

ED STIC - Proposition de Sujets de Thèse pour la campagne d'Allocation de thèses 2017

Axe Sophi@Stic :

Titre du sujet :

Mention de thèse :

HDR Directeur de thèse inscrit à l'ED STIC :

Co-encadrant de thèse éventuel :

Nom :

Prénom :

Email :

Téléphone :

Email de contact pour ce sujet :

Laboratoire d'accueil :

Description du sujet :

Depuis une vingtaine d'année, de plus en plus de systèmes d'imagerie pour la biologie voient le jour. Parmi ceux-ci, la microscopie de fluorescence est très largement utilisée sur les plates-formes de biologie car elle permet d'observer les structures des cellules en 3D et in vivo. Nous nous intéressons dans cette thèse à un système d'acquisition TIRF-MA (Total Internal Reflexion Fluorescence Multi-Angle) qui permet de visualiser les interactions à proximité de la membrane cellulaire. Le principe de ce dispositif repose sur l'illumination de l'échantillon par un laser en réflexion interne qui génère une onde évanescente qui excite les fluorochromes à la surface de la lamelle de verre, de manière sélective dans une couche de 100 à 500 nm. La décroissance rapide en profondeur de l'onde évanescente varie en fonction de l'angle incident du faisceau lumineux. Par conséquent, les variations d'intensité dans les images TIRF, survenant lors du changement de l'angle d'incidence, sont dues aux positions axiales (en profondeur) des

structures observées. Il est ainsi possible de reconstruire l'image des fluorochromes en 3D, par des algorithmes d'inversion. Un tel système de microscopie est disponible au laboratoire de biologie de Valrose, et des algorithmes numériques d'étalonnage de l'appareil et de reconstruction par inversion du système linéaire sous contraintes ont déjà été développés et testés dans l'équipe Morpheme.

Le but de cette thèse est d'aller plus loin dans la modélisation du système à inverser, afin de qualifier et d'améliorer au mieux la résolution des images reconstruites en fonction de la géométrie d'acquisition et du bruit tout en minimisant le temps d'acquisition. L'étude doit contribuer à répondre à des questions complexes comme : quel est le nombre et la répartition des acquisitions angulaires nécessaires pour une qualité de reconstruction suffisante pour l'analyse biologique ? Quelle discrétisation adopter en profondeur, sachant que la résolution se détériore avec la profondeur ? Comment prendre en compte les incertitudes liées au bruit d'acquisitions du système ? Pour répondre à ces questions nous ferons un état de l'art des résultats obtenus en problèmes inverse linéaires en variables discrètes et en variables continues sur la reconstruction exacte du support de solutions parcimonieuses. La reconstruction de solutions parcimonieuses nous permettra de déterminer les limites de résolution du système. Du point de vue pratique, nous envisageons aussi de coupler ce système d'imagerie MA-TIRF à un système PALM (Photo-Activated Localization Microscopy) de reconstruction de molécule unique, afin d'augmenter la résolution des images acquises par le système. Les résultats de reconstruction de solutions parcimonieuses pourront y être appliqués. Nous étudierons aussi bornes statistiques du système linéaire à inverser pour prendre en compte les incertitudes liées au bruit d'acquisition.

Le système étant opérationnel, des tests grandeur nature pourront être effectués pour l'étude et la validation des résultats.

Profil: Connaissance du traitement d'image et des mathématiques appliquées, Matlab requis, C ou Python apprécié.

Groupe de recherche : Morpheme, groupe de recherche commun entre le laboratoire I3S, le laboratoire iBV et INRIA Sophia Antipolis Méditerranée. <http://www-sop.inria.fr/morpheme/>

Contacts:

Laure Blanc-Féraud DR CNRS en traitement d'image, groupe Morpheme, Laboratoire I3S, 04 92 94 27 20, laure.blancferaud@cnr.fr

Sébastien Schaub, IR CNRS biophysicien, Laboratoire iBV, sebastien.schaub@unice.fr

Gilles Aubert, PR émérite mathématicien à l'Université Nice Sophia Antipolis, Laboratoire J-A Dieudonné, gaubert@unice.fr

Localisation :

La thèse se déroulera au laboratoire I3S, 2000 route des Lucioles à Sophia Antipolis, des réunions régulières auront lieu au laboratoire de biologie iBV à Valrose à Nice.

English version:

Title: 3D fluorescence microscopy reconstruction for TIRF-MA Imaging

Summary: For twenty years, more and more imaging systems for biology are emerging. Among them, fluorescence microscopy is widely used in biology platforms because it allows observing the cell structures in 3D and in vivo. A major difficulty is the 3D observation of biological specimens, and those at very fine resolutions. We are interested in this internship to a TIRF-MA acquisition system (Total Internal Reflection Fluorescence Multi-Angle) to visualize interactions close to the cell membrane. The principle of this device based on the illumination of the sample by an internal reflection laser which generates an evanescent wave which excites the fluorophores on the surface of the glass slide selectively in a layer of 100 to 500 nm. The fast decrease in depth of the evanescent wave varies with respect to the incident angle of the light beam. Therefore, the intensity variations in the TIRF images, occurring when changing the angle of incidence, are due to the axial position (in depth) of the observed structures. It is thus possible to reconstruct the image of fluorophores in 3D, by inversion algorithms. Such a system is available at Valrose biology laboratory (iBV Laboratory), and calibration of the device and reconstruction algorithms by inversion of the linear system under constraints have already been developed and tested in the Morpheme team.

The aim of this thesis is to go further in the modeling of the system to be inverted, in order to qualify and improve the resolution of the reconstructed images as a function of the acquisition geometry and the noise while minimizing the time of acquisition. The study should help to answer complex questions such as: What is the number and distribution of the angular acquisitions necessary for a sufficient reconstruction quality for biological analysis? What discretization to adopt in depth, knowing that resolution deteriorates with depth? How can uncertainties related to system acquisition noise be taken into account? To answer these questions we will study the state of the art of the results obtained in inverse linear problems in discrete variables and in continuous variables on the exact reconstruction of the support of sparse solutions. The reconstruction of sparse solutions will allow us to determine the limits of resolution of the system. From a practical point of view, we will also consider coupling this MA-TIRF imaging system to a single-molecule reconstructed Photo-Activated Localization Microscopy (PALM) system to increase the resolution of images acquired by the system. The results of reconstruction of sparse solutions will be applied. We will also study statistical bounds of the linear system to be inverted in order to take into account the uncertainties associated with the acquisition noise. The system being operational, full-scale tests can be carried out for the study and the validation of the results.

Profile: good knowledge in image processing and applied mathematics, Matlab required, C or Python appreciated.

Research group: Morpheme, joint group between I3S laboratory, iBV laboratory and INRIA Sophia Antipolis Méditerranée. <http://www-sop.inria.fr/morpheme/>

Contacts:

Laure Blanc-Féraud DR CNRS in Image Processing, Morpheme group, I3S Lab, +33 4 92 94 27 20, laure.blancferaud@cnr.fr

Sébastien Schaub, IR CNRS biophysist, iBV Lab, sebastien.schaub@unice.fr

Gilles Aubert, PR mathematician, Nice Sophia Antipolis university, J-A Dieudonné Lab,
gaubert@unice.fr

Location: the PhD student will be host at the I3S lab, in Sophia Antipolis.

Regular meetings with biologists in iBV in Valrose Nice