



Mini-cubes de fluorescence par imagerie multifibres

Manuel de l'utilisateur

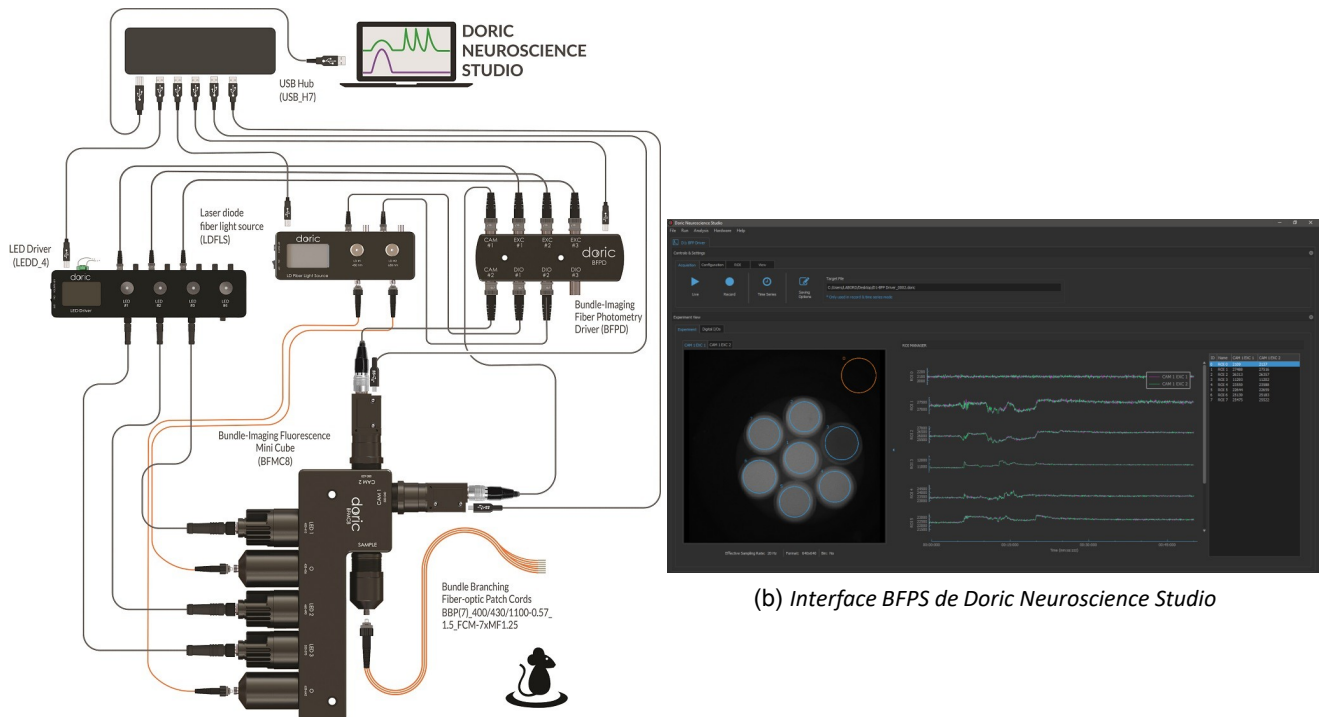
Version 1.1.1

Contenu

1	Introduction	3
2	Vue d'ensemble du système	4
2.1	Cube de fluorescence par imagerie multifibres (BFMC) : Types de ports et description	4
2.2	Sous-systèmes de photométrie par imagerie multifibres	5
3	Démarrage : Directives générales d'installation	7
3.1	Connexion du système de photométrie à fibres optiques à imagerie groupée	7
3.2	Câble à fibre optique	8
4	Caractéristiques	10
4.1	Caractéristiques générales.....	10
4.2	Caractéristiques optiques	11
4.3	Caractéristiques mécaniques.....	12
5	Soutien	13
5.1	Entretien.....	13
5.2	Garantie	13
5.3	Nous contacter	13

Introduction

Le **système de photométrie imagerie multifibres (BFPS)** est une alternative élégante pour les mesures sur plusieurs sites. En regroupant des fibres individuelles dans un connecteur SMA, des sites d'expérimentation distincts sont imagés simultanément sur un détecteur CMOS, ce qui simplifie grandement les mesures de photométrie à fibres parallèles. Le signal global de fluorescence de chaque site est enregistré à partir des variations d'intensité des pixels dans Doric Neuroscience Studio (Fig.1.1b.) Le système est disponible pour des mesures à une ou deux couleurs avec une excitation de référence isosbétique ainsi que pour des expériences optogénétiques synchronisées (Fig.1.1a).



GCaMP Isosbestic & Functional Excitations & Red Fluorophore with optogenetic activation Photometry System

(a) Configuration GCaMP, RFP, Optogénétique 450 et 638 nm

Figure 1.1 : Vue d'ensemble du système de photométrie par imagerie multifibres

Vue d'ensemble du système

2.1 Cube de fluorescence par imagerie multifibres (BFMC) : Types de ports et description

Le *cube de fluorescence par imagerie multifibres* comporte quatre types de ports optiques : Echantillon, Excitation, Caméra et Optogénétique. En fonction de l'expérience, le nombre de ports et leur conception sont modifiés pour atteindre l'objectif souhaité (Fig 2.1).

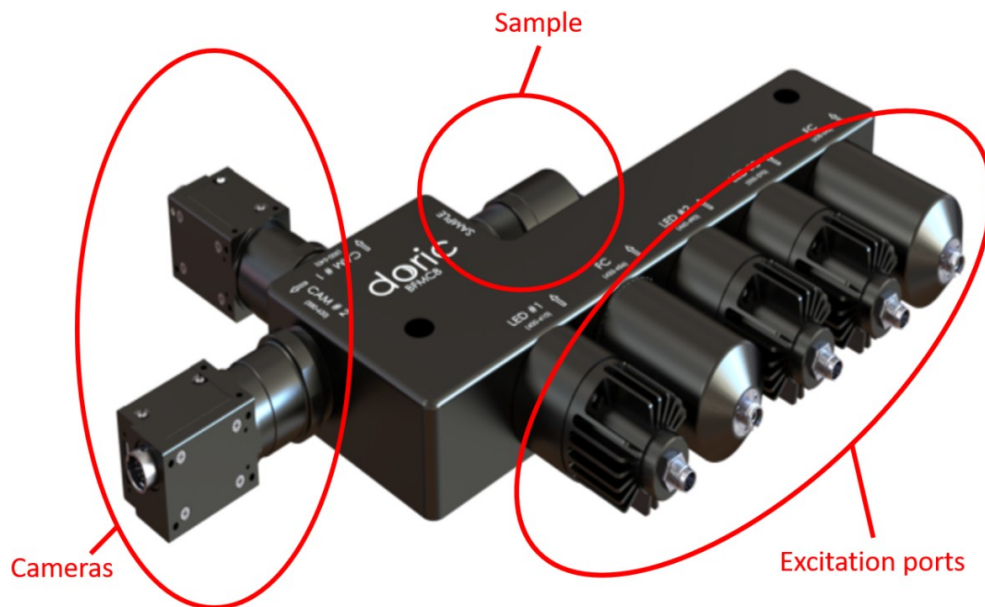


Figure 2.1 : Vue d'ensemble du BFMC 8. Notez que les cubes sont classés en fonction de leur nombre de ports. Dans ce cas, le cube a 8 ports : 5 ports d'excitation, 2 caméras et 1 port d'échantillonnage.

2.1.1 Port d'échantillon

Chaque mini-cube à fluorescence possède un seul port d'échantillon. C'est le seul port sans aucun filtrage spectral, toutes les longueurs d'onde pouvant passer librement à travers lui. Le port d'échantillon se compose d'un objectif de microscope et d'un adaptateur de fibre pour imager et focaliser le faisceau de fibres sur les caméras. Pour accueillir des faisceaux de fibres plus grands (jusqu'à 2,5 mm), un réceptacle SMA est utilisé sur le port d'échantillon.

Un faisceau de fibres optiques comporte deux ou plusieurs fibres optiques regroupées dans un connecteur optique SMA à une extrémité. L'autre extrémité est constituée de fibres optiques libres avec des connecteurs individuels. Des matériaux à faible autofluorescence et de l'époxy noir sont utilisés pour réduire la fluorescence de fond et empêcher la diaphonie entre chaque fibre.

2.1.2 Ports d'excitation

Pour obtenir une illumination stable et uniforme, des DELs sont privilégiées. Les ports d'excitation sont désignés par le sigle LED sur la gravure supérieure. S'il y a plus d'un port d'excitation, ils sont désignés par LED1, LED2 et éventuellement LED3. Chaque port d'excitation contient un filtre choisi pour correspondre aux pics d'excitation de la protéine fluorescente que le BFMC est conçu pour mesurer.

2.1.3 Ports de caméra

Les ports de caméra sont désignés par le sigle CAM sur la gravure supérieure. S'il y a plus d'un port de caméra, ils sont désignés par CAM1 et CAM2. Chaque port de détection contient un filtre très large pour maximiser la détection de la fluorescence.

2.1.4 Ports d'opsine

Si nécessaire, des BFMC avec des ports d'excitation Optogénétique sont disponibles. Les ports d'opsine sont désignés par O sur la gravure supérieure et contiennent un filtre choisi pour correspondre au spectre d'excitation d'une opsine.

2.2 Sous-systèmes de photométrie par imagerie multifibres

2.2.1 Contrôleur de DELs

Les DELs sont connectées au contrôleur de DELs (Fig.2.2), qui fournit le courant d'excitation, via un câble M8 (Fig.2.2b). Le numéro de la DEL indiqué sur la gravure supérieure du BFMC doit être le même que le numéro de canal du contrôleur de DELs auquel il est connecté. Pour plus d'informations sur le contrôleur de DELs, voir le manuel d'utilisation correspondant.

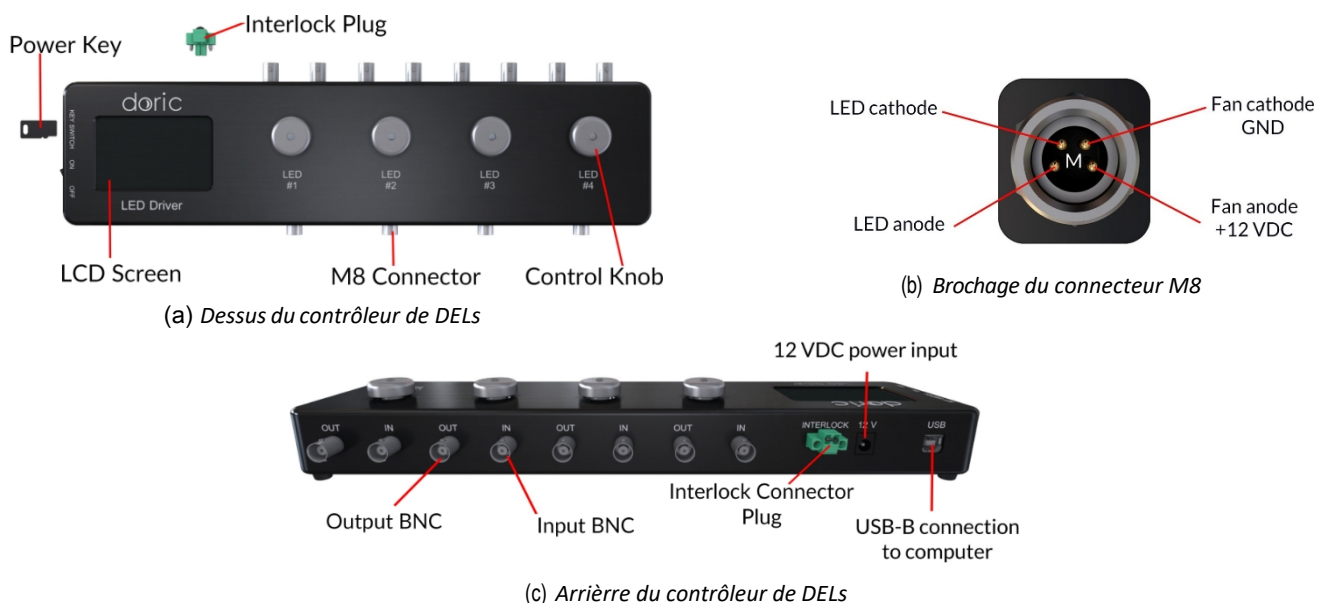


Figure 2.2 : Contrôleur de DELs

2.2.2 Source lumineuse de diode laser fibrée

La source lumineuse de Diode Laser Fibrée Doric est un système laser compact à sources multiples, disponible avec 1, 2 ou 4 canaux (Fig.2.3). Les sorties des diodes laser sont des réceptacles de fibres optiques FC/APC. L'excitation optogénétique est injectée dans le cube par l'intermédiaire d'un câble optique mono-fibre.

Pour plus d'informations sur la source lumineuse de Diode Laser Fibrée, voir le manuel d'utilisation du contrôleur correspondant.

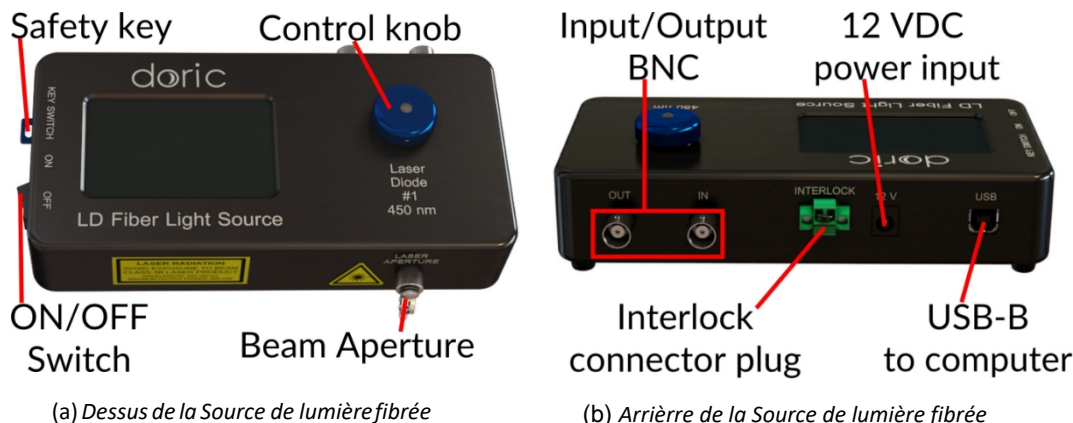


Figure 2.3 : Vues de la source lumineuse à diode laser à fibre

2.2.3 Contrôleur de photométrie par imagerie multifibres (BFPD)

Le Contrôleur de photométrie par imagerie multifibres coordonne le système BFMC avec Doric Neuroscience Studio (Fig.2.4). Le BFPD synchronise les contrôleurs de DELs et Laser ainsi que les caméras CMOS pour permettre des acquisitions entrelacées.

Les DELs doivent être connectées aux entrées EXC, les caméras doivent être connectées aux entrées CAM et les ports optogénétiques aux entrées DIO du BFPD. Les entrées et sorties numériques disponibles (DIO) peuvent également être utilisées pour synchroniser d'autres équipements.

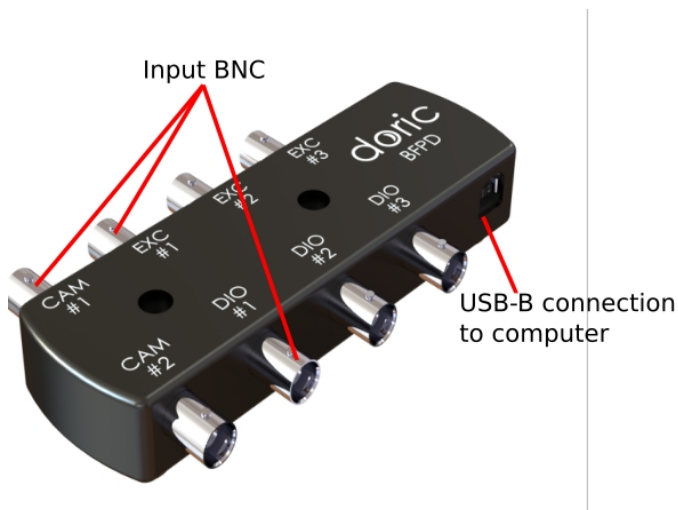


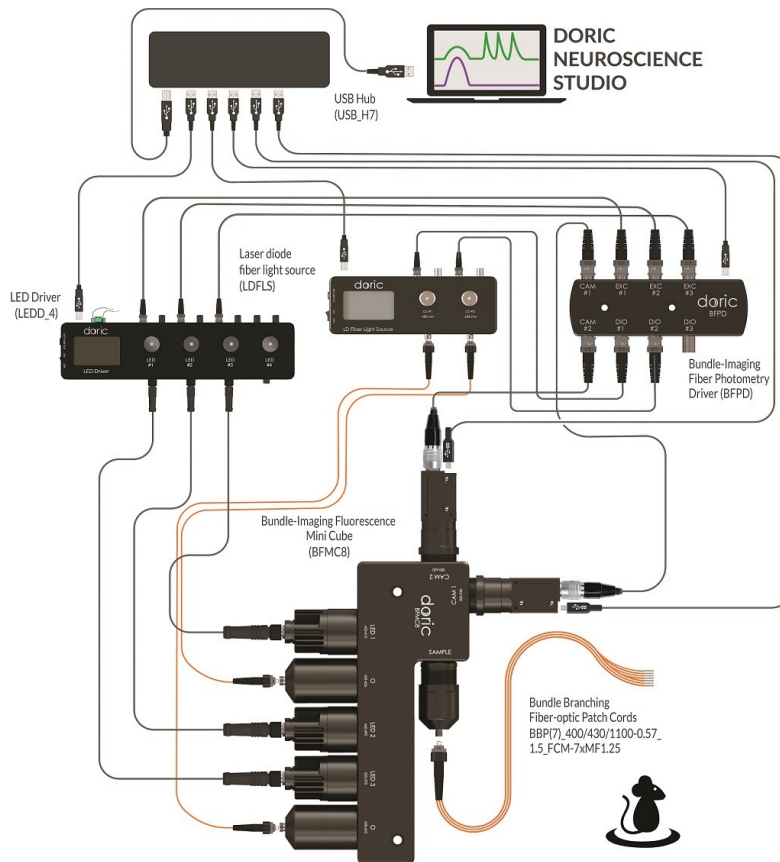
Figure 2.4 : Contrôleur BFPD

Démarrage : Directives générales d'installation

3.1 Connexion du système de photométrie par fibres à imagerie groupée

Tous les câbles, les répartiteurs d'alimentation ainsi que le concentrateur USB sont inclus dans le système de photométrie à fibres optiques Bundle-imaging. La figure 3.1 illustre les connexions entre tous les sous-systèmes.

Si le système Bundle-Imaging Fiber Photometry a été commandé avec un rack, les connexions sont déjà faites. Passez à l'étape 9.



GCaMP Isosbestic & Functional Excitations & Red Fluorophore with optogenetic activation Photometry System

Figure 3.1 : Système de photométrie par imagerie multifibres : Connexions entre les sous-systèmes.

1. **Connectez** un câble USB 3.0 entre les caméras et les ports 1 et potentiellement 2 du concentrateur USB, en fonction du nombre de ports du détecteur.
2. **Connectez** un câble USB 2.0 entre le contrôleur de DEL et le port 3 du concentrateur USB.
3. **Connectez** un câble USB 2.0 entre le BFPD et le port 4 du concentrateur USB.
4. Si le cube BFMC dispose de ports Opsine, **connectez** un câble USB 2.0 entre le contrôleur laser et le port 5 du concentrateur USB.
5. **Connectez** les DELs intégrées au numéro de canal correspondant du contrôleur de DEL à l'aide de câbles M8.
6. Si le cube BFMC est équipé de ports Opsin, **connectez** la fibre optique appropriée entre la sortie de la source laser et le port optogénétique. Le **connecteur FC/APC est identifié par une décharge de traction verte et doit être connecté à la source de lumière à diode laser**.
7. **Connectez** les entrées numériques du contrôleur de DELs et du contrôleur de Laser ainsi que la caméra au BFPD à l'aide d'un câble BNC. Pour faciliter la configuration de l'expérience dans Doric Neuroscience Studio, nous recommandons de connecter CAM1 à CAM1, LED1 à EXC1, Laser1 à DIO1 et ainsi de suite.
8. **Connectez** un câble USB 3.0 entre le concentrateur USB et le PC.
9. **Connectez** le contrôleur de DELs, le contrôleur de Laser et le concentrateur USB à l'alimentation 12 V AC/DC et 60W à l'aide des séparateurs d'alimentation.
10. **Ouvrez** Doric Neuroscience Studio. Pour mettre en place une expérience, reportez-vous au **manuel du logiciel**.

3.2 Câble à fibre optique

- **Nettoyez** le connecteur de fibre optique avant de l'insérer. Utilisez de l'isopropanol et une lingette non pelucheuse.
- Avec un connecteur FC (ports Opsin), la **clé du connecteur doit être orientée pour entrer dans la fente du réceptacle** pour assurer une connexion adéquate (Fig. 3.2).

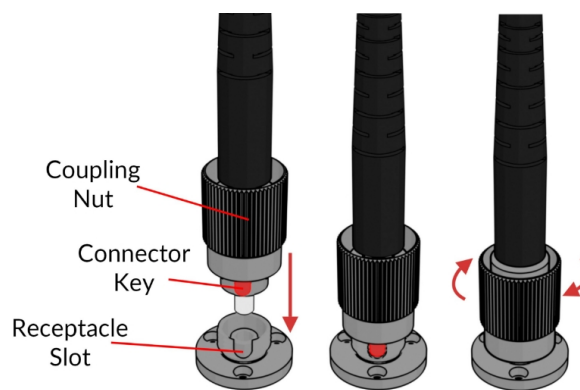


Figure 3.2 : Connecteur FC, Installation de la fibre

**Pour réduire le risque de blessures oculaires,
il est conseillé de NE PAS
CONNECTER/DECONNECTER LES FIBRES OPTIQUES
lorsque la source lumineuse est allumée**



3.2.1 Réglage de la mise au point

L'adaptateur de fibre BFMC permet de régler la mise au point de l'image du faisceau de fibres sur la caméra (Fig.3.3). Les cubes sont réglés en usine, mais un réglage manuel peut s'avérer nécessaire au fil du temps.

1. **Connectez** le faisceau de fibres optiques à l'adaptateur de fibres et démarrez une acquisition.
2. **Désérrez** le contre-écrou et **tournez** l'adaptateur de fibre jusqu'à ce que vous obteniez une image claire du faisceau de fibres. Il peut être nécessaire de tourner l'adaptateur de fibre plusieurs fois pour ajuster la mise au point. **Pour éviter de tordre le câble, déconnectez et reconnectez le câble de fibre optique pendant ce processus d'alignement.**

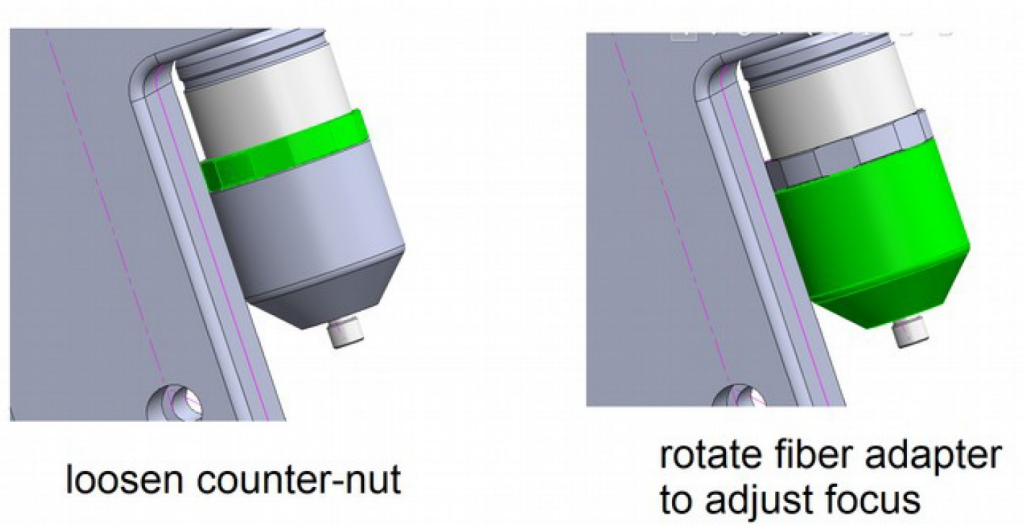


Figure 3.3 : Composants de l'adaptateur de fibre pour régler la mise au point

Caractéristiques

4.1 Caractéristiques générales

Tableau 4.1 : *Caractéristiques générales pour les BFMC, les DELs connectorisées et les caméras*

Caractéristique	Valeur	Unité
Mini-cube de fluorescence par imagerie multifibres		
Gamme de longueurs d'onde	350 à 1100	nm
Champ de vision	2.5	mm
Connecteur de fibre optique	SMA	-
DEL connectorisées		
Courant d'entrée	Min : 0 Max : 1000	mA
Connecteur de câble	M8-4 broches mâle	-
Sortie NA	0.55	-
Puissance de sortie maximale	Voir tableau 5.2	-
Caméras		
Capteur d'image CMOS	Sony IMX249LLJ	-
Taille du pixel	5.86 x 5.86	µm
L'efficacité quantique	82% à 520nm	-
Interface informatique	USB3.0	-
Connecteur E/S	Hirose HR10A-10P-125(73)	-
Consommation électrique (alimentée par USB)	200	mA

4.2 Caractéristiques optiques

Tableau 4.2 : Puissance de sortie typique des DEL connectées en fonction du diamètre du cœur de la fibre optique





DEL		PUISSANCE DE SORTIE TYPIQUE @1000 mA (mW) ¹		
	Longueur d'onde centrale (nm)	Largeur de bande FWHM (nm)	Coeur 200µm NA 0.37	Coeur 400 µm NA 0.57
	405	10	~0.100	~0.470
	415	10	~0.130	~0.500
	474	23	~0.180	~0.700
	563	9	~0.020	~0.090

Tableau 5.3 : Configuration typique des filtres du BFMC

Mini-cubes de fluorescence	Excitation (nm)	Fluorescence (nm)	Opsine (nm)
BFMC4			
GCaMP Isosbétique + fonctionnel	400-410 ² 460-490	500-550	
BFMC5/BFMC6³			
GCaMP Isosbétique + fonctionnel et RFP	400-410 ² 460-490 555-570	500-550 580-680	
GCaMP Isosbétique + fonctionnel et Opsine	400-410 ² 460-490	500-550	580-650
GFP + RFP et Opsine	460-490 555-570	500-550 580-680	628-642
BFMC7/BFMC8³			
Fluorescence à 3 Fluorophores et Opsine	400-410 ² 460-490 555-570	500-540 580-620	433-456 628-642

¹Toutes les valeurs de puissance sont prises au courant maximal de 1000 mA, à l'exception des DELs de 405 et 415 nm (500mA).

²L'excitation isosbétique de GCaMP peut être modifiées à 410-420 nm.

³Ces configurations sont proposées avec une ou deux caméras pour détecter les bandes de fluorescence.

Tableau 5.4 : Transmission du filtre et bande de blocage pour les filtres standards (en nanomètres)

Port	Bandes de blocage 1 $(T < 10)^{-5}$	Bande de transmission $(T > 0.9)$	Bandes de blocage 2 $(T < 10)^{-5}$
400-410	350-393	398-411	415-850
420-445	200-415	418-444	449-1000
460-490	291-451	463-498	497-710
460-500	279-459	463-498	507-962
500-540	268-493	499-539	549-935
500-550	298-496	500-549	559-953
528-556	268-521	526-555	566-938
540-570	274-536	540-567	570-885
555-570	303-552	556-569	572-784
580-650	269-568	576-549	670-1000
580-680	320-575	582-678	688-975

4.3 Caractéristiques mécaniques

Veuillez consulter le dessin du client de chaque BFMC pour obtenir des dimensions plus détaillées des produits. Ils peuvent être téléchargés sur la page du produit correspondant sur le site internet.

Tableau 5.5 : Taille globale

Modèle	Profondeur (mm)	Largeur (mm)
BFMC4, 1 caméra 2 ports	154.6	189.4
BFMC5, 1 caméra 3 ports	159.6	188.4
BFMC6, 2 Caméra 3 Port	238.6	246.6
BFMC7, 1 caméra 5 ports	159.6	293.0
BFMC8, 2 Caméra 5 Port	238.6	327.0

Soutien

5.1 Maintenance

Le produit ne nécessite pas d'entretien particulier. Contactez Doric Lenses pour obtenir les instructions de retour si l'unité ne fonctionne pas correctement et doit être réparée.

5.2 Garantie

Ce produit est garanti pour une période de 12 mois. Contactez Doric Lenses pour obtenir les instructions de retour. Cette garantie ne s'applique pas si l'appareil est endommagé ou doit être réparé à la suite d'une mauvaise utilisation ou d'un fonctionnement en dehors des conditions énoncées dans ce manuel. Pour plus d'informations, consultez notre [site Internet](#).

5.3 Contactez nous

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

Téléphone 1-418-877-5600

Courriel sales@doriclenses.com

The logo for Doric Lenses, featuring the word "doric" in a lowercase, sans-serif font. The letter "o" is stylized with a horizontal line through its center, resembling a lens or a reflection.

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