

doric

Implantation de canule d'imagerie & Installation du microscope pour SFMB

Note d'application

Version 1.4.2

Contents

1	Spécifications du modèle de microscope	3
1.1	Modèle-S	4
1.2	Modèle-L	5
2	Implantation de la canule d'imagerie	8
2.1	Retrait et installation de la canule	8
2.2	Installation du support de microscope à fluorescence	11
2.3	Préparation chirurgicale animale	12
2.4	Installation de la bague de réglage pour protrusion	13
2.5	Installation de la canule	13
2.6	Fixation de la canule sur le crâne	16
2.7	Serrage et desserrage d'animaux	16
2.8	Guérison des tissus et entraînement de l'animal (3 semaines ou plus)	18
3	Séances d'imagerie	19
4	Manipulation & Nettoyage	21
4.1	Informations importantes sur la manipulation	21
4.2	Nettoyage des optiques	21
4.3	Réutilisation des canules d'imagerie	21
5	Soutien	22
5.1	Contactez-nous	22

Spécifications du modèle de microscope

La profondeur de la région d'intérêt détermine le choix du modèle du microscope et de la canule d'imagerie. Pour les régions du cerveau jusqu'à 8,4 mm de profondeur, la *canule Modèle-L* est implantée dans le cerveau, tandis que le *Microscope Modèle-L* permet l'imagerie du tissu cérébral à ces endroits. Le *Microscope Modèle-S* est préféré pour l'observation de surface, car il est optimisé pour un champ de vision entre 0 et 150 μm sous la surface du cerveau (Fig. 1.1).



Figure 1.1: *Microscope à fluorescence miniature 1 couleur Modèle-S (à gauche) et Modèle-L (à droite)*

1.1 Modèle-S

Pour un Modèle-S, le champ de vision obtenu est de $700\ \mu\text{m} \times 700\ \mu\text{m}$ (Fig. 1.2) et la profondeur de champ (plage de mise au point) est $50\ \mu\text{m}$ ($\pm 25\ \mu\text{m}$) (Fig. 1.3). La distance de travail de $1,1\ \text{mm}$ est définie comme la distance entre le bas de la partie métallique de la canule et le plan focal. Cela permet une profondeur de pénétration de $0-150\ \mu\text{m}$. Pour la canule Modèle-S, une seule bague de réglage de protrusion (hauteur de $4,5\ \text{mm}$) est nécessaire pour observer la plaque complète.

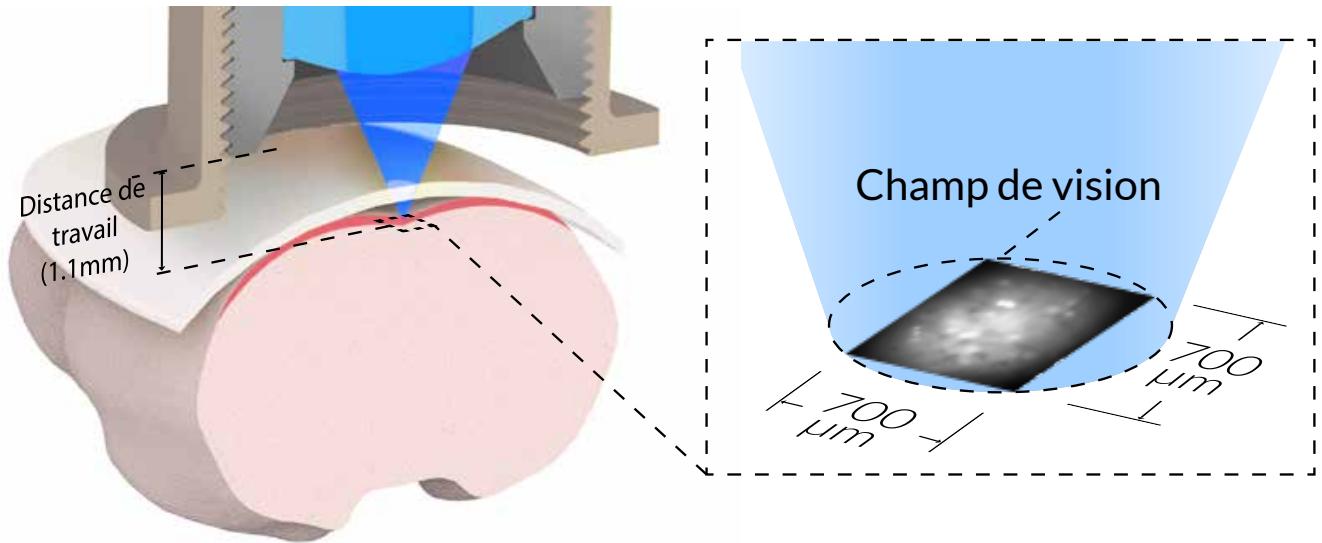


Figure 1.2: Champ de vision obtenu par la canule d'imagerie Modèle-S

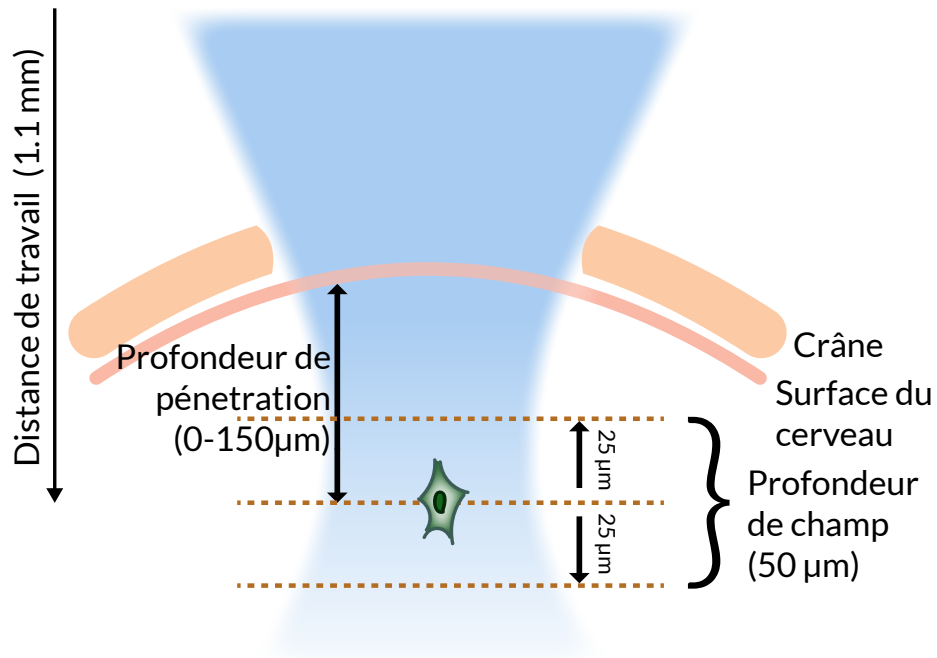


Figure 1.3: Profondeur de la canule d'imagerie Modèle-S

1.2 Modèle-L

Pour les régions cérébrales plus profondes, une lentille à tige à gradient d'indice (GRIN) est nécessaire pour guider l'image de l'intérieur du cerveau vers l'objectif du corps du microscope. Selon la profondeur de la région d'intérêt, trois types de canules d'imagerie sont disponibles (D, V ou E) avec différentes longueurs de lentilles. Le tableau 1.1 présente la gamme des profondeurs de pénétration obtenues avec chaque type de canule. La profondeur de pénétration pour ce modèle est mesurée à partir de la surface du crâne ou du bas de la bague de protrusion et ce, jusqu'à la région d'intérêt.

Table 1.1: Gamme de profondeur de pénétration

Type de canule	Gamme de profondeur de pénétration d (mm) ¹
D	0 - 3.4
V	3.0 - 6.0
E	5.4 - 8.4

La distance de travail de nos canules d'imagerie à fermoir standard Modèle-L est de 80 μm et représente la distance entre l'extrémité de la lentille relais au plan focal (des appareils avec différentes distances de travail sont proposés sur demande). Cela signifie que le microscope n'image pas immédiatement sous l'objectif, et cette distance de travail doit être prise en compte lors du calcul de la profondeur requise. La profondeur de champ ou plage de mise au point est de 50 μm (Fig. 1.5). Le champ de vision du microscope modèle-L est de 350 μm X 350 μm (Fig. 1.6). Pour s'assurer que la canule est bien fixée sur le crâne, la canule d'imagerie doit être associée à une bague de réglage de protrusion. Pour sélectionner la bonne bague de réglage, suivez les étapes suivantes (Fig. 1.4).

1. Mesurez la longueur de protrusion (L) de la lentille depuis le bas de la partie métallique de la canule jusqu'à l'extrémité de la lentille.
2. Déterminez à quelle profondeur dans le cerveau vous souhaitez positionner l'extrémité de la lentille. Ajoutez à cette mesure l'épaisseur du crâne et la distance de travail de la lentille de la tige (généralement 80 μm). Pour assurer que la bague de réglage pour protrusion ne sera pas trop basse, il est recommandé d'ajouter 100 μm supplémentaire à cette mesure. Vous obtiendrez la distance (d) représentée par la distance entre la pointe de la lentille et le bas de la bague de réglage pour protrusion.
3. La protrusion de la bague de réglage (p) est donné par : $p = L - d$ et correspond à un ensemble de bagues spécifique (Table 1.2). Chaque ensemble de bagues est identifié par sa hauteur (h).
4. Placez la bague sélectionnée sur la canule et ajustez la position de la bague avec un microscope binoculaire pour obtenir la distance requise (d).

Table 1.2: Sélection de la bague de réglage pour protrusion de Modèle-L

Bague #	Hauteur (h) de la bague (en mm)	Protrusion (p) de la bague (en mm)
1	2.0	0 - 1.5
2	2.7	0.7 - 2.2
3	3.4	1.4 - 3.0
4	4.2	2.2 - 3.7
5	4.9	2.9 - 4.4

¹Comprend une distance de travail de 80 μm

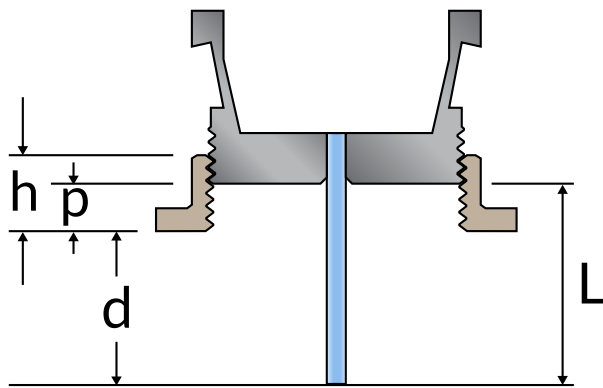


Figure 1.4: Sélection de la bague de réglage pour protrusion

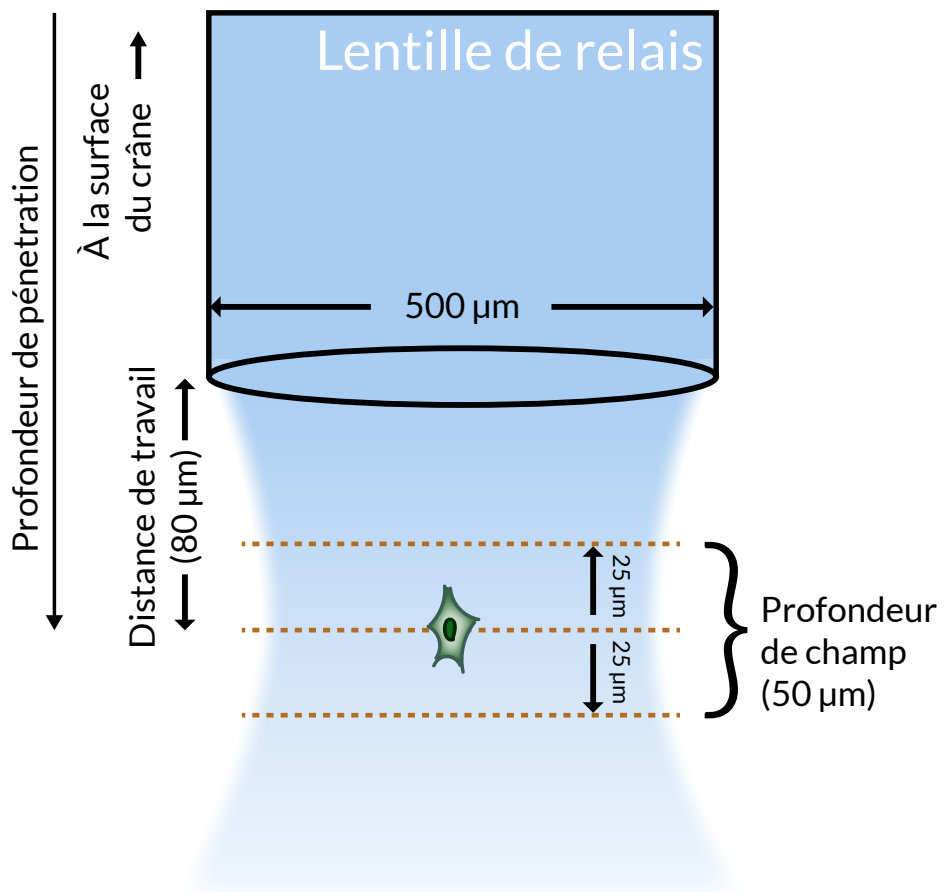


Figure 1.5: Plage de profondeur de la canule d'imagerie Modèle-L

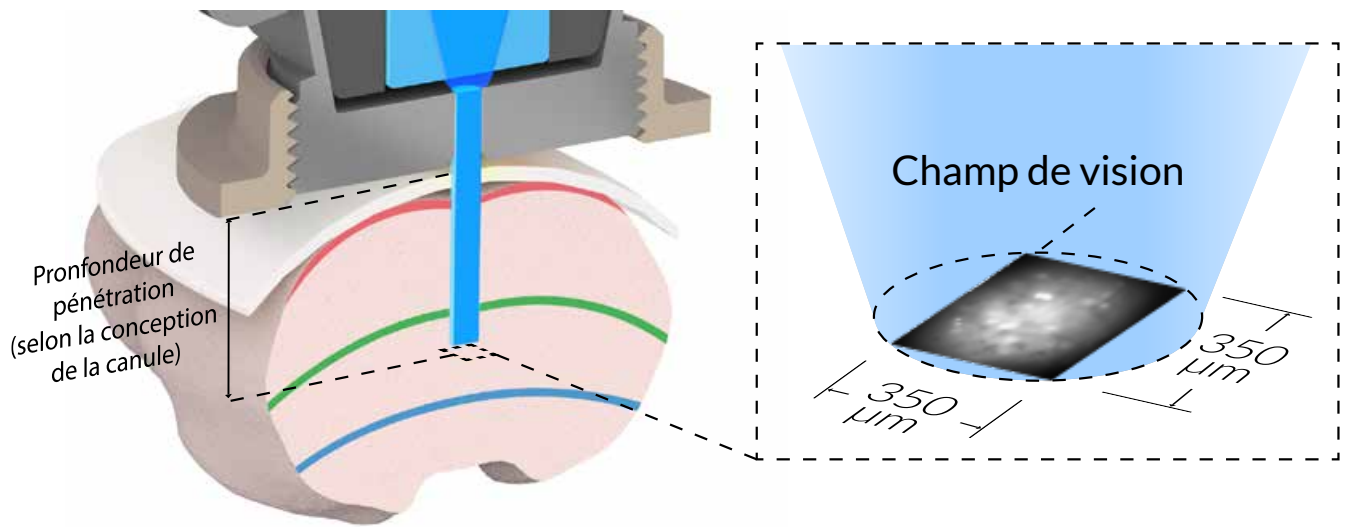
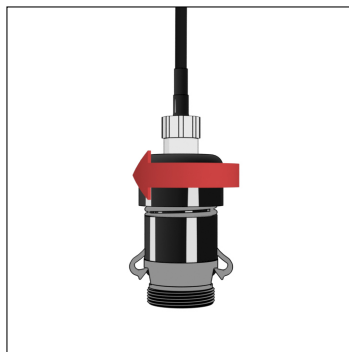


Figure 1.6: Champ de vision obtenu par la canule d'imagerie Modèle-L

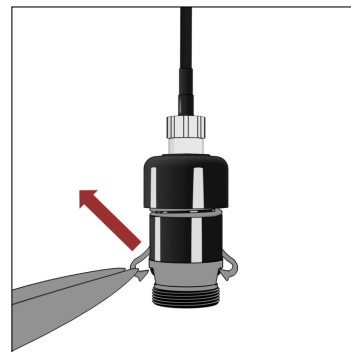
Implantation de la canule d'imagerie

La section suivante décrit l'utilisation et l'implantation du *Microscope à fluorescence miniaturisé monochrome*. Cette section est également détaillée dans notre [vidéo d'instruction](#).

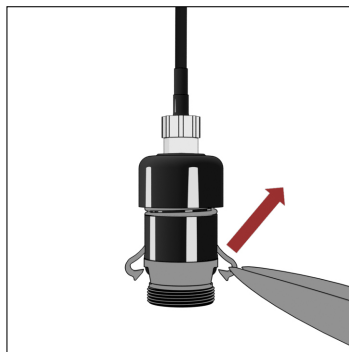
2.1 Retrait et installation de la canule



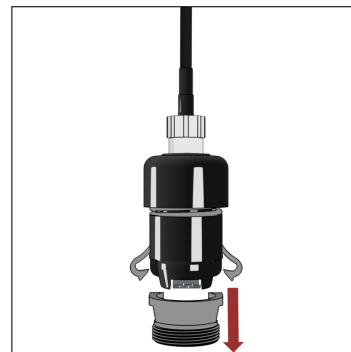
(a) Tournez le barillet dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à sentir une résistance, puis ajouter 1/4 de tour



(b) Pivotez la pointe de l'outil d'accrochage à l'intérieur de la pince gauche



(c) Pivotez la pointe de l'outil d'accrochage à l'intérieur de la pince droite

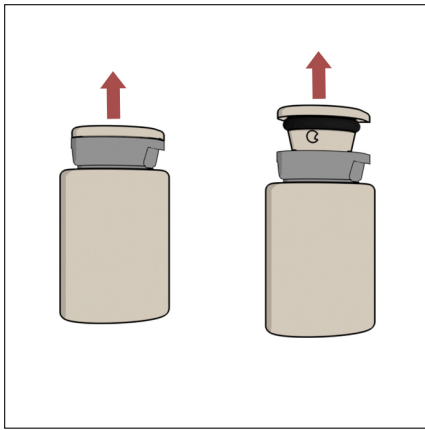


(d) Retirez la canule de protection

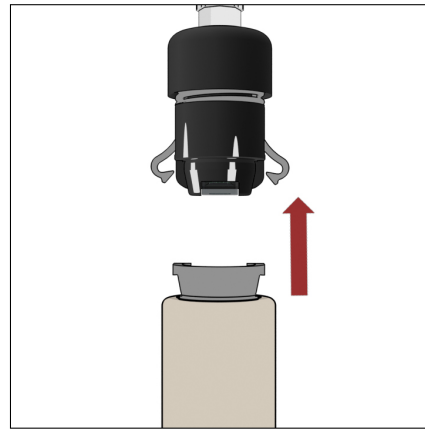
Figure 2.1: Dételer la canule de protection du corps du microscope

Le corps du microscope est livré avec une canule de protection qui doit être retirée pour la première utilisation et réinstallée après chaque séance d'imagerie pour protéger le microscope. Pour retirer la canule de protection et sécuriser la canule d'imagerie sur le corps du microscope, suivez la procédure décrite dans cette section. Manipuler le microscope et la canule avec soin. La lentille relais et l'objectif sont fragiles et toute tache ou rayure peut affecter la qualité de l'image. **Ne touchez pas la surface des lentilles.**

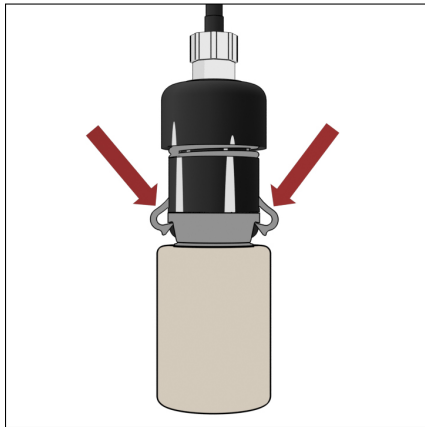
1. Retirez la **canule de protection** du *corps de microscope* (Fig. 2.1). Toute autre canule de microscope peut être retirée de la même manière. Si la canule est installée sur un sujet expérimental, suivez les instructions de la section 2.6.
 - a) Utilisez le barillet du microscope pour modifier la tension de serrage du mécanisme de verrouillage. Si le barillet est desserré, tournez ce-dernier dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à ce que vous sentiez une résistance, puis ajoutez 1/4 de tour (Fig. 2.1a). **Ne vissez plus jamais le barillet moins d'un demi-tour après le point de résistance.** Dans le sens inverse, si vous sentez déjà une résistance en tournant le barillet dans le sens des aiguilles d'une montre, cela signifie que le barillet est trop serré. Dans ce cas, vous devez tourner le barillet dans le sens inverse des aiguilles d'une montre pour trouver le point auquel il commence à se desserrer, puis tourner dans le sens des aiguilles d'une montre d'un quart de tour.
 - b) Retirez la **pince gauche du microscope** de la **rainure pour la pince** (Fig. 2.1b) en tournant *l'outil fermail* à l'intérieur de l'espace.
 - c) Retirez la **pince droite du microscope** de la **rainure pour la pince** (Fig. 2.1c) en tournant *l'outil fermail* à l'intérieur de l'espace.
 - d) Retirez la **canule de protection** (Fig. 2.1d).
2. Fixez la canule d'imagerie sur le *corps de microscope* (Fig. 2.2). Toute autre canule de microscope peut être installée de la même manière. Cette méthode est valable lors de l'installation du microscope sur un sujet expérimental.
 - a) Assurez-vous que le barillet est placé 1/4 de tour dans le sens des aiguilles d'une montre après le point de résistance, comme ce serait le cas à la fin de l'étape 1. Cela garantit que les pinces sont desserrées.
 - b) Retirez le **capuchon de protection d'entrée** de la *canule d'imagerie* (Fig. 2.2a).
 - c) Insérez la canule d'imagerie sur le *corps du microscope* (Fig. 2.2b).
 - d) Fixez les pinces en place (Fig. 2.2c) en appliquant une pression avec vos doigts.
 - e) Dévissez le barillet dans le sens inverse des aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'il se desserre (Fig. 2.2d). Cela garantit que les pinces tiennent fermement la canule. Il est très important de **ne jamais dévisser complètement le barillet.**



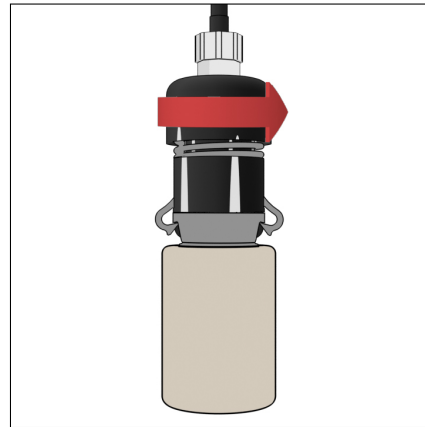
(a) Retirez le capuchon de protection de la canule d'imagerie



(b) Insérez la canule d'imagerie sur le corps du microscope



(c) Fixez les pinces en place



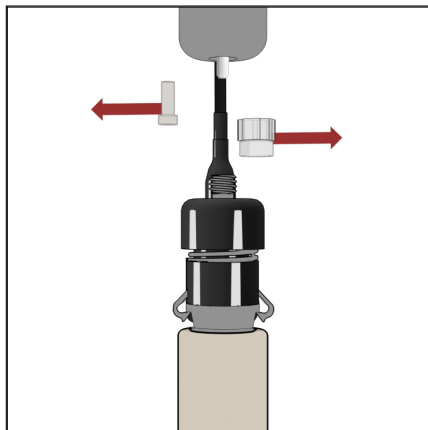
(d) Dévissez le barillet dans le sens antihoraire jusqu'à ce qu'il se desserre

Figure 2.2: Fixation de la canule d'imagerie sur le corps du microscope

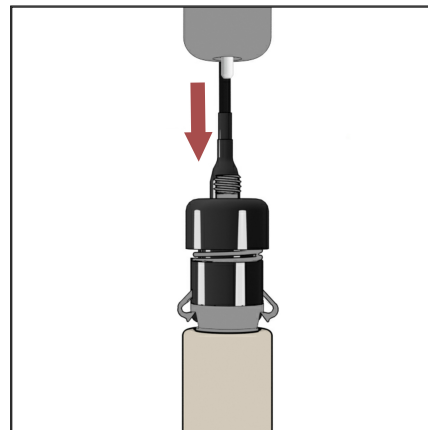
2.2 Installation du support de microscope à fluorescence

Pour l'implantation de la canule, le microscope peut être fixé sur le *Support de microscope à fluorescence (FMH)*. Le support permet l'imagerie lors de l'implantation de la lentille relais dans le cerveau. Les expériences ne nécessitant pas un animal libre de mouvement peuvent être réalisées avec cette configuration à tête fixe.

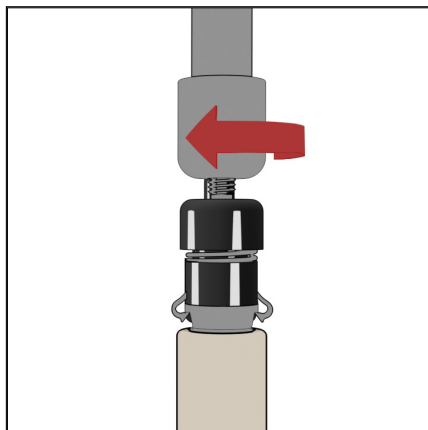
1. Retirez le **Capuchons de connecteur** du **Connecteur Optique M3** du microscope et la protection de fêrulle du *Support de microscope à fluorescence* (Fig. 2.3a).
2. Nettoyez doucement l'extrémité de la fêrulle à l'aide d'un coton-tige et d'alcool isopropylique.
3. Insérez la fêrulle dans le **Connecteur Optique M3** (Fig. 2.3b). Fixez-le en place en vissant l'extrémité du *Support de microscope à fluorescence* (Fig. 2.3c).
4. Installez le *Support de microscope à fluorescence* dans le cadre stéréotaxique.
5. Lorsque vous êtes prêt à insérer, retirez le **Capuchon de protection de sortie** de la canule en la dévissant (Fig. 2.3d). Lors de l'utilisation d'une canule de type L, veillez à la retirer dans l'axe de la canule afin de ne pas toucher ou casser la lentille à tige à gradient d'indice.
6. Avant l'implantation, retirez le capuchon de protection et démarrez le système d'acquisition pour vérifier la qualité de l'image obtenue par la lentille. Faites attention de **ne pas toucher la surface de la lentille**. Lorsque l'image obtenue présente des taches, il peut y avoir de la poussière sur l'objectif. Utilisez un coton-tige pour nettoyer la pointe de la lentille avec de l'acétone ou de l'alcool isopropylique. **Ne plongez jamais la lentille dans de l'acétone**. Fermez le système d'acquisition après le test.



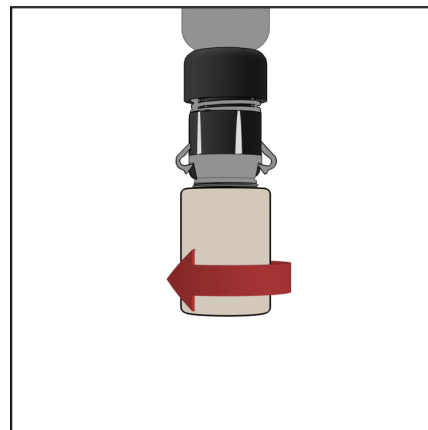
(a) Retirez les capuchons de protection du microscope et du FMH



(b) Insérez la fêrulle du FMH dans le connecteur M3 du microscope



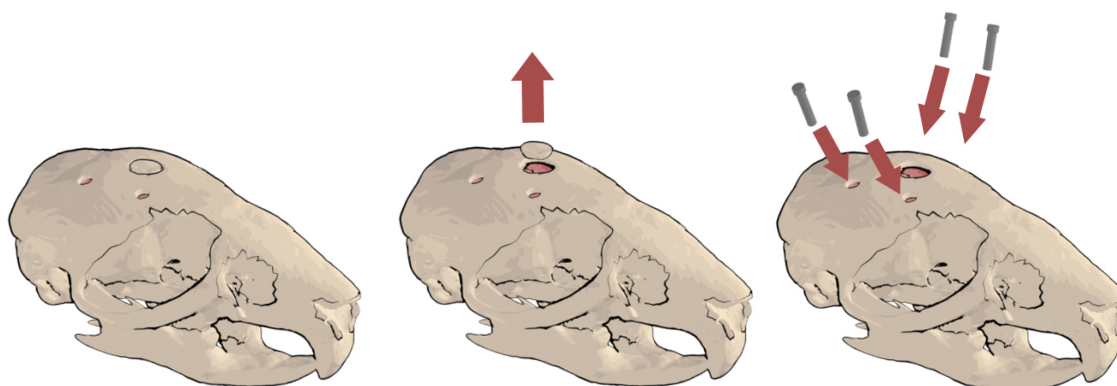
(c) Vissez l'extrémité du FMH sur le connecteur M3 du microscope



(d) Dévissez et retirez le capuchon de sortie de la canule

Figure 2.3: Installation du support de microscope à fluorescence (FMH)

2.3 Préparation chirurgicale animale



(a) Créez des trous pour les vis du crâne (b) Effectuez la craniotomie aux coordonnées stéréotaxiques (c) Fixez les vis crâniennes dans leur trous

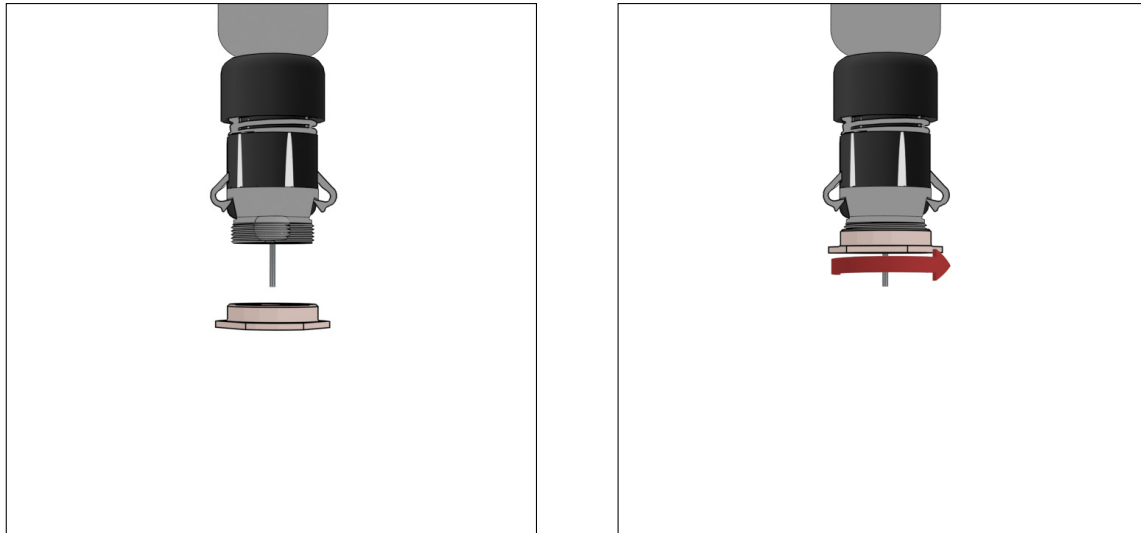
Figure 2.4: Préparation chirurgicale

Avant l'implantation, le sujet animal doit être préparé. Cela comprend le placement de **Vis crâniennes** pour fixer la canule, et une craniotomie pour permettre l'observation du cerveau.

1. Déterminez les coordonnées stéréotaxiques pour l'implantation de la canule..
2. Percez des trous pour permettre le placement des vis crâniennes (Fig. 2.4a)¹. Cela nécessite une distance d'au moins 5 mm du centre de la craniotomie pour permettre la rotation de la *bague de réglage pour protrusion*.
3. Réalisez la craniotomie (Fig. 2.4b). Lors de l'utilisation d'une canule de type L, le trou doit avoir un diamètre supérieur au diamètre de la lentille de la tige, 500 μm . Lors de l'utilisation d'une canule de type S, le trou doit avoir un diamètre d'au moins 2 mm.
4. Placer 4 vis de support dans les trous préparés autour du site de craniotomie (Fig. 2.4c).

¹Vis non fournies avec le microscope ou les canules.

2.4 Installation de la bague de réglage pour protrusion



(a) Placez les gouttes de colle dans le filetage de la canule.

(b) Vissez la bague de réglage pour protrusion sur la canule.

Figure 2.5: Installation de la bague de réglage pour protrusion

Pour préparer l'implantation, la *bague de réglage pour protrusion* doit d'abord être installée. La bague est utilisée pour stabiliser le système sur le crâne lorsque la canule implantée est à la profondeur appropriée. Sa position est déterminée par la profondeur de la structure d'intérêt par rapport au sommet du crâne (voir section 1.2).

1. Placez quelques gouttes d'une colle à séchage lent (par exemple, un adhésif époxy) pour fixer la bague au filetage métallique de la canule d'imagerie².
 - **Veillez à ne pas appliquer de colle sur le corps du microscope ou la lentille d'imagerie.**
 - Le séchage lent permettra de petits ajustements lors de l'implantation.
 - Chaque rotation complète de la bague de réglage pour protrusion représente une distance verticale de 300 μm .
2. Fixez la bague de réglage de protrusion appropriée à la canule à sa position approximative. Pour les canules de type L, placez la *bague de réglage pour protrusion* dans un mouvement lent et vertical pour éviter tout contact avec la lentille à tige à gradient d'indice.

Une fois la *bague de réglage pour protrusion* est en place, le microscope peut être placé au-dessus de l'animal.

2.5 Installation de la canule

2.5.1 Installation de la canule modèle-S

Lors de l'utilisation d'une canule modèle-S, aucune pénétration n'est nécessaire car la lentille ne pénètre pas dans le cerveau. La région doit cependant être préparée à l'observation. Les sections suivantes présentent quelques protocoles recommandés pour l'imagerie de surface.

1. Préparez l'animal pour l'observation. Il existe plusieurs méthodes possibles pour obtenir une qualité d'image optimale. Il convient de noter que la *Canule d'imagerie* modèle-S laisse une petite poche d'air entre le cerveau et l'objectif. La dure-mère exposée à l'air devient opaque (blanche) avec le temps, tandis que la matière cérébrale peut être endommagée par l'exposition à l'air.
 - L'utilisation d'une **fenêtre crânienne** est commune. Ces fenêtres en verre minces de petit diamètre sont placées au-dessus de l'ouverture de craniotomie, réduisant l'exposition à l'air du cerveau. L'espace entre la fenêtre et le cerveau peut également être rempli d'un milieu transparent biocompatible, tel que l'agarose.

²Colle non fournie avec le microscope ou la canule.

- La **Technique de fenêtre d'aminçissement crânienne** implique un aminçissement progressif du crâne de l'animal. Cet aminçissement permet à la lumière d'être transmise à travers le crâne, permettant ainsi l'imagerie sans pénétrer le crâne lui-même.
- La **Méthode du prisme latéral** (Fig. 2.6) peut être utilisée conjointement avec une **fenêtre crânienne**. Un microprisme est inséré dans les couches superficielles du cerveau, ce qui permet la visualisation de région perpendiculaire au plan focal normal.

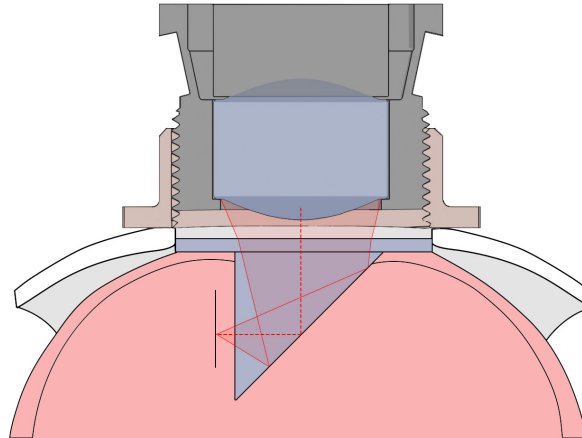


Figure 2.6: Méthode du prisme latéral

2. Connectez le *Support de microscope à fluorescence* au système d'illumination.
3. Abaissez le microscope au-dessus de la craniotomie.
 - Le *Support de microscope à fluorescence* permet l'éclairage lors de l'implantation.
 - Si la canule est installée lorsqu'une expression virale suffisante a été atteinte, un signal de fluorescence diffuse confirmera le positionnement du plan focal dans la zone ciblée (par exemple le site d'injection).
 - Si la canule est installée immédiatement après l'injection virale, le signal de fluorescence ne peut pas être utilisé pour confirmer le positionnement du plan focal dans le site ciblé.
4. Lorsqu'il y a un écart important entre la *bague de réglage pour protrusion* et le crâne, la position peut être ajustée.
 - Vérifiez que le *Support de microscope à fluorescence* est sécurisé et que le microscope ne bougera pas en cas de contact.
 - Dévissez lentement la *bague de réglage pour protrusion* pour la rapprocher du crâne.

2.5.2 Installation de la canule modèle-L

Définition de la référence de profondeur

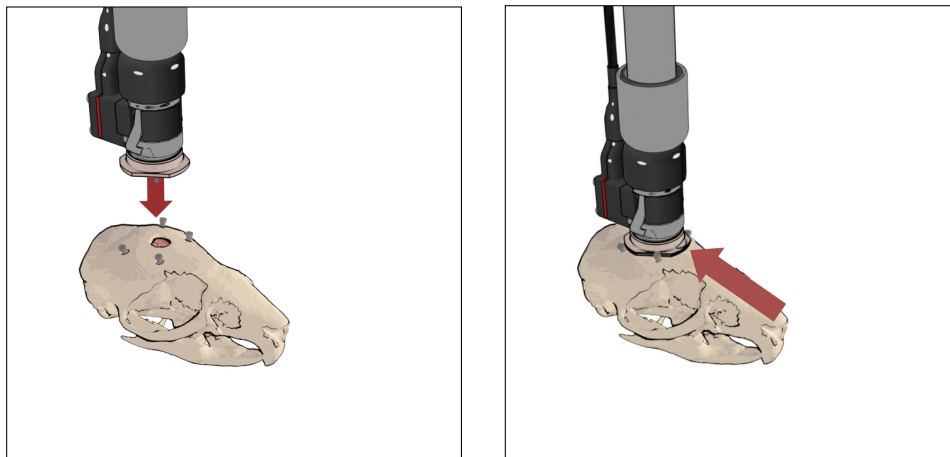
Lors de l'utilisation d'une canule modèle-L, une référence de profondeur doit être prise sur la dure-mère avec la pointe de la lentille à tige à gradient d'indice.

1. Placez le microscope au-dessus de l'animal préparé. Abaissez le système dans le trou de la craniotomie, de sorte que la pointe de la lentille de la tige touche mais ne pénètre pas la dure-mère.
 - Compte tenu de la taille de la canule, cette pointe peut être difficile à voir. Un miroir ou une caméra peut être utile pour voir exactement quand l'extrémité de la lentille touche le cerveau.
2. Lorsque le point de référence est trouvé, notez-le et relevez le microscope.
3. Retirez délicatement la dure-mère du point de référence. Une dure-mère propre sans aucun saignement permettra une qualité d'image optimale tout en abaissant la lentille à tige à gradient d'indice.

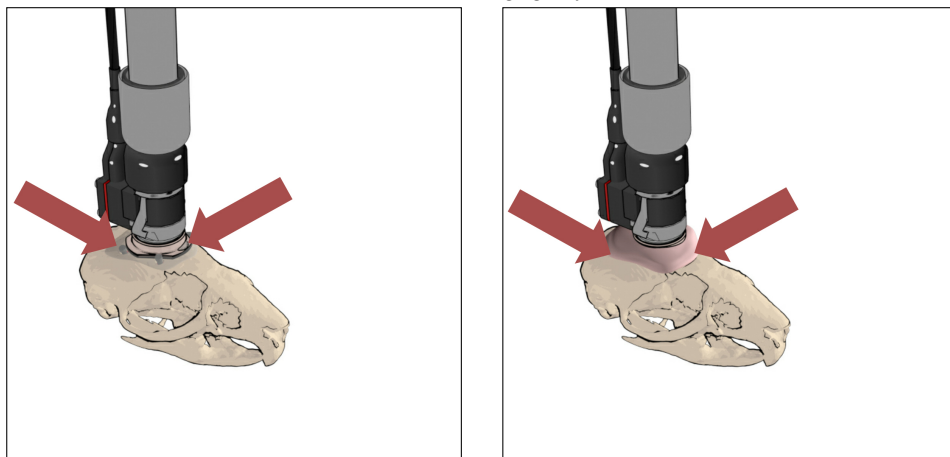
Implantation de la canule modèle-L

Du début à la fin de l'implantation, manipuler la canule d'imagerie avec précaution. La lentille relais est très fragile et toute tache ou rayure peut affecter la qualité de l'image.

1. Connecter le *Support de microscope à fluorescence* au système d'illumination.
2. Abaissez lentement la lentille (environ $1 \mu\text{m/s}$) pour permettre une bonne pénétration des tissus (Fig. 2.7a).
 - Le *Support de microscope à fluorescence* permet une illumination lors de la pénétration de la lentille.
 - Si la canule est installée lorsqu'une expression virale suffisante a été atteinte, un signal de fluorescence diffuse confirmera le positionnement du plan focal dans la zone ciblée (par exemple le site d'injection).
 - Si la canule est installée immédiatement après l'injection virale, le signal de fluorescence ne peut pas être utilisé pour confirmer le positionnement du plan focal dans le site ciblé.
3. Si la canule d'imagerie n'est pas dans la zone fluorescente, il est possible de refaire une descente pour repositionner la lentille.
4. S'il existe un écart important entre la *bague de réglage pour protrusion* et le crâne (Fig. 2.7b):
 - Vérifiez que le *Support de microscope à fluorescence* est sécurisé et que le microscope ne bouge pas en cas de contact.
 - Dévissez lentement la bague de réglage de la protrusion pour la rapprocher du crâne. Arrêtez de dévisser si la **lentille** commence à bouger à l'intérieur du cerveau.



(a) Positionnez le microscope sur le crâne, abaissez lentement la lentille. (b) Évaluez la distance entre le crâne et la bague de réglage, ajustez si nécessaire.



(c) Utilisez de la colle à séchage rapide pour fixer la bague de réglage sur le crâne. (d) Utilisez du ciment dentaire pour fixer la bague de réglage sur le crâne.

Figure 2.7: Procédure d'implantation des canules d'imagerie

2.6 Fixation de la canule sur le crâne

Une fois qu'une canule est en place, il est nécessaire de la fixer ainsi que la bague de réglage sur le crâne. Cette partie de la procédure est identique pour les microscopes modèle-L et modèle-S.

1. Mettre de la colle à séchage rapide entre la *bague de réglage* et le crâne (Fig. 2.7c)³. Si l'anneau est proche de l'os, l'action capillaire d'une colle liquide à forte adhérence assurera le passage de la colle sous l'anneau. Sinon, une colle gel doit être utilisée pour combler le vide.
2. Pour améliorer le maintien des vis dans les trous, il est recommandé de mettre de la colle sur celles-ci.
3. Lorsque la colle à la surface du crâne est complètement sèche, fixez le microscope au crâne en appliquant du ciment dentaire sur la *bague de réglage* et sur les vis (Fig. 2.7d)⁴.
 - Si la bague de réglage ne touche pas le crâne, il est important de mettre du ciment sur la colle entre la bague et les os pour stabiliser le système.
 - Les **Pinces du microscopes** doivent rester exempt de ciment pour pouvoir séparer le microscope et la canule.
 - Les tissus, les muscles, la peau ou la fourrure ne doivent pas entrer en contact avec le ciment dentaire pour améliorer l'adhérence du microscope sur le crâne.
4. Une fois le ciment dentaire complètement sec, le microscope peut être retiré.
5. Assurez-vous que le **Barillet de microscope** est légèrement lâche. Cela garantit que les pinces sont serrées et se détacheront de la canule en un seul mouvement.
6. Déclipser les pinces de la canule à l'aide de l'outil fermail (Fig. 2.8a).
7. Retirez le microscope de la canule d'imagerie (Fig. 2.8b).
8. Placez le **Capuchon de protection** sur la canule implantée pour protéger la lentille (Fig. 2.8c).
9. Placez la canule de protection sur le microscope pour le protéger (Fig. 2.8d).
 - Si les séances d'imagerie se font dans une configuration tête fixe, le *corps du microscope* peut être laissé attaché au *Support de microscope à fluorescence* jusqu'à la première séance d'imagerie.
 - Pour les expériences avec un animal libre de mouvement, dévisser le *Support de microscope à fluorescence* et mettre son capuchon de protection (M3) pour protéger le chemin optique du *corps de microscope*.

2.7 Serrage et desserrage d'animaux

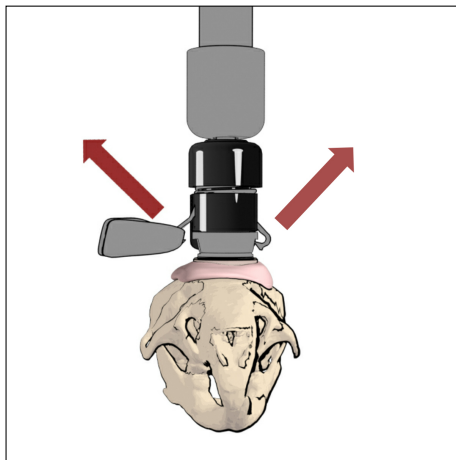
En raison de la sensibilité des animaux, une attention supplémentaire doit être accordée à la procédure appropriée pour minimiser la pression sur le sujet lors du placement et du retrait du microscope.

2.7.1 Placement du microscope

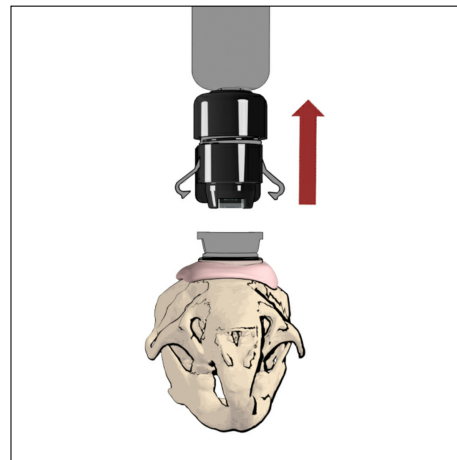
1. Après avoir retiré la canule de protection, placez le barillet au point de résistance. Ajoutez 1/4 de tour dans le sens des aiguilles d'une montre. Cela réduit la tension sur les **Pinces du microscopes**, les laissant plus lâche.
2. Placez le microscope sur la canule implantée.
3. Poussez doucement les **Pinces du microscopes** sous les **Rainure de la canule**.
4. Dévissez délicatement le barillet jusqu'au point de résistance. Cela resserrera les **Pinces du microscopes** sans nécessiter de force pour pousser les **Pinces du microscopes** dans la **Rainure de la canule**.

³Colle non fournie avec le microscope.

⁴Ciment dentaire non fourni avec microscope.



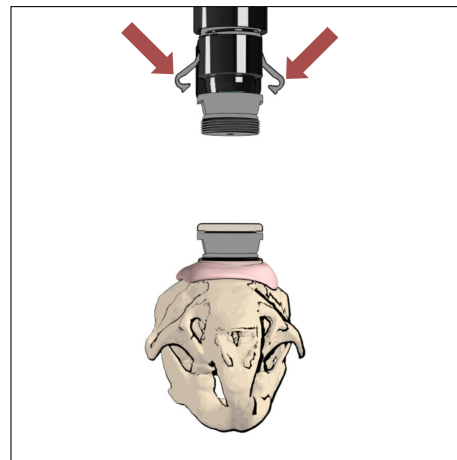
(a) Retirez les pinces à l'aide de l'outil



(b) Retirez le corps du microscope.



(c) Placer le capuchon protecteur sur la canule d'imagerie.



(d) Placer la canule protectrice sur le microscope.

Figure 2.8: Retrait du microscope

2.7.2 Retrait du microscope

1. Assurez-vous que le barillet soit légèrement desserré. Cela garantit que les pinces sont bien serrées et se détacheront de la canule en un seul mouvement.
2. Déclipsez les **Pinces du microscopes** en utilisant l'*outil fermail* (Fig. 2.8a).
3. Retirez le microscope de la canule d'imagerie (Fig. 2.8b).
4. Placez le **Capuchon de Protection** sur la canule implantée pour protéger la lentille (Fig. 2.8c).
5. Placez la canule de protection sur le microscope (Fig. 2.8d).

2.8 Guérison des tissus et entraînement de l'animal (3 semaines ou plus)

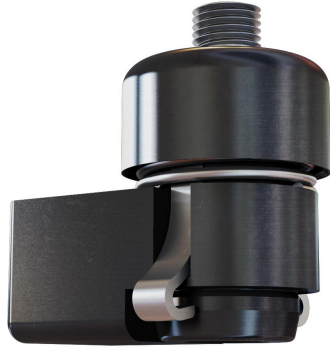


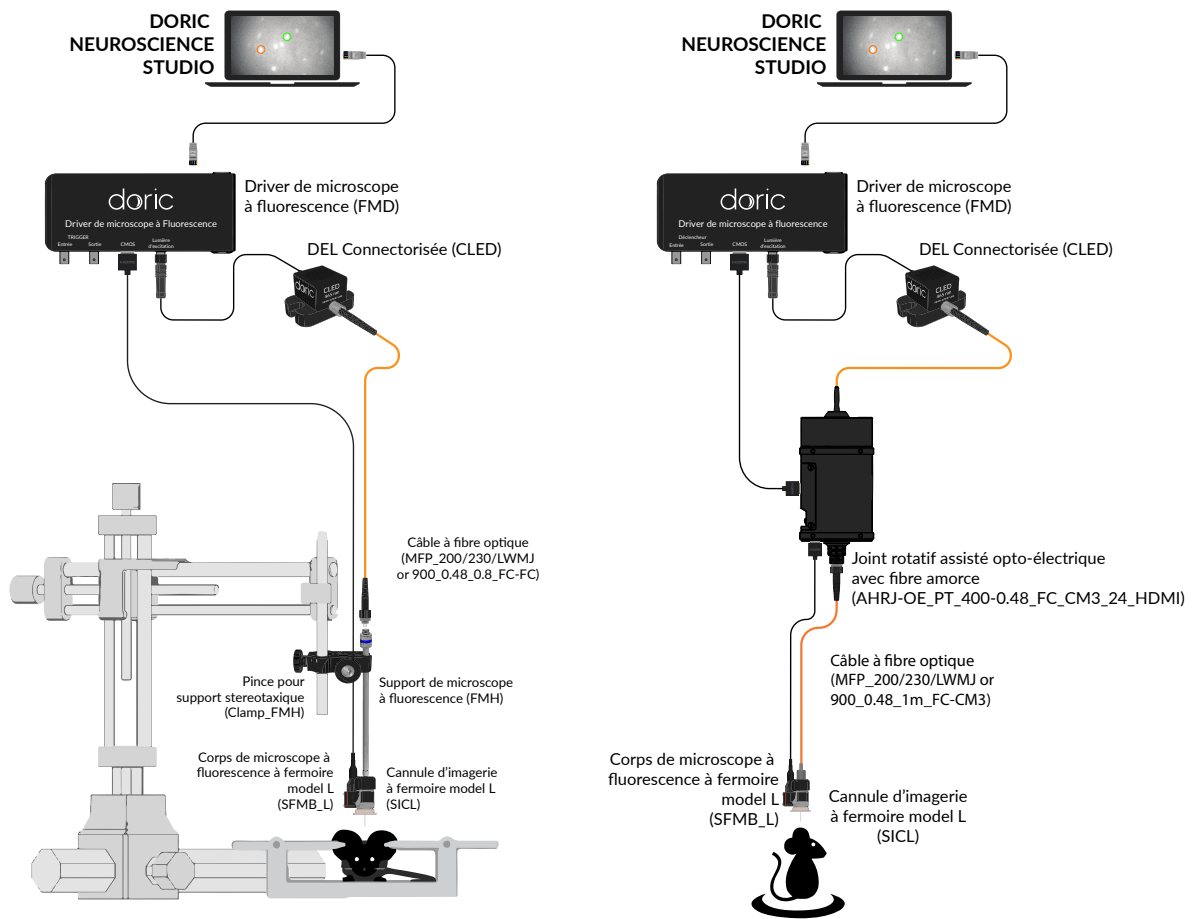
Figure 2.9: *Microscope factice*

Habituellement, le système peut distinguer les cellules 2 ou 3 semaines après l'implantation de la canule. Néanmoins, une meilleure qualité de l'image est obtenue 2 à 8 semaines après l'implantation. Le temps d'attente pour la réparation des tissus peut être une bonne période pour utiliser le *microscope factice* (Fig. 2.9), dans le but d'entraîner l'animal à supporter le poids du microscope sur sa tête et de l'habituer à se déplacer facilement dans sa cage avec le dispositif.

Séances d'imagerie

La section suivante décrit les bases d'une session d'imagerie à l'aide du *microscope miniature à fluorescence monochrome*.

1. Préparez le microscope pour une configuration à tête fixe, comme décrit dans la section 2.2.
2. Avant d'installer le microscope, placez l'animal anesthésié dans un cadre stéréotaxique.
3. Retirez le **Capuchon de protection** de la canule.
4. Installez le microscope dans la canule. Le cadre stéréotaxique diminue la pression appliquée sur la tête de l'animal lorsque le corps du microscope est fixé dans la canule implantée.
5. Si vous effectuez une expérience à tête fixe, complétez le reste des connexions du système (Fig. 3.1a) et ouvrez le système d'acquisition, cela permet l'imagerie de la région d'intérêt.
6. Si vous effectuez une expérience avec un animal libre de mouvement (Fig. 3.1b), retirez l'animal du cadre stéréotaxique et laissez l'animal se remettre de l'anesthésie.
 - Lors des sessions d'imagerie comportementale, il est recommandé de mettre le blindage métallique à la base du câble ultraléger pour le protéger des interférences dû à l'animale, comme la mastication ou le grattage.
7. Pour plus de détails sur les connexions du système et l'utilisation du logiciel Doric Neuroscience Studio, voir le [Manuel du microscope monochrome](#).



(a) Configuration à tête fixe pour l'imagerie cérébrale profonde (b) Configuration à mouvement libre pour l'imagerie cérébrale profonde d'un GCaMP6.

Figure 3.1: Configurations du système de microscope monochrome

Manipulation & Nettoyage

4.1 Informations importantes sur la manipulation



ATTENTION! : Manipulez le microscope et la canule avec précaution.



Les microscopes à fluorescence miniatures sont composés de composants électroniques sensibles et doivent toujours être manipulés avec précaution. Lorsqu'ils ne sont pas utilisés, le corps du microscope avec sa canule doit être stocké dans un environnement fermé et sans poussière. Certaines composantes du microscope doivent être manipulées avec des précautions supplémentaires :

- **Câble Électrique: Ne tordez pas et ne tirez pas sur le câble.** Ce câble est relié au capteur CMOS et ne peut pas être facilement remplacé.
- **Lentille relais:** La lentille de la canule est en verre et n'est pas protégée. **Les matériaux abrasifs peuvent rayer la surface** et réduire la qualité de l'image.

Le corps du microscope et la lentille de la canule sont en verre, métal, plastique et le contact avec des tissus organiques ou des liquides, comme le sang ou une solution saline n'est pas recommandé. Bien que la partie implantable de la canule qui est conçue pour être en contact avec ces substances, le corps de microscope n'y est pas. Si le corps de microscope entre en contact avec ces substances, nettoyez les optiques (section 4.2) pour éviter l'apparition de taches.

4.2 Nettoyage des optiques

L'objectif du microscope doit être nettoyé avant chaque utilisation. La procédure expliquée ici peut également être utilisée pour nettoyer les lentilles à tige à gradient d'indice de la canule.

- Éteindre le contrôleur de microscope.
- **Portez des gants pour manipuler le microscope.** Le gras présent sur les doigts peut tacher le verre et est souvent difficile à enlever correctement.
- Utilisez de l'alcool isopropylique sur un coton-tige pour nettoyer délicatement la lentille.
- **Ne soufflez pas sur l'optique.** Les particules de salive tachent souvent la surface. Les particules de poussière plus grosses peuvent être éliminées à l'aide d'un souffleur sans poussière avant de nettoyer avec un coton-tige.

4.3 Réutilisation des canules d'imagerie

Les canules implantées sont vendues jetables mais peuvent être réutilisées si elles sont retirées avec précaution. Pour cela, il suffit de retirer la bague de réglage collée de la partie métallique. Dans ce cas, prévoir des jeux de rechange de bagues de réglage pour protrusion. L'acétone peut être utilisée pour nettoyer la lentille de la canule avec un coton-tige (ne jamais tremper la canule dans l'acétone), mais il faut veiller à ne pas exposer le site de liaison entre la lentille et la partie métallique de la canule.

5.1 Contactez-nous

Pour toutes questions ou commentaires, 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 white highlight on its left side, giving it a three-dimensional appearance.

© 2022 DORIC LENSES INC

357 rue Franquet - Quebec, (Quebec)

G1P 4N7, Canada

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

www.doriclenses.com