09/2006 Métropole **Calculatrice interdite**

EXERCICE III. MICROSCOPE CLASSIQUE ET MICROSCOPE CONFOCAL (4 points)

Depuis une vingtaine d'années la microscopie confocale a connu un développement considérable. Ces microscopes équipent maintenant un grand nombre de laboratoires de biologie. Par rapport à la microscopie optique classique, la microscopie confocale permet de réaliser l'image d'un plan à l'intérieur d'un échantillon transparent (par exemple dans le cas d'une cellule biologique).
À partir d'une série d'images des différents plans de l'échantillon on peut reconstruire, en utilisant l'outil informatique, l'image tridimensionnelle de l'objet étudié.

La première partie de cet exercice concerne l'étude d'un microscope optique classique.
La seconde partie illustre le principe de fonctionnement d'un microscope confocal.
Dans tout l'exercice, les figures ne sont pas réalisées à l'échelle.

Les deux parties de cet exercice sont indépendantes.

1. Étude d'un microscope optique classique

*L'objet éclairé AB (par exemple une cellule musculaire) est positionné sur la platine porte-échantillon, solidaire du bâti du microscope (**figure 1** EN ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE). L'objectif est modélisé par une lentille mince convergente (L_1) de centre optique O_1 et de distance focale $\overline{O_1F'_1} = f'_1 = 4{,}5$ mm. L'oculaire est modélisé par une lentille mince convergente (L_2) de centre optique O_2 et de distance focale $\overline{O_2F'_2} = f'_2$ supérieure à f'_1. La distance $\Delta = \overline{F'_1F_2}$ entre le foyer image de l'objectif et le foyer objet de l'oculaire, appelée intervalle optique, est imposée par le constructeur et est égale à 180 mm.*

1.1. Position de l'image intermédiaire A_1B_1

1.1.1 Construire sur la **figure 1 EN ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE** l'image intermédiaire A_1B_1 de l'objet AB.
1.1.2 Rappeler la formule de conjugaison des lentilles minces (relation de Descartes) qui permettrait de calculer la position de l'image A_1B_1.

1.2. Observation de l'objet à travers le microscope

1.2.1. Quelle est le rôle joué par l'image intermédiaire A_1B_1 pour l'oculaire (L_2) ?
1.2.2. *Le biologiste désire observer la cellule sans fatigue, c'est à dire sans accommoder. Dans ce cas l'image définitive A'B' donnée par le microscope doit se situer à l'infini.*
Où doit se former l'image intermédiaire A_1B_1 pour répondre à cette condition ?
1.2.3. Sur la **figure 1 EN ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE**, placer dans ce cas les foyers de la lentille (L_2).

1.3. Calcul du grandissement

1.3.1. Rappeler la formule définissant le grandissement pour la lentille mince (L_1) dans le cas étudié.
1.3.2. En s'aidant de la **figure 1**, montrer que le grandissement γ_1 de l'objectif peut s'écrire $\gamma_1 = \frac{-\Delta}{f'_1}$.
1.3.3. Calculer la valeur algébrique du grandissement γ_1 . Que peut-on dire de l'inscription " $\times$ 40" inscrite sur la monture de l'objectif ?

2. Étude du microscope confocal

De nos jours on préfère souvent l'acquisition d'images numériques à la visualisation directe de l'image. Pour cela on peut utiliser un capteur d'image appelé "capteur CCD".
Le microscope classique est alors modifié de la façon suivante : on supprime l'oculaire (L_2) et on positionne le capteur CCD dans le plan de l'image intermédiaire donnée par l'objectif (L_1), en le centrant sur l'axe optique. Par extension ce système imageur continuera à être appelé microscope.
Pour réaliser un "microscope confocal", on introduit également un diaphragme de petite taille (par exemple 50 µm), lui aussi centré sur l'axe optique, dans le plan du capteur : de cette façon l'ensemble (capteur CCD + diaphragme) permet de réaliser un détecteur quasi ponctuel.

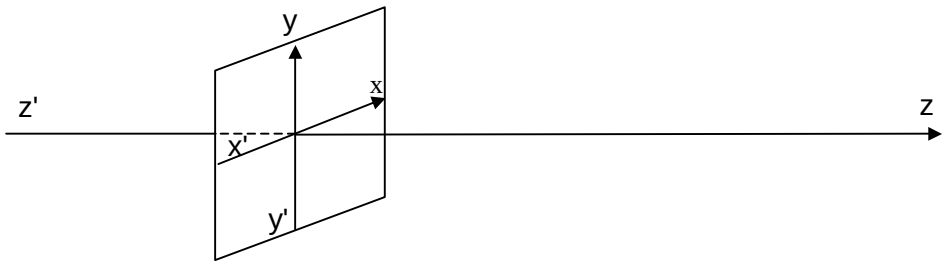
2.1. *Sur la **figure 2 EN ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE**, on a construit le faisceau lumineux issu du point objet A limité par les bords de la lentille.*

2.1.1 On s'intéresse d'abord au point B de la cellule biologique n'appartenant pas à l'axe optique. Sur la **figure 2 EN ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE**, construire l'image B_1 du point B ainsi que le faisceau lumineux issu de B passant par les bords de la lentille. Hachurer ce faisceau.

2.1.2 On s'intéresse ensuite au point D de la cellule biologique. Sur la **figure 3 EN ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE**, construire l'image D_1 du point D et le faisceau lumineux issu du point D limité par les bords de la lentille. Hachurer ce faisceau.

2.1.3 En utilisant **les figures 2 et 3** complétées précédemment **DE L'ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE**, montrer que la plus grande partie de la lumière détectée par le capteur est émise par le point A et non par les point B et D.

2.2. *Le système (capteur CCD + diaphragme) étant fixe et centré sur l'axe optique, il est nécessaire de déplacer l'objet pour former successivement toutes les images des points situés entre A et B. Pour cela on utilise une platine porte-échantillon motorisée. Cette platine permet un déplacement dans les trois directions x'x, y'y et z'z (voir figure ci-dessous). On construit alors point par point l'image d'un plan de l'échantillon. Pour cette raison, on appelle cette technique "microscopie à balayage". Par opposition à la microscopie classique, elle nécessite donc un temps d'acquisition correspondant au déplacement point par point de l'échantillon.*



Selon quel axe et dans quel sens faut-il déplacer l'échantillon et où faut-il placer l'objet AB de façon à pouvoir détecter l'image du point B ? Positionner alors l'objet AB sur la **figure 4 EN ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE**; tracer le faisceau issu de B et limité par les bords de la lentille.

2.3. En utilisant le même système d'axes, indiquer comment il faut déplacer l'échantillon pour acquérir l'image du point D de la cellule biologique ?

La microscopie confocale permet ainsi d'acquérir une série d'images des plans en profondeur dans un échantillon transparent et par suite, d'obtenir, grâce à un traitement informatique, des informations sur la structure spatiale de l'échantillon.

ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE

Attention : les schémas ne sont pas à l'échelle et la figure 2. n'est pas à la même échelle horizontale que la figure 1.

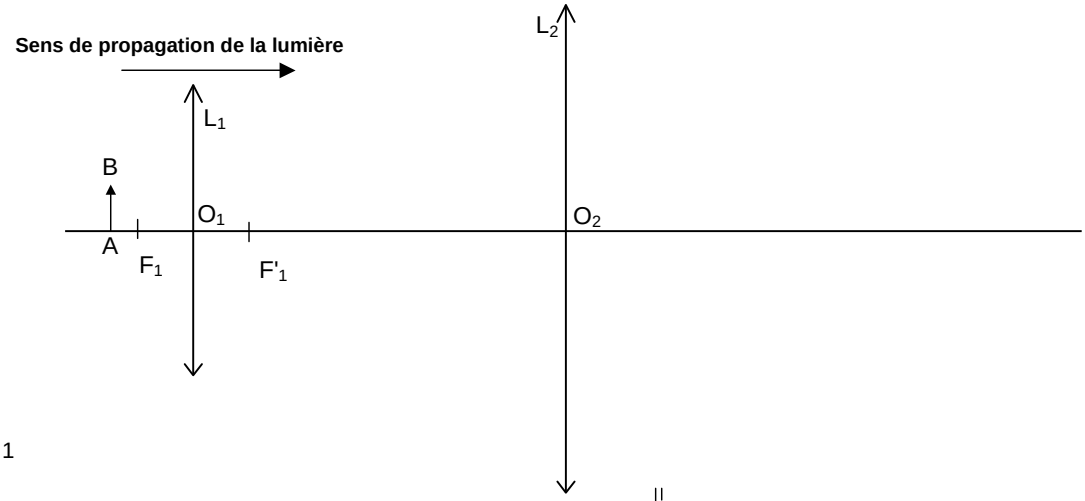


Figure 1

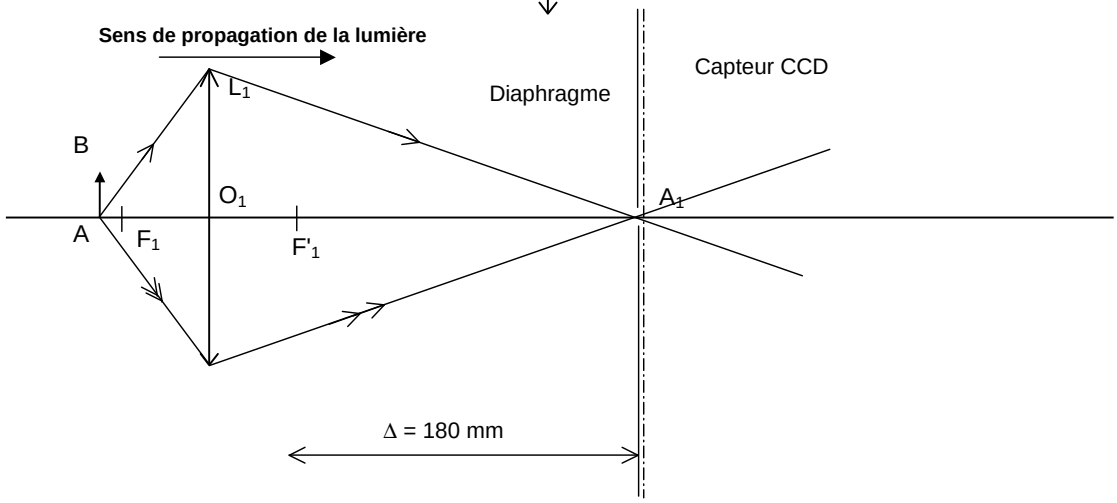


Figure 2

Δ = 180 mm

ANNEXE À RENDRE AGRAFÉE À LA COPIE

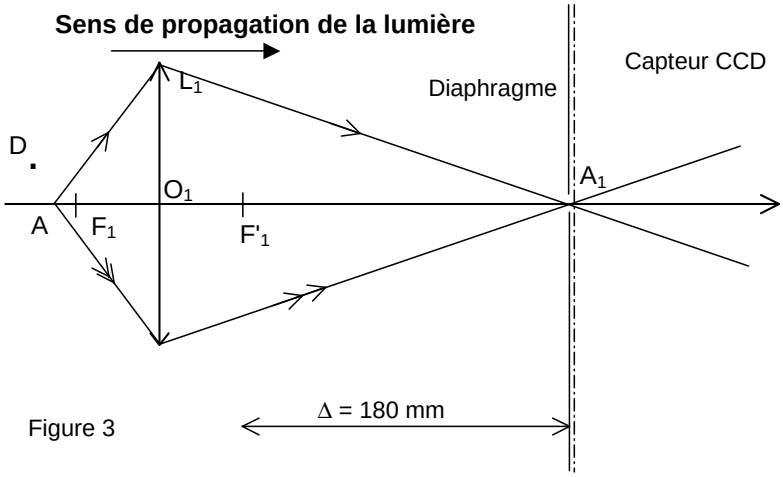


Figure 3

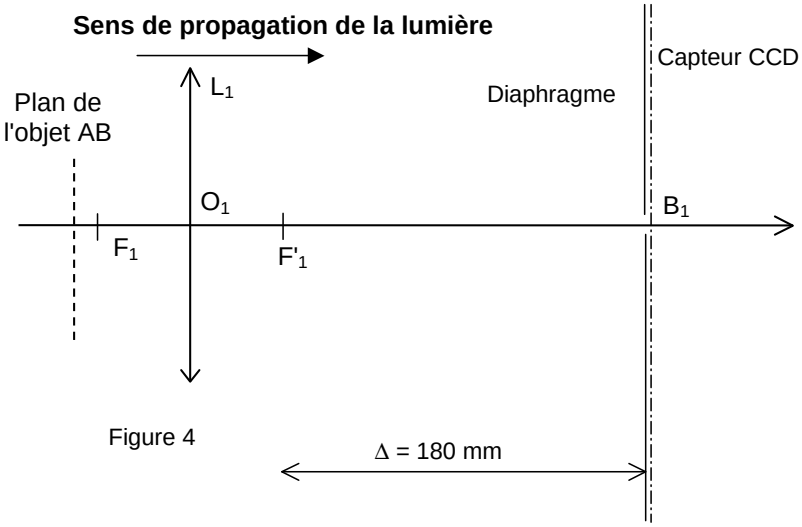


Figure 4