

Spécialité : CHIMIE / Génie chimique

[Laboratoire : /NIMBE/LIONS](#)

## Développement d'une méthode pour la congélation rapide d'échantillons de cryomicroscopie électronique

Responsable de stage : GOBEAUX Frederic

frederic.gobeaux@cea.fr

Tel : +33 1 69 08 55 21

Stage pouvant se prolonger en thèse : Non

Durée du stage : 4 mois

### Résumé:

L'objectif de ce stage est de mettre au point une méthode combinant microfluidique, vaporisation et congélation rapide pour préparer des échantillons de cryo-microscopie électronique. Le sujet est adaptable à différents niveaux (de bac +2 à bac+5).

### Sujet :

Les nouveaux outils de stockage de l'énergie (photovoltaïque, batteries au lithium) reposent en grande partie sur les éléments des terres rares ; mais leur extraction soulève de fortes préoccupations écologiques, et leur recyclage est encore difficile. Tout progrès dans les processus de séparation et de précipitation serait donc profitable à la sauvegarde de l'environnement.

Notre étude récente de la co-précipitation des ions cérium par l'acide oxalique dans l'eau, une étape clé dans certains processus de récupération des terres rares, a révélé la formation spontanée de "nanogouttelettes minérales" juste après le mélange des réactifs (Durelle et al. à soumettre) . Ces nano-gouttelettes sont constituées d'un liquide riche en réactifs qui se transforme en cristaux d'oxalate de cérium après plusieurs dizaines de secondes. Ces gouttelettes ont été visualisées en microscopie électronique à transmission cryogénique 7,5 secondes après le mélange. Cette nanophase nouvellement signalée pourrait être utile aux processus de séparation et de récupération, mais ses conditions et mécanismes de formation nécessitent une enquête plus approfondie.

Sa caractérisation poussée implique de pouvoir sonder le système juste après le mélange, alors que le système est encore constitué d'ions libres. Ceci est réalisable grâce à des mélangeurs microfluidiques ultrarapides ( $t_{mix} < 1$  ms), fabriqués à l'aide de techniques de lithographie douce, et récemment utilisés par notre équipe pour étudier la précipitation du carbonate de calcium par diffusion des rayons X.

L'objectif de ce stage est de développer un dispositif permettant de congeler une solution le plus rapidement possible après mélange des réactifs. En pratique, nous devons combiner des mélangeurs microfluidiques avec un système de congélation ("guillotine") (voir Chen & Frank et Feng et al.). Les deux composants existent déjà, mais ils doivent être interfacés avec un vaporisateur (spray) afin de récupérer rapidement la solution en sortie du mélangeur sur une grille de microscope électronique plongeant dans l'éthane liquide. Le stagiaire devra développer ce vaporisateur avec des outils microfluidiques et trouver les bonnes conditions et paramètres pour obtenir des échantillons observables.

## Références :

Chen, B.; Frank, J. Two Promising Future Developments of Cryo-EM: Capturing Short-Lived States and Mapping a Continuum of States of a Macromolecule. *Microscopy (Oxf)* 2016, 65 (1), 69-79. <a href="https://doi.org/10.1093/jmicro/dfv344">https://doi.org/10.1093/jmicro/dfv344</a>

Feng, X.; Fu, Z.; Kaledhonkar, S.; Jia, Y.; Shah, B.; Jin, A.; Liu, Z.; Sun, M.; Chen, B.; Grassucci, R. A.; Ren, Y.; Jiang, H.; Frank, J.; Lin, Q. A Fast and Effective Microfluidic Spraying-Plunging Method for High-Resolution Single-Particle Cryo-EM. *Structure* 2017, 25 (4), 663-670.e3. <a href="https://doi.org/10.1016/j.str.2017.02.005">https://doi.org/10.1016/j.str.2017.02.005</a>

---

## Development of a spray-plunging method for cryoTEM observations at short timescale

### Abstract:

The aim of this internship is to develop a method combining microfluidics, spray and rapid-freezing to prepare samples for cryo-TEM. This subject can be adapted for different academic levels (up to Master 2).

### Subject :

Our 'green economy' (photovoltaics, lithium batteries) largely relies on the rare-earth (RE) elements; but their extraction raises heavy ecological concerns, and their recycling is scarce. Any progress in the separation and precipitation processes will benefit the global environmental balance.

Our recent study of the co-precipitation of cerium ions by oxalic acid in water, a key step in some recovery process of RE, has revealed the spontaneous formation of 'mineral nanodroplets' right after reagent mixing (Durelle et al. to be submitted). These nanodroplets consist in a reactant-rich liquid that convert into cerium oxalate crystals after several tens of seconds. These droplets have been imaged with cryoTEM 7.5 s after the mixing. This newly reported nanophase could benefit separation and recovery processes, but its conditions and mechanisms of formation needs a deeper investigation.

Its thorough characterization implies being able to probe the system just after mixing, when the system still consists of free ions. This is achievable thanks to ultrafast microfluidic mixers ( $t_{mix} < 1$  ms), fabricated using soft-lithography techniques, and recently used by our team to study calcium carbonate precipitation by X-ray scattering.

The aim of this internship is to develop a set-up enabling to freeze a solution as quickly as possible after mixing the reactants. In practice, we need to combine microfluidic mixers with a freeze-plunger (see Chen & Frank and Feng et al.). Both components already exists, but they need to be interfaced with a spray in order to quickly collect the solution at the mixer exit on an electron microscope grid plunging into liquid ethane. The intern will have to develop this sprayer with microfluidic tools and find the correct conditions and parameters to obtain observable samples.

### References:

Chen, B.; Frank, J. Two Promising Future Developments of Cryo-EM: Capturing Short-Lived States and Mapping a Continuum of States of a Macromolecule. *Microscopy (Oxf)* 2016, 65 (1), 69-79. <a href="https://doi.org/10.1093/jmicro/dfv344">https://doi.org/10.1093/jmicro/dfv344</a>

Feng, X.; Fu, Z.; Kaledhonkar, S.; Jia, Y.; Shah, B.; Jin, A.; Liu, Z.; Sun, M.; Chen, B.; Grassucci, R. A.; Ren, Y.; Jiang, H.; Frank, J.; Lin, Q. A Fast and Effective Microfluidic Spraying-Plunging Method for High-Resolution Single-Particle Cryo-EM. *Structure* 2017, 25 (4), 663-670.e3. <a href="https://doi.org/10.1016/j.str.2017.02.005">https://doi.org/10.1016/j.str.2017.02.005</a>