning are highest. The twinning phenomenon is of course related to the intrinsic stacking fault energy (ISFE), which is principally determined by the chemical composition and the temperature. The actual mechanism of twinning in low ISFE austenitic steels and the contribution of twinning to strain hardening is still a subject of scientific debate. Clearly the development of accurate constitutive models to describe the complex plastic behaviour of these steels is only possible if the relative contributions of the five possible hardening processes; slip of perfect dislocations, planar slip of partials, formation of epsilon martensite, twinning and dynamic strain ageing can be determined. These phenomena are all interrelated and vary with temperature, composition and strain. The problem is thus far from simple and this presentation aims to show how different microscopy techniques such as TEM, SEM, EBSD, EBMA have all made significant contributions to the alloy design process.

A further complication is introduced when we consider that the local composition in Fe-Mn-C austenitic steels varies strongly due to segregation effects during solidification. EBMA chemical maps are useful to characterize the local chemistry; however the spatial resolution ($1 - 2\mu m$) is insufficient to study the microsegregation bands observed in cold rolled strips. We have developed a TEM EELS carbon measurement technique with a detection limit of $0.04\%wt.$ C which is sensitive enough to describe these local composition variations. It is shown that C and Mn are cosegregated in annealed cold strips and that the fluctuations are theoretically sufficient to destabilize the austenite matrix and change the deformation mode at room temperature. The fact that no significant martensitic transformations are observed in the studied alloys is attributed to a size effect.

Regarding twinning, mechanical twins usually form in bundles or stacks of nano-twins (Figure 1a). These bundles may be several microns thick and can therefore be characterised using EBSD in the FEG-SEM. However, individual nano-twins which make up the bundles are often only a few nm thick. TEM is thus required to study parameters such as the nature of the stacking faults (intrinsic or extrinsic), the stacking fault energy and the nano-twin crystallography and spatial distribution. Of great importance are the interactions between nano-twins (Figure 1b) and between nano-twins and dislocations. The data obtained from these observations has recently been used to propose a new strain hardening model taking into account kinematic hardening and size effects.

A further development involves combining the TWIP effect with microalloying using Vanadium and Nitrogen additions. A major advantage is that the (relatively) low yield stress of Fe-Mn-C austenitics can be significantly increased without seriously compromising the ductility. The nature of the precipitate size distribution, the crystallographic relations with the matrix, the coherency strains and the interaction with twinning have all been determined using TEM techniques.

Finally it is shown that twins in Fe-Mn-C alloys remain extremely stable with temperature right up until the beginning of recrystallisation. Thus it is possible to perform recovery treatments on deformed samples to decrease the dislocation density and reduce back stress accumulated at twin and grain boundaries during straining. The yield stress of the recovered samples is then mainly controlled by the dynamic Hall and Petch effect i.e. it is determined by the mean distance between mechanical twin boundaries. After 20% of strain this distance is of the order of $100nm$. An interesting observation is that, unlike other ultra-fine grain materials, the strain hardening coefficient and the ductility are very high, suggesting that microstructure refinement by twinning is a more efficient way of combining high flow stress with good work hardening than simple grain refinement.

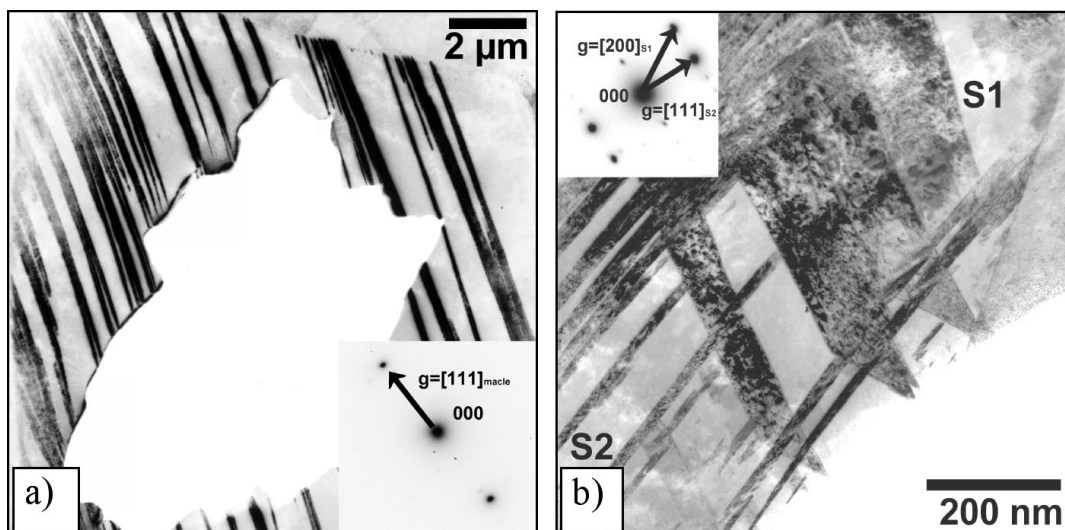


Figure 1 : Dark field TEM micrographs from Fe-Mn-C TWIP steels strained at room temperature. Microtwins appears in dark. (a) only one twinning system is activated in the grain. (b) Two competitive twinning systems are activated leading to strong microstructure refinement.

Interaction entre nanoparticules d'oxyde et dislocations dans un acier ferritique à 19% Cr

L. Boulanger¹, F. Legendre¹

¹ CEA/DEN/DANS/DMN/SRMP, 91191 Gif sur Yvette

Dans le cadre de l'étude des aciers ferritiques et martensitiques durcis par dispersion d'oxyde (ODS) nous avons observé la microstructure de l'alliage PM 2000 de composition Fe-19Cr-5,5Al-0,5Ti-0,5Y₂O₃ (masse) fabriqué par Plansee Metal. L'alliage est commercialisé dans deux états, dits classe 4 et 6 et destinés à une utilisation à haute température et en milieux réactifs : gaines de thermocouple, fours de traitement thermique, chambres de combustion, etc. Le premier est fourni après extrusion à chaud vers 1000°C et le second après traitement de recuit autour de 1350°C. Ce dernier présente une limite d'élasticité qui varie lentement avec la température et est utilisable jusque 1300°C [1].

L'objectif est de décrire la microstructure de précipitation fine présente dans les deux alliages et d'en étudier la stabilité thermique. Ils sont déformés à température ordinaire afin d'étudier l'interaction des dislocations avec les précipités nanométriques.

L'alliage extrudé, de classe 4, présente une structure de déformation avec des précipités aussi petits que 3 nm [2]. Ils sont révélés par un contraste de contrainte de type Ashby-Brown : des doubles lobes sont présents, perpendiculaires au vecteur diffraction [3]. Un traitement de 1000 h à 500°C destiné à provoquer la décomposition en deux phases [4], respectivement riche et pauvre en chrome provoque une faible évolution. Seuls quelques effets de montée conduisent à des dislocations vis plus rectilignes, ainsi que des précipités dont la forme cubique apparaît clairement. La phase enrichie reste parfaitement invisible. De même après un recuit in-situ dans le MET jusque 960°C, aucune évolution n'est observée.

Dans l'alliage recuit, de classe 6, seules quelques rares dislocations sont observées, épinglées sur les précipités. Ces derniers sont plus gros que dans l'état extrudé (15 à 20 nm par rapport à 3 à 5 nm). Des contrastes de déformation et des franges de moiré sont toujours présents, mais on distingue de plus, des contrastes à l'intérieur des précipités (fig. A). Ils peuvent s'expliquer par la présence d'un cœur interne différent (composition chimique, réseau) de la surface conduisant à configuration en cœur-coquille (core-shell). Des analyses EFTEM montrent [5,6] qu'il s'agit de structures grenat et pérouskite avec une couche externe riche en titane. Une déformation plastique par frottement sur des grains de diamants conduit à générer des arrangements localisés de dislocations (fig. B). Ces structures épinglées sur les précipités sont composées de lignes de dislocations courbes. Les lignes de dislocations sont attirées par la coquille en surface (fig. C et D) en désaccord avec un mécanisme d'Orowan [7]. Cet effet a préalablement été observé [8] dans l'alliage MA 6000 à base de nickel et renforcé par des oxydes.

[1] matweb.com

[2] L. Boulanger, F. Legendre et S. Poissonnet, Electron Microscopy Congress, EMC 2008 (Aachen, Allemagne, 1-5 septembre 2008)

[3] M.F. ashby et L.M. Brown, Philos. Mag., 1649-1676, 8 (1963)

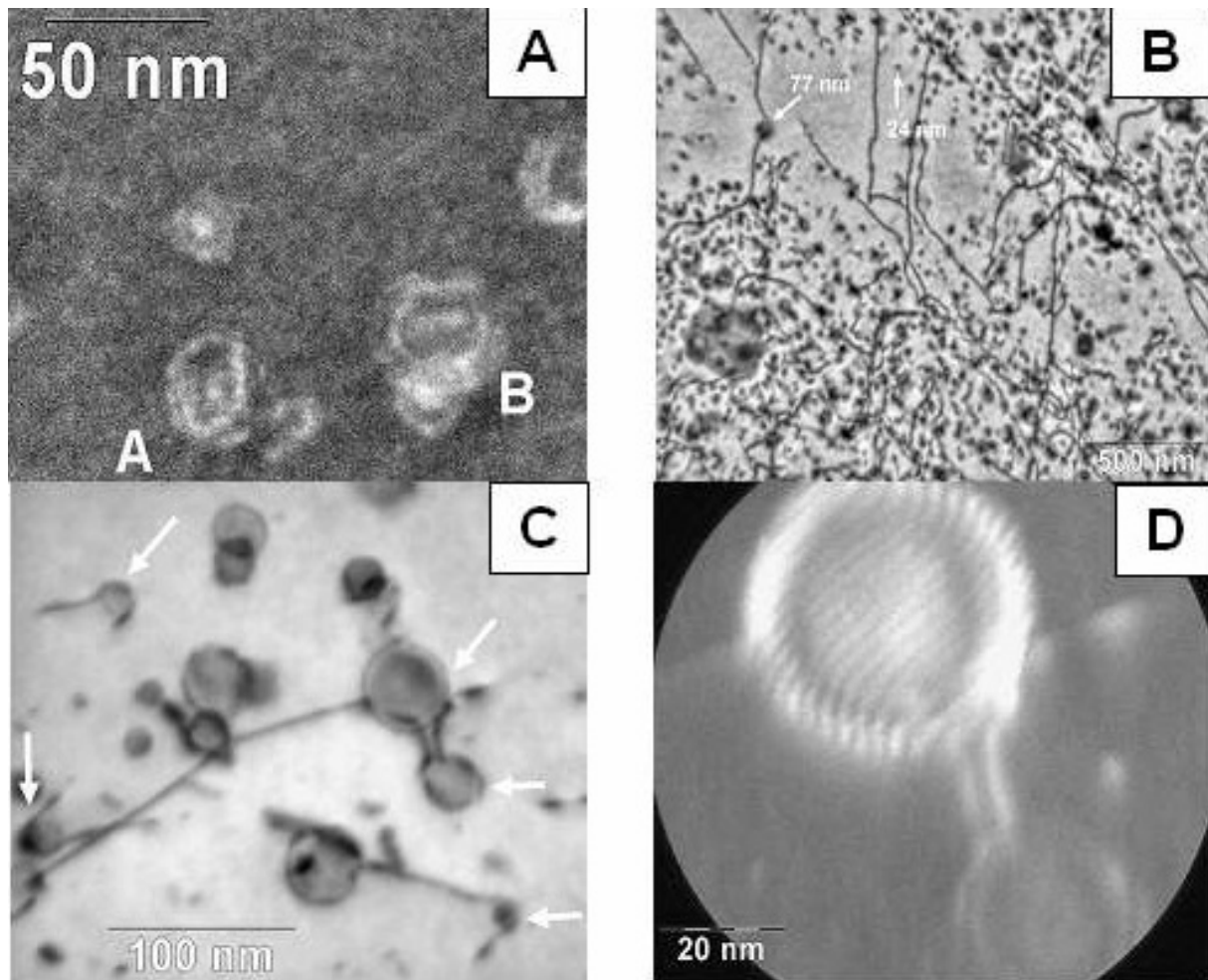
[4] C. Capdevilla et al., Mater. Sc. Eng. A, 277-288, 48 (2005)

[5] M. Klimiankou et al., Powder Metallurgy, 277-287, 48 (2005)

[6] M. Klimenkov, A. Möslang et R. Lindau, Eur. Phys. J. Appl. Phys., 293-303, 42 (2008)

[7] B. Bako et al., Philos. Mag., 3645-3656, 87 (2007)

[8] J.H. Schröder et E. Arzt, Scripta Met., 1129-1134, 19 (1985)



A : Précipités avec une structure coeur-coquille, B : dislocations obtenues après déformation, C : Accrochage des dislocations sur les précipités, D : Contournement de deux précipités par une dislocation.

TEM characterization of the precipitation state in a model FeTiVNbCN alloy in relation with grain size control

C. Leguen ¹, M. Perez ¹, T. Epicier ¹, D. Acevedo ², T. Sourmail ²

¹ Université de Lyon ; INSA-Lyon, MATEIS, umr CNRS 5510, bât. B. Pascal, F-69621 Villeurbanne Cedex

² ASCOMETAL CREAS-Metallurgy, F-57301 Hagondange Cedex

In order to improve the mechanical properties of high performance steels, microalloying such as Ti, V, Nb elements are frequently added. During appropriate thermomechanical treatments these elements lead to a fine precipitation of carbo-nitrides, potentially allowing (i) grain growth control at high temperatures, and/or (ii) structural hardening. The present work will be focused on the characterization of the precipitation state, i.e. volume fraction, size and chemistry of the precipitates, with the final goal of correlating it to the growth of austenitic grains. Several Transmission Electron Microscopy (TEM) techniques were involved : conventional, High Resolution and High Angle Annular Dark Field (HAADF) imaging modes, Energy Dispersive X-rays (EDX) and Electron Energy-Loss (EELS) spectroscopies. From an experimental point of view, the main challenge is to obtain accurate and representative compositions of precipitates, as different metallic elements can enter the (TiVNbCN) carbo-nitrides. Although examination of thin foils is needed to approach the real distribution, location, and orientation relationship of the precipitates within the matrix, extraction replicas remain the best way to measure their chemical composition. EELS is then required for accurate measurements of the carbon and nitrogen contents. Obviously carbon-free replicas have to be used : for that purpose, aluminium or aluminium oxide replicas were made and analysed at the liquid nitrogen temperature in the microscope in order to avoid spurious contamination. We developed a method based on a joined treatment of EELS and EDX spectra obtained simultaneously on the analysed particles (figure 1) : (i) metallic elements were deduced from a classical EDX analysis, (ii) the carbon and nitrogen contents were determined from a least-mean square fitting procedure of the EELS spectra using dedicated normalized reference spectra acquired on TiC, VC, NbC, TiN, VN, NbN and amorphous C 'standards'. Note that due to the difference in fine structures at the C-K and N-K edges in the various carbides and nitrides, it is required to adjust the observed C-K* and N-K* edges as a mixture of all contributions. These experimental data are will be further coupled to a thermodynamical modelling of the austenite grain size evolution [1].

[1] thanks are due to the CLYM (Centre Lyonnais de Microscopie) for the access to the JEOL 2010F transmission electron microscope

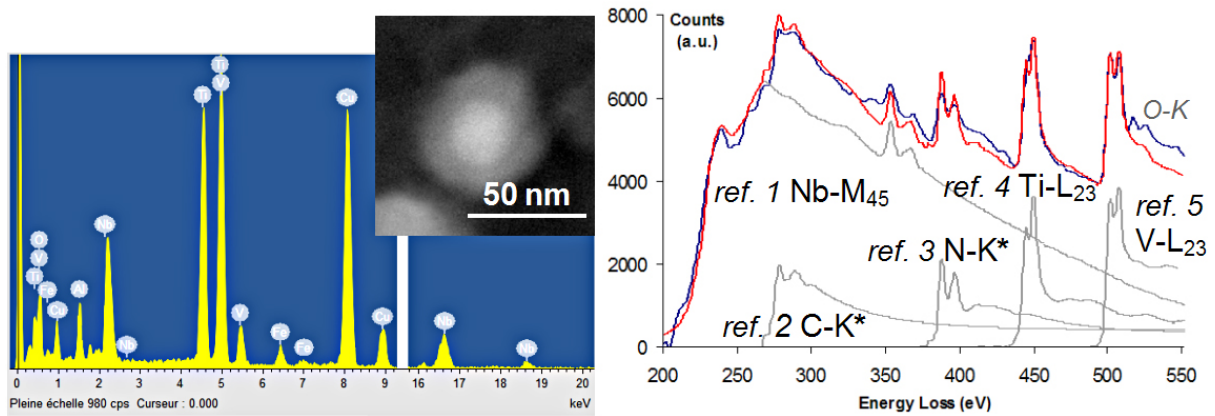


Figure : comparison of EDX (left) and EELS (right) spectra acquired with a 2 nm probe on the precipitate shown in inset. comparable compositions are measured regarding the metallic elements : $Ti_{0.38}V_{0.44}Nb_{0.18}$ for the EDX analysis, and $Ti_{0.34}V_{0.45}Nb_{0.21}$ for the EELS analysis

Détermination des déformations dans un superalliage monocristallin à base nickel CMSX-2 par CBED et par calcul micromécanique par éléments finis

G. Brunetti ¹, A. Settefrati ², S. Denis ², E. Bouzy ¹, A. Hazotte ¹

¹ Laboratoire d'étude des textures et application aux matériaux (LETAM) CNRS FRE 3143, ISGMP Bât. B, Ile du Saulcy F-57012 METZ cedex

² Institut Jean Lamour (IJL), UMR7198 CNRS-Nancy Université – UPV-Metz, Département SI2M (Science et Ingénierie des Matériaux et Métallurgie), Ecole des Mines de Nancy, Parc de Saurupt F-54042 NANCY cedex

Les superalliages monocristallins à base nickel représentent une gamme de matériaux très largement employés dans le domaine de l'aéronautique pour la réalisation d'aubes de turbines. Leur emploi résulte d'une très bonne résistance au fluage à haute température qui s'explique par microstructure. En effet, ils sont constitués d'une matrice gamma monocristalline (CFC désordonnée) dans laquelle viennent s'insérer des précipités intermétalliques gamma' (CFC ordonnée) de type Ni₃Al en général de forme cuboïdale et présentant une cohérence avec la matrice.

La différence de paramètre de maille existant entre le précipité et la matrice induit des gradients de déformations dans les deux phases et plus particulièrement dans les canaux de matrice. Il est possible de déterminer les déformations induites par la différence de paramètres cristallins soit de manière expérimentale à l'aide de la microscopie électronique en transmission, soit par des calculs par éléments finis. Pour la partie microscopie, la technique de diffraction en faisceau convergent (CBED : Convergent Beam Electron Diffraction) a été employée car elle permet d'accéder à des résolutions spatiales de l'ordre de quelques nanomètres qu'aucune autre technique ne peut atteindre, ce qui permet d'effectuer des mesures dans les canaux constitués de phase gamma et larges de quelques dizaines de nanomètres (figure 1).

La détermination des paramètres de maille repose sur de la position des lignes de HOLZ (High Order Laue Zone), présentes dans le cliché de diffraction. Cette détermination est effectuée en comparant un cliché expérimental avec un cliché simulé. Pour se faire la méthode KLEBS (K-lines Equation Based Scheme) développée par Morawiec [1] a été employée. Son principe repose sur les équations définissant la position des lignes de HOLZ. La méthode KLEBS a été automatisée dans le logiciel TEMStrain [2], qui présente plusieurs avantages pour la détermination des paramètres de maille. Tout d'abord, il intègre la possibilité de traiter simultanément plusieurs clichés de diffraction provenant de la même zone, ceci permet de s'affranchir des problèmes d'ambiguïté [3,4] mais aussi de réduire l'incertitude liée à la mesure des paramètres de maille [5]. Les clichés CBED ont été réalisés sur un échantillon de CMSX-2 avec un Microscope Electronique en Transmission (MET) Philips CM200 équipé d'une cathode LaB₆ travaillant à 200 kV. Le porte-objet a été refroidi (-180°C) pour améliorer la qualité des clichés de diffraction en réduisant le bruit thermique.

En parallèle, une étude des déformations et contraintes internes est réalisée à partir des calculs par éléments finis, ces calculs pouvant donner des informations sur les gradients de déformation et de contrainte dans les précipités et dans les canaux de matrice [6-8]. L'étude 3D a été menée sur des microstructures " modèles " simplifiées, puis appliquée à une microstructure réelle provenant d'un échantillon de CMSX-2. L'accent a été mis sur le cas d'une lame mince en étudiant l'effet des bords libres sur la redistribution des déformations et contraintes ainsi que

l'effet de la présence du trou dans la lame mince. Il a été mis en évidence qu'un fort gradient de déformation est présent dans l'épaisseur de la lame et que l'effet du trou est négligeable pour des zones se situant à "deux précipités du bord" (environ 1000nm). Cette étude a pour but de mettre en relation deux techniques fondamentalement différentes mais pouvant se rejoindre dans la détermination des déformations. Le cas des superalliages monocristallins base nickel présente un grand intérêt de par leur microstructure particulière menant à des déformations différentes suivant les zones étudiées. Les résultats expérimentaux sont obtenus sur une lame mince et les résultats calculés sur lame mince sont une aide à l'interprétation des mesures qui représentent une moyenne sur le volume traversé par le faisceau d'électrons. Un lien avec les champs de déformation et de contrainte existant dans un élément de volume de la microstructure peut aussi être établi.

- [1] A. Morawiec, Ultramicroscopy, 390-395, 107 (2007)
- [2] A. Morawiec, J. Appl. Cryst., 618-622, 40 (2007)
- [3] H.J. Maier, R.R. Keller, H. Renner, H. Mughrabi, A. Preston, Phil. Mag., 23-43, A74 (1996)
- [4] A. Morawiec, Phil. Mag, 1611-1623, 85 (2005)
- [5] G. Brunetti, E. Bouzy, J.J.F. Fundenberger, A. Morawiec, A. Tidu, Submitted to Ultramicroscopy (2009)
- [6] J.F. Ganghoffer, A. Hazotte, S. Denis, A. Simon., Scripta Metall. Mater., 2491-2496, 25 (1991)
- [7] A. Hazotte, A. Racine, S. Denis, Journal de Physique IV, supplément au Journal de Physique III, 119-128, 6, (1996)
- [8] A. Hazotte, T. Grosdidier, S. Denis, Scripta Mater., 601-608, 34 (1996)

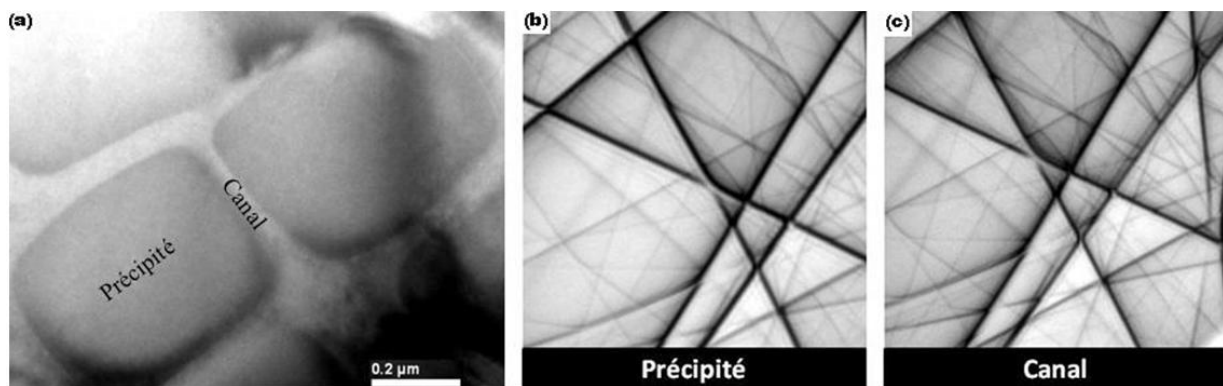


Figure 1 : (a) Image en champ clair par MET d'un superalliage monocristallin base nickel (CMSX-2) clichés de diffraction CBED correspondant respectivement (b) au précipité et (c) au canal.

Silicon dioxide implanted with Kr and Xe ions : nucleation and growth mechanisms

E. Oliviero¹, M.-O. Ruault¹, B. Décamps¹, F. Fortuna¹, E. Ntsoensok², O. Kaïtasov¹, S. Collin¹

¹ CSNSM, CNRS/IN2P3, UMR 8609 Univ Paris-Sud, Bâtiment 108, 91405 Orsay Campus, France

² CEMHTI-CNRS, 3A, rue de la férollerie, 45071 Orléans, France

Thermally grown amorphous SiO₂ was implanted at room temperature with heavy noble gases Kr and Xe in order to create bubbles in the oxide. The implantation energies were chosen in order to have the same implantation depth for both ions. Although both ions induce bubbles in amorphous SiO₂, their spatial distribution and sizes depend upon ion mass and fluence. Moreover, Xe implantation leads to additional formation of "nanoclusters" whose relative density depends on the implantation fluence. Thermal stability of bubbles/cavities depends on the implanted ion. The nucleation of bubbles and nanoclusters is discussed in the light of ion mobility and gas – defects interactions. Growth of bubbles is shown to occur by migration and coalescence process. This study provides important data concerning nanostructures (bubbles, "nanoclusters") and defects induced by noble gas implantation in amorphous SiO₂ thermally grown on Si single crystal. TEM studies show that both Kr and Xe form bubbles in SiO₂ while "nanoclusters" are formed only with Xe atom. The size distribution of the bubbles depends on the fluence and the nature of the implanted ion species. For Kr implantation, upon thermal annealing, the bubbles are stable only when Kr is still present. For Xe implantation, bubbles remain in silicon oxide after 900°C thermal annealing; Xe desorption at 1100°C results in the formation of stable cavities. We have demonstrated that, both during implantation and during post-annealing, the bubble growth is mainly due to a coalescence process. No Ostwald ripening phenomena was pointed out. From our results we assumed that : (i) Kr or Xe atoms complexes made from and vacancy type defects are energetically more favourable than those made from negative defects. Then, the presence of bubbles (made from complexes of open volume and gas) prevents the formation of "nanoclusters". (ii) The "nanoclusters" are induced in a free bubble region, possibly involving few Xe atoms which stabilized negative defects created during irradiation if the latter are enough dense.

Caractérisation par microscopie électronique des différentes phases dans des bicouches $\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9/\text{BLT}$

V. Madigou¹, R. Chmielowski², Ch. Leroux¹

¹ Laboratoire IM2NP - UMR CNRS 6242, Université du Sud Toulon-Var, Bat R, BP 20132, 83957 La Garde Cedex

² IMRA EUROPE, 220 Rue Albert Coquet, BP 123, 06904 Sophia-Antipolis Cedex

Résumé – Lors de l'élaboration par ablation laser de bicouches $\text{Bi}_3.25\text{La}_0.75\text{Ti}_3\text{O}_{12}/\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9$, à l'interface entre l'électrode oxyde et le matériau ferroélectrique, il se forme une autre phase nommée phase intermédiaire dont l'épaisseur, la composition chimique et la morphologie dépendent essentiellement des conditions de dépôts.

Introduction.

Dans le cadre d'applications pour les mémoires ferroélectriques, nous avons étudié un système de bicouches constitué d'une électrode oxyde conductrice ($\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9$) et d'un matériau ferroélectrique : la phase d'Aurivillius $\text{Bi}_3.25\text{La}_0.75\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (BLT). Ce dernier étant très sensible aux problèmes de fatigue [1], l'utilisation d'un oxyde comme électrode sert alors de "réservoir" à oxygène. Le BLT présente une structure en feuillets suivant le grand axe c de la maille, la polarisation étant suivant l'axe a est donc perpendiculaire à l'axe préférentiel de croissance. Afin d'optimiser la réponse ferroélectrique du matériau, plusieurs conditions de dépôts ont été utilisées. Les différents échantillons obtenus montrent qu'entre les couches attendues existe une phase qualifiée de phase intermédiaire qui varie beaucoup d'un échantillon à l'autre.

Elaboration des films.

Les films ont été obtenus par ablation laser sur un substrat de silicium [100] avec un laser excimer (KrF $\lambda=248$ nm, COMpex 301, Lambda Physik). Les films de $\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9$ ont été élaborés à partir d'une cible de Sr_2RuO_4 et ceux de BLT à partir d'une cible de BLT. Différentes conditions expérimentales de température de dépôt, de fréquence du laser, de pression d'oxygène dans la chambre de dépôt et de distance substrat-cible ont été testées.

Caractérisation des films.

Tous les échantillons présentent, lorsqu'ils sont observés en cross-section, le même type d'empilement :

- un film de $\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9$ avec des grains colonnaires et fautés suivant des plans (0k0) et (h00) [2],
- une phase intermédiaire
- un film de BLT avec une orientation de type (00l), ou avec des grains dont l'axe de polarisation est à 45° du plan de la couche [3].

Dans cette étude, nous nous sommes focalisés sur la couche intermédiaire. On peut distinguer deux types d'échantillons en fonction de la distance substrat-cible utilisée (45 ou 65 mm) que l'on distinguera en les appelant respectivement couches épaisses et couches minces. Dans le cas des couches minces, la phase intermédiaire est constituée des grains alignés et jointifs alors qu'ils sont indépendants et espacés dans le cas des couches épaisses. Un des échantillons correspondant à une couche mince, élaboré sous une pression d'oxygène de 50 mTorr, a permis une étude un peu plus poussée de la phase intermédiaire. L'épaisseur de cette couche est d'environ 100 nm (Fig 1a), il a donc été possible de réaliser des clichés de diffraction monocristalline ainsi que des analyses EDS locales. Les grains ont une hauteur de 100 nm qui correspond à l'épaisseur de la couche, par ailleurs une étude par diffraction électronique montre qu'ils ont tous la même

orientation. Les analyses EDS donnent une composition moyenne de 40% at. de Ti, 8% at. de La, 5% at. de Bi, 40% at. de Sr et 7% at. de Ru. Soit un pourcentage équivalent en strontium et en titane ce qui pourrait correspondre au composé SrTiO_3 (La, Bi et Ru provenant des grains des couches adjacentes). Ce résultat peut permettre d'indexer les diffractions électroniques dans la structure perovskite SrTiO_3 avec des surstructures (Fig 1b). Dans le cas des couches épaisses, il est beaucoup plus difficile d'identifier la phase intermédiaire car elle est formée de grains de formes indéfinies qui se chevauchent plus ou moins et qui recouvrent partiellement les grains de $\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9$. Les analyses EDS effectuées sur cette zone indiquent des taux de 60 % at. de Sr et 40% at. de Ru, sachant que les grains de $\text{Sr}_4\text{Ru}_2\text{O}_9$ risquent d'être englobés dans la zone, la composition de la phase intermédiaire se situe plutôt autour de 50 % at. de Sr et 50 % at. de Ru.

[1] P.C. Joshi, S.B. Krupanidhi, Appl. Phys. Lett., 1928, 62 (1993).

[2] R. Chmielowski, V. Madigou, M. Blicharski, Ch. Leroux, J. Cryst. Growth, 3854, 310 (2008).

[3] R. Chmielowski, Thèse de l'Université du Sud Toulon-Var, avril 2007.



Figure 1 : a) Coupe transversale d'un échantillon de type couche mince élaboré sous une pression d'oxygène de 50 mTorr b) diffraction électronique indexée suivant l'axe de zone $[1-10]$ dans la structure SrTiO_3 (flèche indique tâche de surstructure)

Observation d'aciers ODS filés - Influence de la température de filage sur la nanostructure du matériau

M. Couvrat¹, L. Chaffron¹, L. Boulanger², M.H. Mathon³

¹ Service de Recherches Métallurgiques appliquées, LTMEx, CEA-Saclay, France

² Service de Recherches de Métallurgie Physique, CEA-Saclay, France

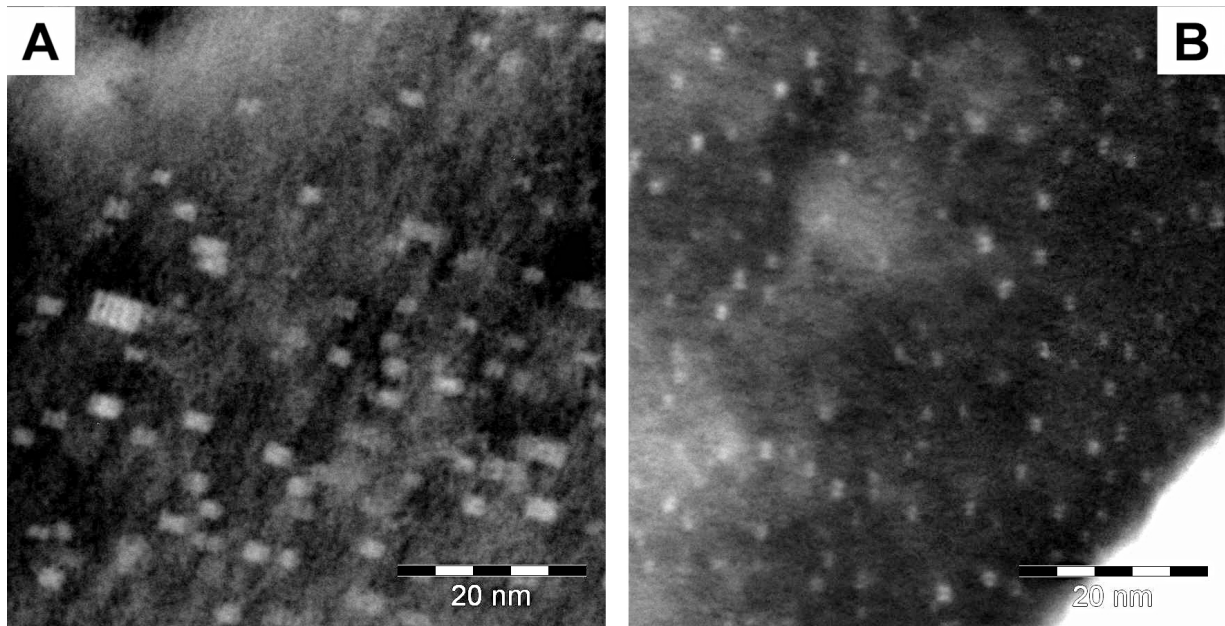
³ Laboratoire Léon Brillouin (CEA-CNRS), CEA-Saclay, France

Les aciers renforcés par dispersion d'oxydes (ODS) sont des matériaux envisagés pour le gainage combustible des Réacteurs à Neutrons Rapides à caloporteur sodium grâce à leur excellente tenue au fluage à haute température et à leur résistance à l'irradiation prometteuse. Ces bonnes propriétés sont liées d'une part à la structure cubique centrée de la matrice dans laquelle il y a peu de formation de cavités par condensation de lacunes sous irradiation et d'autre part à la présence d'une distribution de précipités nanométriques Y-Ti-O. Les aciers ODS sont généralement obtenus par broyage à haute énergie d'une poudre préalliée Fe-Cr-W-Ti avec une poudre d'oxyde d'yttrium, suivi par une consolidation à chaud. Le procédé de référence pour la transformation de cette poudre nanostructurée en barre ou tube est le filage à chaud. De façon un peu plus détaillée, la procédure consiste à remplir une gaine de poudre, dégazer la poudre puis chauffer en four la billette ainsi préparée jusqu'à la température désirée (le plus souvent 1100°C) avant de filer. On obtient alors une ébauche qui pourra subir par la suite différents traitements thermiques et laminages pour arriver au produit fini.

L'objectif de notre étude est d'identifier et de comprendre l'influence des paramètres de chacune de ces étapes sur la nanostructure du matériau afin d'acquérir la maîtrise du procédé de fabrication dans son ensemble. Lors de ce travail, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'effet de la température de préchauffage de la billette avant filage que l'on appelle le plus souvent température de filage. A partir d'une poudre élaborée par Mecachrome Fe 18Cr₁W_{0.3}Ti_{0.3}Y₂O₃ (%Pds), nous avons réalisé des filages à différentes températures entre 700°C et 1100°C. Les échantillons sont observés entre autres par Microscopie Electronique en Transmission (MET) avec un Philips CM20 et par Diffusion des Neutrons aux Petits Angles (DNPA) au laboratoire Léon Brillouin.

Au niveau de la microstructure après filage, les grains présentent une faible densité de dislocations avec des parois de polygonisation indiquant un état recuit. Leur taille moyenne se situe pour les filages à 700°C et 1100°C, à 130 nm et 400 nm respectivement. Les précipités sont révélés par contraste de distance d'extinction et apparaissent nettement cubiques avec une relation d'orientation avec la matrice. La plus petite population varie de 1,0 nm à 1,9 nm de moyenne pour les filages à 700°C et 1100°C respectivement. Ces résultats sont tout à fait en accord avec la DNPA. Nous avons donc identifié un effet de la température de filage sur la taille de grain ainsi que sur la taille de précipité.

L'observation de ce type de précipités pose de nombreuses questions et difficultés sur les méthodes utilisées et sur les interprétations que l'on peut en faire. Ces objets ne semblent pas diffracter. De plus, il est important de faire attention aux artefacts de surface; avec un réglage différent, notamment de focus, il est possible de rendre visible des germes d'oxydation nanométriques en surface.



A) Image dans une frange d'épaisseur sombre d'un acier ODS filé 1100° C, précipités de taille centrée autour de 1,9 nm. B) Image dans une frange d'épaisseur sombre d'un acier ODS filé 700° C, précipités de taille centrée autour de 1,0 nm.

Etude par microscopie électronique à transmission de films $\text{La}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ déposés sur LaAlO_3 obtenus par méthodes chimiques (MOD et MOCVD)

L. Rapenne¹, C. Jimenez¹, T. Caroff^{1,2}, C. Millon¹, S. Morlen², F. Weiss¹, P.-Bayle-Guillemaud³, P. Odier²

¹ LMGP CNRS UMR 5628 Grenoble -INP 3, Parvis Louis Néel 38 016 Grenoble Cedex 1, France

² CRETA CNRS UPS2070 38042 Grenoble, France

³ CEA GRENOBLE, INAC/SP2M/LEMMA, Grenoble 38054 cedex 9, France

Les films $\text{La}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ (LZO) élaborés par voie chimique MOD et MOCVD ont permis de développer des conducteurs déposés sur des substrats texturés à base de nickel, qui pourraient se placer comme une filière à bas coût pour les câbles supraconducteurs à base d'YBCO. Cette couche LZO, dans l'architecture simplifiée $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7/\text{La}_2\text{Zr}_2\text{O}_7/\text{Ni}$, a un double rôle : permettre le transfert de texture du substrat et le protéger de l'oxydation. Le film LZO peut cristalliser selon deux structures similaires : fluorite $\text{La}_{0.5}\text{Zr}_{0.5}\text{O}_{1.75}$ et pyrochlore $\text{La}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$. Des études par microscopie électronique à transmission (TEM) ont été utilisées pour déterminer la distribution locale de ces deux phases dans des couches LZO épitaxiées sur LaAlO_3 . La particularité des films LZO déposés par MOD est la formation de nanocavités. Ces nanocavités n'existent pas dans les films LZO obtenus par MOCVD. Les études TEM et par diffraction des Rayons X ont permis d'étudier les effets des paramètres de recuit MOD (montée en température, température, pression...) sur la microstructure, la forme et la taille des nanocavités.

[1] T. Caroff, S. Morlens, A. Abrutis, M. Decroux, P. Chaudouët, L. Porcar, Z. Saltyte, C. Jiménez, P. Odier and F. Weiss, *Supercond. Sci. Technol.* 21 (2008)

[2] L. Rapenne, C. Jiménez, T. Caroff, C. Millon, S. Morlens, P. Bayle-Guillemaud, F. Weiss. In Press in *Journal of Materials Research* (2009)

[3] C. Jiménez, T. Caroff, L. Rapenne, S. Morlens, E. Santos, P. Odier, F. Weiss, *Journal of Crystal Growth* In Press, Accepted Manuscript, (2009)

Investigation of the MnSi cubic phase in tetragonal Mn₄Si₇ crystals.

E.I. Suvorova¹, F.Yu. Solomkin², M. Cantoni³, P.A. Buffat³

¹ A.V. Shubnikov Institute of Crystallography, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² A.F. Ioffe Physico-Technical Institute, Russian Academy of Sciences, St.Petersburg, Russia

³ Centre Interdisciplinaire de Microscopie Electronique, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne, Switzerland

Higher manganese silicides (HMS) with a composition near MnSi_{1.75} are of special interest owing to their semiconducting and thermoelectric properties, high luminescence efficiency in the near-infrared region or strong photoconductive response. Whatever the growth parameters and the melt composition leading to HMS, this material contains always lamellar MnSi precipitates and Si precipitates for the Si-rich melt. MnSi acts as a metal what has a detrimental effect upon electrical properties of MnSi_{1.75} and degrades its thermoelectric figure of merit. Single crystals 10-11 mm in diameter and 80-110 mm in length were grown in about 17 hours by the Bridgman technique in a quartz tube under Ar atmosphere with a feed speed of 5 mm/h, starting at 1443 K with a temperature gradient of about 29 K/mm. Figure 1 shows an as-grown HMS crystal, the position of a wafer cut parallel to the axis of growth and a SEM image of the thin MnSi lamellas crossing two faces of the wafer. These lamellas are about 0.5 μm thick, extend over millimeters if not across the whole crystal and are spaced some 10 to 50 microns apart. They contain large grains which extend over the whole thickness of the lamella. Those are nearly free of dislocations or defects but divided into micrometer-sized units by sub-grain boundaries, which lead to local small disorientation, up to some 2°, from grain to grain (Fig.2). Most of the SAED pattern reflections can be indexed by the Mn₄Si₇ tetragonal lattice [1]. However anomaly in intensities and extra-reflections can only be explained by some disorder in the Si atom positions and the formation of an incommensurable structure [2]. Several orientation relationships between two phases were found from SAED patterns : $[230](001) \text{ MnSi} // [441](110) \text{ Mn}_4\text{Si}_7$ and $[412](0\bar{2}1) \text{ MnSi} // [\bar{1}10](2\bar{2}\bar{1}) \text{ Mn}_4\text{Si}_7$. In average the lamellar MnSi precipitates are lying on the (001) Mn₄Si₇ planes though deviations of a few degrees are observed over long distances by SEM as well as locally by HRTEM (Fig.3). Therefore the interface between the two phases is neither flat in macro-scale nor in microscopic scale even if it can locally be smooth at nanoscale.

[1] U. Gottlieb, A. Sulpice, B. Lambert-Andron, O. Laborde, Journal of Alloys and Compounds, 13–18, 361 (2003)

[2] R.de Ridder, J.van Landuyt, S.Amelinckx, Phys.Stat.Sol. (a),551-565, 9 (1972)

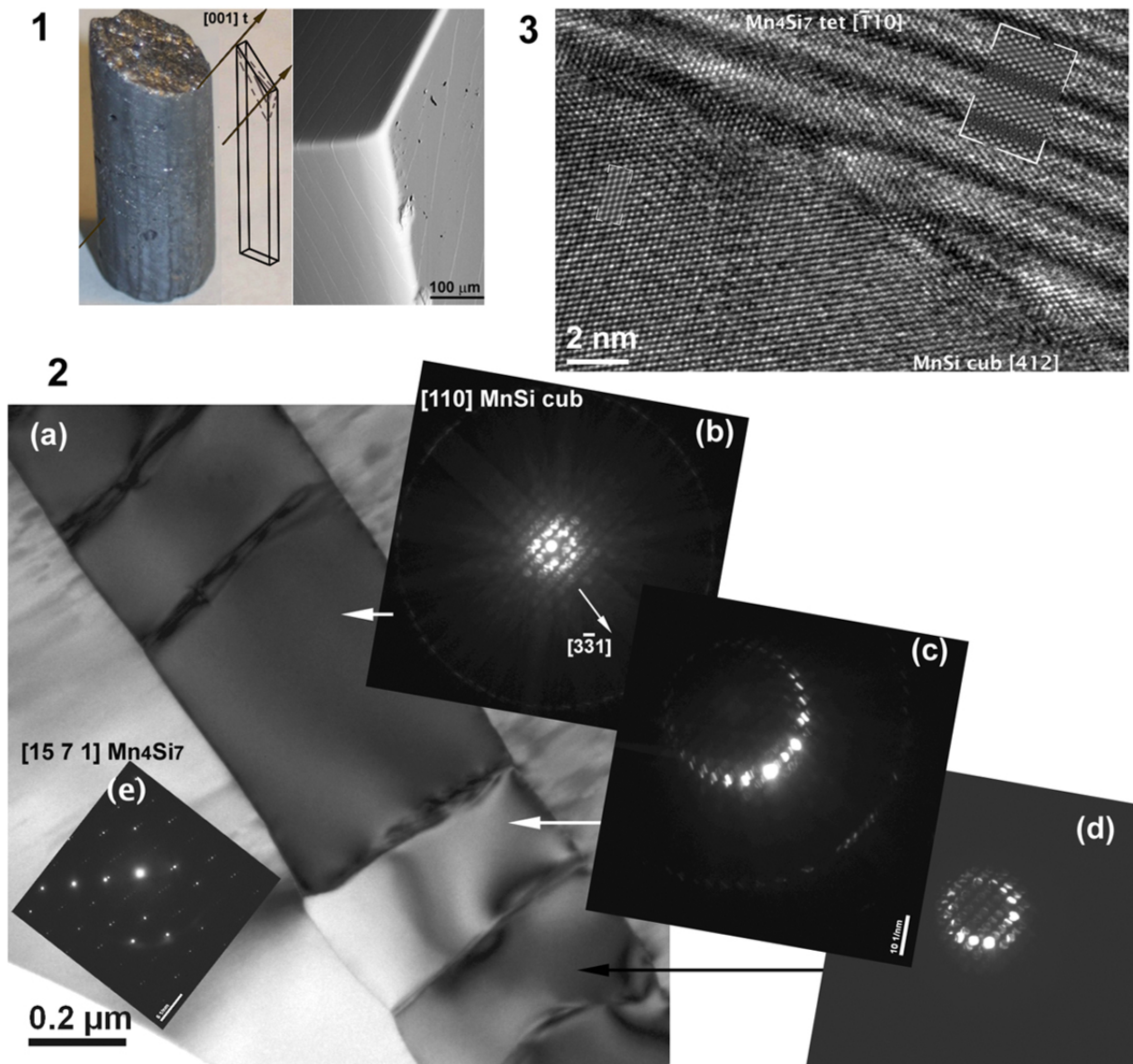


Figure 1. As-grown Mn_4Si_7 crystal and wafer orientation (left); SEM (BSE) image of MnSi lamellas crossing three faces of the wafer (right). Figure 2. TEM image (a) of the MnSi precipitate and SAED patterns showing grain disorientation (within \mathcal{P}) relatively to each other (b,c,d); [15 7 1] SAED pattern from Mn_4Si_7 (e). Figure 3. HRTEM image of the MnSi – Mn_4Si_7 interface and simulation (inserts) along the [412] MnSi and $[\bar{1}10]$ Mn_4Si_7 (defocus 39 and 33 nm, thickness 4.2 nm and 4 nm, respectively).

Observation de défauts magnétiques nanométriques en Microscopie de Lorentz

A. Masseboeuf¹, T. Jourdan¹, C. Arm¹, F. Lançon¹, A. Marty¹, C. Gatel², E. Snoeck², P. Bayle-Guillemaud¹

¹ CEA/INAC/SP2M, Grenoble

² CEMES-CNRS, Toulouse

Les alliages de structure $L1_0$ (FePt, FePd, etc..) font l'objet de nombreuses études magnétiques du fait de la forte anisotropie induite par leur structure cristalline. Ils constituent des candidats prometteurs pour des applications dans les futurs médias d'enregistrement ou la magnéto-logique. Pour comprendre les mécanismes magnétiques mis en oeuvre lors des processus de retournement de l'aimantation dans ces structures, il faut disposer de méthodes d'observation à la fois quantitatives pour déterminer l'ampleur des phénomènes et à la fois avec une résolution spatiale suffisante pour la taille des objets magnétiques concernés : les parois de domaine.

La Microscopie de Lorentz [1] et l'Holographie Électronique [2] s'avèrent être des outils adaptés que nous présentons avec ce cas de couche mince de FePd, structurée en domaines d'aimantation perpendiculaire. Ces domaines magnétiques Up et Down sont séparés par des parois de Bloch. Durant le retournement de l'aimantation, nous avons pu observer que des défauts magnétiques gouvernaient le déroulement du processus, en piégeant notamment les parois de Bloch au voisinage de la saturation. Nous avons assimilé ces défauts à des lignes de Bloch verticales qui ont été longuement étudiées dans les années 1980 pour leur utilisation comme éléments de mémoires magnétiques dans les grenats [3]. Nous avons ainsi pu interpréter leur nature à l'aide de simulations magnétiques multi-échelles [4]. Ces simulations, couplées à des simulations de contraste en microscopie de Lorentz ont ainsi permis de valider la structure interne de ces lignes de Bloch et ce, malgré les très faibles dimensions de ces objets (de l'ordre de la dizaine de nm). La figure présente l'état d'aimantation proche de la saturation (775 mT) de la couche de FePd ordonnée. Cette image (A) montre deux domaines d'aimantation résiduels (bulles), séparés du domaine majoritaire par une paroi de Bloch. Cette paroi est soit continue, soit séparée en deux parties par deux lignes de Bloch verticales. La nature de ces lignes de Bloch (avec et sans Point de Bloch [5] au sein de la ligne) est ainsi déterminée par la courbure induite sur la bulle d'aimantation par les deux lignes de Bloch, comme le montre la simulation multi-échelles (B et C).

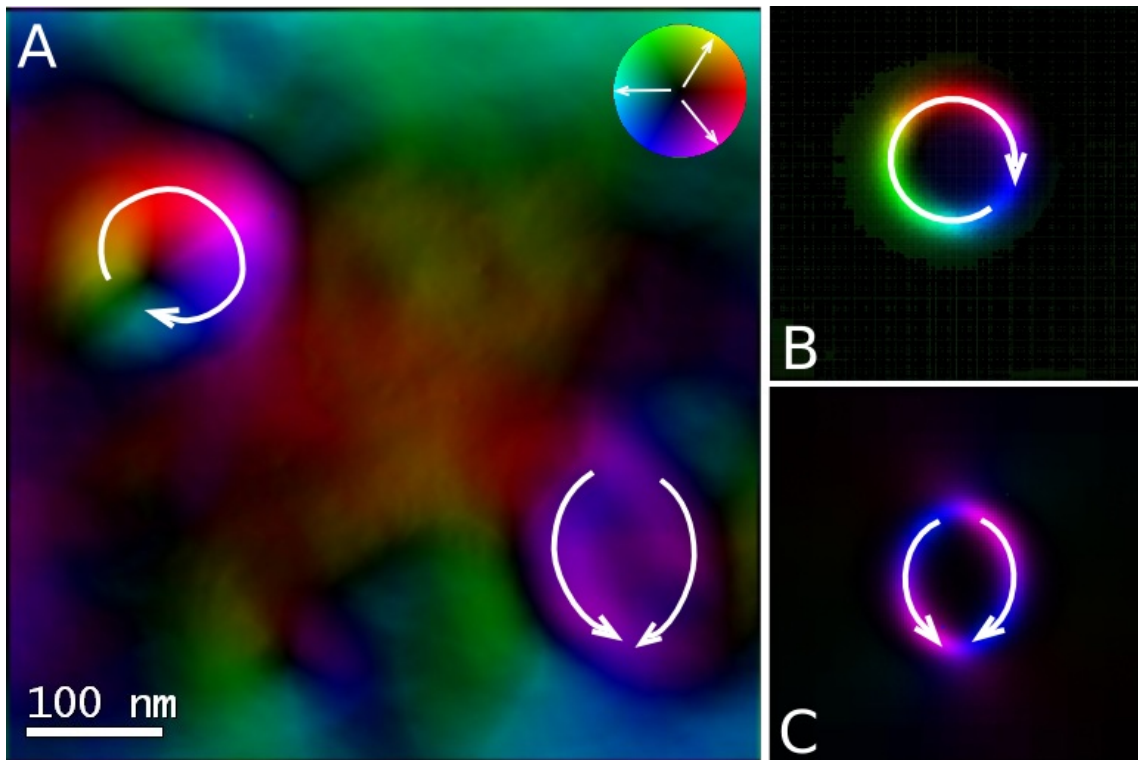
[1] J.N. Chapman, Journal of Physics D : Applied Physics, 623-647, 17 (1984)

[2] P.A. Midgeley, Micron, 167-184, 32 (2001)

[3] A. Thiaville, J.Miltat, et al. European Physical Journal B, 37-47, 23 (2001)

[4] T. Jourdan et al., Phys. Rev. B, 224428, 77 (2008)

[5] A. Hubert, R. Schafer, Magnetic Domains, Springer Berlin (1998)



Bulles d'aimantation résiduelles avant la saturation dans une couche de FePd (Fig en couleur). A. Reconstruction par série focale de l'induction magnétique. Les deux bulles présentent deux configurations différentes : sans Ligne de Bloch (en haut à gauche) et avec deux lignes de Bloch (en bas à droite). Un code couleur est utilisé mais des flèches indiquent aussi l'aimantation dans ces bulles. B. Simulation multi-échelles d'une bulle d'aimantation sans Ligne de Bloch. C. Simulation multi-échelles d'une bulle d'aimantation avec deux Lignes de Bloch.

Caractérisation par microscopie électronique à transmission de couches de AlN déposées sur SiC et Al₂O₃

B. Doisneau-Cottignies¹, A. Claudel^{1,2}, M. Audier³, E. Blanquet¹, D. Chaussende³, D. Pique², M. Pons¹

¹ Science et Ingénierie des Matériaux et Procédés, Grenoble INP-CNRS-UJF, 1130, rue de la piscine, BP 75, 38 402 Saint Martin d'Hères

² ACERDE, 452 rue des sources, 38 920 Crolles

³ Laboratoire des Matériaux et du Génie Physique, Grenoble INP-Minatec, 3, parvis Louis Néel, BP 257, 38 016 Grenoble

Le nitrure d'Aluminium AlN, grâce à ses caractéristiques (semi-conducteur à grand gap ($E_g=6.2\text{eV}$), haute résistance électrique, forte conductivité thermique...) a un avenir prometteur pour ses applications dans le domaine de l'optoélectronique, de l'électronique de puissance... Ce composé entre déjà dans la fabrication de diodes électroluminescentes et de laser fonctionnant dans le domaine de l'UV, ainsi que des transistors hyperfréquence HEMT (High Electron Mobility Transistor) et des dispositifs SAW (Surface Acoustic Waves). L'un des objectifs de recherche au SIMaP est l'élaboration à forte vitesse et à haute température de monocristaux d'AlN par la technique de HTCVD (High Temperature Chemical Vapor Deposition). Les conditions expérimentales favorables à une croissance de AlN en épitaxie avec les substrats de SiC et de saphir Al₂O₃ ont été déterminées. Les couches ainsi déposées ont été caractérisées par microscopie électronique à transmission en haute résolution. On rappelle la structure cristallographique des différentes phases : AlN-2H, SiC-4H et saphir Al₂O₃ de maille hexagonale pouvant également être décrite dans une maille rhomboédrique. Les relations d'épitaxie établies sont respectivement, pour le dépôt de AlN sur saphir : [11-20]AlN//[1-100]Al₂O₃, [-1100]//[11-20] et (0001)//(0001)Al₂O₃ et pour le dépôt de AlN sur SiC : [100]AlN//[100]SiC, [010]AlN//[010]SiC et (001)AlN//(001)SiC. Les principaux résultats obtenus montrent que les couches de AlN déposées sur substrat saphir sont fortement contraintes en raison d'un important "misfit" entre les paramètres de maille du substrat et de la couche (12%). Ces contraintes entraînent des fissurations de la couche de AlN. Les images en haute résolution ont permis de mettre en évidence des défauts tels des dislocations ou des parois d'antiphase dans les couches de AlN. Aucun domaine d'inversion n'a été observé sur les 2 types d'échantillons comme certains auteurs l'avaient mentionné[1].

[1] J. Jasinski, Z. Liliental-Weber, Q. S. Paduano, and D. W. Weyburne, Appl. Phys. Lett., vol. 83, n°14, 2811-2813, (2003)

Structure et modes de maclage de la martensite dans le système Hafnium-Palladium.

C. Declairieux¹, P. Vermaut¹, R. Portier¹, P. Ochin², V. Kolomytsev³

¹ Métallurgie Structurale LPCS UMR 7045 - ChimieParisTech

² Institut de Chimie des Matériaux de Paris-Est - CNRS

³ Institute of Metal Physics of NASU, Kiev.

L'effet mémoire de forme observé dans certains alliages est provoqué par une transformation de phase : la transformation martensitique. Cette transformation est une transformation displacive thermoélastique. Elle apparaît au cours du refroidissement ou par application d'une contrainte sur la phase stable à haute température, l'austénite, donnant naissance à une phase stable à basse température, la martensite.

L'alliage à mémoire de forme qui a été le plus étudié et développé industriellement au cours des dernières décennies est le Nickel-Titane. Ce système présente une transformation martensitique autour de la température ambiante. Il a été mis en évidence que l'ajout d'éléments comme le Hafnium ou le Zirconium en substitution du Titane dans NiTi augmente les températures de transformation jusqu'à plusieurs centaines de degrés Celsius mais modifie les modes de maclage ce qui nuit aux propriétés de mémoire de forme. D'autres alliages développent une transformation martensitique à haute température mais aucun d'entre eux n'a, pour le moment, débouché sur une application commerciale. Notre étude se propose d'apporter des éléments fondamentaux sur le système Hafnium-Palladium qui n'a été que très peu étudié jusqu'à présent. Après avoir vérifié la présence d'une transformation martensitique à haute température, autour de 550°C, par analyse thermique différentielle nous avons cherché à déterminer la structure de la martensite. Pour cela, les Microscopies Electroniques à Balayage (MEB) et en Transmission (MET) ont été utilisées. A l'aide de spectres de diffraction de rayons X, de données relatives à d'autres systèmes d'alliages et de clichés de diffraction électronique, nous avons pu identifier le groupe d'espace ainsi que les paramètres de maille de la martensite. Tout comme NiTiHf, HfPd présente une martensite de type B19' de groupe d'espace P_{m}^{21} mais avec des modes de maclages différents qui ont été identifiés sur des clichés de diffraction et analysés en microscopie haute résolution.

Structure et microstructure de films de semi-conducteurs de structure wurtzite épitaxiés dans des orientations nonpolaires

P. Vennéguès¹, J.M. Chauveau¹, Z. Bougrioua¹, J. Zuniga Perez¹, T. Zhu², D. Martin², N. Grandjean²

¹ CRHEA-CNRS, Rue Bernard Grégory, Sophia Antipolis, 06560 Valbonne, France

² Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), IPEQ, CH-1015, Lausanne Switzerland

Les nitrures d'éléments III et les alliages à base de ZnO, qui ont de larges applications notamment dans l'optoélectronique, cristallisent dans la structure wurtzite. Cette structure est une structure polaire avec la présence d'une polarisation spontanée. La présence de polarisations spontanée et piézoélectrique influe fortement les propriétés des hétérostructures quand elles sont épitaxiées selon la direction [0001]. Depuis quelques années, un effort de recherche important a donc été porté sur la croissance de films minces nonpolaires, c'est-à-dire avec l'axe polaire c dans le plan des couches. Cette présentation concerne la caractérisation structurale et microstructurale de films hétéroépitaxiés de GaN et ZnO nonpolaires par microscopie électronique en transmission. Différents points seront abordés :

- Les relations d'épitaxie, l'accent étant mis sur la détermination de la polarité dans le plan des couches
- La caractérisation des défauts cristallins
- Le développement de techniques permettant de réduire les densités de ces défauts cristallins.

Couches minces du composé magnétoélectrique $\text{Ga}_{2-x}\text{Fe}_x\text{O}_3$: la problématique de l'électrode conductrice

M. Trassin¹, C. Ulhaq-Bouillet¹, N. Viart¹, G. Versini¹, S. Barre¹, G. Pourroy¹

¹ Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg (IPCMS), UMR 7504 UDS-CNRS (UDS-ECPM), 23 rue du Loess, BP 43, F-67034 Strasbourg Cedex 2, France

Les matériaux magnétoélectriques présentent un couplage entre leurs propriétés magnétiques et électriques et permettent ainsi d'envisager la manipulation de l'aimantation par un champ électrique. Ces matériaux sont actuellement au centre d'un considérable intérêt en raison des nouvelles opportunités que de telles propriétés offrent dans le domaine de l'enregistrement de l'information. $\text{Ga}_{2-x}\text{Fe}_x\text{O}_3$ ($0.8 < x < 1.4$) (GFO) est un excellent candidat pour l'étude de ces matériaux. Des études le concernant sous forme de monocristal ont prouvé son caractère magnétoélectrique et il a également été montré que sa température de Curie est au-dessus de la température ambiante pour $x = 1.4$ [1]. Des couches minces de ce composé ont été déposées par ablation laser sur substrats de zircone stabilisée à l'yttrium (YSZ) (001) ainsi que sur diverses électrodes inférieures conductrices, indispensables aux caractérisations électriques : 1. oxyde d'indium dopé à l'étain (ITO) monocristallin sur YSZ(001) [2], 2. Pt(111) non orienté dans le plan sur $\text{SiO}_2/\text{Ti}/\text{Si}(001)$ et 3. Pt(111) monocristallin sur YSZ(111). Nous présenterons les caractérisations structurales réalisées par diffraction des rayons X couplée à la microscopie électronique en transmission des couches minces déposées sur les différentes électrodes inférieures ainsi que les analyses chimiques au niveau des interfaces.

[1] T. Arima et al., Physical Review B, 064426, 70 (2004)

[2] M. Trassin et al., Applied Physics Letters, 202504, 91 (2007)

Préparation d'échantillons II-VI sans défauts

A.M. Papon¹, H. Dansas¹, L. Mollard¹

¹ CEA, LETI, MINATEC, F-38054 Grenoble, France

Les matériaux II-VI sont très étudiés, en particulier pour leurs applications en tant que détecteurs, ou caméras à longueur d'onde infrarouge. L'étude structurale, en coupe transverse, des matériaux II-VI fait souvent appel à des observations par Microscopie Electronique à Transmission (TEM). Jusqu'à présent, les préparations d'échantillons minces étaient effectuées par polissage mécanique suivi d'un amincissement ionique sous faisceau d'Argon à basse énergie [1]. Les lames minces ne sont pas faciles à préparer car le matériau est fragile. Le polissage doit être arrêté à plusieurs dizaines de microns d'épaisseur pour ne pas casser la lame. Après amincissement ionique, les zones fines s'étendent en biseau circulaire autour d'un trou central. L'observation est faite en bord de trou, à différentes profondeurs dans la couche. Il faut ensuite faire un montage photographique pour avoir la vue d'ensemble des couches de plusieurs microns d'épaisseur. La lame TEM présente très fréquemment des petites dislocations résiduelles dont on s'accommode. En observant des couches CdHgTe à différentes concentration en Hg, on a montré que la densité de défauts résiduels est fonction de la quantité de Hg, elle est d'autant plus importante que la concentration en Hg dépasse 55%.

Dans le but d'améliorer la qualité des lames de matériaux CdHgTe/CdZnTe, des essais de préparation ont été faits sur un microscope FIB DB-Strata 400 à doubles faisceaux (ionique et électronique). L'abrasion de matière est effectuée par balayage d'un faisceau d'ions Ga⁺, d'énergie 30keV, sous différentes intensités de courants. La technique consiste à prélever un prisme de quelques microns, sur une profondeur de plusieurs microns, profondeur adaptée à la couche à observer. L'amincissement final est effectué avec des courants plus faibles et une énergie plus basse. La préparation requière peu de matériau et demande ensuite moins d'habileté dans la manipulation, de la lame TEM, que pour une préparation classique.

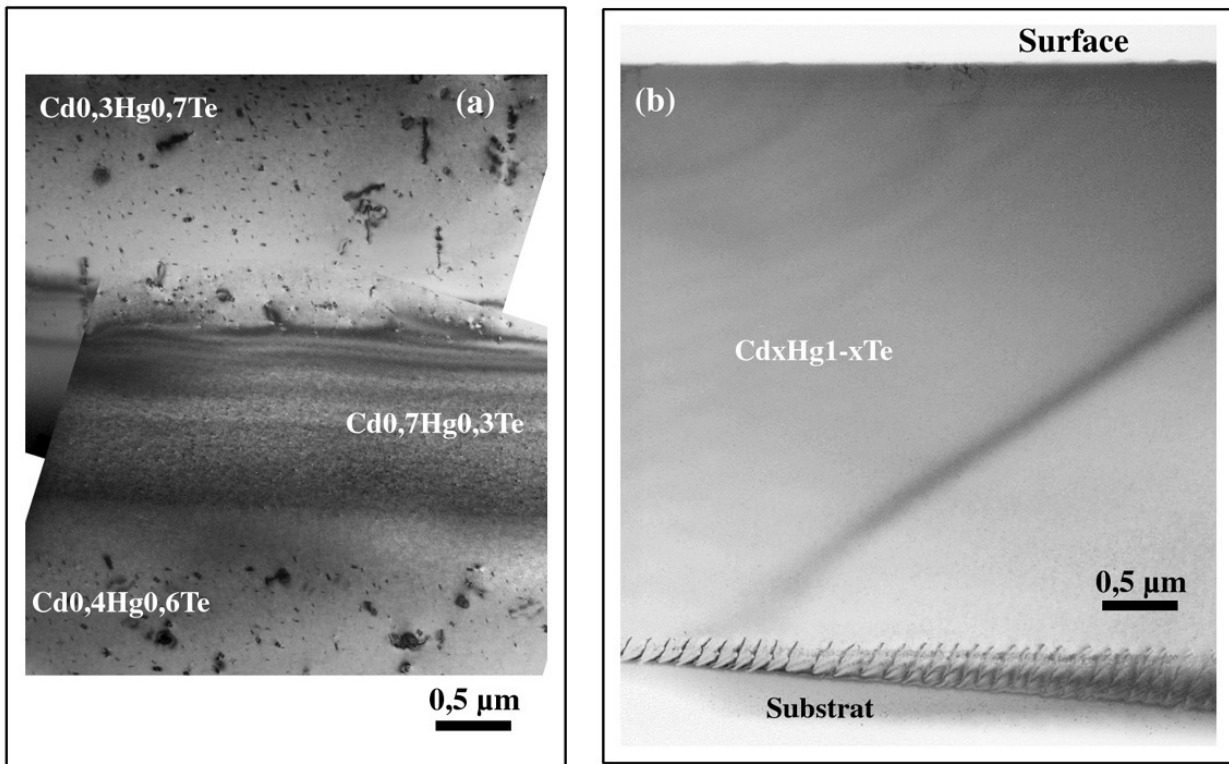
Le résultat est remarquable, une lame à face parallèle est obtenue dans toute la profondeur de la couche. La couche entière est ainsi visualisée sur une même zone et elle ne présente pas de défauts résiduels de préparation.

Des lames minces ont été préparées dans le cadre d'étude de couches dopées As, pour photodiodes. Il s'agissait de connaître la distribution de défauts induits par l'implantation ionique d'arsenic et de suivre l'évolution de ces défauts en fonction du recuit. Il est donc important de distinguer les défauts réels et d'éviter la formation de défauts résiduels au cours de la préparation. Ainsi dans des couches Cd_xHg_{1-x}Te, avec 1-x > 60%, on a pu mettre en évidence, sans ambiguïté, une zone de défauts d'implantation bien délimitée [2]. De même, après le recuit thermique, l'absence de dislocation montre réellement la disparition des défauts d'implantation.

La technique de préparation, par Fib, de lames TEM d'échantillons II-VI présente de nombreux avantages, en terme de commodité, de consommation de matière et surtout de qualité de lames. La finition à basse énergie évite la formation de défauts résiduels.

[1] L. Di Cioccio, Thèse INPG Grenoble, France (1988)

[2] L. Mollard, G. Destefanis, J. Rothman, N. Baier, S. Bisotto, P. Ballet, J.P. Chamonal, P. Castelein, J.P. Zanatta, M. Tchagaspanian, A.M. Papon, J.P. Barnes, F. Henry, S.Gout, G. Bourgeois, C. Pautet, P. Fougeres, J. of Elec . Materials, à paraître (2009)



Comparaison de la qualité de l'échantillon suivant le type de préparation : (a) par polissage mécanique et amincissement ionique, (b) par Fib. La préparation Fib n'induit pas de défauts résiduels même pour une concentration en Hg, $1-x$, supérieure à 60%

Evolution of *nano-t-ZrO₂* crystallisation during nucleation of *MgO-Al₂O₃-SiO₂* glass-ceramics

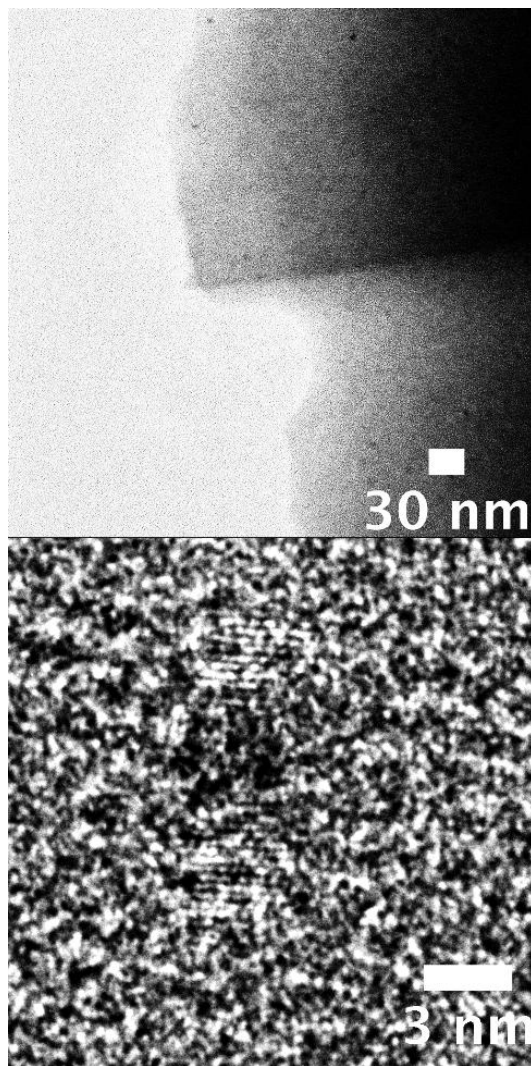
O. Dargaud ^{1,2}, G. Calas ¹, L. Cormier ¹, L. Galois ¹, M. Newville ³, N. Menguy ¹

¹ Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, Université Pierre et Marie Curie, Université Denis Diderot, CNRS UMR 7590, IPGP, 140 Rue de Lourmel, 75015, Paris

² Saint-Gobain Recherche, 39 Quai Lucien Lefranc, 93303 Aubervilliers Cedex, France.

³ GeoSoilEnviroCARS, Argonne National Laboratory, 9700 South Cas Av., 60439-II, Argonne, USA.

Glass ceramics are materials in which amorphous matter reorganizes promptly in crystalline stable state when heated above the glass transition temperature (T_g). Some control of the glass to crystal transformation is achieved by adding nucleating agents, such as ZrO_2 . These agents lower the temperature of crystallisation, accelerate kinetics and promote bulk crystallisation over surface crystallisation. However, the detailed role of these elements is still not well understood at atomic scale. Their sites, their distribution in the glass structure, the rearrangement of their environment during nucleation are key structural issues to understand and control nucleation mechanisms. In the present investigation we follow the structural changes of the Zr environment during heating treatment on a $MgO-Al_2O_3-SiO_2$ glass with 4 %mol ZrO_2 as nucleating agent. The reorganisation of the amorphous glass through heating treatment has been monitored by TEM – HRTEM and STEM (Impmc – Jeol 2100F). The very first steps of crystallisation of tetragonal zirconia have been seen for small nano-crystals with a size less than 3nm while the surrounding remains largely amorphous (See fig.). These crystals grow up to 15 nm formed by clusters of smaller nano-crystalline domains. This peculiar reorganisation of matter has been linked with X-ray spectroscopy (XANES and EXAFS at Zr K edge, performed at GSECARS, Argonne, USA) to probe the peculiar environment of Zr in those nano-objects seen through nucleation of glass-ceramic.



Very first t – ZrO₂ crystallites in nucleated ZrO₂-MgO-Al₂O₃-SiO₂ glass-ceramics

Z-contrast imaging of rare-earth doped GaN quantum dots

H. Okuno ¹, P. H. Jouneau ¹, J. L. Rouvière ¹, B. Daudin ², C. Bougerol ², V. Fellmann ², Y. Hori ^{2,3}, K. Lorenz ⁴, P. Bayle-Guillemaud ¹

¹ CEA Grenoble, INAC/SP2M/LEMMA, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble, France

² CEA-CNRS 'Nanophysique et Semiconducteurs', 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble, France

³ NGK Insulator, LTD, 2-54 Sudacho, Midoriku, Nagoya, Japan

⁴ Instituto Tecnológico e Nuclear, Estrada Nacional 10, 2686-953 Sacavem, Portugal

High-angle annular dark field (HAADF) imaging by scanning transmission electron microscopy (STEM) has recently demonstrated its capacity to provide atomic resolution images altogether with chemical information, so-called Z-contrast technique [1]. The performance of HAADF-STEM has been greatly improved since the introduction of aberration correction technology. In this work, we used probe Cs-corrected HAADF-images to observe rare-earth doped GaN quantum dots (QDs) embedded by AlN. From these images we localize the positions of dopant atoms (Eu and Tm) and observe how these dopant atoms can influence the QD shape and ordering. The addition of rare-earth luminescence in GaN QDs can be used to realize full color devices [2]. The optical properties of doped QDs are strongly influenced by the doping level and by the dopant position in the host matrix. The QDs are doped in two different ways. Either they are 'in-situ doped' during the MBE growth or implanted by high energy ions.

Figure 1 (a) and (b) show HAADF-HRSTEM images of 'in-situ' Eu and Tm doped GaN QDs, respectively. Images are obtained with a FEI-TITAN microscope equipped with a probe Cs-corrector. No visible bright spots are recognized in the AlN layer in Eu doped one. On the other hand, individual Tm atoms are detected in the AlN layer in Tm doped one, appearing as white dots due to a difference of atomic number (Z), as indicated by a white arrow. The results are in good agreement with EXAFS measurements demonstrating that Eu is mostly incorporated inside GaN QDs. On the contrary, 70 percent of Tm atoms have an Al environment. Using HAADF imaging, the Tm positions are determined to be in the AlN layer rather than in the interface between GaN QDs and AlN. Figure 1(c) shows a HAADF image of the Eu implanted sample in the area found to contain the maximum concentration of Eu (0.2 atomic percent according to RBS measurements). The QDs are strongly damaged and the interface between the QDs and AlN layer becomes blurred. In this area, dislocations are often observed between the QDs as shown in insets of Fig.1(c). These dislocations are supposed to release the strong strain due to the presence of dopant atoms. In the presentation we try to link the optical properties of the doped GaN QDs to their structures demonstrating the interest to visualize individual dopant atoms in real materials.

[1] P.M. Voyles et al, Nature 416 (2002) 826.

[2] T. Andreev et al, Superlattices and Microstructures 36 (2004) 707.

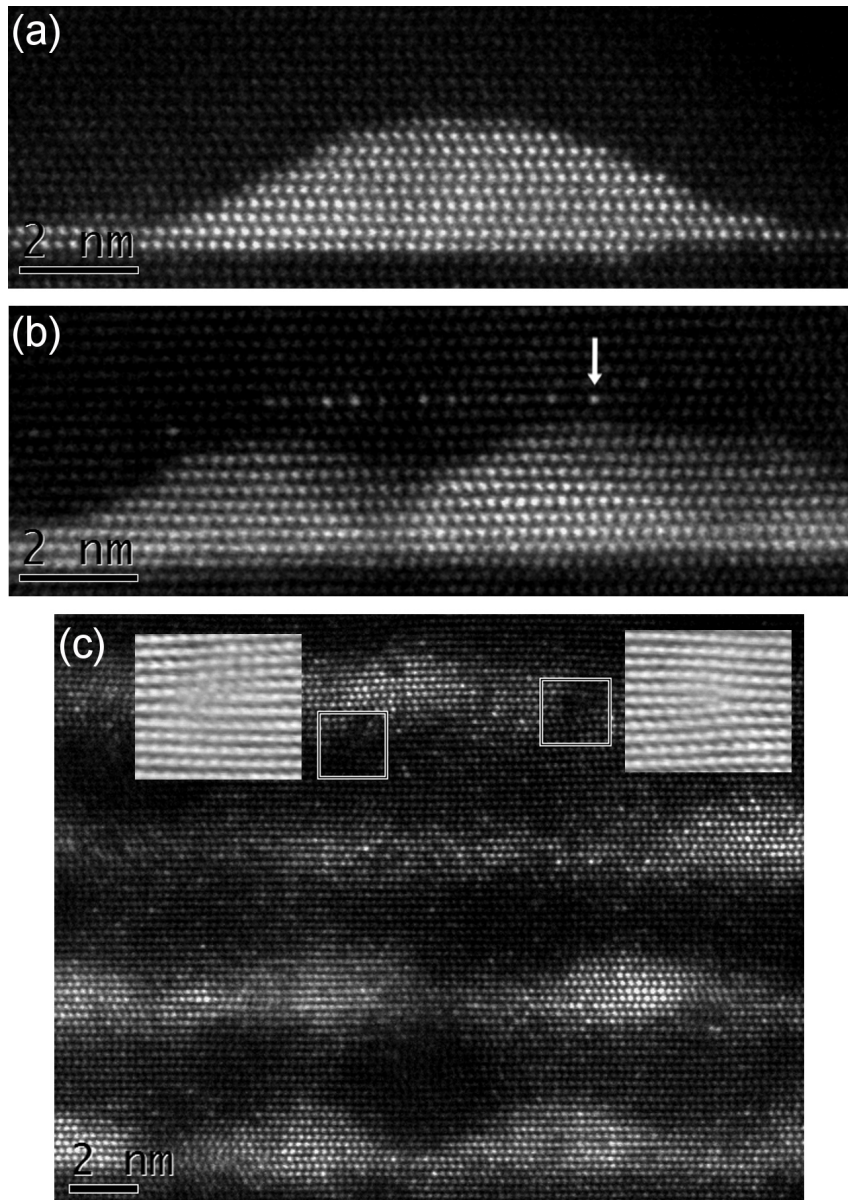


FIG.1 HAADF-HRSTEM image of (a) Eu and (b) Tm 'in-situ' doped GaN QDs and (c) Eu implanted QDs in AlN layer. A white arrow in Fig.1(b) indicates dopant atoms inside AlN. Insets of Fig.1(c) show BF-STEM images of dislocations observed in Al rich areas indicated by squares in the zone strongly damaged by implantation.

Disconnection arrays in a rhombohedral twin in α -alumina

S. Lartigue-Korinek¹, S. Hagege¹, C. Kisielowski², A. Serra³

¹ ICMPE-CNRS, UMR 7281 CNRS, 94320 Thiais, France

² National Center for Electron Microscopy, MS 72-150, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720-8250, USA

³ Depart. Applied Mathematics III, Polytechnic University of Catalonia Barcelona, Espagne

Disconnections (boundary steps with dislocation character) present in a rhombohedral twin obtained by diffusion bonding are investigated by conventional and high resolution transmission electron microscopy (TEM). The general aim of the study is to understand the strengthening role of yttrium on creep properties of alumina. The main deformation process is a grain boundary (GB) diffusion controlled GB sliding that involves glide and climb of GB dislocations [1,2]. Yttrium is strongly segregated to GBs and has been found to segregate to GB dislocations in an yttrium doped bicrystal close to the rhombohedral twin orientation [3]. It is thus important to have a complete knowledge of the GB dislocation characteristics. The undoped bicrystal disconnections have previously been interpreted by reference to an approach of near coincidence [4,5]. The present work presents an analysis of the same defects using the circuit mapping approach [5].

The bicrystal contains two arrays of parallel disconnections alternately distributed. They account for a tilt deviation from the perfect twin orientation. The twin structure with twin plane (01 $\bar{1}$ 2) is centred on empty octahedral sites that are the symmetry centres of the structure and presents a 2-fold screw symmetry axis that leads to the least distorted Al-O bounds at the interface [5,6]. The interfacial defects are characterized using a Volterra approach. Burgers vectors are denoted $b_{p/q}$ where p and q are related to step heights in each crystal [7].

The two disconnections called X and Y with Burgers vectors $b(x)$ and $b(y)$ have a component out of the GB plane whose sign is determined from conventional TEM analysis. $b(x)$ and $b(y)$ have the same component along the projection axis but with alternate sign so there is not long range stress field. The GB disconnection structure is discussed by considering the stability of different GB disconnection configurations.

It is shown that the defects have a wide core presenting an alternative GB structure. This structure is emphasized on the phase image issued from exit wave reconstruction with a resolution of 0.85Å and is centred on aluminium ions.

[1] S. Lartigue-Korinek and F. Dupau, *Acta Metallurgica et Materiala*, 293, 42 (1994)

[2] S. Lartigue-Korinek, C. Carry, L. Priester, *J. Europ. Ceram. Soc.*, 1525, 22 (2002)

[3] D. Bouchet, S. Lartigue-Korinek, R. Molins, J. Thibault, *Philos. Mag.*, 1401, 86 (2006)

[4] H. Grimmer, R. Bonnet, S. Lartigue, L. Priester, *Philos. Mag. A*, 493, 61 (1990)

[5] S. Lartigue Korinek and S. Hagege, *Proceedings of the International conference on interphase and intergranular Boundaries IIB 98*, *Materials Science Forum*, 281, 294-296 (1999)

[6] A.G. Marinopoulos and C. Elsässer, *Acta Mater.*, 4375, 48 (2000)

[7] A. Serra, D.J. Bacon and R.C. Pond, *Acta Mater.*, 1425, 47 (1999)

Dynamique de la plasticité en MET *in-situ*

F. Mompiau¹

¹ CEMES-CNRS, 29 rue Marvig, BP 9437, 31055 Toulouse Cedex

Développée dans les années 70, la microscopie électronique à transmission *in situ* (MET *in situ*) est une technique originale permettant l'observation de phénomènes dynamiques à l'échelle micro- et nanométrique en réponse à une sollicitation externe, en particulier une contrainte mécanique et/ou une température appliquée.

Cette présentation aura un double objectif : présenter d'abord les apports importants de la MET *in situ* dans l'analyse des mécanismes élémentaires de plasticité, puis s'attacher à discuter de l'intérêt croissant pour la MET *in situ* dans l'étude de ces mêmes mécanismes en milieu confiné (couches minces, nano-objets, matériaux à grains ultra-fins).

Cette présentation fera d'abord le point sur la description de la technique expérimentale (procédé de préparation des échantillons, description des porte-objets), puis on s'attachera ensuite à illustrer les potentialités d'analyse quantitative et qualitative offertes par la MET *in situ* à travers quelques résultats importants dans les alliages intermétalliques, les semi-conducteurs, les quasi-cristaux et les métaux simples. Les questions relatives aux limites de cette technique seront également soulevées.

Cette présentation dressera pour terminer un panorama des avancées en cours dans le domaine de l'instrumentation et des pistes suivies pour l'analyse des mécanismes élémentaires de déformation dans les matériaux aux dimensions réduites (nanoindentation *in situ*, micromachines de traction...).

Dynamic *in-situ* atomic resolution-ETEM and aberration correction

P.L. Gai^{1,2,3}, K. Yoshida^{1,2}, E.D. Boyes^{1,3,4}

¹ The Nanocentre, The University of York, Heslington, York, YO10 5DD, United Kingdom

² Department of Chemistry, The University of York, Heslington, York, YO10 5DD, United Kingdom

³ Department of Physics, The University of York, Heslington, York, YO10 5DD, United Kingdom

⁴ Department of Electronics, The University of York, Heslington, York, YO10 5DD, United Kingdom

Following the pioneering development of *in-situ* atomic resolution environmental transmission electron microscopy (ETEM) for direct probing of gas-solid reactions by Gai and Boyes [1-3], recent developments are presented of dynamic real time *in-situ* studies at the Angstrom level in an aberration corrected environment. The dynamic *in-situ* data from Pt/Pd nanoparticles on carbon with the corresponding FFT/optical diffractograms illustrate an achieved resolution of 0.1nm at 500°C and higher, in a double aberration corrected JEOL 2200 FS TEM/STEM employing a wider gap objective lens pole piece and gas tolerant TMP column pumping system. Direct observations of dynamic biofuel catalysts under controlled calcination conditions, quantified with catalytic reactivity and physico-chemical studies, show the benefits of in-situ studies with aberration correction for unveiling the evolution of surface defects and active sites necessary for the development of efficient heterogeneous catalysts. In-column energy filtering with aberration correction is an integral new approach to perform dynamic studies with aberration correction. The new results open up opportunities for dynamic studies of materials in an aberration corrected environment and indicate future development directions.

Support for the Nanocentre from the University of York, Yorkshire Forward/ERDF and JEOL is gratefully acknowledged.

[1] P.L. Gai and E.D. Boyes, *Science*, 661, 267 (1995)

[2] P.L. Gai and E.D. Boyes, *Ultramicroscopy*, 219, 67 (1997)

[3] P.L. Gai and E.D. Boyes, *Micr. Res.Tech.*, 72, 3 (2009)

Observing Nanosecond Phenomena at the Nanoscale with the Dynamic Transmission Electron Microscope

G.H. Campbell¹

¹ Condensed Matter and Materials Division - Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, CA, 94550, USA

The dynamic transmission electron microscope (DTEM) is a standard TEM that has been modified such that the electron beam can be operated with a single intense pulse of electrons ($> 10^9 e^-$) with a pulse duration of just 15 ns. The short pulse of electrons is created via photoemission at the microscope cathode. The usual microscope filament is replaced by a Ta disk photocathode that is excited by a pulsed UV laser, however it can also be operated in thermionic emission mode for normal operation of the microscope for alignment and experiment setup. Additional modifications have also been made to the optical design of the condenser lens system.

The goal of the instrument is to enable in situ experiments that can be observed with high time resolution. The experiments currently use a second laser to initiate the dynamic response of interest in the specimen and this laser is brought through an x-ray port. The relative timing of the pulses from the two laser systems sets the time of the observation relative to the initiation of the event and can be set from 10 ns to 100 μs . The specimen drive pulse duration is comparable to the cathode laser pulse duration and the wavelength can be chosen as 1064 nm, 532 nm, or 355 nm, depending on experimental requirements.

The DTEM has been used to investigate a number of rapid phenomena in materials. It has characterized the rate of the martensitic transformation of Ti as it transforms from alpha to beta phase at elevated temperature. We have also studied the rapid nucleation and growth at the nanoscale of crystalline phases from an initially amorphous metal parent phase. DTEM has also been used to study reactive multilayer films of Ni and Al that sustain a reaction front speed greater than 10 $m.s^{-1}$. A transient cellular morphology to the reaction front was identified. We attribute this structure to phase separation occurring while the elevated temperature of reaction places the system in a two-phase field of the equilibrium phase diagram.

This work performed under the auspices of the U.S. Department of Energy, Office of Basic Energy Sciences by Lawrence Livermore National Laboratory under Contract DE-AC52-07NA27344. LLNL-ABS-408752.

Observation in-situ par Microscopie de Lorentz du retournement d'un domaine de fermeture de Néel dans une nanostructure

A. Masseboeuf¹, F. Cheynis², C. Arm¹, O. Fruchart², J.C. Toussaint^{2,3}, A. Marty¹, P. Bayle-Guillemaud¹

¹ CEA/INAC/SP2M, Grenoble

² CNRS-UJF/Institut Néel, Grenoble

³ INPG, Grenoble

Nous avons récemment démontré, à l'aide de la Microscopie de Lorentz, qu'il était possible de contrôler dans une nanostructure, une sous composante de l'aimantation au sein même d'une paroi de Bloch : le domaine de fermeture de Néel (DFN) d'une paroi de Bloch [1]. Alors que les études sur le contrôle des degrés de liberté magnétiques multiples d'un plot se développent fortement, elles portent généralement sur la polarisation d'un coeur de vortex [2] ou sa chiralité [3], soit deux degrés de liberté, nous exhibons ainsi un système disposant d'un 3^{eme} degré de liberté.

C'est la forme allongée de plots de Fer auto-assemblés (Fig. A) qui permet d'obtenir ce 3^{eme} degré de liberté. Outre la chiralité du plot (sens de rotation du flux magnétique autour de la paroi) et la polarité de la paroi de Bloch (orientation vers le haut ou le bas de l'aimantation au coeur de cette paroi), la paroi de Bloch se termine à chacune de ses deux surfaces par un repliement à aimantation planaire, en vue de minimiser l'énergie magnétostatique : les domaines de fermeture de Néel. Cette composante se développe dans les parois du fait de leur élongation, alors qu'elle est absente dans les vortex, plus classiquement étudiés.

Les DFN en faces supérieures et inférieures sont antiparallèles (Fig. B), conduisant à deux états également stables (+,-) et (-,+), à nouveau pour des raisons de fermeture du flux magnétique. Des simulations micromagnétiques ont prédit la possibilité de passer d'un état à l'autre. Le renversement d'un DFN (objet 1D) implique alors le passage d'un vortex de surface (objet 1D, Fig. A) le long de sa longueur ce qu'aucune méthode n'avait encore permis d'observer directement. La force de la Microscopie de Lorentz est d'allier une résolution spatiale de l'ordre de la dizaine de nm à la possibilité d'appliquer des champs magnétiques supérieurs à 1 T tout en imageant les parois de domaines (contrastes de Fresnel [4]).

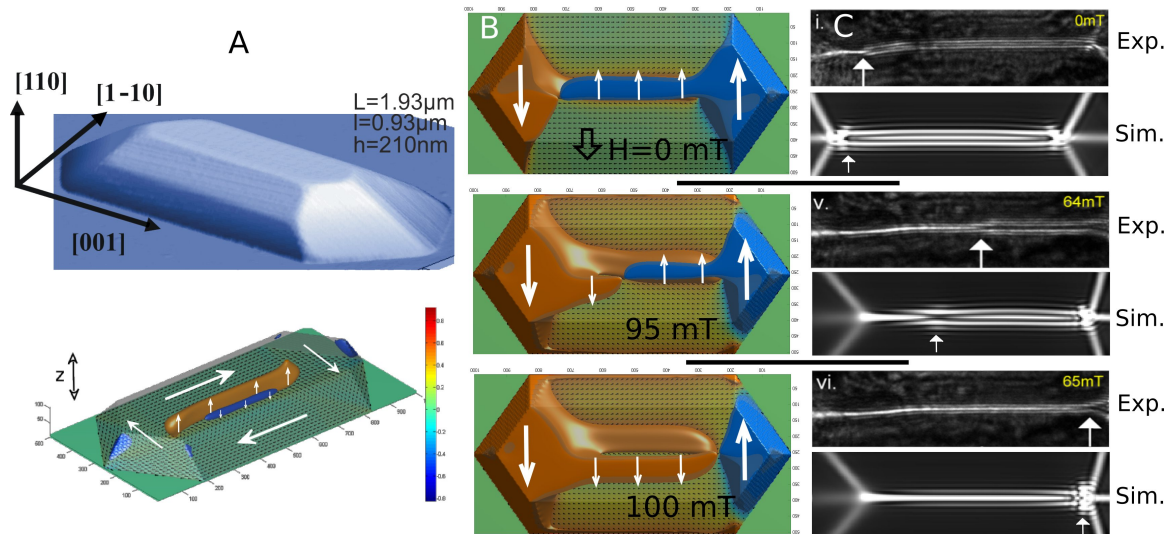
La Figure (C) présente le résultat de l'étude par Microscopie de Lorentz sur ces plots. Un champ magnétique est appliqué transversalement au plot. Ceci a pour effet d'entraîner le retournement du DFN encore opposé à ce champ. Ce retournement peut ainsi être suivi tout au long de la propagation du vortex de surface par l'étude des franges de Fresnel issues de la déflexion des électrons cohérents lors de la traversé du plot, à proximité de la paroi de Bloch. C'est le saut de phase dans les franges, reflétant le détail de la configuration d'aimantation autour du vortex, qui est à l'origine de la détection alors que le vortex lui même n'induit pas de déflexion des électrons puisqu'il est à aimantation parallèle à leur trajet. Pour nous en convaincre, nous avons ainsi réalisé des simulations de contraste en Microscopie de Lorentz à partir des simulations micro-magnétiques présentées en (B). L'accord entre simulation et expérience est très bon.

[1] F. Cheynis, A. Masseboeuf, et al., Phys. Rev. Lett., 107201, 102 (2009)

[2] K. Yamada et al., Nature Mater., 270, 6 (2007)

[3] J.-G. Zhu, Y. Zheng, and G. A. Prinz, J. Appl. Phys., 6668, 87 (2000)

[4] J.N. Chapman, Journal of Physics D : Applied Physics, 623-647, 17 (1984)



Retournement du DFN dans un plot de Fer. A. Vue AFM du plot de Fer et simulation micromagnétique de la composante z (selon $[110]$) de l'aimantation qui montre la paroi de Bloch du plot. A chaque surface la paroi de Bloch présente à une de ses extrémités un vortex de surface qui termine la paroi et boucle le flux magnétique. B. Simulation micromagnétique de la composante transverse (selon $[1-10]$) de l'aimantation dans le plot (code couleur et flèches) durant un processus d'aimantation transverse. On prédit le retournement du DFN supérieur par passage du vortex de surface. C. Contrastes de Fresnel expérimentaux et simulés durant le même processus d'aimantation. Les valeurs de champ expérimentales sont données en insert. Une flèche pointe le vortex de surface se déplaçant dans les deux cas.

In-situ study of Bi nanoparticle growth using aberration corrected HREM

T. Hungria^{1,2}, A. Castro², F. Houdellier¹

¹ CEMES-CNRS 29 rue Jeanne Marvig 31055 Toulouse, France

² ICMM-CSIC Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain

The developments of spherical aberration (C_s) correctors for transmission electron microscopes offer new exciting opportunities for atomic scale investigations of solids. A main advantage of C_s -corrected HRTEM over conventional HRTEM is the suppression of image delocalisation below the typical separation of atomic columns simultaneously with an optimisation of image contrast [1]. This is an important feature when investigation interfaces, nanoparticles ... Using multiple acquisition of a Gatan USC1000 CCD camera (known as “cinema mode”), we can follow atomic process with a very high precision in situ inside the microscope. We used these properties to investigate the growth of Bi nanoparticle from monoclinic Cm $\text{Bi}_{0.39}\text{Pb}_{0.61}\text{Sc}_{0.39}\text{Ti}_{0.61}\text{O}_3$ grains under the electron beam. The growth has been studied in situ which allowed us to separate the different step of the process. This effect is strongly dependant from the incident electron energy [2]. A kinetic study of the growing process has been also investigated from these observations at 200kV and 100kV. Images and movies were performed using the SACTEM-Toulouse, a TECNAI F20 (FEI) equipped with field-emission gun (FEG) operating at 200 kV, objective-lens spherical aberration corrector (CEOS), and imaging energy filter (Gatan GIF Tridien). A $\text{Bi}_{0.39}\text{Pb}_{0.61}\text{Sc}_{0.39}\text{Ti}_{0.61}\text{O}_3$ sample has been prepared by mechano-synthesis. Sample powder has been deposited on a carbon hole grid. The microscope conditions were set and measure by the Cs-corrector software using the classical Zemlin-tableau method [3]. Aberrations are corrected to high order (A1,B2,A2,A3,S3) with a C_s value less than one micron. The purity of the Bi nanoparticule has been checked using Electron Energy Loss Spectroscopy. In order to determine the structure of the initial grain, we compare the experimental HREM images with simulations performed using the multislice approach in the JEMS package [4]. In situ studies revealed a growth mechanism starting from an epitaxial step of the cubic Im3m high pressure Bi nanoparticles. During the growth, we observed two ways of plastic relaxation of the epitaxial stress : classical misfit dislocations and twin fault (see Figure). Quantitative analysis of the epitaxial strain tensor were realised by geometric phase analysis [5] using the GPA Phase (HREM Research Inc.) software package [6]. When the particle has a sufficient size, a liquid state is generally observed. This step is only detected in the high radiation mode (ie 200kV acceleration voltage). The kinetic process is also slower at 100kV.

[1] F.Houdellier et al. Chapter “Aberration Correction with the SACTEM-Toulouse : From imaging to Diffraction “ in Advanced electron optics edited by P.W.Hawkes

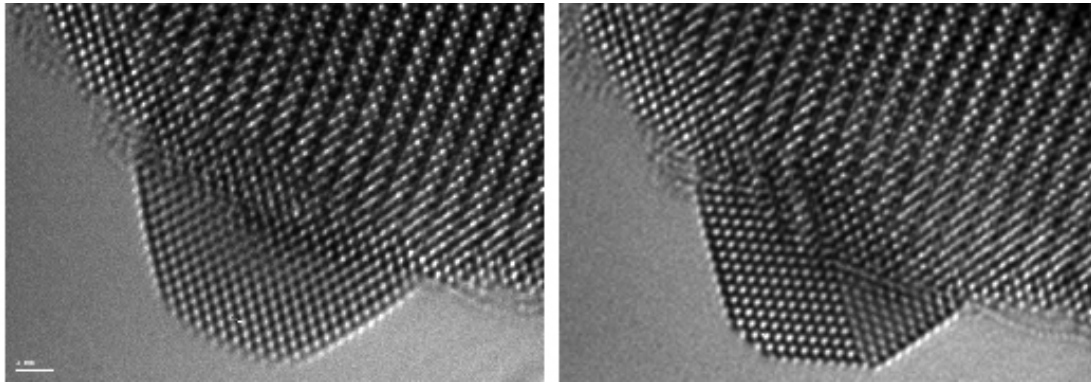
[2] S.Sepulved-Guzman et al., Nanotechnology 18 (2007) 335604

[3] M.Haider et al., Nature 392 (1998) 768

[4] P. Stadelmann, Ultramicroscopy 21 (1987) 131

[5] M.J. Hÿtch et al., Ultramicroscopy 74 (1998) 131

[6] GPA Phase plug-in for DigitalMicrograph (Gatan) available from HREM Research Inc. : www.hremresearch.com



Bi Nanoparticle growing from the $Bi_{0.39}Pb_{0.61}Sc_{0.39}Ti_{0.61}O_3$ substrate before and after the plastic relaxation

An In-Situ Dual Beam TEM inside JANNuS Project for Nanoscience and Nuclear Simulation

F. Fortuna¹, O. Kaïtasov¹, M.-O. Ruault¹, B. Décamps¹, E. Oliviero¹, C. Bachelet¹, A. Gentils¹

¹ CSNSM, CNRS/IN2P3, UMR 8609 Univ Paris-Sud, Bâtiment 108, 91405 Orsay Campus, France

A CEA (SRMP)-CNRS(CSNSM) collaboration is presently setting up a common experimental program(JANNuS) involving two experimental platforms under a single authority [1]. The system will be an internal and outside-user facility for the scientific community in the fields of ion implantation and irradiation effects, and nanoscience using ion beams. The project involves two sites. We focus our presentation here at the Orsay site which is designed around a medium energy implanter (10-500 keV) and an ion accelerator(>MeV), whose beam lines can simultaneously impact on a sample situated inside a 200 kV TECNAI TEM, thus allowing in-situ observation of the structural evolution of the sample under ion beams (FIG.1). This set-up will be operating at the beginning of 2009. This facility is actually single in the world : due to the complementary analytical equipment (EDX, STEM and GIF) associated with a large range of specimen holders (Nitrogen cooling, heating up to 1300°C, specially designed traction/heating), it offers a large potential to simultaneously study structural and/or chemical modifications and defects induced by implantation and/or irradiation using ion beams. It will thus be possible to quantify and correlate chemical and microstructural information of the studied materials. The very fine scale study of the relation between microstructure and local chemistry (with possible in-situ annealing and/or traction experiments) allows elucidating elementary mechanisms governing material behavior under ion beams. The experimental set-up is designed to study combined effects of implantation and irradiation via multiple ion beam impact on a target, ion beam characterization and in-situ Transmission Electron Microscopy (TEM) observations. As regards nanoscience, an in-situ TEM with a dual beam entry will allow us to study the influence of the nature and rate of irradiation damage (which may be changed and controlled over two orders of magnitude) on nanostructure synthesis by ion implantation. As regards nuclear reactor or fusion reactor physics, studies simulating future hybrid reactor generation of nuclear reaction products accompanied by radiation damage and spallation production of H and He will be performed.

[1] Serruys Y., Ruault, M.-O., Trocellier P., Henry S., Kaïtasov O., Trouslard Ph. , Nucl. Inst. and Meth., B240 (2005) 124-127.

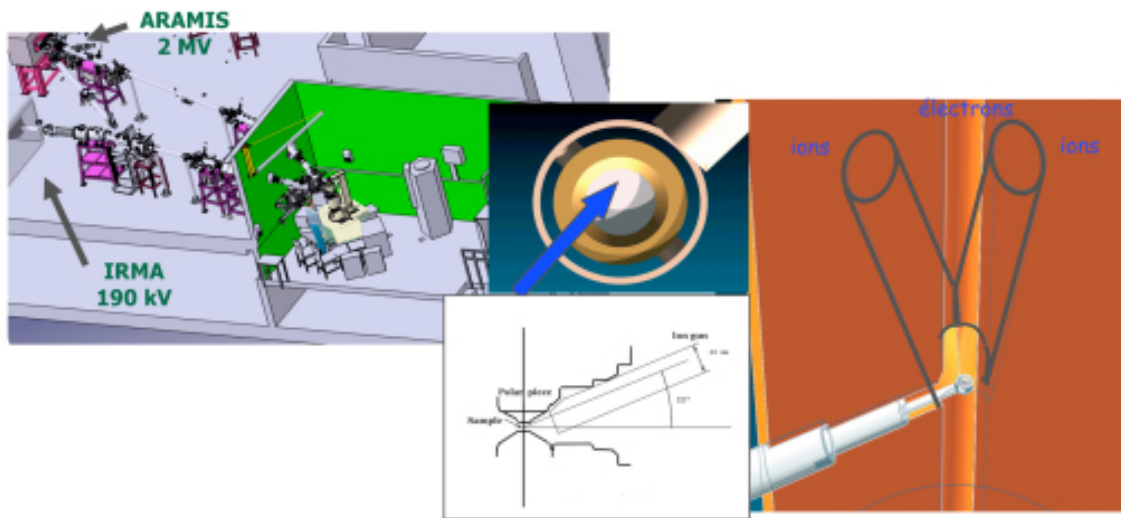


FIG. 1 : Layout of the experimental in-situ dual beam TEM in JANNuS project : Left : general view showing both accelerators and TEM. Middle and right : view of the position of the sample with respect to the electron and ions beams.

Interaction dislocation/macle : étude par microscopie in situ et simulation moléculaire

M. Chassagne^{1,2}, M. Legros¹, D. Rodney²

¹ CEMES CNRS, 31055 Toulouse, France

² SIMAP INPG, 38042 Saint Martin d'Hères, France

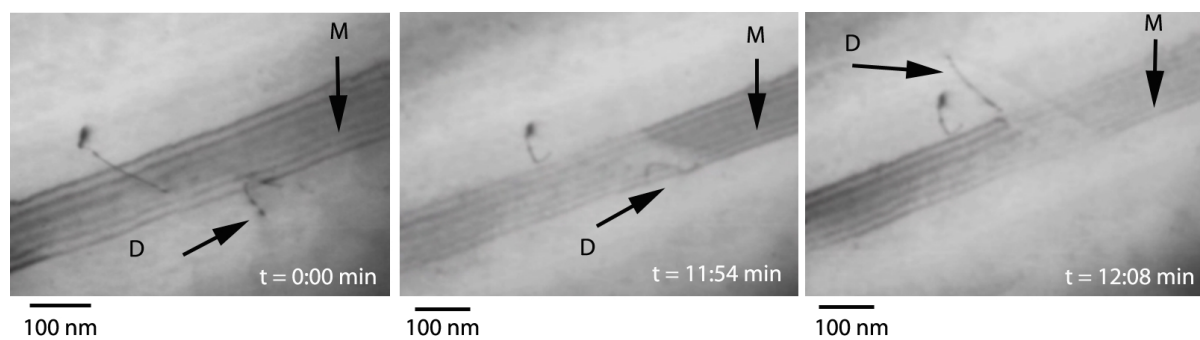
Les macles sont des joints de grains extrêmement stables du point de vue structural et cette stabilité a été utilisée pour mettre au point des métaux "nanomacés" dont les performances mécaniques sont exceptionnelles [1-3]. Ces propriétés mécaniques (très grande limite d'élasticité de l'ordre d'1 GPa et ductilité de plus de 10%) sont expliquées de façon assez traditionnelle par le blocage des dislocations par les joints de macle, mais aussi par l'émission de partielles toujours à partir de ces interfaces. Ces mécanismes, supposés à partir de l'observation de microstructures après déformation, restent cependant à confirmer. Le cas de l'interaction dislocation/macle est assez mal quantifié car cette configuration peut mener à différentes réactions, qui sont toutes à priori probables car géométriquement compatibles : la dislocation incidente peut s'arrêter sur l'interface, la traverser ou dévier dans la macle.

Pour préciser cette interaction dislocation/macle, nous avons réalisé des simulations à l'échelle atomique. Les simulations sont réalisées en statique moléculaire avec un modèle de quelques centaines de milliers d'atomes représentant un cristal contenant une nanomacle : on introduit une dislocation de vecteur de Burgers choisi et l'on soumet l'ensemble à une sollicitation mécanique. En examinant les états d'énergie minimale de ce système, on met en évidence différents mécanismes d'interactions, fonction de l'orientation du vecteur de Burgers de la dislocation incidente. Cependant, la détermination de ces mécanismes ne peut être considérée comme absolue et il est nécessaire de les étayer à l'aide d'observations dynamiques.

La microscopie électronique en transmission (MET) in situ est adaptée à l'étude de phénomènes dynamiques de plasticité. Lors de l'examen MET de cristaux de cuivre purs, deux types de macles ont été révélées : les macles de recuit (présentes initialement dans les grains de cuivre et de taille micrométriques) et les macles de déformation, qui apparaissent lors de la traction. Les macles de recuit sont une barrière efficace au mouvement des dislocations ; la concentration progressive de ces dernières sur leurs interfaces aboutit à un encombrement de l'interface, ce qui rend difficile la description précise d'un mécanisme d'interaction. C'est pourquoi nous nous sommes concentrés sur l'examen des macles de déformation. Ces dernières, créées lors de l'émission de dislocations partielles sous l'effet de la traction, ont une épaisseur très limitée (de l'ordre de quelques dizaines de plans atomiques) et des interfaces bien définies, ce qui en fait de bons candidats pour l'étude de ces mécanismes d'interaction. La figure présente la traversée d'une macle de déformation M par une dislocation D : si au début de l'observation, la dislocation est bloquée à l'interface, le franchissement a lieu une dizaine de minute plus tard.

Les observations microscopiques appuient l'hypothèse des macles comme des obstacles forts à la plasticité. Cependant, l'observation de franchissements met en évidence la diversité des mécanismes d'interactions possibles, liés à différents facteurs : facteurs géométriques (caractère et orientation de la dislocation par rapport à la macle, vecteur de Burgers appartenant ou non au plan de macle), structuraux (énergie de faute d'empilement, épaisseur de la macle, présence de dislocations extrinsèques, empilements) et mécaniques (niveau de contrainte). Nous présenterons plus précisément ces mécanismes, que semblent corroborer certains processus mis en évidence par les simulations atomiques.

- [1] Lu L., Sheng Y., Chen X., Qian L, Lu K., Science, 422-26, 304 (2004)
- [2] Lu L., Chen X., Huang X., Lu K., Science, 607-10, 323 (2009)
- [3] Lu L., Schwaiger R., Shan Z.W., Dao M., Suresh S., Acta Mat., 2169-79, 53, (2005)



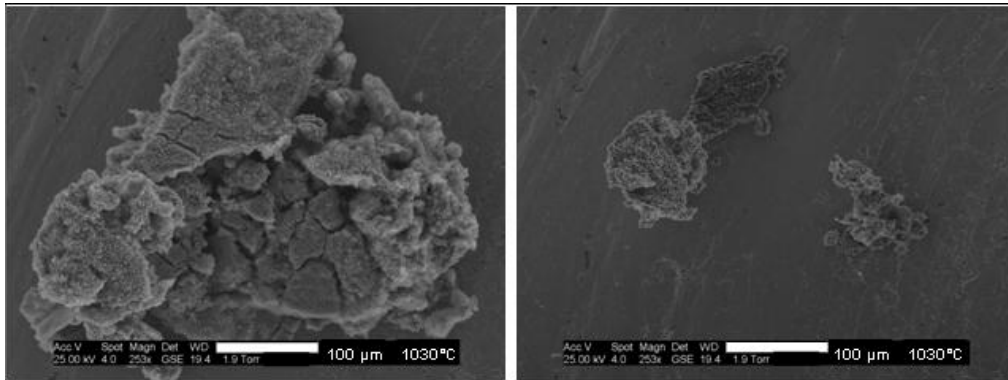
Traversée d'une macule de déformation M par une dislocation D en MET in situ

Suivi du frittage de céramiques dans un ESEM : optimisation des conditions d'imagerie

L. Joly-Pottuz¹, N. Herrbach¹, G. Thollet¹, A. Malchère¹, J. Chevalier¹

¹ Université de Lyon, INSA de Lyon, MATEIS, UMR CNRS 5510, 7 avenue Jean Capelle, 69621 Villeurbanne Cedex

Le développement de matériaux céramiques composites nanostructurés est en plein essor actuellement. Un des enjeux majeurs est de limiter la croissance des grains pendant le frittage. Il est donc nécessaire de bien comprendre les mécanismes se produisant durant cette phase de fabrication des céramiques : mouvement de grains, création de ponts entre les grains, coalescence. . . . Le frittage peut être suivi in situ dans un microscope électronique à balayage environnemental. Néanmoins il faut pouvoir réaliser des montées en température pouvant aller jusqu'à 1500°C pour observer le frittage de céramiques telles que l'alumine. Dans cette gamme de température, l'émission thermoélectronique pose un problème puisqu'elle entraîne une perte de contraste du signal. Il n'est alors plus possible de suivre in situ la cinétique de frittage. On peut seulement regarder le résultat du frittage après refroidissement de l'échantillon. Nous avons donc choisi d'utiliser un nouveau creuset pour limiter cet effet d'émission thermoélectronique. Le platine est un métal qui présente le meilleur compromis entre une température de fusion élevée et un travail de sortie des électrons élevé. L'utilisation de ce creuset a permis d'obtenir des images ayant un bon contraste même à température élevée. Nous avons choisi d'étudier le frittage du ZnO car cette céramique présente une faible température de frittage par rapport à d'autres céramiques telles que l'alumine et la zircone. Le frittage du ZnO a été étudié avec deux types de creuset : un creuset en MgO dont le fond est revêtu d'une couche de platine et habituellement utilisé dans les platines chauffantes dans les ESEM, et un creuset en platine rhodié à 10%. Dans le cas du premier creuset, une perte de signal à haute température ne nous a permis d'effectuer que de l'observation après descente en température. Dans le cas du creuset platine, le frittage du ZnO a été étudié jusqu'à 1100°C avec un très bon contraste d'images. Nous avons pu suivre la densification de la poudre et observer l'évolution de la taille des grains. Ces premières expériences ouvrent un nouveau chemin dans l'étude des céramiques. En effet l'utilisation du creuset en platine permet de monter plus haut en température tout en gardant un contraste d'images permettant de suivre in situ l'évolution des poudres de céramiques. Nous pouvons ainsi envisager l'étude de céramiques frittant à haute température telles que l'alumine. Les meilleurs résultats obtenus avec le creuset en platine pourraient s'expliquer par une diminution de l'émission thermoélectronique dans le cas du platine par rapport au MgO. Dans le cas du premier creuset, le revêtement en platine au fond du creuset n'est pas homogène et ne protège pas complètement de l'émission thermoélectronique. Dans le cas du creuset en platine l'émission thermoélectronique est réduite.



Poudre de ZnO avant et après traitement thermique à environ 1030° C. On observe une importante densification de la poudre

Réduction et oxydation in situ de cellules de pile à combustible à oxyde solide dans un Titan ETEM

Q. Jeangros ¹, A. Faes ^{1,2}, J. Vanherle ², J.B. Wagner ³, R. Dunin-Borkowski ³, A. Hessler-Wyser

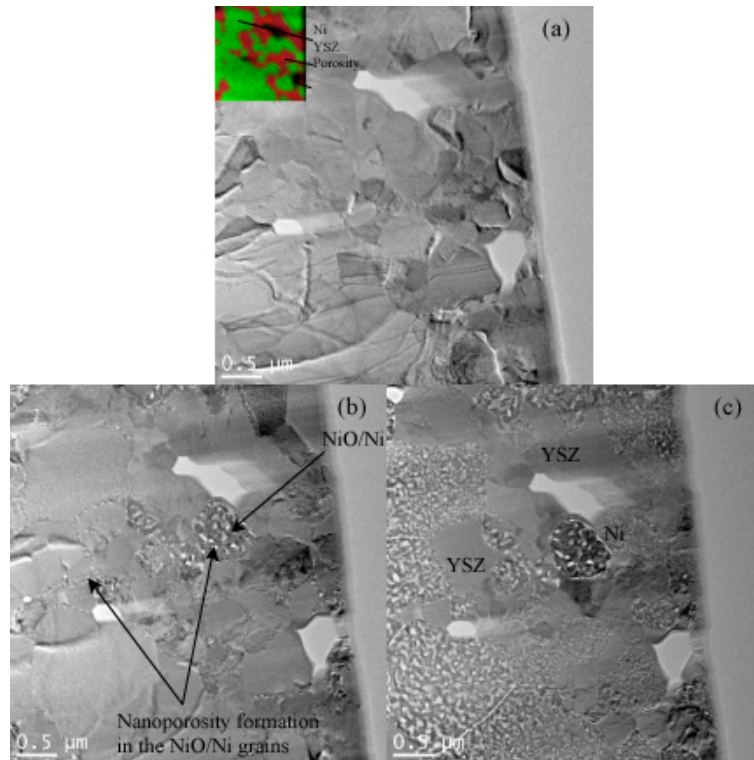
¹

¹ CIME, EPFL, Suisse

² LENI, EPFL, Suisse

³ CEN, DTU, Danmark

La technologie commune des piles à combustible à oxyde solide (SOFC) est basée sur des cellules à supports anode. Le support est un cermet (composite céramique/métal) fait de nickel et de zircone stabilisée à l'yttrium. Le nickel est à l'état oxydé lors de la production de la cellule puis réduit lors de sa première mise en opération sous hydrogène. Cependant, en raison d'une fuite de combustible ou d'une densité de courant trop élevée par exemple, l'oxydation du nickel peut se produire pendant l'opération de la pile à haute température (550°C à 1000°C), conduisant alors à une forte augmentation de volume. Cette variation de volume peut produire des contraintes de traction dans l'électrolyte céramique (10 μm) et ainsi engendrer des fissures de l'électrolyte. Dès lors, le mélange des gaz diminue le potentiel électrique et les performances de la cellule sont ainsi fortement détériorées. Afin de mieux comprendre les mécanismes de réduction et d'oxydation des supports anode, des échantillons minces d'anode ont été préparés par faisceau d'ions focalisés (FIB) et des réductions sous atmosphère réductrice (1.4 mbar H₂) ont pu être observées in situ dans un microscope FEI Titan ETEM équipé d'une cellule environnementale. La microstructure de l'anode après la transformation NiO->Ni lors de la réduction a pu être caractérisée, révélant entre autres la contraction des grains de NiO et la formation de nanoporosités au sein des grains de Ni, comme le montre la figure suivante. Des cartographies chimiques de l'échantillon ont pu être effectuées autant bien par spectroscopie à dispersion d'énergie (EDS) que par imagerie filtrée en énergie (EFTEM).



Micrographie en champ clair d'une lame FIB de l'anode (a) à température ambiante avant réduction, (b) à 450°C sous 1.4 mbar d' H_2 et (c) à 500°C sous 1.4 mbar d' H_2 . L'insert de (a) montre la cartographie EDS de l'échantillon. Les grains d'YSZ restent inchangés par la réduction alors que les grains de Ni réduits montrent une nanoporosité interne dès 450°C.

Maîtrise biologique de la croissance cristalline dans les coquilles de mollusques marins. Les microscopies parlent.

A. Baronnet¹

¹ Université d'Aix-Marseille et CINaM-CNRS, Campus Luminy, Case 913, 13288-Marseille, cedex 9, France

Sur des coquilles juvéniles de lamellibranches et gastéropodes marins, élevés, sacrifiées et conservées en conditions contrôlées, nous montrerons par imageries optiques, MEB, MET, microdiffraction électronique et simulations analogiques que :

1) de l'échelle atomique à l'échelle inframicroscopique, le biocristal carbonaté composite est parfaitement monocristallin, lacunaire et nanoporeux ($3 - 7nm$), et non pas nano cristallin fonctionnalisé et auto assemblé,

2) l'apport bio minéral à la coquille par l'épithélium du manteau est quantifié sous forme de vésicules inframicroscopiques exocytosées, initialement amorphes et molles, emballées dans une membrane organique,

3) à l'échelle supramicroscopique, la cristallisation monocristalline microporeuse est très probablement assurée par propagation d'un front de cristallisation rugueux à travers le réseau de vésicules ayant progressivement fusionné, toute germination parasite étant évitée,

4) les étapes de germination ("centres de calcification") et de croissance (par couches) sont complètement découplées dans l'espace comme dans le temps.

Nous en concluons que ce mécanisme de biominéralisation est sous contrôle cellulaire complet et isolé le plus possible du contact direct avec l'eau de mer. La couche cellulaire épithéliale dicte la composition chimique initiale de l'amorphe précurseur, le polymorphe du bio cristal et in fine la forme et la dynamique de croissance de la coquille à plus grande échelle. Le métabolisme cellulaire altère donc sérieusement le message environnemental laissé au géochimiste par la coquille (effet "vital").

Le cycle profond du carbone, approche expérimentale.

E. Boulard^{1,2}, G. Fiquet^{1,2}, F. Guyot^{1,3}

¹ IMPMC, Paris, France

² IPGP, Paris, France

³ Université Paris Diderot, Paris 7, France

A large fraction of the total carbon budget of the Earth is found below the surface; the mantle is indeed thought to be the largest Earth carbon reservoir. Carbon (C) is mainly found in two different states at the surface : oxidized in carbonates and reduced in the organic matter. C is recycled into the mantle through subduction but its oxidation state at depths remains unknown. Carbonates such as magnesites (MgCO_3) and siderites (FeCO_3) are likely to be the oxidized carbon bearing phases in the deep mantle [1,2], whereas diamonds are potential hosts for carbon under reducing conditions. The stability of carbonates versus decarbonation, melting and reduction is therefore of great interest for understanding the global carbon cycle.

At ambient conditions magnesite and siderite crystallize with the calcite structure in the rhombohedral space group $R\bar{3}c$. Magnesite undergoes a phase transition above 115 GPa [3], but the new structure has not been unambiguously resolved yet. Substitution of Mg by Fe in these carbonates has an effect on the thermodynamic properties and probably on the phase stability. To investigate these effects, reactions were investigated between carbonates and ferro-periclase, a major lower mantle phase, using different initial Mg-Fe contents.

Laser heated diamond anvil cells (LHDAC) were used to achieve high pressure (HP) and high temperature (HT) conditions relevant to the deep mantle. The starting materials were i) (Mg,Fe)C CO_3 loaded in neon and ii) (Mg,Fe)O loaded in CO_2 gas. Measurements were done in-situ under high pressure and high temperature by X-ray diffraction (XRD) at the ESRF and under high pressure by Raman spectroscopy in order to study the structure of the high-pressure phases and to identify stability fields of both oxides and carbonates. A focused ion beam technique (FIB) was then used to prepare the samples recovered at ambient pressure and temperature for transmission electron microscopy (TEM/STEM) and scanning transmission X-ray microscopy (STXM). TEM and STEM observations permitted to confirm the mineral assemblages observed by XRD. The different phases structures were investigated by diffraction, their chemistry by X-ray energy dispersive spectroscopy (XEDS) and the elements speciation by EELS. The oxidation states of Fe and C were then confirmed by STXM.

New structures and new redox reactions have been discovered by the TEM/STEM/XEDS/-EELS/STXM combination applied to these samples and will be discussed.

[1] Biellman, Guyot, Gillet, Peyronneau and Reynard, Earth Planet. Sci. Lett., 31-41, 118 (1993)

[2] B. J. Wood, A. Pawley and D. R. Frost, Phil. Trans. R. Soc. A, 354, 1495- 1511, (1996)

[3] M. Isshiki, T. Irifune, K. Hirose, S. Ono, Y. Ohishi, T. Watanuki, E. Nishibori, M. Takata and M. Sakata, Letters to nature, 427, 60-63 (2004)

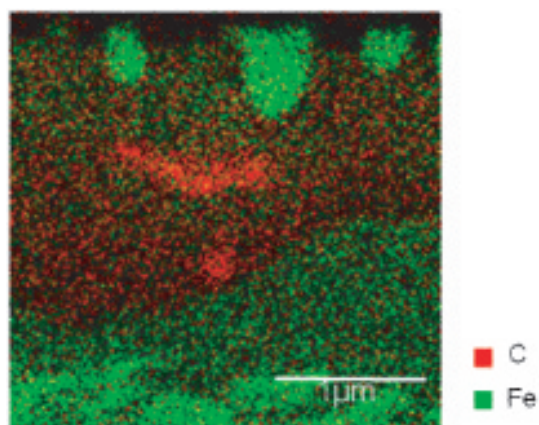


Figure : EDX cartography of a thin section of a recovered sample : (Mg,Fe)O loaded into CO₂ gas

Direct observation of the interaction between elastic and magnetic domain walls below the Verwey transition in magnetite using electron holography

T. Kasama ¹, N. Church ², J. Feinberg ², R. Dunin-Borkowski ², R. Harrison ²

¹ Tech Univ Denmark, Ctr Elect Nanoscopy, DK-2800 Lyngby, Denmark

² Univ Cambridge, Dept Earth Sci, Cambridge CB2 3EQ, England

The Verwey transition has an enormous impact on the magnetic properties of magnetite at low temperatures – the magnetocrystalline anisotropy increases by an order of magnitude and the magnetic easy axis switches from the $\langle 111 \rangle$ directions of the cubic phase to the [001] direction of the monoclinic phase. On cooling through the transition, the [001] easy axis of the monoclinic phase may be chosen to lie along any one of three $\langle 100 \rangle$ directions of the parent cubic phase, resulting in the development of transformation twinning. Numerous studies have proposed that a strong interaction exists between the ferroelastic twin walls and the ferrimagnetic domain walls in magnetite. Nevertheless, the nature of this interaction remains highly controversial. Key questions include : i) what kinds of magnetic domains are common ?, ii) are magnetic domain walls strongly pinned by the twin walls or can they be moved independently ? and iii) how does the twin microstructure that develops on cooling through the transition depend on the magnetic microstructure that exists above the transition, and vice versa ?

Here, we use off-axis electron holography in the transmission electron microscope to study the magnetic and ferroelastic domain structures in synthetic multi-domain magnetite, both below and above the Verwey transition. Electron holography allows magnetic structures to be imaged quantitatively at a nanometer scale. Lorentz electron microscopy is employed to make dynamical observations of the nucleation and translation of transformation twins and magnetic domain walls as the sample was repeatedly cycled through the phase transition.

The distribution of magnetic domains above and below the transition was generally very different. The cubic phase is characterised by a low density of magnetic domain walls, whereas the monoclinic phase contains a higher density of closely-spaced lamellar domains. In contrast to previous studies, magnetic closure domains within the monoclinic phase were also observed to be relatively common. Regions showing a clear interaction between magnetic domain walls and twin domain walls were observed. A typical feature is the presence of irregular twin boundaries formed by the impingement of monoclinic domains that nucleated in different parts of the crystal. The monoclinic domains on either side of the boundary contain much finer scale needle-like twins, with the orientation of needles switching through 90° across the boundary. The magnetisation in each monoclinic domain is perpendicular to the needle twins, and, except in rare cases, does not appear to be greatly affected by the needle twins themselves. In one case, however, a zigzag magnetic domain structure coincident with the needle twinning was observed, suggesting that different classes of needle twins are present : some which leave the easy axis untouched and other that cause the easy axis to change direction. The irregular boundaries between monoclinic domains are shown to be 90° magnetic domain walls. Both conventional and ‘divergent’ 90° walls are observed using Lorentz microscopy. Micromagnetic models show that a conventional 90° wall is converted to a divergent wall by passage of a 180° Bloch wall through the adjacent monoclinic domain. The irregular boundaries are immobile, except at temperatures very close to the Verwey transition, where lateral migration of the boundary prior to the transition was observed on heating.

Etude par MET Analytique d'échantillons cométaires de la mission Stardust

J. Stodolna¹, D. Jacob¹, H. Leroux¹

¹ Laboratoire de Structure et Propriétés de l'Etat Solide, Université des sciences et technologie de Lille

Introduction. Après un périple de plus de 4 milliards de kilomètres, la sonde spatiale Stardust de la NASA a ramené sur Terre en janvier 2006 des échantillons provenant de la comète Wild 2. Il s'agit du deuxième retour de matériaux extra-terrestre après les missions lunaires. Ces échantillons cométaires sont particulièrement intéressants car ils sont composés de matière " primitive " qui témoigne des conditions prévalant lors de la formation du système solaire. Les échantillons ont été interceptés dans la coma de la comète à une vitesse relative de 6 km.s^{-1} par un collecteur comprenant des cellules d'aérogel de silice. Le choc lié à la capture s'est accompagné d'une élévation brutale de la température [1]. Les échantillons récupérés le long de la trace de décélération présentent des signes évidents de modifications thermiques [2]. L'objectif de cette étude est de comparer quatre particules extraites le long d'une de ces traces. Il s'agit, par l'étude en MET de la microstructure et des compositions chimiques, de mieux comprendre les mécanismes de modification thermique associés à la décélération et de déterminer, si faire se peut, la nature de la particule collectée.

Procédure analytique. Les échantillons ont été préparés au NASA Johnson Space Center. Les particules (Fig. a) ont été extraites par micromanipulation, enrobées dans une résine puis découpés en lames minces de 70 nm par ultramicrotomie [3]. La caractérisation est réalisée à l'aide d'un Tecnai G2-20 LaB₆ équipé d'un détecteur EDX (EDAX). Les compositions ont été quantifiées via des k-facteurs calibrés par la méthode Van Cappellen [4]. L'erreur relative obtenue est de 5% at. pour les éléments majeurs et de 20% at. pour les mineurs. Des cartes de répartitions chimiques ont été réalisées par la méthode de spectre image.

Résultats. Les quatre échantillons présentent une microstructure identique (Fig. b). Elle est constituée d'une matrice vitreuse contenant des vésicules et des billes métal-sulfure (Fig. c), constituées d'un cœur Fe-Ni entouré par une couronne de sulfure de fer. La taille des billes est comprise entre une dizaine et une centaine de nm et leur population est d'environ 150 billes par μm^2 . La matrice est constituée d'un mélange d'aérogel et de matériau cométaire ayant fondus pendant l'épisode haute température associé à la capture. La proportion de matériau cométaire dans l'aérogel est typiquement de 5%, dans laquelle on trouve de 1 à 5 % de Fe, Mg et S. D'autres éléments sont présents en très faibles proportions (<0.5% at.). Nous avons reporté les compositions chimiques dans un diagramme ternaire Fe-Mg-S (Fig. d et e). Ceci permet de s'affranchir de la contribution du silicium et de l'oxygène majoritairement présents dans l'aérogel. Sur ce diagramme sont représentés les phases majoritaires que l'on trouve dans les matériaux extraterrestres, soit les silicates ferro-magnésiens, les sulfures de fer ainsi que le fer métallique [5]. Les compositions moyennes des quatre échantillons se répartissent suivant une droite décrivant une loi de mélange entre le pôle magnésien et la composition moyenne des billes Fe-Ni-S (Fig. d). Les rapports $\text{Fe}/(\text{Fe}+\text{Mg})$ sont très variables d'un échantillon à l'autre. Au sein de chaque échantillon, l'analyse des cartes de répartition montre que le magnésium est présent dans tout le volume tandis que le fer, le soufre et le nickel semblent localisés dans les billes métalliques. Les relevés de composition pris sur des fenêtres d'analyse de $400 \times 400 \text{ nm}^2$ montrent une dispersion identique pour chaque échantillon (Fig. e). Ils se positionnent également le long

de la droite de mélange entre le pôle magnésien et la composition moyenne des billes métalliques.

Discussion et conclusion. La loi de mélange précédemment décrite représente un rapport Fe/S constant. Ceci suggère que tout le fer est contenu dans les billes métalliques et que la matrice vitreuse ne contient pas ou très peu de fer oxyde. Leroux et al. [5] ont proposé un modèle de réduction de la matrice silicatée lors de l'épisode de haute température par réaction du fer oxyde avec le carbone environnant. La volatilisation puis la condensation du soufre sur les billes métallique explique alors la présence de couronne autour du métal. La variation de composition au sein de chaque échantillon suggère que la redistribution des éléments s'est faite très localement et qu'il n'y a pas eu de mélange de grande ampleur durant l'interaction avec l'aérogel fondu. Les microstructures, les distributions en élément chimique ainsi que la répartition des compositions sur le diagramme ternaire montrent que les échantillons ont subi les mêmes modifications durant la décélération, quelque soit leur position au sein le long de la trace. Les compositions moyennes des quatre échantillons indiquent qu'ils constituaient initialement un agrégat de particules présentant des proportions relatives de silicate et de sulfures variables. La taille estimée par calcul pour chaque particule est comprise entre 1 et 10 μm. Elles étaient elles-mêmes constituées d'agrégats faiblement cohésifs de grains submicrométriques.

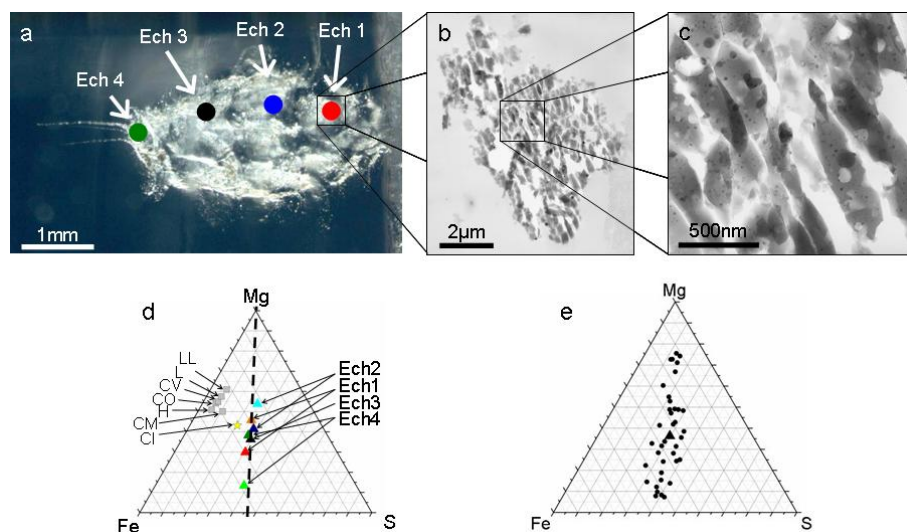
[1] F. Hörz et 43 coauthors. *Science*, 1716–1719, 314 (2006).

[2] H. Leroux, F.J.M. Rietmeijer, M.A. Velbel, A.J. Brearley, D. Jacob, F. Langenhorst, J.C. Bridges, T.J. Zega, R. Stroud, P. Cordier, R.P. Harvey, M. Lee, M. Gounelle and M.E. Zolensky, *Meteoritics et Planetary Science*, 97-120, 43 (2008).

[3] M.E. Zolensky, K. Nakamura-Messenger, L. Fletcher and T. See, *Meteoritics et Planetary Science*, 5-21, 43 (2008).

[4] E. Van Cappellen, *Microsc. Microanal. Microstruct.* 1-22, 1 (1990).

[5] H. Leroux, M. Roskosz, D. Jacob, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 767-777, 73 (2009).



(a) Localisation des échantillons étudiés dans le track 80 (photo crédit NASA) (b) Image TEM en champ clair, échantillon 1. (c) Matrice vitreuse enrichie en SiO_2 présentant des vésicules et de nombreuses billes métalliques. (d) Diagramme ternaire des compositions moyennes des 4 échantillons. (e) Diagramme ternaire présentant les mesures de composition de l'échantillon 3. Fenêtres d'acquisition $400 \times 400 \text{ nm}^2$. Le triangle représente la composition moyenne.

Transition α/β et macle du Dauphiné dans le quartz : une étude par diffraction électronique en précession.

D. Jacob¹, P. Cordier², J. P. Morniroli

¹ LSPES, UMR CNRS 8008, université de Lille I, 59655 Villeneuve d'Ascq, France

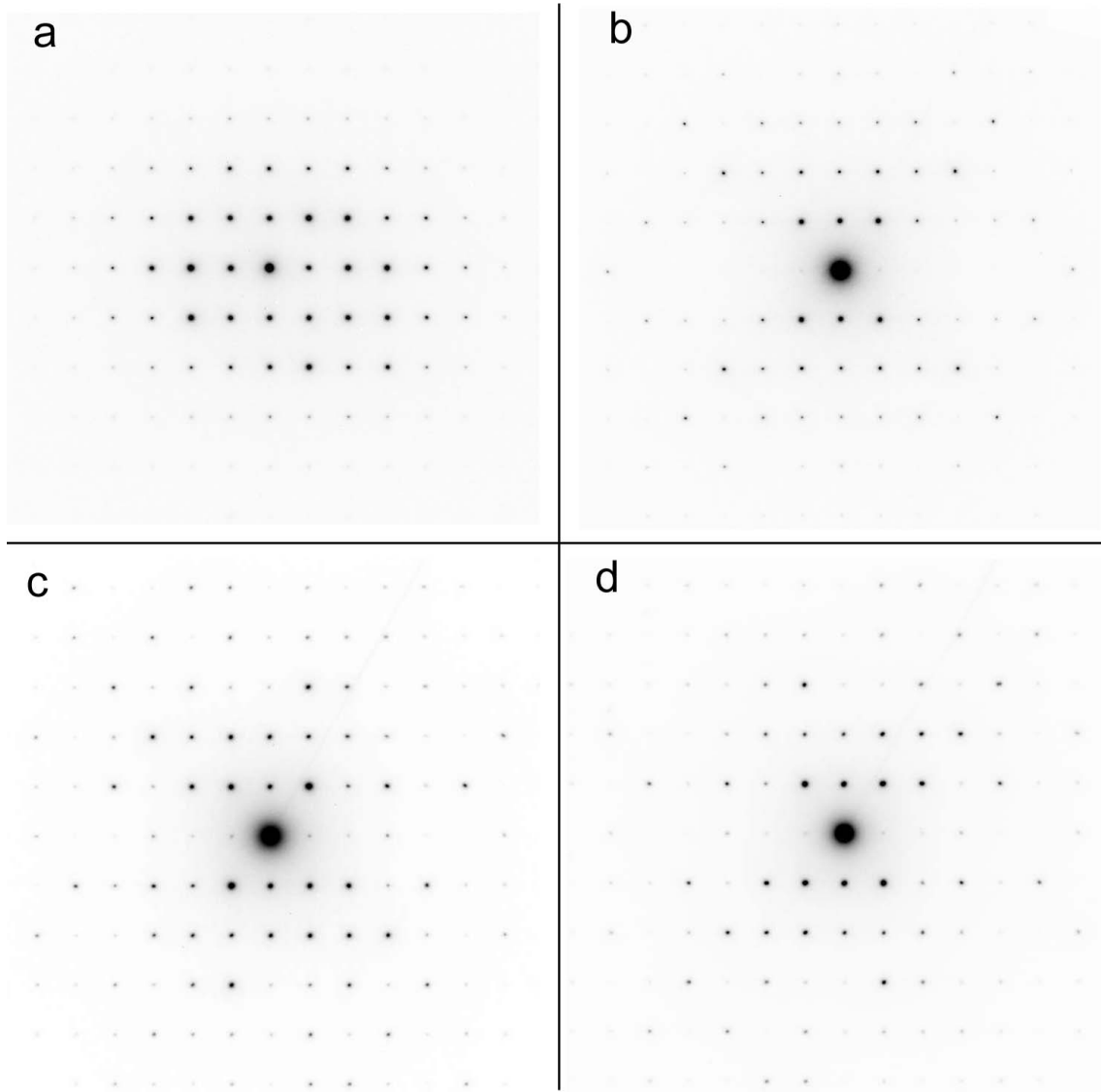
² LMPGM, UMR CNRS 8517, université de Lille I et ENSCL, 59655 Villeneuve d'Ascq, France

La diffraction électronique en précession connaît depuis ces dernières années un nouvel essor, grâce notamment au développement de modules externes permettant son implantation sur tout type de MET. Les applications visées concernent essentiellement la cristallographie électronique, qui permet la détermination ab-initio de structures à l'échelle submicrométrique. La précession réduit en effet drastiquement les interactions dynamiques, qui limitaient jusqu'alors l'exploitation quantitative des intensités électroniques, et permet le traitement "quasi-cinématique" d'un grand nombre de réflexions. D'autres applications concernent la caractérisation microstructurale des matériaux et de leurs défauts. La prise en compte des intensités diffractées sur un simple cliché de points obtenu en précession avec un faisceau parallèle ou très faiblement convergent permet d'identifier sans ambiguïté les orientations cristallines dans des situations où la géométrie seule du cliché ne le permet pas. C'est le cas des cristaux présentant un faible abaissement de symétrie par rapport à une structure idéale plus symétrique [1, 2]. Les défauts de type macle associés à cette diminution de symétrie, qui établissent des relations de parallélisme entre des directions non équivalentes de la structure mais cristallographiquement proches, ne sont alors identifiables qu'en tenant compte des intensités. Dans ce cas, la variation de la position des taches de diffraction n'est généralement pas discernable sur les clichés acquis en axe de zone le long des deux directions. Ici, nous décrivons un cas encore plus critique, où la macle ne perturbe pas du tout le réseau du cristal : il s'agit d'une macle par mériédrie qui se produit dans les cristaux où le réseau est plus symétrique que le motif qui lui est associé. A haute température, le quartz SiO₂ cristallise dans la phase β hexagonale de groupe spatial P6₄22. Cette structure se caractérise par une double spirale, autour de l'axe hélicoïdal 6₄ parallèle à [0001], de chaînes de tétraèdres de SiO₄ partageant leurs sommets. Les chaînes de chaque hélice sont reliées entre elles par un axe de rotation d'ordre 2 parallèle à l'axe hélicoïdal. Quand le quartz est refroidi en dessous de 573°C, les chaînes de tétraèdres se distordent (transformation displacive) et ne sont plus reliées entre elles par un axe d'ordre 2. Le quartz passe alors dans la structure trigonale α (axe de rotation d'ordre 3) de groupe spatial P3₂21. Cet abaissement de symétrie produit des macles, dites du Dauphiné, qui séparent des variants $\alpha 1$ et $\alpha 2$ tournés l'un par rapport à l'autre de 180° autour de l'axe [0001], et reconstituent ainsi l'axe 2 perdu. Entre la phase de haute température et la phase de basse température, ainsi qu'entre les deux variants à basse température, les positions atomiques sont modifiées mais pas le réseau. Les plans diffractants de la structure hexagonale et des deux variants de la structure trigonale mis en relation de parallélisme par la macle ont donc des distances interréticulaires strictement identiques, mais des intensités différentes. Sur des clichés de points acquis en aire sélectionnée conventionnelle le long d'une même direction dans les trois phases, ces différences d'intensité ne sont pas visibles, du fait des interactions dynamiques entre les faisceaux diffractés (Fig. 1a). Ceci n'est plus le cas en précession, puisque les intensités sont alors nettement moins affectées par les interactions dynamiques et donc plus directement reliées au facteur de structure des plans diffractants concernés (Fig. 1 b,c,d). Les clichés sont bien discernables et la caractérisation de la macle dans

la phase α devient alors évidente à partir de projections stéréographiques conventionnelles.

[1] J.-P. Morniroli, G. J. Auchterlonie, J. Drennan, J. Zou. *Journal of Microscopy*, 7-26, 232, (2008)

[2] D. Jacob, P. Cordier, J. P. Morniroli and H. P. Schertl, *American Mineralogist*, in press (2009)



Diagrammes de diffraction en aire sélectionnée, axe de zone $\langle 11\bar{2}0 \rangle$. a) sans précession ; b) avec précession, phase de haute température β ; c) avec précession, phase de basse température, variants $\alpha 1$; d) avec précession, phase de basse température, variant $\alpha 2$.

Les biominéraux humains, à quoi ça sert ?

E. Bres¹

¹ LSPES Université de Lille 1 Sciences et Technologies

Nous avons des minéraux dans notre corps ! Ces minéraux sont disposés en sein de structures hiérarchiques (les structures sont différentes aux différentes échelles de l'espace) pour donner de multiples propriétés aux tissus auxquels ils appartiennent (mécaniques, biochimiques...). À l'échelle macroscopique les tissus eux-mêmes sont vivants, s'adaptent à leurs fonctions et se renouvellent par des mécanismes d'érosion et de reconstruction. À l'échelle microscopique, des mécanismes d'induction/inhibition de croissance permettent le transport des matériaux (inhibition) et la construction des tissus (induction). Il est aussi intéressant de remarquer que les minéraux sont orientés le long des lignes de forces (caractérisées par la position des tendons) exercées sur les tissus. Les biominéraux eux même possèdent des morphologies et des dimensions différentes suivants les tissus différents de leurs homologues non bio. Au niveau nanoscopique, il se passe des choses intéressantes ! Le rapport Ca/P des cristaux d'apatite qui composent les os et les dents qui a pour valeur stoechiométrique 1,67 ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), ce qui varie le pH de la surface des cristaux et permet de varier leurs propriétés d'adhésion. Du point de vue structural, les cristaux des os et des dents présentent des défauts qui leurs permettent d'être dissouts partiellement lors de pathologies telles que la carie tout en conservant la possibilité de se reconstituer lors des processus de reminéralisation. Dans le cadre de la présentation, des spécificités structurales des biominéraux humains (défauts, structure de surface, groupe spatial, évaluation du rapport Ca/P) étudiés microscopie électronique (HREM, CBED, EELS) seront exposés.

Étude de spores fossilisés dans des roches métamorphiques

S. Bernard¹, K. Benzerara², O. Beyssac¹, N. Menguy², F. Guyot², G.E. Brown Jr³, B. Goffé¹

¹ Laboratoire de Géologie, ENS-CNRS, 24 rue Lhomond, 75005 Paris, France

² Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, UMR 7590, CNRS, UPMC, UPD, IPGP, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris, France

³ Surface and Aqueous Geochemistry Group, Department of Geological and Environmental Sciences, Stanford University, Stanford, CA 94305-2115, USA

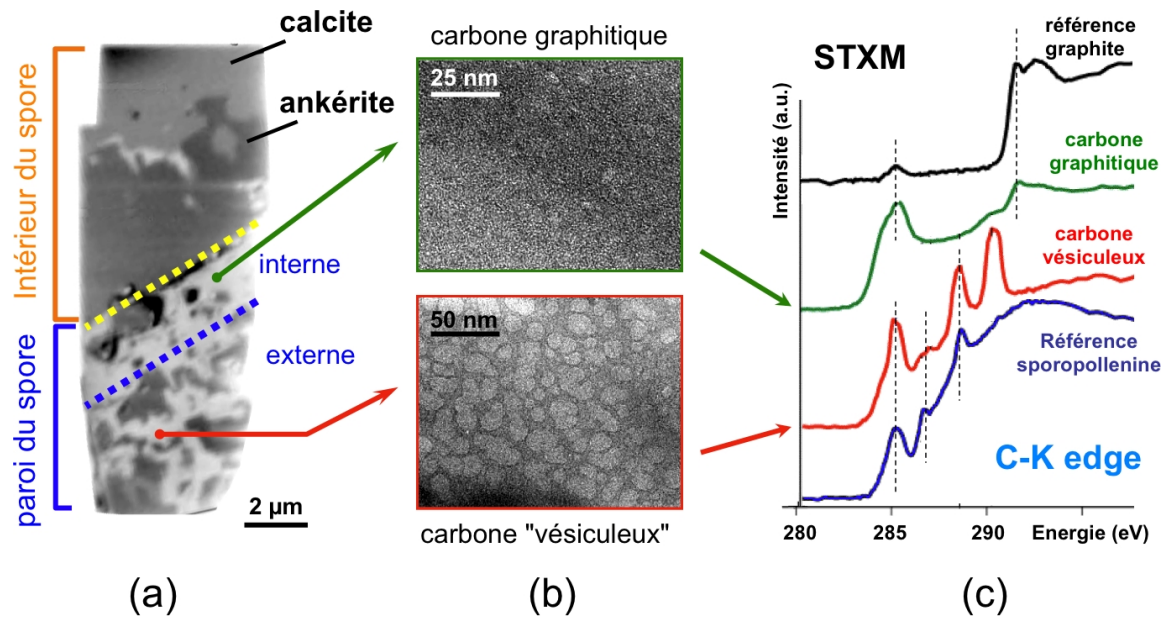
Les transformations impliquées dans le métamorphisme sont les limitations majeures pour la recherche de signatures biogéniques dans les enregistrements géologiques.

En effet, on suppose généralement que les processus métamorphiques modifient la chimie et la structure originelles de la matière organique biologique, empêchant ainsi la préservation de la biogénicité. Cependant, nous avons pu récemment l'analyse chimique et structurale à l'échelle nanométrique de fragments végétaux datant de l'ère Triassique (230 Ma) et ayant subi un fort métamorphisme ($\sim 360^\circ\text{C}$, ~ 14 kbar).

Nous avons analysé la nature chimique des groupes fonctionnels carbonés composant ces matières organiques mais aussi leur répartition spatiale à l'aide d'un microscope à rayons X (STXM) donnant accès à une haute résolution spectrale (~ 0.1 eV) et spatiale (~ 25 nm).

Nous avons ainsi pu mettre en évidence des hétérogénéités texturales, chimiques et minéralogiques dans ces matières organiques. Par comparaison avec des bio-composés de référence (sporopollénine, lignine et cellulose, constituants principaux des tissus végétaux), ces hétérogénéités ont été interprétées comme une rémanence des structures biologiques originelles. Ces résultats montrent que le métamorphisme n'efface pas systématiquement les bio-signatures structurales et chimiques, au moins à la l'échelle sub-micronique [1].

[1] S. Bernard, K. Benzerara, O. Beyssac, N. Menguy, F. Guyot, G. E. Brown Jr. and B. Goffé, *Earth and Planetary Science Letters*, 257-272, 262 (2007)



(a) image STXM de la paroi du spore ($E = 280$ eV) la matière organique apparaît en clair (b) image MET champ clair des deux principaux types de carbones observés (c) spectres XANES des deux principaux types de carbones observés dans le spore et comparaison avec des spectres de référence (sporopollénine et graphite).

Croissance des magnétosomes dans les bactéries magnétotactiques

N. Menguy¹, D. Faivre², D. Schueler³, G. Ona Nguema¹, C. Carvallo¹, Ph. Sainctavit¹

¹ Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, UMR 7590, CNRS, UPMC, UPD, IPGP, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris, France

² Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, Department of Biomaterials, Potsdam, Allemagne

³ LMU München, Dept. Biologie I – Mikrobiologie, München, Allemagne

Les bactéries magnétotactiques, découvertes par Bellini [1] puis par Blakemore [2] synthétisent des magnétosomes, constitués de cristaux de magnétite (Fe_3O_4) ou de greigite (Fe_3S_4) nanométriques à l'intérieur de vésicules membranaires intracellulaires. Les magnétosomes sont généralement assemblés sous forme d'une ou plusieurs chaînes, a priori fixées à l'intérieur des cellules et alignées parallèlement à l'axe de motilité de la bactérie. Ces chaînes de particules magnétiques, comparables à l'aiguille aimantée d'une boussole, permettent à la cellule de s'orienter dans le champ magnétique terrestre. Cette faculté associée à un aérotactisme (la bactérie se dirige dans la direction du gradient de concentration en oxygène) permet à ces bactéries microaérophiles de se positionner de manière efficace dans la colonne d'eau à la zone de transition oxique – anoxique (OATZ) afin de trouver les conditions optimales en $[\text{O}_2]$ pour leur métabolisme [2]. Afin de mieux comprendre les mécanismes de formation des cristaux, nous avons procédé à des expériences de culture "time-course" de la souche *Magnetospirillum gryphiswaldense*, grâce auxquelles il est possible de suivre la croissance des magnétosomes [4]. Ces expériences ont permis de mettre en évidence l'évolution de la formation des chaînes de magnétosomes (figure 1). Nous avons également étudié les premiers stades de nucléation mettant ainsi en évidence que les plus petits cristaux observés ($d < 5$ nm) sont constitués de magnétite (figure 2). Il semblerait donc que, contrairement à ce qui a été récemment proposé [5], l'hématite ne soit pas une phase précurseur de la magnétite. Il apparaît également que ces conditions de croissance particulières des bactéries donnent lieu à la formation de magnétite ayant une morphologie cristalline inhabituelle pour la souche bactérienne considérée, i.e. de forme cuboïdale au lieu de cuboctaédrique (figure 3).

[1] S. Bellini, Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 6 – 12, 27 (2009)

[2] R.P. Blakemore, Science, 377–379, 190 (1975)

[3] D.A. Bazylinski and R.B. Frankel, Nature Reviews / Microbiology, 217-230, 2 (2004)

[4] D. Faivre, N. Menguy, M. Posfai, D. Schüler, American Mineralogist, 463-469, 93 (2008)

[5] S. Staniland et al., PNAS, 19524-19528, 104 (2007)

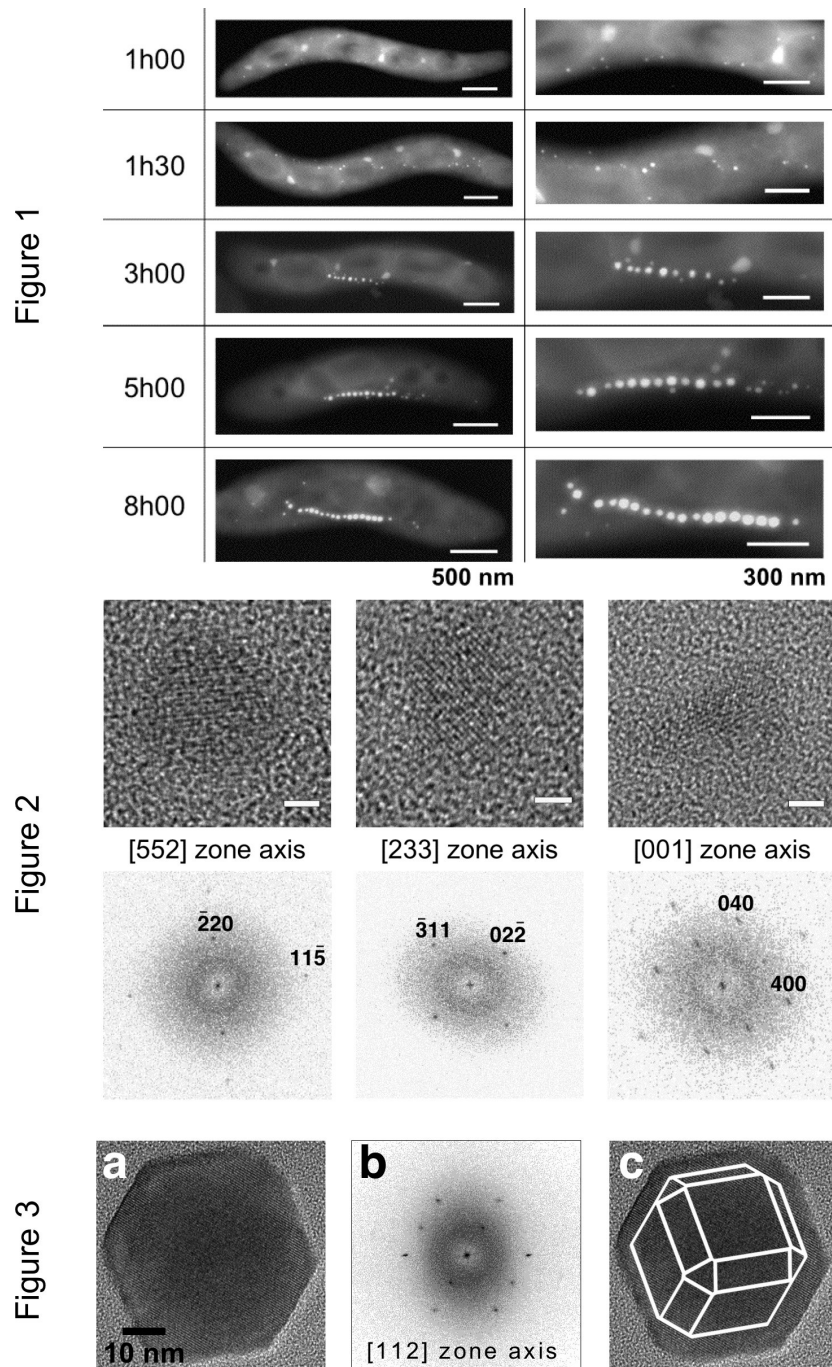


Figure 1 : Observations STEM-HAADF montrant l'évolution de la formation des chaînes de magnétosomes au cours du temps **Figure 2** : Observations HRTEM des premiers stades de nucléation des magnétites avec les FFT correspondantes indexées dans le groupe d'espace $Fd\bar{3}m$ de la magnétite. Barre d'échelle = 2 nm **Figure 3** : Analyse morphologique des magnétites formées lors des expériences "time-course". Les magnétites ont une forme cuboïdale.

TEM study of Pulsed Laser Deposited hydroxyapatite films prior and after immersion in SBF

S. Grigorescu ^{1,2}, J. Werckmann ¹, I.N. Mihailescu ²

¹ IPCMS, 23, rue du Lœss BP 43, 67034 Strasbourg Cedex 2, France

² INFLPR, Bucharest-Magurele, RO-77125, PO BOX MG-36, Romania

Hydroxyapatite, as a particular compound among the bioactive calcium phosphates' class, is considered to be a promising solution for covering the classical metallic bone implants as a thin film. Its main beneficial properties consist of excellent integration within the body and faster healing times, while conserving the good mechanical properties given by the metallic implant. However, the implants obtained on a first step by various covering techniques proved to exhibit a poor long-time behaviour, mainly due to the lack of adherence between the film and the substrate. On the other hand, Pulsed Laser Deposition is a technique able to produce adherent layers which exhibit well-controlled stoichiometry, composition, morphology and thickness. In this study we analyze by high-resolution cross-section electron microscopy the interface between the titanium substrate and the laser-deposited hydroxyapatite film, as well as the changes which take place in the film after its' submersion in Simulated Body Fluid for several days. The good adherence is proved by evidencing the mixed phase at the Ti/HA interface, while the good bioactivity is demonstrated by the formation of a newly-grown amorphous calcium phosphate layer at the surface of the hydroxyapatite film.

FIB-TEM-NanSIMS coupling for Earth deep interiors studies

A-L. Auzende¹, J. Badro¹, G. Fiquet¹, F. Ryerson²

¹ IMPMC-IPGP, Paris VI et VII, CNRS, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris

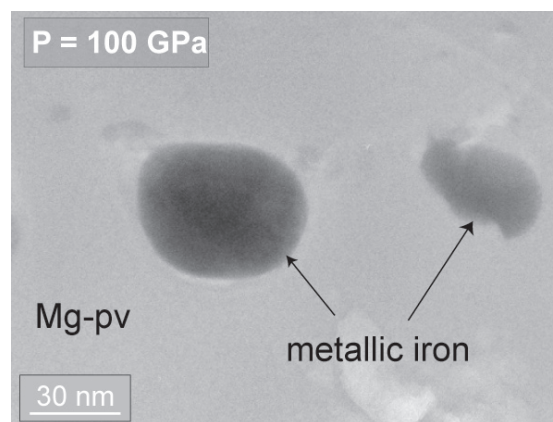
² LLNL, Livermore, California, USA

To investigate the deep mantle, samples must be submitted to high pressures (~ 1 Mbar) and temperatures (3000K). These conditions are achieved by laser heated diamond anvil cell (LH-DAC), providing micronic samples composed of nanometric grains. Their studies thus require high spatial resolution tool. Recovered samples are thinned to electron transparency by focussed ion beam (FIB) and characterized by analytical transmission electron microscopy (ATEM) and nanometer scale ion probe (nanoSIMS). It is widely accepted that magnesium silicate perovskite (Mg,Fe)SiO₃ (Mg-pv) and ferropericlase (Mg,Fe)O (fp) are the dominant phases in the lower-mantle. Their physical and chemical properties determine the dynamics of the deep Earth. It is thus of prime importance to constrain element partitioning at high pressure for improving the geochemical models of the Earth. We investigated iron partitioning between Mg-pv and fp synthesised under lower-mantle conditions (up to 115 GPa and 2200 K). Iron concentrations in both phases were obtained from EDX measurements and nanoSIMS [1]. Our results are the first to show that recently reported transitions in the lower-mantle [2,3] directly affect the evolution of Fe-Mg partitioning between both phases. Mg-pv is increasingly iron-depleted above 70-80 GPa possibly due to the high spin-low spin transition of iron in fp. Conversely, the perovskite to post-perovskite transition is accompanied by a strong iron enrichment of the silicate phase. Iron concentrations determined by ATEM and nanoSIMS are in excellent agreement. Nanoparticles of metallic iron were observed in the Mg-pv bearing runs, suggesting the disproportionation of ferrous iron and the self-oxidation of the mantle, but were not observed when the post-perovskite (ppv) phase was present. Implications on the oxidation state of the Earth and core segregation will be discussed.

[1] A-L. Auzende et al, Earth and Planetary Sciences Letters, 164-174, 269 (2008)

[2] Badro J. et al, Science, 789-791, 300 (2003)

[3] Murakami M. et al, Science, 855-858, 304 (2004)



TEM imaging of the small particles (< 50 nm) of iron-rich metal which are systematically observed in Mg-pv + fp

In-situ electron microscopy of nanoparticles with an aberration-corrected STEM

F. Banhart¹, J. Rodriguez-Manzo¹

¹ Institut de Physique et Chimie des Matériaux, Université de Strasbourg, 67034 Strasbourg

Modern scanning transmission electron microscopes (STEM) with correctors for the spherical aberration enable us to focus an intense electron beam onto a spot with a diameter of the order 1 angströmmgstrom. Besides imaging and analysis with 1angström resolution, the highly focused electron beam gives us the possibility of carrying out in-situ electron irradiation on the real atomic scale. If the electron energy exceeds the threshold for atom displacements, structural transformations can be induced in the specimen and "nano-engineering" becomes feasible. The electron beam with a current density on the specimen of more than 10^5 A/cm² leads to atom displacements within less than one second. The presentation gives an overview of the first in-situ experiments with an aberration-corrected STEM. Materials on the basis of graphitic carbon such as carbon nanotubes or graphene are in the focus of interest. Single or multiple vacancies can be created in pre-selected positions with the focused beam. This gives us now the possibility of observing in real time the response of a material to the creation of point defects. It is shown that the reconstruction of the material after the creation of defects is decisively determined by the temperature. By using a heating stage, the temperature of the specimen can be varied in a wide range. The combination of high temperature and extremely intense and localized electron irradiation is a unique possibility of studying the formation and behaviour of point defects and of structuring materials on the atomic scale. Further in-situ experiments will be shown where electron irradiation is carried out on the scale of a few nanometres. This has been done in composite structures consisting of carbon nanotubes and metal nanocrystals. The formation of covalent junctions between carbon nanotubes and metal contacts can be carried out by electron irradiation. Another example is the growth of carbon nanotubes from catalytically active metal particles that can be induced by electron irradiation and observed in-situ in the electron microscope.

HR-TEM, HAADF and HR-EELS investigation of colloidal PbSe nanoparticles

M. Cheynet ¹, S. Lazar ², G. Botton ², O. Robbe ³, J. Habinshuti ³, B. Grandidier ⁴

¹ CNRS-SIMaP-PHEMA, Grenoble Université, Grenoble-France

² CCEM McMaster University, Hamilton-Canada

³ LASIR Université technologique de Lille, Villeneuve d'Ascq France

⁴ ISEN-IEMN, Université de Lille, Villeneuve d'Ascq France

S'il existe dans le domaine des nanosciences de nombreux travaux de recherche qui sont le prolongement de travaux plus anciens, il en est d'autres qui reposent spécifiquement sur la découverte récente de propriétés inédites de la matière à l'échelle du nanomètre. Bhargava et al.[1], furent par exemple, parmi les premiers à observer une augmentation du rendement quantique de luminescence ainsi qu'une diminution importante de la durée de vie d'émission lorsque la matière devient nanométrique. On a dès lors, parlé d'effet de taille. Même, si cet effet a été largement controversé dans le cas des isolants, ces travaux ont eu le mérite de stimuler la communauté scientifique, et ont motivé des recherches fondamentales et appliquées dans de nombreux domaines comme la physique, l'informatique, la médecine. Les propriétés physiques, catalytiques, mécaniques des matériaux à l'échelle nanométrique dépendent cependant fortement du procédé de synthèse et des conditions expérimentales mises en œuvre. A chaque protocole correspondent une morphologie, une taille, une distribution en taille, un état structural, un état de surface et un comportement à l'auto-assemblage des nano-particules différents. Afin de comprendre et d'optimiser les propriétés observées pour ces nano objets et les systèmes auto-assemblés qu'ils permettent de former, il est essentiel de déterminer avec précision tous ces paramètres. La microscopie électronique en transmission à haute résolution spatiale et haute résolution en énergie dans l'état actuel de son développement i.e. couplée à des correcteurs d'aberrations sphériques (sonde et objectif) et à un monochromateur, permet aujourd'hui d'obtenir toutes ces informations à des échelles variant du micron au nanomètre voire à l'angström, sur un même échantillon et en une seule expérience. Ce travail illustre les performances de cette "microscopie du 21ème siècle" appliquée à l'étude de colloïdes de sélénides de plomb (PbSe) fonctionnalisés par du tétrachloroéthylène (C₂Cl₄).

L'expérience : Les échantillons destinés à la microscopie TEM ont été préparés en déposant une goutte de la suspension colloïdale sur un substrat mince (30 nm) de Si₃N₄. Les images HR-TEM et HAADF ainsi que les spectres de pertes d'énergie ont été enregistrés à l'aide d'un microscope FEI de dernière génération i.e. un Titan Cubed installé à Mc Master University au Canada. Ce microscope est équipé d'un double correcteur d'aberrations sphériques (sonde et objectif) et d'un monochromateur. Il permet d'obtenir une résolution image de 0.7Å, une résolution spatiale de l'ordre de l' angström et une résolution en énergie de l'ordre de 150meV.

Résultats : 1 - Taille et distribution en taille ont été déduites de l'analyse statistique de séries d'images HRTEM et HAADF. 2 - Structure cristallographique et relation d'orientation ont été déduites de l'analyse d'images HRTEM dans l'espace direct et réciproque, et de l'analyse de cartes d'orientation enregistrées à l'aide du logiciel ASTAR développé par E. Rauch [2] et commercialisé par Nanomegas (www.nanomegas.com). 3 - Les propriétés électroniques ont été mesurées par spectroscopie de pertes d'énergie des électrons de valence. Les transitions électroniques mesurées sur les spectres low-loss sont comparées à des mesures d'absorption [3] et de spectroscopie tunnel [4], puis interprétées à l'aide de calculs ab-initio[5].

- [1] R. N. Bhargava et al. Phys. Rev. Lett. 72, 416 (1994).
 [2] E. Rauch et al. Arch. Metall. 50, 87 (2007).
 [3] B. Grandidier communication privée.
 [4] P. Liljeroth et al. Phys. Rev. Lett. 95, 086801 (2005).
 [5] R. Koole et al. Small 4, 127 (2008).

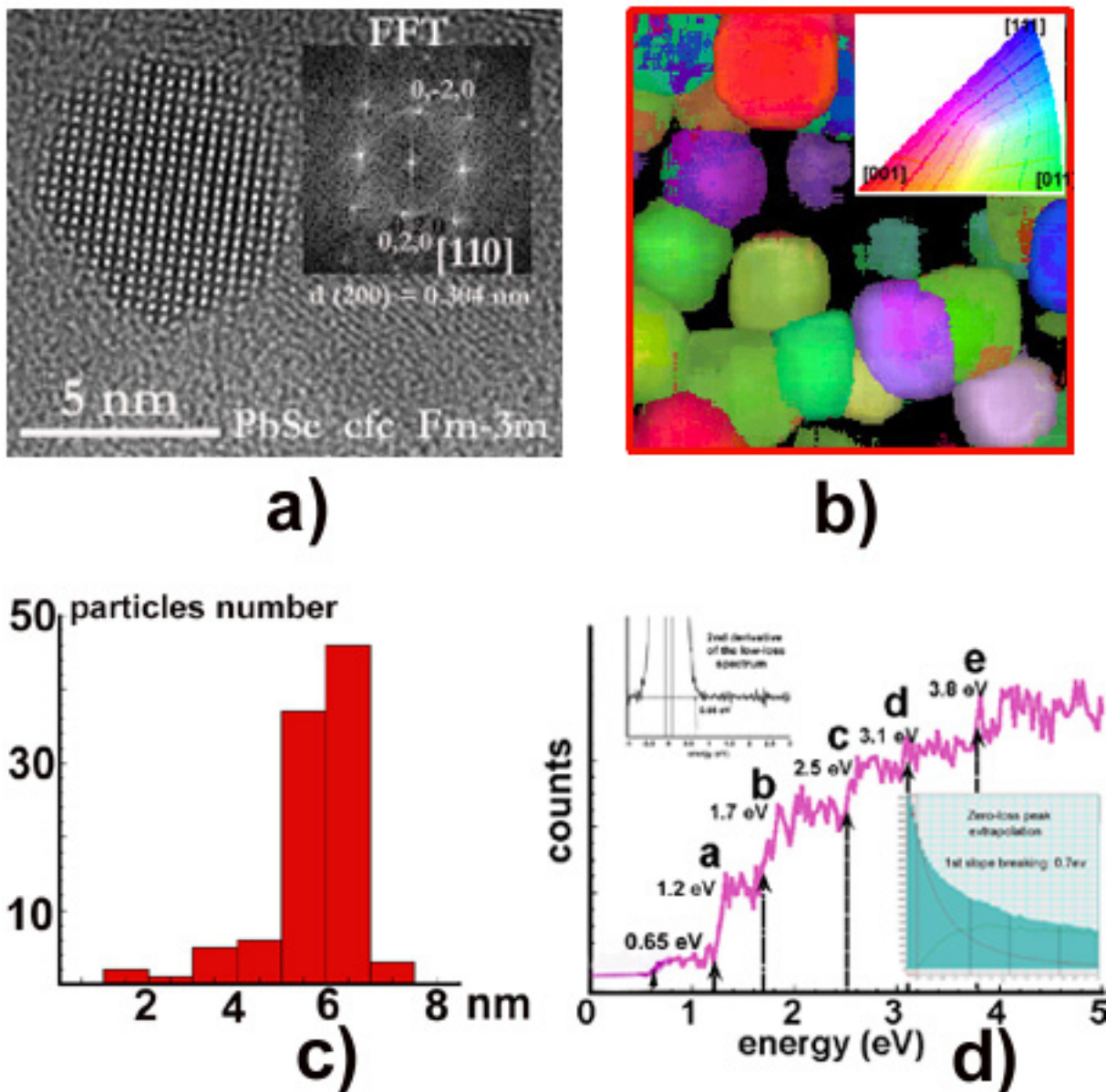


Figure 1- a) image HR-TEM et FFT associée d'une particule de PbSe, b) carte d'orientation des particules déterminée à l'aide d'ASTAR, c) histogramme de distribution en taille des particules, d) spectre de pertes d'énergie des électrons de valence associé à une particule PbSe de 6 nm de diamètre.

HRTEM (and diffraction) quantitative determination of the order parameter of nanometric CoPt particles : expectations and limits

T. Epicier ¹, N. Blanc ², F. Tournus ², V. Dupuis ²

¹ Matériaux, Ingénierie et Sciences (MATEIS), CNRS UMR 5510, Université de Lyon, INSA-Lyon, 7 avenue Jean Capelle F-69621 Villeurbanne Cédex

² Laboratoire de Physique de la Matière Condensée et Nanostructures (LPMCN), CNRS UMR 5586, Université de Lyon, Univ. Lyon 1, F-69622 Villeurbanne Cedex

Magnetic particles with nanometer sizes are continuously attracting much attention both for their fundamental interest and their potential applications. In particular, small permanent magnets made of bimetallic clusters would make possible ultrahigh density magnetic storage for very high density recording media. In this context, equiatomic CoPt nanoparticles are of great interest : they can crystallize in the chemically ordered L1₀ phase, corresponding to very high magnetocrystalline anisotropy for the bulk phase. The question of detecting the ordering of individual nanoparticles, and more interesting of collections of them, has been addressed by several authors (see for example [1,2] and references within). Transmission Electron Microscopy (TEM) is obviously a major technique to achieve that goal. However, the major difficulty is that such objects have to be deposited on a supporting film (usually a carbon holey grid), which offers very little possibility for optimising the diffracting conditions. Indeed, the ordered L1₀ tetragonal structure (space group P4/mmm with $a = 0.378$ nm and $c = 0.366$ nm) exhibits superlattice reflections compared to the disordered f.c.c. phase, which are revealed in adequate zone axis. An elegant way of identifying positively ordered particles has recently been developed in nano-diffraction in the scanning TEM (STEM) mode [1]. This technique, as it was presented so far, did not however allow the order parameter (S) to be measured accurately. The purpose of this contribution is to debate on how accurate and quantitative TEM can be for measuring the degree of ordering of such CoPt nanoparticles. We will mainly concentrate on High Resolution TEM (HRTEM) observations. The question is not simply to provide a good 'match' of an experimental micrograph with an image simulation, but to 'measure' the order parameter. Difficulties arise from the fact that in a given zone axis (say, [010] as shown in figure 1), one can easily anticipate that a perfectly ordered particle (with $S = 1$) slightly off-axis and a poorly ordered one can exhibit the same HRTEM contrast. To approach this point we have run systematic image calculations of modelled clusters and bulk crystals with the JEMS [3] and W-SIMPLY [4] multislice-based softwares, according to the following steps :

1) CoPt structures with different order parameters (from $S = 0$ to 1) were generated using average occupancy factors 2) For a given orientation ([010] in the present case), dynamical calculations were performed on about 3 nm-thick crystals tilted away from the exact symmetrical Laue conditions up to 5° by step of approximatively 0.5° 3) image calculations were run for certain defocus values. In each situation, various intensity ratios were calculated from the Fourier components of the simulated HRTEM images, that is using (hkl) beams (indexed in the L1₀ ordered phase) affected by the transfer function of the microscope (JEOL 2010F with a spherical aberration coefficient of 0.5 mm) : $R1 = (001)/(002)$, $R1 = (001)/(200)$, $R3 = (002)/(200)$ 4) these ratios were then graphically displayed as reported in figure 1.

The detailed analysis of this approach will be presented. It shows that single images cannot allow the order parameter to be measured with an accuracy better than about +/- 0.2. Never-

theless, the association of at least 2 images at different defocus drastically improves this poor accuracy. Adaptation of this strategy to diffracted intensities as could be directly measured from nano-diffraction patterns will be discussed [5].

[1] Alloyeau D., Ricolleau C., Oikawa T., Langlois C., Le Bouar Y., Loiseau A., Ultramicroscopy, 108, (2008), 656

[2] Tournus F., Tamion A., Blanc N., Hannour A., Bardotti L., Prével B., Ohresser P., Bonet E., Epicier T., Dupuis V., Phys. Rev. B 77, (2008), 144411

[3] Stadelmann P., Microsc. Microanal. 9, (2003), 60

[4] Epicier T., O'Keefe M.A., in : Proceedings of the 11th European Congress on Electron Microscopy, Dublin, CD-ROM, EUREM'96, ucd, Belfield, Dublin 4, Ireland, 1996

[5] The CLYM (Centre Lyonnais de Microscopie) is gratefully acknowledged for the access to the 2010F microscope.

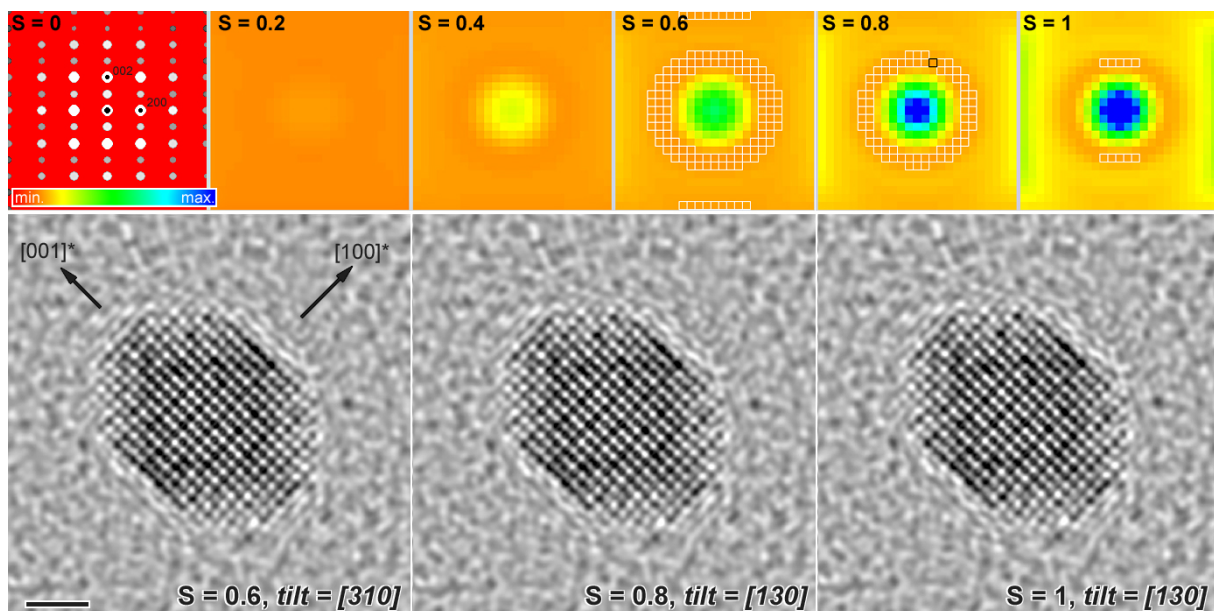


Figure : effect of "crystal tilt" on HRTEM Scherzer images of CoPt particles within different ordering states S (values as indicated). Top row : wrong colors representation of the intensity ratio $R2 = (001)/(200)$ (normalized to 256 levels) when the particle is tilted away from the perfect $[010]$ zone axis (the location of each 'pixel' in any image represents the position of the centre of the Laue zone, according to the diffraction pattern shown for $S = 0$). The white squares within diagrams at $S = 0.6$, 0.8 and 1 identify the tilts at which the three ratios $R1$, $R2$ and $R3$ have the same value as that of the black square for $S = 0.8$, within a 5 % accuracy. Bottom row (bar = 1 nm) : examples of image simulations of a 3 nm CoPt particle deposited onto a supporting carbon film, for orientations corresponding to some 'white squares' (tilts as indicated) : note that all particles, although in significant ordered states, exhibit a quasi-perfect similar contrast.

Structures and Phase Transitions of Metals on Ge(111) Measured by LEEM and STM

S. Chiang ¹

¹ Department of Physics, University of California, Davis, California 95616-8677 USA

We have recently used both low energy electron microscopy (LEEM) and scanning tunneling microscopy (STM) to study the structures and surface phase transitions for Pb, Ag, and Au adsorbed on Ge(111).

Our LEEM results show that the $\beta \Leftrightarrow (1 \times 1)$ phase transition on Pb/Ge(111), even though it is first-order, is characterized by the fluctuations of well-defined domains throughout the coexistence region (170-190C). To investigate the origin of the observed fluctuations, we have used LEEM to follow the phase transformation in real time, to explore the phase diagram of the system, and to measure the saturation coverage of the high temperature (1x1) structure. Our measurements show that the Pb atomic density difference between the β and (1x1) phases is quite small ($\sim 0.04\text{ML}$), so that thermal fluctuations in the number of Pb atoms in a domain can easily cause a domain to flip its phase, as shown by a simple statistical mechanics analysis.[1]

For Ag on Ge(111), STM data show regions with several different known structures, the (4x4) with 0.375 ML coverage, the $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30$ structure with 1ML coverage, and small regions of (3x1) structure, similar to previously published data.[2] LEEM videos show the (4x4) phase grows with a high dependency on surface steps, a behavior previously attributed to the high diffusivity of Ag adatoms along the step edges.[3] The growth of the (4x4) phase also produces faceting of the surface as that phase grows from the steps. At higher coverages, the (4x4) phase transitions into the $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30$ phase. Near the desorption temperature, LEEM images show a disordered phase with no contrast, but if the sample is cooled, both the (4x4) and $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30$ phases recondense on the surface, indicating that the Ag did not completely desorb.

Both STM and LEEM data show the expected Stranski-Krastanov growth mode of Au on Ge(111), [4,5] with small islands of Au nucleating near step edges at low coverage. For 10ML of Au deposited on Ge(111) at 400C, hopping of 3D sub-micron sized islands was observed in two subsequent LEEM images. Although the islands are round at high temperature, the island boundaries become more angular and hexagonal as the sample is cooled. LEEM data also show phase fluctuations at the boundaries of regions of different structures of Au on Ge(111) at 620C, similar to the thermally induced fluctuations observed for the $\beta \Leftrightarrow (1 \times 1)$ phase transition on Pb/Ge(111).[1]

[1] Y. Sato, S. Chiang, and N.C. Bartelt, Phys. Rev. Lett. 99, 096103 (2007).

[2] H.H. Weitering and J.M. Carpinelli, Surf. Sci., 384, 240 (1997).

[3] E. Suliga and M. Henzler, J. Phys. C. Sol. St. Phys. 16, 1543 (1983).

[4] G. Lelay, M. Manneville, and J.J. Metois, Surf. Sci. 123, 117 (1982).

[5] L. Seehofer and R.L. Johnson, Surf. Sci. 318, 21 (1994).

Structures atomiques des facettes sur les nanofils de silicium

T. Xu¹, J.P. Nys¹, A. Addad², O.I. Lebedev³, A. Urbieto⁴, B. Salhi¹, M. Berthe¹, B. Grandidier¹, D. Stiévenard¹

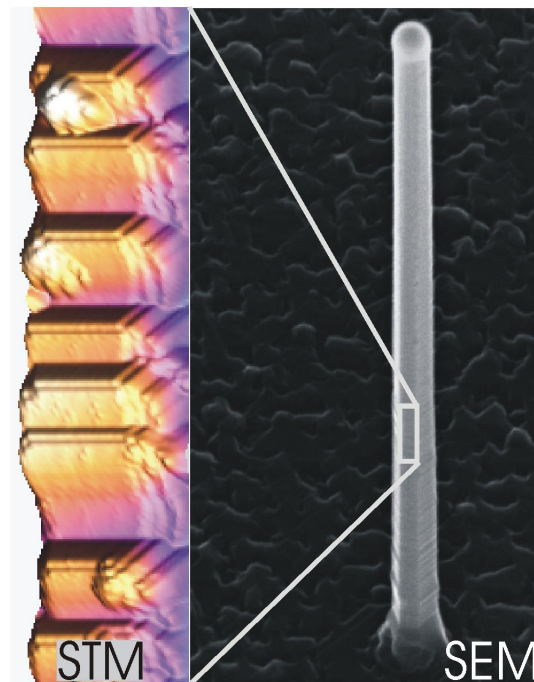
¹ Institut d'Electronique, de Microélectronique et de Nanotechnologie, IEMN, (CNRS, UMR 8520), Département ISEN, 41 bd Vauban, 59046 Lille Cedex, France

² Laboratoire de Structure et Propriétés de l'Etat Solide, Université des Sciences et Technologies de Lille, 59655 Villeneuve d'Ascq, France

³ EMAT, Physics Department, University of Antwerp, Groenenborgerlaan 171, B2020 Antwerpen, Belgium

⁴ Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Fisica de Materiales, 28040 Madrid, Spain

$\langle 111 \rangle$ -oriented Si nanowires, synthesized by vapor-liquid-solid process with low silane partial pressure reactant and gold as the catalyst, are known to exhibit sawtooth facets containing gold adsorbates. We report herein the study of the facet orientation by means of transmission electron microscopy and scanning tunneling microscopy. While the large diameter nanowires show alternating upward and downward facets that correspond to $\{111\}$ and $\{1\bar{1}3\}$ planes respectively, nanowires with diameter smaller than 200 nm have also downward facets that show facets slightly tilted up from a (113) plane. Imaging the facets at the atomic resolution indicates that the facet reconstructions are induced by Au atoms, with the high index planes consisting of chain structures. Spectroscopic measurements performed on the most predominant facets reveal a metallic behaviour at 77 K, where the electronic surface states near the Fermi level lie in the Si band gap, thus leaving the electrons decouple from the Si substrate.



Configurations magnétiques de nanomatériaux déterminées par holographie électronique

E. Snoeck¹, C. Gatel¹, L.M. Lacroix², T. Blon², S. Lachaize², J. Carrey², M. Respaud², B. Chaudret³

¹ CNRS-CEMES, Rue J. Marvig, 31055 Toulouse

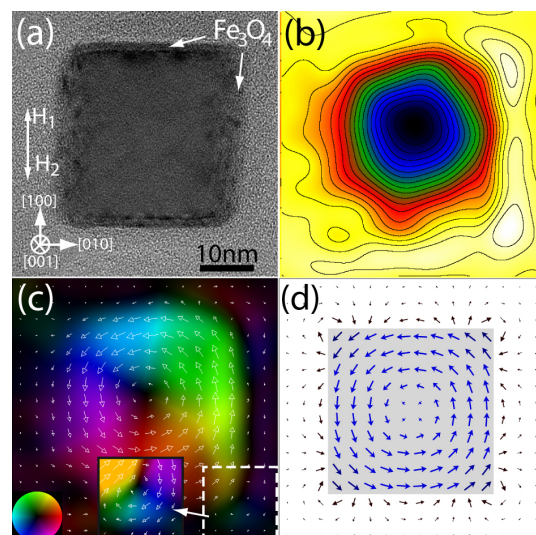
² Université de Toulouse ; INSA,UPS ; LPCNO, 135 avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse

³ LCC-CNRS, Rte de Narbone, 31400 Toulouse

Les propriétés magnétiques de nanostructures, que ce soient les configurations magnétiques, les valeurs locales d'aimantation, les propriétés de magnéto-transport, etc... dépendent de la structure des interfaces et surfaces, de la forme et de la taille des objets et des propriétés magnétiques des matériaux qui les constituent. La détermination de ces caractéristiques nécessite l'utilisation de techniques de mesure locale des propriétés magnétiques à l'échelle du nanomètre. La microscopie électronique en transmission est devenue un outil essentiel pour étudier de telles nanostructures que ce soit dans ses modes d'imagerie ou de spectroscopie. Parmi ceux-ci, l'holographie électronique permet d'obtenir une cartographie quantitative des champs magnétiques et électrostatique locaux à l'intérieur de l'échantillon et des champs de fuites à l'extérieur des objets avec une résolution actuellement de l'ordre de quelques nanomètres. Nous illustrerons les potentialités de cette méthode en étudiant les configurations magnétiques de nanocubes Fe de 30 nm, isolés et couplés (figure 1) [1]. Nous présentons également des résultats d'holographie électronique obtenus sur des jonctions tunnel magnétiques " Fe/MgO/Fe " dans lesquelles les couches de Fe sont couplées antiferromagnétiquement [2].

[1] E. Snoeck et al., Nano Lett., pp 4293–4298, 8, (2008)

[2] E. Snoeck et al., J. Phys. : Condens. Matter 055219, 20, (2008)



Configuration magnétique d'un nanocube de fer isolé : (a) Image MET montrant la structure CC du nanocube et l'apparition d'une couche externe d'oxyde de fer, (b) Image de phase correspondant à la contribution magnétique (isophase de 0.05 rad). Notez la symétrie cylindrique des lignes de flux. (c) Cartographie des composantes "in-plane" de l'induction magnétique mettant en évidence un état vortex, (d) Simulation micro magnétique de l'induction.

Nanostructures of carbon nanotubes and metal particles generated by in-situ electron microscopy

J.A. Rodriguez-Manzo¹, F. Banhart¹

¹ Institut de Physique et Chimie des Matériaux

In a TEM an electron probe with a diameter ranging from the micron to the Angstrom scale can be used to image and irradiate samples with high beam current density. The intense irradiation can induce structural changes in the sample on the scale of the beam diameter. Moreover, modifications produced in such a way can be simultaneously recorded with high spatial resolution while electron irradiation takes place. This provides us with a powerful tool for the analysis of material transformations under electron irradiation.

This approach has been applied to study electron irradiation-induced transformations of carbon nanotubes in the presence of metal nanoparticles. Imaging and irradiation were carried out with a field emission TEM/STEM (JEOL 2100F, operated at 200 kV) with a Cs-corrected illumination system.

The possibility to weld different carbon nanotubes such as to form multi-branch junctions by using a metal particle as the soldering material will be shown. This was achieved by in-situ electron irradiation of crossing nanotubes with a metal particle at the crossing point. High resolution STEM images of nanotube junctions and the process by which the junctions form will be shown. Furthermore, metal-carbon nanocomposites allow us the study of single-wall carbon nanotube growth in-situ. By applying electron irradiation to carbon-saturated metal nanoparticles, a reduction of the particle diameter can be induced. The reduction in size is accompanied by a supersaturation of the metal particles with carbon until nanotube growth from the metal particle occurs. This allows us, for the first time, to monitor the nucleation and growth of single-wall carbon nanotubes with almost atomic resolution.

Structure determination of a brownmillerite $\text{Ca}_2\text{Co}_2\text{O}_5$ thin film by Precession Electron Diffraction

V. Dorcet¹, P. Boullay¹, O. Perez¹, C. Grygiel¹, W. Prellier¹, B. Mercey¹, M. Hervieu¹

¹ Laboratoire CRISMAT, UMR 6508 CNRS/ENSICAEN, 6 Bd Maréchal Juin, 14050 Caen Cedex 4, France

By coupling imaging and analytical capabilities, modern transmission electron microscopes (TEM) afford a unique aptitude for studying materials at a nanometric scale. In terms of structure determination by electron diffraction, several groups have contributed to the field (see [1] as a review) since the pioneering work of B.K. Vainshtein et al [2]. Nonetheless, the strong electron-matter interaction, implying to consider the dynamic theory, has limited the development in materials science laboratories of the structural resolution based on electron diffraction data only. In the Precession Electron Diffraction (PED) method [3], the incident electron beam is rotated along a cone surface, whose axis is the optical axis of the microscope and the vertex is the point of beam incidence on the sample. This diffraction geometry allows integrating the diffracted intensities rods and enlarges the limit resolution while limiting the dynamical scattering effects. Electron diffraction is the only diffraction method available for ab-initio structure determination of materials with a small diffracting volume. In this respect, we decided to use the PED technique for the structure determination of a metastable phase deposited in the form of a thin film where the data collection is particularly challenging due to the contribution of the substrate and the specific configuration of the sample.

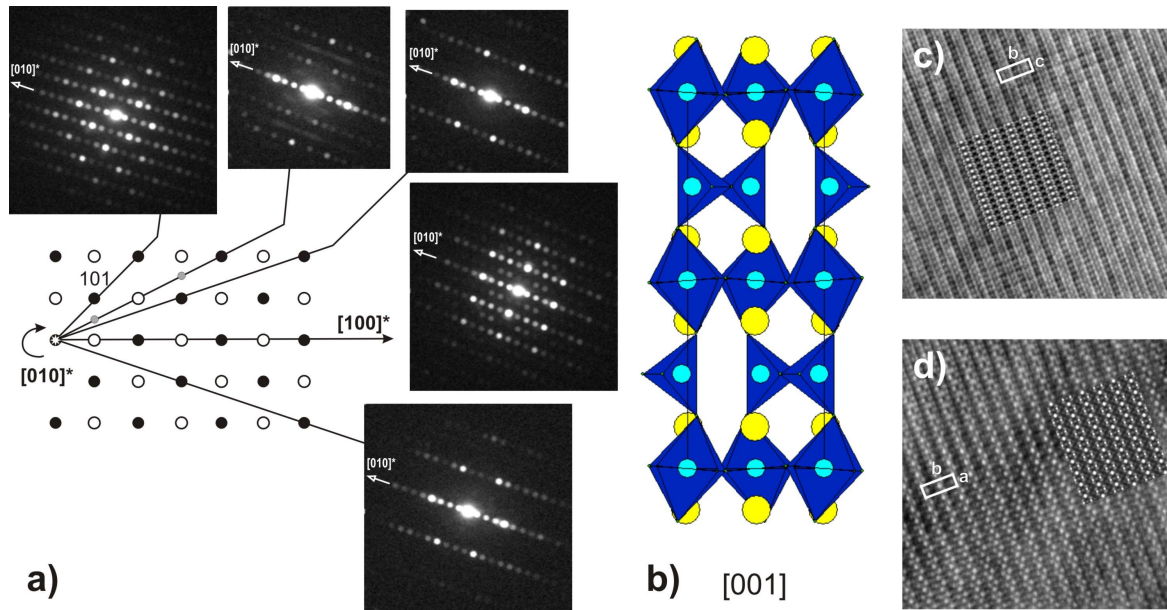
Calcium cobaltite thin films with a ratio $\text{Ca}/\text{Co}=1$ were grown on (101)- NdGaO_3 substrate by the pulsed laser deposition technique. The structure of the deposited metastable phase is solved by direct methods (SIR2008 [4]) using a precession electron diffraction 3D dataset recorded from a cross-sectional sample. Based on this structure, HREM image simulations are performed and compared with the experimental images. It is shown that an ordered oxygen-deficient $\text{Ca}_2\text{Co}_2\text{O}_5$ perovskite of the brownmillerite-type with lattice parameters $a \approx c \approx a_p \sqrt{2} \approx 0.546\text{nm}$ and $b \approx 4a_p \approx 1.488\text{nm}$ (SG : $\text{Ibm}2$) has been stabilized using the substrate induced strain. Finally the impossibility to refine the model obtained by direct methods is discussed and attributed both to the sparseness of the dataset and the dynamical scattering effects still present in our data extracted from low indexes zone axis PED patterns.

[1] D.L. Dorset, S. Hovmöller and X. Zou, *Electron Crystallography*, NATO ASI Series E : Applied Sciences vol. 347, Kluwer Academic Publishers (1997)

[2] B.K. Vainshtein, *Structure analysis by electron diffraction*. Pergamon Press (1964)

[3] R. Vincent and P.A. Midgley, *Ultramicroscopy*, 271 , 53 (1994)

[4] M.C. Burla, M. Camalli, B. Carrozzini, G.L. Cascarano, C. Giacovazzo, G Polidori and R. Spagna, *J. Appl. Cryst.*, 1103 , 36 (2003)



a) these images are obtained by the scanning of the PED patterns on our point detector electrometer. The intensities present on these five sections of the reciprocal space have been extracted for the structure determination using direct methods. b) a brownmillerite-type structure is obtained. HREM image simulations based on the structural model are superimposed ($\Delta f = -20\text{nm}$, $t = 6\text{nm}$) to the experimental images for the orientations c) [100] and d) [001].

Nanostructures 1D, 2D, 3D de palladium induites par radiolyse : application à l'électro-oxydation de l'éthanol

P. Beaunier¹, F. Ksar², G. Surendran², L. Ramos³, B. Keita², L. Nadjo², H. Remita²

¹ Laboratoire de Réactivité de Surface, UMR 7197-CNRS, Univ. Paris 6, 75252 Paris Cedex 05

² Laboratoire de Chimie Physique, UMR 8000-CNRS, Univ. Paris 11, 91405 Orsay

³ Laboratoire des Colloïdes, Verres et Nanomatériaux, UMR 5587-CNRS, Univ. Montpellier 2, 34095 Montpellier Cedex 05

Les propriétés (catalytiques, électriques, optiques ou magnétiques) des métaux ultra-divisés sont différentes du métal massif et sont influencées par la forme et la morphologie des nanomatériaux. La radiolyse est une méthode extrêmement favorable à la synthèse de nanoparticules par la réduction d'ions métalliques en atomes naissants qui subissent une nucléation contrôlée. Le palladium est un métal très utilisé en catalyse et électro-catalyse. Nous avons synthétisé par radiolyse des nano-objets de Pd de morphologies originales tels que des nanofils, nanoballes poreuses, feuillets de Pd.[1-4]

La réduction de l'acétylacétonate de Pd dans le 2-propanol sous irradiation douce (radiolyse à faible débit de dose) et sous atmosphère de CO a mené à la formation de feuillets hexagonaux (50-100 nm) d'où émergent des nanofils de 2 nm de diamètre.[1] La réduction du palladium en milieu micellaire à faible débit de dose a mené à la formation de nanostructures poreuses 3D de Pd en forme d'oursins de 30-50 nm de diamètre. La METHR a mis en évidence que les nanopointes étaient le résultat de l'assemblage de nanoparticules polycristallines désorientées de 2 nm. Des mésophases (hexagonales ou lamellaires) peuvent être utilisées comme matrices de confinement orientant la topologie du réseau inorganique.[2] Nous avons montré qu'une réduction rapide (par électrons accélérés) du dichloro-tetraamine de Pd 0,1M dans le système (eau-CTAB-pentanol-cyclohexane) conduit à la formation de nanofils de 4 nm de diamètre et de longueur modulable (30 à 200 nm).[3] La METHR montre qu'ils sont polycristallins. Par contre, une irradiation plus douce (radiolyse gamma) menée sur une durée de 20 heures conduit à la formation de nanoballes poreuses de 80-100 nm de diamètre constituées de nanofils polycristallins (3,5 nm de diamètre) interconnectés entre eux pour former un réseau d'alvéoles hexagonales d'ouverture de 10-12 nm.[4]

Les nanofils de Pd présentent une activité électro-catalytique élevée pour l'oxydation de l'éthanol (application aux piles à combustible) et une réponse électro-catalytique stable sur des centaines de cycles.[3]

[1] T. Redjala, G. Apostolescu, P. Beaunier, M. Mostafavi, A. Etcheberry, C. Thomazeau, D. Uzio, E. Prouzet, H. Remita, *New J. Chem.* 1403-1408, 32, (2008)

[2] G. Surendran, E. Pena dos Santos, M. S. Tokumoto, H. Remita, L. Ramos, P. J. Kooyman, C. S. Santilly, C. Bourgaux, P. Dieudonné, E. Prouzet, *Chem. Mater.*, 1505-1514, 17, (2005)

[3] F. Ksar, G. Surendran, L. Ramos, B. Keita, L. Nadjo, E. Prouzet, P. Beaunier, P. Dieudonné, F. Audonnet, H. Remita, *Chem. Mater.*, Sous presse

[4] G. Surendran, F. Ksar, L. Ramos, B. Keita, L. Nadjo, E. Prouzet, P. Beaunier, P. Dieudonné, F. Audonnet, H. Remita, *J. Phys. Chem. C*, 10740-10744, 112, (2008)

Silices poreuses SBA-15 et dérivés du cobalt pour l'obtention de catalyseurs pour la catalyse hétérogène et l'environnement

P. Beaumier¹, D. Brouri¹, S. Casale¹, P. Da Costa¹, A. Davidson¹, N. El Hassan¹, P. Massiani¹, J. Van der Meer²

¹ Laboratoire de Réactivité de Surface, UPMC - UMR 7197 - CNRS, Paris

² UMR 5257 ICMS CNRS, CEA Marcoule

Les silices poreuses de type SBA-15 sont des gabarits ou moules solides intéressants pour obtenir des nanoparticules (NPs) pour quatre raisons : 1) leurs pores principaux sont ordonnés et leur taille peut être continuellement ajustée dans des conditions de synthèse simples à mettre en oeuvre[1], 2) leur important volume poreux permet à priori de disperser de grande quantité de particules, 3) les parois siliciques sont épaisses et traversées de pores désordonnés qui peuvent conduire à la cristallisation de ponts solides entre les particules, ce qui leur confère une stabilité accrue[2], 4) des traitements thermiques visant à contrôler les défauts structuraux peuvent être appliqués sur des particules dispersées dans de la silice sans risque de frittage. Les nanoparticules dérivées du cobalt (oxyde comme métal) sont quant à elles intéressantes pour leurs propriétés physiques (magnétisme) mais aussi chimiques, en particulier en catalyse hétérogène, pour la réduction des oxydes d'azote, l'oxydation de CO à basse température et les synthèses de Fischer Tropsch.[3] En utilisant la méthode à deux solvants, nous avons préparé des nanoparticules d'oxyde de cobalt confinées dans la porosité de différentes silices poreuses (de porosité et d'épaisseur de parois variables) ordonnées de type SBA-15 (architecture 2D hexagonale). La silice calcinée est d'abord mise en suspension dans un solvant organique pour chasser parfaitement les bulles d'air occluses dans les pores puis imprégnée par une solution aqueuse de nitrate de cobalt. Après calcination sous air (450°C - 0,5°C/min) le nitrate est transformé en oxyde. Les traitements thermiques ont été poursuivis jusqu'à 700°C pour jouer sur la cristallinité des particules d'oxyde formées.

Les images MET et METHR réalisées sur des coupes microtomiques (épaisseur 70 nm) nous ont permis de vérifier l'état de dispersion des NPs d'oxyde de type spinelle (Co_3O_4 et Co_2SiO_4) dans la porosité principale des grains de silice et confirmer la stabilité de leur architecture.[4,5] L'ordre entre les pores a été en parallèle vérifié de façon statistique par SAXS tandis que le volume poreux restant accessible après dépôt du cobalt et activation thermique a été systématiquement mesuré par physisorption d'azote. Nous avons constaté que la nature du co-solvant organique a une influence sur la dispersion et la forme des NPs. L'emploi de cyclohexane conduit à la formation d'agrégats de particules ayant cristallisé dans des mésopores voisins et connectées par des jonctions solides. Le même domaine cristallin s'observe sur plusieurs nanoparticules adjacentes. Des images METHR révèlent de plus une cristallisation préférentielle, les plans (400) des particules de Co_3O_4 sont parallèles aux parois siliciques. Des agrégats de grande dimension (jusqu'à 400 nm de long pour 200 nm de large, soit plusieurs dizaines de nanoparticules voisines) sont observés. L'usage du pentane, plus volatil, donne une meilleure dispersion. Les agrégats formés sont plus petits et recouvrent 3-5 nanoparticules voisines. Dans ce cas, la longueur des nanofils excède rarement 50 nm. Des particules métalliques sont suspectées de s'être formées également au coeur des parois siliciques au vu des mesures SAXS mais n'ont pas encore pu être mises en évidence par MET, sans doute à cause de leur fragilité et de leur oxydation lors du stockage des échantillons à l'air. De plus, lors de traitements thermiques des transformations chimiques sont observées. Après activation à 700°C,

la surface externe de certains grains de silice se couvre de particules de forme caractéristique, plate et hexagonale. Sur la base de mesures XPS et de diagrammes SAED, une attribution à un oxyde de type $\gamma - Co_2O_3$ isostructural de la maghémite a été proposée mais reste encore à être confirmée.

Les propriétés catalytiques de nos échantillons ont été suivies pour l'oxydation de CO [6] à basse température, en hydrogénation du α,β cinnamaldéhyde et pour l'activation du méthane en présence de dioxyde d'azote. Dans les trois cas des activités et sélectivités inhabituelles ont pu être mises en évidence. Dans le dernier cas par exemple, une activation du méthane débutant dès $255^\circ C$ a été observée. La température à laquelle 100 % du NO_2 initial est réduit en NO est localisée autour de $400^\circ C$ et dépend de la taille et de la forme des grains de silice ainsi que de leur degré de condensation.[7]

[1] M. Choi, W. Heo, F. Kleitz, R. Ryoo, Chem. Commun., 1340-1341, (2003)

[2] A-H. Lu, F. Schüth, Adv. Mater., 1793-1805, 18, (2006)

[3] B. Solsona, I. Vasquez, T. Garcia, T. E. Davis, S. H. Taylor, Cat. Lett., 116-121, 116, (2007)

[4] I. Lopes, N. El Hassan, H. Guerba, G. Wallez, A. Davidson, Chem. Mater., 5826-5828, 18, (2006)

[5] J. Van der Meer, I. Bardez, F. Bart, P6A. Albouy, G. Wallez, A. Davidson, Microporous Mesoporous Mat., 183-188, 118, (2009)

[6] I. Lopes, A. Davidson, C. Thomas, Catal. Commun., 2105-2109, 8, (2007)

[7] N. El Hassan, A. Davidson, P. Da Costa, G. Djéga-Mariadassou, Catal. Today, 191-196, 137, (2008)

Etude de boîtes quantiques GaN sur (Al_{0.5}Ga_{0.5})N : microstructure des barrières et morphologie des boîtes quantiques

M. Korytov ^{1,2}, M. Benaïssa ³, J. Brault ¹, T. Huault ^{1,4}, T. Neisius ⁵, P. Vennégues ¹

¹ CRHEA-CNRS, Rue Bernard Grégory, Sophia Antipolis, 06560 Valbonne, France

² University of Nice Sophia-Antipolis, Parc Valrose, 06103 Nice, France

³ CNRST, angle Allal-Fassi / FAR, Madinat al-irfane, 10000 Rabat, Morocco

⁴ RIBER S.A., 31 rue Casimir Périer, BP 70083, 95873 Bezons Cedex, France

⁵ CP2M, Faculté Saint Jérôme, 13397 Marseille Cedex 20, France

AlN et GaN sont des composants essentiels pour le développement de dispositifs optoélectroniques travaillant dans la gamme spectrale ultraviolette. A cause de l'absence de substrat adapté, les couches de ces matériaux renferment une forte densité de dislocations. Ces dislocations agissant comme des centres de recombinaisons non radiatives, elles réduisent, donc, l'efficacité de l'émission optique. L'emploi de boîtes quantiques (BQs) dans la zone active peut être une approche pour atténuer ce type de pertes non-radiatives [1].

Jusqu'à présent la plupart des BQs GaN ont été réalisées sur des couches d'AlN, car le désaccord paramétrique (2.4%) est favorable à la formation de BQs. Par contre, l'AlN est très difficile à doper ce qui limite son utilisation pour des composants nécessitant une injection électrique des porteurs. Par contre, l'alliage Al_{0.5}Ga_{0.5}N peut être fortement dopé jusqu'à une concentration de trou supérieure à 10^{17}cm^{-3} [2] et une concentration d'électrons de 10^{19}cm^{-3} [3]. La compréhension des spécificités morphologiques et microstructurales d'un tel système devient donc de haute importance. Ce travail se concentre sur l'étude par microscopie électronique en transmission (MET) des BQs de GaN déposées sur Al_{0.5}Ga_{0.5}N.

La couche initiale d'Al_{0.5}Ga_{0.5}N a été déposée sur la surface (0001) du saphir par épitaxie par jets moléculaires en utilisant l'ammoniaque comme source d'azote. Le dépôt de la couche de GaN a été fait à 800° C et il est resté bidimensionnel. La formation des BQs se fait sous arrêt de croissance selon un mécanisme induit par la contrainte de type Stranski-Krastanow [4]. Dans le cas du système GaN/Al_{0.5}Ga_{0.5}N, l'épaisseur critique est de 6 monocouches atomiques (MCs) [4].

Une première série d'échantillons contenant 3 plans de BQs enterrées séparés par des barrières de 30 nm d'AlGaIn et un plan de BQs superficielles a été étudiée. Les échantillons diffèrent par l'épaisseur nominale de GaN déposée : 8, 12 et 16 MCs. Une seconde série d'échantillons à différentes étapes de recouvrement des BQs par l'Al_{0.5}Ga_{0.5}N est en cours d'investigation pour éclaircir les origines des phénomènes originaux observés dans la 1^o série.

Pour analyser la microstructure des échantillons, différentes techniques de microscopie électronique ont été utilisées. La microscopie haute résolution (HRMET) permet de déterminer la forme et la taille des BQs. De plus, en utilisant la méthode d'Analyse de Phase Géométrique (GPA) [5], les cartes de déformation autour des BQs ont été calculées. Pour obtenir des informations sur les compositions chimiques les échantillons ont également été étudiées par la technique High Angular Annular Dark Field (HAADF) en mode Scanning Transmission Electron Microscopy.

CHANGEMENT DE FORME : Les premiers résultats concernent l'évolution de la morphologie de BQs. Dans la 1^o série d'échantillons la forme des BQs superficielles est pyramidale si l'épaisseur de GaN déposée est de 8 et 12 MCs, mais elle devient tronquée dans le cas de 16

MCs. Toutefois les BQs enterrées ont toujours une forme pyramidale tronquée quelle que soit l'épaisseur nominale de GaN.

AUGMENTATION DE VOLUME : Un autre résultat surprenant concerne la comparaison des volumes de BQs superficielles et enterrées. Pour chaque échantillon nous avons calculé le volume moyen et il est toujours plus grand pour les BQs enterrées que pour celles de surface.

SEPARATION DE PHASE : Nous observons également, pour tous les échantillons, un contraste caractéristique autour des BQs enterrées (Fig. a). Pour comprendre l'origine de ces contrastes, nous avons mené l'analyse des déformations dans la région autour des BQs enterrées. La carte de déformation présentée sur la Fig. b reflète la présence d'une zone de déformation négative au-dessus de chaque BQ, ainsi qu'une zone de déformation positive entre elles. L'étude HAADF indique que cette variation de déformation est rattachée à une séparation de phase dans les barrières $\text{Al}_{0.5}\text{Ga}_{0.5}\text{N}$. Une région riche en Al existe au-dessus des BQs alors qu'une région riche en Ga existe entre les BQs.

Les données expérimentales vont être complétées par des observations effectuées sur des microscopes équipés de correcteur d'aberration (projet METSA en cours).

Dans cette présentation, différentes hypothèses (interdiffusion, transport de masse...) pouvant expliquer les phénomènes observés seront discutées.

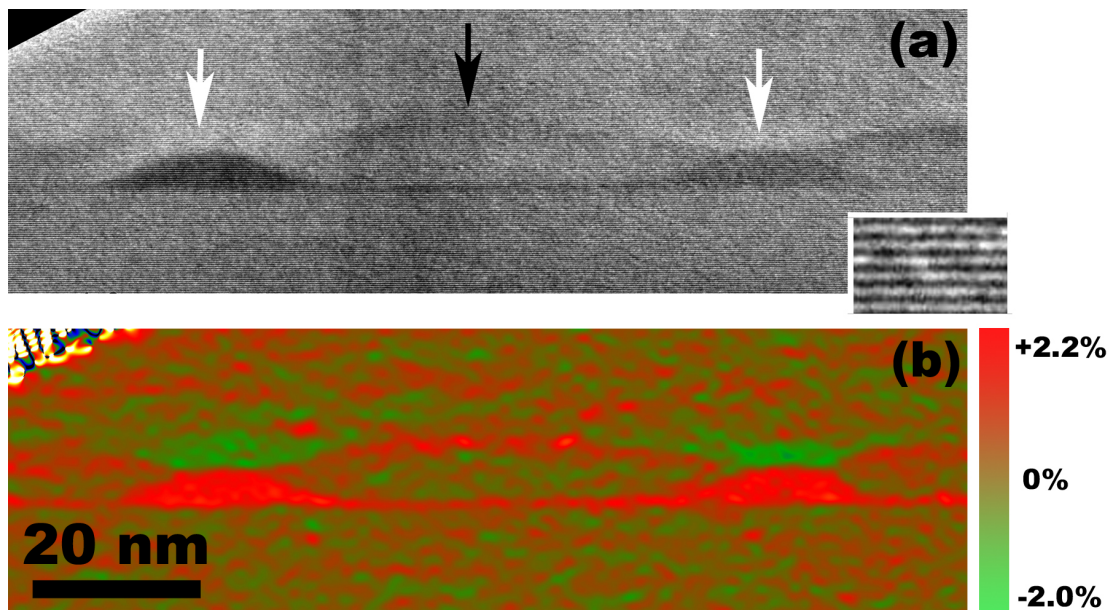
[1] J. M. Gerard, O. Cabrol, and B. Sermage, Appl. Phys. Lett. 68, 3123 (1996)

[2] S.-R. Jeon, Z. Ren, G. Cui, J. Su, M. Gherasimova, J. Hana, H.-K. Cho, and L. Zhou, Appl. Phys. Lett. 86, 082107 (2005)

[3] B. Borisov, V. Kuryatkov, Yu. Kudryavtsev, R. Asomoza, S. Nikishin, D. Y. Song, M. Holtz, and H. Temkin, Appl. Phys. Lett. 87, 132106 (2005)

[4] T. Huault, J. Brault, F. Natali, B. Damilano, D. Lefebvre, L. Nguyen, M. Leroux and J. Massies, Appl. Phys. Lett. 92, 051911 (2008)

[5] M. J. Hÿtch, E. Snoek and R. Kilaas, Ultramicroscopy 74, 131-146 (1998)



(a) Image HRTEM des BQs enterrées; les flèches indiquent un contraste caractéristique. L'encart est un agrandissement de cette image où l'on voit les plans atomiques (0002). And (b) carte de déformation correspondante.

Nanoparticules de ferrites de cobalt pour la catalyse

L. Ajroudi ^{1,2}, S. Villain ¹, V. Madigou ¹, N. Mliki ², Ch. Leroux ¹

¹ IM2NP (UMR-CNRS 6242), Université du Sud Toulon-Var

² LMOP, Département de Physique, Faculté des Sciences de Tunis

Résumé – Des nanoparticules de ferrite de cobalt ($\text{Co}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$) ont été élaborées par voie chimique non aqueuse, pour différentes compositions, x variant entre 0.6 et 1.8 (0.6, 1, 1.2, et 1.8). Les nanoparticules ont été caractérisées par diffraction de rayons X, par TEM, HREM, et leur activité catalytique en présence de CH_4 testées. Une étude statistique de la taille des particules a été réalisée. Celle ci varie entre 4.5 et 7.5 nm, en fonction de la concentration en cobalt et de la quantité initiale de précurseur. La morphologie des particules est également influencée par ces paramètres.

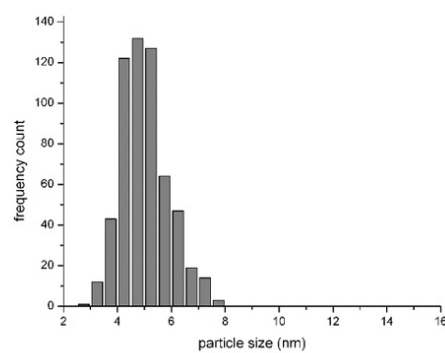
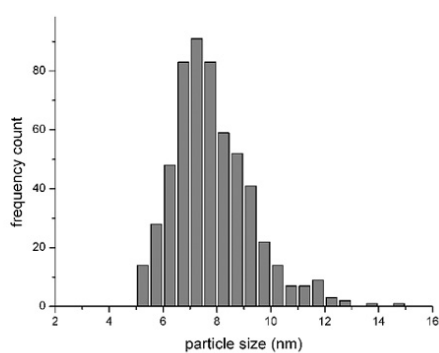
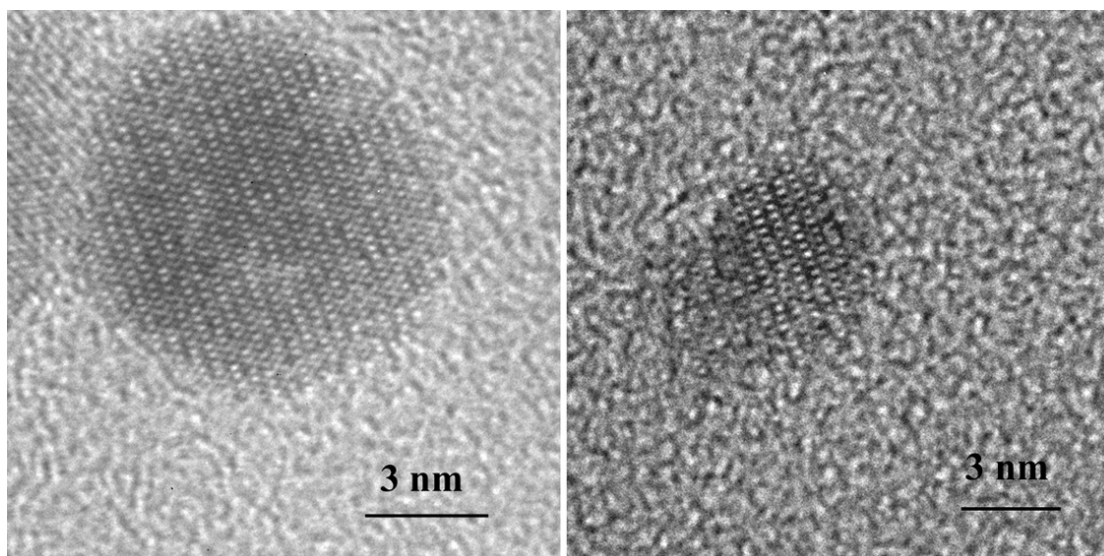
Introduction. Les matériaux à base de ferrites présentent de nombreux domaines d'applications, liés à leurs propriétés magnétiques originales et leur faible coût de production, comme l'enregistrement magnéto-optique, les ferrofluides, les biocapteurs. Récemment, des ferrites de nickel ont montré une activité catalytique [1] en présence de gaz réducteurs comme le CH_4 et le CO, ouvrant ainsi un nouveau champ d'application.

Elaboration des nanoparticules. Les nanoparticules de ferrite de cobalt ont été élaborées en adaptant une méthode de synthèse développée par Pinna [2] : de l'acétylacétonate de fer (III) et du 2,4 pentadionate de cobalt iron (II) ont été placés en solution dans de l'alcool benzylique, avec différentes proportions de précurseurs, afin de faire varier la composition, et pour différentes quantités totales de précurseurs. La solution est placée dans un autoclave, et chauffée pendant deux jours à 175°C. Après refroidissement, la suspension obtenue est systématiquement rincée avec de l'éthanol et du dichlorométhane, puis centrifugée, à plusieurs reprises. Ceci permet une décantation des nanoparticules. Un séchage final à l'étuve permet de récupérer la poudre.

Caractérisation. La morphologie, la taille des nanoparticules, ainsi que leur dispersion, varie avec la concentration en cobalt, et avec la quantité initiale de précurseurs. La figure 1 montre l'influence de la concentration en cobalt. Les particules ont des formes sphériques pour une faible concentration ($x=0.6$) alors que pour une forte concentration ($x=1.8$), les formes sont très irrégulières. La taille moyenne des particules est de 7.5 nm pour $x=0.6$, alors qu'elle n'est que de 4.5 nm pour $x=1.8$. La distribution en taille est aussi plus importante pour de faibles concentrations de cobalt. Pour $x=1$ et $x=1.2$, la morphologie des particules est similaire à celle obtenue pour $x=0.6$ et des tailles autour de 7 nm. Pour une même concentration, une quantité totale de précurseur plus importante amène à des tailles de particules légèrement inférieures, mais aussi à un phénomène de coalescence. Ceci s'explique simplement par une plus grande proximité dans la suspension des germes de nanoparticules (effet de confinement).

[1] D. Fino, S. Solaro, N. Russo, G. Saracco, V. Specchia, Topics in Catalysis 454, 42, (2007)

[2] N. Pinna, S. Grancharov, P. Beato, P. Bonville, M. Antonietti and M. Niederberger, Chem. Mater. 3044, 17 (2005).



Images haute résolution de nanoparticules de ferrites de cobalt $Co_xFe_{3-x}O_4$ avec leur distribution en taille. à gauche, particules correspondant à $x=0.6$, à droite $x=1.8$

Light ion irradiation of FePt nanoparticles

O. Plantevin ¹, A. Gentils ¹, B. Décamps ¹, F. Fortuna ¹, A. Delattre ^{2,3}, V. Monnier ³, P. Reiss ³, Y. Samson ²

¹ CSNSM, CNRS-IN2P3-Université Paris-Sud 11, Bât. 108, 91405 Orsay Campus, France

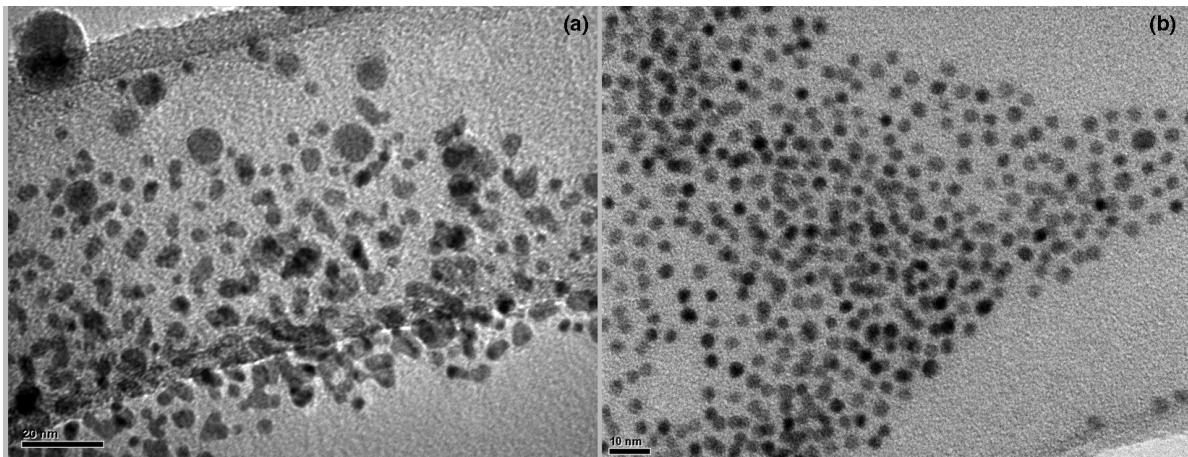
² Institut Nanosciences et Cryogénie INAC / SP2M / NM, CEA Grenoble, 38054 Grenoble Cedex 09, France

³ Institut Nanosciences et Cryogénie INAC /SPrAM /LEMOH, CEA Grenoble, 38054 Grenoble Cedex 09, France

We explored in this work the possibility to optimize, using light ion irradiation, the structure and magnetic anisotropy of FePt alloy nanoparticles. Two types of nanoparticles were studied, obtained following two different synthesis routes, both based on wet chemistry methodology. Particularly, a new synthesis route leading to more homogeneous particles ("nitrile type synthesis") has been developed [1]. Contrary to the particles obtained following the classical wet chemistry synthesis route ("Sun type"), which are "core-shell" type with an iron enriched surface, these particles do not coalesce up to high helium ion irradiation dose (see TEM images below). Squid measurements of the magnetic properties indicate an increase of the superparamagnetic blocking temperature (which is proportional to the magneto-crystalline anisotropy). A partial ordering is probably present in these "nitrile type" particles. It is noticeable that the effect of ion irradiation upon nanoparticles is relatively weak regarding the expected effect, and by comparison with the spectacular effect observed with thin continuous films [2].

[1] V. Monnier, M. Delalande, P. Bayle-Guillemaud, Y. Samson and P. Reiss, *Small* 4, 8 (2008) 1139

[2] H. Bernas, J.-Ph. Attané, K.-H. Heinig, D. Halley, D. Ravelosona, A. Marty, P. Auric, C. Chappert, Y. Samson, *Phys. Rev. Lett.* 91, 7 (2003) 77203



(a) "Core-shell" FePt nanoparticles irradiated with $4 \times 10^{16} \text{ cm}^{-2}$ He ions at $T=350^\circ \text{C}$; (b) "Nitrile type" FePt nanoparticles irradiated with $4 \times 10^{16} \text{ cm}^{-2}$ He ions at $T=350^\circ \text{C}$

Elaboration et caractérisation par SEM, AFM, GISAXS et EIS de nanoparticules de FePt organisées dans des membranes nanostructurées de ZrO₂

D. Lantiat¹, C. Laberty-Robert¹, D. Grosso¹, V. Vivier², C. Sanchez¹

¹ Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée, UMR 7574 CNRS, UPMC Collège de France, 11 place Marcelin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05

² Laboratoire Interfaces et Systèmes Electrochimiques, UPR 15 CNRS, 4 place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05

L'intérêt porté à l'étude de nano-objets magnétiques n'a cessé de croître, du fait notamment des applications en stockage d'information à très haute densité (régime du Tbit/in²). En particulier, le contrôle des propriétés magnétiques de nanoparticules métalliques et la possibilité de les modifier restent un challenge particulièrement important que tentent de relever nombre de scientifiques [1]. Parmi les différentes techniques d'élaboration de nano-objets magnétiques, la croissance organisée de nanoparticules sur des substrats pré-structurés a été identifiée comme une approche favorable. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'élaboration de particules de FePt organisées dans des membranes d'oxydes nanoporeuses. Dans un premier temps, nous montrerons que des matrices sous la forme de réseaux périodiques de pores nanométriques peuvent être synthétisées par voie chimique à partir d'une méthode « sol-gel » [2,3]. Des analyses structurales quantitatives menées par microscopie électronique à balayage à émission de champ (FE-SEM) (fig. 1a) et microscopie à force atomique (AFM) font apparaître des pores nanométriques monodisperses organisés de manière hexagonale à courte distance. Egalement, des expériences de diffusion centrale des rayons X en incidence rasante (GISAXS) (fig. 1c) mettent en évidence un haut degré d'ordre de ces systèmes, avec une répartition homogène des structures sur toute la surface. L'accessibilité du substrat à travers la membrane a pu être mise en évidence par voltammétrie cyclique (CV) et les propriétés électrochimiques sont étudiées par spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS). Dans un second temps, nous avons utilisé l'accessibilité au substrat afin de remplir les pores par dépôt électrolytique pulsé. Nous montrerons qu'il est alors possible de contrôler la croissance de particules de FePt au sein des pores (fig.1b), et par conséquent d'élaborer des systèmes organisés de nanoparticules métalliques. Des études sont actuellement en cours afin d'étudier les propriétés magnétiques des particules. D'autres méthodes de préparation sont également considérées, comme la synthèse de particules pré-formées en solution. Enfin, différentes structurations de surface sont envisagées avec une approche « top-down » et « bottom-up ». Ce travail est mené dans le cadre d'un projet européen « TERAMAGSTOR ».

[1] S. Sun et al., Science 287, 1989 (2000).

[2] M. Kuemmel et al., Chem. Mater. 19, 3717-3725 (2007).

[3] C. Laberty-Robert et al., J. Mater. Chem. 18, 1216-1221 (2008).

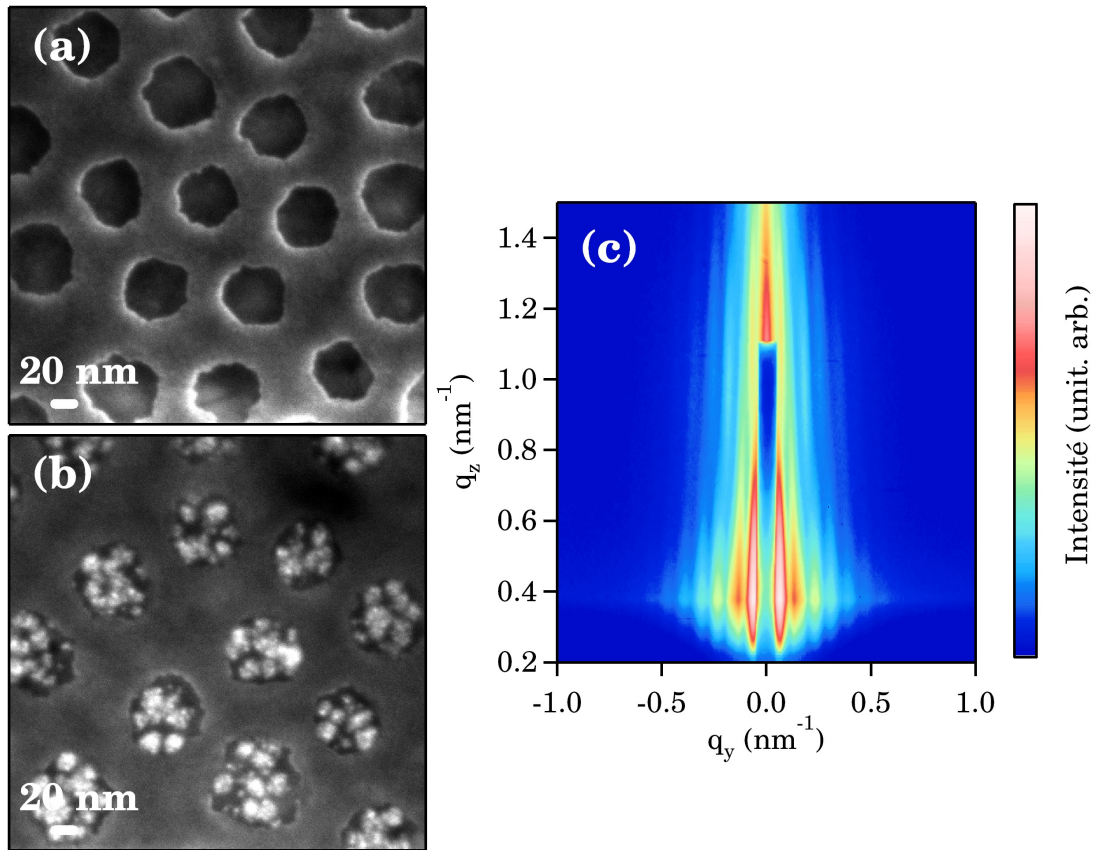


Figure 1 : (a) Image FE-SEM en vue plane d'une membrane nanoporeuse de ZrO_2 déposée sur un substrat d'or. (b) Nanoparticules FePt électrodéposées dans les pores. (c) Cliché GISAXS d'un réseau ordonné de nanopores.

Caractérisation structurale d'un complexe formé par l'insertion d'un colorant organique dans une matrice inorganique poreuse

C. Lepoittevin¹, C. Dejoie¹, E. Dooryhée¹, P. Martinetto¹, H. Klein¹, M. Bacia¹, M. Anne¹

¹ Institut NEEL, CNRS et Université Joseph Fourier, 25 Av. des Martyrs, 38042 Grenoble Cedex 9, France

Le pigment "Bleu Maya", présent sur de nombreuses fresques et objets décorés de Méso-Amérique, est le plus ancien hybride conçu par l'homme [1]. Compte tenu de son exceptionnelle résistance aux conditions extrêmes, telles que l'attaque par des minéraux acides, oxydants, réducteurs ou la biocorrosion, ce pigment suscite l'intérêt dans le domaine scientifique depuis plus de 40 ans [2]. Sa durabilité dans le temps et son impressionnante stabilité résulterait d'un piégeage définitif d'une molécule organique appelée "indigo" dans les canaux d'une matrice argileuse.

A partir de ce constat, des synthèses de nouveaux hybrides colorés conférant une stabilité similaire au "Bleu Maya" ont été tentées par insertion de la molécule d'indigo dans différentes matrices inorganiques. Un candidat excellent est la zéolithe MFI dont la taille et la disposition des canaux permettent de capturer et de retenir la molécule d'indigo, créant ainsi un complexe de stabilité analogue à celle du "Bleu Maya".

L'étude structurale du complexe zéolithe-indigo sous forme de poudre ou monocristaux a été effectuée par le couplage de la spectroscopie Raman, la diffusion quasi-élastique des neutrons et la diffraction des rayons X, en vue d'aborder un modèle structural de la matrice et de sa molécule hôte. Cependant, la présence de macles dans les monocristaux et l'hétérogénéité de la poudre, via la présence de deux phases orthorhombique et monoclinique, rendent cette caractérisation structurale délicate. L'origine de ces deux phases dans les échantillons sous forme de poudre réside dans le fait que la zéolithe MFI, cristallisant à température ambiante dans un système monoclinique dont l'angle bêta est très proche de 90 °, transite de manière réversible dans un système orthorhombique, de paramètres de maille quasiment identiques à ceux du système monoclinique, lorsqu'elle est portée à 70 °C [3]. L'insertion des molécules d'indigo dans les canaux lors du processus de synthèse effectué vers 200 °C, se réalise de telle façon qu'elle "fige" l'état orthorhombique, empêchant de revenir à l'état monoclinique lors de la descente en température vers l'ambiante. La microscopie électronique en transmission se révèle alors être un outil de caractérisation structurale complémentaire puisqu'elle permet de travailler localement sur chaque particule individuelle.

Nous exposerons les résultats obtenus lors de l'étude de ce complexe sous forme de monocristaux et de poudre par la diffraction électronique en sélection d'aires (SAED) et en précession (PED). Le travail en précession des électrons est indispensable pour discerner les particules en phase monoclinique de celles en phase orthorhombique puisque la différence réside uniquement en des faibles variations d'intensités des taches de diffraction sur les axes de zones des deux phases, ce qui est strictement impossible à observer en mode SAED. De plus, l'étude sur des monocristaux préalablement orientés a permis d'enregistrer et de travailler sur des clichés de diffraction électronique suivant des directions impossibles à observer sur les échantillons sous forme de poudre puisque, la géométrie particulière de la zéolithe, avec ou sans molécule d'indigo, engendre une orientation préférentielle des particules.

[1] C. Sanchez, B. Julian, P. Belleville, M. Popall. *J. Materials Chem.* 15,3559 (2005)

[2] G. Chiari, R. Giustetto, J. Druzik, E. Doehne and G. Ricciardi, *Appl. Phys.* A90, 3 (2008)

[3] H. Van Koningsveld, F. Tunistra, H. van Bekkum, J. C. jensen. *Acta Cryst.* B45, 423 (1989)

Insertion of CdSe quantum dots in ZnSe Nanowires

C. Bougerol¹, R. André¹, E. Bellet-Amalric², Y. Genuist¹, K. Kheng², J.P. Poizat¹, S. Tatarenko¹

¹ CEA/CNRS group Nanophysique et semiconducteurs, Institut Néel-CNRS, 25 av. des martyrs, 38042 Grenoble, France

² CEA/CNRS group Nanophysique et semiconducteurs, SP2M-INAC-CEA, 17 av. des martyrs, 38042 Grenoble, France

Introduction

Semiconductor nanowires have attracted much attention in recent years because of their properties and potential use in a variety of technological applications. Two main reasons have motivated our interest for this geometry : (i) Nanowires provide a new way to construct quantum dots, namely as a short slice inserted in a wire, with shape and density very well controlled as compared to the usual technique of "self-organized" epitaxial growth of quantum dots (ii) Nanowires can provide optimum light extraction, by acting as a wave-guide for photons emitted by an inserted quantum dot. This can give rise to a nano-emitter efficient enough to operate as a "singlephoton generator", an essential component in quantum cryptography and quantum computation. As compared to the more extensively investigated III-V QDs, II-VI CdSe/ZnSe QDs are especially interesting, as they can exhibit large exciton binding energies and strong carrier confinements which makes them particularly suitable for operating at high temperature.

MBE growth and microstructure analysis

ZnSe NWs were grown by molecular beam epitaxy (MBE) in the vapour-liquid-solid (VLS) growth mode assisted by gold catalysts [1]. In our first experiments, oxidized Si(001) substrate was used. Promising optical properties were obtained on these samples, with photoluminescence up to 220K [2], however the NWs presented a random distribution of orientation and density. This is why more recently we have used a ZnSe (100) buffer layer epitaxially grown on a GaAs (100) substrate for the NWs growth. Scanning electron microscopy (SEM) images confirm the formation of <110> oriented nanotrenches generated by Au dewetting at 530°C. The gold particles are localized at the extremities of the nanotrenches opening the way to a self controlled localization of the NWs difficult to achieve with a Si substrate. We have studied by SEM the first steps of the NWs formation and the effect of the growth temperature. Nanoneedles (300°C) or nanorods (above 400°C) can be obtained, the diameter of the rods being in the 10 nms range (i.e below the Bohr diameter in ZnSe). Moreover the NWs are <111> oriented relatively to the substrate and follow a direction perpendicular to the nanotrenches. CdSe QDs of different sizes have been inserted in the ZnSe NWs. The largest ones (about 20nm high) have been identified by SEM (backscattering electrons mode) and Energy Dispersive X-ray spectroscopy (EDX). Kinking of the nanowires at the inclusion level is often observed.

The microstructure of the NWs has been studied in detail by High Resolution Transmission Electron Microscopy (HRTEM). The ZnSe NWs adopt the hexagonal wurtzite-type structure with only a few stacking faults and grow along the c-axis. The CdSe inclusions do not present a different contrast from ZnSe on HREM images ; however, even those as small as 1.5nm high (5 Mono Layers), have been identified by analyzing the HRTEM images with the Geometrical Phase Analysis (GPA) method [3] in order to get the interplanar spacing variations along the wire axis. Surprisingly the CdSe inclusions systematically present a cubic zinc-blende arrangement with [111] as the growth axis. Due to the presence of 4 equivalent [111] directions, the

modification in the stacking sequence at the inclusion level can explain the kinking of some NWs. It is worth noting that the NWs structure is opposite to the bulk-form case, where ZnSe and CdSe present a cubic and hexagonal arrangement, respectively.

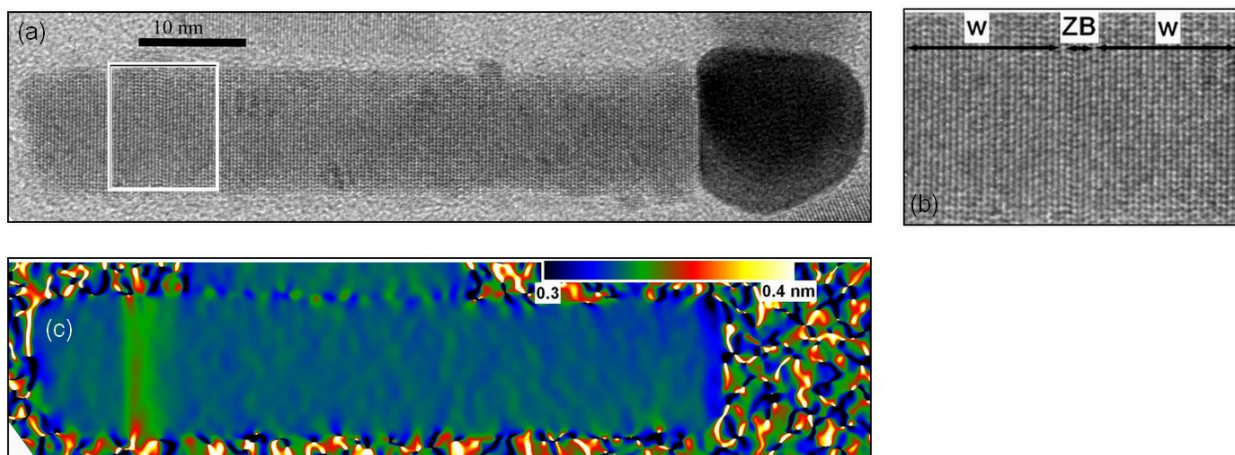
Conclusion

We have grown ZnSe NWs with well localized CdSe inclusions as small as 1.5nm high (5ML) which have been clearly identified by GPA analysis. We have observed a change in the stacking sequence, from wurtzite in ZnSe to cubic zinc-blende in CdSe, which is opposite to the bulk case. Our goal is now to correlate the microstructure and the optical properties of a single nanowire.

[1] Y. Xia, P. Yang, Y. Sun, Y. Wu, B. Mayers, B. Gates, Y. Yin, F. Kim, H. Yan, *Adv. Mater.*, 353, 15, (2003)

[2] A. Tribu, G. Sallen, T. Aichele, R. Andre, J.P. Poizat, C. Bougerol, S. Tatarenko, K. Kheng, *Nano Lett.* 4326, 8, (2008)

[3] M.J. Hÿtch, E. Snoeck, R. Kilaas, *Ultramicroscopy*, 131, 74, (1998)



TEM analysis of a ZnSe nanowire with a CdSe insertion. (a) HRTEM image (b) Zoom of the inset showing the wurzite / zinc blende transition (c) Map of the d-spacing along the growth axis obtained for the same wire according to the GPA method

Particules de CeO₂ de morphologie contrôlée : une voie vers l'optimisation des propriétés d'oxydo-réduction

C. Feral-Martin¹, I. Florea², F. Momprou³, S. Giorgio⁴, C.R. Henry⁴, O. Ersen², M. Tréguer-Delapierre¹, J. Majimel¹

¹ ICMCB/CNRS - Université Bordeaux 1 - 87 avenue du docteur Schweitzer - 33608 PESSAC

² IPCMS/CNRS - Université de Strasbourg - UMR 7504, 23 rue du Loess - 67037 STRASBOURG Cedex

³ CEMES/CNRS - 29 rue J. Marvig - BP 4347 - 31055 TOULOUSE Cedex

⁴ CINaM/CNRS - Aix-Marseille Universités - Campus de Luminy, Case 913 - 13288 MARSEILLE Cedex 9

Lorsque sa dimension nanométrique est atteinte, le dioxyde de cérium – ou cériine CeO₂ – trouve de nombreuses applications dans le domaine de la catalyse hétérogène. Synthétisées de manière conventionnelle par co-précipitation, les particules de cériine présentent une morphologie prismatique exhibant majoritairement des plans {111} et {001} [1]. Cependant, des études théoriques menées en utilisant le formalisme ab-initio étendu de la DFT+U, ont indiqué que les faces cristallographiques {011} et {002} de CeO₂ pouvaient présenter des potentialités intéressantes en termes de réductibilité et de stockage d'oxygène [2,3]. Certains groupes ont ainsi élaboré des particules nanométriques de cériine de morphologies particulières – essentiellement par voie hydrothermale – avec plus ou moins de réussite dans le contrôle de la morphologie de ces particules [4]. Cependant, ce procédé de synthèse hydrothermale présente l'inconvénient majeur de nécessiter des durées de synthèse très longues (plus de 24 heures pour une expérience). Nous avons donc opté pour une voie de synthèse alternative, qui correspond par ailleurs à des exigences de Chimie Verte : la synthèse micro-ondes [5]. En effet, grâce à son mode de chauffage qui produit des élévations de température intenses sur des zones localisées et à la possibilité de mettre sous pression l'enceinte en choisissant bien les solvants utilisés, elle permet d'obtenir des morphologies "hors équilibre" avec des temps de synthèse n'excédant pas l'heure. Des particules nanométriques de CeO₂ ont ainsi été obtenues avec 95% des objets présentant des formes et tailles uniformes. Nous nous intéresserons plus particulièrement ici à la morphologie cubique que nous caractériserons totalement grâce à la combinaison unique de plusieurs techniques spécifiques de la microscopie électronique en transmission (MET). La MET 3D nous permettra dans un premier temps de compléter les observations réalisées en MET haute résolution et nous donnera la nature précise des différents plans cristallographiques présents en surface des particules de cériine. La MET in-situ à chaud sera ensuite utilisée pour déterminer la température maximale au delà de laquelle la particule retournera à sa morphologie thermodynamiquement la plus stable – définissant par là même sa gamme de température d'utilisation. Enfin, la MET environnementale [6] viendra en parfait complément d'expériences d'analyse thermogravimétrique (ATG) de façon à identifier les mécanismes sous-jacents au phénomène d'oxydo-réduction des particules de CeO₂.

[1] D.C. Sayle, X. Feng, Y. Ding, Z.L. Wang, T.X.T. Sayle; Journal of the American Chemical Society; 7924, 129 (2007)

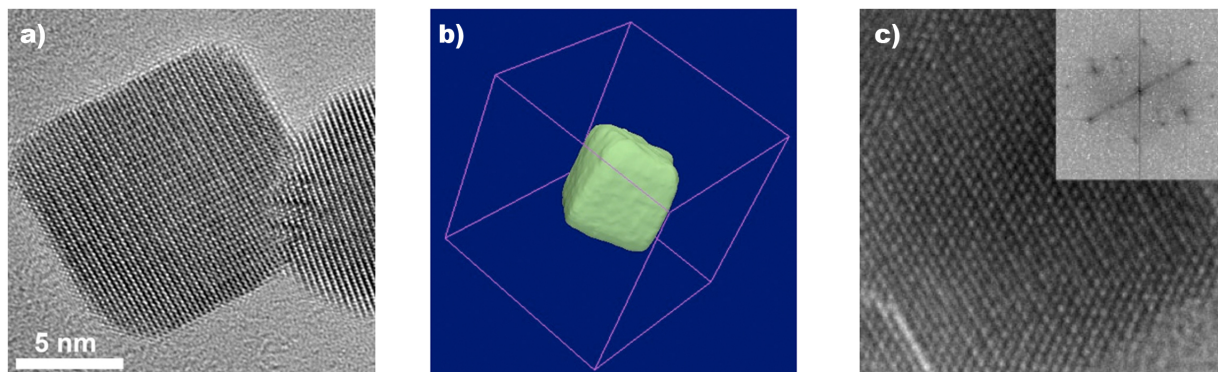
[2] M. Nolan, S. Grigoleit, D.C. Sayle, S.C. Parker, G.W. Watson; Surface Science; 217, 576 (2005)

[3] H.T. Chen, Y.M. Choi, M. Liu, M.C. Lin; ChemPhysChem; 849, 8 (2007)

[4] H.X. Mai, L.D. Sun, Y.W. Zhang, R. Si, W. Feng, H.P. Zhang, H.C. Liu, C.H. Yan ; Journal of Physical Chemistry B ; 24380, 109 (2005)

[5] R.S. Varma ; Advances in Green Chemistry : Chemical Syntheses Using Microwave Irradiation ; AstraZeneca Research Foundation India (2002)

[6] S. Giorgio, S. Sao Joao, S. Nitsche, D. Chaudanson, G. Sitja, CR. Henry, Ultramicroscopy, 503, 106 (6) (2006)



a) Cliché de MET haute résolution d'un cube de cériine b) Cliché de MET 3D d'un cube de cériine c) Cliché de MET environnementale montrant la formation d'un réseau de surstructure de lacunes d'oxygène sous flux d' H_2

Croissance de nanofils de Co dans une matrice de CeO₂

F. Vidal ¹, Y. Zheng ¹, D. Demaille ¹

¹ Institut des nanosciences de Paris CNRS UPMC Paris

Cette contribution présente l'étude structurale de nanofils de cobalt dans une matrice de cériine (CeO₂) épitaxiée sur un substrat SrTiO₃ (001), par microscopie électronique en transmission (MET) et imagerie filtrée (EFTEM). Les échantillons ont été élaborés par ablation laser sous vide. Différentes concentrations en cobalt (5, 10, 15 et 20 %, concentration nominale) sont obtenues en faisant varier les séquences des tirs laser sur des cibles de CeO₂ et de CoO.

La présence de nanofils est observée pour chacune de ces concentrations. Nos études en microscopie électronique en transmission à haute résolution ont montré que la cériine était épitaxiée sur SrTiO₃ (001) et de bonne qualité cristalline. Les nanofils, de 3 à 6 nm de diamètre ont une longueur correspondant pratiquement à l'épaisseur de la couche de CeO₂ et sont orientés selon l'axe de croissance. Ils ont été mis en évidence par imagerie filtrée en énergie au seuil L_{2,3} du cobalt sur des sections transverses et des vues planes. Ces images sélectives montrent que les nanofils sont constitués de cobalt. L'analyse des images prises en haute résolution révèle l'existence de plusieurs orientations du cobalt au sein des nanofils.

Des études sont en cours afin de comprendre en détail le comportement magnétique de ces échantillons, dont la principale caractéristique est une forte anisotropie magnétique avec un axe facile hors-plan.

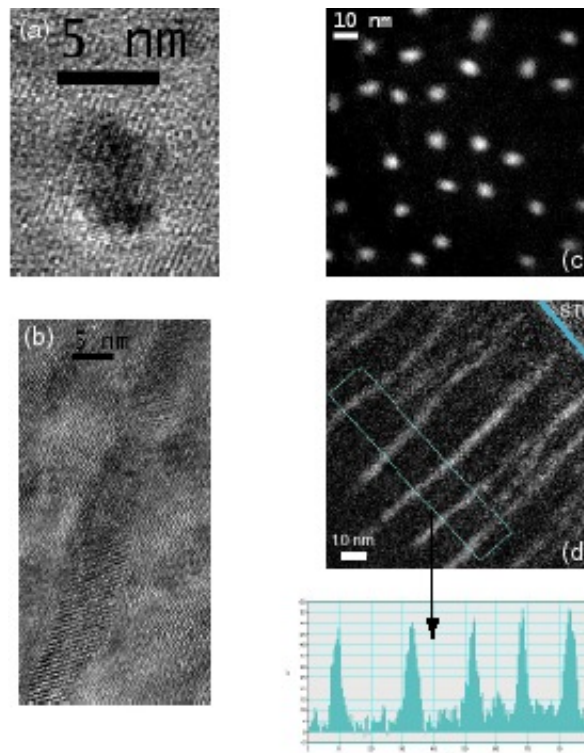


Image de nanofils de Co dans une matrice de cériine En MET haute résolution (a)vue plane (b)section transverse En imagerie filtrée au seuil L_{2,3} du cobalt (c)vue plane (d)section transverse

Structure et propriétés magnétiques d'alliages Sm-Fe-Mo nanostructurés

S. Khazzan^{1,2}, N. Mliki¹, L. Bessais²

¹ Laboratoire Matériaux Organisation et Propriétés, Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire, 2092 Tunis, Tunisie

² CMTR, ICMPE, UMR7182, CNRS - Université Paris 12, 2-8 rue Henri Dunant 94320 Thiais, France.

Un effort de recherche considérable porte aujourd'hui sur les intermétalliques à base de Terres Rares et Métaux de transition grâce à leurs propriétés d'aimants exceptionnelles permettant de les utiliser dans le domaine des aimants permanents ou de l'enregistrement magnétique [1]. L'existence de composés de symétrie uniaxiale, caractérisés par une très forte anisotropie magnétocristalline associée aux éléments de terres rares, est à l'origine des propriétés de magnétisme dur de ces systèmes. Les efforts de recherche principaux visent, d'une part à maîtriser la préparation de poudres magnétiques de hautes performances pour la fabrication d'aimants liés, d'autre part l'élaboration de matériaux nanostructurés, associant une phase qui procure la coercitivité (en effectuant des substitutions variées d'éléments additionnels) et une phase qui procure l'aimantation pour l'obtention de matériaux de haute rémanence.

Il est bien connu que les propriétés magnétiques des matériaux magnétiques durs à haute performance résultent de la combinaison de leurs propriétés intrinsèques (température de Curie (T_C), aimantation à saturation (M_S), anisotropie magnéto-cristalline) avec une microstructure adaptée à rechercher. En particulier, lorsque la taille des grains est de l'ordre de 10 à 50 nm, il existe un couplage magnétique intergranulaire qui peut conduire à une augmentation de la rémanence (M_r). L'état nanocristallin avec des diamètres de particules proches de la longueur d'échange, améliore les caractéristiques magnétiques.

Aucun travail, à ce jour, ne rapporte l'effet du molybdène sur la structure et les propriétés magnétiques de la phase hexagonale 1/9 précurseur de la phase d'équilibre 2/17 [2]. La solubilité du molybdène a été prédite théoriquement ; le rayon du molybdène métallique ($r = 0.139$ nm) ne peut s'opposer à une substitution puisque la structure 2/17 est maintenue avec des éléments de taille plus importante ou équivalente tels que Zr ($r = 0.160$ nm) ou Ti ($r = 0.147$ nm).

Dans le présent travail, nous nous intéressons au système Sm-Fe en étudiant, en particulier, l'effet de la substitution du fer par le molybdène et l'insertion du carbone sur les propriétés intrinsèques de la phase magnétique $\text{Sm}_2\text{Fe}_{17}$ ainsi que son précurseur hors équilibre SmFe_9 . Les échantillons ont été élaborés par la technique de broyage à haute énergie suivie de recuit, ce qui conduit à des phases hors équilibre thermodynamique. Toutes les manipulations se font en boîte à gants sous atmosphère d'Argon de haute pureté. Les recuits de durée inférieure à l'heure sont réalisés en ampoule de Silice scellée sous vide secondaire. Les recuits à basse température 650-750 °C conduisent à la phase précurseur hexagonale. Entre 850 et 1150 °C nous obtenons la phase $R - 3m$.

L'étude des nanomatériaux élaborés nécessite une caractérisation multi-échelles. Ceci est d'autant plus important que les effets de taille et les effets de surface peuvent changer fondamentalement les propriétés des matériaux par rapport à celles rencontrées dans les matériaux massifs. Leur caractérisation structurale a été menée par diffraction des rayons X et par microscopie électronique en transmission.

La structure de la phase nanocristalline Sm(Fe, Mo) est régie par le taux de vacance du

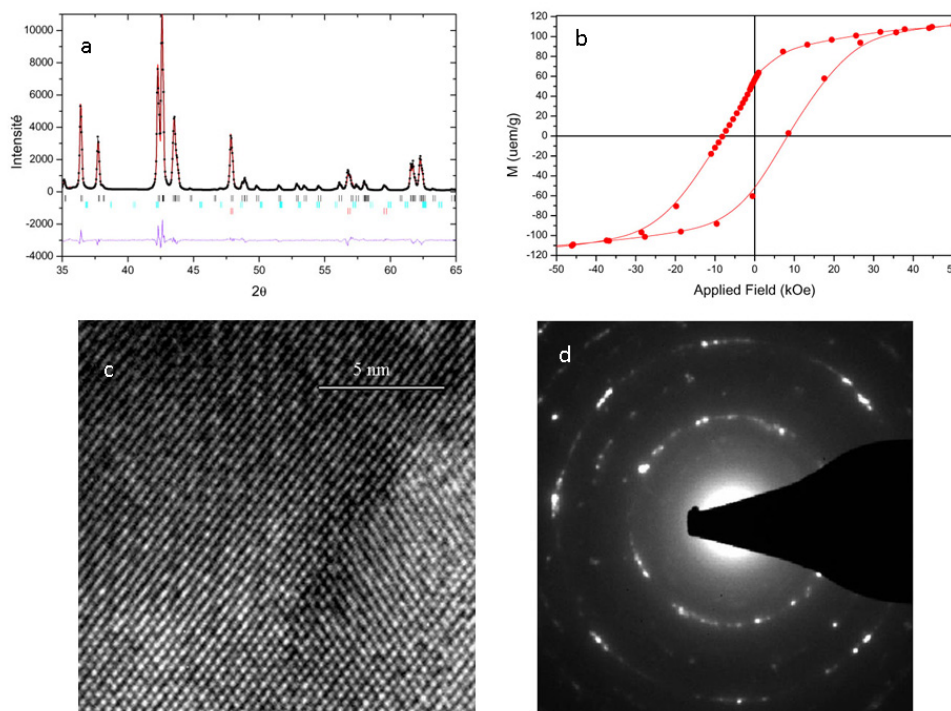
samarium ainsi que le taux de substitution de Mo. Les résultats de l'analyse Rietveld montrent que, selon les taux, nous pouvons stabiliser la structure $R-3m$ du type $\text{Th}_2\text{Zn}_{17}$, la structure $I4/mmm$ de type ThMn_{12} [3] ou la phase 3/29 qui peut être décrite dans le groupe d'espace $A2/m$. La figure (a) montre un diagramme de rayons X du composé $\text{Sm}_2\text{Fe}_{16.42}\text{Mo}_{0.58}$ (phase majoritaire) recuit à 1190 °C. Le meilleur facteur d'accord a été enregistré pour des atomes de Mo situés dans le site 6c, résultat confirmé par spectroscopie Mössbauer. Les tailles des domaines de diffraction autocohérents, dans cette phase 2/17 par exemple, varient entre 10 à 90 nm dans le domaine de température exploré. La figure (c) est une image en haute résolution du composé $\text{Sm}_2\text{Fe}_{16.42}\text{Mo}_{0.58}$. Un exemple de cycle d'hystérésis de la phase précurseur de la phase 2/17 est illustré par la figure (b). Il montre un champ coercitif $H_C = 8,57$ kOe et un rapport $M_R/M_S = 0,59$, caractéristique de l'état nanocristallin. Ceci est confirmé par la diffraction en aire sélectionnée présentée à la figure (d).

Par ailleurs, les mesures thermomagnétiques effectuées sur les différents échantillons indiquent que la température de Curie (T_C) de la phase 2/17 augmente jusqu'à 434 K. Pour les phases 3/29 et 1/12, T_C est, respectivement, égale à 459 et 551 K.

[1] J. M. D. Coey, and H. Sun, J. Magn. Magn. Mater. , L251, 87 (1990)

[2] L. Bessais, C. Djega-Mariadassou, A. Nandra, M.D. Appay and E. Burzo, Phys. Rev. B, 64402, 69 (2004)

[3] L. Bessais and C. Djéga-Mariadassou, Phys. Rev. B , 54412, 63 (2001)



(a) DRX du composé $\text{Sm}_2\text{Fe}_{16.42}\text{Mo}_{0.58}$, (b) Cycle d'hystérésis de la phase SmFe_9 , précurseur de la 2/17, (c) Image en haute résolution du composé $\text{Sm}_2\text{Fe}_{16.42}\text{Mo}_{0.58}$, (d) Diffraction en aire sélectionnée du composé $\text{SmFe}_{8.7}\text{Mo}_{0.3}$

Nanoparticules bi- et tri- métalliques de Co-(Pt/Ag) : stabilité morphologique et structurale

H. Khelfane¹, C. Andreazza-Vignolle¹, P. Andreazza¹, C. Mottet², H.C.N. Tolentino³, A. Ramos³

¹ Centre de Recherche sur la Matière Divisée, UMR 6619, Université d'Orléans - CNRS, 1b rue de la Férollerie, 45071 Orléans Cedex 2, France

² CINaM, CNRS, Campus de Luminy, 13288 Marseille cedex 9, France

³ Institut Néel, CNRS - UJF, 25 avenue des martyrs – BP166, 38042 Grenoble cedex 9, France

L'étude des propriétés physiques, en particulier magnétiques, des films minces et des nanoparticules s'est intensifiée ces dernières années suite au développement de nouvelles techniques d'élaboration et de caractérisations structurales et magnétiques. Dans le domaine de l'enregistrement magnétique à haute densité, une alternative pour augmenter la densité de stockage pourrait être l'utilisation de médias discrets formés de matériaux de forte anisotropie magnétique permettant de s'affranchir du phénomène de superparamagnétisme. Dans ce contexte, les nanoparticules alliées de CoPt ou de FePt sont des candidats prometteurs. Cependant leurs propriétés magnétiques (moment et anisotropie magnétique) sont largement influencées par leur composition, leur taille, leur structure et en particulier leur degré d'ordre qui peuvent différer suivant les modes d'élaboration mais aussi suivant l'environnement des particules [1]. De nombreuses études tant expérimentales que théoriques ont montré la grande diversité morphologique et structurale des nanoparticules et la diversité de certains comportements comparés aux matériaux massifs [2]. Une des grandes difficultés est de différencier les phénomènes intrinsèquement dus au matériau et à l'échelle nanométrique de ceux dus à l'environnement et à l'histoire de la particule. Celles-ci peuvent être surmontées grâce à des analyses structurales et morphologiques les plus fines possibles.

Dans le cadre de cette étude, les nanoparticules étudiées sont des particules bi- ou tri-métalliques à base de Co, associé au Pt et/ou à l'Ag dans une gamme de taille comprise entre 1 et 5 nm. Ces particules sont obtenues par évaporation sous ultravide. Les supports choisis sont des substrats de silicium couverts par une couche mince de carbone amorphe afin de limiter l'influence du support sur la croissance des particules. Les métaux peuvent être déposés simultanément ou séquentiellement, la composition étant contrôlée et définie par ajustement des flux de chaque métal [3]. Des traitements thermiques lors des dépôts ou post-dépôts peuvent aussi être menés. Des études par microscopie électronique et par diffusion des rayons X (grands et petits angles) ont été réalisées pour déterminer l'évolution structurale et morphologique des nanoparticules lors de leur formation et suite aux traitements thermiques éventuels.

Ces études portent sur des nanoparticules bi-métalliques dans les configurations " mixte " et " cœur-coquille " préparées par dépôt simultané ou séquentiel des métaux. La stabilité des différentes morphologies et structures en fonction de la taille, de la composition mais aussi l'influence de l'assistance en température pendant ou après le dépôt seront présentés. L'étude des systèmes tri-métalliques est quant à elle motivée par le besoin de proposer une alternative aux recuits haute température nécessaires pour l'obtention de nanoparticules ordonnées dans la structure $L1_0$ dans le cas de l'équi-composition $Co_{50}Pt_{50}$, qui est potentiellement la phase la plus intéressante magnétiquement. En effet le recuit à haute température s'accompagne d'un phénomène de coalescence induisant la formation de particules plus dispersées en taille ce qui peut être

néfaste à certaines propriétés. Plusieurs études montrent dans le cas des couches minces, l'effet d'un élément additif sur la réduction de la température de mise en ordre [4,5]. Dans le cas des nanoparticules de CoPt, l'argent est un élément particulièrement intéressant car il est attendu comme un élément ségrégeant contrairement au cobalt et au platine qui ont une forte tendance à l'alliage. L'effet de l'ajout de l'argent lors de l'élaboration de nanoparticules de CoPt dans une gamme de taille de l'ordre de quelques nanomètres sera présenté en terme d'effet morphologique et structural et son influence sur la température de mise en ordre sera présentée.

[1] J.P. Wang, Nature materials 4 (2005) 191

[2] J. Penuelas, P. Andreazza, C. Andreazza-Vignolle, H.C.N. Tolentino, M. De Santis, C. Mottet, PRL 100 (2008) 115502

[3] J. Penuelas, C. Andreazza-Vignolle, P. Andreazza, A. Ouerghi, and N. Bouet, Surface Science 602 (2008) 545

[4] O. Kitakami and Y. Shimada, App. Phys. Letters 78 (2001) 1104

[5] T.O.Seki, Y. K. Takahashi and K. Hono, J. App. Phys 103 (2008) 023910

Structure and chemical order in FeRh thin films epitaxially grown on MgO(100) substrates

J.-P. Ayoub¹, C. Gatel¹, M.-J. Casanove¹

¹ CEMES, UPR 8011, 29 rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse Cedex 4

FeRh thin films have recently attracted much attention because of their potential applications in ultra high-density magnetic recording.[1,2] The FeRh alloy exhibits, near the equiatomic composition, the ordered bcc structure B2(CsCl)-type and is antiferromagnetic (AF) at room temperature.[3] The most interesting characteristic of the stoichiometric FeRh alloy is that it shows a first-order magnetic transition from an AF to a ferromagnetic (F) state when heating beyond a critical temperature, $T_p=370\text{K}$.[4] According to neutron-diffraction study [5], the magnetic moment of the Fe atoms in the AF state is $3.3 \mu\text{B}$ while the Rh atoms have no magnetic moment in the AF phase. Upon heating beyond T_p , FeRh undergoes an isotropic lattice expansion while keeping its crystallographic structure and the Fe as well as the Rh spins align ferromagnetically. Magnetic moments of $3.04 \mu\text{B}$ for Fe and $0.62 \mu\text{B}$ for Rh were reported [6] on a sample with 53 at. % Rh. When the temperature is raised above the Curie temperature, which is typically found to be around $T_C=740\text{K}$,[7,8] the system undergoes a second phase transition into the paramagnetic phase. Both temperatures T_p and T_C are sensitive to the exact composition of the sample. Until now few studies have been made for the preparation of the ordered FeRh thin films.[9,10] J. Cao et al., for example, grew FeRh films on MgO(100) substrates by DC magnetron sputtering at room temperature and with a fixed thickness of the films of 150 nm. They showed that in order to obtain the bcc FeRh structure the films should be annealed at temperatures varying between 300 and 700°C.

In our study, we propose to investigate the effect of size, composition and epitaxial strain on the structural (chemical order, crystallographic phase, epitaxial relationship, etc.) and magnetic properties (AF-F transition temperature, stress-induced magnetic anisotropy, etc.) of FeRh nanoalloys deposited by magnetron sputtering.

As a preliminary study we co-deposited two types of samples using two targets of Fe and Rh by DC magnetron sputtering. The first type consisted of FeRh thin films grown at various temperatures (between 200 and 750°C) and for fixed thickness (2 and 5 nm). The films deposited at 200°C were annealed in vacuum at 700°C for 30 minutes. The other type of samples consists in a successive stacking of pure element layers Fe/Rh/Fe/Rh in which the atomic proportion of Fe and Rh are equivalent. The growth step was followed by annealing at 700°C for 1 hour.

The crystallographic microstructure, morphology and composition of the films were characterized by transmission electron microscopy (TEM) using both a 300 kV CM30ST (mostly for plan views) and a FEI 200kV Cs-corrected Tecnai F20 microscopes. Our studies clearly show that for the first type of samples (and without annealing) the main crystallographic phase is a γ -(FeRh) phase with unit cell parameters consistent with a Rh -rich phase and exhibiting the following epitaxial relationships : γ -(FeRh)(fcc)[001] // MgO[001]. Moreover we evidence the morphological dependency of the thin films as a function of the growth temperature and the deposited thickness. We also report the effect of annealing on the chemical ordering, morphology and epitaxial relationships of the thin FeRh films. Indeed after annealing two crystallographic phases were identified : the first one as γ -(FeRh)(fcc) and a second one as FeRh(bcc)[110]//MgO[100], characteristic of the ordered structure. Comparison with the behavior of thin layers grown by sputtering of a single FeRh target with equiatomic composition is

in progress.

- [1] J. U. Thiele, S. Maat, J. L. Robertson, E.E. Fullerton, IEEE Trans Mag.,40, 2537(2004)
- [2] T. Suzuki, Z. Zhang, A.K. Singh, J. Yin, A. Permal and H. Osawa, IEEE Trans. Magn. 41, 555 (2005).
- [3] M. Fallot and R. Hocart, Rev. Sci. 77, 498 (1939).
- [4] J. S Kouvel and C. C. Hartelius, J. Appl. Phys. 33, 1342 (1962).
- [5] G. Shirane, R. Nathans and C. W. Chen, Phys. Rev. 134, A1547 (1964).
- [6] E. F. Bertaut, A. Delapalme, F. Forrat, G. Roult, F. de Bergevin and R. Pauthenet, J. Appl. Phys. 33, 1123 (1962).
- [7] J.-U. Thiele, S. Maat and E. E. Fullerton, Appl. Phys. Lett. 82, 2859 (2003).
- [8] J. S Kouvel, J. Appl. Phys. 37, 1257 (1966).
- [9] J. Cao, N. Nam, S. Inoue, H. Yu Yu ko, N. Phuoc and T. Suzuki, J. Appl. Phys. 103, 07F501 (2008).
- [10] S. Inoue, N. Phuoc, J. Cao, N Tam, H. Yu Yu ko and T. Suzuki, J. Appl. Phys. 103, 07B312 (2008).

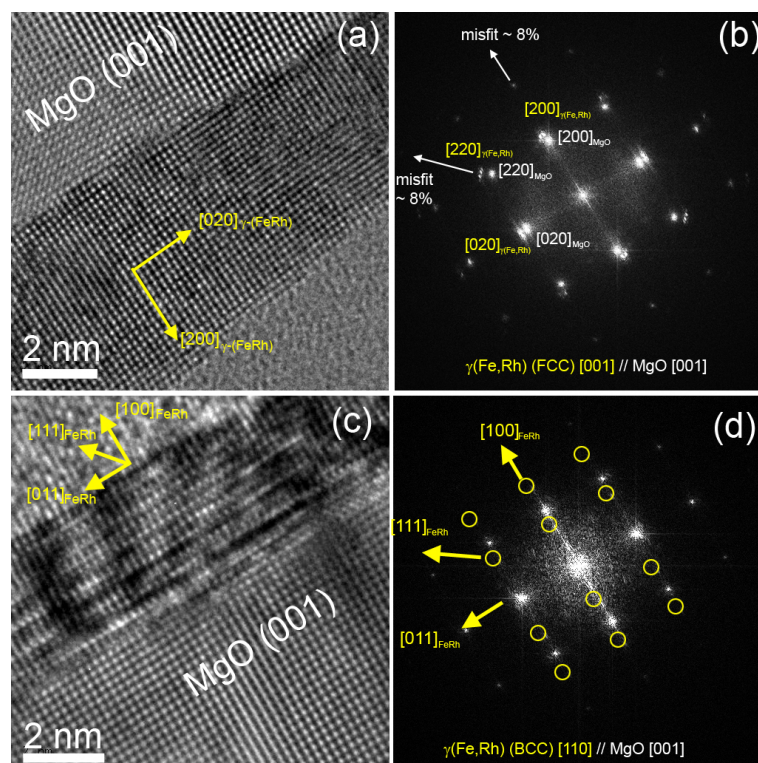


Fig. (1a) : High resolution (HR) TEM image with Cs correction, of the γ -(FeRh)(fcc)[001]//MgO[001]. (1b) : Associated Fourier Transform of the HRTEM presented in (1a). (1c) : HR-TEM with Cs correction performed on the annealed samples and exhibiting the B2(CsCl)-type structure. (1d) : Fourier transform obtained from image (1c).

Nanotubes organiques auto-assemblés : utilisation comme gabarits pour mésopores et fonctionnalisations chimiques

T.T. Tam Nguyen ¹, F.X. Simon ¹, M. Schmutz ¹, P. Mésini ¹

¹ Institut Charles Sadron-UPR22 CNRS-UdS 23 rue du Loess 67034 Strasbourg

Nous avons montré [1] que certains diamides sont capables de s'auto-assembler pour former des nanotubes de quelques microns de long et de quelques dizaines de nm de large. Ces tubes sont formés de façon thermoréversible par des liaisons non-covalentes en particulier par des liaisons H entre les amides. Ceci permet par exemple de les utiliser comme gabarits pour former des matériaux mésoporeux [2]. Un autre avantage de ces objets est que l'on peut tenter de fonctionnaliser les molécules constitutives facilement afin d'obtenir des nanotubes possédant une réactivité chimique sur mesure et d'en faire des matériaux comme des catalyseurs ou des biosenseurs. Nous avons ainsi synthétisé des analogues comportant des fonctions pouvant réagir par la condensation de Huisgen [3], et avons sélectionné ceux conservant la faculté de s'associer en nanotubes. Nous montrons qu'il est alors possible de faire réagir de petites molécules avec les nanotubes déjà auto-assemblés et dans la phase gel. Des études par MET montrent que ces modifications préservent la structure tubulaire.

[1] N. Diaz, F. X. Simon, M. Schmutz, M. Rawiso, G Decher, J Jestin and P. J. Mesini, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 3260, 44 (2005)

[2] F. X. Simon, N. S. Khelfallah, M. Schmutz, N. Diaz, P. J. Mesini, *J. Am. Chem. Soc.*, 3788-3789, 129 (2007)

[3] R. Huisgen, in 1, 3-Dipolar Cycloaddition Chemistry, Vol. 1 (Ed. : A. Padwa), Wiley-Interscience : New York, 1984, pp. 1-176.

Carving nanotubes with an electron nano-beam. Theoretical and experimental aspects.

A. Zobelli¹, A. Gloter¹, C.P. Ewels², C. Colliex¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, Univ. Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, F-91405 Orsay Cedex, France

² Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, CNRS, Institut des Matériaux Jean Rouxel (IMN), UMR6502, BP32229, F-44322 Nantes Cedex 3, France

When irradiation with charged particles is performed on nanostructures, electron bombardment techniques present three main advantages due to the low energy transmitted between the incident electron and the knocked atom. Firstly the transfer of energy and the irradiation dose can be so low that in a first approximation only individual defects are generated. Secondly the energy of the incident electron can be finely tuned around the threshold value where defects can just be created. Finally, electron beams in a TEM can be focused to form a nanometric probe, allowing control of the irradiated area with high spatial resolution. Compared to other irradiation methods, electron irradiation presents the additional advantage that defect production can be easily observed and controlled in situ.

In this context, a correct derivation of the sputtering cross section and subsequently of the emission probability can bring important new insights for the design and interpretation of future experiments. Total knock-on cross sections for carbon atoms in nanosystems had already been derived under the hypothesis that atoms lie in an isotropic potential well. However, the strong anisotropy of nanotubular systems requires to go beyond this simple approximation.

We have obtained the anisotropy of the emission energy threshold via extended density functional based molecular dynamics calculations. Successively, we have numerically derived the total knock-on cross section as a function of the atom position along the tube circumference [1]. The knock-on cross sections increasing for atoms located at the neighboring of defective sites promotes a laddering mechanism for the formation of dislocation lines in irradiated nanotubes [2].

Optimizing the irradiation conditions on the basis of the derived knock on cross sections and using subnanometric focused probes in a dedicated STEM we are able to carve single walled carbon and boron nitride with nanometric accuracy. This corresponds to the controlled removal of few tens of atoms and to the local change of the nanotube chirality [2].

In the case of BN monolayers our calculations show that only primary B vacancies are generated irradiating with electrons in the energy range between 74 KeV and 84 keV. N atoms can successively be ejected only in the neighborhood of preexisting B vacancies. An experimental proof of this has been recently reported by J.C. Meyer et al. [3]. Irradiating a BN monolayer at 80 keV in a Cs corrected TEM they have clearly shown that mono-vacancies appear in only one BN sub-lattice.

[1] A. Zobelli, A. Gloter, C. P. Ewels, G. Seifert, and C. Colliex, Phys. Rev. B 75, 245402 (2007)

[2] A. Zobelli, A. Gloter, C. P. Ewels, and C. Colliex, Phys. Rev. B 77, 045410 (2008)

[3] J.C. Meyer et al., Submitted for publication

Etude des propriétés électroniques de particules graphéniques par spectroscopie de perte d'énergie d'électrons

D. Taverna¹, O. Stéphan², D. Crisan¹, M. Kociak², R. Kumar¹, A. Shukla¹

¹ Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, Université Pierre et Marie CURIE, UMR 7590, Paris, France

² Laboratoire De Physique des Solides, Université Paris Sud, UMR CNRS 8502, Paris, France

Dans les dernières années, on a assisté à une explosion d'études sur le graphène. Cependant, mise à part la spectroscopie Raman, qui s'est imposée rapidement comme une des principales méthodes pour estimer le nombre de feuillets, les études expérimentales sur les propriétés spectroscopiques de tels systèmes restent encore peu nombreuses. En raison de la difficulté d'obtenir du graphène suspendu, encore plus rare est l'approche visant à corrélérer propriétés structurales à l'échelle atomique de tels systèmes, caractérisées via imagerie TEM, et propriétés électroniques sondées par spectroscopie de perte d'énergie d'électrons (EELS). Gass et collaborateurs [1] ont utilisé le signal EELS du plasmon pour estimer le nombre de feuillets dans un système quasi-graphénique obtenu par clivage micromécanique de HOPG sur SiO₂, et la cartographie du paramètre t/λ leurs a permis de mettre en évidence des variations locales dans l'épaisseur de leurs échantillons sur une échelle de quelque dizaine de nanomètres. Le seuil C-K été analysé par absorption X par Pacilé et coll. [2], qui ont mis en évidence des modifications de densité d'états électronique près du niveau de Fermi en fonction du nombre de feuillets et interprété la présence d'un pic à 288 eV dans les monofeuillets comme un état intercouches. Cependant l'interprétation de ces résultats reste controversée : Abbas et coll. [3] ont corrélé le pic à 288 eV à l'adsorption d'oxygène en surface et montré sa disparition après recuit. Nous espérons présenter ici une contribution à la clarification de ces questions par une étude systématique du signal EELS de particules formées par un très faible nombre de feuillets de graphite. Le nombre de feuillets de graphénique a été estimé à partir du signal du plasmon. Nous avons analysé la structure fine du seuil d'absorption K du carbone, et sa variation en fonction du nombre de feuillets, aussi bien que l'effet du recuit.

[1] M. H. Gass et al., Nature nanotechnology 3(11), 676-81 (2008)

[2] D. Pacilé et al., Phys. Rev. Lett., 101,066806 (2008)

[3] M. Abbas et al., Appl. Phys. Lett. 87, 051923 (2005)

HRTEM and EELS study of nano-sized Gadolinium oxide particles

M. Ou ¹, V. Mauchamp ^{1,2}, B. Mutelet ¹, JC. Le Bossé ¹, S. Roux ³, O. Tillement ³, P. Perriat ¹, T. Epicier ¹

¹ Matériaux, Ingénierie et Sciences (MATEIS), CNRS UMR 5510, Université de Lyon, INSA-Lyon, 7 avenue Jean Capelle F-69621 Villeurbanne Cédex

² Laboratoire de Physique des Matériaux (PHYMAT), UMR 6630, Université de Poitiers/CNRS, Bd Marie et Pierre Curie, F-86962 Futuroscope-Chasseneuil

³ Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents (LPCML), CNRS UMR 5620, Université de Lyon, Université Lyon 1, La Doua, F-69622 Villeurbanne Cédex

Over the past few years, there has been considerable development of hybrid nano-systems to be used in medical applications. These objects have a complex architecture, mixing organic and inorganic materials, and their 'core' generally consists in an inorganic nanoparticle with dedicated physical properties. In this perspective, gadolinium oxide particles are promising compounds in medicine since they both allow in-vivo multimodal imaging and different strategies for cancer therapy (radio- and neutron-therapy) [1]. To better understand the structure of such nanocomposites, a thorough characterization has been undertaken by Transmission Electron Microscopy and associated techniques. We will focus here on High Resolution imaging and EELS analysis of Gd₂O₃ nanoparticles with various sizes, ranging from about 1 nm to 4 nm [2] (see figure 1). EELS shows that modifications of the electronic structure of metal ions arise in nanoparticles of gadolinium oxide : indeed the oxygen K and gadolinium N_{4,5} edges present modifications for particle sizes below 1.5 nm, which are the signature of an hybridization of the initially atomic-like Gd 4f states with the valence band and especially the O p states. It is already known that some metals, such as silver, become strong reducers at the nanometre scale [3] : the present observations evidence that electron delocalization from metal sites also occurs in oxides. Feff8.2 [4] simulations of the collected current near the O-K edge in Gd₂O₃ were performed for different cluster sizes, which reproduce rather well the size effects observed in experiments [5].

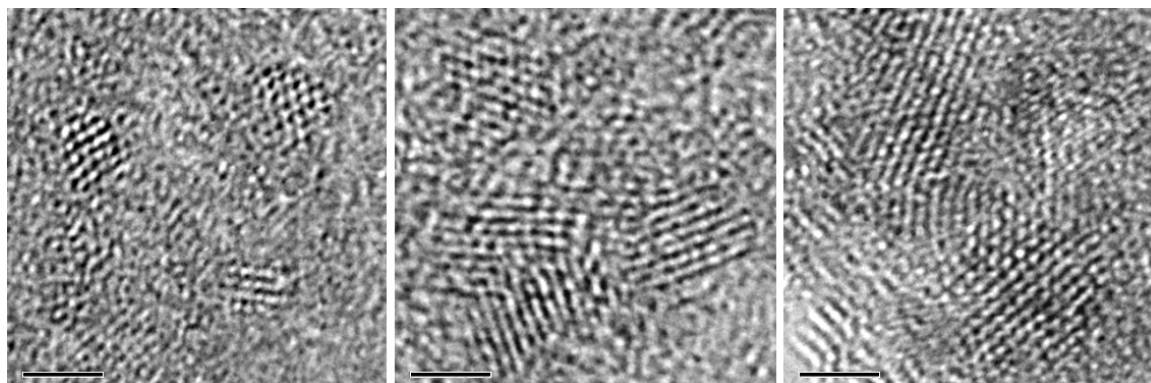
[1] Bridot J.L., Faure A.C., Laurent S., Rivière C., Billotey C., Hiba B., Janier M., Josserand V., Coll J.L., Vander Elst L., Muller R., Roux S., Perriat P., Tillement O., J. Am. Chem. Soc., 129, 2007, 5076

[2] Ou M., Mauchamp V., Mutelet B., Epicier T., Le Bossé J. C., Roux S., Tillement O., Perriat, P., J. Phys. Chem. C, 113 (10), 2009, 4038

[3] Henglein A., J. Phys. Chem., 97 (21), 1993, 5457

[4] Ankudinov A.L., Ravel B., Rehr J. J., Conradson S. D., Phys. Rev., B58, 1998, 7565

[5] The CLYM (Centre Lyonnais de Microscopie) is gratefully acknowledged for the access to the 2010F microscope



HRTEM images of Gd₂O₃ nanoparticles (cubic phase Ia₃, $a = 1.082$ nm) collected on a carbon grid (scale bar is 2 nm). From left to right : mean sizes are 1.1, 2.7 and 4 nm respectively, as measured by photon correlation spectroscopy [2].

Imagerie STEM-HAADF d'interfaces de semi-conducteurs III-V sur oxydes cristallins

L. Largeau¹, G. Patriarche¹, G. Saint-Girons², J. Cheng², P. Regreny², G. Hollinger²

¹ Université de Lyon, Ecole Centrale de Lyon, INL CNRS-UMR5270, 36 avenue Guy de Collongue, 69134 Ecully cedex

² LPN CNRS-UPR20, Route de Nozay, 91460 Marcoussis

Pour le développement des futurs composants optoélectroniques, l'intégration monolithique des semi-conducteurs III-V sur Si est une étape indispensable. L'approche proposée par l'INL est l'épitaxie d'oxydes cristallins à l'interface entre le silicium et le matériau semi-conducteur III-V. Dans de tels hétéro-systèmes présentant de fortes énergies d'interface, la croissance des matériaux semi-conducteurs passe par la nucléation de germes selon certains plans cristallins et ensuite coalescence. Après optimisation des conditions de croissance, il est possible d'obtenir des couches d'InP 2D orientées (001) sur substrat de SrTiO₃ [1]. Dans ce cas, le désaccord entre la structure cubique zinc-blende de l'InP et cubique perovskite du SrTiO₃ est accommodé par une rotation dans le plan de croissance de 45°. Nous avons montré que la relaxation plastique apparaît dès les premiers stades de croissance prouvant le caractère compliant d'une telle hétérointerface [2]. Cependant des défauts persistent à l'interface. Dans ces conditions, l'analyse de l'interface est grandement améliorée dans le mode STEM-HAADF quasiment insensible aux champs de déformation autour de ces défauts. De plus, le contraste de numéro atomique permet d'identifier facilement chacun des atomes présents à l'interface. Je présenterai les résultats obtenus à l'aide de notre nouveau microscope JEOL 2200 FS corrigé des aberrations sphériques sur la sonde. L'utilisation du correcteur a permis d'obtenir des images avec une résolution de 1 angström. Les images ont été obtenues à l'aide d'un détecteur annulaire placé au-dessus du filtre oméga (Upper-HAADF) pour lequel les angles de collection, supérieurs à 100 mrad, permettent de renforcer le contraste de Z. L'image jointe montre l'interface InP/SrTiO₃. Le SrTiO₃ et l'InP sont respectivement en axes de zone [100] et [110]. Dans le SrTiO₃, on distingue les colonnes brillantes d'atomes de Sr (Z=38) et les colonnes de TiO d'atomes plus légers (Z=22 et Z=8), les autres colonnes d'O ne sont pas perceptibles. Dans l'InP, le contraste important, et la proximité (1.46 angström), entre les colonnes d'atomes d'In (Z=49) et les colonnes d'atomes de P (Z=15) tendent à masquer ces derniers. Les profils d'intensité permettent toutefois de révéler les atomes de P. Les profils ont également permis de mesurer précisément les distances entre atomes dans différentes zones reconstruites de l'interface délimitées par les dislocations partielles.

[1] J. Cheng, L. Largeau, G. Patriarche, P. Regreny, G. Hollinger and G. Saint-Girons, soumis à Appl. Phys. Lett.

[2] G. Saint-Girons, J. Cheng, P. Regreny, L. Largeau, G. Patriarche and G. Hollinger, soumis à Phys. Rev. B

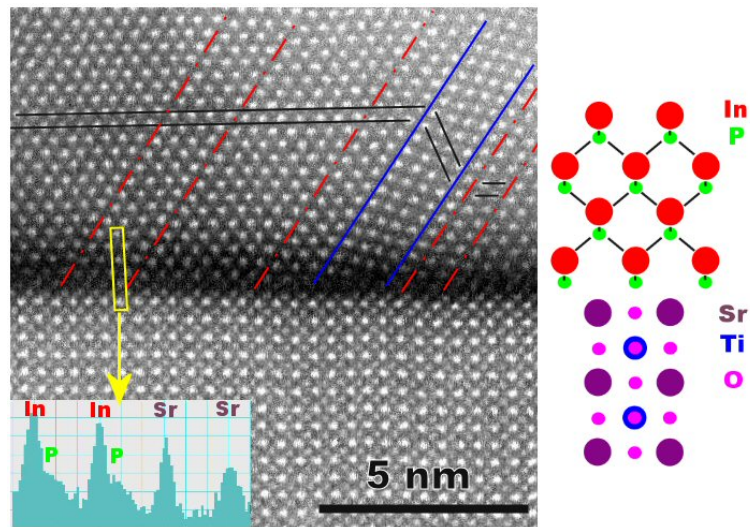


Image STEM-HAADF de l'interface (001) entre InP et SrTiO₃. Le SrTiO₃ et l'InP sont en axes de zone [100] et [110]. Les traits noirs schématisent l'écart entre deux plans d'In consécutifs et mettent en évidence le passage de dislocations partielles schématisées par les traits pointillés rouge. Les traits bleus délimitent une macule du cristal d'InP. A droite, le schéma modélise l'arrangement entre les réseaux cristallins du SrTiO₃ et de l'InP.

Electrical and mechanical properties of single-walled BNNTs via in-situ TEM studies

R. Arenal¹, M.S. Wang², Z. Xu², A. Loiseau¹, D. Golberg²

¹ Laboratoire d'Etude des Microstructures, CNRS-ONERA, 92322 Châtillon, France

² International Center for Materials Nanoarchitectonics (MANA), National Institute for Materials Science (NIMS), Tsukuba, Japan

Since only few years ago it has been shown that in-situ transmission electron microscopy (TEM) is a very powerful and appropriate technique to investigate the mechanical and electrical properties of nanomaterials because the structural information at the nanometer scale is simultaneously obtained in parallel [1-3]. We carried out all these in-situ TEM studies using two different Nanofactory™ holders on a JEM-3100FEF (Omega Filter) microscope. In this work, we studied several individual single-walled BN nanotubes (BN-SWNTs) as well as bundles of those. The BNNTs were prepared by laser vaporization technique and they have been fully characterized by TEM (high resolution, electron diffraction and EELS), as well as Raman spectroscopy [4-7].

Fig. 1 shows an isolated SW-BNNT stretched between a Si cantilever and a Au wire. The force/displacement curve is also displayed. The applied deformation force is ~ 9 nN, until a kink forms at the displacement of ~ 11 nm. After that no force is necessary to continue deformation. These experiments have been repeated several times under different cycles. All these indicated that BN-SWNTs are very flexible and elastic. In this contribution all the works done on SW BNNTs (mechanical property probing) will be presented. The data that can be obtained from those studies will be discussed.

In-situ observation of electrical behavior of SW-BNNTs has also been performed. We carried out several experiments where I/V curves were measured on individual tubes as well as on bundles of those, confirming that these tubes are insulating. In fact, in most of the cases a bias voltage of 140 V (which is the maximum voltage that it can be applied in the present experimental setup) was applied and no current was detected. However, for some tubes containing marginal carbon contamination, coming from the synthesis process [2], a breakdown voltage of ~ 35 V was recorded. In any case, an overall electrical resistivity of > 7 GΩ was measured confirming the insulator character of SW-BNNTs.

These studies provide very useful information that has been not acquired before and that sheds considerable light on the proprieties and characteristics of these particular case of SW inorganic nanotubes [8].

R. A. acknowledges funding by the Foreign Researchers Invitation Program of NIMS.

[1] C.M. Grinaud and O. Lourie, *Microsc. Microanal.* 10, 1112 (2004)

[2] D. Golberg, et al, *Appl. Phys. Lett.* 88, 123101(2006)

[3] D. Golberg et al., *Acta Mater.* 55, 1293 (2007)

[4] R. Arenal, O. Stephan, J.L. Cochon, A. Loiseau, *J. Am. Chem. Soc.* (2007)

[5] R. Arenal, M. Kociak, A. Loiseau, D.-J. Miller, *Appl. Phys. Lett.* (2006)

[6] R. Arenal, F. De la Pena, O. Stephan, M. Walls, M. Tence, A. Loiseau, C. Colliex, *Ultramicroscopy* 109, 32 (2008)

[7] R. Arenal, A.C. Ferrari, S. Reich, L. Wirtz, J.-Y. Mevellec, S. Lefrant, A. Rubio, A. Loiseau, *Nano Lett.* 6, 1812 (2006)

[8] R. Arenal, M.S. Wang, Z. Xu, A. Loiseau, D. Golberg, in preparation.

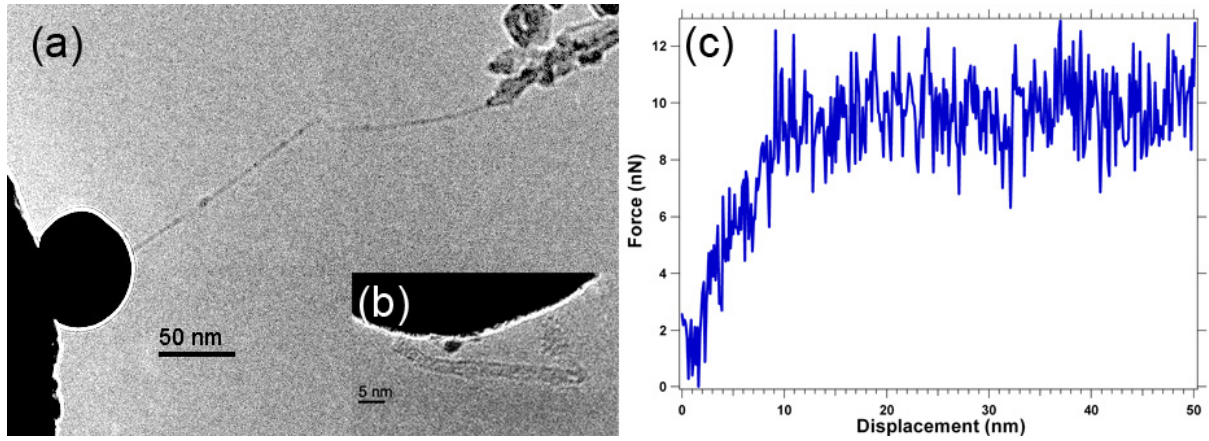


Figure 1. (a) TEM micrograph displaying an individual SW-BNNT stretched between the Si cantilever (with an attached W ball as the pinning side, left clamp) and the Au wire (right-hand-clamp). (b) High magnification micrograph of the SW-BNNT at the end of the measurement, once the tube was broken. This micrograph confirms that the NT was single-walled. (c) Force versus displacement acquired on the tube shown of the TEM micrograph.

BN domains included into carbon nanotubes : role of the interface.V.V. Ivanovskaya ^{1,2}, A. Zobelli ¹, O. Stéphan ¹, P.R. Briddon ³, C. Colliex ¹¹ Laboratoire de Physique des Solides, Univ. Paris-Sud, CNRS-UMR 8502, 91405, Orsay, France² Institute of Solid State Chemistry, Ural division of Russian Academy of Science, 620041, Ekaterinburg, Russia³ School of Electyrical, Electronic and Computer Engineering, University of Newcastle upon Tyne, Newcastle NE1 7RU, United Kingdom

The simultaneous inclusion of both boron and nitrogen atoms represents a promising approach for tailoring the electronic properties of nanotubes as a function of their chemical composition. Very recently, Enouz et al.[1] have reported the synthesis of a new kind of $B_xC_yN_z$ single-walled nanotubes(SWCNTs) without perfect BN-C demixing. Spatially-resolved EELS (electron energy loss spectroscopy) has suggested the existence of BN plackets with a sub-nanometer diameter (typically made of less than 10 BN hexagons) sequentially distributed along the nanotubes axis. These small plackets are characterized by a high ratio between border and inner atom number. Thus the BN-C frontier might strongly affect the stability and electronic properties of the composite tubes. However current experimental techniques can not access the exact arrangement and shape of BN inclusions inside single walled CNTs and the structure of the BN-C interfaces. Complementary structural information can be provided by simulations using *ab initio* techniques.

We present a density functional theory study on the shape and arrangement of small BN domains embedded into single-walled carbon nanotubes [2]. We show a strong tendency for the BN hexagons formation at the simultaneous inclusion of B and N atoms within the walls of carbon nanotubes. The work emphasizes the importance of a correct description of the BN-C frontier. We suggest that BN/C interface will be formed preferentially with the participation of N-C bonds. Thus, we propose a new way of stabilizing the small BN inclusions through the formation of nitrogen terminated borders. The comparison between the obtained results and the available microscopy experimental data on formation of BN plackets within the single walled carbon nanotubes is presented. Finally, we show that the inclusion of small BN plackets inside the CNTs strongly affects the electronic character of the initial systems. However, unlike earlier theoretical findings, the BN inclusion does not necessarily turn the metallic carbon nanotubes into the semiconductors : for the most stable configurations the metallic properties of initial systems are preserved.

[1] S. Enouz, O. Stephan, J. L. Cochon, C. Colliex, and A. Loiseau, Nano Lett 7, 1856 (2007)

[2] V.V. Ivanovskaya, A. Zobelli, O. Stephan, P.R. Briddon, and C. Colliex, J. Phys. Chem. C, Accepted for publication

Lien entre les propriétés structurales et optiques de nanotubes de carbones triés

R. Fleurier ¹, J.-S. Lauret ², E. Flahaut ³, A. Loiseau ¹

¹ LEM, CNRS-ONERA, France

² LPQM CNRS-ENS Cachan, France

³ CIRIMAT/LCMIE, CNRS, Toulouse

Les nanotubes de carbone ont plusieurs propriétés très intéressantes telles qu'une grande conductivité, la capacité à être métallique ou semi-conducteur selon leur structure, leur propriétés optiques remarquables qui en font des candidats pour l'absorption saturable, la photo-conductivité. Ces propriétés dépendent de la chiralité des nanotubes, c'est-à-dire de la direction selon laquelle la paroi de graphène est enroulée le long de l'axe du tube.

Malheureusement, même si de récentes études ont montré qu'il était possible de favoriser la croissance d'une chiralité donnée [1] il n'est pas encore possible aujourd'hui de ne synthétiser des nanotubes uniquement métalliques ou semi-conducteurs, ou d'une seule chiralité.

Assez récemment, des techniques de tri de nanotubes de carbone selon leurs structures ont été élaborées. Elles utilisent soit les propriétés diélectriques de nanotubes comme dans la diélectrophorèse, soit les propriétés de l'interaction de certains nanotubes avec des molécules organiques. Enfin, l'une des techniques les plus versatiles est le tri par gradient de densité de nanotubes de carbone [2].

Selon cette méthode, les nanotubes de carbone, recouverts de surfactant sont triés selon leur densité suite à une ultracentrifugation de cette solution dans un gradient de densité. Cela permet entre autres de séparer les nanotubes selon leur diamètre ou de séparer les métalliques des semi-conducteurs du fait de différences d'interaction nanotubes-surfactant entre ces deux types de tubes. Ces tris de nanostructures, aussi efficaces qu'elles soient n'avaient jusqu'à récemment pas été validées par microscopie électronique en transmission. Or cet outil est indispensable car les techniques telles que l'absorption de la lumière, la photoluminescence ou la diffusion Raman, usuellement utilisées pour caractériser des échantillons microscopiques nécessitent un modèle pour remonter aux propriétés structurales. La microscopie permet quant à elle de voir et d'évaluer avec précision la nature des objets triés [2]. Plus encore, du fait de la connaissance fine de la composition des échantillons, il devient facile de remonter aux propriétés macroscopiques qui en découlent et ainsi d'avoir une information sur les propriétés physiques des nanotubes de carbone.

Dans cette présentation, nous nous intéressons à l'utilisation de la microscopie électronique en transmission pour l'évaluation des populations de nanotubes de carbone monoparois et biparois [3] présentes dans des échantillons triés. La corrélation avec les propriétés optiques peut ainsi être effectuée.

Dans le cas des nanotubes biparois, dont les échantillons bruts présentent une quantité de nanotubes monoparois pouvant monter à 30%, l'utilisation de la microscopie prend tout son sens. Alors qu'il est ardu de faire la différence au niveau spectroscopique de nanotubes mono et biparois ayant un diamètre similaire, cette différenciation est directe par microscopie. Cela permet de contrôler l'enrichissement de nanotubes biparois lors du tri. Nous montrons aussi pour la première fois le tri en diamètre des nanotubes biparois. Qui plus est cet enrichissement permet pour la première fois de relier les propriétés optiques de nanotubes biparois avec leur distribution en diamètre, sans être gêné par la réponse des tubes monoparois. Nous discute-

rons comment l'utilisation du tri de nanotubes de carbone, couplée à l'analyse par microscopie permet de vérifier une certaine sélectivité des synthèses des nanotubes de carbone.

- [1] R. Arenal, M.F. Fiawoo, R. Fleurier, M. Picher, V. Jourdain, A.M. Bonnot and A. Loiseau, EMC 2008 14th European Microscopy Congress 1–5 September 2008, Aachen, Germany
- [2] R. Fleurier JS Lauret, U. Lopez, A. Loiseau, Adv.Func.Mater., In press (2009)
- [3] E. Flahaut et al., Chem. Commun., 1442-1443, (2003)

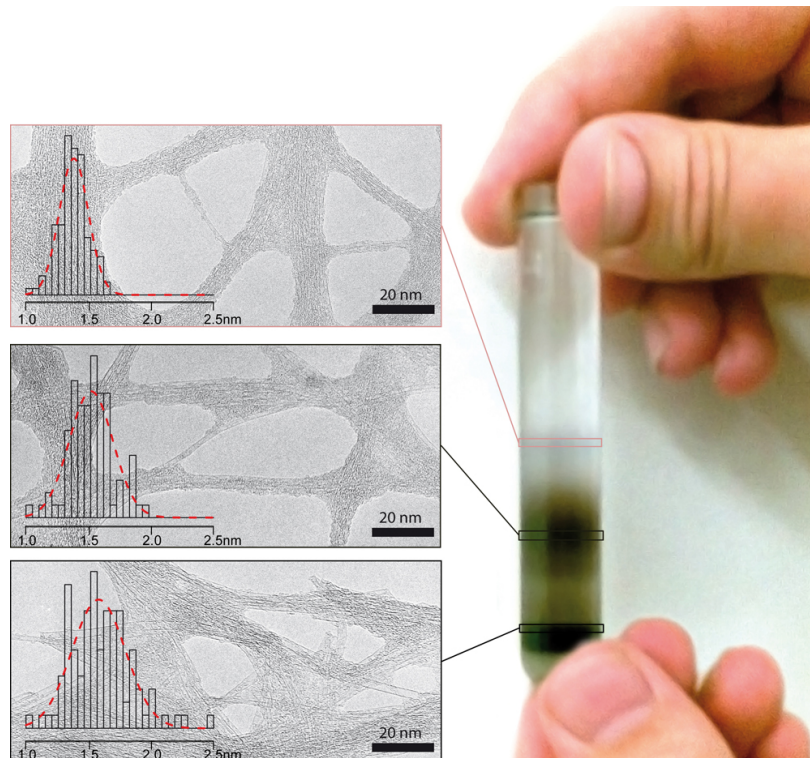


Figure : Nanotubes de carbone triés en solution dans de l'eau. Les nanotubes sont prélevés couche par couche et une statistique des diamètres est effectuée par TEM, représentée en surimpression des images TEM, montrant l'augmentation du diamètre.

Épitaxie entre nickel catalytique et plans graphitiques : fabrication de nanotubes de carbone, application à la production de feuillets de graphène

Z. He¹, S. Enouz-Védrenne², J.-L. Maurice^{1,3}, L. Baraton¹, L. Gangloff², C. S. Cocararu¹, A. Caillard¹, D. Pribat¹, P. Legagneux²

¹ Laboratoire de Physique des Interfaces et Couches Minces, LPICM, UMR 7647, École Polytechnique-CNRS, Route de Saclay, 91128 Palaiseau Cedex

² Thales R&T France, Route départementale 128, 91767 Palaiseau Cedex

³ Unité Mixte de Physique CNRS/Thales, UMR 137, RD 128, 91767 Palaiseau Cedex

La technique PE-CVD (Plasma enhanced chemical vapour deposition) permet d'élaborer, à partir de particules catalytiques de nickel, des nanotubes de carbone parfaitement alignés et verticaux, qui se prêtent naturellement aux applications d'émission de champ. Une technique voisine permet d'ailleurs d'élaborer des feuillets de graphène d'une manière relativement simple. Cependant, la croissance de ces feuillets, pour les tubes comme pour les matériaux planaires dépend, entre autres, de l'orientation des plans de nickel de départ. Ici, nous tentons de comprendre cette dépendance en analysant, par microscopie électronique à haute résolution, les relations d'épitaxie qui se sont établies lors de la précipitation du carbone à la surface des nanoparticules. Nous avons notamment remarqué que les plans graphitiques étaient parallèles aux surfaces de la particule de nickel, que ces dernières soient de bas indices, ou bien vicinales. La nucléation des feuillets de graphène des nanotubes a déjà fait l'objet de nombreux travaux en TEM, par analyse de la croissance ex-situ [1] et in-situ [2]. Cependant, les modèles développés n'expliquent que très partiellement nos observations. Les figures ci-dessous illustrent notre propos avec un nanotube multi-feuillets préparé par PE-CVD à 600°C dans un mélange d'acétylène et de vapeur d'eau. La fig. 1 un montre que la particule de Ni est facettée selon les plans {111}. La fig. 2 montre que contrairement à l'intuition qui verrait bien les plans graphitiques naître parallèlement au plan de type {100} au bord des marches de la surface vicinale ((-1-17), fig. 1), les plans de graphène suivent la surface, et ne naissent donc pas dans la continuité des plans {100} du Ni. Le mécanisme de cette nucléation ne pourra réellement être mis au jour qu'en effectuant des expériences de croissance in-situ, avec la résolution atomique.

[1] J. Gavillet, A. Loiseau, C. Journet, F. Willaime, F. Ducastelle, and J.-C. Charlier, Phys. Rev. Lett. 87, 275504 (2001).

[2] S. Helveg, C. Lopez-Cartes, J. Sehested, P. L. Hansen, B. S. Clausen, J. R. Rostrup-Nielsen, F. Abild-Pedersen

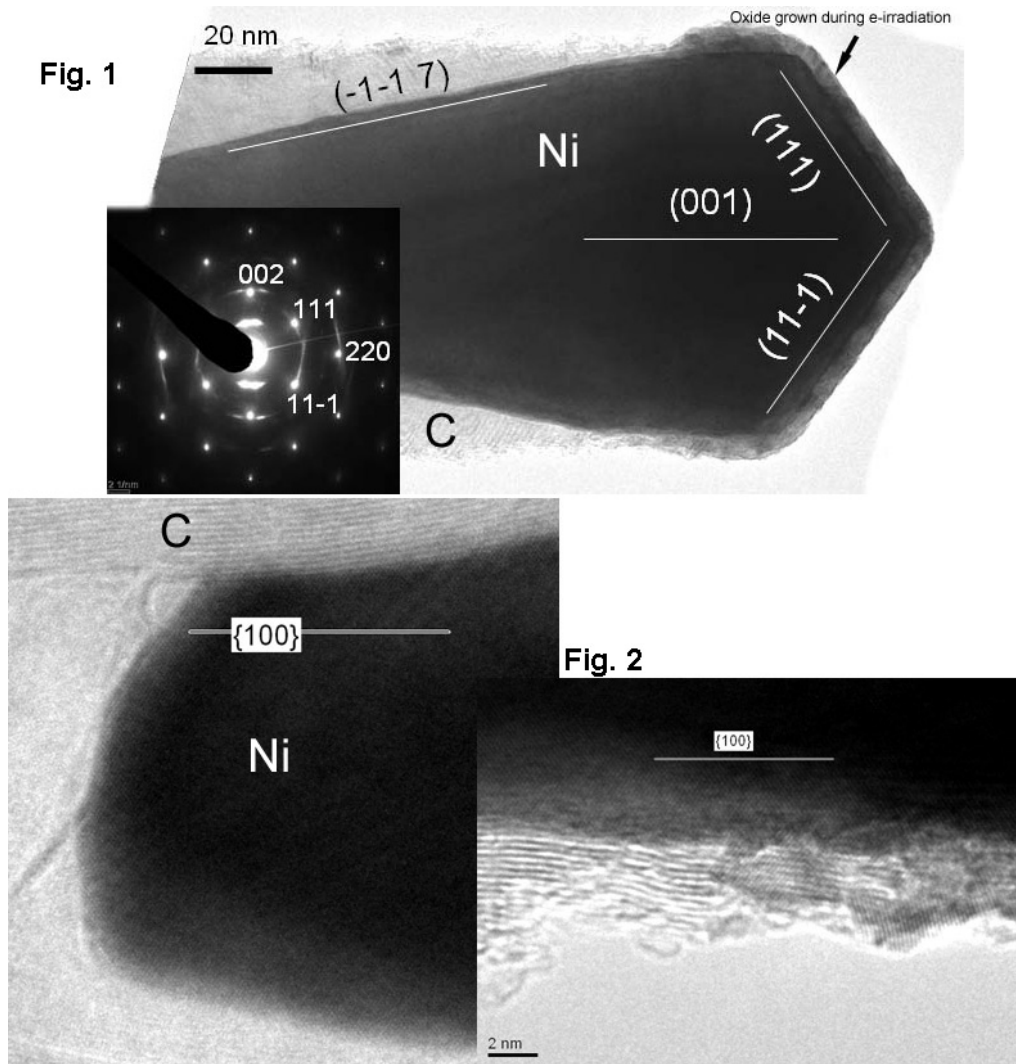


Fig. 1 : TEM en axe de zone $[1-10]$ de la particule de Ni ayant catalysé la croissance PE-CVD d'un nanotube de carbone : vue générale et diffraction. Fig. 2 : agrandissements HRTEM de zones de la fig. 1, montrant l'alignement des plans graphitiques avec la surface de la particule, plus qu'avec ses plans cristallographiques.

A l'intérieur des franges de moiré : étude par microscopie haute résolution

C. Langlois¹, M. Valamanesh^{1,2}, N. Braidy^{1,3}, C. Ricolleau¹

¹ Laboratoire 'Matériaux et Phénomènes Quantiques' (MPQ), UFR de Physique - CNRS, Université Paris Diderot - Paris 7, 10 rue Alice Domont et Léonie Duquet, 75013 Paris

² Institut des NanoSciences de Paris (INSP), Université Pierre et Marie Curie, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris

³ LEM, CNRS/ONERA, 29 avenue de la Division Leclerc, 92322 Châtillon

La superposition de deux réseaux de pas différents et/ou d'orientations différentes, donne naissance à un contraste de bandes assez larges et régulièrement espacées. Ce phénomène appelé communément 'moiré' est bien connu en optique conventionnelle, mais aussi en microscopie électronique en transmission, où les réseaux en question sont les franges d'interférences haute résolution de deux cristaux. Etant donné que la largeur et l'espacement sont un ordre de grandeur plus grand que les réseaux leur donnant naissance, le phénomène de moiré a été historiquement d'une grande importance à l'époque où la résolution des microscopes électroniques en transmission (MET) ne permettait pas d'observer les distances interplanaires des matériaux, exceptés quelques uns à grand paramètre de maille. Les premières dislocations dans les matériaux métalliques ont par exemple été observées par ce biais. Depuis l'avènement de la microscopie haute résolution et des techniques chimiques d'analyse au microscope, l'intérêt pour cette technique est retombé, mis à part quelques cas de figures [1], puisqu'il est possible de résoudre les franges de réseau dans la plupart des matériaux en microscopie haute résolution. Or, nous montrons ici que les phénomènes d'interférences provenant de deux cristaux superposés sont en fait très complexes dès lors qu'on les observe en haute résolution. Notre étude s'intéresse aux franges de réseau qui apparaissent à l'intérieur des bandes de moirés, et à la manière dont on peut remonter dans certains cas aux épaisseurs respectives des deux cristaux superposés. Les cas de figures présentés sont issus de simulations JEMS employant la technique multislice pour un matériau constitué de deux couches superposées de cuivre et d'argent. Nous utilisons pour la modélisation de ces franges la théorie cinématique des électrons.

La figure 1a ci-dessous montre un exemple de telles franges de réseau de type (111) apparaissant à l'intérieur des bandes de moirés. Ce sont ces réflexions (111) avec lesquelles nous avons travaillé au cours de cette étude. De manière à pouvoir modéliser l'apparition de ces franges, il nous est apparu nécessaire de nous placer dans des conditions où la théorie cinématique de la diffraction des électrons peut s'appliquer. Pour ce faire, les couches superposées de cuivre et d'argent en épitaxie parfaite ne font pas plus de 6 nm, ce qui est l'épaisseur maximale que l'on peut considérer pour les réflexions (111). Il faut ensuite se placer en conditions proches de deux ondes, en éliminant toutes les autres réflexions, ce qui est réalisé en prenant la direction $[\bar{2} \bar{3} 5]$ pour le faisceau incident et en utilisant un diaphragme dans le plan focal objectif. Or, dans cette direction, l'écart à l'angle de Bragg pour les réflexions (1 1 1) est petit (de l'ordre de $0,02 \text{ nm}^{-1}$), ce qui ne permet pas de modéliser simplement les franges obtenues. Nous avons finalement choisi une direction $[\bar{4} \bar{7} 12]$ proche de $[\bar{2} \bar{3} 5]$, comme direction incidente des électrons sur le cristal, assurant ainsi un écart $s = 0,2 \text{ nm}^{-1}$.

Le premier résultat porte sur la variation de la distance caractéristique de ces franges de réseau lorsque l'on fait varier les épaisseurs relatives des deux matériaux. Cette distance caractéristique ne dépend que de la fraction d'épaisseur de cuivre par rapport à l'épaisseur totale.

Nous avons confirmé ce résultat en calculant de manière analytique l'équation représentant l'intensité issue de la superposition des ondes transmises et diffusées par le matériau [2]. Il existe donc un lien direct en ces deux paramètres, ce qui permet de remonter à la fraction d'épaisseur à partir d'une seule image haute résolution prise dans les mêmes conditions d'orientation. Nous avons d'autre part utilisé cette équation en l'ajustant au profil d'intensité issu des simulations JEMS, en prenant en compte les fractions d'épaisseur déjà déterminées et en laissant variable le paramètre 'épaisseur totale'. Dans plusieurs cas de figure, l'ajustement donne au final la bonne épaisseur, toujours à partir d'une seule et unique image (figure 1b).

Il semble possible, à partir d'une image haute résolution prise dans des conditions d'orientation adéquates, de remonter aux épaisseurs absolues des deux matériaux superposés. Bien entendu, il est nécessaire de vérifier au préalable, dans une situation donnée, si le calcul a des chances d'aboutir avant d'envisager d'appliquer cette technique à un cas expérimental. Le profil d'intensité des franges de réseau à l'intérieur des bandes de moirés semble en effet très dépendant, non seulement des épaisseurs relatives des deux cristaux superposés, mais aussi de l'écart à l'angle de Bragg. Ceci peut poser un problème pour l'application de nos calculs, étant donné la difficulté de mesure d'un tel paramètre (lignes de Kikuchi par exemple). Malgré ces inconvénients, cette étude nous a permis d'avancer vers une meilleure compréhension du phénomène de moirés et des relations vis-à-vis des paramètres microstructuraux.

[1] J. M. Cowley, N. Ooi and R. E. Dunin-Borkowski, *Acta Cryst.*, 533-542, A55, (1999)

[2] P. B. Hirsch, A. Howie, R. B. Nicholson, D. W. Pashley and M. J. Whelan, *Electron microscopy of thin crystals*, Butterworth London, (1965)

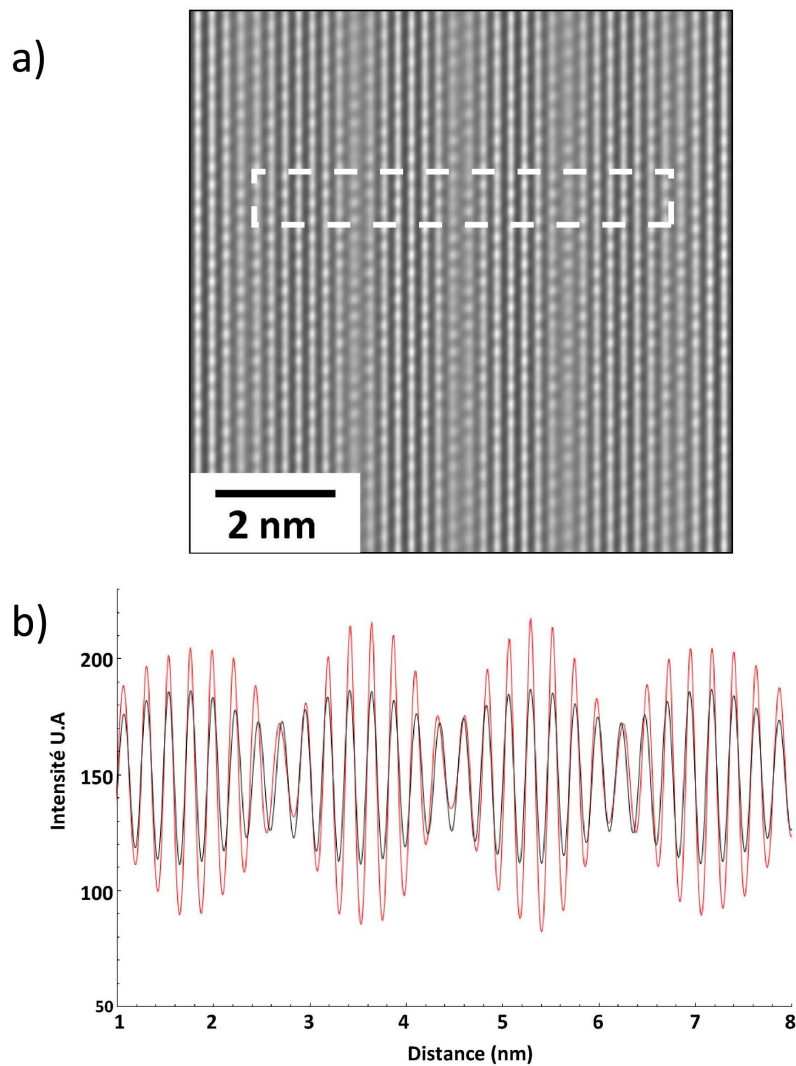


Figure 1 : (a) simulation de franges de moiré pour une couche de cuivre de 4 nm superposée en épitaxie sur une couche d'argent d'épaisseur 2 nm, dans l'axe de zone $[\bar{4} \bar{7} 12]$, (b) profil modélisé en conditions cinématiques (noir) ajusté sur le profil issu de la simulation JEMS multislice (rouge).

Configuration magnétique de couches minces de CoPt et de nanocubes de ferrite obtenues par holographie électronique

M. Materska ^{1,2}, A. Demortiere ¹, C. Ulhaq-Bouillet ¹, R. Kozubski ², S. Begin-Colin ¹, G. Pourroy ¹, V. Pierron-Bohnes ¹

¹ IPCMS, UMR CNRS-UdS 7504, 23, rue du Loess BP 43, 67034 Strasbourg cedex 2, France

² M. Smoluchowski Institute of Physics, Jagiellonian University, Reymonta 4, 30-059 Krakow, Poland

L'holographie électronique permet d'obtenir des informations sur les configurations magnétiques par exploitation des franges d'interférence entre un faisceau de référence et le faisceau qui traverse l'échantillon. Nous décrirons aussi les caractéristiques du microscope (Jeol 2100FCs équipé d'un biprisme) et la manière d'annuler le champ au niveau de l'échantillon dans ce microscope. Des premiers essais seront décrits sur deux systèmes assez différents.

Les alliages CoPt [1] sont intéressants du fait de leur forte anisotropie magnétique qui en fait de bons candidats pour l'enregistrement magnétique perpendiculaire à haute densité. De tels matériaux sont développés pour repousser la limite superparamagnétique ($k_B T = K_{ani} V$ avec K_{ani} l'énergie d'anisotropie et V le volume de l'élément magnétique) où la direction de l'aimantation est rendue instable par l'énergie thermique. Nous avons préparé des alliages monovariants d'anisotropie perpendiculaire [2] par pulvérisation cathodique et les avons étudiés par holographie électronique en cross-section.

Des nanocubes de ferrite ont été préparés par décomposition thermique de complexes métalliques de fer en présence d'un solvant à haute température d'ébullition et d'un ligand approprié. Nous avons montré qu'il était possible de diminuer la taille de 30 nm à 3nm. 3 morphologies ont pu être obtenues : tétraèdre tronqué, bâtonnet, et cube. Ce type de matériau est intéressant pour les applications médicales pour la vectorisation de médicaments ou l'hyperthermie [3].

[1] C. Leroux, M.C. Cadeville, V. Pierron-bohnes, G. Inden, and F. Hinz, Journal of Physics F : Metals Physics, 18, 2033 (1988)

[2] O. Ersen, V. Parasote, V. Pierron-bohnes, M.C. Cadeville, and C. Ulhaq-Bouillet, Journal of Applied Physics, 93, 2987 (2003)

[3] T. J. Daou, J.-M. Greneche, G. Pourroy, S. Buathong, A. Derory, C. Ulhaq-Bouillet, B. Donnio, D. Guillon, S. Begin-Colin, Chem. Mater., 20, 5869-5875 (2008)

Mécanismes de croissance des nanofils de ZnO par MOCVD

G. Perillat-Merceroz ¹, P.-H. Jouneau ², G. Feuillet ¹, R. Thierry ¹, M. Rosina ¹, P.-Ferret ¹

¹ CEA – LETI, Minatec, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble cedex 9

² CEA – INAC, Minatec, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble cedex 9

L'intérêt pour ZnO a beaucoup augmenté ces dernières années du fait des potentialités de ce semi-conducteur pour des applications en optoélectronique [1]. Une large énergie de bande interdite (3,37 eV, proche de celle de GaN) et une forte énergie de liaison excitonique (60 meV) en font un candidat idéal pour la réalisation de diodes électroluminescentes (LEDs) émettant jusque dans l'UV à température ambiante. Il faudra néanmoins résoudre au préalable le difficile problème du dopage p de ce matériau. Ceci permettrait de réaliser des sources lumineuses blanches de forte puissance à un faible coût pour l'éclairage.

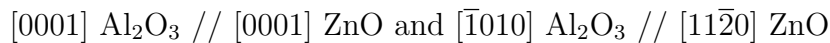
La mise en œuvre de ZnO sous forme de nanofils est particulièrement intéressante. Ces nanofils peuvent être fabriqués de façon simple et économique par épitaxie en phase vapeur d'organométalliques (MOCVD) sans utiliser de catalyseur. Il a été montré qu'ils présentaient d'excellentes caractéristiques cristalline et optique, avec peu d'impuretés ou de dislocations [2]. Outre les LEDs, leurs applications potentielles sont la fabrication de cellules solaires, de capteurs de gaz ou de pointes à émission de champ. Cependant les mécanismes de croissance de ces nanofils, et les raisons pour lesquelles ils ne présentent pas de défauts structuraux, demeurent mal compris. Nous présenterons ici quelques résultats pour sur des fils obtenus sur substrats saphir, en montrant en particulier que la polarité cristalline joue un rôle important lors de la croissance.

Dans notre étude, les nanofils de ZnO sont fabriqués par MOCVD, sans utiliser de catalyseur, dans un réacteur à parois horizontales Epigress. Ils sont obtenus sur des substrats (0001) Al₂O₃ recuits à 1200°C sous oxygène. N₂O et le diethylzinc (DEZn) sont utilisés comme gaz précurseurs avec une température de substrat de 750°C à 850°C. Des durées de croissance de quelques secondes à une heure ont été utilisées afin de suivre l'évolution de la formation des fils et d'en comprendre les mécanismes de formation.

Les images de microscopie montrent que sont obtenus des champs de nanofils verticaux, uniformes en longueur et diamètre, en épitaxie avec le substrat. Ces nanofils présentent une section hexagonale, correspondant à une croissance selon l'axe c. Une fine couche de mouillage se forme également dès le début de la croissance, en parallèle avec l'apparition de pyramides et des nanofils. La germination des nanofils se fait soit directement à l'interface Al₂O₃ / ZnO, soit au sommet de certaines pyramides, ce qui suggère différents mécanismes de nucléation. Après une heure de croissance, les fils ont typiquement une longueur de 4 μm, un diamètre de 200 nm et une densité d'environ 10⁸ cm⁻².

La polarité cristalline joue un rôle clé dans le mécanisme de croissance. Les figures de diffraction électronique en faisceau convergent (CBED) montrent que les nanofils sont de polarité Zn (i.e. avec une direction de croissance [0001]) alors que les pyramides sont de polarité O. Leurs faces latérales sont de type {1 $\bar{1}$ 00}. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sun et al. [3] et par Laudise et al. pour une croissance hydrothermale [4]. La croissance des nanofils résulte de l'apparition d'un noyau de polarité Zn, qui possède une vitesse de croissance importante dans la direction [0001], en partie du fait de la faible énergie libre des facettes {1 $\bar{1}$ 00}.

La relation d'orientation observée est classiquement :



ce qui correspond à un désaccord paramétrique de 18,4 % entre le saphir et ZnO. Cependant la plupart des dislocations qui en résultent restent confinées dans la couche de mouillage, qui apparait presque totalement relaxée après une minute de croissance. Seuls quelques dislocations sont présentes dans les pyramides et aucune dans les nanofils. Cela résulte en particulier d'un mécanisme de croissance latérale des pyramides au dessus de la couche de mouillage, qui confine les dislocations à l'interface avec cette dernière. Cette très bonne qualité cristalline des nanofils est confirmée par les résultats de photoluminescence [5].

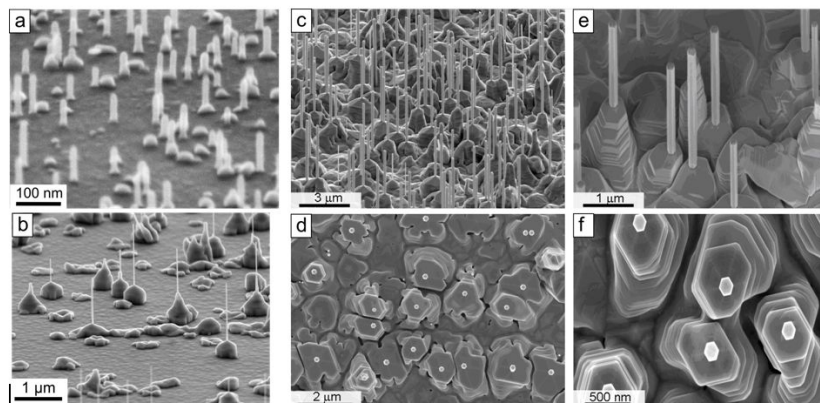
[1] U. Özgür, Ya. I. Alivov, C. Liu, A. Teke, M.A. Reshchikov, S. Dogan, V. Avrutin, S.-J. Cho and H.Morkoç, *J. Appl. Phys.*, 041301, 98 (2005)

[2] M. Rosina, P. Ferret, P.-H. Jouneau, I.C. Robin, F. Levy, G. Feuillet et M. Lafossas, *Microelectron. J.*, 242-245, 40 (2009)

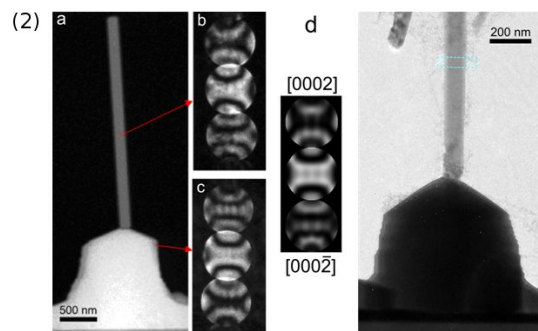
[3] Y. Sun, D. Cherns, R.P. Doherty, J.L. Warren et P.J. Heard, *J. Appl. Phys.*, 023533-7, 104 (2007)

[4] R. Laudise et A. Ballman *J. Phys. Chem.*, 688-691, 64 (1960)

[5] I.C. Robin, B. Gauron, P. Ferret, C. Tavares, G. Feuillet, Le Si Dang, B. Gayral and J.M. Gérard, *Appl. Phys. Lett.*, 143120, 91 (2007)



(1)



(1) - Vue de dessus et inclinée des nanofils de ZnO après une croissance de (a) 20 s, (b) 1 min, (c)(d)(e) et (f) une heure. (2) - Image d'une pyramide et d'un nanofil analysés par CBED, (b)(c) figures CBED sur le nanofil (de polarité Zn) et la pyramide (de polarité O), comparées à une simulation réalisée avec JEMS.

Synthèse et caractérisation de nanoparticules de Co-Pt épitaxiées

N. Braidy^{1,3}, Y. Le Bouar¹, D. Alloyeau², C. Ricolleau³

¹ CNRS/ONERA, Laboratoire d'Etude des Microstructures - 29, Av de la Division Leclerc, F-92322 Châtillon, France

² Lawrence Berkeley National Laboratory, National Center for Electron Microscopy

³ Université Paris 7 Denis Diderot, Matériaux et Phénomènes Quantiques

La structure et la forme des nanoparticules conditionnent largement leurs propriétés physiques et en conséquence leur application technologique. Dans le cas des nanoparticules magnétiques CoPt et FePt, un paramètre structural important est le paramètre d'ordre, car ce dernier est directement relié à l'anisotropie magnétocristalline. Il est en principe possible de déterminer le degré d'ordre de NPs individuelles par microscopie électronique en transmission (mode haute résolution ou en mode nano-sonde). Cependant, pour des particules déposées sur un substrat amorphe, l'orientation de la structure cristallographique des nanoparticules est aléatoire, ce qui rend fastidieux une étude systématique des nanoparticules par une analyse méthode locale et rend impossible la détermination du paramètre d'ordre par une diffraction de zone. Cette étude montre les dernières avancées relatives à la croissance épitaxiée de NPs de CoPt, dans le but de faciliter l'étude de leurs propriétés physiques.

Les NPs de CoPt ont été fabriquées sous vide par ablation laser (248 nm) alternée de cibles de Co et de Pt [1] sur un substrat de NaCl, fraîchement clivé, chauffé à 400°C [2]. Une fine couche de carbone (10-20 nm) a ensuite été déposée. Le film de NPs a été extrait en dissolvant le substrat de sel dans l'eau et recueilli sur une grille de Mo 300 mesh. Déposé en premier, le Pt forme des germes en épitaxie sur le NaCl avec la même orientation. Ces germes servent par la suite de centres de nucléation pour la croissance tout en maintenant la relation d'épitaxie. Les NPs de CoPt ainsi fabriquées forment des plots de forme cubique, ayant une taille moyenne de ~5-7 nm (Fig. 1a). Des observations de haute résolution et de diffraction indiquent que les NPs sont dans un état désordonné, et qu'elles sont orientées $\langle 001 \rangle$ avec les plans $\{110\}$ parallèles aux facettes des cubes. Des mesures par spectroscopie des rayons X (EDX) indiquent que la composition des NPs se situe autour de 43 % at. de Co.

La mise en ordre des NPs est par la suite induite par un recuit à 700°C de 6 h, sous vide. La figure 2a montre une zone typique de l'échantillon. D'une part, la distribution de taille s'est élargie, avec l'apparition de quelques grosses NPs ayant un diamètre compris entre 10 et 15 nm et d'autre part, on constate l'émergence d'un plus grand nombre de petites particules ayant une taille comprise entre 3 et 5 nm.

Une série de mesures EDX a permis de conclure que les plus grosses particules étaient légèrement enrichies en Co (55 % at), tandis que la proportion de Co diminuait avec la taille de NPs, avec les plus petites saturant à 25 % at. de Co.

La Fig. 2b présente une image de haute résolution de NPs, encore partiellement facettées et légèrement agglomérées. Le spectre de puissance de l'image (Fig. 2c) montre une symétrie d'ordre 8, et s'explique par la superposition de deux spectres carrés, à 45° l'un de l'autre. Une analyse détaillée démontre que les particules sont demeurées selon l'axe de zone [001], qu'elles sont désormais ordonnées avec la structure $L1_2$, et que deux familles de NPs ayant deux orientations cristallographiques bien distinctes sont observées : les premières, similaires aux plots désordonnés avant recuit, ont la direction [110] normale aux facettes du cubes, tandis que les secondes le sont avec la direction [100]. La méthode permet de fabriquer des particules

désordonnées et de les recuire, pour induire l'ordre tout en maintenant leur orientation. Il semblerait que le traitement de recuit ait favorisé la diffusion du Co, atome ayant une plus grande mobilité par rapport au Pt [1]. La diffusion des espèces de Co a enrichi quelques grosses NPs mais a appauvri l'ensemble des plus petites NPs. La déplétion s'est poursuivie jusqu'à un stade d'équilibre, correspondant à la phase CoPt_3 ayant la structure $L1_2$.

A la lumière des analyses, la stratégie qui sera adoptée afin d'obtenir des NPs de CoPt ayant la stoechiométrie 1 :1 sera de déposer les NPs avec un léger excès de Co. Il suffira d'optimiser le temps de recuit afin de favoriser la diffusion du Co vers quelques particules sacrificielles et ainsi obtenir une composition équimolaire de CoPt sur l'ensemble des particules d'intérêt. Avec un tel échantillon, il sera alors possible de réaliser les mesures quantitatives afin de corrélérer l'ordre atomique de NPs de CoPt à l'intensité des taches de diffraction.

[1] D. Alloyeau, Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie (2007)

[2] Y. Hirotsu et K. Sato. J. Ceramic Process. Res., 236-244, 6 (2005)

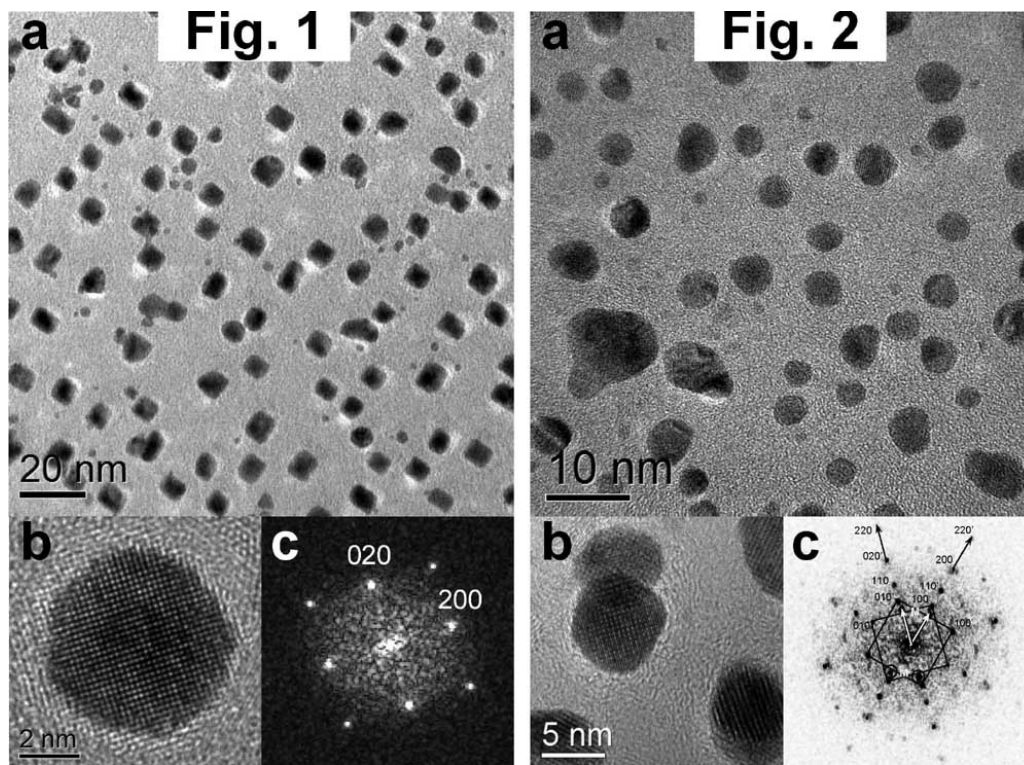


Fig.1 : (a) Réplique sur peau de carbone d'un film de nanoparticules (NPs) de CoPt épitaxié désordonné. (b) Image de haute résolution d'une NP de CoPt vue selon l'axe de zone [001] avec (c) son spectre de puissance correspondant. Fig. 2 : (a) échantillon recuit à 700°C pendant 6 h. (b) Image de haute résolution de deux NPs de CoPt $L1_2$ orientées selon l'axe de zone [001] et (c) son spectre de puissance correspondant indexé. Les taches notées M correspondent à des franges de Moiré ($g'_{220} - g_{020}$ et $g_{220} - g'_{020}$).

Low-loss EELS measurements for bandgap and plasmon analysis

G. Kothleitner¹, B. Schaffer^{1,2}, F. Hofer¹, W. Grogger¹

¹ FELMI, Graz, University of Technology, Steyrergasse 17, 8010 Graz, Austria

² SuperSTEM Laboratory, STFC Daresbury, Keckwick Lane, WA4 4AD Warrington, United Kingdom

With recent progress in advanced TEM equipment and analysis instrumentation, such as C_s-correctors, monochromators and improved energy-filters / spectrometers [1,2], it becomes now possible to tackle materials science problems, which have not been accessible before. Particularly valence electron energy-loss spectroscopy carried out in STEM or in EFTEM mode has recently proven to be powerful for characterising nanostructured devices and functional materials, for instance with respect to semiconductor band-gap analysis or plasmonics, as these can be carried out locally with nanometer resolution on the features of interest. The intention of this paper is to show results achieved in these interesting fields of research.

The bandgap regime ($\sim 1-10$ eV) is difficult or impossible to explore with optical methods, where momentum transfer studies are also not available. With a gun monochromator in combination with a high-resolution EELS spectrometer or imaging energy filter, offering about 100meV resolution, the tails of the zero loss peak are significantly reduced and the peak itself regains symmetry, aiding the processing of the low intensities in that energy region [2]. Results from low-loss measurements of a multilayered oxide system (MgO, ZrO, ZnO), fabricated by pulsed laser PVD, from which bandgap information was extracted, will be presented. The achieved symmetric ZLP width, resulting from the used slit width (370meV), the residual aberrations (100eV), the intrinsic spread (160meV) and the parasitic magnetic fields (50meV), amounted to 420meV, was sufficient to reveal the respective energy-loss structures. As the sample was rather uniform in thickness and was less than half the inelastic mean free path, systematic bandgap shifts could not be observed. Because of the narrow angular dispersion of Čerenkov radiation, its detection was of concern, however, because of large angular collection, its relative intensity was small. Surface plasmon excitation was negligible so that the true direct bandgaps of the respective layers could be mapped [3]. Multivariate statistical analysis (MSA) was also carried out to retrieve unique interface components and by extracting the dielectric functions, theoretical low-loss interface calculations were done to support the experimental findings.

One challenges in the optical studies of nanostructures has also been measuring the plasmon modes of single nanoparticles. Scanning near field optical microscopy (SNOM) and dark field illumination (DF) have demonstrated to measure the absorption or scattering spectrum of single nanoparticles. However, these methods are limited in their ability to spatially resolve the mode structure of the plasmons. Recently, it could be shown that the optical plasmon modes of single nanoparticles can be successfully imaged with EELS in a STEM [4,5]. Alternatively, we have refined and implemented an EFTEM approach, based on spectrum imaging [6,7]. In this paper we will show that EFTEM imaging can be used to directly and efficiently visualize the electromagnetic eigenmodes of surface plasmons of gold nanowires and nanoprisms. The technique surpasses the spatial resolution of optical measurements by more than 1 order of magnitude and still allows for large field of views to be investigated within several minutes.

Despite the instrumental improvements, the handling of dynamically changing intensities in the low-loss area and the correction of artifacts caused by energy- and spatial drift as well as residual aberrations require an elaborated data acquisition and post-processing scheme, which

will also be presented [8].

- [1] S. Lazar et al., *Ultramicroscopy*, 535-546, 96 (2003)
- [2] K. Kimoto et al., *Micron*, 185-189, 36 (2005)
- [3] G. Kothleitner et al., *EMC 2008*, 366-400, 1 (2008)
- [4] M. Bosman et al., *Nanotechnology*, 165505-165510, 18 (2007)
- [5] J. Nelayah et al., *Nature Phys.*, 348-353, 3 (2007)
- [6] B. Schaffer et al., *Micron*, 269-273, 40 (2009)
- [7] B. Schaffer et al., *Phys.Rev. B*, 041401-041404, 79 (2009)
- [8] B. Schaffer et al., *Anal Bioanal Chem*, 1439-1445, 390 (2008)

Etude de la configuration atomique de l'azote dans les nanotubes monoparois dopés (CN_x-SWNTs) par EELS

R. Arenal¹, H. Lin^{1,2}, O. Stéphan³, A. Loiseau¹

¹ LEM, CNRS-ONERA, Chatillon

² MPQ, CNRS-U. Paris VII, Paris

³ LPS, CNRS-U. Paris XI, Orsay

Les nanotubes (NTs) dopés présentent un grand intérêt car leurs propriétés électroniques sont complémentaires de celles des NTs de carbone qui peuvent être semi-conducteurs ou métalliques en fonction de leur structure atomique. En effet, la substitution chimique des NTs de C par des atomes de B et N permet d'introduire des états donneurs ou accepteurs proches du niveau de Fermi et donc de moduler les propriétés électroniques et optiques de ces nanostructures [1,2]. Le but de nos travaux est d'étudier la structure ainsi que la configuration atomique des NTs monoparois de carbone dopés à l'azote (CN_x-SWNTs). Nous avons donc utilisé l'imagerie haute résolution (HRMET) et la spectroscopie de pertes d'énergie (EELS). Pour développer ces dernières études qui sont le cœur de cette contribution, nous avons employé le STEM VG HB501 qui offre les meilleures performances pour ce genre d'étude qui demande à la fois une très bonne résolution spatiale et en énergie. En effet, la technique HRMET ne permet pas d'aborder l'étude des compositions chimiques des échantillons. Nous avons alors utilisé les sondes électronique de forte brillance et de taille sous-nanométrique du STEM et exploité les variations des structures fines près des seuils d'absorption (ELNES) pour sonder l'environnement atomique local aussi bien du C que du N dans le réseau graphitique des NTs [3].

Nous avons réalisé ces études sur deux types de CN_x-SWNTs : 1) ceux synthétisés par vaporisation laser et 2) ceux produits en utilisant la méthode CVD aérosol. Structuralement ces deux types des NTs sont très similaires : diamètres proches de 1.4 nm et longueurs supérieures au micron. Ils se présentent isolés ou organisés en fagots contenant un nombre réduit de NTs.

Les analyses EELS nous ont permis d'estimer le contenu en azote dans ces NTs comme variant entre 0.5 et 2.8 %, avec une valeur moyenne de 1.7 %.

La figure 1 montre un spectre somme des spectres enregistrés sur la région marquée dans le fagot de CN_x-SWNTs de l'insert de la figure. Le seuil K du C est clairement visible dans ce spectre (au delà de 282 eV) et il est possible de distinguer légèrement le seuil K du N (~395 eV). L'étude des structures fines des seuils K du carbone nous a permis de déduire que les NTs présentent un état d'hybridation sp² caractéristique d'un réseau hexagonal et que ces NTs sont bien graphitisés, ne montrant pas de signatures ELNES du carbone amorphe. Quant aux analyses ELNES du seuil K de l'azote (insert de la figure 1), nous avons déduit que l'état d'hybridation de ces atomes d'azote est sp², au même titre que le carbone. Par ailleurs, nous avons observé dans ces seuils d'azote, deux signatures dans la région spectrale qui correspondent à des transitions d'un électron 1s du N vers un état inoccupé π^* . Comme nous le présenterons dans cette contribution, ces deux signatures correspondraient à des configurations pyridiniques et/ou graphitiques des atomes d'azote en substitution des atomes de carbone. Ces résultats ont un clair et grand intérêt pour l'étude des propriétés de ces NTs, en particulier les propriétés électroniques, celles-ci étant fortement reliées à la configuration des atomes de N dans le réseau graphitique.

Nous remercions T. Susi, P. Ayala et E. Kaupinnen pour nous avoir fourni les échantillons de

CNX-SWNTs produits par CVD. Ce travail a bénéficié du soutien du projet Européen STREP BCN Nanotubes 30007654-OTP25763 et du contrat CEDONA de l'ANR.

[1] P. Ewels, M. Glerup, J. Nanosci. and Nanotech. (2005).

[2] P. Ayala, R. Arenal, A. Rubio, T. Pichler, "Doping carbon nanotubes with Nitrogen : a route towards applications", Carbon : From Basic Sciences to technological applications, Ed. (2009)

[3] H. Lin, R. Arenal, S. Enouz-Vedrenne, O. Stephan, A. Loiseau, soumis à J. Phys. Chem. C (2009).

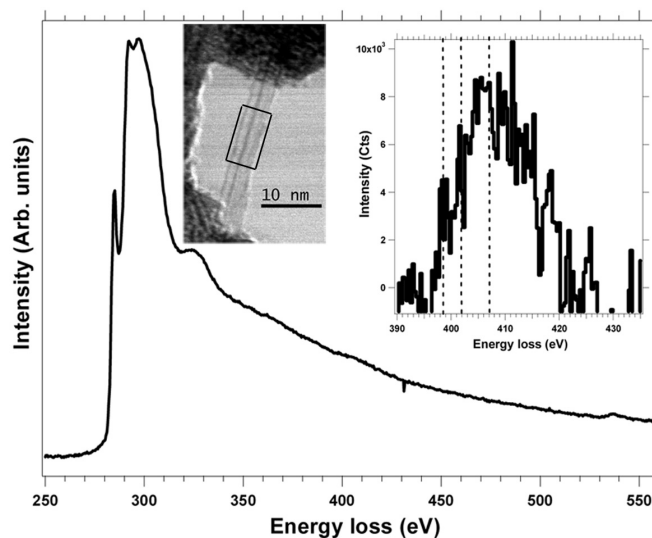


Figure 1. Somme de spectres EELS acquis dans la région marquée dans l'image de champ clair après soustraction du bruit de fond. En insert seuil K de l'azote extrait du spectre global. De gauche à droite, les lignes en tireté indiquent les positions en énergie calculées pour le pic π^* des configurations pyridinique et graphitique et pour le pic σ^* respectivement.

Etude par MET d'une nouvelle génération de matériaux hydrurables à base de Nickel pour accumulateur

R. Serra ¹, V. Serin ¹, M. Hÿtch ¹

¹ CEMES-CNRS, 29 rue Jeanne Marvig, BP 94347, 31055 Toulouse Cedex 4

Le regain d'intérêt suscité par les accumulateurs trouve ses origines d'une part dans l'expansion des applications "portables" (ordinateurs, téléphones), et d'autre part dans la perspective du projet "véhicule électrique". Dans cette optique, il apparaît nécessaire d'améliorer les performances des accumulateurs : la durée de vie, l'absence de nocivité vis-à-vis de l'environnement, la vitesse de charge-décharge, le coût, l'énergie massique et volumique des batteries. L'accumulateur nickel-cadmium (Ni-Cd), en raison de la réglementation européenne (qui vise à leur bannissement pour l'application portable) et de sa densité massique limitée, tend à être remplacé par l'accumulateur nickel-hydrure (Ni-MH). L'électrode négative de ce dernier type de batterie fonctionne par formation réversible et spontanée d'hydrure à partir de la réaction entre un alliage et de l'hydrogène. Il est admis que la durée de vie des accumulateurs Ni-MH est limitée par la corrosion de l'alliage hydrurable utilisé comme matière active de l'électrode négative. L'alliage LaNi₅, premier né de la famille des AB₅, est décrit par une structure hexagonale de type CaCu₅ (groupe d'espace P6/mmm). Le remplacement partiel du lanthane par d'autres lanthanides (Ce, Nd et Pr) et du nickel par d'autres éléments (Al, Co et Mn) a réalisé pour améliorer les propriétés de l'alliage [1]. Le manganèse [2] et l'aluminium [2] ont pour rôle d'abaisser la pression d'équilibre. Mais l'aluminium réduit la capacité de l'alliage [2]. Le cobalt améliore la durée de vie des accumulateurs. L'emploi d'autres lanthanides réduit les coûts de l'alliage et augmente la longévité des accumulateurs. Récemment, de nouvelles phases cristallographiques de type A₂B₇ ou A₅B₁₉ ont été mises en évidence [3]. La présence de ces phases s'accompagne d'une réduction de la décrépitation liée aux variations de volume durant la charge et la décharge. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'influence de la stœchiométrie et de la composition chimique de l'alliage sur la structure de l'alliage et les produits de corrosion, étudiés par microscopie électronique en transmission et spectroscopie de pertes d'énergie d'électrons.

[1] J. J. G. Willems, Philips J. Res., Suppl. 1 (1984), p. 1-94

[2] W. B. Hu, D. M. Kim, S. W. Jeon, et al., J. Alloys Comp., 270 (1998), p. 255-264

[3] M. Latroche, Y. Chabre, A. Percheron-Guégan, O. Isnard, B. Knosp, J. Alloys. Comp., 330-332 (2002), p. 787-791

[4] Ce travail a été fait dans le cadre de l'ANR Mahya, "nouvelles générations de Matériaux hydrurables pour accumulateurs Ni/MH", ANR-07-STOCK-E-MAHYA-07-01, en collaboration avec Michel Latroche, ICMPE-CNRS, Bernard Knosp et Patrick Bernard, SAFT Bordeaux.

Structure électronique et magnétisme de systèmes de spin 1/2 dimérisés : EELS et calculs ab initio

G. Radtke¹

¹ IM2NP, UMR 6242-CNRS, Faculté des Sciences et Techniques, Campus de St Jérôme, case 262, Université Paul Cézanne-Aix Marseille III, 13397 Marseille cedex 20, France

La dimérisation de spins 1/2 localisés, c'est-à-dire la formation d'un état fondamental singulet ($S = 0$) à basse température, séparé des premiers états excités (triplets $S = 1$) par un gap de spin a été observée dans de nombreux cristaux inorganiques. Un intérêt particulier a été récemment porté sur ce type de matériaux car, dans la limite où les interactions entre ces dimères sont faibles, la physique de ces composés se ramène exactement à celle de la condensation de Bose-Einstein [1]. En effet, à partir d'une valeur critique H_c du champ magnétique extérieur, les états $S_z = 1$ des triplets commencent à apparaître dans la mer de singulets, phénomène que l'on peut envisager comme une augmentation de la densité de bosons dans un condensat, densité ajustable en fonction de l'intensité du champ extérieur. Cet effet a déjà été observé dans des systèmes de dimères faiblement couplés tels que $TlCuCl_3$ ou $BaCuSi_2O_6$. Une nouvelle famille de composés suscite actuellement un très vif intérêt dans le cadre de ce type d'étude, de formule générale $A_3M_2O_8$ avec $A=Ba, Sr$ et $M=Mn, Cr$ [2,3]. En effet, dans le $Sr_3Cr_2O_8$ par exemple, les dimères de spin 1/2 proviennent de la formation de paires de Cr tétra-coordonnés qui adoptent la valence assez inhabituelle $5+ (3d^1)$. D'autres systèmes plus complexes, pour lesquels l'approximation de dimères indépendants -ou quasi indépendants- n'est plus valable, ont aussi fait l'objet de nombreuses études. C'est le cas du composé géométriquement frustré $SrCu_2(BO_3)_2$ dans lequel les interactions entre dimères sont à l'origine d'une forte répulsion entre triplets et mènent à la cristallisation de superstructures magnétiques sous fort champ [4]. Je présente ici une étude générale de la structure électronique et des propriétés magnétiques de deux de ces composés, le $SrCu_2(BO_3)_2$ et le $Sr_3Cr_2O_8$ basée sur la modélisation de la structure fine des seuils L_{23} des métaux de transition et du seuil K de l'oxygène. L'analyse quantitative des spectres expérimentaux à l'aide de calculs de multiplets en champ cristallin et de calculs ab initio de structure électronique permet en effet d'obtenir une information précise sur la valence formelle et l'environnement des métaux de transition ainsi que sur la structure des états inoccupés du solide. Il s'agit d'un point essentiel puisque la structure électronique de ces matériaux détermine en grande partie leurs propriétés magnétiques, notamment à travers le signe et l'amplitude des couplages d'échange intervenant entre moments localisés sur les ions de transition.

[1] T. Giamarchi, C. Rüegg, O. Tchernyshyov, Nature Physics, 198, 4 (2008)

[2] H. Tsujii, B. Andraka, M. Uchida, H. Tanaka, Y. Takano, Physical review B, 214434, 72 (2005)

[3] Y. Singh, D.C. Johnston, Physical review B, 012407, 76 (2007)

[4] T.M. Rice, Science, 760, 298 (2002)

Application de la microscopie X polarisée à l'étude de la croissance des coraux

K. Benzerara ¹, N. Menguy ¹, M. Obst ², J. Stolarski ³, M. Mazur ⁴, T. Tyliczak ⁵, G.E. Brown Jr ⁶, A. Meibom ⁷

¹ Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, UMR 7590 CNRS, UPMC, UPD et IPGP, 140 rue de Lourmel. 75015 Paris, France.

² Canadian Light Source, Saskatoon, Canada

³ Institute of Paleobiology, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

⁴ Department of Chemistry, Laboratory of Electrochemistry, University of Warsaw, Poland

⁵ Chemical Sciences Division and Advanced Light Source, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, USA.

⁶ Surface and Aqueous Geochemistry Group, Department of Geological and Environmental Sciences, Stanford University, USA

⁷ Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Minéralogie et Cosmochimie du Muséum (LMCM), UMR 7202, Paris

Les coraux, qui appartiennent au règne animal, sont présents dans presque tous les océans sur Terre et constituent un des puits de carbone les plus importants. Ayant colonisé les mers depuis plusieurs centaines de millions d'années, ils représentent une source d'informations paléoclimatiques essentielle [1]. Des approches géochimiques basées sur l'étude des éléments trace (Sr, Mg) ont récemment mis en évidence l'influence des processus biologiques intervenant dans la croissance des coraux et susceptible de modifier les modèles paléo-climatiques considérés jusqu'à présent [2]. En outre, la remarquable architecture microscopique des coraux suggère un contrôle génétique de la forme du squelette d'aragonite et est ainsi utilisée depuis longtemps pour la classification taxonomique des coraux. Malgré les nombreuses études menées sur le sujet, aucun consensus n'est dégagé sur les mécanismes régissant la nucléation et la croissance de l'aragonite constituant les coraux [3-6]. La méconnaissance de la structure à l'échelle sub-micronique est en partie responsable des désaccords persistants dans la littérature.

Nous avons réalisé une étude combinant l'utilisation d'un microscope à rayons X (STXM) donnant accès à une haute résolution spectrale (~ 0.1 eV) et spatiale (~ 25 nm) et la microscopie électronique en transmission sur une lame FIB de corail contenant un centre de calcification et de larges cristaux d'aragonite [7].

Mettant à profit la dépendance en polarisation de l'absorption des rayons X par l'aragonite, nous avons pu obtenir des informations à l'échelle nanométrique sur la nano-texture et les relations d'orientation cristallographique entre grains d'aragonite du squelette corallien. Nous montrons que les centres de calcification sont formés de monocristaux d'environ 100 nm alignés cristallographiquement sur plusieurs microns. Le reste du corail est constitué de larges fibres monocristallines d'aragonite dont l'orientation est liée par continuité à celles des cristaux du centre de calcification dont elles semblent issues. Ces résultats suggèrent un fort contrôle biologique de l'orientation des mésocristaux d'aragonite formant le centre de calcification.

[1] Marshall J. F. and McCulloch M. T., *Geochim. Cosmochim. Acta*, 3263–3280, 66 (2002)

[2] Meibom A. et al., *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1555-1569, 72 (2008)

[3] Barnes D. J., *Science*, 1305-1308, 170 (1970)

[4] Cuif, J.P. and Dauphin, Y. J., *Struct. Biol.*, 319–331, 150 (2005)

[5] Stolarski, J., *Acta Palaeontologica Polonica*, 497-530, 48 (2003)

[6] Vielzeuf, D. et al., American Mineralogist, 1799-1815, 93 (2008)

[7] Benzerara K. et al. soumis (2009)

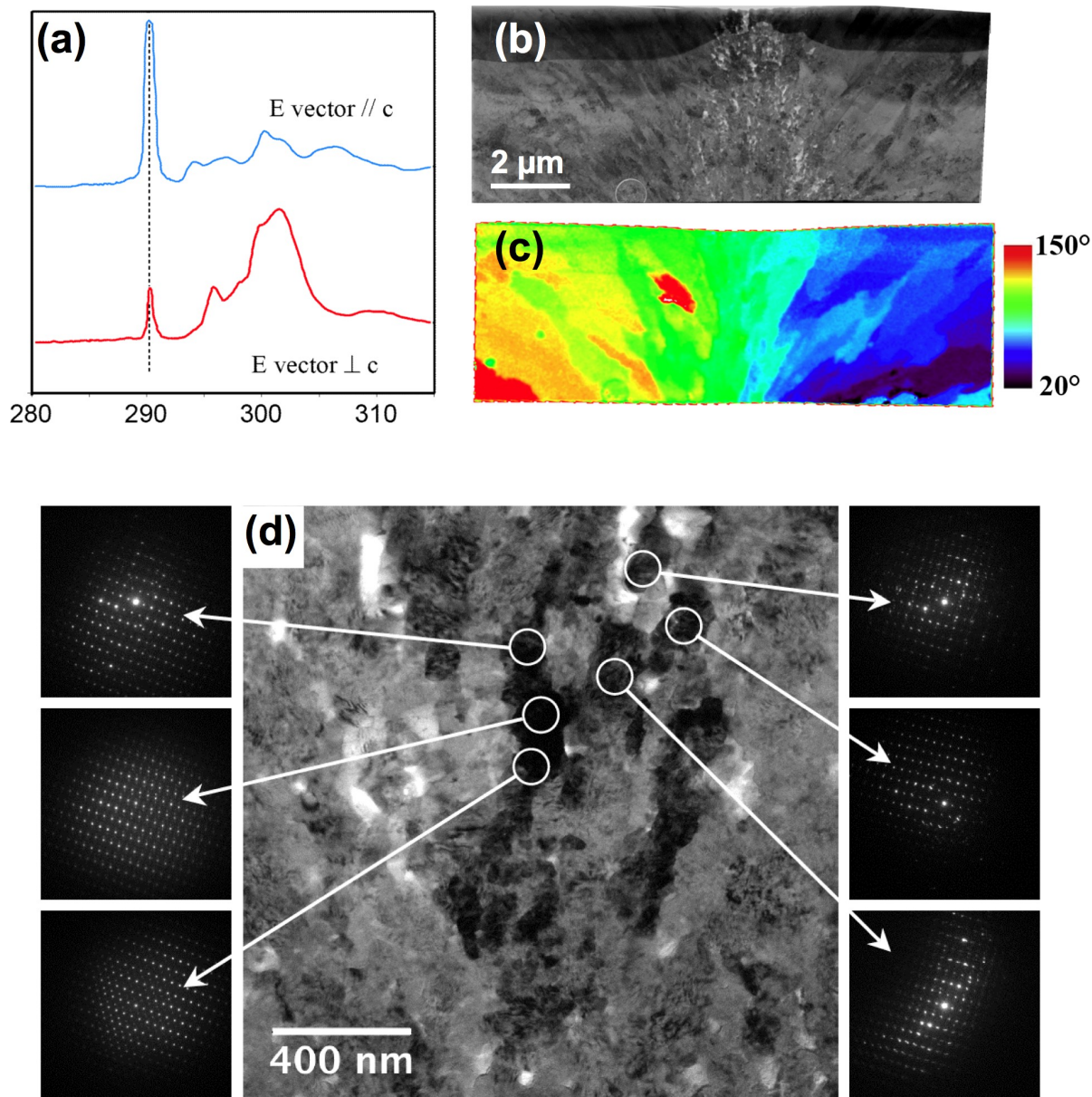


Figure (a) : spectre XANES au seuil K du carbone pour deux directions de polarisation : parallèle ou perpendiculaire l'axe c de la structure aragonite **Figure (b)** : Image champ clair de la lame FIB centrée autour d'un centre de calcification **Figure (c)** : Image STXM mettant en évidence la texture des cristaux d'aragonite. La couleur indique l'angle de polarisation pour lequel un maximum d'absorption est observé **Figure (d)** : Analyse des orientations cristallographiques des grains d'aragonite dans le centre de calcification

SiC par Microscopie Electronique Haute Résolution Corrigée

M. Texier¹, J. Thibault-Pénisson¹, T. Neisius¹

¹ IM2NP, UMR 6242-CNRS, Université Aix-Marseille III

L'utilisation du microscope électronique en transmission FEI 300kV Titan 80-300 équipé d'un correcteur d'aberrations en image CEOS a permis l'observation des colonnes atomiques individuelles dans SiC-4H selon l'axe [11-20]. Ces colonnes sont distantes de 0,109nm. Des séries focales ont été enregistrées à 300kV. La microscopie corrigée révèle sans ambiguïté que les colonnes de Si et de C sont discriminées en intensité. La figure 1a montre une des images d'une série focale de SiC-4H révélant clairement les colonnes Si et C. La figure 1b montre le profil d'intensité extrait de cette image et révélant la différence d'intensité entre les colonnes Si et C. La simulation de l'image dans les mêmes conditions expérimentales montre la grande concordance entre expérience et simulation que ce soit l'image ou le profil (Fig.1c). On montrera combien l'introduction dans les simulations d'images des valeurs de toutes les aberrations géométriques et chromatiques ainsi que la prise en compte de la dérive lors des temps d'acquisition de chaque image d'une série focale sont de première importance pour reproduire parfaitement l'évolution du contraste de toutes les images de cette série focale. L'alignement du correcteur et les valeurs des coefficients d'aberration seront discutés. Les simulations ont été faites grâce au logiciel JEMS (P. Stadelmann) et les traitements d'image ont été effectués grâce au logiciel Digital Micrograph.

Le microscope a été financé par le Conseil Général, la Région PACA et l'Europe dans le cadre de CIMPACA association regroupant Université et Industriels. Les auteurs remercient le Prof. A. Charaï sans qui cette opération n'aurait pas été possible.

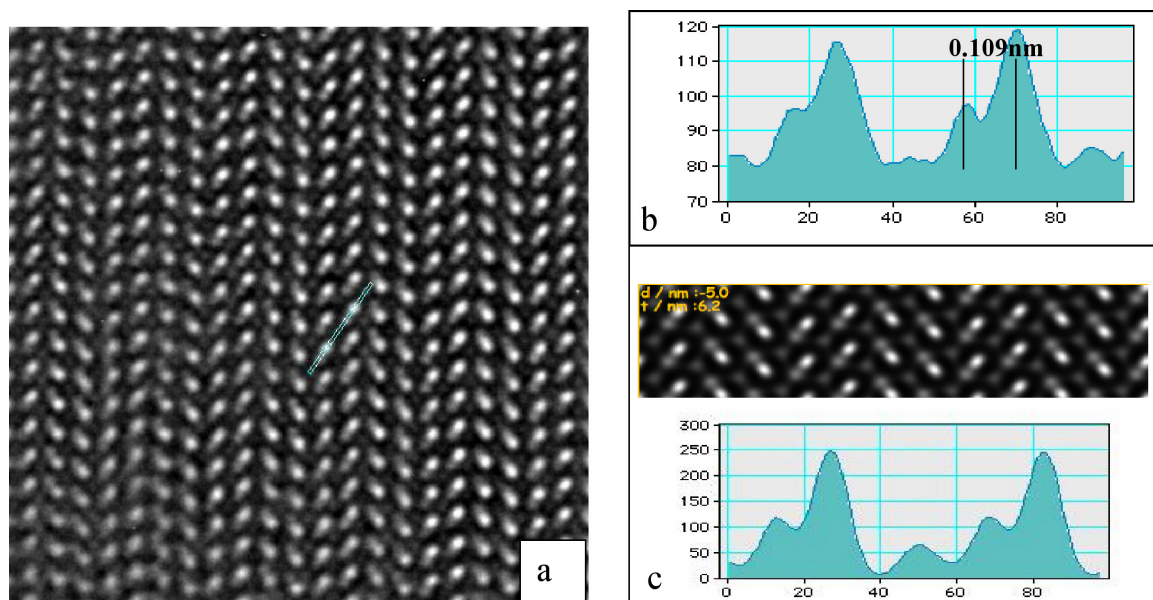


Fig 1 : a) Image expérimentale SiC vu selon [11-20]. Les doublets Si-C (distance 0,109nm) sont imagés. Si et C sont clairement discriminés. b) Profil d'intensité des doublets SiC.c) Simulation de l'image dans les mêmes conditions expérimentales et profil d'intensité extrait de cette simulation.

Analyses EELS de défauts ponctuels au niveau des joints de grains de l'alumine dopée à 0.5% de fer et du spinelle MgAl_2O_4 , élaborés par frittage flash

A. Mussi¹, A. Addad¹, F. Béclin¹, A. Bataille¹, G. Bernard-Granger², N. Benameur², K. Vanmeensel³

¹ LSPES, Université de Lille 1, France

² Saint Gobain, Cavaillon, France

³ MTM, K.U. Leuven, Belgique

Introduction : Le frittage flash permet d'obtenir des matériaux massifs et denses de microstructures nanométriques. En effet, ce procédé de frittage, applicable aussi bien pour les alliages métalliques que pour les céramiques, permet de réduire considérablement la croissance granulaire en réduisant d'une part la température de frittage et en accélérant d'autre part la cinétique de densification des microstructures. Une des explications possibles est une montée rapide de la température induite par les pulses de courant dans l'échantillon. Cependant, dans le cas des matériaux isolants tel que les céramiques, le processus d'un tel frittage n'est pas encore compris. Dans les céramiques de type oxyde, les défauts ponctuels, qui participent aux mécanismes de diffusion lors du frittage, sont chargés. Leurs comportements et leurs répartitions doivent donc être impactés par le courant qui traverse le matériau.

Béclin et al. [1] ont montré que le mécanisme de déformation superplastique du spinelle MgAl_2O_4 élaboré par frittage à chaud sous charge (taille des grains résultante de 610 nm), est contrôlé par réaction d'interface : l'accommodation des grains au cours du mécanisme de glissement aux joints de grains est contrôlée par la nucléation et le mouvement de défauts ponctuels, comme les défauts d'inversion (défauts chargés), au niveau des joints. La présence d'une charge d'espace, générée par la présence de défauts chargés à proximité des joints de grains, influe sur la mobilité et la nucléation de ces mêmes défauts et donc sur les propriétés superplastiques. De même, Bataille et al. [2] ont noté une augmentation de la vitesse de déformation superplastique de l'alumine par un dopage au fer. La présence de cations Fe^{2+} aux alentours des joints de grains (Fe'_{Al} d'après les notations de Kröger-Vink [3]), participe à la charge d'espace et augmente la population de défauts ponctuels ($\text{Al}_i^{\circ\circ}$ et $\text{V}_O^{\circ\circ}$) aux joints de grains qui à leurs tours facilitent l'intercalation des grains.

La spectroscopie EELS (Electron Energy Loss Spectroscopy) permet d'effectuer des caractérisations précises de la nature chimique et de l'environnement atomique local d'un matériau. Cette affiche va donc porter sur les analyses EELS des défauts d'inversions dans le spinelle MgAl_2O_4 élaboré par frittage flash ($\text{Al}_{\text{Mg}}^{\circ}$ en particulier), ainsi que la répartition du fer autour des joints de grains de l'alumine dopée avec 0.5% de fer, élaborée par frittage flash.

Résultats et discussion :

a) Spinelle MgAl_2O_4 : Des analyses ELNES (Energy Loss Near Edge Structure) des seuils $L_{2/3}$ de l'aluminium ont été effectuées sur du MgAl_2O_4 stœchiométrique élaboré par frittage naturel, frittage naturel suivi de frittage sous presse isostatique à chaud et frittage flash. Pour chaque procédé d'élaboration, les analyses ont été menées aux cœurs des grains et dans des zones englobant des joints triples. Sur la figure 1 nous pouvons distinguer les pics I_{Tetra} et I_{Octa} représentatifs de la part d'atomes d'aluminium en site tétraédrique ($\text{Al}_{\text{Mg}}^{\circ}$) et de la part d'atomes d'aluminium en site octaédrique ($\text{Al}_{\text{Al}}^{\times}$). En effet, d'après Bruley et al. [4], le rapport de l'aire de ces pics ($r = I_{\text{Tetra}}/I_{\text{Octa}}$) est proportionnel à la quantité d'aluminium en site tétraédrique.

Cette étude montre que la proportion d' Al_{Mg}° est à peu près la même aux cœurs des grains et aux joints triples du MgAl_2O_4 élaboré par frittage naturel, cette proportion est légèrement plus importante aux cœurs des grains par rapport aux joints triples du MgAl_2O_4 élaboré par frittage naturel suivi de frittage sous presse isostatique à chaud, enfin cette différence est beaucoup plus marquée pour le MgAl_2O_4 élaboré par frittage flash (voir figure 2). L'écart de population de défauts chargés dans le spinelle élaboré par frittage flash pourrait provenir des mécanismes de frittage. En effet, il est probable qu'une conduction ionique au sein de matériaux isolants (comme MgAl_2O_4) ait lieu au cours de ce frittage, et la structure d'une charge d'espace en serait la trace.

b) Alumine dopée avec 0.5% de fer : Des cartographies EFTEM (Energy Filtered Transmission Electron Microscopy) du fer ont été effectuées sur de l'alumine élaborée par frittage flash et dopée à 0.5% de fer. La figure 3 montre que le fer est réparti de part et d'autre des joints de grains mais n'est pas situé dans les joints. Ce résultat est en accord avec l'étude de Bataille et al. [2] sur la structure de la charge d'espace induite par la présence du fer dans l'alumine. En effet, ces auteurs avaient prévu une répartition du fer ferreux (Fe'_{Al}) autour des joints de grains d'alumine et des lacunes d'oxygène ($\text{V}_O^{\circ\circ}$) ainsi que des atomes d'aluminium en sites interstitiels ($\text{Al}_i^{\circ\circ}$) dans les joints (voir figure 4).

Perspectives : Afin d'identifier précisément la nature des défauts chargés (Al_{Mg}° pour le spinelle et Fe'_{Al} pour l'alumine dopée au fer), des spectres de lignes en mode STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy) devront être effectués de part et d'autre des joints de grains du spinelle et de l'alumine. Par ailleurs, des analyses de haute résolution permettraient de déterminer, à l'aide du logiciel GPA (Geometric Phase Analysis [5]), la déformation locale engendrée par la présence des charges d'espace et de déterminer en retour les potentiels de charge d'espace.

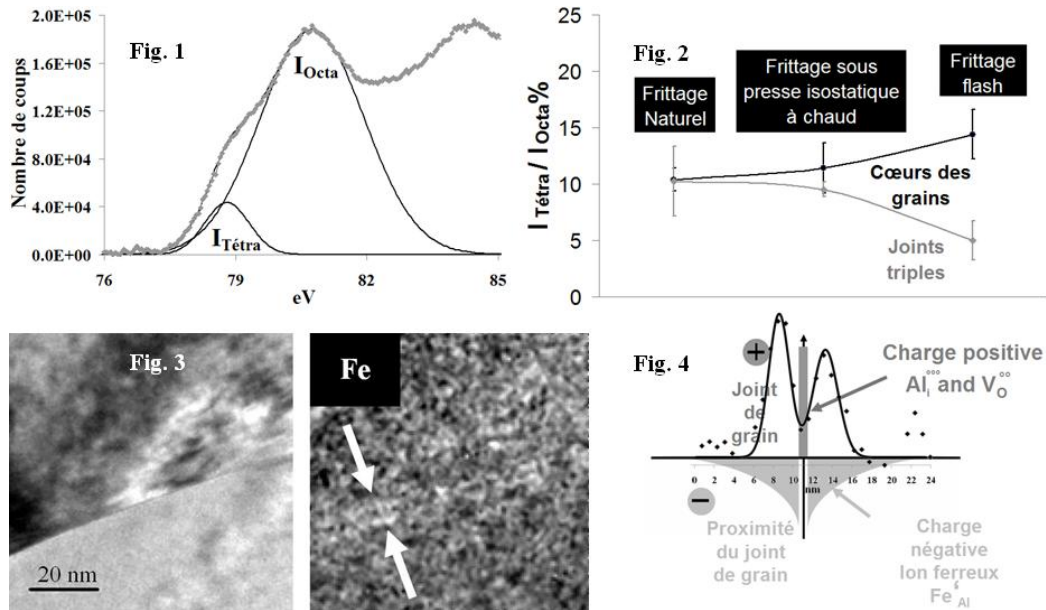
[1] F. Béclin, R. Duclos, J. Crampon and F. Valin, *Acta Met.*, 2753, 43 (1995)

[2] A. Bataille, A. Addad, C. Courtois, T. Duhoo and J. Crampon, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 1129, 28 (2008)

[3] F.A. Kröger, H.J. Vink, *Relation between the concentrations of imperfections in crystalline solids*, ed. F. Seitz and D. Turnbull, *Solid State Physics - Advance in Research Applications*, vol. 3, Academic Press (1956)

[4] J. Bruley, M.W. Tseng and B. Williams, *Microsc. Microanal. Microstruct.*, 1, 6 (1995)

[5] M.J. Hytch, E. Snoeck and R. Kilaas, *Ultramicroscopy*, 131, 74 (1998)



(1) Seuil $L_{2/3}$ de l'Al du spinelle $MgAl_2O_4$, (2) évolution de r avec le procédé de frittage, (3) cartographie EFTEM du fer dans Al_2O_3 dopée au Fe et (4) charge d'espace dans Al_2O_3 dopée au Fe d'après [2], associée avec le profil du fer extrait de la cartographie EFTEM de la Fig. 3.

Etude structurale et chimique par microscopie électronique à transmission de tri couches Pt/Co/Alumine

C. Arm ¹, P. Bayle-Guillemaud ¹, L. Grenet ², M. Jamet ², B. Rodmacq ³, B. Dieny ³, E. Gautier ³

¹ CEA, INAC, SP2M, LEMMA, 17 rue des martyrs, F-38054 Grenoble Cedex 9, France

² CEA, INAC, SP2M, NM

³ SPINTEC, URA 2512 CEA/CNRS

La microscopie électronique à transmission (MET) se révèle être un outil puissant pour la caractérisation chimique et structurale de matériaux innovants dédiés à l'intégration dans des dispositifs magnétiques. Les multicouches (métal non magnétique/métal magnétique/oxyde) du type Pt/Co/Alumine sur substrat de SiO₂ ont déjà fait l'objet de plusieurs études [1,2] en vue de leur utilisation dans des jonctions tunnel à aimantation perpendiculaire, de leur intégration dans le stockage sur média discret multi-niveaux (type MRAM) ainsi que pour la réalisation d'injecteurs de spin dans des hétéro structures semi-conductrices³. Une étude physico-chimique du matériau et des interfaces permettent de mieux comprendre les propriétés magnétiques remarquables de ces systèmes (anisotropie magnétique perpendiculaire). Les techniques expérimentales mises en œuvre sont la microscopie haute résolution, l'imagerie filtrée en énergie (EFTEM), le STEM haute résolution et la spectroscopie par perte d'énergie des électrons (EELS).

La stoechiométrie de la couche d'alumine, l'épaisseur de la couche de cobalt et un traitement en température sont les trois paramètres qui permettent de contrôler l'anisotropie perpendiculaire et sa saturation. Avant recuit l'état d'aimantation est planaire alors qu'après recuit, de 200 à 420°C, la couche présente une anisotropie perpendiculaire à l'état rémanent. L'épaisseur de cobalt est optimum entre 0.6 et 1.6 nm. Au-delà le cobalt ne mouille plus le platine et se dépose en agrégats par coalescence. Lorsqu'on recuit à plus de 420°C, le cobalt diffuse dans la couche d'alumine et on perd l'anisotropie. On désire comprendre d'où vient l'anisotropie après recuit, s'il s'agit d'une mise en ordre de l'alliage Co/Pt ou de la formation d'un oxyde de cobalt antiferromagnétique par diffusion de sites d'oxygène dans la couche de cobalt. Pour cela, nous avons observé deux types d'échantillons pour notre étude ; des tri couches Pt/Co/alumine et le dépôt inverse alumine/Co/Pt sur substrat de Si/SiO₂. Dans le premier cas, on dépose de l'aluminium sur le cobalt qu'on oxyde naturellement. Ce type de dispositif est étudié dans le cadre des MRAM. Dans le second cas, on dépose directement de l'alumine sur le substrat par pulvérisation. Dans ce cas on s'intéresse à des injecteurs de spin.

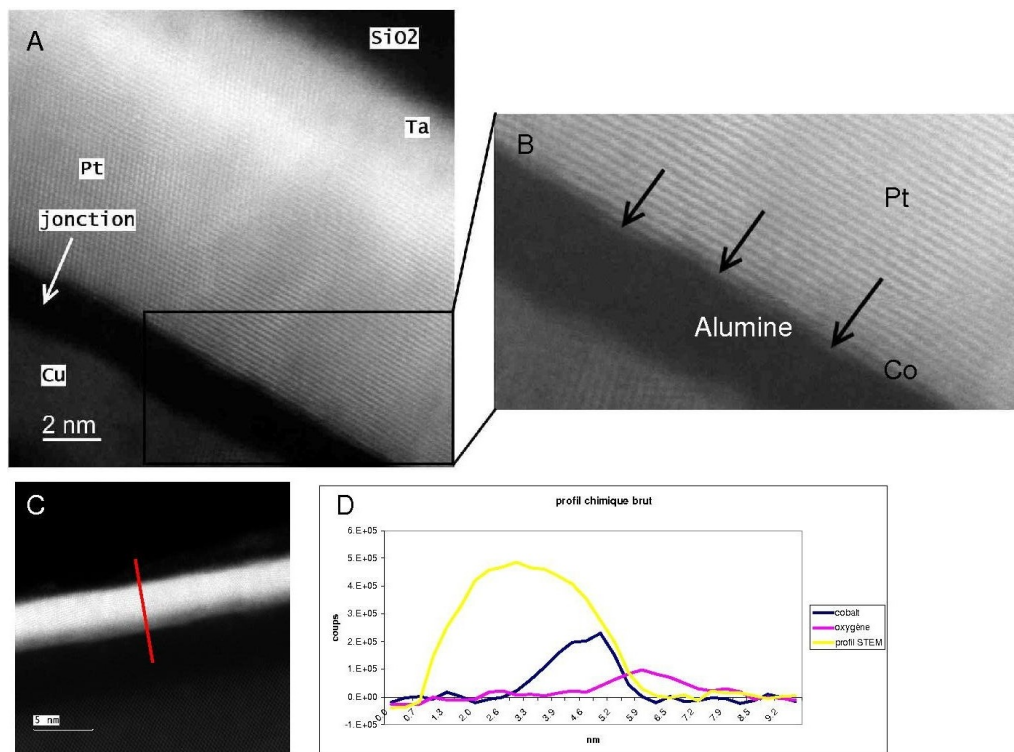
Pour nos observations nous avons utilisé un microscope Jeol 3010 pourvu d'un filtre d'imagerie Gatan ainsi que d'un Titan-FEI à émission de champ avec correcteur d'aberration de sonde CEOS. Les Figures A et B présentent des images STEM haute résolution obtenues sur l'interface Pt/Co/Al₂O₃ avant recuit thermique. Des marches atomiques à la surface du Co sont clairement mises en évidence par l'imagerie de contraste en Z. Les Figures C et D présentent un profil chimique EELS sur l'interface Al₂O₃/Co/Pt obtenu avec une sonde atomique dans le cas d'un échantillon avant recuit. La largeur de la couche de Co mesurée est de 2 nm pour 1.6nm nominal. Les profils chimiques du Co-L_{2,3} et O-K montrent clairement un mélange O et Co sur 2 ou 3 plans atomiques. Nous ferons une étude comparative des résultats obtenus sur les échantillons brut et recuit pour déduire les effets relatifs à l'interface Co/Al₂O₃.

[1] B. Rodmacq, S. Auffret, B. Dieny, S. Monso, P. Boyer, Journal of Applied Physics 93,

7513 (2003)

[2] A. Manchon, S. Pizzini, J. Vogel, V. Uhler, L. Lombard, C. Ducruet, S. Auffret, B. Rodmacq, B. Dieny, M. Hochstrasser, et G. Panaccione, *Journal of Applied Physics* 103, 07A912 (2008)

[3] L. Grenet, M. Jamet, P. Noé, V. Calvo, J.-M. Hartmann, L.E. Nestor, B. Rodmacq, S. Auffret, P. Warin, Y. Samson, *Applied Physics Letters* 94 032502 (2009)



La jonction tunnel d'alumine d'une tri couche brute de recuit apparaît en noir en mode Dark Field et le platine émet le plus de signal car c'est l'élément le plus lourd ici ($Z=78$). L'encart est un zoom sur l'interface métal/barrière, les flèches désignant des marches atomiques de cobalt. Le graphe représente le profil chimique le long du scan en rouge.

Premières cartographies chimiques EELS à l'échelle atomique réalisées avec l'UltraSTEM sur des dispositifs pour l'oxytronique

D. Imhoff¹, M. Walls¹, K. March¹, C. Colliex

¹ Laboratoire de Physique des Solides, UMR CNRS-UPS, bat. 510, F-91405 Orsay

Les correcteurs d'aberration sphériques implantés sur des STEM ont déjà révélé leur intérêt pour l'étude de dispositifs pour la spintronique [1] et plus spécialement pour les hétérostructures à base d'oxydes pérovskites (« oxytronique »). Implanté en 2008 à Orsay, le prototype UltraSTEM construit par la société NION [2] et fonctionnant actuellement avec un canon 100 kV a démontré, dès ses premières observations, son potentiel pour l'imagerie chimique de colonnes atomiques à partir de la spectroscopie de pertes d'énergie des électrons. Il révèle notamment un gain d'un facteur 5 dans l'échantillonnage des spectres-images par rapport à un STEM VG sans correcteur d'aberration, et par conséquent donne accès à une analyse à l'échelle atomique.

Un premier exemple d'applications concerne le système original d'une jonction tunnel basée sur la seule modification chimique du composé $\text{La}_{1-x}\text{Ca}_x\text{MnO}_3$ qui en fonction de la valeur de x présente des propriétés différentes. Pour x inférieur à 0,2 ou supérieur à 0,6, c'est un isolant antiferromagnétique dont l'ion manganèse présente respectivement un caractère tendant vers 3+ ou 4+. Entre ces deux gammes du rapport La/Ca, il existe un domaine où le matériau devient un métal ferromagnétique pour une température de Curie qui reste inférieure à la température ambiante. Ce système est élaboré à Madrid [3] à travers l'hétérostructure $\text{La}_{0,7}\text{Ca}_{0,3}\text{MnO}_3$ LC3MO/LC7MO/LC3MO déposée sur un substrat de STO. La figure 1 montre une image en fond noir annulaire à grand angle (STEM-HAADF) du système en coupe transverse, où le contraste plus sombre au centre permet de localiser la barrière par la présence plus importante de l'élément léger Ca. La figure 2a est une superposition des cartographies chimiques de Mn (en rouge) et de La (en vert) issues de spectre-images résolus atomiquement. La figure 2b représente la structure modèle de LCMO pour la même direction de projection ($\langle 100 \rangle$). Les figures 3 révèlent ensuite les variations de composition en La et Ca à travers la barrière (c-d) avec en référence l'image et les profils du signal HAADF correspondants (a-b). Les spectre-images ont été acquis en utilisant le correcteur de dérive qui reste cependant inférieure à 0,2 nm/mn. Une analyse en composantes principales (léger « denoising ») ainsi qu'un filtre gaussien sont exploités pour la figure 2a. L'exploitation des profils des différents éléments le long des interfaces (La, Ca, O, Mn) ainsi que la comparaison des périodicités observées seront présentées et discutées.

Le second exemple concerne le même composé $\text{La}_{\frac{2}{3}}\text{Ca}_{\frac{1}{3}}\text{MnO}_3$ déposé sur un substrat de STO [4,5,6]. L'équipe de Barcelone qui élabore ce système, s'intéresse à l'influence de l'orientation du substrat sur les propriétés de transport à travers l'interface manganite/isolant. Le caractère abrupt des interfaces ainsi que l'état d'oxydation ont été étudiés et seront discutés pour les orientations $\langle 100 \rangle$ et $\langle 110 \rangle$.

Si ces premiers résultats apportent déjà des informations pertinentes du point de vue des propriétés physiques, c'est l'étude des états électroniques à plus haute résolution spatiale qui justifie l'optimisation du couplage entre le microscope et le spectromètre, l'implantation d'un système de détection EELS « maison » et probablement un canon à plus forte énergie (analyse de zones sensiblement plus épaisses). Mais d'ores et déjà, ces premières images ouvrent de nombreux champs d'investigation : l'étude des effets de périodicité dans les images, la quantification du contraste en fond noir, les séries focales en faisceau très convergent, les effets de canalisation, la localisation exacte du signal (diamètre apparent et " cross-talk " entre colonnes), estimation

de la profondeur de champ, les interactions multiples élastiques-inélastiques et leur influence sur la quantification du signal EELS. En s'appuyant sur notre expérience balbutiante à partir de l'étude des interfaces dans des empilements hétérogènes de pérovskites, notre ambition dans cette présentation est d'identifier les points à débattre et de promouvoir la discussion sur ces thèmes dans la perspective d'une analyse ultime sub-eV et sub-angström.

[1] D. Muller et al., Science 319 1073 (2008)

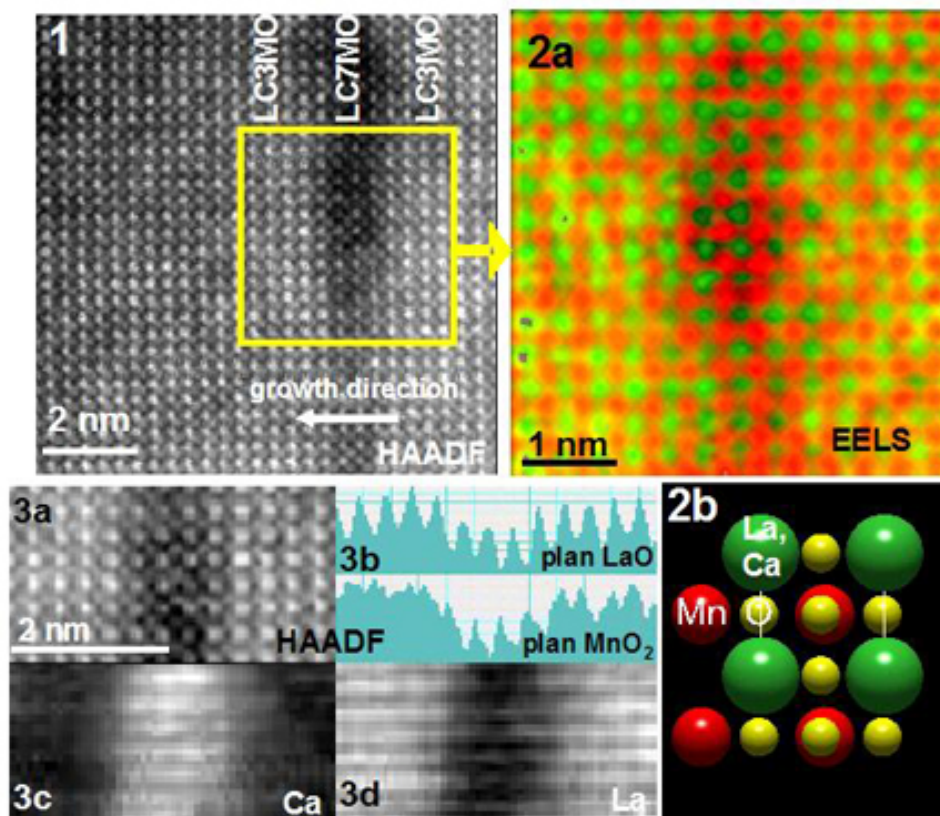
[2] NION UltraSTEM100, Nion Co, 1102 8th St., Kikland, WA 98033, USA

[3] Collaboration avec l'Université de Madrid, Rutherford Appleton Lab., l'UMR CNRS-THALES et l'appui du réseau METSA.

[4] Collaboration avec l'Université de Barcelona

[5] S. Estrade et al., Appl Phys Lett., 93 112505 (2008)

[6] European project STREP SPANS NMP4-CT-2006-016881 and European Integrated Infrastructure Initiative ESTEEM R113-CT-2006-026019



New Fullerene like materials : chemical composition and structure identification

C. Mirguet ¹, N. Brun ², P. Hatto ³, C. Davies ³, L. Bedel ⁴, C. Colliex ², V. Serin ¹

¹ CEMES-CNRS, 29 rue J. Marvig, 31055 Toulouse

² LPS-CNRS, Université Paris Sud, 91405 Orsay

³ IonBond Limited, Unit 36, No.1 Industrial Estate, Consett, Co Durham DH8 6TS, UK

⁴ CEA-Grenoble - LITEN-DTNM, LTS : Laboratoire des Technologies des Surfaces, 17 Rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9

Fullerene-like materials can be defined as materials made up of two-dimensional lamellar basic units of nanoscale dimensions with closed and curved shapes. They can grow in the solid phase into three-dimensional networks or architectures displaying a wide range of morphologies. The basic origin of these new phases lies in the role of dangling bonds at the periphery of sheets of such small sizes, which destabilise planar structures and induce closing. The atomic-scale structure of these materials involving strong covalent inter-atomic bonding and non-compact space filling, make them strong candidates for breakthrough developments, of potentially high interest in many industrial fields.

In the present paper we report the study of samples developed with the overall objective to provide industry with radically new composite coating systems. The application of the composite coatings will be for surfaces and lubricants, in order to significantly reduce and control friction and wear in tribological contacts. The ultimate aim is to reduce friction as well as to extend operational life, reduce maintenance requirements and reduce the environmental impact of a wide range of mechanical elements for the aerospace, automotive, power generation (energy) and manufacturing industrial sectors [1, 2,3].

The studied samples have been prepared by arc evaporative PVD using two types of precursors. In both cases 002 fringes are formed and start to curve in situ within the matrix. The chemical composition of the inorganic fullerene-like materials (IFLM) as well as the nature of the matrix have been locally studied using TEM and EELS. Raman and XRD experiments afford macroscopical complementary information. We show that the chemical affinities of the species in presence lead to the formation of either MoS₂ fringes or MoC₂ IFLMs. These results will be discussed together with the influence of the elaboration conditions.

[1] L. Rapaport, Y. Feldman, M. Homyonfer, H. Cohen, J. Sloan, J.L. Huchison, R. Tenne, Inorganic-like fullerene-like material as additives to lubricants ; structure-function relationship, *Wear*, 225-229 (1999) 975-982

[2] M. Choowalla and G.A.J Amaratunga, Thin films of fullerene-like MoS₂ nanoparticles with ultra-low friction and wear, *Nature*, 407 (2000) 164 – 167

[3] L. Rapaport, V Leshinsky, M. Lovovsky, I. Lapsker, Y. Volovik, Y. Feldman, R. Popovitz-Biro, R. Tenne, Superior tribological properties of powder materials with solid lubricant nanoparticles, *Wear* 255, (2003) 794-800

[4] The authors are pleased to acknowledge the financial support of the EC (FOREMOST, Contract no. : FP6-515840)

Model-less Spectrum Image quantification by Independent Components Analysis

F. de la Peña ¹, M. López-Haro ², S. Trasobares ², M. Kociak ¹, M.G. Walls ¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris Sud, Bâtiment 510, 91405 Orsay

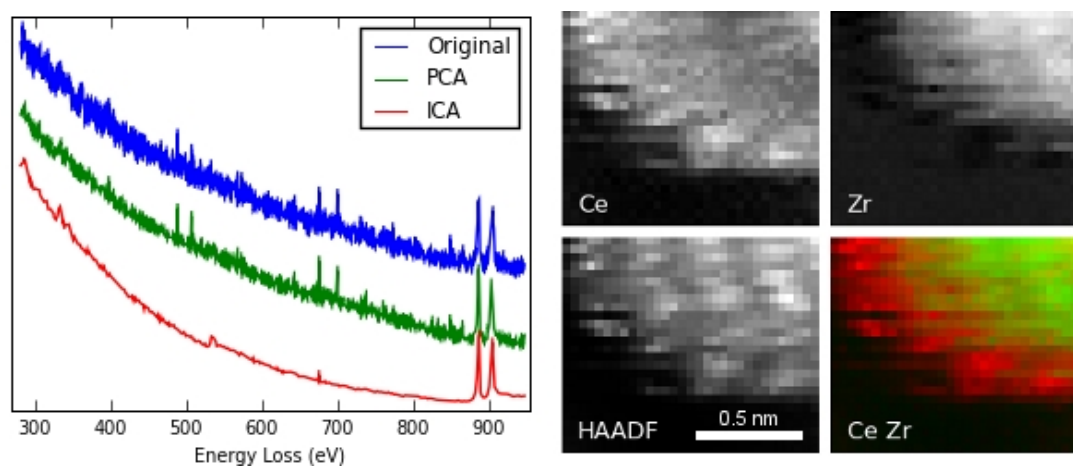
² Universidad de Cádiz, Campus Universitario Rio San Pedro s/n, 11510 Puerto Real, Spain

Principal Components Analysis has proven to be useful in data analysis of spectrum-images (SIs) [1] for denoising and number of components estimation. However, the components obtained by this method are not in general physically interpretable. Another method, Independent Components Analysis (ICA) [2], can identify the physical components of an SI under the assumption that they are mutually statistically independent. ICA thus has the potential to enable model-less quantification.

We have successfully applied it to the quantification of an atomic-resolution SI acquired in the Orsay Nion UltraSTEM 100TM from a CeZrO_{2-x} catalyst. Furthermore we show that in this case it surpasses PCA in signal denoising because it is able to filter a “ghost” background present in our microscope.

[1] M. Bosman, M. Watanabe, D.T.L. Alexander and V.J. Keast, *Ultramicroscopy*, 1024, 106 (2006)

[2] N. Bonnet and D. Nuzillard, *Ultramicroscopy*, 327, 102 (2005)



(left) Original spectrum and reconstructed spectra by PCA and ICA. (right) Independent components maps corresponding to Ce (red) and Zr (green).

Influence d'un traitement thermomécanique complexe sur les évolutions microstructurales et les propriétés élastiques et acoustiques associées dans le cas d'un alliage de cuivre utilisé dans la fabrication d'instruments de musique

B. Bacroix¹

¹ LPMTM, Institut Galilée

Des échantillons de laiton prélevés sur des instruments de musique (cuivres) ont été caractérisés par EBSD après différentes étapes de mise en forme. Les principales orientations cristallines ainsi que la taille de grain ont été déterminés pour chaque échantillon. On a tout d'abord montré que le matériau était fortement anisotrope d'un point à l'autre de l'instrument. Par un traitement d'images associées, on a ensuite tenté de caractériser le taux final de restauration des grains (mécanisme de self-recovery). Ces observations sont enfin corrélées aux propriétés élastiques du matériau et la possible influence de cette anisotropie sur les propriétés acoustiques est brièvement discutée.

Les microscopies au service du patrimoine : études de cas traitées au laboratoire EDF-Valectra

E. Pons¹

¹ EDF RetD VALECTRA

Dans le cadre du mécénat de compétences de la Fondation EDF, le laboratoire Valectra réalise des opérations alliant expertise matériaux et conservation-restauration, à la demande de musées ou de missions archéologiques, sur des œuvres d'art ou des objets archéologiques. L'expertise matériaux a le double objectif de définir le traitement de restauration adapté et de fournir des informations sur les techniques de fabrication et sur les restaurations ou remaniements déjà subis. Une des difficultés majeures rencontrées sur les objets du patrimoine concerne le prélèvement qui se doit d'être de très petites dimensions et le plus discret possible, et sa préparation pour analyse. Les microscopies (optique, MEB, Dual-Beam FIB, MET) sont alors des outils de choix. La microscopie électronique à balayage est la plus sollicitée, associée à la microanalyse, puisqu'elle se contente d'infimes prélèvements. Parmi les exemples présentés, nous verrons comment la microscopie électronique en transmission a permis de déterminer le traitement de surface d'épingles en alliage cuivreux, comment une préparation par faisceau d'ions a contribué à l'identification de l'alliage d'une statuette méroïtique du Soudan, ou encore comment des pigments ont pu être analysés sur des manteaux amérindiens en peau animale.

Utilisation du MEB dans l'étude de la solidification d'alliages

D. Daloz¹

¹ Institut Jean Lamour, Département SI2M

Pour la plupart des matériaux métalliques de structures, la filière d'élaboration comporte le passage de l'état liquide à l'état solide. C'est au cours de cette étape que le métal acquiert pour la première fois une structure. Suivant qu'il s'agisse de demi-produit, de produit fini et suivant la nature du matériau cette structure sera définitive ou partiellement voire totalement transformée au cours des étapes ultérieures d'élaboration (transformations à l'état solide, traitements thermomécaniques...). Dans les deux cas, l'intégrité du produit final dépendra de la "qualité" métallurgique de la structure de solidification. En nous appuyant sur des exemples issus aussi bien de développement de procédés d'élaboration industriels que de développement d'alliages en laboratoire, nous montrerons au cours de cet exposé en quoi les techniques reposant sur la microscopie électronique à balayage fournissent différents éléments clés pour la compréhension et le contrôle des mécanismes métallurgiques intervenant au cours de la solidification.

Les aciers damassés décryptés

M. Durand-Charre¹

¹ SIMAP-GrenobleINP

Des examens et des analyses au MEB ont été pratiqués pour étudier des vestiges d'acier. Ils éclairent l'évolution du savoir-faire des forgerons pendant plusieurs millénaires. Les exemples choisis sont des aciers forgés composites, précurseurs en quelque sorte des aciers damassés. Ce sont des lames d'épées mérovingiennes figurées, des couteaux des chevaliers paysans de l'an mil, des lames en wootz du XVIIe siècle pour montrer le secret de leur fameux tranchant et la version moderne pour un acier damassé.

A new type of $\langle 001 \rangle$ junction, observed in a (B2) Fe-Al-Ni-B alloy by TEM in-situ straining

A. Fraczekiewicz¹, B. Décamps², D. Colas¹, O. Calonne¹, F. Louchet³

¹ ENSMSE, UMR CNRS 5146, 42100 St-Etienne

² CSNSM, UMR CNRS 8609, Université Paris-Sud, 91405 Orsay

³ LGGE, UMR CNRS, Domaine Universitaire BP96, 38402 St Martin d'Herès

Among main characteristics of B2-ordered FeAl alloys, one finds a tendency to a brittle cleavage fracture at room temperature, as well as their "yield strength anomaly (YSA)", a complex phenomenon resulting in an increase of the alloy's yield stress (YS) in a domain of temperatures (400-700°C) where its decrease could rather be expected. The origins of YSA are still not fully understood. It seems to be related to the unique ability of FeAl to form (and to retain) high concentrations of thermal vacancies [1], but is associated with complex dislocations processes [2]. In this work, characteristic "fork-shaped" dislocation configurations (FSDCs) (fig.1, t=0) were observed in single-crystal foils of a B2-FeAl (40 at. %Al, 3.8 at. % Ni, 400 ppm B) alloy, strained at 600°C (i.e. near the YSA peak) in an in-situ dedicated transmission electron microscope (TEM).

The thin foils were cut in a way that the foil plane is parallel to (001) and the straining direction is parallel to [110], and thinned down in their central part using a standard TEM electropolishing method. In situ straining experiments were carried out using a dedicated JEOL 3010 TEM (LTPCM/SIMAP, Grenoble), operated at 300 kV. Mechanical straining of thin foils (estimated strain rate about 10⁻⁴ s⁻¹) was performed after a slow heating of the sample to 600°C. Dynamic images were recorded using a digital video camera. The characterisation of the FSDC was performed by coupling in-situ (fig.1) and standard post-mortem analyses of the in situ deformed foils, both with crystallographic considerations coming from the single crystal geometry. Dislocation contrast simulation using CUFOUR software [3] was associated to complete the study.

On fig.1 is shown a typical FSDC, composed of two short segments (R and S), connected to a straight and heavily contrasted one (T). R and S segments move under stress, while their junction dislocation T does not. Still, on straining, the length of the T-segment increases, due to the motion of R and S segments. When a further evolution of FSDCs is allowed, expansion of individual loops originating from mobile segments is observed (fig.1; t=81 to t=182 s), where a loop was formed from the S-segment. In further stages of straining experiment (not shown here), the expansion of another similar loop was observed; it was probably developed from the now moving R-segment. From the combination of TEM techniques and dislocation contrast simulation, the following conclusions are proposed :

1. "Fork shaped" dislocations configurations, observed during in situ straining TEM experiments at 600°C in an FeAl alloy containing boron and nickel result from a reaction of two different $a\langle 111 \rangle$ superdislocations gliding on crossing 112 planes. This reaction leads to a junction, formed by a pair of $a\langle 001 \rangle$ dislocations, following a scheme of type : $a[111] + a[-1-11] \rightarrow a[002]$

2. Some similar configurations have been previously observed [2,4] in binary FeAl in post mortem analyses. However, important differences have been found in the crystallographic characteristics of involved dislocations. In particular, the reacting dislocations have been shown to glide on 112 planes, less classic than 110 ones, previously observed. The presence of boron in

the studied alloy may explain this effect, as boron additions seem to promote the 112 slip in B2-ordered FeAl.

3. Even if all individual dislocations involved are glissile, the complex geometry of the $a\langle 002 \rangle$ junction gives it a sessile character. Thus, this kind of junction may play a locking role for dislocation behaviour in FeAl. In particular, following a previous idea [4], the presence of this kind of junctions may be involved in the room temperature cleavage brittle fracture of FeAl. Their possible role for the yield strength anomaly still remains to be defined.

The authors are grateful to Beatrice Doisneau-Cottignies, LTPCM/SIMAP Grenoble, for performing the in situ TEM experiments and for all the help she gave us during this work.

- [1] Baker I, Munroe PR. Int Mater Reviews 1997 ;42 :181.
- [2] Morris DG, Morris MA. Intermetallics, 1997 ;5 :245.
- [3] Schaublin R., Stadelmann P. Mat. Sci. Eng. 1993 ; A164 :373.
- [4] Munroe PR, Baker I. Acta Metall Mater 1991 ;39 :1011.

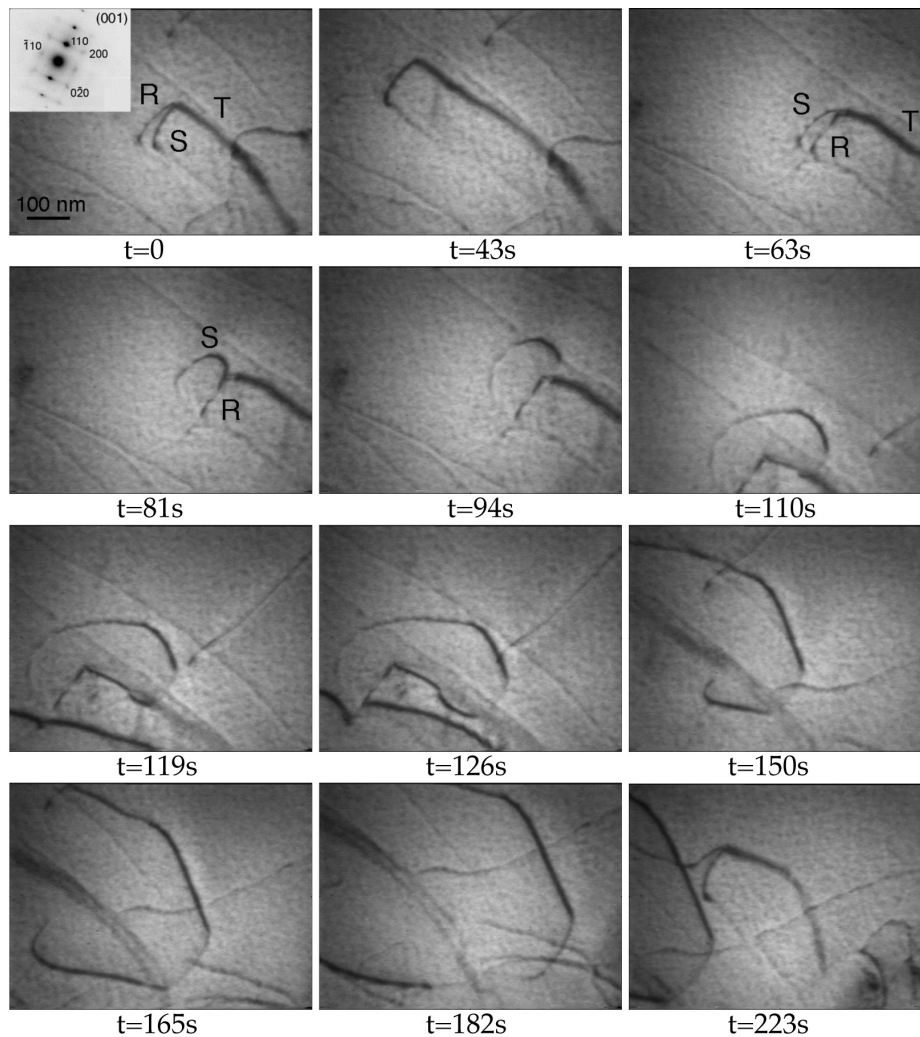


Fig. 1 : Micrographs extracted from a video sequence showing the formation and the evolution of a glissile loop from the S-segment.

Caractérisation par Microscopie Electronique en Transmission des micro-mécanismes de déformation d'alliages de Titane β -métastable.

N. Escalé^{1,2}, J. Douin¹, F. Pettinari-Sturmel¹, A. Coujou¹

¹ CEMES-CNRS, 29 rue Jeanne Marvig BP 94347, 31055 Toulouse Cedex 04, France

² Aubert et Duval, 75 bd de la Libération BP173, 09102 Pamiers Cedex, France

L'allègement des structures qui est une des tâches prioritaires dans le développement de nouveaux avions, peut être obtenu par l'introduction de matériaux combinant une légèreté accrue et de hautes performances mécaniques, et dont les règles de dimensionnement sont établies ou évoluent. Les alliages de titane, par leurs hautes propriétés mécaniques, leur faible densité, leur haute tolérance au dommage et leur résistance à la corrosion sont particulièrement intéressants pour atteindre ces objectifs.

C'est dans cette optique que s'inscrit le projet PROMITI (Approches multiéchelles des propriétés et des microstructures des alliages de titane β -métastables) soutenu par la FRAE (Fondation Recherche Aéronautique et Espace). Le but de ce projet est de caractériser et comprendre les micro-mécanismes de déformation dans les alliages constitués par une matrice cubique centrée β et des plaquettes hexagonales compactes β , notamment le Ti5553 qui présentent de très bonnes propriétés mécaniques (résistance à la rupture supérieure à 1240 MPa), et apparaissent comme de très bon candidats.

Afin de comprendre les micro-mécanismes de déformation de l'alliage de titane Ti5553 nous l'avons comparé à un autre alliage de titane possédant une microstructure similaire aussi complexe, le Ti 17. Il nous est apparu primordial de connaître parfaitement les microstructures de ces deux alliages, à savoir des plaquettes hexagonales compactes de phases α contenues les unes dans les autres, le tout étant pris dans une matrice cubique centrée β (Figure 1). Nous avons déterminé les relations d'orientations de toutes ces phases les unes par rapports aux autres et montré que la phase α est ordonnée.

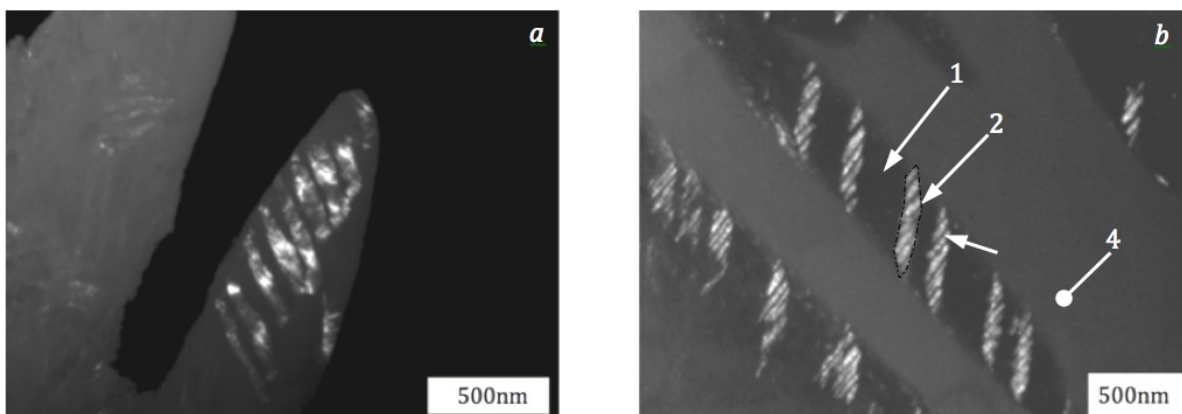


Figure 1 : Micrographies de MET présentant des grandes plaquettes de phase α contenant des plaquettes plus petites α dans Ti5553 (a), et des grandes plaquettes (1) contenant des lattes de tailles intermédiaires (2) contenant de petites lattes (3) le tout pris dans une matrice β (4) pour l'alliage Ti 17 (b). Les lattes 1 et 3 sont hors contrastes.

Etude par MET du durcissement structural d'aciers martensitiques à précipitation intermétallique

B. Kedjar¹, F. Pettinari-Sturmel¹, J. Douin¹, A. Coujou¹

¹ CEMES, CNRS, 29 rue Jeanne Marvig - BP 94347, 31055 cedex 4 Toulouse

Notre étude porte sur l'analyse de la corrélation comportement mécanique macroscopique - mécanismes microscopiques de la déformation dans un acier martensitique fortement allié en éléments intermétalliques (Ni : 11,67 % et Al : 0,65 %). Après recuit, une précipitation de NiAl (taille < 5nm, fraction volumique = 7%) est présente. Nous nous sommes intéressés aux échantillons recuits pendant 10 h ($R_{p0,2} = 1174$ MPa). Nous avons réalisé des essais de tractions MET in-situ à l'ambiante (Figure 1-a). Ces expériences ont mis en évidence divers phénomènes dynamiques de la déformation plastique : cisaillement des précipités par les dislocations, formation de boucles de dislocations ouvertes, étalement de grandes boucles de dislocations dans leur plan de glissement, glissement dévié des dislocations et formation de petites boucles de dislocations. Les systèmes de glissement qui constituent une information indispensable pour la mesure des grandeurs contribuant au durcissement structural ont été déterminés. De plus, des observations HREM (High Resolution Electron Microscopy) ont été réalisées afin d'étudier les relations d'orientation et les champs de contraintes induits par les précipités NiAl dans la matrice ferritique. Les premiers résultats montrent que ces précipités ont un caractère ordonné B2 (Figure 1-b), mais compte tenu de sa petite taille (< 5nm) un précipité est cisailé par une seule dislocation en laissant une Paroi d'Anti Phase (PAP). Ce mécanisme peut être assimilé à celui déjà bien connu dans les superalliages dans lesquels le durcissement est essentiellement dû au caractère ordonné des précipités.

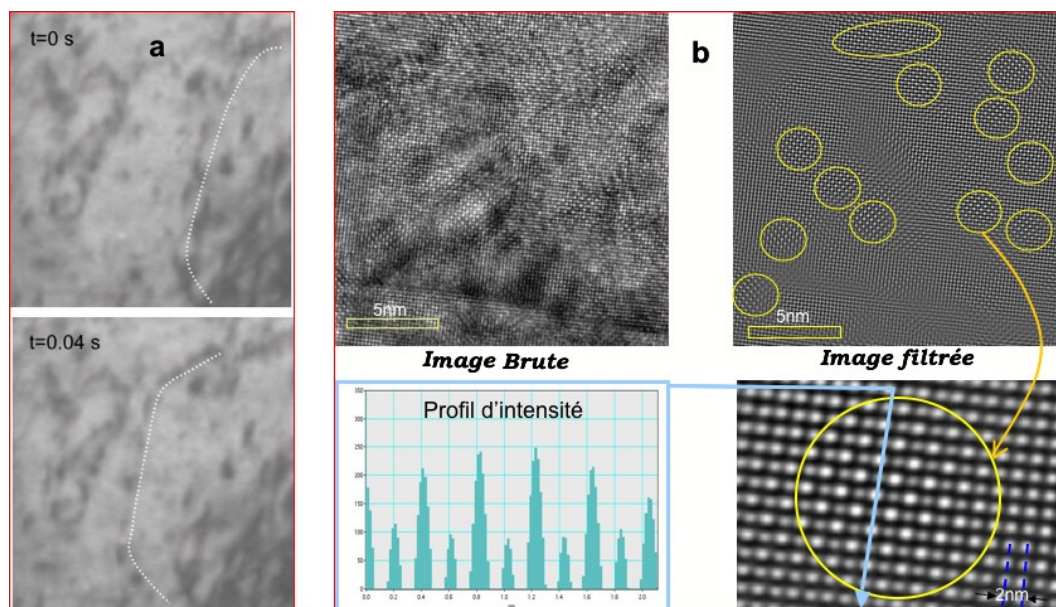


Figure 1 : a) Séquence MET in-situ, b) Mise en évidence du caractère ordonné des précipités NiAl

Caractérisation par MEHR de parois de translation dans les alliages à mémoire de forme RuNb

P. Vermaut¹, K. Chastaing², A. Denquin², R. Portier¹, D. Caillard³

¹ Métallurgie Structurale LPCS UMR7045 Chimie ParisTech

² DMSM-ONERA Châtillon

³ CEMES-CNRS Toulouse

Les alliages à mémoire de forme sont des matériaux fonctionnels susceptibles de changer de forme à une température de consigne, grâce à une transformation de phase, la transformation martensitique thermoélastique. En fonction de leur composition chimique, les alliages RuNb présentent une ou deux transformations martensitiques successives à des températures très élevées qui permettent d'envisager la réalisation d'actuateurs capables de réguler les flux de gaz chauds dans les turbomachines.

Les alliages de composition équiatomique présentent au refroidissement deux transformations : β (B2) \rightarrow β' (quadratique) \rightarrow β'' (monoclinique) alors que seule la transformation $\beta \rightarrow \beta'$ est observée dans les alliages à 54 at.% de Nb. L'étude quantitative de l'effet mémoire de chacun des alliages montre que cet effet est essentiellement lié à la première transformation $\beta \rightarrow \beta'$ et que la contribution de la seconde transformation $\beta' \rightarrow \beta''$ est très faible. L'étude de la microstructure des deux alliages permet d'expliquer ces résultats. Les deux martensites β' et β'' présentent des microstructures semblables, montrant ainsi que la transformation $\beta' \rightarrow \beta''$ n'introduit pas de maillage supplémentaire. En revanche cette transformation conduit à l'apparition de parois de type antiphase.

La transformation martensitique est une transformation groupe sous-groupe qui conduit à une réduction des symétries. La perte de symétries d'orientation conduit à des variants d'orientation en relation de macle. L'analyse des microstructures montre que la transformation $\beta' \rightarrow \beta''$ est une transformation monovariant (un variant de β' donne un variant de β''), ce qui justifie la faible contribution de cette transformation à l'effet mémoire de forme. De même, l'analyse de la réduction des symétries de translation nous a permis de prévoir 6 variants séparés par 5 translations. L'analyse par microscopie haute résolution des parois nous a permis d'identifier le vecteur faute de ces parois aux translations perdues lors de la transformation.

Utilisation de la microstructure comme critère d'identification du procédé de fabrication des verres anciens opacifiés aux antimoniates de calcium

S. Lahlil¹, I. Biron¹, M. Cotte¹, N. Menguy²

¹ C2RMF

² IMPMC

Depuis les premières " productions " de verre apparues autour du 16^{ème} s. av. J.C., et jusqu'à aujourd'hui, la fabrication d'objets en verre opaque n'a jamais cessé. L'opacité est due à la présence de cristaux, appelés opacifiants, dispersés dans la matrice vitreuse. Les opacifiants d'antimoniates de calcium - CaSb_2O_6 et $\text{Ca}_2\text{Sb}_2\text{O}_7$ - sont particulièrement intéressants, car ils ont été utilisés depuis l'Égypte ancienne jusqu'à aujourd'hui et ce, avec des périodes d'interruption plus ou moins longues. Une des questions majeures qui se pose est de savoir comment étaient obtenus ces cristaux opacifiants dans le verre. En effet, les procédés d'opacification de ces verres restent encore très mal connus. Nous présenterons une partie des résultats obtenus lors d'une thèse ayant pour but de retrouver les modes de fabrication de ces verres opacifiés aux antimoniates à travers l'Histoire depuis l'origine jusqu'à aujourd'hui par une approche conjointe de l'archéométrie et de la science des matériaux. Nous avons comparé la microstructure des verres de référence synthétiques ou contemporains, dont la technologie est bien connue, avec celle d'échantillons de verres opaques anciens ou modernes, dont le mode de fabrication est inconnu. Ainsi, nous avons montré que la nature, la morphologie et la distribution des cristaux dans les verres opaques sont un des critères indispensables permettant d'identifier les procédés d'opacification des trois productions de verre étudiées : - les verres décorés de la XVIII^{ème} dynastie égyptienne (1570-1292 av. J.C.), - les tesselles de mosaïque romaines d'Aquilée et de Rome, datant du 1^{er} s. av. au 4^{ème} s. apr. J.C., - les verres filés dits " de Nevers " du 18^{ème} s. apr. J.C.

Microscopie électronique et géosciences, de l'origine de la terre à sa préservation

G. Wille¹, C. Bény¹

¹ BRGM

Les géosciences regroupent différentes disciplines scientifiques telles que géologie, géochimie, géochronologie, géophysique, géothermie. . .Leurs domaines d'interventions sont très larges allant des couches internes aux couches externes de la Terre. Les études nécessaires à la compréhension des phénomènes anciens et actuels, qui sont liés aux géosciences, engendrent l'acquisition de nombreuses données aussi bien sur le terrain qu'en laboratoire, avec des outils allant du marteau de géologue à des matériels d'analyse sophistiqués apportant des informations aussi bien physiques que chimiques ou biologiques...

Parmi ces moyens d'analyses, les microscopies électroniques ont une place importante. Elles permettent d'obtenir des données spécifiques et variées sur des échantillons provenant aussi bien du sous-sol - pour les caractériser dans leur contexte - que du sol - dans le cadre d'études liées, par exemple, à des pollutions ou à des essais de dépollutions par traitement chimique ou biologique, à la prévention des risques naturels ou technologiques...

Après une présentation générale des besoins en caractérisation microscopique, nous montrerons, par quelques exemples, l'intérêt des méthodes de microscopie électronique et de leur association avec d'autres techniques pour la caractérisation et, plus globalement, l'acquisition de données en géosciences.

Applications de la microanalyse à l'étude des météorites

A. Jambon¹, O. Boudouma¹

¹ Université Pierre et Marie Curie

Les météorites sont des objets naturels de compositions et de textures extrêmement variées. Nos approches seront illustrées sur des exemples. L'imagerie conventionnelle est utilisée depuis les faibles grossissements (x20) aux forts grossissements (x50 000) essentiellement en BSE qui permettent d'avoir une approche de la composition des phases. Les mosaïques d'images automatiques permettent de générer des images d'objets d'environ 1 cm² (150 Mo) avec une résolution de l'ordre de 1200 pixels/mm. Les nouveaux détecteurs SDD permettent une analyse EDS dans des conditions plus souples et de privilégier soit le seuil de détection soit la résolution spatiale. La cartographie chimique est utilisée de façon qualitative pour sa rapidité. La cartographie quantitative demande encore des calculs assez lourds mais nécessaires, en particulier dans le cas de réactions chimiques entre phases où le bilan de matière doit être reconstitué. Les seuils de détection en cathodoluminescence ont été très nettement améliorés ce qui permet d'envisager l'analyse de nouvelles phases. L'analyse Raman est en cours de développement.

Cartographies EBSD sur une serpentine et anisotropie sismique

B. Van de Moortèle ¹, L. Bezacier ¹, G. Trullenque ², B. Reynard ¹

¹ Laboratoire de Sciences de la Terre, CNRS UMR5570, ENS-Lyon, Université de Lyon, 46, Allée d'Italie, Lyon, 69364, France

² Oxford Instruments GmbH Nanoanalysis, Otto-von-Guericke-Ring 10, D-65205 Wiesbaden, Allemagne.

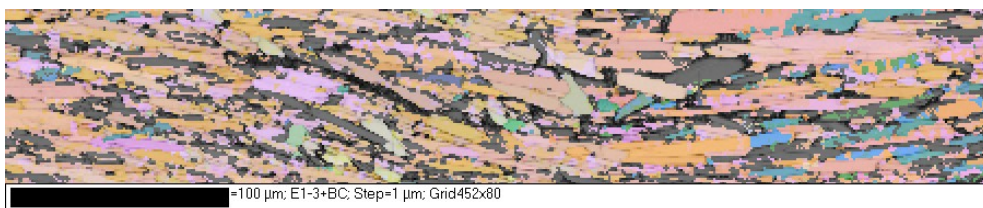
Les serpentines sont des phyllosilicates hydratés qui résultent de l'interaction des fluides aqueux avec les phases minérales des plaques océaniques qui entrent en subduction. L'imagerie sismique de ces zones montre généralement la présence d'une couche de serpentines hautement déformée, difficile à contraindre en terme d'extension latérale et d'épaisseur. Cette difficulté provient de la forte anisotropie sismique induite par les orientations préférentielles des minéraux constituant la roche. Ce travail tente d'établir la relation qui existe entre l'anisotropie mesurée dans les zones de subductions par les ondes sismiques et les orientations cristallographiques en couplant les résultats obtenus par spectroscopie Brillouin et diffraction des électrons retro-diffusés (EBSD).

Les observations en microscopie optique permettent de distinguer deux types de cristaux d'antigorite, phase stable de haute pression de la serpentine, dans cette roche : -des cristaux de plusieurs centaines de microns issus d'une recristallisation tardive ayant perdu toute information du passé et donc ne nous intéressent pas dans cette étude. - des cristaux plus anciens de 50-100 μm de long et 5 à 10 μm de large qui montrent un allongement dans une direction.

La technique EBSD est particulièrement adaptée pour ce genre d'étude mais se révèle difficile à mettre en œuvre sur des objets non-conducteurs comme ceux qui nous intéressent. Les meilleurs résultats en terme d'interprétabilité des bandes de Kikuchi ont été obtenus en utilisant une tension d'accélération de 20 kV, un courant de faisceau de 3.9nA et une pression de chambre de 10Pa. Le mode de pression variable induit inévitablement une légère dégradation du rapport signal sur bruit rendant encore plus difficile l'indexation de clichés EBSD d'une phase cristallographique déjà complexe (phase monoclinique C2/m $a = 4.35050$ nm, $b = 0.9251$ nm, $c = 0.7263$ nm, [1]).

Les premières expériences montrent la faisabilité d'une telle étude comme le montre la cartographie d'orientation obtenue sur une zone déformée (Figure 1). Nous présenterons les résultats des expériences d'EBSD obtenus sur ces matériaux en mettant un accent particulier sur le choix des conditions expérimentales que nous avons utilisées pour obtenir des données satisfaisantes (paramètres propres au microscope électronique à balayage, préparation de surface par polissage vibratoire et bombardement par flux d'argon ionisé, choix des paramètres d'indexation automatique des lignes de Kikuchi, etc.).

[1] Capitani G., Mellini M., American Mineralogist, 89 (2004)



Cartographie d'orientation cristallographique de l'antigorite obtenue sur une zone de cisaillement

Microscopie électronique et carpologie

E. Messenger^{1,2}, B. Deniaux²

¹ Maison de L'Archéologie et de l'Ethnologie

² Dép. de la Préhistoire du Museum d'Histoire Naturelle

La reconnaissance des fruits ou des graines fossiles (identification carpologique) sur les sites archéologiques remontant aux époques paléolithiques est une opération difficile qui nécessite la recherche de critères d'identification pertinents. La microscopie électronique à balayage en conditions de vide dégradé utilisant la vapeur d'eau comme gaz (ESEM) se montre très performante car elle permet de mettre en évidence des caractéristiques microscopiques sur les spécimens fossiles sans avoir recours à la métallisation. Les caractéristiques ainsi reconnues sur les restes fossiles peuvent alors être comparées à celles des spécimens d'une collection de fruits modernes. Cette démarche a été employée avec les fruits fossiles retrouvés dans le gisement de Dmanissi situé dans le Caucase. Ce site du Paléolithique inférieur est actuellement le plus ancien reconnu en Eurasie (1,7 million d'années) et témoigne des toutes premières phases de peuplement humain hors du continent africain. Les vestiges d'origine botanique retrouvés sur ce site sont étudiés pour reconstruire la végétation contemporaine de cette population d'hominidés parmi les premières à occuper le milieu tempéré. L'examen des restes de fruits en microscopie électronique à balayage a permis d'identifier 500 restes répartis en huit classes. Les groupes botaniques ainsi déterminés reflètent des plantes pionnières et adaptées à la sécheresse. De même époque que les restes archéologiques, ces fruits montrent que l'environnement immédiat des hominidés était occupé par une communauté herbacée xérophile développée au profit d'un contexte local relativement sec.

La microscopie et le développement d'un produit cosmétique

S. Marull¹, E. Fernandez¹

¹ Laboratoires Yves Rocher, CIRCV

Le produit cosmétique est clairement défini par la réglementation (on citera les produits de soin, capillaires, hygiène, solaires, maquillage, les parfums). Plusieurs années sont nécessaires à son développement. En effet, de nombreuses étapes, successives ou simultanées sont indispensables pour la mise sur le marché d'un produit répondant à tous les critères de sécurité, d'efficacité et de qualité.

La formulation est une étape majeure et complexe. Elle est précédée de la sélection d'un ou de plusieurs actifs, avec une étude approfondie de leur innocuité, de leurs spécifications, de leur efficacité. Les formules cosmétiques sont constituées de grandes familles galéniques : émulsions, gels, produits moussants, produits anhydres (rouges à lèvres, poudres...)... Chaque famille a sa spécificité, et ses contraintes : choix et association de matières premières, mise en oeuvre, protection microbiologique, stabilité, efficacité, industrialisation... Enfin, l'emballage est sélectionné pour répondre à un ensemble de critères. Il doit, en plus de son aspect esthétique, tenir un rôle de protection, de distribution, d'information, sans interagir avec la formule qu'il contient.

La microscopie comme outil d'objectivation est utilisée à tous les stades du développement. Utilisée seule ou associée à d'autres techniques analytiques, elle s'y distingue par :

- Une grande diversité des échantillons observés : échantillons biologiques (végétaux, cutanés, capillaires), émulsions, polymères... .
- Une multiplicité des techniques utilisées : préparation d'échantillons (conventionnelle ou cryogénique) et instrumentation (microscopie confocale, microscopie électronique à transmission ou à balayage...).

Au cours de cet exposé, seront présentés quelques exemples de techniques microscopiques appliquées au développement cosmétique. Vous verrez comment l'exploitation des informations morphologiques et analytiques obtenues contribue à la constitution du dossier scientifique de développement.

Structures photoniques multi-échelles naturelles

S. Berthier¹

¹ Université Denis Diderot

La gestion de la lumière et de la couleur est un élément fondamental de la vie animale, et de très nombreux organismes ont développé des structures photoniques très performantes et extrêmement diversifiées quant à leur morphologie, mais à partir d'un nombre restreint de matériaux, tous très proches d'un point de vue optique. A contrario si nous manquons quelques peu d'imagination, nous avons à notre disposition une large palette de matériaux présentant une grande gamme d'indices optiques. Lors de cet exposé, nous présenterons un certain nombre de structures photoniques uni (1D), bi (2D) et tri (3D) dimensionnelles développées par des insectes, principalement des lépidoptères et des coléoptères, ainsi que leur principales propriétés optiques et colorimétriques.

Apport de la Microscopie Electronique à Balayage Environnementale équipée en Microanalyse X à la détection de la tuberculose osseuse

J. Durr ¹, L. Khouchaf ²

¹ Centre d'Études Paléopathologiques du Nord 36 rue Jules Ferry, 59127 Walincourt-Selvigny

² Université Lille Nord de France, EMD, 941 rue Charles Bourseul, BP 10838, 59508 Douai

Nous avons appliqué la microscopie électronique environnementale équipée en microanalyse X, la Diffraction X et la Fluorescence X à une série d'ossements d'origine archéologique présentant des infections variées et nous avons montré par ces techniques que le carbonate de calcium était particulièrement abondant dans les ostéites tuberculeuses (Blondiaux et al 1998, 1999). La Diffraction X et la Fluorescence X permettent de reconnaître et de quantifier le phénomène, mais elles n'éliminent pas l'hypothèse de la diagenèse qui intervient dans le dépôt de la calcite après la mort dans certaines conditions. La Microscopie électronique environnementale avec microanalyse en localisant la formation du carbonate de calcium exclusivement à l'intérieur du réseau osseux lamellaire touché par l'infection permet de penser que la fabrication de carbonate de calcium est ante mortem. Elle paraît liée à une stratégie de défense contre le bacille tuberculeux où la calcification jouerait un rôle primordial en limitant l'extension de la maladie (Baud et Lagier, 1999). La whitlockite et secondairement le carbonate de calcium seraient les principaux cristaux engagés dans ce processus de défense. Au moment où des formes multi-résistantes de germes tuberculeux apparaissent, une recherche plus approfondie unissant la microbiologie et les techniques d'analyse par rayons X nous semblent opportunes et prometteuses. Enfin, les possibilités de diagnostics immédiates offertes aux équipes médicales, en cas de défaillance de la microbiologie (cultures, PCR), ne sont pas exclues.

Electron microscopy contributions to the study of the Sm-like Protein Hfq in the Post-transcriptional Regulation of Bacterial Cytoskeleton proteins

N. Zambrano^{1,2,3}, P. Guichard^{1,2}, B. Cayrol³, S. Marco^{1,2}, V. Arluison³

¹ Institut Curie, Centre de Recherche, Orsay, F-91405 France

² INSERM, U759, Orsay, F-91405 France

³ Université Paris Diderot et Laboratoire Jean Perrin-CNRS-Université Paris 6 FRE 3132, 75006 Paris, France.

Hfq is an abundant and phylogenetically conserved bacterial protein. It was discovered as a host factor required for the activity of a bacteriophage RNA polymerase [1], but its main function was later shown to coordinate gene expression of bacteria subjected to environmental stresses by using small noncoding RNA (sRNA). In *E. coli*, there are around 100 known sRNAs and these molecules often act by base pairing to mRNA in order to regulate mRNA translation and/or stability [2]. Nevertheless, in contrast to classical antisense RNA, stress-related bacterial sRNA usually form imperfect duplexes with their targets and require the RNA chaperone Hfq to facilitate RNA/RNA interactions [3]. Most of those sRNA for which functional knowledge is available were often shown to act as inhibitors of translation by base pairing with the mRNA around the ribosome-binding site. However, in *E. coli* there are also some examples where the sRNA plays a role as translational activator by exposing the rbs binding site of the mRNA and by promoting ribosome binding. In this paper, we evaluated the effect of the absence of the Hfq protein on various bacterial cytoskeleton proteins expression. The impact on cell morphology of the misregulation was in parallel analyzed by electron tomography.

The effect of Hfq deletion was analyzed by quantitative Western Blot by using hfq(+) vs hfq(-) strains. Accordingly to previous result of Takada et al [4] the negative regulatory role of Hfq on FtsZ expression was validated. Our analysis confirmed an increased amount of FtsZ, in stationary phase ($\sim 20\%$). This result suggests a negative regulatory role of Hfq probably correlated to a sRNA for FtsZ expression. Even if the precise mechanism involved in the regulation is still unclear, this effect could be attributed to DicF sRNA, that blocks cell division by inhibiting the translation of ftsZ mRNA [5]. More interestingly, beside the effect on the expression of the cell-cycle gene ftsZ, we also show that other bacterial cytoskeleton proteins expression is deregulated in the absence of Hfq. Our analysis indicates an increased amount of MreB in stationary phase only ($\sim 30\%$) and of MreC in both stationary and exponential phases ($\sim 10-15\%$). They oppositely indicate a decreased amount of MinD in both phases ($\sim 20\%$), suggesting a positive regulation by Hfq. They finally evidence a differential regulation of ZipA and FtsN proteins, with a decrease of about 15-20% in exponential phase and an increase of 20-30% in stationary phase. In order to correlate Hfq effects in the expression of bacterial cytoskeleton proteins to morphological changes, we studied *E. coli* hfq(+) and hfq(-) strains by EuCl3 staining, which generates specific contrast within bacteria cytoplasm [6], combined to electron tomography. This approach allows observation of bacterial structures in 3D without requiring ultramicrotomy. As shown on figure 1B, hfq(-) mutants clearly evidence additional stain exclusion regions equivalent to that observed in the middle region of the wild type (figure 1A) corresponding to additional division septum. In addition, EuCl3 staining evidences the present of filaments inside the bacteria (Figure 2) which amount, during stationary phase, could be slightly different in hfq(-) and hfq(+) strains.

In conclusion, our results thus suggest that some sRNA riboregulators can regulate the expression of bacterial cytoskeleton proteins at the post-transcriptional level in an HFq-dependant way. This new level of regulation which have major effects on the bacterial cell shape.

[1] M.T. Franze de Fernandez, W.S. Hayward, and J.T. August, *J. Biol. Chem.* 824-821, 247 (1972)

[2] S. Gottesman, C.A. McCullen, M. Guillier, C.K. Vanderpool, N. Majdalani, J. Benhammou, K.M. Thompson, P.C. FitzGerald, N.A. Sowa and D.J. FitzGerald, *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 1-11, 71 (2006)

[3] R.G. Brennan and Y.M. Link, *Curr Opin Microbiol.* 125-33, 10 (2007)

[4] A. Takada, M. Wachi and K. Nagai. *Biochem Biophys Res Commun.* 579-83, 266 (1999)

[5] F. Tétart and J.P. Bouché, *Mol Microbiol.* 615-20, 6 (1999)

[6] M.E. Bayer and M.H. Bayer, *J Bacteriol.* 141-9, 173 (1991)

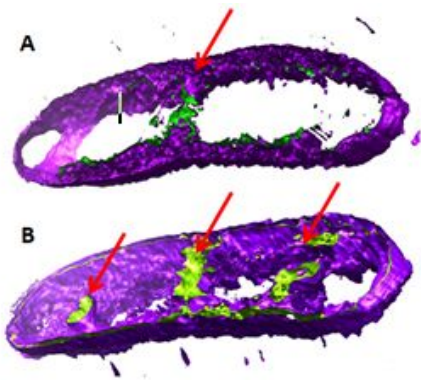


Figure 1. Tomograms of *E. coli hfq(+)* (A) and *hfq(-)* (B). Arrows points to division septum.

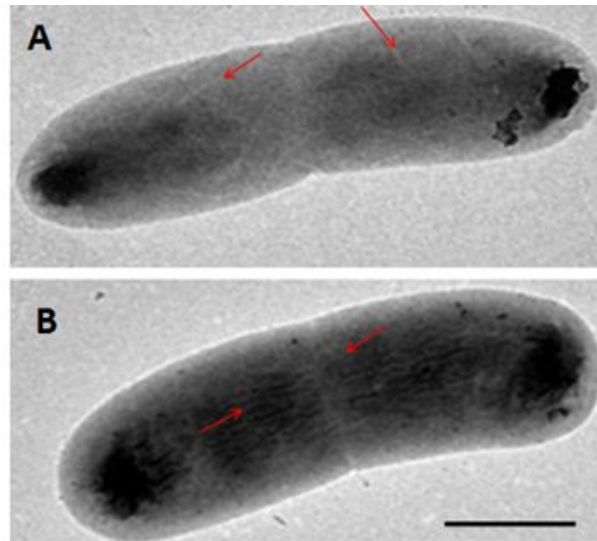


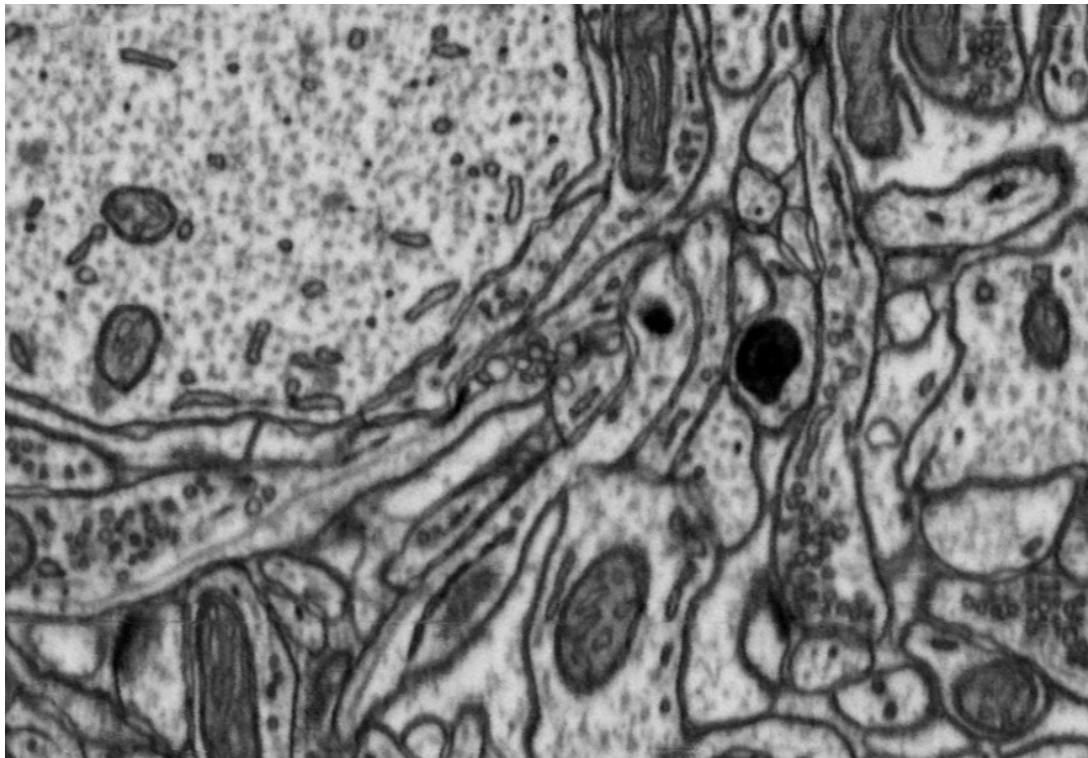
Figure 2. EuCl₃ staining of *E. coli hfq(+)* (A) and *hfq(-)* (B). Arrows points to filaments. Scale bar 500 nm

FIB-Nanotomographie de tissus biologiques avec une taille de voxel de 5x5x5nm

M. Cantoni¹, G. Knott¹

¹ EPFL-CIME

La nanotomographie par faisceau ionique est une technique déjà bien établie dans les science des matériaux. La combinaison des techniques de préparation biologique pour la microscopie à transmission avec les possibilités offertes par les FIB de la dernière génération permettent l'acquisition de tomogrammes avec des résolutions encore jamais atteintes. Il est désormais possible d'obtenir des volumes reconstruits avec une taille de voxel de 5x5x5 nm.



Plan horizontal reconstruit d'un cerveau de rat (cerebral cortex). Chaque ligne représente une image MEB de la découpe sérielle (épaisseur 5nm) par FIB.

Persistance des structures apparentées aux jonctions serrées dans la couche cornée de l'épiderme humain : implication possible dans le processus de desquamation et dans la fonction-barrière

S. Callejon¹, Y. Sandjeu¹, J. Brandner², M. Haftek¹

¹ Université de Lyon, EA4169, "Fonctions normales et pathologiques de la barrière cutanée", Lyon, France

² Département de Dermatologie et Vénéréologie, Hôpital Universitaire Hamburg, Allemagne

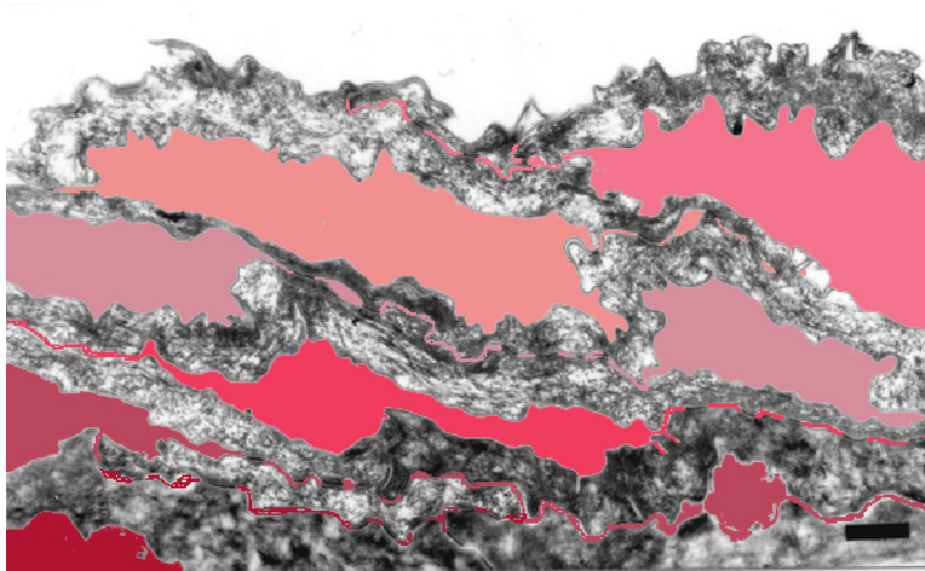
La peau est un organe d'interface entre le milieu interne de l'organisme et l'environnement. Elle doit assurer toutes les fonctions de protection nécessaires pour la survie dans le milieu terrestre et notamment contrôler les flux hydriques. L'étanchéité relative du stratum corneum, qui est le produit final de la différenciation épidermique, dépend de la cohésion intercellulaire entre les kératinocytes cornifiés et du remplissage des espaces intercornéocytaires par les lipides structurés en multicouches. Ceci constitue la fonction essentielle de la couche cornée de l'épiderme appelée " fonction-barrière ". Les cellules épithéliales disposent de 3 systèmes de jonctions intercellulaires : les jonctions communicantes (ou " gap junctions ") permettent la communication directe entre les cytosols; les jonctions serrées (JS ou " tight junctions ") assurent l'étanchéité et vont donc être à l'origine de la polarisation des cellules; et les jonctions d'ancrage constituées par 1) les desmosomes qui sont associés aux filaments intermédiaires de kératine, et 2) les jonctions adhérentes associées aux microfilaments d'actine, assurent la cohésion " mécanique ". Dans les épithéliums simples, les jonctions d'adhérence et les JS forment des bandes apicales continues et contiguës. Par exemple, les JS situées autour des pôles apicaux des entérocytes, isolent la lumière du tube digestif des espaces intercellulaires. En même temps, la disposition transmembranaire des protéines jonctionnelles JS permet la délimitation des pôles apical et basolatéral des cellules. Cette polarisation permet la ségrégation des protéines spécifiques des pôles et autorise donc des fonctions distinctes pôle-dépendantes, par exemple, le transport trans-cellulaire. L'importance des JS dans la fonction-barrière de l'épiderme ainsi que leur distribution sont actuellement très discutées [1]. Contrairement aux épithéliums simples, dans l'épiderme, les JS (ainsi que les jonctions d'adhérence) ne se présentent pas sous forme de ceintures complètes mais plutôt revêtent l'apparence de spots plus ou moins développés. Cette disposition discontinue pourrait expliquer partiellement pourquoi les JS n'ont été observées dans l'épiderme que très récemment. Les bandes jonctionnelles typiques et abondantes ont été observées par cryofracture dans les kératinocytes granuleux situés près du stratum corneum [2]. Cette localisation très restreinte des JS est différente de la répartition de certaines protéines typiques de JS comme la claudine-1, qui est exprimée dans toutes les couches vivantes de l'épiderme. Chez les souris KO en claudine-1, les JS exprimant l'occludine (protéine spécifique de la localisation des JS) n'assurent plus leur fonction-barrière [3]. La situation des JS dans la dernière assise de la couche granuleuse coïncide avec la sécrétion des lipides extracellulaires sur la face apicale des kératinocytes et l'apparition de la fonction barrière. Il est donc possible que le rôle des JS épidermiques chez l'homme, soit davantage d'établir l'orientation polaire de la fusion des kératinosomes vers la face supérieure de kératinocytes granuleux. Ces points d'adhésion du type JS distribués sur le pourtour des kératinocytes de la couche granuleuse, permettent l'établissement de la barrière hydrique par les lipides intercellulaires. Nous avons donc utilisé la microscopie électronique à transmission et la microscopie confocale à balayage laser afin de rechercher des structures indiquant la présence des JS au niveau des " disques

” kératinocytaires. L'épithélium jéjunal nous a servi de contrôle pour l'étude morphologique et l'immunohistochimie. Des biopsies de peaux humaines issues de plastie abdominale ont été incluses en résine Epon pour les études structurales et en résine Lowicryl K4M pour réaliser des marquages immunohistochimiques à l'or colloïdal avec les anticorps dirigés contre la claudine-1,-4, et l'occludine (Zymed, San Francisco, USA). De discrets points de contact ont été détectés dans la couche granuleuse et dans la couche cornée inférieure. Une étude morphométrique indique que l'épaisseur totale des membranes lipidiques formant ces points de contact est légèrement inférieure à la somme de l'épaisseur de deux membranes individuelles, suggérant une fusion moléculaire de ces structures. Nous avons également observé un faible marquage des points de contact avec la claudine-1 au niveau de la couche granuleuse mais également à la base du stratum corneum compactum. Les marquages avec les anticorps anti-claudine-4 et anti-occludine se sont avérés d'intensité insuffisante pour être interprétables. La visualisation de la distribution antigénique à l'échelle optique par microscopie confocale nous a permis de confirmer les résultats déjà apportés dans la littérature sans pour autant apporter de précisions supplémentaires concernant la persistance des structures JS dans le stratum corneum compactum. Nous proposons que la persistance de ces structures dans le stratum corneum compactum, due à leur immobilisation par pontage enzymatique au sein des enveloppes cornifiées, contribuerait au renforcement physique des contacts latéraux des cornéocytes. Ce mécanisme expliquerait les différences spatio-temporelles entre la dégradation des cornéodesmosomes ” centraux ” et ” périphériques ” observée lors de la desquamation. En effet, sous l'action des enzymes protéolytiques extracellulaires, les jonctions d'ancrage assurant la cohésion de la couche cornée sont dégradées en priorité entre les couches successives des cornéocytes et seulement tardivement sur les faces latérales des cellules. La dynamique de desquamation ainsi établie contribue à l'apparence très caractéristique de la couche cornée observée en histologie sous forme de ” panier d'osier ” (Figure). Les mini-espaces intercornéocytaires cloisonnés par les cornéodesmosomes et les JS peuvent ainsi évoluer de manière quasi-indépendante les uns des autres. Néanmoins, leur évolution serait étroitement liée à leur stade d'engagement dans le processus de desquamation. Le perfectionnement des techniques de visualisation combinées aux méthodes expérimentales de modulation d'expression des éléments de JS en culture organotypique permettra sans doute de rapides progrès dans nos connaissances.

[1] JM. Brandner, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, [Epub ahead of print] (2008)

[2] H. Schlüter, R. Wepf, I. Moll, WW.Franke, *European Journal of Cell Biology*, 655-665, 83 (2004)

[3] M. Furuse, M. Hata, K. Furuse, Y. Yoshida, A. Haratake, Y. Sugitani, T. Noda, A. Kubo, S. Tsukita, *Journal of Cell Biology*. 1099-1111, 156(6) (2002)



Compartiments extracellulaires dans la partie relâchée de la couche cornée peuvent évoluer individuellement grâce à la persistance des attaches intercornéocytaires.

Caractérisation microscopique des corps lipidiques présents dans les graines de Jojoba (*Simmondsia chinensis*) et de Soja (*Glycine max*)

E. Fernandez¹, S. Marull¹

¹ Laboratoires Yves Rocher, France

Les graines résultent de la reproduction sexuée des plantes. Elles sont caractérisées par un embryon, un organe de réserve ainsi que des téguments protecteurs. Qu'elles soient sucrées, farineuses ou huileuses, les graines sont des composés nutritifs largement utilisés pour l'industrie alimentaire.

L'utilisation des graines et notamment de leurs réserves huileuses est également répandue dans l'industrie cosmétique. Un de nos objectifs est d'acquérir une parfaite connaissance des végétaux que nous utilisons et de localiser, si possible, les actifs au sein des tissus. Dans ce cadre, nous avons souhaité caractériser les corps lipidiques présents dans les graines de Jojoba (*Simmondsia chinensis*) et de Soja (*Glycine max*).

Les graines présentent néanmoins des caractéristiques tissulaires qui ne facilitent pas la caractérisation morphologique des corps lipidiques en microscopie. En effet, les graines sont denses en matériel, elles possèdent des parois cellulaires lignifiées ce qui les rend difficiles à pénétrer. Les corps lipidiques quant à eux sont facilement déplaçables lors de la préparation de l'échantillon et des phénomènes de coalescence peuvent également se produire.

La visualisation microscopique des corps lipidiques de Jojoba et de Soja dans les cotylédons a été entreprise par microscopie optique, électronique (transmission et balayage). Les protocoles mis en œuvre ont été adaptés afin d'associer fixation efficace (forme des échantillons, temps de fixation...) et optimisation de la préservation des huiles (manipulations à froid). Les diverses voies explorées, quant à la préparation des échantillons, les différents modes d'observations nous ont permis d'obtenir une représentation assez fidèle de la structure interne de cellules de cotylédons et d'imager les corps lipidiques dans un état proche de l'état *in situ*.

Les observations, pour le Jojoba, ont montré la présence de corps lipidiques en forte densité et de taille relativement homogène. Des corps lipidiques, plus ovoïdes, tendraient à s'incruster à la périphérie des corps protéiques. Dans le cas du Soja, les cellules des cotylédons montrent de nombreux et volumineux corps protéiques. Les corps lipidiques, plus petit en taille, viennent se répartir de manière homogène dans la cellule. A noter la présence de corps lipidiques de taille inférieure qui viendraient ceinturer les corps protéiques.

Les techniques microscopiques pour l'identification de l'origine de pertes de performance dans des cellules photovoltaïques à base de CIS

V. Bermudez ^{1,3}, C. Ruiz ¹, E. Saucedo ³, V. Izquierdo ², A. Perez-Rodriguez ²

¹ IRDEP

² EME/CERMAE

³ NEXCIS

Le dépôt de $\text{CuIn}(\text{S},\text{Se})_2$ par des procédés chimiques par voie humide et en particulier par des méthodes d'électrodéposition s'avère une solution très intéressante pour le développement de cellules solaires à bas coût. Le projet CISELTM $\text{CuIn}(\text{S},\text{Se})_2$ Electrodeposé a été conçu pour atteindre l'objectif de cellules solaires à bas coût avec un rendement de conversion photovoltaïque le plus élevé possible. Afin de réaliser une pleine exploitation des possibilités de coût bas de ces technologies, une amélioration sur le rendement et les efficacités de production et de conversion photovoltaïque sur des vastes zones sont les questions les plus importantes à résoudre. Ceci exige du développement des techniques et méthodologies appropriées pour comprendre les pertes électriques dans le dispositif d'un point de vue du matériel qui constitue chaque couche de la cellule solaire. De cette façon les techniques microscopiques jouent un rôle principal quand elles sont conjuguées avec l'optoélectronique. Dans ce séminaire je présenterai l'importance que les techniques microscopiques ont dans le diagnostic des pertes électroniques en piles solaires de CISELTM et comment l'identification d'origine matérielle nous aide à optimiser le processus de fabrication de nos cellules solaires.

Apport de la microscopie électronique à balayage pour la conception d'aile de microdrone

A. Luc-Bouhali¹, A. Mavel², P. May³

¹ ONERA, DPRS

² ONERA, DMSC

³ Hopital St Louis, Univ. Paris Diderot, SCPR

L'Onera mène depuis 2002 des études prospectives sur le concept de microdrone à ailes battantes. Il s'agit d'engin volant, autonome, de taille inférieure à 15 cm, dont le vol est réalisé grâce aux battements des ailes, comme celui des oiseaux ou des insectes. Grâce à une approche d'inspiration biomimétique, nous nous sommes focalisés sur les insectes et en particulier la libellule. Afin d'orienter la réalisation des premières structures composites des ailes du microdrone, des observations en microscopie optique puis électronique à balayage ont été effectuées sur des ailes de libellules sacrifiées. Le MEB a également permis d'authentifier et de mieux comprendre les structures dynamiques d'une aile de libellule comme le réseau hydraulique de circulation d'hémolymphe. Des mesures de débit ont été réalisées. Malgré tout, les matériaux fabriqués par l'homme restent loin derrière ceux que la nature a inventés; l'ingénieur ne peut que s'en inspirer. Pour ce faire il dispose de plusieurs moyens de caractérisation, dont le MEB.

Formation de précipités d'argent après recuit à l'air de films minces à base d'oxydes

J.F. Pierson¹, C. Petitjean¹, C. Clément-Gendarme¹, D. Horwat¹

¹ Institut Jean Lamour

L'oxyde d'argent (Ag_2O) est connu pour se décomposer dans l'air en argent métallique et en oxygène à des températures voisines de 200°C . L'addition d'un autre élément métallique, dont l'oxyde est plus stable, permet d'augmenter le domaine de stabilité de l'oxyde d'argent. Néanmoins, cette décomposition se produit à des températures plus élevées et permet de donner lieu à la formation de précipités d'argent de taille contrôlable (de quelques centaines de nanomètres à quelques centaines de micromètres) sur des surfaces d'oxydes. Des films à base d'oxyde d'argent ont été élaborés sur des substrats en verre par pulvérisation magnétron réactive puis recuits dans l'air à des températures comprises entre 100 et 550°C . La composition des films a été évaluée par EDS et ces résultats ont été comparés avec ceux obtenus par RBS et par microsonde de Castaing. La morphologie des revêtements bruts de dépôts et recuits a été observée par microscopie électronique à balayage. Au cours de cette présentation nous détaillerons l'influence de l'addition de cuivre et/ou de manganèse sur la formation de précipités d'argent.

Apport de la microscopie électronique à l'étude des électrodes composites de batteries au lithium

P. Moreau¹

¹ Institut des Matériaux Jean Rouxel, Université de Nantes-CNRS, UMR6502, 44322 Nantes

Les véhicules électriques de demain ont besoin d'une source d'énergie, à la fois, de grande densité mais aussi permettant des puissances délivrées importantes. Ces deux aspects génèrent des recherches en matériaux à la fois vers la synthèse de composés pouvant accepter plus de lithium mais aussi vers des confections d'électrodes adaptées à une restitution rapide de cette énergie. Pour ce dernier point notamment, il est rapidement apparu que la structuration de l'électrode à l'échelle nanométrique était cruciale. Après un bref rappel sur les verrous technologiques et conceptuels existant dans les électrodes pour batteries au lithium, il sera montré l'apport de la microscopie électronique à balayage à cette thématique. L'aspect multi-échelle du réseau conducteur percolant de carbones sera notamment illustré. L'apport de la microscopie électronique à transmission sera aussi démontré en complément du MEB. L'analyse chimique étant un point important pour l'élucidation des mécanismes de défaillance des électrodes, la spectroscopie de perte d'énergie des électrons dans un TEM sera aussi rapidement développée.

Apport de la microscopie électronique à balayage couplée à l'interférométrie à lumière blanche lors de l'étude de revêtements anticorrosion à base de polymères dopés.

C. Arnoult¹, O. Buchheit¹, D. Del Frari¹, F. Eddoumy¹, J. Di Martino¹, D. Ruch¹

¹ Laboratoire de Technologies Industrielles et Matériaux, Luxembourg

Depuis le 1er janvier 2006 la législation européenne interdit l'usage du chrome hexavalent dans les procédés de passivation des métaux du fait de sa toxicité. En conséquence, de nombreuses alternatives sont actuellement à l'étude. Ces nouvelles techniques doivent reproduire les propriétés anti-corrosion des revêtements chromatisés, c'est à dire présenter des propriétés de protection à la fois passives (barrière physique) et actives (" cicatrisation " des dommages), tout en étant facilement transférable vers l'industrie d'un point de vue pratique, économique et environnemental.

Les revêtements à base de siloxanes possèdent des propriétés barrières intéressantes [1], mais aucune protection active vis à vis de la corrosion. En revanche, des études ont montré que des revêtements à base de cérium [2,3] peuvent apporter des propriétés actives de cicatrisation. L'association de ces deux types de revêtements permettrait d'obtenir des propriétés anticorrosion optimales. Les premières études réalisées sur des revêtements d'hexaméthylidisiloxane (HMDSO) dopés par des nanoparticules d'oxyde de cérium (AlCeO_3) ont effectivement montré des propriétés de protections intéressantes [4]. Ces revêtements sont déposés en films minces par plasma atmosphérique. La topographie de surface et la dispersion des nanocharges dans la matrice polymère (en relation directe avec le processus de dépôt, la matrice et les nanocharges utilisées) sont deux propriétés essentielles conditionnant l'efficacité de ces dépôts en utilisation réelle. La présente étude porte sur le couplage de deux méthodes de caractérisation, la Microscopie Electronique à pression contrôlée (MEB-PC) et l'interférométrie à lumière blanche (acronyme anglais : WLI) dans le but de caractériser ces relations.

Le MEB-PC montre que les nanoparticules sont incorporées dans la matrice polymère quelle que soit la concentration initiale en nanoparticules. La plupart des nanoparticules forment des agrégats, plus ou moins sphériques de quelques centaines de nanomètres à plusieurs microns de diamètre. Des sur-épaisseurs de HMDSO sont parfois visibles autour des agrégats les plus importants. En parallèle, le WLI permet de mesurer de manière quantitative la topographie des revêtements. Il met en évidence que la surface des revêtements présente effectivement de nombreuses " protubérances ", et que la taille et la concentration de ces reliefs semblent être liée au taux de dopage initial en particules. Cependant, ces mesures étant découplées, elles ne sont pas réalisées au même endroit sur l'échantillon, ni à des échelles comparables : il n'est donc pas possible de certifier que chaque protubérance topographique est directement reliée à la présence d'un agrégat sous la surface.

Grâce à une méthode de localisation précise des mesures MEB-PC et WLI sur la surface des échantillons, il est possible de recombinaison les informations obtenues à partir de ces deux techniques et d'obtenir des images 4D de la surface des revêtements : topographie (x, y, z) et une dimension de composition chimique. Ces images permettent non seulement de prouver que chaque " protubérance " est directement liée à la présence d'un agrégat de nanoparticules, mais aussi de pouvoir évaluer quantitativement les relations entre la rugosité de la surface, la concentration initiale en nanoparticules et leur dispersion dans la matrice.

[1] T. Chou, P. Chandrasekaran, C. Limmer, S. J. Seraji, S. Wu, Y. Forbess, M. J. Nguyen,

C. Cao, G. Z., Journal of non-crystalline solids, 153, 290, (2001)

[2] W. Trabelsi, P. Cecilio, M.G.S. Ferreira, M.F. Montemor, Progress in Organic Coatings, 276, 54, (2005)

[3] K. Aramaki, Corrosion Science, 1621, 44, (2002)

[4] D. Del Frari, J. Bour, J. Bardon, O. Buchheit, C. Arnoult, D. Ruch, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, in press

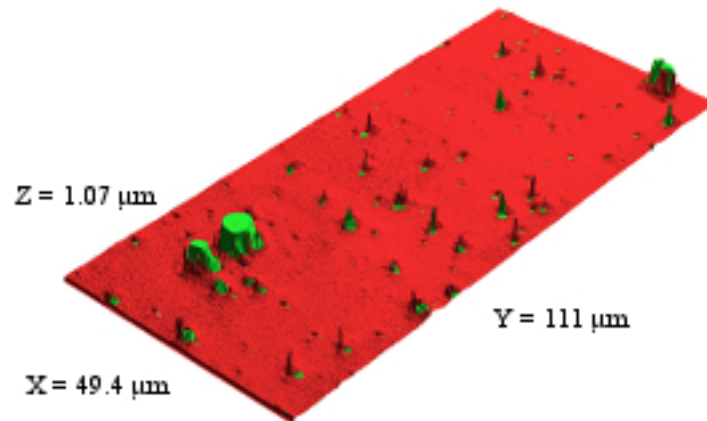


Image 4D : Couplage des données topographiques et de composition (rouge : matrice HMDSO et vert : agrégats de nanoparticules) du revêtement nanocomposite.

Polymorphisme de l'aluminate de Sr dopé au fer : les quatre formes de $\text{SrAl}_{1,5}\text{Fe}_{0,5}\text{O}_4$

H. Desmoulins¹, S. Malo¹, S. Boudin¹, V. Caignaert¹, M. Hervieu¹

¹ Laboratoire CIRSMAT, UMR6508 CNRS / ENSICAEN, 6 Bd Maréchal Juin, 14050 Caen Cedex 4, France

Les matériaux AM_2O_4 à structure dérivée de la tridymite ($A = \text{Sr}, \text{Ba}, \text{Ca}$, $M = \text{Al}, \text{Fe}, \text{Ga} \dots$) font depuis longtemps l'objet d'études intensives en raison du large éventail de leurs propriétés potentielles (optique, catalytique, conduction ionique...). L'investigation du diagramme ternaire $\text{SrO}-\text{Al}_2\text{O}_3-\text{Fe}_2\text{O}_3$ a permis la stabilisation de quatre phases isocompositionnelles, $\text{SrAl}_{1,5}\text{Fe}_{0,5}\text{O}_4$, qui ont été caractérisées par microscopie électronique en transmission, diffraction des rayons X sur poudre et analyses thermiques [1].

Deux phases sont isotypes des deux formes de l'aluminate SrAl_2O_4 [2,3]. La phase notée M, obtenue après un cycle thermique à 1350°C , cristallise dans une structure monoclinique de paramètres $a = A$, $b = \sqrt{3}A$, $c = C$ et $\beta \approx 93^\circ$, $\text{GE} = \text{P}2_1$ ($A \approx 5.22\text{angström}$ et $C \approx 8.45\text{angström}$ étant les paramètres de la sous-maille tridymite hexagonale, $\text{GE} = \text{P}6_322$). L'affinement des données de RX confirme l'arrangement UDUDUD des anneaux de six tétraèdres AlO_4 (Fig. d). La microstructure est caractérisée par un système de nanomacles, associé au double mécanisme de la distorsion monoclinique et de l'abaissement de symétrie de la structure hexagonale de la sous-maille. Une image haute résolution $[001]_M$ est présentée sur la Fig. a, avec un cliché de DE pseudo-hexagonal présentant les trois variantes. Les parois de macles (TB) sont cohérentes et parallèles à $(010)_M$ et $(010)_H$; les défauts planaires (PD), parallèles à (100) , sont les prémisses des phases nouvelles, orthorhombiques, présentant des surstructures. La deuxième phase notée H, obtenue après un palier à 1350°C suivi d'une trempe, correspond à la forme haute température de la tridymite. Cette structure cristallise dans une maille hexagonale de paramètres $a = \sqrt{3}A$ et $c = C$ (Fig. d), $\text{GE} = \text{P}6_3$. Cette forme, se trouvant majoritairement sous la forme de domaines piégés dans la matrice M lors du refroidissement rapide, est observable à température ambiante.

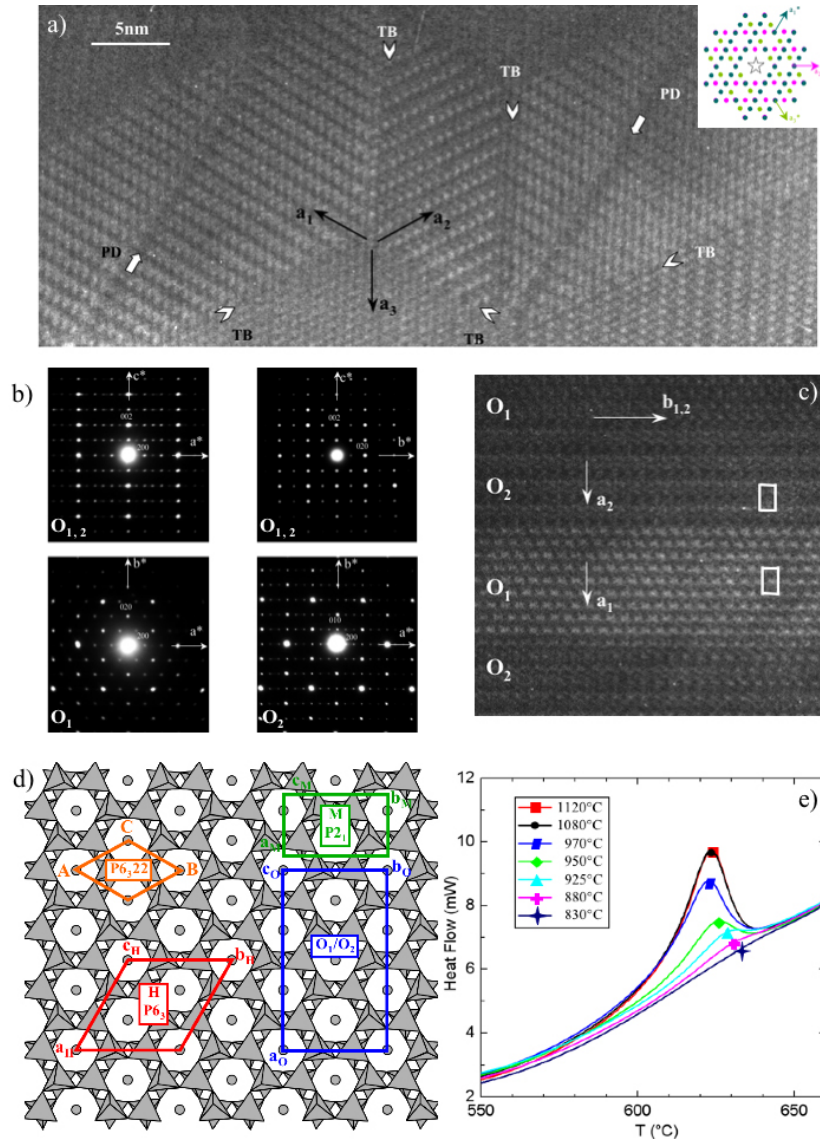
Deux phases originales dénotées O_1 et O_2 (Fig. d) sont observées par recuits de la phase M. Elles sont métriquement similaires ($3A \times \sqrt{3}A \times C$ et $\beta \approx 90^\circ$) et ne diffèrent que par leurs groupes d'espace (Fig. b) : $\text{P}2_1\text{mn}$ ou $\text{P}11\text{n}$ pour la phase O_1 (configuration UDUDUD + UDDUDU) et $\text{P}222_1$ pour O_2 (configuration UDUDUD). Ces deux phases coexistent systématiquement, quel que soit le recuit, souvent sous forme de nanodomains bidimensionnels en intercroissance (Fig. c).

L'étude en DE/MET montre le caractère topotactique des transitions entre les différentes phases, par la formation de parois de macles, de parois d'antiphase et de défauts planaires (Fig. a). Les échantillons recuits présentent un état mésomorphe et une transition réversible entre cet état de semi-ordre à température ambiante (O_1 et O_2) et une phase cristalline haute température (H). Les analyses thermiques mettent en évidence la réversibilité de cette transition dynamique ($E_a = 10\text{J/g}$) qui s'effectue sur une large gamme de température à la montée (BT \rightarrow HT de 620°C à 1120°C) mais très réduite à la descente (HT \rightarrow BT de 630°C à 620°C) (Fig. e).

[1] H. Desmoulins, S. Malo, S. Boudin, V. Caignaert and M. Hervieu, soumis pour publication à Journal of Solid State Chemistry.

[2] A.R. Schulze and Hk. Müller-Buschbaum, Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie, 205-210, 475 (1981)

[3] K. Fukuda, K. Fukushima, Journal of Solid State Chemistry, 2709-2714, 178 (2005)



a) Image $[001]_M$ HREM de la phase M présentant les domaines orientés à 120° et les défauts planaires perpendiculaires aux parois de macles ; en insertion, la représentation schématique du cliché de DE avec les trois variantes.

b) Clichés de DE $[010]$ et $[100]$ communs aux deux phases O_1 et O_2 ; la condition $hk0$: $h + k = 2n$ pour O_1 et l'absence de condition pour O_2 sont visibles sur les clichés $[001]$.

c) Image HREM suivant $[001]$ montrant la coexistence des phases O_1 et O_2 sous forme de fines lamelles nanométriques empilées suivant l'axe a.

d) Projection $[001]$ des différentes mailles des phases M, H, O_1 et O_2 et de la sous-maille tridymite hexagonale $P6_322$.

e) Courbes DSC obtenues lors de la descente en température.

Mise en évidence et étude de nouveaux aluminates d'antimoine par Microscopie Electronique et Diffraction des Rayons X

A. Letrouit¹, R. Retoux¹, M. Hervieu¹, S. Boudin¹

¹ Laboratoire CRISMAT, UMR 6508 CNRS-ENSICAEN, 6 Bld Maréchal Juin, 14050 Caen Cedex

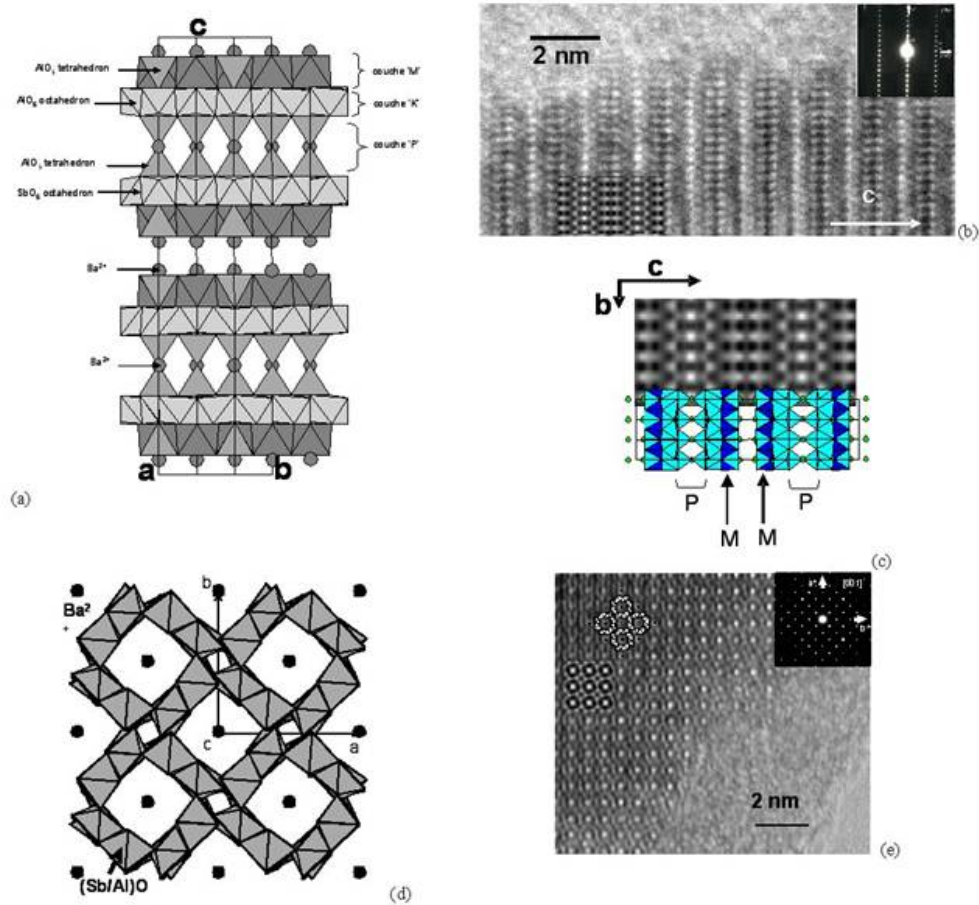
Les aluminates et les gallates présentent des structures cristallines variées. Ces oxydes, dans lesquels l'aluminium et le gallium peuvent adopter une coordinence tétraédrique, peuvent former des charpentes tridimensionnelles caractérisées par de larges cages (les zéolites) ou par des tunnels (les ultramarines). Compte tenu de leur grande diversité structurale, ces matériaux peuvent être employés aussi bien pour leurs propriétés catalytiques [1], de conduction protoniques [2] que pour leurs propriétés de conducteurs transparents [3]. Afin de synthétiser des matériaux pouvant offrir une structure cristalline ouverte, nous avons exploré les systèmes A-Sb-M-O (A=Sr, Ba; M=Al, Ga) et nous avons obtenu quatre nouvelles phases : $\text{Sr}_{1.5+x}\text{SbAl}_5\text{O}_{11.5}$, $\text{Ba}_{1.5}\text{SbAl}_5\text{O}_{11.5}$, $\text{Ba}_{1.5}\text{SbGa}_5\text{O}_{11.5}$ et $\text{BaSb}_2\text{Al}_4\text{O}_{12}$. Les caractérisations de ces nouvelles phases ont été faite en combinant les techniques de microscopie électronique en transmission et de diffraction des rayons X sur poudre. L'étude structurale ab initio de ces phases a été faite en déterminant dans un premier temps les rapports cationiques par analyse EDS, les paramètres de mailles et le groupe d'espace par Diffraction Electronique. Ces informations obtenues couplées à la technique de diffraction des rayons X sur poudre nous ont permis d'obtenir la structure cristalline de ces deux matériaux. Par la suite une interprétation des contrastes observés en Microscopie Electronique Haute Résolution a été entreprise sur les différents composés en comparant les images enregistrées le long des différents axes cristallographiques et les simulations d'images générées à partir des paramètres structuraux de ces composés déduits de l'étude de diffraction des rayons X [4]. La structure des oxydes $\text{A}_{1.5+x}\text{SbM}_5\text{O}_{11.5}$ (A= Sr, Ba; M=Al, Ga) [4] peut être décrit comme un empilement de trois types de couches notées K, P et M. La couche K est une couche " Kagomé " formée d'octaèdres AlO_6 . La couche M est une couche mixte formée d'octaèdres SbO_6 et de tétraèdres AlO_4 . Dans la couche P, les piliers sont construits avec des groupes Al_2O_7 . Les ions Ba^{2+} sont présents entre les piliers de la couche P et entre deux couches M successives. La seconde phase $\text{BaSb}_2\text{Al}_4\text{O}_{12}$ possède une structure de type Hollandite constituée d'octaèdres AlO_6 et SbO_6 formant une double chaîne rutile. L'arrangement des atomes d'Al et d'Sb à l'intérieur de la chaîne rutile induit un triplement du paramètre c.

[1] H. Zhang et al. Appl. Catal. A, 110-119, 305, (2006); T. Blasco et al. J. Catal., 362-373, 228, (2004); J. Guan et al. Catal. Lett., 125-129, 108, (2006); M.O. Guerrero-Pérez et al. J. of Catal., 339-348, 206, (2002); N. Ballarini et al. Appl. Catal. A., 49-59, 251, (2003)

[2] Y. Ozawa, N. Miura, N. Yamazoe, T. Seiyama, Chem. Let., 1741-1742, 11, (1982)

[3] H. Mizoguchi, P. Woodward, Chem. Mater., 5233-5248, 16, (2004)

[4] A. Letrouit, S. Boudin, R. Retoux, M. Hervieu Solid State Sci., 982-990, 10, (2008)



$Ba_{1.5+x}SbAl_5O_{11.5}$: (a) Projection perpendiculairement au plan bc , (b) image MEHR $[1_{-10}]$ superposition en insert de MEHR calculée et du cliché de DE (c) superposition de l'image MEHR calculée et de la structure. $BaSb_2Al_4O_{12}$: (d) Projection le long de c , (e) image MEHR $[001]$, superposition en insert de la simulation, de la structure et du cliché de DE.

Characterization of Au/CeO₂-Al₂O₃ Catalysts using Energy-Filtered Transmission Electron Microscopy (EFTEM)

P. Lakshmanan¹, L. Delannoy, C. Potvin, K. Fajerberg, V. Richard, C. Louis

¹ Laboratoire de Réactivité de Surface, UMR CNRS 7197, UPMC, Paris, France

Transmission Electron Microscopy plays a key role in the nano-structural characterization of catalytic materials. Metallic gold nanoparticles supported on CeO₂-containing oxide supports have attracted much attention recently due to their potential applications in catalysis [1-5]. Information on the size and structural environments of gold nanoparticles on oxide surfaces is considered as critical for the development of efficient catalytic materials. The common problem associated with the TEM analysis of Au/CeO₂ system is that the gold nanoparticles are barely visible due to poor contrast between gold and CeO₂; this is especially the case when the size of the CeO₂ particles is below 10 nm and when gold particles are also a few nanometer size [6,7]. The characterization of metal phases dispersed on cerium oxide (CeO₂) and related oxide supports is therefore a challenging problem.

In the present investigation, Energy-Filtered Transmission Electron Microscopy (EFTEM) was performed to characterize gold catalysts supported on CeO₂-Al₂O₃ mixed oxides, in order to overcome the drawbacks associated with regular TEM analysis. Such Au/xCeO₂/Al₂O₃ catalysts are aimed to be used in reactions of decomposition of volatile organic compounds (VOC), such as propene as in this study, into CO₂. These VOCs arise from domestic or industrial activities, and lead to air contamination that is harmful for public health.

xCeO₂-Al₂O₃ mixed oxides (where x = 1.5, 3, 5 and 10 wt % with respect to alumina) were prepared by vacuum impregnation of Al₂O₃ powder with Ce(NO₃)₃ solution. Deposition of gold (1 wt %) was performed from a HAuIII Cl₄ solution, by deposition-precipitation with urea, followed by a thermal treatment to obtain metallic gold particles [8].

Gold nanoparticles with an average size of ~2.5 nm were observed on the TEM images for all the Au/xCeO₂/Al₂O₃ and Au/Al₂O₃ samples, but not for Au/CeO₂. However, the TEM images revealed that the density of gold particles decreases as the CeO₂ loading increases (Fig. 1). Since both the gold loading and the gold particle size are similar in all the samples, one may deduce that all gold particles could not be observed by TEM.

Thus, the TEM results lead to the following questions : why is there a decrease in the density of gold nanoparticles with increasing ceria loading ? Is there any selective interaction of gold with particles of either CeO₂ or Al₂O₃ in Au/xCeO₂-Al₂O₃ ? How the structure/morphology of supported ceria is affected due to variation in ceria loading on alumina ? How the nature of the particles (Al₂O₃, CeO₂, Au) could be identified in the catalysts ? An answer could be given with the EFTEM technique. This method provides chemical contrast imaging (elemental mapping) of samples with nearly a resolution of 1 nm. The electrons, which cross the sample, lose energy through inelastic interaction with the matter. This energy loss is characteristic of the nature of atoms present in the sample. EFTEM consists of selecting and composing an image only with the electrons of a given energy loss. In the present study, EFTEM whose images are reported in Fig. 2, was performed on transmission electron microscope JEOL 2100 FEG UHR with a GATAN Imaging filter 2001. The Al and Ce edges were observed at their characteristic energy, 73 and 110 eV, respectively.

At very low CeO₂ loading, i.e., in Au/1.5CeO₂-Al₂O₃, the signal due to the ceria phase is quasi-absent (green colour in Fig.2b). This may be due to the presence of highly dispersed ceria

species, which leads to very weak signal, hidden by the intense signal of Al_2O_3 (red colour). As the ceria loading increases ($\text{Au}/10\text{CeO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$) (Fig. 2d), ceria phase with other morphologies, such as 3-D nanoparticles (~ 10 nm) and probably also thinner patches (surrounded by squares in Fig. 2d) could be identified. In the zero-loss image (Fig.2a,c), 2-3 nm size particles are observed. But are these small particles, CeO_2 or Au? The EFTEM image in Fig. 2d, which clearly shows the location of CeO_2 particles on alumina, but not these small particles, allows assigning them to gold. According to the EFTEM image, most of the visible gold particles (~ 2.5 nm) are located on alumina (dotted arrows in Fig.2d), but a few of them can be observed on the edge of CeO_2 particles (solid arrow in 2d). It is anticipated that the “missing” gold particles are located on CeO_2 particles.

Such nano-structural information is very useful for the characterization of supported gold catalysts and as a consequence, for the interpretation of catalytic results. Indeed, the propene oxidation results show that the catalytic activity increases as the ceria loading increases. This can be related to the increasing number of gold particles located on CeO_2 particles. The influence of ceria loading on the catalytic activity could be successfully revealed by the characterization using combined TEM-EFTEM technique.

*Corresponding author. Tel : +33 1 44273050, Fax : +33 144276033,
e-mail : catherine.louis@upmc.fr

[1] Q. Fu, A. Weber, M. Flytzani-Stephanopoulos, *Catalysis Letters* 77 (2001) 87.

[2] H. Sakurai, T. Akita, S. Tsubota, M. Kiuchi, M. Haruta, *Applied Catalysis A : General* 291 (2005) 179.

[3] S. Carrettin, P. Concepcion, A. Corma, J.M.L. Nieto, V.F. Puntes, *Angewandte Chemie. Int.* 43 (2004) 2538.

[4] S. Sciré, S. Minico, C. Crisafulli, C. Satriano, A. Pistone, *Applied Catalysis. B : Environmental.* 40 (2003) 43.

[5] N. Le To Nga, C. Potvin, G. Djéga-Mariadassou, L. Delannoy, C. Louis, *Topics in Catalysis* 42-43 (2007) 91.

[6] L. Delannoy, N. Weiher, N. Tsapatsaris, A.M. Beesley, L. Nchari, S.L.M. Schroeder, C. Louis, *Topics in Catalysis* 44 (2007) 263.

[7] A.Karpenko, R. Leppelt, V. Plzak, A. Chuvilin, B. Schumacher, R.J. Behm *Topics in Catalysis* 183 (2007)

[8] R. Zanella, L. Delannoy, C. Louis, *Applied Catalysis A : General* 291 (2005) 62.

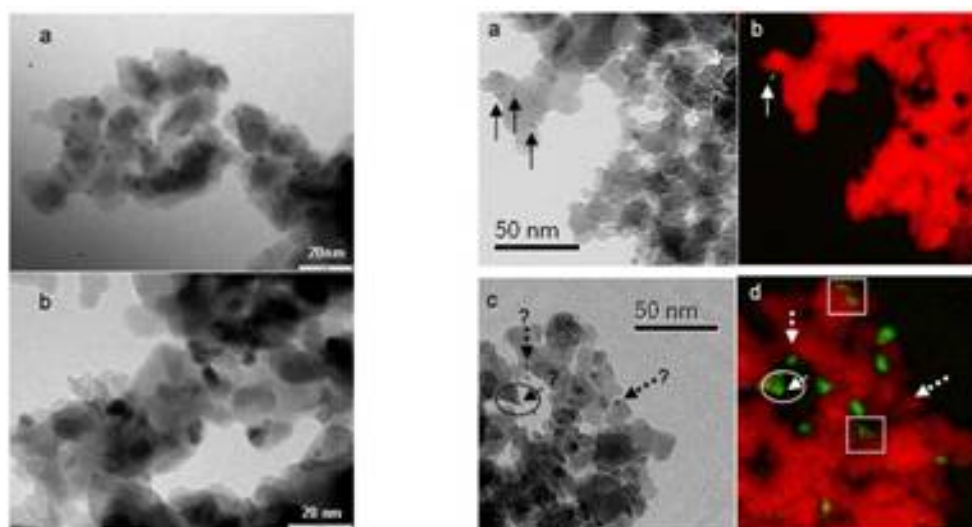


Fig. 1. TEM images of Au/1.5CeO₂/Al₂O₃ and Au/10CeO₂/Al₂O₃ catalysts

Fig. 2. EFTEM images of Au/1.5CeO₂/Al₂O₃ (b) and Au/10CeO₂/Al₂O₃ (d) and their corresponding zero-loss TEM images (a) and (c) respectively.

Revisiting the Phase Diagram of Sodium Cobaltate above 0.5 : X-ray and Electron Investigation

F.-T. Huang^{1,2}, A. Gloter¹, M.-W. Chu², F. C. Chou², C.-H. Chen², C. Colliex¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, CNRS-UMR 8502, Université Paris-Sud, Bât 510, 91405 Orsay cedex, France

² Center for Condensed Matter Sciences, National Taiwan University, Taipei 10617, Taiwan

The lamellar sodium cobaltate, γ -Na_xCoO₂, displays a rich phase diagram as a function of the sodium content x , ranging from the Pauli-like paramagnetic metal at $x < 0.5$, the Curie-Weiss metal at $x > 0.5$, and a unique phase showing the metal-to-insulator transition (MIT) at $x = 0.5$. The MIT for $x = 0.5$ has been established to be correlated with the onset of an orthorhombic superlattice due to the two-dimensional zigzag-chain ordering of the sodium ions. The respective existence and absence of an A-type antiferromagnetic ordering in the Curie-Weiss metal regime with $x > 0.8$ and $x < 0.8$ have also been suggested to be associated with the underlying sodium ordering. However, the detailed structures of the superlattices and the sodium ordering have never been elaborated, and the interplays between the magnetic ordering and the structural characteristics remain an open question. Resolving the undetermined superlattices in the Curie-Weiss metal regime with and without the A-type magnetic ordering should shed more light on this question and is the goal of this work. We firmly established the existence of exceptionally large superlattices in $x = 0.71, 0.77, 0.82$ and 0.83 , $\sqrt{12}a_p \times \sqrt{12}a_p \times 3c_p, \sqrt{19}a_p \times \sqrt{19}a_p \times 3c_p$ and $\sqrt{13}a_p \times \sqrt{13}a_p \times 3c_p$ (a_p, c_p ; the hexagonal primitive cell), respectively, which have never documented before. The corresponding long-range three dimensional sodium ordering was also unraveled. Furthermore, electron energy-loss spectroscopy (EELS) for the oxygen K-edge and the Co $L_{2,3}$ -edge has been carried out intensively with compositional x value variation to investigate the electronic structure. The study of the absorption peak feature reveals the systematic variation of the hole distribution between Co and oxygen atoms upon Na extraction. At low Na content ($x < 0.8$), the oxygen K-edge spectra demonstrate more effective spectral changes. While at high Na content ($x > 0.8$), the main change is observed for Co $L_{2,3}$ -edge with very ionic character. These results were accounted for many puzzling features observed in Na_xCoO₂. Discussions will be given on how Na-ion arranged and how the structural correlated (crystallographic and electronic) to the magnetic instability phenomena.

Microstructural studies of potential thermoelectric perovskite-type manganate phases

L. Bocher^{1,4}, M. H. Aguirre¹, P. Wang², A. Bleloch², U. Bangert³, A. Weidenkaff¹

¹ Solid State Chemistry and Catalysis, Empa, Ueberlandstrasse 129. CH-8600 Duebendorf. Switzerland

² SuperSTEM, STFC Daresbury Laboratory, Warrington WA4 4

³ School of Materials, University of Manchester, Manchester M13 9PL, UK

⁴ present address : Laboratoire de Physique des Solides, CNRS/UMR8502, Université Paris-Sud, 91405 Orsay. France

Perovskite-type oxides represent a large variety of remarkable physical properties such as high temperature superconductivity, colossal magnetoresistance, ferroelectricity and thermoelectricity [1]. Manganates adopting the perovskite structure reveal potential thermoelectric properties at high temperatures ($T \gg 300\text{K}$) [2]. One key challenge in the development of materials, with high thermoelectric efficiencies, is the lowering of the thermal conductivity without disrupting the electrical conductivity. Nanostructuring thermoelectric materials, i.e. synthesizing materials composed of nanometer-size crystallites or nanometer-scale microstructures, might answer this issue.

Polycrystalline nanostructured perovskite-type $\text{CaMn}_{1-x}\text{Nb}_x\text{O}_3$ ($x \leq 0.08$) phases are studied concerning their microstructures by combining diffraction, imaging, and spectroscopic techniques. At room temperature, CaMnO_3 crystallizes in the \underline{ABO}_3 perovskite structure presenting an orthorhombic symmetry ($\underline{S.G.Pnma}$ with unit cell parameters : $a_c\sqrt{2} \times 2a_c \times a_c\sqrt{2}$) (for convenience, information related to the cubic and the orthorhombic crystal structures are labeled with "c" and "o" subscripts, respectively).

The orthorhombic $\text{CaMn}_{1-x}\text{Nb}_x\text{O}_3$ phases reveal complex textural features. The presence of 90° nano-sized twinned domains in the $\text{CaMn}_{1-x}\text{Nb}_x\text{O}_3$ phases is evidenced by high-resolution TEM and electron diffraction studies. Twins are commonly observed in distorted perovskite structures. Twinned domains can coherently growth on each other yielding a particular microstructure. The formation of twins in orthorhombic structures relies on the combination of close lattice parameters, i.e. $a_o \simeq c_o \simeq a_c\sqrt{2}$ and a low octahedra tilt angle [3]. In the studied phases, the 90° twins are formed on cooling, upon the structural transition from cubic to orthorhombic, i.e. from higher to lower symmetry. The presence of rotation twins in the $\text{CaMn}_{1-x}\text{Nb}_x\text{O}_3$ phases triggers off the question whether Nb segregations could exist at the domain boundary. Besides, the present investigation reports also on the structural, chemical, and electronic properties of single Ruddlesden-Popper rock-salt layers observed in the studied phases. Ruddlesden-Popper series are well-known as layered perovskite-type structure $\underline{A}_{n+1}\text{B}_n\text{O}_{3n+1}$ with \underline{n} the number of \underline{AO} layers which involve anti-phase boundaries. Thus, the combination of a new generation of STEMs with aberration corrections yielding a sub-Angstrom spatial resolution and the EELS capabilities enables atomic-column analyses at twin and anti-phase boundaries.

[1] B. Raveau. Prog. Solid State Chem. 171-173, 35, (2007)

[2] L. Bocher, M. H. Aguirre, D. Logvinovich, A. Shkabko, R. Robert, M. Trottmann, and A. Weidenka, Inorg. Chem., 8077-8085, 47 (2008)

[3] M. H. Aguirre, R. Ruiz-Bustos, and M. A. Alario-Franco, J. Mater. Chem., 1156-1160, 13 (2003)

STEM and EELS characterisation of boron-doped superconducting silicon

R. Fernández-Pacheco¹, F. J. de la Peña¹, O. Stéphan¹, M. Kociak¹, N. Brun¹, T. Kociniewski², D. Débarre², J. Boulmer², F. Fossard², C. Colliex¹

¹ Laboratoire de Physique des Solides, CNRS UMR 8502, Université Paris-Sud, Bât. 510, 91450 Orsay (France)

² Institut d'Électronique Fondamentale, CNRS UMR 8622, Université Paris-Sud, Bât. 220, 91450 Orsay (France)

Superconductivity can be induced in silicon when boron is locally introduced at concentrations above its equilibrium solubility [1,2]. Such concentrations, above 100 ppm, can only be obtained by means of gas immersion laser doping (GILD). Electrical resistivity and magnetic susceptibility measurements show that such boron-doped silicon (Si :B) is a superconductor below a transition temperature $T_c=0.35\text{K}$, with a critical field of about 0.4T. The structural and chemical homogeneity of such prepared samples has been studied by means of Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) and Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) analysis. During the first step of the laser doping process, boron trichloride (BCl_3) was adsorbed on the silicon wafer surface. On a second step, local surface melting of silicon was induced by an excimer laser pulse, leading to the formation of the Si :B epilayer upon cooling. Cross-section samples were then prepared by mechanical polishing to obtain a thin film, transparent to electrons. High Angle Annular Dark Field (HAADF) and Bright Field (BF) images were obtained in a VG STEM and a NION UltraSTEM at 100 KV. A systematic study has been performed to estimate the amount of B incorporation into silicon as a function of the irradiation conditions. However, there are several difficulties that have to be taken into account for a proper quantification. There is about one order of magnitude of difference between Si L and B K cross sections. Besides, the presence of a strong Si L extended fine structure in the energy range of B K makes the background subtraction difficult and induces significant errors in the estimation of B K intensity, a problem that is amplified as thickness increases. These two facts hinder the detection of even high concentrations of B. Moreover, the weak signal associated to B yields a featureless signature of the presence of B K, impeding a proper analysis of the fine structure, and therefore its chemical state. For each sample, maps of chemical composition were obtained by acquiring complete spectra stored at each pixel in a scanned image, a process known as spectrum-image, or spim [3]. Preliminary results show a homogeneous distribution of boron at the irradiated zones for those samples which presented superconducting behaviour. This fact that would be in agreement with a perfect dilution of B instead of an accumulation in aggregates during the fabrication process [1]. Further analysis is required for a better understanding of the mechanism of boron inclusion and its role in the superconducting behaviour of doped silicon. The use of a second derivative acquisition mode to eliminate background subtraction problems due to EXELFS and thickness effects can be an interesting alternative [4].

[1] E. Bustarret, C. Marcenat, P. Achatz, J. Kacmarcik, F. Lévy, A. Huxley, L. Ortéga, E. Bourgeois, X. Blase, D. Débarre and J. Boulmer, *Nature*, 465-468, 444 (2006)

[2] D. Cammilleri, F. Fossard, D. Débarre, C. Tran Manh, C. Dubois, E. Bustarret, C. Marcenat, P. Achatz, D. Bouchier and J. Boulmer, *Thin Solid Films*, 75-79, 517 (2008)

[3] C. Jeanguillaume and C. Colliex, *Ultramicroscopy*, 252-257, 28 (1989)

- [4] J. A. Fortner, E. C. Buck, A. J. G. Ellison and J. K. Bates, Ultramicroscopy 77-81, 67 (1997)

Analyse par micro-diffraction de la symétrie exacte de $La_{10}W_2O_{21}$

M.H. Chambrier¹, A. Redjaïmia², A. Le Bail¹, S. Kodjikian¹, F. Goutenoire.¹

¹ Laboratoire des Oxydes et Fluorures, Université du Maine, Av. O. Messiaen 72000 – Le Mans, France

² LSGS-UMR CNRS 7570, Ecole des Mines de Nancy, Parc de Saurupt 54042, Nancy Cedex, France

L'étude fondamentale des diagrammes de phase a fait l'objet de nombreux travaux dans les années 70, dont ceux de l'équipe de Yoshimura [1]. Cependant, une fois ces diagrammes de phase établis, la résolution des structures des composés définis n'aboutit que très rarement par manque de monocristaux. Le présent travail se propose de présenter la réexploration structurale *ab-initio* du diagramme de phase $La_2O_3 - WO_3$ à partir de diffraction sur poudre des rayons X, des neutrons et des électrons.

Notre étude s'est focalisée sur la zone 27 – 54%mol. WO_3 qui comprend 4 composés définis : $La_{10}W_2O_{21}$, $La_6W_2O_{15}$, La_2WO_6 et $La_{14}W_8O_{45}$ (Figure 1).

L'étude par microscopie électronique en transmission est un outil puissant et la base de notre travail dont l'objectif est d'atteindre les paramètres de maille, la symétrie, et la structure.

Le composé défini $La_{10}W_2O_{21}$, répertorié comme de type pyrochlore avec un paramètre de maille égal à 11, 17Å, a nécessité une étude fine par diffraction des rayons X et des neutrons ainsi qu'une analyse par micro-diffraction pour déterminer la symétrie de cette phase. En effet, le groupe d'espace retenu pour ce composé était Fd-3m (N°227) mais les diagrammes de diffraction des rayons X mettent en évidence l'existence de la raie (002), impossible pour cette symétrie. Dans un premier temps nous avons utilisé la théorie des groupes pour proposer différents sous-groupes à Fd-3m. Douze sous-groupes ont été testés : F4-3m(N°216), I41/amd(N°141), R-3m (N°166), I-4m2(N°119), I4122(N°98), I41/a(n°88), I-42d(N°122), R-3(N°148), R3m(N°160), R32(N°155), Imma (N°74) et C2/m (N°12). Ces tests mettent en avant deux groupes d'espace, R-3m (N°166) et Imma (N°74), qui présentent un facteur de fiabilité le plus faible R_{Bragg} ~ 11.7% pour un diagramme de diffraction neutronique.

Pour confirmer ou infirmer ce résultat la microdiffraction électronique et le C.B.E.D. (convergent beam electron diffraction) ont été appliqués.

Sur les clichés de microdiffraction, on observe sur la Z.O.L.Z. (Zero order laue zone) la symétrie (4mm) et pour le cliché entier la symétrie (3m), ce qui est la signature d'un cristal cubique. De la même manière une étude, par microdiffraction selon les directions [001] et [110], des Z.O.L.Z. et F.O.L.Z. (First order laue order) mettent en évidence les symboles individuels d'extinction F-.. et F.- respectivement. On ne note pas d'extinction liée à l'existence de plan translatore. On peut en déduire le symbole d'extinction (F-.-) (Figure 1 b).

La réalisation de clichés de diffraction de Tanaka, issu d'un cliché hexagonal (6mm) et qui met 6 disques en position exacte de Bragg, nous conduit à une classe de diffraction projetée 6mm1R. A partir de l'ensemble de ces observations le seul groupe d'espace possible est Fm-3m (N°225) (Figure 1 c).

Dans un premier temps nous avons choisi comme modèle structurale : Y_7ReO_{14} [2]. Le facteur de fiabilité structurale est pour l'instant de R_{Bragg} ~ 12.8 % pour le groupe d'espace Fm-3m (N°225) soit légèrement supérieur aux modèles précédents.

En conclusion, l'examen du composé $La_{10}W_2O_{21}$ en microdiffraction nous a permis de mieux

cerner sa symétrie réelle qui semble plus proche d'une sur-structure fluorine que d'un pyrochlore et de focaliser notre travail d'analyse structurale sur le bon groupe d'espace.

[1] M. Yoshimura and A. Rouanet, Mater. Res. Bull., 51-158, 11 (1976)

[2] H. Ehrenberg, Th. Hartmann, K. G. Bramnik, G. Miehe, H. Fuess, Solid State Sciences, 247–250, 6 (2004)

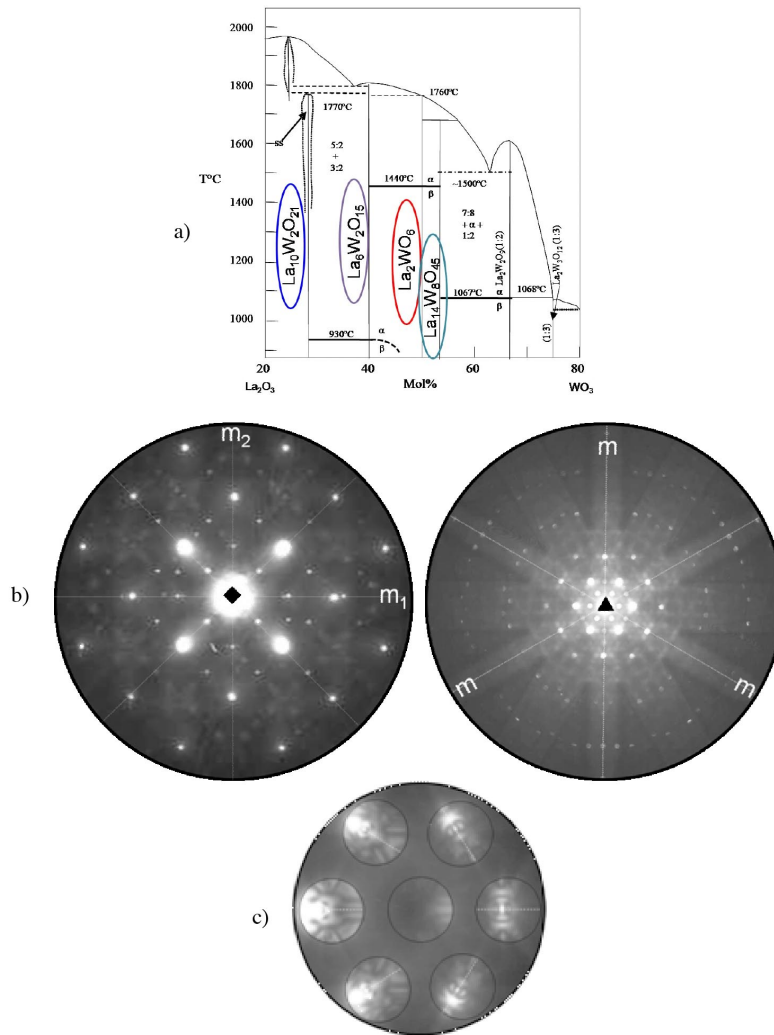


Figure 1 : a) Diagramme de phase La_2O_3 – WO_3 selon Yoshimura [1]; b) Clichés de micro-diffraction en axe de zone $[001]$ (gauche) et $[111]$ (droite) révélant les symboles individuels d'extinction $F_{..}$ et $F_{.-}$; c) Cliché de diffraction de Tanaka d'un cliché hexagonal (6mm) du composé $\text{La}_{10}\text{W}_2\text{O}_{21}$.

Remerciements

Nous tenons à remercier Sylvain Vigier (PhD Inter///bio, Equipe Matériaux du Vivant, LCMCP-UMR7574) de nous avoir permis de reproduire son image de Fluorescence sur la couverture de ce recueil ainsi que sur l'affiche de la conférence.

Nous remercions également le service de reprographie de l'ONERA, et en particulier M. François Fouquet, pour son aide et son travail lors de la composition de l'affiche de la conférence et lors de l'impression du présent recueil.

Index

- Feldmann, 109
- Brun, 311
Khelfane, 269
Péchoux, 170
Pettinari-Sturmel, 320
- Acevedo, 183
Addad, 245, 304
Agronskaia, 102
Aguirre, 351
Ajroudi, 255
Al Kurdi, 160
Allain, 179
Alloyeau, 293
Alpy, 118
Ando, 126
André, 262
Andreazza, 269
Andreazza-Vignolle, 269
Anglo, 91
Anne, 260
Aptel, 82
Arenal, 280, 297
Arluison, 330
Arm, 195, 211, 307
Arnal, 159
Arnoult, 341
Asahina, 177
Audier, 197
Augustin, 112
Aujard, 96
Auzende, 238
Ayoub, 271
- Béché, 174
Béclin, 304
Bény, 323
Bachelet, 215
- Bachelot, 89
Bacia, 260
Baconnais, 120
Bacroix, 313
Badro, 238
Baldovino, 173
Bally-Cuif, 96
Bangert, 351
Banhart, 239, 247
Baranowska, 122
Baraton, 285
Barois, 110
Baronnet , 224
Barre, 200
Barthélémy, 54
Bartosch, 148
Bataille, 304
Batailler, 111
Baumeister, 107
Bayle-Guillemaud, 192, 195, 205, 211, 307
Beaunier, 250, 251
Beaurepaire, 82
Bedel, 311
Begin-Colin, 290
Bellet-Amalric, 262
Benaissa, 253
Benameur, 304
Benbrahim-Bouzidi, 96
Bender, 52
Benedetti, 117
Benlekbir, 73
Bensimon, 96
Benzerara, 233, 301
Bermudez, 337
Bernard, 93, 233
Bernard-Granger, 304
Berquand, 104, 122
Berthe, 245

- Bertheau, 115
Berthier, 328
Berthoumieu, 126
Bertoncini, 127
Bessais, 267
Bessereau, 114
Beysac, 233
Bezacier, 325
Bibes, 54
Bickel, 169
Biron, 322
Birou, 49
Blais, 127
Blanc, 242
Blanquet, 197
Blavette, 69
Bleloch, 351
Blestel, 44, 134, 141
Bloemendal, 117
Blon, 246
Bocher, 351
Bogner, 75
Boisset, 133, 145, 151
Bonazzi, 107
Bonnafous, 148, 169
Bosshart, 125
Botton, 240
Bouaziz, 179
Bouchet, 104
Boudarham, 85
Boudin, 343, 345
Boudouma, 324
Bougerol, 205, 262
Bougrioua, 199
Boukhalfa-Heniche, 120
Boulanger, 181, 190
Boulard, 225
Boullay, 248
Boulmer, 352
Bourdelle, 63
Bourdon, 100
Bousquet, 115
Bouzehouane, 54
Bouzy, 185
Boyes, 209
Bracke, 179
Braidy, 67, 287, 293
Brandner, 333
Brault, 253
Bres, 232
Bridson, 282
Brisson, 156, 166
Bron, 153
Brouri, 251
Brown, 100
Brown Jr, 233, 301
Bruandet, 47
Brun, 352
Brunetti, 185
Buchheit, 341
Buffat, 193
Buléon, 149
Buscara, 170
Buzhynskyy, 128, 129
Cabié, 41
Caignaert, 343
Caillard, 285, 321
Calas, 203
Callebaut, 151
Callejon, 333
Calmels, 173
Calonne, 317
Campbell, 210
Cantoni, 193, 332
Caroff, 192
Carrétéro, 54
Carrey, 246
Carrière, 151
Carvallo, 235
Casale, 251
Casanove, 271
Castro, 213
Cayrol, 330
Cazayous, 72
Chadi, 170
Chaffron, 190
Chambrier, 354
Chanat, 170
Charra, 80
Chassagne, 217
Chastaing, 321

- Chaudret, 246
Chaussende, 197
Chauvat, 57
Chauveau, 199
Chauvet, 127
Chen, 350
Cheng, 278
Cheniclet, 100, 111
Cherkashin, 63
Chevalier, 100, 220
Cheynet, 240
Cheynis, 211
Chiang, 244
Chirazi, 60
Chmielowski, 188
Chou, 350
Chrétien, 44, 94, 134, 141, 159
Chu, 350
Chung, 99
Church, 227
Ciczora, 124
Clément-Gendarme, 339
Cladière, 143
Claudel, 197
Claverie, 52, 63
Cojocaru, 285
Colas, 317
Collet, 179
Colliex, 93, 95, 274, 282, 309, 311, 350, 352
Collin, 187
Connell, 156
Cooper, 174
Coquelle, 159
Cordier, 230
Coriton, 100
Cormier, 203
Cossart, 107
Cosset, 148
Costa, 170
Cotte, 322
Coujou, 319, 320
Coulon, 173
Coutoure-Tosi, 136
Couvrat, 190
Craven, 171
Crisan, 275
Curnier, 47
Débarre, 352
Décamps, 187, 215, 257, 317
Da Costa, 251
Daloz, 315
Danoix, 73
Dansas, 201
Dargaud, 203
Daudin, 205
Davidson, 251
Davies, 311
Davletov, 156
De Cian, 120
de Frutos, 157
de la Peña, 312, 352
De Sa Peixoto, 91
de Thé, 115
Declairieux, 198
Degrouard, 157, 158
Dejoie, 260
Del Frari, 341
Delannoy, 56, 347
Delattre, 257
Delevoye, 163
Demaille, 266
Demortiere, 290
Deneuve, 60
Deniaux, 326
Denis, 185
Deniset-Besseau, 82, 91
Denquin, 321
Desert, 147
Desmoulins, 343
Devaux, 143
Dezi, 138
Di Cicco, 138
Di Martino, 341
Di Pietro, 138
Dieny, 307
Doisneau-Cottignies, 197
Domengès, 177
Dooryhée, 260
Dorcet, 248
Dortet, 107
Douin, 319, 320

- Drillon, 60
Dubruille, 96
Duguet, 147
Dumay, 179
Dunia, 117
Dunin-Borkowski, 222, 227
Dupaigne, 120
Dupuis, 242
Dupuis-Williams, 154
Durand-Charre, 316
Durr, 329
- Eddoumy, 341
El Hassan, 251
El Kolli, 56
El-Bouchtaoui, 115
Endo, 65
Engel, 125
Enouz-Védrenne, 285
Epicier, 73, 183, 242, 276
Ersen, 58, 60, 264
Escalé, 319
Estaquier, 109
Ewels, 274
- Faes, 222
Faivre, 235
Fajerweg, 347
Falson, 138
Fanciulli, 173
Feinberg, 227
Felden, 153
Fellmann, 205
Feral-Martin, 264
Fernandez, 327
Fernández-Pacheco, 352
Fernandez, 336
Ferreira, 75, 115
Ferret, 291
Feth, 85
Feuillet, 291
Fiquet, 225, 238
Fisch, 154
Flahaut, 283
Fleurier, 283
Florea, 58, 60, 264
- Forestier, 116
Fortuna, 187, 215, 257
Fossard, 352
Fraczkiewicz, 317
Frangakis, 130
Frangne, 100
Frederix, 125
Freslon, 122
Fribourg, 138
Fruchart, 211
- Gagey, 96
Gai, 209
Gaillard, 104, 122
Galoisy, 203
Gancalves, 129
Gangloff, 285
Garcia, 71
Gatel, 195, 246, 271
Gauron, 96
Gauthier, 75
Gautier, 307
Gazeau, 65
Geerts, 163
Gentils, 215, 257
Genuist, 262
Gerritsen, 102
Gillet, 153
Giniatullina, 156
Giocondi, 119
Giorgio, 41, 56, 264
Giovannini, 87
Gloter, 274, 350
Gnaegi, 104
Goetz, 96
Goffé, 233
Golberg, 280
Gong, 117
Gontier, 169
Gounou, 156, 166
Goutenoire., 354
Grandidier, 240, 245
Grandjean, 199
Gray, 89
Grenet, 307
Grigorescu, 237

- Grillon, 70
 Grogger, 295
 Grosso, 258
 Grygiel, 248
 Gu, 95
 Guadagnini, 107, 109
 Guesnan, 116
 Guichard, 134, 330
 Guigner, 143
 Guillotel, 177
 Guttman, 42
 Guyot, 225, 233

 Hüe, 52, 77
 Hÿtch, 52, 63, 299
 Haase, 109
 Habinshuti, 240
 Haftek, 333
 Hagege, 207
 Haggui, 89
 Hallegot, 70
 Hamon, 120
 Harbi, 137
 Harrison, 227
 Hartmann, 174
 Hatto, 311
 Hazotte, 185
 He, 285
 Heichette, 94, 159
 Hell, 79
 Henry, 41, 56, 264
 Hentsch, 118
 Herrbach, 220
 Hervieu, 248, 343, 345
 Hessler-Wyser, 222
 Hirlimann, 60
 Hitchcock, 104
 Hofer, 295
 Hollinger, 278
 Holmyard, 114
 Hori, 205
 Horwat, 339
 Houdellier, 38, 52, 63, 213
 Huang, 350
 Huault, 253
 Hubert, 89

 Humbel, 102
 Hungria, 213
 Hurbain, 163

 Ibrahim, 154, 167
 Ihiawakrim, 60
 Illoul, 91
 Imhoff, 309
 Ivanovskaya, 282
 Izquierdo, 337

 Jacob, 228, 230
 Jacquet, 54
 Jambon, 324
 Jamet, 307
 Janel, 124
 Janin, 115
 Janowska, 60
 Jeangros, 222
 Ji, 51
 Jimenez, 192
 Johnson, 133
 Joly-Pottuz, 220
 Jones, 112
 Jonic, 133, 143, 145, 151
 Jouneau, 205, 291
 Jourdan, 195
 Juan, 89
 Jullien, 96

 Kaïtasov, 187, 215
 Karreman, 102
 Karsenti, 159
 Karunakaran, 104
 Kasama, 227
 Kedjar, 320
 Keita, 250
 Kervrann, 44, 134, 141
 Kessler, 118
 Khazzan, 267
 Kheng, 262
 Khouchaf, 329
 Kinoshita, 159
 Kisielowski, 207
 Klaholz, 131
 Klein, 260
 Knott, 332

- Koch, 95, 118
Kociak, 40, 85, 93, 95, 275, 312, 352
Kociniewski, 352
Kodjikian, 354
Kolomytsev, 198
Kolotuev, 106
Korytov, 253
Kothleitner, 295
Kozubski, 290
Ksar, 250
Kuimova, 99
Kumar, 275
- Lévy, 65, 138
López-Haro, 312
Laberty-Robert, 258
Lacapère, 137
Lachaize, 246
Lacroix, 246
Lafont, 124
Lahlil, 322
Lai Kee Him, 156
Lakshmanan, 347
Lamagna, 173
Lambert, 147, 148, 169
Lançon, 195
Lancin, 46
Langlois, 177, 287
Lantiat, 258
Laporte, 118
Largeau, 54, 278
Larquet, 104, 133, 143, 145, 151
Lartigue-Korinek, 207
Laubier, 170
Lauret, 283
Lazar, 240
Le Bail, 354
Le Bihan, 169
Le Bossé, 276
Le Bouar, 67, 293
Le Cam, 120
Le Grand, 94
Le Grimellec, 119, 126
Le Petitcorps, 112
Le Provost, 170
Le Saux, 96
- Lebedev, 245
LeBihan, 148
Lefevre, 127
Leforestier, 42, 139, 154
Legagneux, 285
Legeais, 82
Legendre, 181
Legras, 71
Legros, 217
Leguen, 183
Legueux, 118
Lehmann-Che, 115
Lenne, 98
Leo, 177
Lepoittevin, 260
Leroux, 188, 228, 255
Lesniewska, 119
Letrouit, 345
Leucht, 96
Levitt, 99
Levitz, 42
Lin, 297
Linden, 85
Livolant, 139, 154, 157, 158
Loiseau, 280, 283, 297
Loisnard, 71
Longo, 171
Lorenz, 205
Louchet, 317
Louis, 56, 347
Loussert, 116
Luc-Bouhali, 338
- Méchulam, 143
Mésini, 273
Machu, 116
MacKenzie, 171
Madigou, 188, 255
Maiden, 77
Majimel, 264
Malchère, 220
Mallet, 107
Malo, 343
Mangenot, 128
March, 309
Marchal, 126

- Marco, 47, 134, 138, 154, 330
 Marks, 163
 Martin, 199
 Martinetto, 260
 Marty, 195, 211
 Marull, 327, 336
 Masseboeuf, 195, 211
 Massiani, 251
 Matczyszyn, 57
 Materska, 290
 Mathon, 190
 Mattei, 56
 Mauchamp, 276
 Maurice, 54, 285
 Mavel, 338
 May, 338
 Mazur, 301
 Mazzucco, 93
 McFadzean, 171
 Meibom, 301
 Melser, 111
 Menguy, 203, 233, 235, 301, 322
 Merad Bedrane, 56
 Mercey, 248
 Messenger, 326
 Messaoudi, 47
 Michot, 42
 Midgley, 77
 Mihailescu, 237
 Milhiet, 119, 126
 Millon, 192
 Mirguet, 311
 Mliki, 255, 267
 Mock, 136
 Mojzisoava, 57
 Mollard, 201
 Momprou, 208, 264
 Moncoq, 160
 Monnier, 257
 Moreau, 111, 340
 Morlen, 192
 Mornet, 166
 Mornet, 169
 Morniroli, 51, 230
 Mornon, 151
 Mosser, 91
 Mostowy, 107
 Mottet, 269
 Mussi, 304
 Mutelet, 276
 Nadjo, 250
 Navarro Sanchez, 160
 Neisius, 253, 303
 Nelayah, 95
 Neveu, 96
 Newville, 203
 NGuyen, 147
 Ntsoensok, 187
 Nys, 245
 Obst, 301
 Ochin, 198
 Odier, 192
 Odin, 94
 Oikawa, 65, 177
 Oikonomakos, 133
 Okunichi, 65
 Okuno, 205
 Olesiak, 57
 Olivier, 82
 Oliviero, 187, 215
 Ona Nguema, 235
 Orlova, 35
 Ou, 276
 Pécheur, 148
 Pailhoux, 170
 Papon, 201
 Pastré, 120
 Patriarche, 54, 278
 Pehau-Arnaudet, 136
 Penin, 148
 Perez, 183, 248
 Perez-Rodriguez, 337
 Perillat-Merceroz, 291
 Perrault, 148
 Perriat, 276
 Perro, 147
 Pertel, 49
 Petit, 122
 Petitjean, 339
 Pettinari-Sturmel, 319

- Pettiti, 49
Peypelut, 100, 111
Pham-Huu, 60
Phillips, 160
Piétrement, 120, 122
Pichaud, 46
Pichon, 58
Pierron-Bohnes, 290
Pierson, 339
Pignot-Paintrand, 112
Pique, 197
Plain, 89
Plamann, 82
Plantevin, 257
Poizat, 262
Pons, 197, 314
Porrot, 109
Portier, 198, 321
Potocki-Véronèse, 149
Potvin, 347
Poujol, 111
Pourroy, 200, 290
Prévost, 109
Preat, 42
Prellier, 248
Pribat, 285
Prima, 129
Putaux, 149
- Radtke, 300
Rambourg, 161
Ramos, 250, 269
Rampon, 96
Ranck, 136
Rapenne, 192
Raposo, 163
Raspaud, 157
Ravaine, 147
Redjaïmia, 354
Regreny, 278
Regula, 46
Reiss, 257
Remita, 250
Renaudin, 100
Renouard, 157
Respaud, 246
- Retoux, 345
Rey, 160
Reynard, 325
Riaublanc, 122
Richard, 347
Ricolleau, 65, 67, 177, 287, 293
Rigneault, 87
Robbe, 240
Robert, 137
Robertson, 67
Rodenburg, 77
Rodmacq, 307
Rodney, 217
Rodriguez-Manzo, 239, 247
Roiban, 58, 60
Rolland, 153
Rosina, 291
Roucau, 49
Rouvière, 174, 205
Roux, 276
Royer, 89
Ruault, 187, 215
Ruch, 341
Rudnicka, 109
Ruiz, 337
Rybina, 159
Ryerson, 238
- Sachse, 136
Saintavit, 235
Saint-Girons, 278
Saintoyant, 71
Salamero, 163
Salhi, 245
Samama, 37
Samson, 257
Sanchez, 258
Sandeau, 87
Sandjeu, 333
Sartori, 107
Satiat-Jeunemaitre, 110
Saucedo, 337
Schönle, 79
Schaffer, 295
Schamm, 173
Schanne-Klein, 82, 91

- Scheuring, 128, 129
 Schmitt, 143
 Schmutz, 273
 Schueler, 235
 Schwab, 106, 118
 Schwartz, 109
 Schwarz, 102
 Scott, 179
 Semay, 47
 Sens, 129
 Serin, 299, 311
 Serra, 207, 299
 Settefrati, 185
 Shukla, 275
 Sibarita, 163
 Sigle, 95
 Simon, 273
 Sinha, 96
 Skamnaki, 133
 Snoeck, 63, 195, 246
 Sol-Foulon, 109
 Solomkin, 193
 Sorbier, 58
 Sorzano, 145
 Sourmail, 183
 Spiegelhalter, 106, 118
 Stéphane, 85, 93, 95, 275, 282, 297, 352
 Stiévenard, 245
 Stigloher, 114
 Stodolna, 228
 Stolarski, 301
 Sturgis, 129
 Suhling, 99
 Sung, 158
 Surendran, 250
 Suvorova, 193
 Sylvestre, 136

 Talbot, 169
 Tam Nguyen, 273
 Tama, 145
 Tan, 166
 Tassin, 134
 Tatarenko, 262
 Taveau, 147, 169
 Taverna, 275

 Tchenio, 42
 Teboul, 137
 Tencé, 49, 93
 Tenza, 163
 Texier, 303
 Thibault-Pénisson, 303
 Thierry, 291
 Thollet, 75, 220
 Thomas, 153
 Tihay, 58
 Tillement, 276
 Tolentino, 269
 Toma, 157
 Tosch, 118
 Tournus, 242
 Toussaint, 211
 Tréguer-Delapierre, 264
 Trasobares, 312
 Trassin, 200
 Trembleau, 167
 Trometer, 138
 Trullenque, 325
 Turpin, 115
 Tylicszak, 301

 Ulhaq-Bouillet, 200, 290
 Urbietta, 245

 Vénien-Bryan, 133
 Valamanesh, 287
 van Aken, 95
 Van de Moortèle, 325
 Van der Meer, 251
 Vanherle, 222
 Vanmeensel, 304
 Varna, 115
 Veiga, 107
 Venien-Bryan, 151
 Vennégues, 199, 253
 Verbavatz, 161
 Verdier, 126
 Verkleij, 102, 163
 Vermaut, 198, 321
 Versini, 200
 Viart, 200
 Vidal, 266

Villain, 255
Villote, 170
Vitre, 159
Vivier, 258
Volovitch, 96

Wagner, 222
Walls, 309, 312
Wang, 280, 351
Warot, 49
Wattelet-Boyer, 111
Wegener, 85
Weidenkaff, 351
Weis, 153
Weiss, 192
Werckmann, 58, 60, 237
Wiederrecht, 89
Wiemer, 173
Wietgreffe, 109
Wille, 323
Wolfrom, 75

Xia, 117
Xu, 245, 280

Yahioğlu, 99
Yamamoto, 126
Yoshida, 209

Zagonel, 93
Zambrano, 330
Zhen, 114
Zheng, 266
Zhu, 199
Zielinski, 57
Zobelli, 274, 282
Zuniga Perez, 199
Zyss, 57

SEINE



Plan du campus de Jussieu