



**Caméra comportementale :
Synchronisation et enregistrement**

Note d'application

Version 1.0.0

Contenu

1	Introduction	3
2	Configuration d'une caméra comportementale et d'un générateur d'impulsions TTL Optogenetics	4
2.1	Connexions (Fig 2.1).....	4
2.2	Exemple de configuration	5
3	Configuration d'une caméra comportementale et d'une console de photométrie par fibre	8
3.1	Connexions (Fig 3.1).....	8
3.2	Exemple de configuration	8
4	Configuration d'une caméra comportementale et d'une console de photométrie à fibres déclenchée par une source externe	12
4.1	Connexions (Fig 4.1).....	12
4.2	Exemple de configuration	13
5	Configuration d'une caméra comportementale et d'un microscope avec la même fréquence d'images	17
5.1	Connexions (Fig 5.1).....	17
5.2	Exemple de configuration	18
6	Configuration pour une caméra comportementale et un microscope avec une fréquence d'images différente	21
6.1	Connexions (Fig. 6.1).....	21
6.2	Exemple de configuration	22
7	Soutien	27
7.1	Nous contacter	27

Introduction

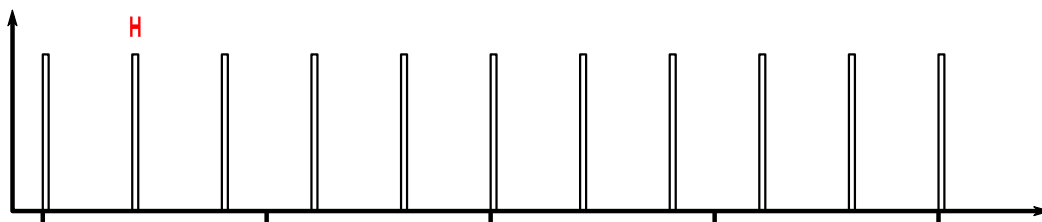
Pour synchroniser l'imagerie du comportement avec la modulation et/ou l'enregistrement de l'activité cellulaire, il est fortement recommandé de contrôler les deux modalités avec le même appareil. Lorsque vous définissez l'un de vos appareils comme appareil maître, le comportement et l'enregistrement de la fluorescence sont alignés sur l'horloge de cet appareil, ce qui réduit les risques de désynchronisation et de dérive dans le temps.

Dans cette configuration, la caméra comportementale est réglée en mode de déclenchement externe (esclave) et est déclenchée image par image par le dispositif maître. Ce dispositif maître peut être, par exemple, un générateur d'impulsions TTL Optogenetics (OTPG), une console de photométrie à fibres (FPC) ou un pilote de microscope à fluorescence (FMD). Un train d'impulsions TTL, défini dans l'interface du dispositif maître, est envoyé à la caméra qui commence à enregistrer une image à chaque impulsion TTL (figure 1.1).

La présente note d'application explique comment configurer la caméra en mode de déclenchement externe et comment la synchroniser avec d'autres logiciels Doric (par exemple OTPG, FPC, FMD, . . .).

Train d'impulsions TTL du Dispositif Maître

Impulsion de déclenchement de trame



Caméra

Temps d'acquisition pour chaque image

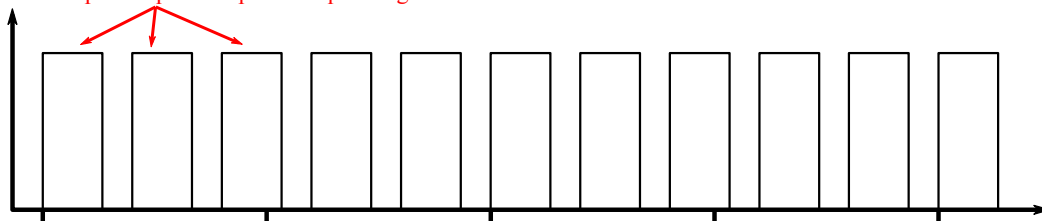


Figure 1.1 : L'acquisition de chaque image de la caméra comportementale se fait à la réception d'une impulsion de déclenchement TTL.

Configuration pour une caméra comportementale et une impulsion TTL optogénétique Générateur

De nombreuses expériences nécessitent la synchronisation du générateur d'impulsions TTL optogénétiques (OTPG) avec une caméra comportementale (Behavior Camera). Ce chapitre explique le cas le plus simple où l'OTPG est le dispositif maître qui pilote la caméra.

2.1 Connexions (Fig 2.1)

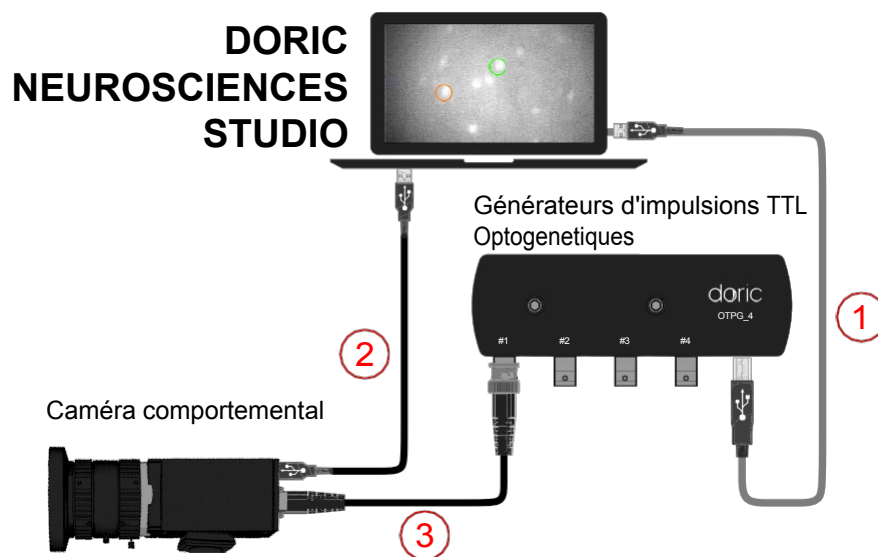


Figure 2.1 : Connexions électroniques nécessaires pour déclencher la caméra comportementale à l'aide de l'OTPG.

1 - Connecter l'OTPG à l'ordinateur

Connectez le générateur d'impulsions TTL Optogénétiques à l'ordinateur à l'aide du **câble USB-A à USB-B** fourni. Cela permet de configurer et de contrôler l'OTPG avec le logiciel Doric Neuroscience Studio.

2 - Connecter la caméra à l'ordinateur

Connectez le micro-câble USB3-A à USB3-B fourni avec la caméra à un **port USB3 de l'ordinateur**. Pour installer le pilote de la caméra, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation de la Caméra Comportementale](#). La Camera Comportemental peut alors être configurée par l'ordinateur et les images peuvent être acquises.

3 - Connecter la caméra à l'OTPG

Connectez le câble de déclenchement de la caméra à l'un des **ports BNC** de l'OTPG pour synchroniser la Camera comportemental avec.

2.2 Exemple de configuration

Cette section explique comment configurer les différents onglets de Doric Neuroscience Studio pour un exemple d'expérience impliquant la surveillance par une caméra comportementale déclenchée. Les paramètres sont les suivants (fig 2.2) .

Caméra comportementale

- Déclencheur de caméra connecté au port #1 de l'OTPG.
- Taux de rafraîchissement de 30 FPS.
- Enregistrement continu d'images.

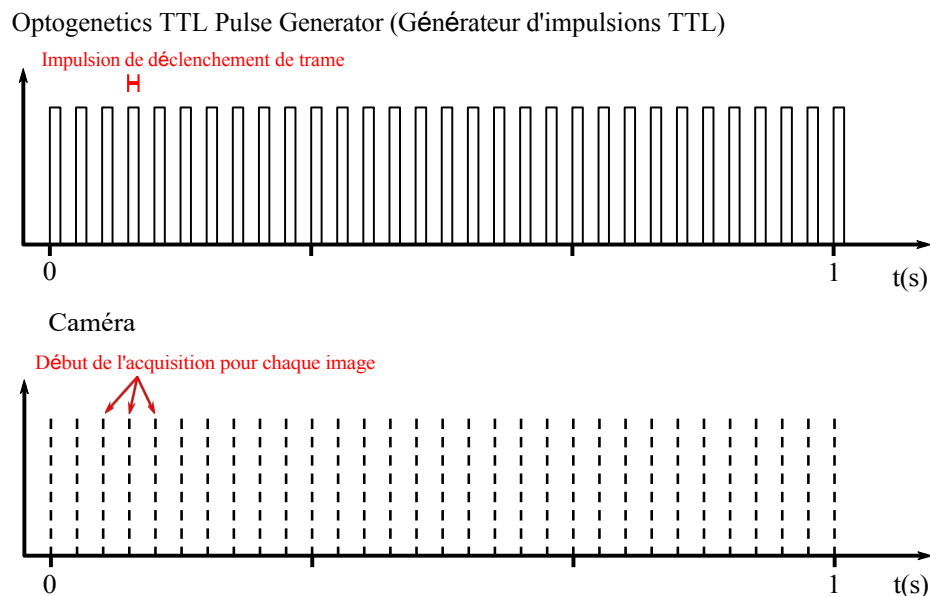


Figure 2.2 : Schéma du signal d'entrée de la caméra. La fréquence d'images de la caméra est déclenchée par un train d'impulsions provenant de l'OTPG dont la fréquence correspond à la fréquence d'images de la caméra.

2.2.1 Configuration de l'onglet Caméra (Fig. 2.3)

La caméra sera déclenchée par l'OTPG et doit être configurée en mode de déclenchement externe.

1. Dans l'onglet Capture, cliquez sur *Options d'enregistrement*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès pour l'enregistrement. Cliquez sur *OK* pour fermer le menu d'enregistrement.
2. Sélectionnez l'onglet *Paramètres*.
3. Dans le champ *FPS*, sélectionnez 30. La caméra est ainsi réglée sur 30 images/secondes. Les autres paramètres de la caméra dans cet onglet peuvent être définis pour optimiser les paramètres de l'image selon les préférences de l'utilisateur.
4. Sélectionnez l'onglet *Synchronisation*.
5. Dans le champ *Mode de déclenchement*, sélectionnez *Externe*.

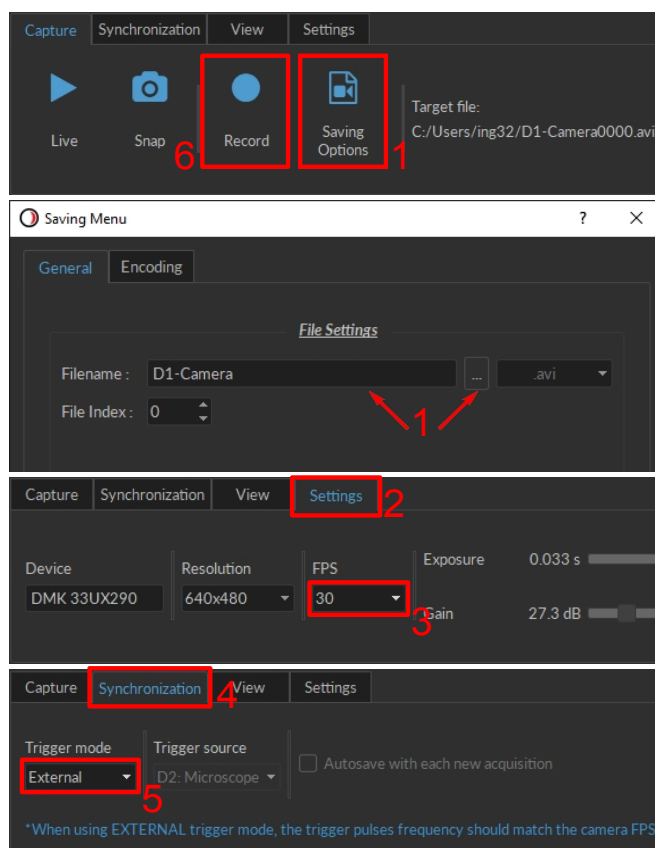


Figure 2.3 : Configuration de la caméra dans Doric Neuroscience Studio.

6. Sélectionnez l'onglet *Capture* et cliquez sur *Enregistrer* pour activer l'acquisition. L'enregistrement de la caméra ne commencera que lorsque la caméra recevra des impulsions de l'OTPG. Une fois que l'OTPG a terminé son acquisition, la caméra est toujours en mode enregistrement dans l'onglet *Caméra* pour continuer à enregistrer des images si un autre déclencheur est reçu de l'OTPG. Lorsque l'acquisition est terminée, cliquez sur *Stop* pour quitter le mode d'enregistrement et sauvegarder la vidéo.

2.2.2 Configurer l'onglet OTPG (Fig. 2.4)

L'OTPG doit être configuré pour envoyer des impulsions de déclenchement à la caméra comportementale.

1. Dans l'onglet principal du OTPG, sélectionnez l'onglet *Configuration*.
2. Cliquez sur *Ajouter un canal*. Une fenêtre externe s'ouvre.
3. Définissez les paramètres suivants dans les *options OTPG* :
 - Canal : OTPG | Ch1 (canal utilisé pour déclencher la caméra comportementale).
 - Mode : Carré.
4. Définissez les paramètres suivants dans les *options de séquences* :
 - Délai de démarrage : 00:00:00:000.
 - Fréquence : 30 Hz.
 - Temps ON : 5 ms.
 - Impulsion par séquence : 0. Le train d'impulsions se déroule en continu tant que l'OTPG est en marche.
5. Cliquez sur *OK* pour enregistrer la sélection.
6. Réglez les autres canaux OTPG pour votre expérience. Pour plus d'informations sur la configuration de l'OTPG, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation de l'OTPG](#).

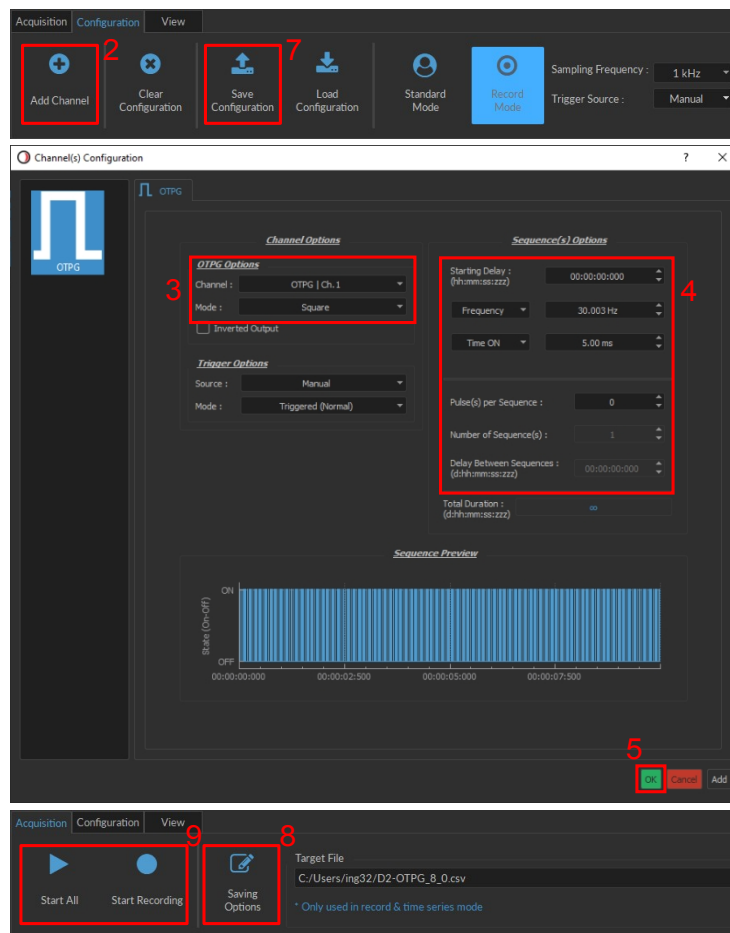


Figure 2.4 : Configuration de l'OTPG dans le Doric Neuroscience Studio.

Sauvegarder et démarrer

7. Pour enregistrer la configuration en vue d'une utilisation ultérieure, cliquez sur *Enregistrer la configuration* et enregistrez le fichier sous le nom souhaité. La configuration peut être chargée dans Doric Neuroscience Studio à l'aide du bouton *Charger la configuration*.
8. Pour sauvegarder l'enregistrement de l'OTPG¹, cliquez sur *Options de sauvegarde* dans l'onglet *Acquisition*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès et cliquez sur OK.
9. Lorsque vous êtes prêt à démarrer la session d'imagerie, cliquez sur *Démarrer l'enregistrement* pour enregistrer le signal OTPG ou sur *Démarrer tout* pour démarrer l'OTPG sans enregistrer le signal. Cela enverra également les déclencheurs à la caméra pour commencer à enregistrer des images. Lorsque l'acquisition est terminée, n'oubliez pas d'arrêter l'acquisition de l'OTPG (dans l'onglet OTPG) ainsi que de la caméra (dans l'onglet Camera) pour sauvegarder le signal OTPG et l'enregistrement du comportement.

¹ Le mode d'enregistrement est disponible pour l'OTPG avec la version 4.4 ou supérieure du micrologiciel et la version 5.4.0.0 ou supérieure de Doric Neuroscience Studio. Le taux d'échantillonnage de l'enregistrement OTPG peut être ajusté à l'aide du menu déroulant situé à droite du bouton Record Mode (Mode d'enregistrement). Nous suggérons un taux d'échantillonnage au moins 10 fois supérieur à celui de la caméra.

Configuration d'une caméra de comportement et d'une console de photométrie

Ce chapitre explique comment synchroniser la Behavior Camera avec un système de photométrie où la Fiber Photometry Console est le dispositif maître qui pilote la caméra.

3.1 Connexions (Fig 3.1)

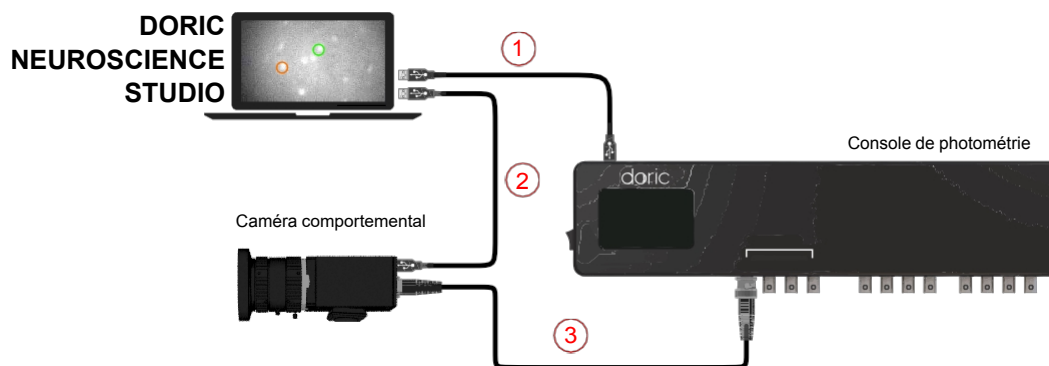


Figure 3.1 : Connexions électroniques nécessaires pour effectuer une photométrie à l'aide de la console de photométrie à fibres combinée à un enregistrement du comportement du sujet.

1 - Connecter la console de photométrie sur fibre à l'ordinateur

Connectez la console de photométrie à l'ordinateur à l'aide du **câble USB-A à USB-B** fourni. Cela permet de configurer et de contrôler la console de photométrie à fibres avec le logiciel Doric Neuroscience Studio.

2 - Connecter l'appareil photo à l'ordinateur

Connectez le micro-câble USB3-A à USB3-B fourni avec la caméra à un **port USB3 de l'ordinateur**. Pour installer le pilote de la caméra, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation de la Caméra Comportementale](#). La Camera Comportementale peut alors être configurée par l'ordinateur et les images peuvent être acquises.

3 - Connecter la caméra à la console de photométrie sur fibre

Connecter le câble de déclenchement de la caméra à l'une des **E/S numériques** de la console de photométrie à fibres pour synchroniser la caméra comportementale avec la console.

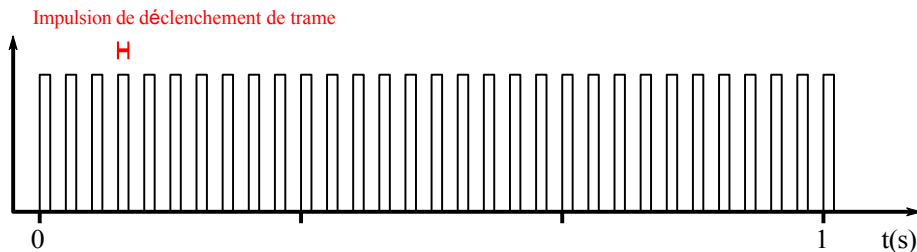
3.2 Exemple de configuration

Cette section explique comment configurer les différents onglets dans Doric Neuroscience Studio pour un exemple d'expérience impliquant l'enregistrement de la photométrie avec une caméra comportementale. Les paramètres sont les suivants (fig 3.2) :

Caméra comportementale

- Déclencheur de caméra connecté à la console de photométrie par fibre E/S numérique n° 1.
- Taux de rafraîchissement de 30 FPS.
- Enregistrement continu d'images.

Console de photométrie



Caméra

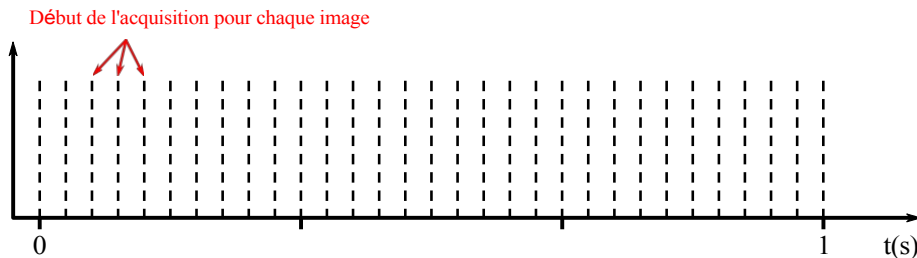


Figure 3.2 : Schéma du signal d'entrée de la caméra. La fréquence d'images de la caméra est déclenchée par un train d'impulsions provenant du FPC dont la fréquence correspond à la fréquence d'images de la caméra.

3.2.1 Configuration de l'onglet Caméra (Fig. 3.3)

La caméra sera déclenchée par la console de photométrie sur fibre et doit être configurée en mode de déclenchement externe.

1. Dans l'onglet Capture, cliquez sur *Options d'enregistrement*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès pour l'enregistrement. Cliquez sur *OK* pour fermer le menu d'enregistrement.
2. Sélectionnez l'onglet *Paramètres*.
3. Dans le champ *FPS*, sélectionnez 30. La caméra est ainsi réglée sur 30 images/secondes. Les autres paramètres de la caméra dans cet onglet peuvent être définis pour optimiser les paramètres de l'image selon les préférences de l'utilisateur.
4. Sélectionnez l'onglet *Synchronisation*.
5. Dans le champ *Mode de déclenchement*, sélectionnez *Externe*.
6. Sélectionnez l'onglet *Capture* et cliquez sur *Enregistrer* pour activer l'acquisition. L'enregistrement de la caméra ne commencera que lorsque la caméra recevra des impulsions de la console de photométrie. Une fois que la console a terminé son acquisition, la caméra est toujours en mode enregistrement pour continuer à enregistrer des images si un autre déclencheur est reçu de la console. Lorsque l'acquisition est terminée, cliquez sur *Stop* pour quitter le mode d'enregistrement et sauvegarder la vidéo.

3.2.2 Configurer l'onglet FPCConsole (Fig. 3.4)

L'expérience de déclenchement de la caméra et de photométrie est configurée via cet onglet.

1. Dans l'onglet principal de FPCConsole, sélectionnez l'onglet *Configuration*.
2. Cliquez sur *Ajouter un canal*. Une fenêtre externe s'ouvre.

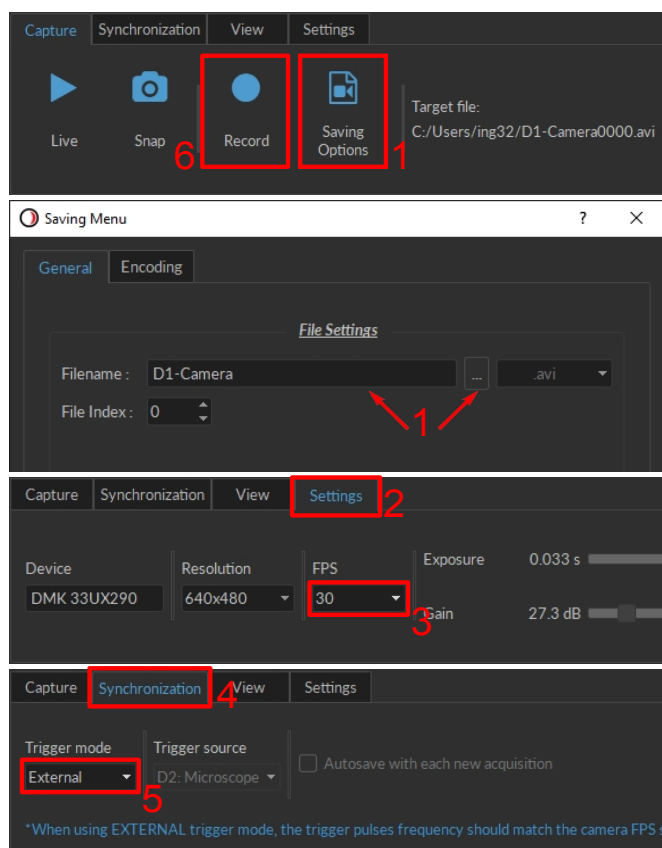


Figure 3.3 : Configuration de la caméra dans le Doric Neuroscience Studio.

3. Définissez les paramètres suivants dans *Options E/S numériques* :

- Canal : Digital I/O | Ch1 (canal utilisé pour déclencher la caméra comportementale).
- Mode : Carré.

4. Définissez les paramètres suivants dans les *options de séquences* :

- Délai de démarrage : 00:00:00:000.
- Fréquence : 30 Hz.
- Temps ON : 5 ms.
- Impulsion par séquence : 0. Le train d'impulsions se déroule en continu tant que la console est en marche.

5. Cliquez sur *OK* pour enregistrer la sélection.

6. Configurez les autres canaux de la Console de Photométrie pour votre expérience de photométrie. Pour plus d'informations sur la configuration de la Console de Photométrie, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation](#).

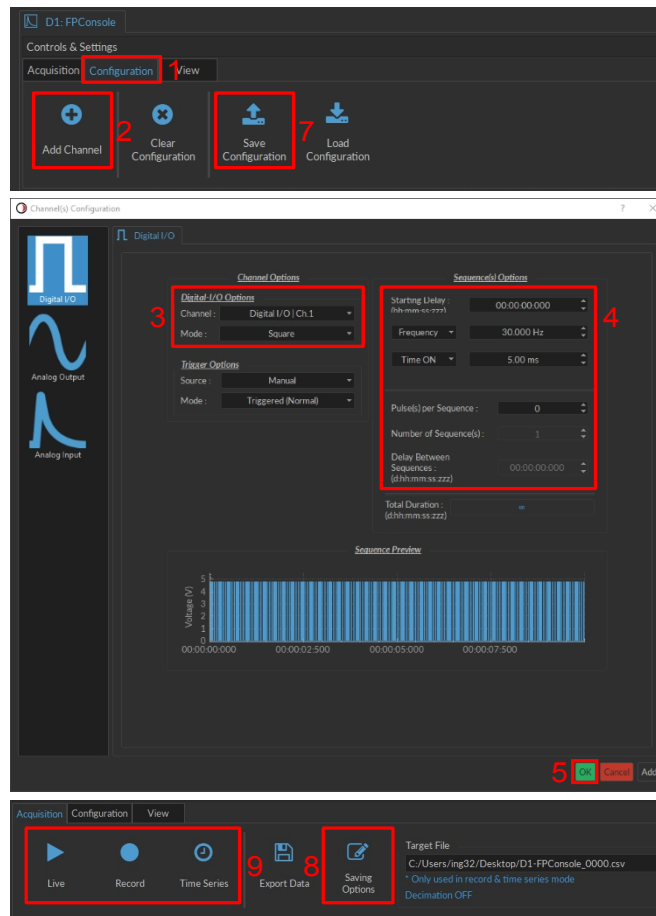


Figure 3.4 : Configuration de la console de photométrie par fibres dans le Doric Neuroscience Studio.

Sauvegarder et démarrer

7. Pour enregistrer la configuration en vue d'une utilisation ultérieure, cliquez sur *Save Configuration* (Enregistrer la configuration) et enregistrez le fichier sous le nom souhaité. La configuration peut être chargée dans Doric Neuroscience Studio à l'aide du bouton *Load Configuration* (Charger la configuration).
8. Pour sauvegarder l'enregistrement de l'expérience, cliquez sur *Options de sauvegarde* dans l'onglet *Acquisition*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès et cliquez sur OK.
9. Lorsque vous êtes prêt à démarrer l'expérience, cliquez sur *Live*, *Record* ou *Time Series*, en fonction de vos besoins en matière d'enregistrement. Cela enverra également les déclencheurs à la caméra pour qu'elle commence à enregistrer des images. Lorsque l'acquisition est terminée, n'oubliez pas d'arrêter l'acquisition de la caméra dans l'onglet *Caméra* pour sauvegarder l'enregistrement du comportement.

Configuration d'une caméra de comportement et d'une console de photométrie à fibres optiques déclenché par une source externe

Ce chapitre explique comment synchroniser la Behavior Camera avec le système de photométrie où les enregistrements commencent à la réception d'un déclencheur externe.

4.1 Connexions (Fig 4.1)

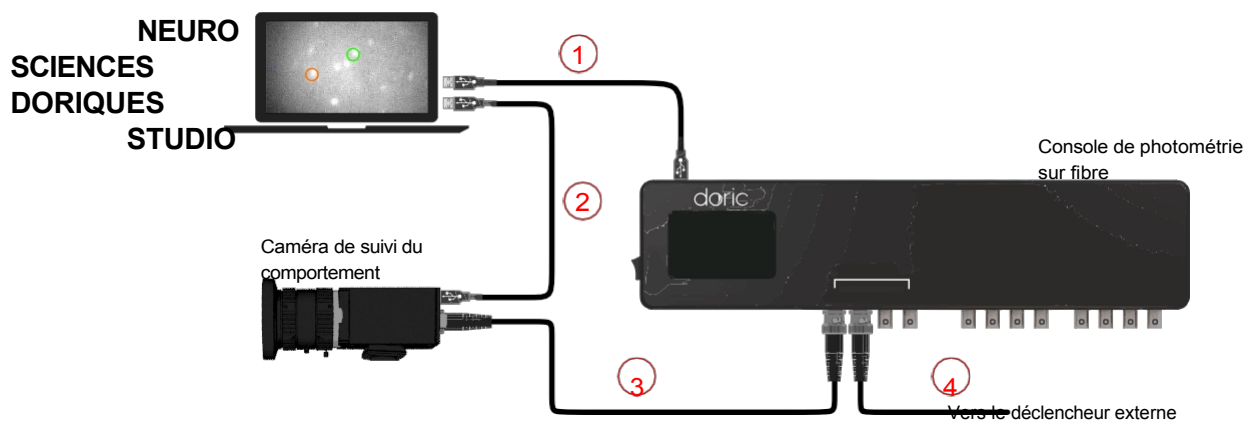


Figure 4.1 : Connexions électroniques nécessaires pour effectuer une photométrie à l'aide de la console de photométrie à fibres combinée à un enregistrement du comportement du sujet déclenché par une source externe.

1 - Connecter la console de photométrie sur fibre à l'ordinateur

Connectez la console de photométrie par fibres à l'ordinateur à l'aide du **câble USB-A à USB-B** fourni. Cela permet de configurer et de contrôler la console de photométrie à fibres avec le logiciel Doric Neuroscience Studio.

2 - Connecter l'appareil photo à l'ordinateur

Connectez le câble USB3-A à USB3-B fourni avec la caméra à un **port USB3 de l'ordinateur**. Pour installer le pilote de la caméra, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation de la Caméra Comportementale](#). La Behavior Camera peut alors être configurée par l'ordinateur et les images peuvent être acquises.

3 - Connecter la caméra à la console de photométrie sur fibre

Connectez le câble de déclenchement de la caméra à l'une des **E/S numériques** de la console de photométrie à

fibres pour synchroniser la caméra comportementale avec la console.

4 - Connecter le déclencheur externe à la console de photométrie sur fibre

Connectez le câble de déclenchement du déclencheur externe à l'une des **E/S numériques** de la console de photométrie à fibres pour permettre à la source externe de déclencher l'expérience.

4.2 Exemple de configuration

Cette section explique comment configurer les différents onglets de Doric Neuroscience Studio pour un exemple d'expérience impliquant l'enregistrement de la photométrie avec une caméra comportementale déclenchée par une source externe. Les paramètres sont les suivants (fig 4.2) :

Caméra comportementale

- Déclencheur de caméra connecté à la console de photométrie par fibre E/S numérique n° 1.
- Taux de rafraîchissement de 30 FPS.
- Enregistrement continu d'images.

Déclencheur externe

- Câble de déclenchement connecté à l'entrée/sortie numérique n°2 de la console de photométrie sur fibre.
- Une impulsion TTL est envoyée au début de l'événement.

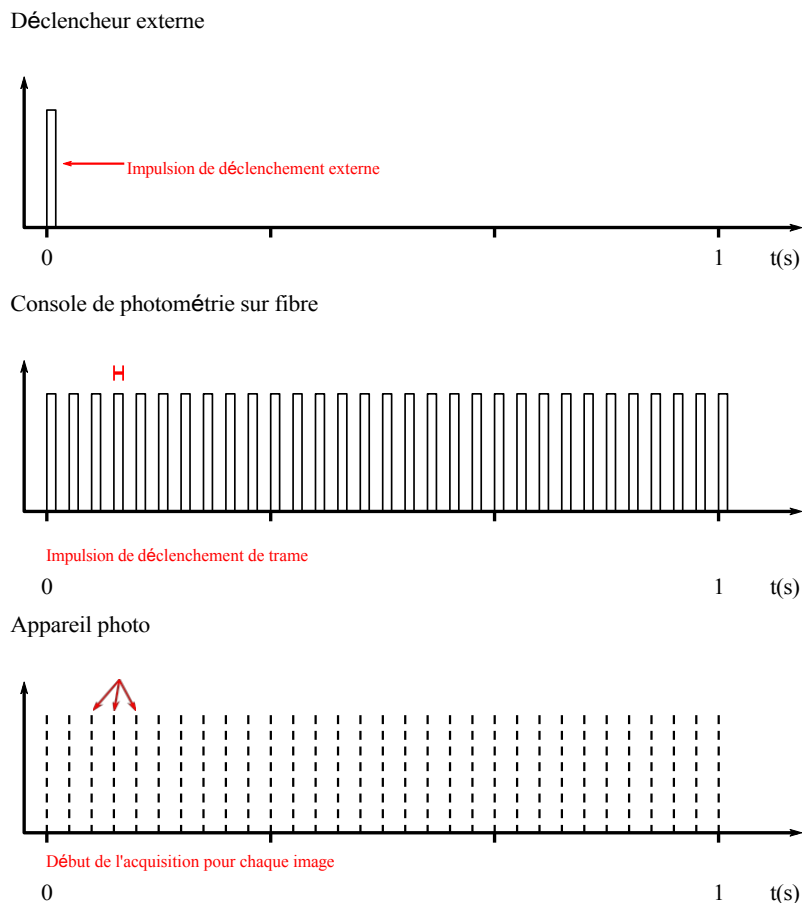


Figure 4.2 : Schéma du signal d'entrée de la caméra. La fréquence d'images de la caméra est déclenchée par un train d'impulsions provenant du FPC dont la fréquence correspond à la fréquence d'images de la caméra et l'enregistrement commence à la réception d'un déclencheur externe.

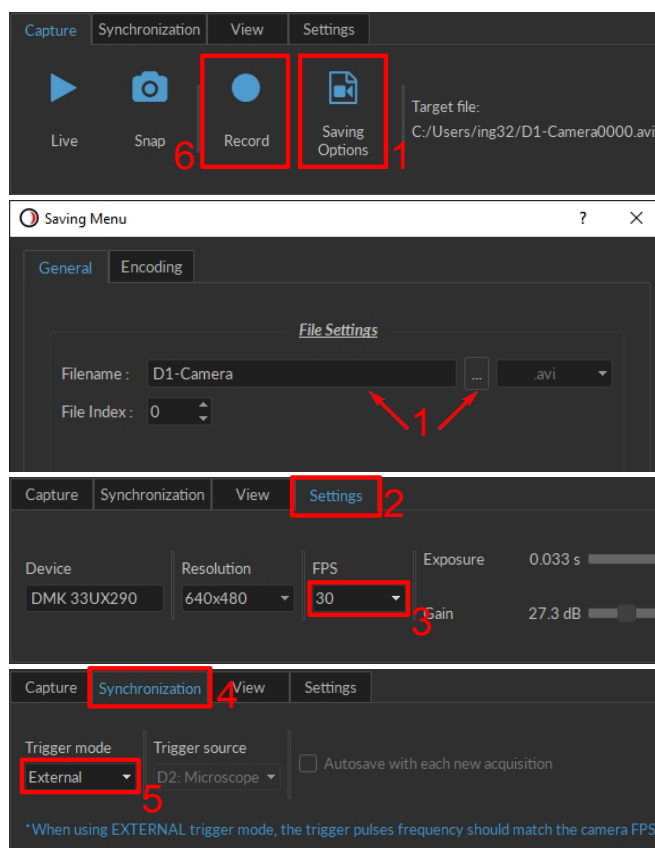


Figure 4.3 : Configuration de la caméra dans le Doric Neuroscience Studio.

4.2.1 Configuration de l'onglet Caméra (Fig. 4.3)

La caméra sera déclenchée par la console de photométrie sur fibre et doit être configurée en mode de déclenchement externe.

1. Dans l'onglet Capture, cliquez sur *Options d'enregistrement*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès pour l'enregistrement. Cliquez sur *OK* pour fermer le menu d'enregistrement.
2. Sélectionnez l'onglet *Paramètres*.
3. Dans le champ *FPS*, sélectionnez 30. La caméra est ainsi réglée sur 30 images/secondes. Les autres paramètres de la caméra dans cet onglet peuvent être définis pour optimiser les paramètres de l'image selon les préférences de l'utilisateur.
4. Sélectionnez l'onglet *Synchronisation*.
5. Dans le champ *Mode de déclenchement*, sélectionnez *Externe*.
6. Sélectionnez l'onglet *Capture* et cliquez sur *Record* pour activer l'acquisition. L'enregistrement de la caméra ne commencera que lorsque la caméra recevra des impulsions de la console de photométrie des fibres. Une fois que la console a terminé son acquisition, la caméra est toujours en mode enregistrement pour continuer à enregistrer des images si un autre déclencheur est reçu de la console. Cliquez sur *Stop* pour quitter le mode d'enregistrement et sauvegarder la vidéo.

4.2.2 Configurer l'onglet FPConsole (Fig. 4.4)

L'expérience de déclenchement de la caméra et de photométrie est configurée via cet onglet.

1. Dans l'onglet principal de FPConsole, sélectionnez l'onglet *Configuration*.
2. Cliquez sur *Ajouter un canal*. Une fenêtre externe s'ouvre.

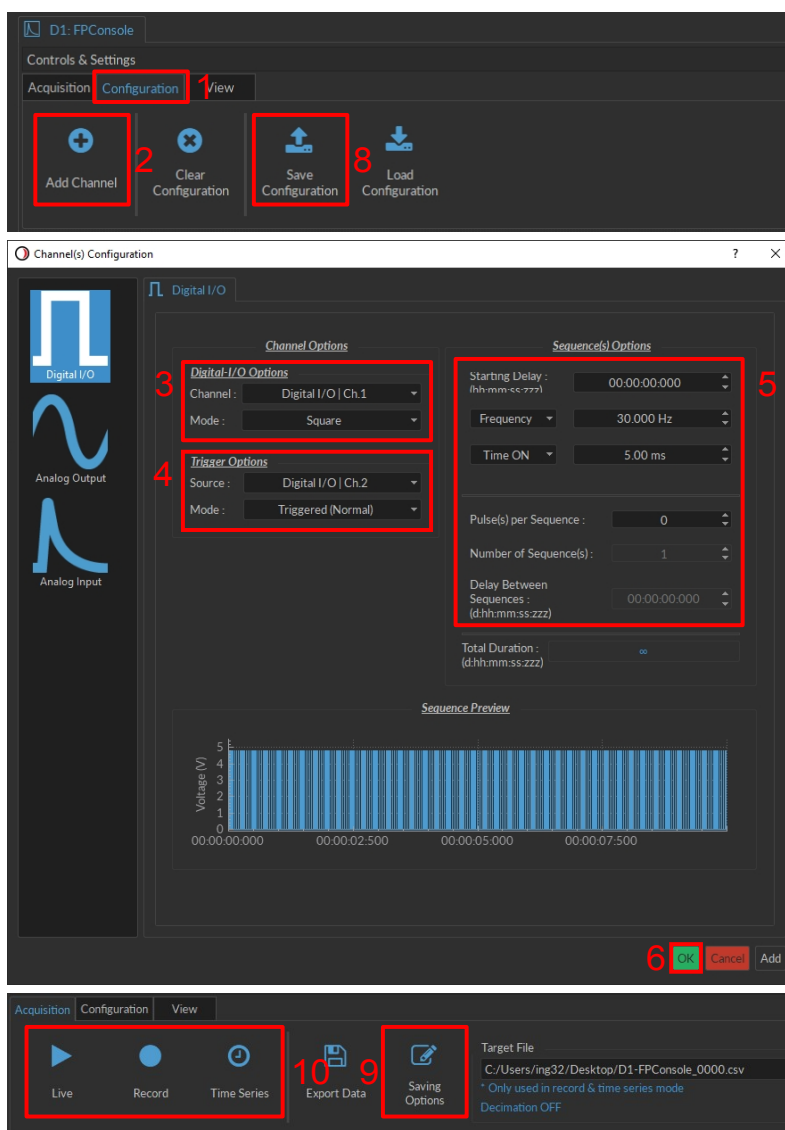


Figure 4.4 : Configuration de la console de photométrie par fibres dans le Doric Neuroscience Studio.

3. Définissez les paramètres suivants dans *Options E/S numériques* :
 - Canal : Digital I/O | Ch. 1 (canal utilisé pour déclencher la caméra comportementale)
 - Mode : Carré.
4. Définissez les paramètres suivants dans *l'option de déclenchement* :
 - Source : Digital I/O | Ch. 2 (canal de déclenchement externe)
 - Mode : Déclenché
5. Définissez les paramètres suivants dans les *options de séquences* :
 - Délai de démarrage : 00:00:00:000.
 - Fréquence : 30 Hz.
 - Temps ON : 5 ms.
 - Impulsion par séquence : 0. Le train d'impulsions se déroule en continu tant que la console est en marche.
6. Cliquez sur *OK* pour enregistrer la sélection.

7. Réglez les autres canaux de la console de photométrie par fibre pour votre expérience de photométrie. Cela n'est pas expliqué car cela sort du cadre de cette note d'application, mais les canaux doivent également être réglés pour être déclenchés par le déclencheur externe. La Fiber Photometry Console utilisera les paramètres de déclenchement du dernier canal ajouté comme paramètres globaux. Utilisez toujours les mêmes paramètres de déclenchement pour tous les canaux afin d'éviter les erreurs de configuration. Pour plus d'informations sur la configuration de la Fiber Photometry Console, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation](#).

Sauvegarder et démarrer

8. Pour enregistrer la configuration en vue d'une utilisation ultérieure, cliquez sur *Save Configuration* (*Enregistrer la configuration*) et enregistrez le fichier sous le nom souhaité. La configuration peut être chargée dans Doric Neuroscience Studio à l'aide du bouton *Load Configuration* (*Charger la configuration*).
9. Pour sauvegarder l'enregistrement de l'expérience, cliquez sur *Options de sauvegarde* dans l'onglet *Acquisition*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès et cliquez sur OK.
10. Lorsque vous êtes prêt à démarrer l'expérience, cliquez sur *Live*, *Record* ou *Time Series*, en fonction de vos besoins en matière d'enregistrement. Le système attendra l'impulsion du déclencheur externe pour commencer l'enregistrement. Il enverra également les déclencheurs à la caméra pour qu'elle commence à enregistrer des images. Lorsque l'acquisition est terminée, n'oubliez pas d'arrêter l'acquisition de la caméra dans l'onglet *Caméra* pour sauvegarder l'enregistrement du comportement.

Configuration d'une caméra comportementale et d'un microscope l'utilisant Taux de rafraîchissement

Ce chapitre explique le cas le plus simple de synchronisation de la Behavior Camera avec le système de microscopie où le Microscope Driver est le dispositif maître qui pilote la caméra. Notez que dans cette configuration, le microscope et la caméra ont la même fréquence d'images. Pour une configuration où le microscope et la caméra ont une fréquence d'images différente, veuillez consulter le chapitre 6.

5.1 Connexions (Fig 5.1)

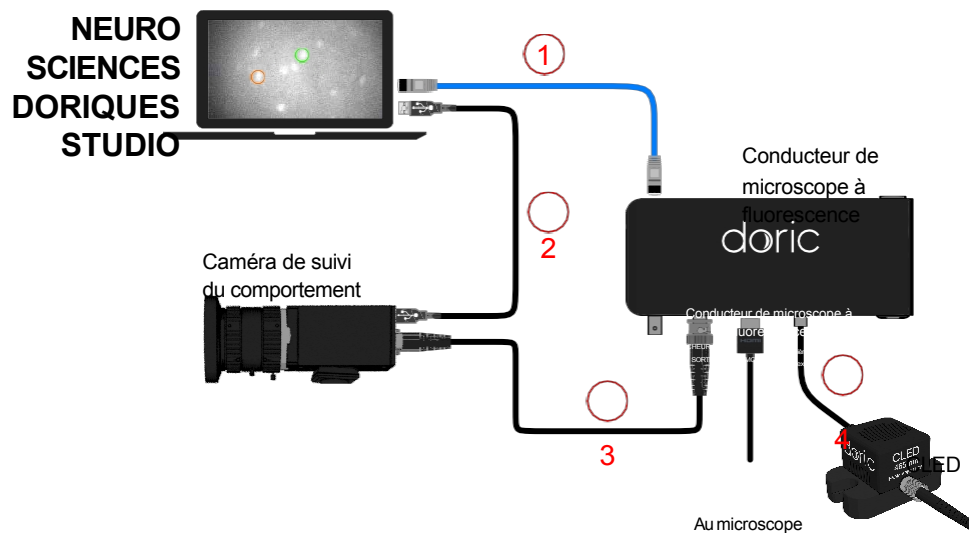


Figure 5.1 : Connexions électroniques nécessaires à la réalisation d'une microscopie à fluorescence miniature d'un fluorophore de type GFP combinée à un enregistrement du comportement du sujet.

1 - Connecter le pilote du microscope à l'ordinateur

Connectez le pilote du microscope à l'ordinateur à l'aide du **câble Ethernet** fourni. Cela permet de configurer et de contrôler le pilote de microscope avec le logiciel Doric Neuroscience Studio.

2 - Connecter l'appareil photo à l'ordinateur

Connectez le câble USB 3.0 fourni avec la caméra à un **port USB3 de l'ordinateur**. Pour installer le pilote de la

caméra, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation de la Caméra Comportementale](#). La Behavior Camera peut alors être configurée par l'ordinateur et les images peuvent être acquises.

3 - Connecter la caméra au pilote du microscope

Connectez le câble de déclenchement de la caméra à la **sortie de déclenchement** du pilote du microscope pour synchroniser la caméra comportementale avec le microscope.

4 - Connecter la DEL au pilote du microscope

Connectez la **DEL** à la **sortie M8** du pilote du microscope à fluorescence.

5.2 Exemple de configuration

Cette section explique comment configurer les différents onglets dans Doric Neuroscience Studio pour un exemple d'expérience impliquant un fluorophore de type GFP avec une caméra comportementale. Les paramètres sont les suivants (fig 5.2) :

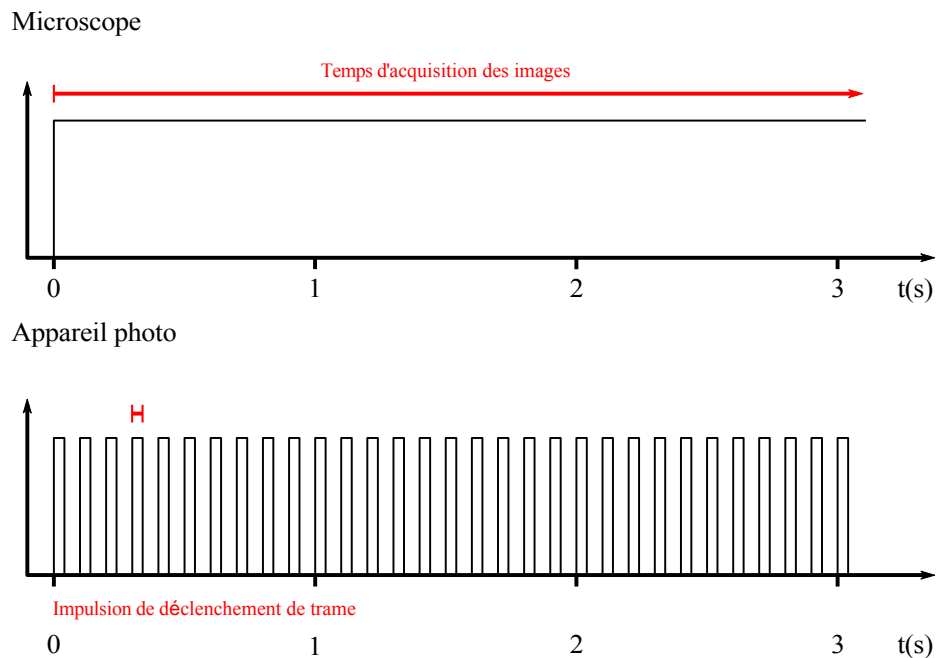


Figure 5.2 : Schéma de l'acquisition au microscope et du signal d'entrée de la caméra. Le microscope est déclenché manuellement et l'acquisition des images de la caméra est déclenchée par le signal de sortie du microscope.

Microscope

- Enregistrement continu d'images.
- Exposition au microscope à 100 ms (10 images/seconde).
- Source lumineuse d'une intensité de 20 %.

Caméra comportementale

- Déclencheur externe connecté à la sortie de déclenchement du pilote du microscope.
- Fréquence d'images de 10 FPS (pour une synchronisation correcte de la caméra avec les images du microscope et pour que les horodatages soient précis, la fréquence d'images de la caméra doit correspondre à la fréquence d'images du microscope).

5.2.1 Configuration de l'onglet Caméra (Fig. 5.3)

La caméra sera déclenchée par le pilote du microscope et doit être configurée en mode de déclenchement externe.

1. Dans l'onglet Capture, cliquez sur *Options d'enregistrement*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès pour l'enregistrement. Cliquez sur *OK* pour fermer le menu d'enregistrement.

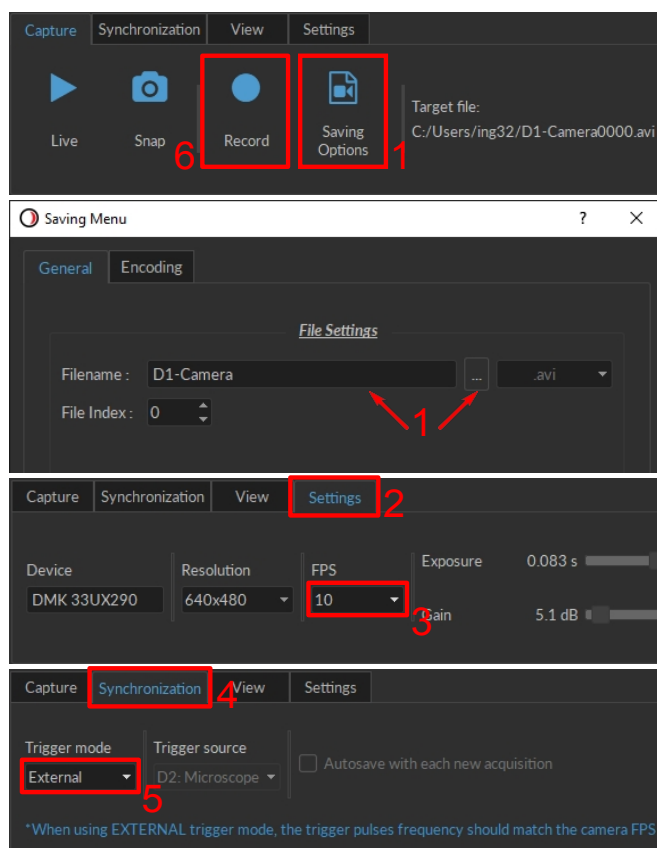


Figure 5.3 : Configuration de la caméra dans le Doric Neuroscience Studio.

2. Sélectionnez l'onglet *Paramètres*.
3. Dans le champ *FPS*, sélectionnez 10. La caméra est ainsi réglée sur 10 images/secondes pour correspondre au taux d'acquisition du micro-objectif. Les autres paramètres de la caméra dans cet onglet peuvent être réglés pour optimiser les paramètres de l'image selon les préférences de l'utilisateur.
4. Sélectionnez l'onglet *Synchronisation*.
5. Dans le champ *Mode de déclenchement*, sélectionnez *Externe*.
6. Sélectionnez l'onglet *Capture* et cliquez sur *Enregistrer* pour activer l'acquisition. L'enregistrement de la caméra ne commencera que lorsque des impulsions seront reçues par la caméra à partir de la sortie de déclenchement du pilote du microscope. Une fois que le microscope a terminé l'enregistrement, la caméra est toujours en mode enregistrement pour continuer à enregistrer des images si un autre déclencheur est reçu du microscope. Cliquez sur *Stop* pour quitter le mode d'enregistrement et sauvegarder la vidéo.

5.2.2 Configuration de l'onglet Microscope (Fig. 5.4)

Cet onglet permet de configurer le microscope et la puissance d'éclairage des LED.

1. Dans l'onglet principal *Microscope*, sélectionnez l'onglet *Paramètres du microscope*.
2. Dans le champ *Puissance d'éclairage*, tapez 20. Cela fournira une puissance d'éclairage LED de 20 % au microscope.
3. Cliquez sur *Trigger Options*. Une fenêtre externe s'ouvre.
4. Cliquez sur l'onglet *Trigger OUT* et sélectionnez le mode *Triggered w/ each frame*. Dans ce mode, le pilote du microscope émet une impulsion TTL au début de chaque image.

5. Fermez la fenêtre et sélectionnez l'onglet *Capture*.

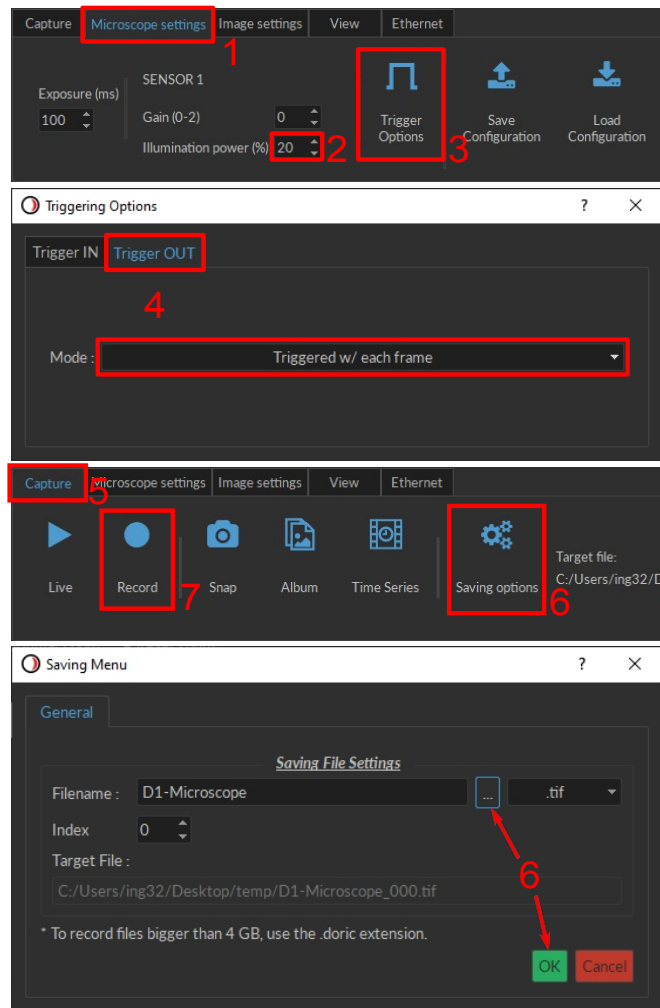


Figure 5.4 : Configuration du microscope dans le Doric Neuroscience Studio.

6. Cliquez sur *Options d'enregistrement* et définissez le nom de fichier et le chemin d'accès. Pour les fichiers de plus de 4 Go, il est recommandé d'utiliser le fichier d'extension .doric (format de fichier basé sur HDF5) pour enregistrer les images du microscope. Cliquez sur *OK* pour fermer le menu d'enregistrement.
7. Lorsque vous êtes prêt à commencer l'enregistrement, cliquez sur *Enregistrer* et l'acquisition démarre.
8. Pour arrêter l'enregistrement, cliquez sur *Stop*. N'oubliez pas d'arrêter également l'acquisition de la caméra dans l'onglet Caméra pour sauvegarder l'enregistrement du comportement.

Configuration d'une caméra comportementale et d'un microscope avec une Taux de rafraîchissement

Le cas le plus simple de synchronisation de la caméra comportementale avec le microscope miniature à fluorescence est présenté au chapitre 5 mais présente l'inconvénient de devoir faire correspondre la fréquence d'images de la caméra avec celle du microscope. Ce chapitre explique comment synchroniser la caméra comportementale avec le microscope en utilisant une fréquence d'images différente pour la caméra. Dans cette configuration, l'Optogenetics TTL Pulse Generators (OTPG) est le dispositif maître et pilote la caméra comportementale et le pilote du microscope.

6.1 Connexions (Fig. 6.1)

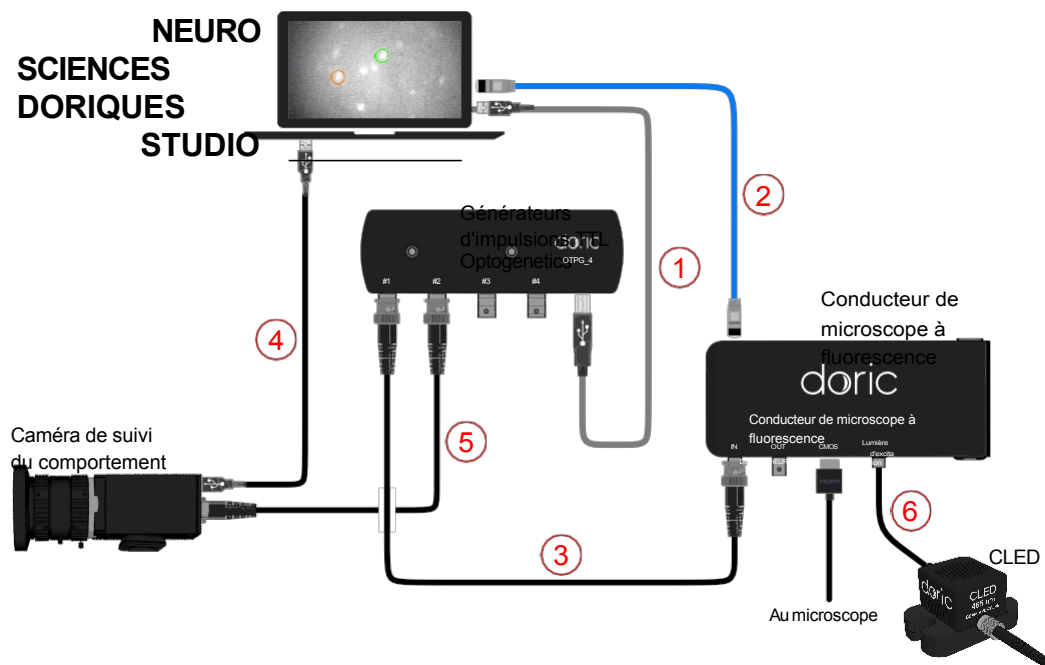


Figure 6.1 : Connexion électronique nécessaire pour réaliser une microscopie à fluorescence miniature d'un fluorophore de type GFP combinée à un enregistrement du comportement du sujet.

1 - Connecter l'OTPG à l'ordinateur

Connecter l'OTPG à l'ordinateur à l'aide du **câble de connexion USB-A - USB-B** fourni. Cela permet de configurer et

de contrôler l'OTPG avec le logiciel Doric Neuroscience Studio.

2 - Connecter le pilote du microscope à l'ordinateur

Connectez le pilote du microscope à l'ordinateur à l'aide du **câble Ethernet** fourni. Cela permet de configurer et de contrôler le pilote de microscope avec le logiciel Doric Neuroscience Studio.

3 - Connecter le pilote du microscope à l'OTPG

Connectez le **port BNC de l'entrée de déclenchement** du pilote du microscope à un **port de sortie BNC** de l'OTPG. Le microscope sera déclenché par l'OTPG.

4 - Connecter l'appareil photo à l'ordinateur

Connectez le câble USB 3.0 fourni avec la caméra à un **port USB3 de l'ordinateur**. Pour installer le pilote de la caméra, veuillez vous référer au [manuel d'utilisation de la Caméra Comportementale](#). La Behavior Camera peut alors être configurée par l'ordinateur et les images peuvent être acquises.

5 - Connecter la caméra à l'OTPG

Connectez le câble de déclenchement de la caméra au **port de sortie BNC** de l'OTPG. La caméra comportementale démarrera au déclenchement de l'OTPG.

6 - Connecter la DEL au pilote du microscope

Connectez la **DEL** à la **sortie M8** du pilote du microscope à fluorescence.

6.2 Exemple de configuration

Cette section explique comment configurer les différents onglets dans Doric Neuroscience Studio pour un exemple d'expérience impliquant un fluorophore de type GFP avec une caméra comportementale. Les paramètres sont les suivants (fig 6.2) :

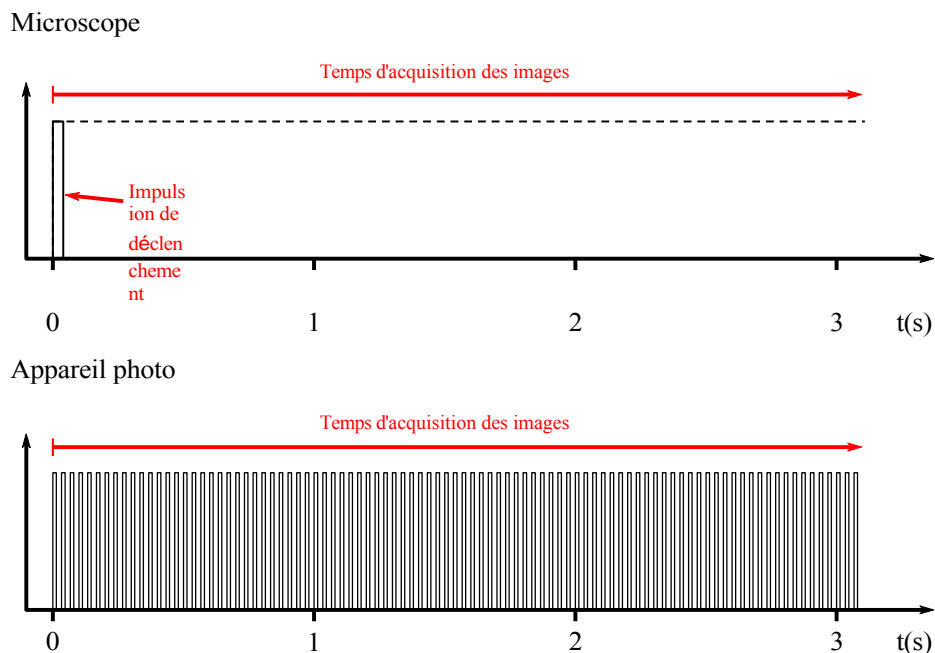


Figure 6.2 : Schéma du signal d'entrée du microscope et de la caméra généré par l'OTPG. Le microscope est déclenché par une seule impulsion, et l'acquisition des images de la caméra est déclenchée par un train d'impulsions dont la fréquence correspond à la fréquence des images de la caméra.

Microscope

- Enregistrement continu d'images pendant 15 minutes.
- Exposition au microscope à 100 ms (10 images/seconde).
- Source lumineuse LED d'une intensité de 20 %.
- L'entrée de déclenchement du microscope est connectée au canal 1 de l'OTPG.

Caméra comportementale

- Enregistrement continu d'images pendant 15 minutes.
- Taux de rafraîchissement de 30 FPS.
- Déclencheur externe connecté au canal 2 de l'OTPG.

6.2.1 Configuration de l'onglet Caméra (Fig. 6.3)

La caméra sera déclenchée par l'OTPG et doit être configurée en mode de déclenchement externe.

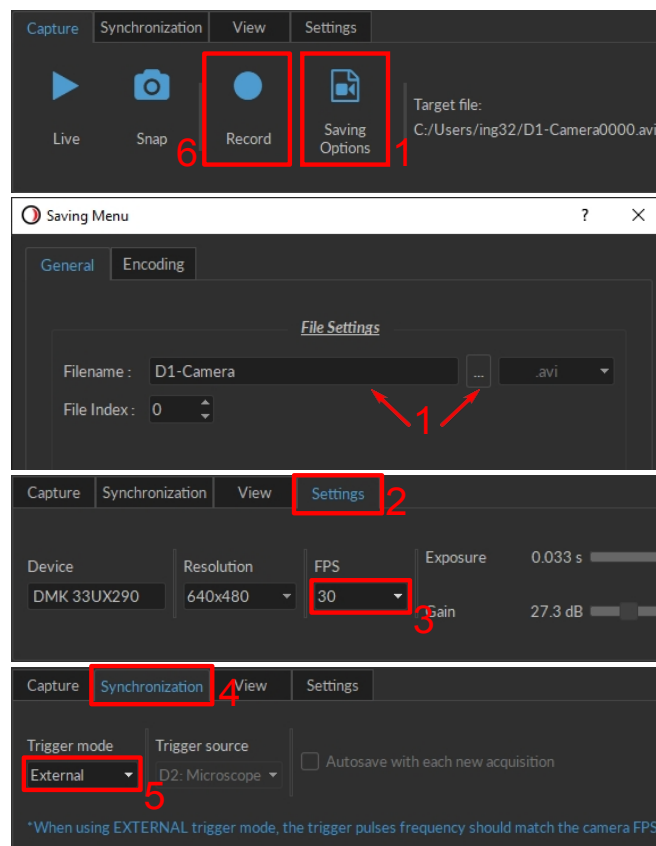


Figure 6.3 : Configuration de la caméra dans le Doric Neuroscience Studio.

1. Dans l'onglet Capture, cliquez sur *Options d'enregistrement*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès pour l'enregistrement. Cliquez sur *OK* pour fermer la fenêtre du menu d'enregistrement.
2. Sélectionnez l'onglet *Paramètres*.
3. Dans le champ *FPS*, sélectionnez 30. La caméra est ainsi réglée sur 30 images/secondes. Les autres paramètres de la caméra dans cet onglet peuvent être définis pour optimiser les paramètres de l'image

selon les préférences de l'utilisateur.

4. Sélectionnez l'onglet *Synchronisation*.

- Dans le champ *Mode de déclenchement*, sélectionnez *Externe*.
- Sélectionnez l'onglet *Capture* et cliquez sur *Enregistrer* pour activer l'acquisition. L'enregistrement de la caméra ne commencera que lorsque la caméra recevra des impulsions de l'OTPG. Une fois que l'OTPG a terminé sa séquence, la caméra est toujours en mode enregistrement pour continuer à enregistrer des images si un autre déclencheur est reçu de l'OTPG. Cliquez sur *Stop* pour quitter le mode d'enregistrement et sauvegarder la vidéo.

6.2.2 Configuration de l'onglet Microscope (Fig. 6.4)

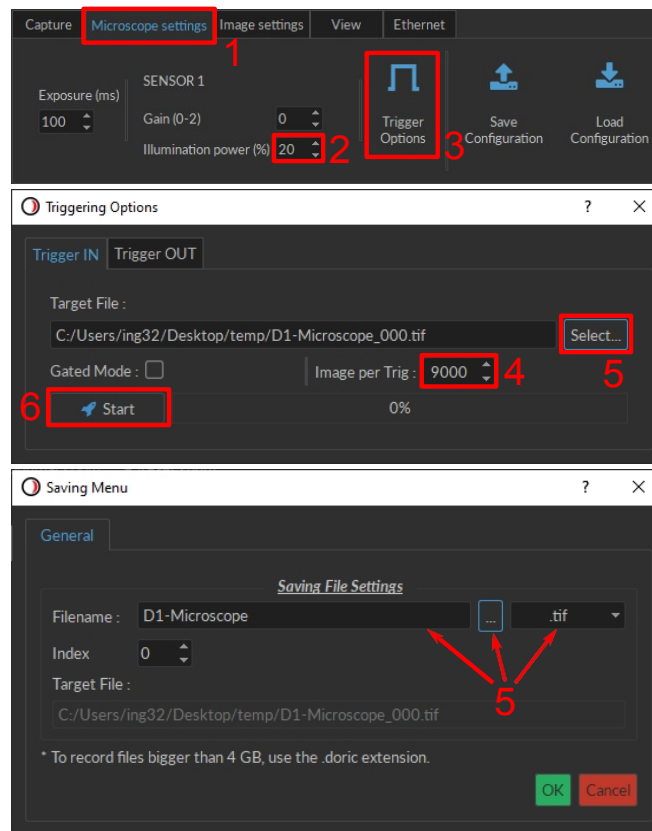


Figure 6.4 : Configuration du microscope dans le Doric Neuroscience Studio.

Cet onglet permet de configurer le microscope et la puissance d'éclairage des LED.

- Dans l'onglet principal *Microscope*, sélectionnez l'onglet *Paramètres du microscope*.
- Dans le champ *Puissance d'éclairage*, tapez 20. Cela fournira une puissance d'éclairage LED de 20 % au microscope.
- Cliquez sur *Trigger Options*. Une fenêtre externe s'ouvre.
- Régler le nombre d'*images par déclenchement* à 9 000 (10 images/seconde pendant 15 minutes).
- Cliquez sur *Sélectionner...* et définissez le nom de fichier et le chemin d'accès d'enregistrement. Pour les fichiers d'une taille supérieure à 4 Go, il est recommandé d'utiliser l'option *.doric* (format de fichier basé sur HDF5) pour enregistrer les images du microscope. Cliquez sur *OK* pour fermer le menu d'enregistrement.
- Dans la fenêtre Options de déclenchement, cliquez sur *Démarrer*. Le microscope est maintenant prêt à commencer l'acquisition d'images. Aucune image ne sera acquise tant qu'un déclencheur n'aura pas été envoyé par l'OTPG.

6.2.3 Configurer l'onglet OTPG (Fig. 6.5)

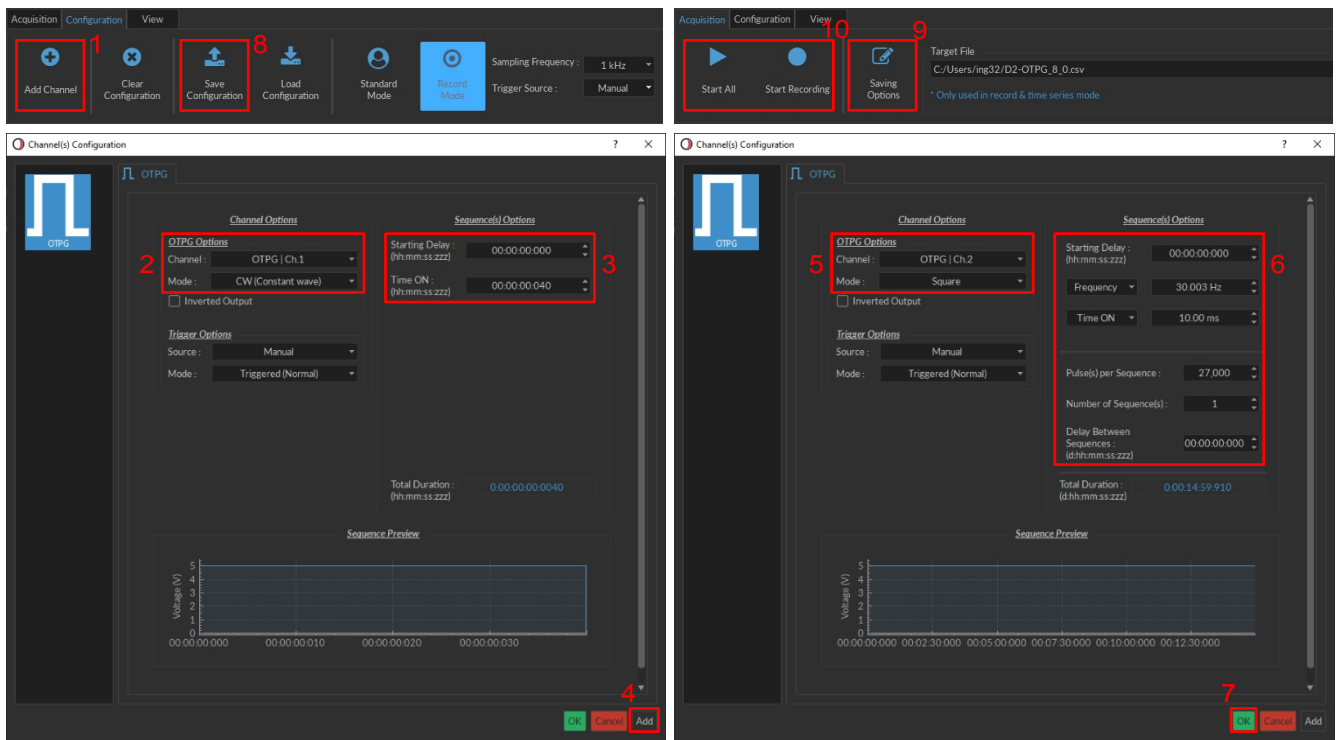


Figure 6.5 : Configuration de l'onglet OTPG dans le Doric Neuroscience Studio.

L'OTPG doit être configuré pour envoyer des impulsions de déclenchement à la caméra comportementale et au pilote du microscope.

Configuration du déclencheur du microscope

1. Dans l'onglet *Configuration*, cliquez sur *Ajouter un canal*.
2. Définissez les paramètres suivants dans les *options OTPG* :
 - Canal : Canal *OTPG|Ch.1* (Canal utilisé pour l'entrée de déclenchement du microscope).
 - Mode : CW.
3. Définissez les paramètres suivants dans les *options de séquences* :
 - Délai de démarrage : 00:00:00:000.
 - Temps ON : 00:00:00:040.
4. Cliquez sur *Ajouter* pour enregistrer le canal actuel et ajouter un nouveau canal.

Configuration de la caméra

5. Définissez les paramètres suivants dans les *options OTPG* :
 - Canal : Canal *OTPG|Ch2*. (Canal utilisé pour déclencher la caméra comportementale).
 - Mode : Carré.
6. Définissez les paramètres suivants dans les *options de séquences* :
 - Délai de démarrage : 00:00:00:000.
 - Fréquence : 30 Hz.

- Temps ON : 10 ms.

- Nombre d'impulsions par séquence : 27 000 (30 images/secondes pendant 15 minutes).
- Nombre de séquences : 1.
- Délai entre les séquences : 00:00:00:000

7. Cliquez sur *OK* pour enregistrer la sélection.

Sauvegarder et démarrer

8. Pour enregistrer la configuration en vue d'une utilisation ultérieure, cliquez sur *Save Con guration (Enregistrer la configuration)* et enregistrez le fichier sous le nom souhaité. La configuration peut être chargée dans Doric Neuroscience Studio à l'aide du bouton *Load Con guration (Charger la configuration)*.
9. Pour enregistrer le signal **OTPG¹**, sélectionnez le chemin et le nom de fichier souhaités dans le menu *Saving Option (Option d'enregistrement)* de l'onglet *Acquisition*. Une fenêtre externe s'ouvre. Définissez le nom de fichier et le chemin d'accès et cliquez sur *OK*.
10. Lorsque vous êtes prêt à démarrer la session d'imagerie, cliquez sur *Démarrer l'enregistrement* pour enregistrer le signal OPTG ou sur *Démarrer tout* pour démarrer l'OTPG sans enregistrer le signal. Cela enverra également les déclencheurs aux microscopes et à la caméra pour commencer à enregistrer des images. Lorsque l'acquisition est terminée, n'oubliez pas d'arrêter l'acquisition de l'OTPG (dans l'onglet OPTG), le déclenchement du microscope (dans la fenêtre externe Options de déclenchement), ainsi que la caméra (dans l'onglet Caméra) pour sauvegarder le signal OPTG et l'enregistrement du comportement.

¹ Le mode d'enregistrement est disponible pour l'OTPG avec la version 4.4 ou supérieure du micrologiciel et la version 5.4.0.0 ou supérieure de Doric Neuroscience Studio. Le taux d'échantillonnage de l'enregistrement OTPG peut être ajusté à l'aide du menu déroulant situé à droite du bouton Record Mode (Mode d'enregistrement). Nous suggérons un taux d'échantillonnage au moins 10 fois supérieur à celui de la caméra.

7.1 Contactez nous

Pour toute question ou commentaire, n'hésitez pas à nous contacter par :

Téléphone 1-418-877-5600

Courriel sales@doriclenses.com



2021 DORIC LENSES INC

357 rue Franquet - Québec, (Québec)

G1P 4N7, Canada

Téléphone : 1-418-877-5600 - Fax : 1-418-877-

1008 1-418-877-5600 - Fax : 1-418-877-1008

www.doriclenses.com