



HAL
open science

Tips & Tricks pour analyser un Hydrogel en CRYO MEB

C Blavignac, A Bonnotte, A Canette, A Carvalho, D Goux, R Mallet, B
Payré, C Rose, M Schmutz, I Svahn

► **To cite this version:**

C Blavignac, A Bonnotte, A Canette, A Carvalho, D Goux, et al.. Tips & Tricks pour analyser un Hydrogel en CRYO MEB. 23èmes Journées technologiques du Réseau RIME, May 2024, Bordeaux, France. hal-04765061

HAL Id: hal-04765061

<https://hal.science/hal-04765061v1>

Submitted on 4 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Public Domain

Tips & Tricks pour analyser un Hydrogel en CRYO MEB

C. Blavignac¹, A. Bonnotte², A. Canette³, A. Carvalho⁴, D. Goux⁵, R. Mallet⁶, B. Payré⁷, C. Rose⁸, M. Schmutz⁴, I. Svahn⁹

¹ Université Clermont Auvergne, Centre Imagerie Cellulaire Santé (CICS), Clermont-Ferrand, France

² Université de Bourgogne, Plateforme DimaCell, UMR Agroécologie, INRAE, L'Institut Agro Dijon, Dijon, France

³ Sorbonne Université, CNRS, Institut de Biologie Paris-Seine (IBPS), Service de Microscopie Électronique (IBPS-SME), Paris, France

⁴ Institut Charles Sadron, Plateforme Microscopies - PLAMICS, Strasbourg, France

⁵ Normandie Université, UNICAEN, CMABio3 (Centre de Microscopie Appliquée à la Biologie), US EMERode, Caen, France

⁶ Université d'Angers, Institut de Biologie en Santé, Service commun d'imageries et d'analyses microscopiques (SCIAM), Angers, France

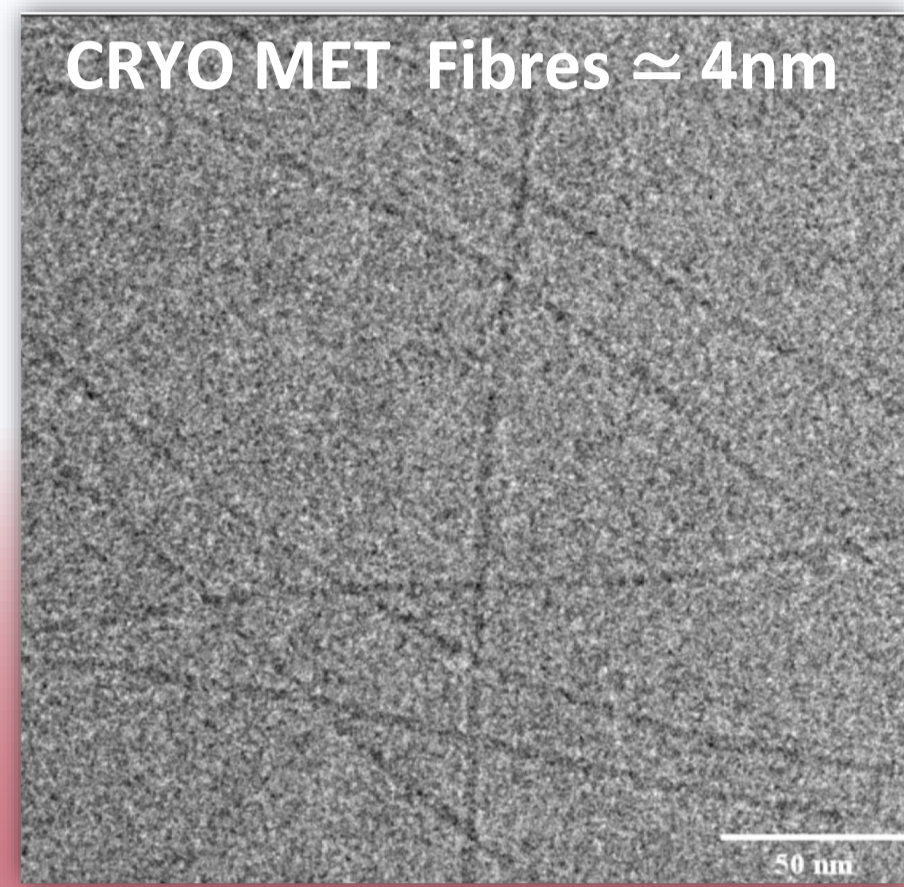
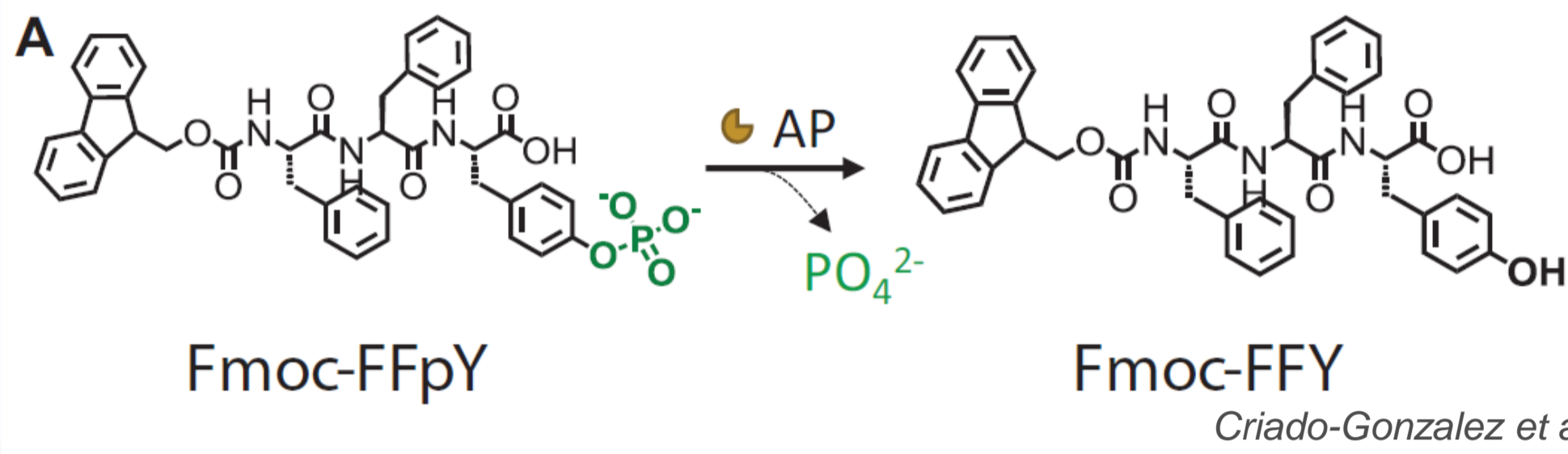
⁷ Faculté de Santé de Toulouse, Université Paul Sabatier, CMEAB Centre de Microscopie Électronique Appliquée à la Biologie, Toulouse, France

⁸ Université de Lorraine, Plateforme SILVATECH, Pôle Imagerie et Mesures Multi-Modales (I3M), INRAE, Nancy, France

⁹ Université de Bordeaux, Bordeaux Imaging Center, Imagerie Electronique, UAR 3420 CNRS/UB - US4 INSERM, Bordeaux, France

Objectifs & Contexte

Caractériser par CRYO MEB un Hydrogel Fmoc FFpY (tripeptides) assemblé en fibres par action d'une alkalyne phosphatase



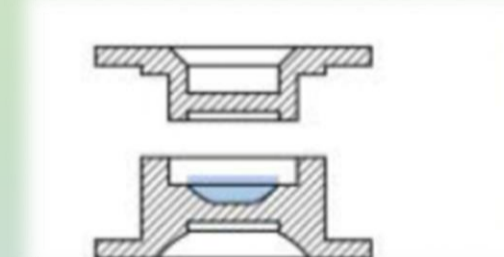
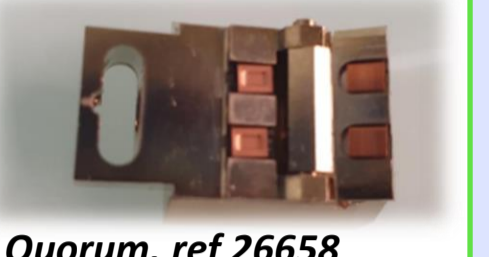
3 Techniques de congélation testées

Azote pâteux : sur rivet ou navette double plaquette

Congélation Ethane liquide : sur rivet

Congélation Haute Pression : - Cupule 3mm

- Cupule « cryofracture » Leica
- Cupule « clip » Leica



Sublimation & Métallisation Paramètres MEB

Sublimation : -90°C de 0 à 7min

Sans métallisation : « taille réelle » des fibres, ↗ d'artéfacts, temps de sublimation ajustable

Métallisation après cryofracture : Ebeam : Pt 4nm

Sputtering : Cr 2nm ou Pt 10'' à 2' à 10mA

Avec métallisation : meilleur rapport S/B, stabilisation des fibres

Ebeam : pas d'entrée de gaz (HV) et taille de grains faible

Sputtering : facilité et rapidité, taille de grains + ↗, métal dépendant

Paramètres MEB : T °: -150°C platine et -170°C anti contaminateur

HT : 0,79kV à 5kV Courant de sonde : 16 pA à 10µA

Détecteurs : en chambre (SE) ou en colonne (SE, BSE)

Détecteurs en colonne SE : résolution ↗ à faible DT mais sensible aux charges

BSE : - sensible aux charges

Navettes & Cryofracture

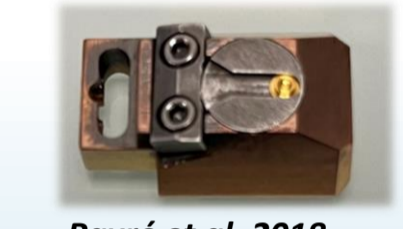
Cannes de transfert

Quorum

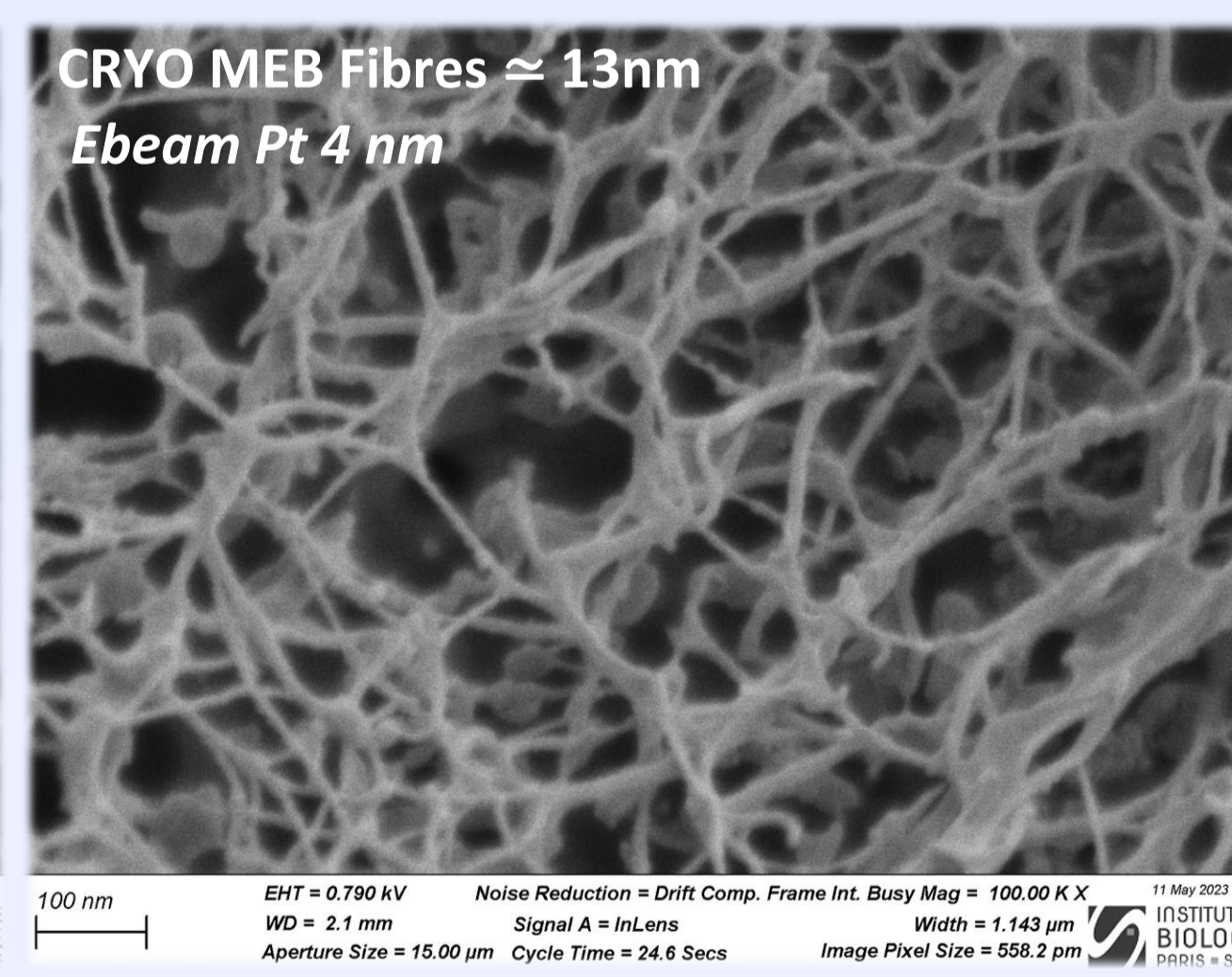
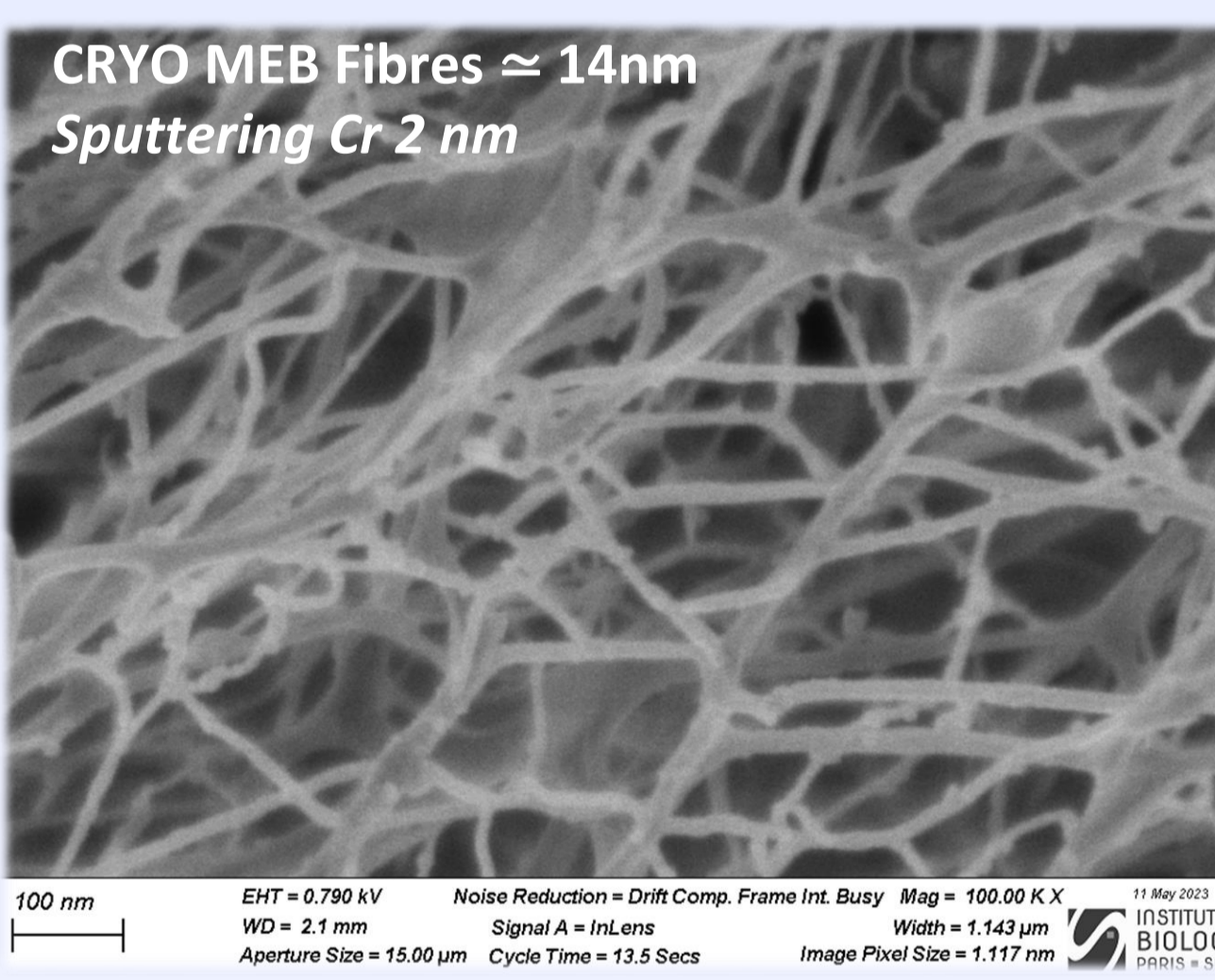
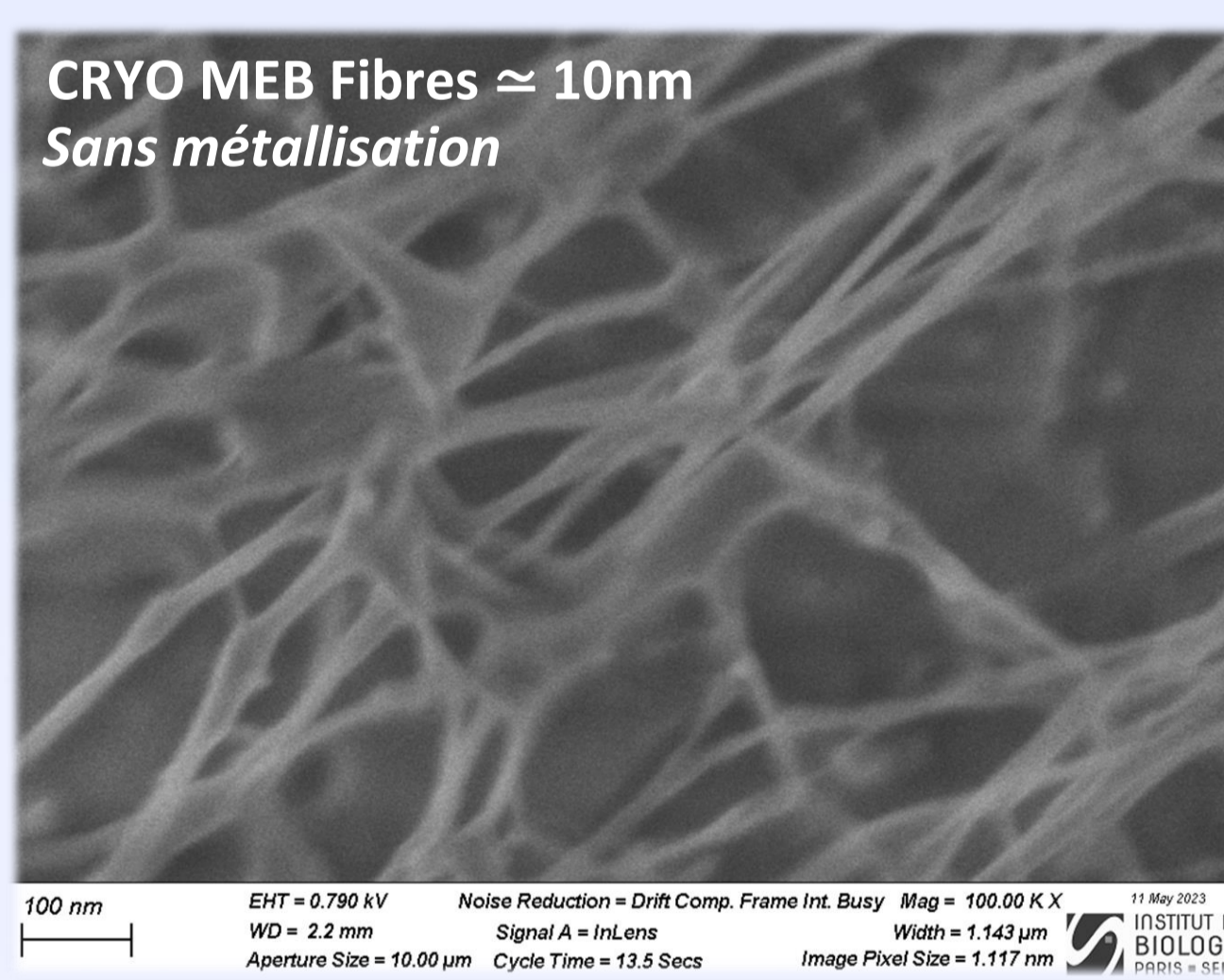
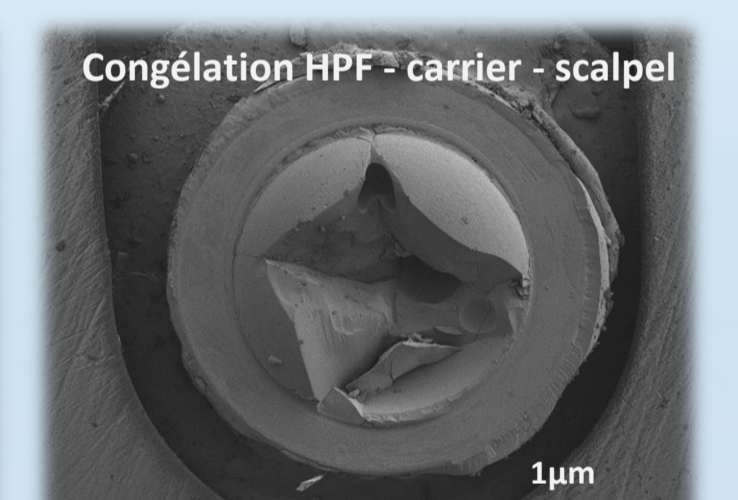
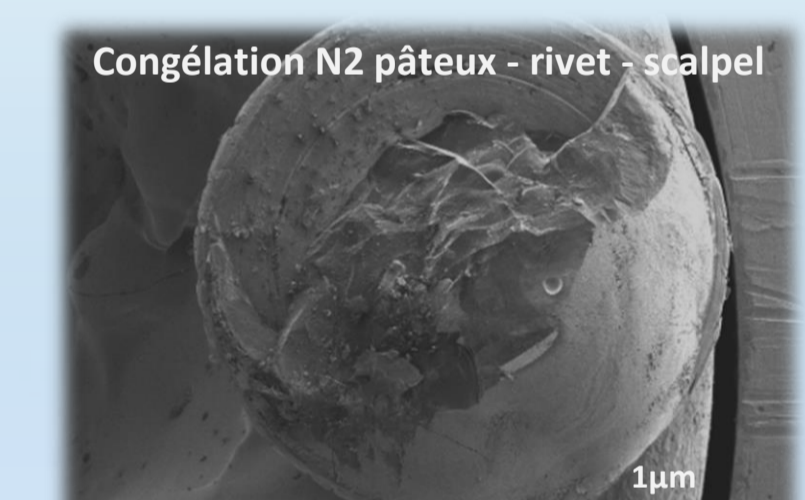
Leica



Navettes



Cryo Fracture Couteau parallèle ou Scalpel



Take Home Message

CONGÉLATION HAUTE PRESSION OU ÉTHANE
MÉTALLISATION NON OBLIGATOIRE
FAIBLE HT ET COURANT DE SONDE
DÉTECTEURS EN COLONNE
ATTENTION AUX ARTÉFACTS !

Repérer les Artéfacts

Mauvaise congélation -> Glaces hexagonales

Sublimation trop ↗ -> Fibres collapsées

Métallisation trop ↗ -> Pt visible, épaissement des fibres

