Mini-cubes de fluorescence intégrés

Gen 2

Manuel de l'utilisateur

Version 1.0.2

Contenu

1 Démarrage rapide **3**

2 Guide d'utilisation **4**
2.1 Différence entre iFMC et iIFMC 4
2.2 Type et description des ports 4
2.3 Fibres optiques et connecteurs FC 6
2.4 Photodétecteurs et amplificateurs intégrés 7
2.5 DELs intégrées (iIFMC uniquement) 8
2.6 Alimentation électrique 8

3 Caractéristiques **10**
3.1 Caractéristiques optiques 10
3.2 Caractéristiques électriques 12
3.3 Caractéristiques mécaniques 12

4 Soutien **14**
4.1 Dépannage 14
4.2 Entretien 16
4.3 Garantie 16
4.4 Nous contacter 16

1

Démarrage rapide

Les bases du fonctionnement des *Mini Cubes de Fluorescence Intégrés.*



Figure 1.1 : *Exemple d'un cube typique avec tous les types de ports présents, représentés sur un iFMC et un ilFMC.*

1. **Port d'échantillon** (réceptacle FC) : Se connecte à un *câble à fibre optique à faible autofuorescence* ou à un *joint rotatif à fibre optique attachée* allant versl'animal.
2. **Port d'excitation (E)**
   a) **iFMC** (réceptacle FC) : Se connecte à une DEL avec un *câble à mono-fibre optique* ou un *câble à mono-fibre optique avec atténuation*. Consultez le tableau 2.1 pour connaître la LED et le cordon de raccordement appropriés pour chaque port d'illumination.
   b) **ilFMC** (connecteur M8) : Se connecte à un contrôleur de DEL à l'aide du câble M8 fourni. L'anneau argenté contrôle un atténuateur variable devant la DEL intégrée. Tournez dans le sens des aiguilles d'une montre pour plus de puissance et dans le sens inverse pour moins de puissance.
3. **Port Opsine (O)** (réceptacle FC) : Se connecte à la source utilisée pour la stimulation optogénétique. Le tableau 2.2 indique les sources les plus courantes pour chaque port.
4. **Port d'émission du détecteur de fluorescence (F)** (connecteur BNC femelle) : Se connecte à une entrée analogique de la *console de photométrie à fibre* ou d'un autre boîtier d'*acquisition de données.* Il s'agit du signal de fluorescence de sortie.
5. **Commandes de l'amplificateur** : Permet de régler le mode d'amplification (AC ou DC) et le gain (1x, 10x ou 100x) pour chaque canal.
6. **Alimentation électrique (prise de 2,1 mm)** : Se connecter à l'alimentation 12V fournie. Un répartiteur est parfois fourni pour connecter plusieurs cubes sur la même alimentation.
7. **Interrupteur d'alimentation** : Allume les photodétecteurs et les amplificateurs de tous les canaux. L'appareil est prêt à fonctionner.

2

Guide d'utilisation

2.1 Différence entre iFMC et ilFMC

Ce manuel d'utilisation couvre les deux versions des *mini-cubes de fluorescence intégrés* : l'*iFMC* et l'*ilFMC*. Le "l" ajouté dans ilFMC signifie LED. Cela signifie que ce type de cube intègre également les sources lumineuses des ports d'excitation directement dans le cube.



(a) *iFMC4* (b) *ilFMC4*

Figure 2.1 : *Le même cube à 4 ports dans les deux versions*

Certaines sections du manuel se réfèrent spécifiquement à un certain type (comme la section 2.5 qui se réfère uniquement à l'ilFMC). Lorsqu'il n'est pas fait mention d'une différence, les informations s'appliquent aux deux versions. Pour faire rapidement référence aux deux versions, l'abréviation *i(l)FMC* est parfois utilisée.

2.2 Type et description des ports

Les mini-cubes à fluorescence intégrés sont dotés de plusieurs types de ports optiques. La conception de chaque port est faite pour atteindre un certain objectif.

2.2.1 Port d'échantillon

Tous les *Mini Cubes de Fluorescence* sont équipés d'un port d'échantillon. C'est le seul port sans filtrage spectral, c'est-à-dire que toutes les longueurs d'onde peuvent passer librement.

Le port d'échantillon est connecté à l'animal soit directement, soit par l'intermédiaire d'un joint rotatif. Il est recommandé d'utiliser un câble à fibre optique à faible auto-fluorescence entre la canule et le i(l)FMC pour réduire la fluorescence de fond qui peut se produire dans les câbles à fibre optique standards. Nous recommandons également l'utilisation de joints rotatifs à fibre optique attachée, car ils réduisent la variation de transmission.

2.2.2 Ports d'excitation

Les ports d'excitation sont désignés par E sur la gravure supérieure. S'il y a plus d'un port d'excitation, ils sont désignés par E1, E2 et E3. Les ports d'excitation isosbéstiques sont désignés par IE. Lorsque les ports d'excitation et de fluorescence sont conçus en paire, ils sont étiquetés avec le même numéro, E1 va avec F1, E2 avec F2 et ainsi de suite.

Les ports d'excitation contiennent un filtre choisi pour correspondre aux pics d'excitation de la protéine fluorescente que le i(I)FMC est conçu pour mesurer. La figure 2.2 montre le filtre spectral d'un port d'excitation conçu pour la GFP.

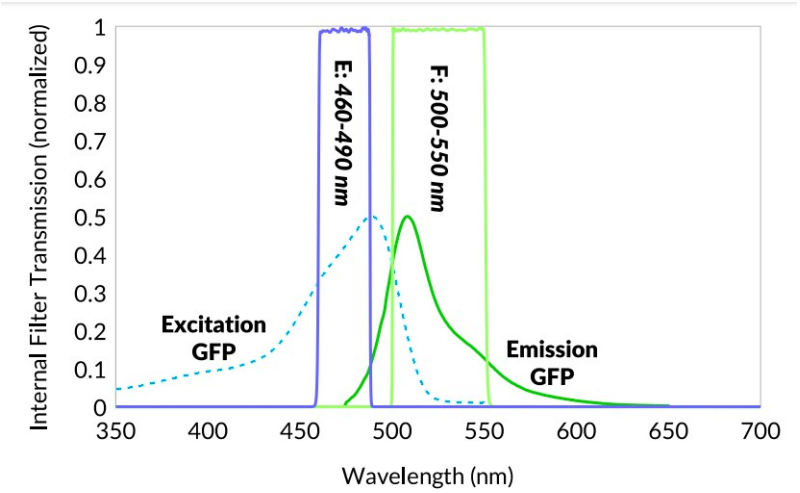


Figure 2.2 : *Exemple d'une paire de port d'excitation et de fuorescence conçue pour la GFP*

Pour obtenir une illumination stable et uniforme dans la région du cerveau mesurée, des DELs sont utilisées pour injecter de la lumière dans le port d'excitation du i(I)FMC. Les DELs présentent deux avantages pour l'éclairage de la fluorescence. Tout d'abord, elles fournissent une lumière incohérente et ne présentent pas le problème d'interférence des lasers. Deuxièmement, leur émetteur est grand et émet de la lumière dans toutes les directions. Cela permet aux DELs de remplir complètement tous les modes de transmission disponibles d'une fibre, ce qui empêche la variation de la puissance de sortie lorsque la fibre est pliée.

L'inconvénient de remplir tous les modes de transmission d'une fibre est qu'elle émet trop de puissance pour la plupart des applications de photométrie à fibre, même aux courant électrique de commande le plus faible. Pour cette raison, la plupart des DELs sont connectées à l'iFMC avec des câbles atténuateurs pour réduire leur puissance de sortie (voir tableau 2.1). Les cubes de l'ilFMC sont également atténués en interne (voir section 2.5 pour plus de détails).

Tableau 2.1 : *DEL et câble à fibre optique à utiliser pour chaque port d'illumination*

Plage de longueur d'onde du port	DEL	Câble optique recommandé
400-410	405nm	Atténuation T=5%
420-445	420nm	Atténuation T=5%
460-490	470nm	Atténuation T=5%
555-570	560nm	Standard

Il est possible d'utiliser un port d'excitation connecté en FC comme port d'opsine car il n'y a pas de différence fonctionnelle entre les deux, à l'exception du choix du filtre. Un exemple typique est l'utilisation du port E(460-490) pour l'excitation GCaMP ou l'activation ChR2. Veuillez contacter le support technique de Doric pour en savoir plus sur cette option.

2.2.3 Ports de fluorescence

Les ports du détecteur de fluorescence sont désignés par F sur la gravure supérieure. S'il y a plus d'un port de fluorescence, ils sont désignés par F1, F2 et F3. Il y a toujours deux étiquettes pour chaque port de fluorescence, une pour la position du contrôle du photodétecteur et de l'amplificateur et une pour la sortie BNC. Lorsque les ports d'excitation et de fluorescence sont conçus en paire, ils sont étiquetés avec le même numéro, E1 va avec F1, E2 avec F2 et ainsi de suite.

Les ports de fluorescence contiennent un filtre choisi pour correspondre aux pics d'émission de la protéine que le i(I)FMC est conçu pour mesurer. Ce filtre est généralement très large pour collecter autant de fluorescence que possible. La figure 2.2 montre le filtre spectral d'un port de fluorescence conçu pour la GFP.

Dans chaque port de fluorescence, un photodétecteur et un amplificateur intégrés convertissent la réponse de fluorescence de l'échantillon en une tension mesurable. Le signal de sortie de chaque détecteur est envoyé à la sortie BNC correspondante. Voir la section 2.4 pour plus de détails sur les photodétecteurs et les amplificateurs intégrés.

2.2.4 Ports d'opsine

Les ports d'opsine sont désignés par O sur la gravure supérieure. Tous les i(I)FMC n'ont pas de ports dédiés aux opsines. Leurs ports contiennent un filtre choisi pour correspondre au spectre d'excitation d'une opsine.

Tableau 2.2 : *Opsines typiques et source recommandée pour chaque port d'opsine standard*

Plage de longueurs d'onde du port	Source lumineuse	Opsines
450-490	DEL 470nm, Laser 450nm & 473nm	Channelrhodopsine
580-650	Ce:YAG, Laser 590nm, Laser 638nm	Halorhodopsine, Chrimson
628-642	Laser 638nm	Chrimson

2.3 Fibres optiques et connecteurs FC

Les *mini-cubes de fluorescence* sont conçus pour être utilisés avec des câbles à fibre optique à connexion FC.

Nettoyez les extrémités des connecteurs des câbles à fibre optique avant de les connecter au *Mini Cube de Fluorescence*. Utilisez de l'alcool isopropylique ou une solution de nettoyage similaire. Lorsqu'il n'est pas utilisé, placez le capuchon en plastique sur le connecteur pour le protéger et le maintenir propre.



Pour réduire le risque de blessure occulaire, **il est conseillé d'éviter de regarder directement les ouvertures de la fibre ou du connecteur** lorsque la source lumineuse est allumée.



Lors de la connexion d'un connecteur FC, la clé doit être orientée de manière à entrer dans la fente du réceptacle pour assurer une bonne connexion (Fig. 2.3). Il faut toujours visser fermement le barillet pour éviter l'instabilité de la connexion.

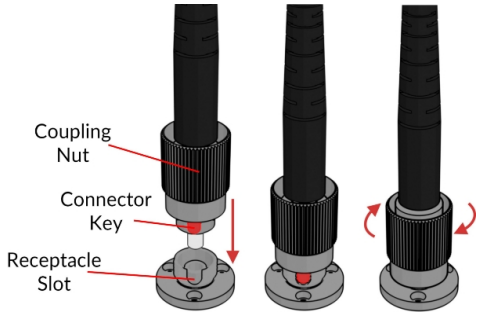


Figure 2.3 : *Connecteur FC, Installation de la fibre*

2.4 Photodétecteurs et amplificateurs intégrés

Le port de détection de l'i(l)FMC contient une photodiode et un amplificateur intégrés. S'il y a plusieurs ports de fluorescence, le circuit d'amplification de chaque port est complètement séparé. Ils ne partagent que la même alimentation.

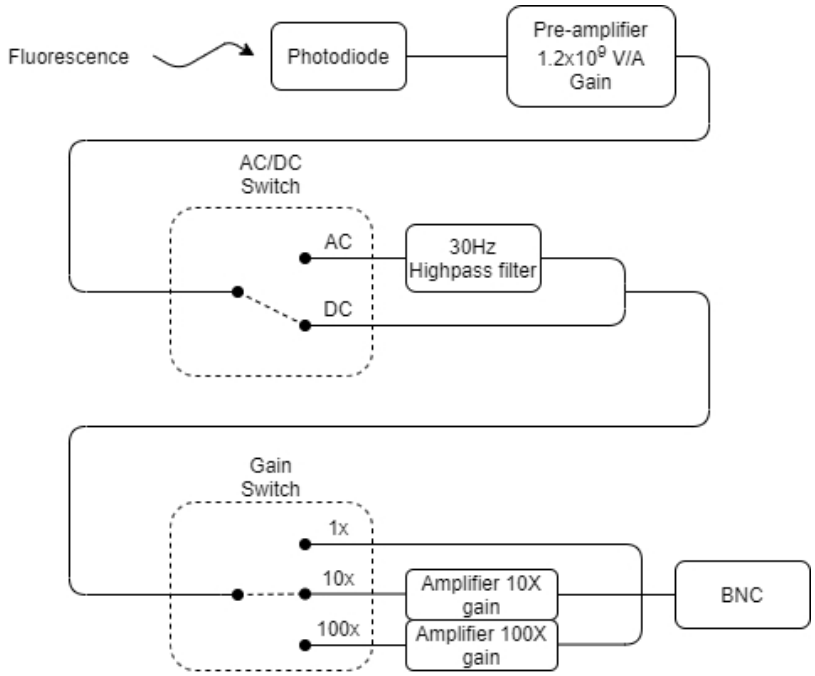


Figure 2.4 : *Chaîne d'amplification d'un canal de fluorescence i(l)FMC*

Chaque port dispose de 2 commutateurs de sélection et d'un connecteur BNC de sortie. Le premier commutateur permet de sélectionner le mode d'amplification (AC/DC) et le second le niveau d'amplification.

2.4.1 Mode d'amplification

Le commutateur de mode d'amplification permet de choisir entre le mode DC (courant continu) et le mode AC (courant alternatif).

En **mode DC**, le signal de la photodiode est directement transmis à l'amplificateur sans altération. La plage de sortie au niveau du connecteur BNC est de 0V à 5V. Ce mode est recommandé pour les expériences de photométrie et devrait être utilisé par défaut, sauf indication contraire.

En **mode AC**, le signal de la photodiode passe par un filtre passe-haut de 30 Hz avant d'être envoyé à l'amplificateur. Toute variation plus lente que 30 oscillations par seconde ainsi que la valeur moyenne du signal sont supprimées. La plage de sortie au connecteur BNC est de -5V à 5V. Ce mode offre deux fois la gamme dynamique mais peut cacher un état de saturation du préamplificateur et doit être utilisé avec précaution.

2.4.2 Sélection du gain

Le commutateur de gain permet de sélectionner trois niveaux de sortie pour la même lumière de fluorescence d'entrée. Le gain 1x transmet le signal du préamplificateur directement à la BNC tandis que les gains 10x et 100x ajoutent 2 autres niveaux d'amplification.

La sélection du gain ne doit être effectuée que pour un réglage très grossier du signal. Le gain doit être réduit si l'amplificateur est saturé (ligne plate autour de 5V) et augmenté s'il est inférieur à 0,5V.

2.5 DELs intégrées (iIFMC uniquement)

L'iIFMC intègre des DELs directement dans les ports d'excitation. Ces DELs sont connectées au contrôleur de DEL par un câble M8. Parce qu'elles sont refroidies passivement, toutes les DELs intégrées sont limitées à un courant maximum de 500mA.

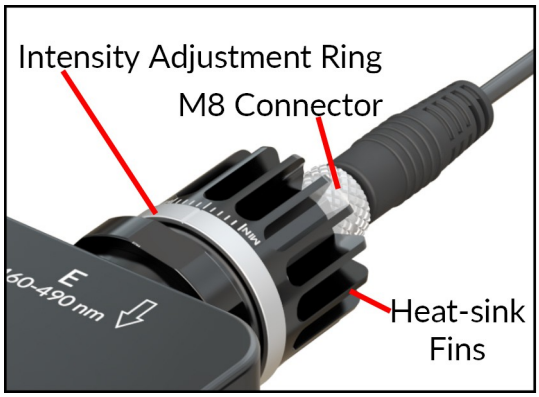


Figure 2.5 : *DEL intégrée avec anneau de réglage de l'intensité*

Les DELs intégrées (à l'exception des 555-570 nm) sont dotées d'une bague de réglage qui commande un atténuateur variable. Un mécanisme de cliquetis arrête la bague à 11 positions discrètes décrites dans le tableau 2.3. Un tel réglage de la puissance doit être considéré comme un réglage grossier et le réglage fin doit être effectué en faisant varier le courant de la DEL.

Les DELs intégrées dans le 555-570 n'ont pas d'atténuateur variable car les DELs intégrées de 560 nm utilisées sont déjà fortement atténuées par le filtre spectral étroit.

Tableau 2.3 : *Atténuation en fonction de la position de l'anneau pour les DELs intégrées*

Position		Transmission (%)
1	(MAX)	100
2		95
3		90
4		80
5		70
6	(CENTRE)	55
7		40
8		25
9		10
10		2-3
11	(MIN)	1-2

2.6 Alimentation électrique

Chaque *mini-cube de fluorescence intégré* est fourni avec une unité d'alimentation murale de 12V. Une batterie supplémentaire peut être achetée si nécessaire. Nous suggérons d'utiliser l'alimentation murale à moins que vous ne rencontriez des problèmes de bruit ou de mise à la terre.

Pour mettre en marche le *mini-cube à fluorescence intégré*, soulevez l'interrupteur d'alimentation. Les voyants des commandes de l'amplificateur s'allument.

2.6.1 Alimentation par prise murale

Utilisez toujours l'alimentation fournie avec les *Mini-cube de Fluorescence* ou avec un système Doric complet. Chaque *Mini-cube de Fluorescence* consomme moins de 50mA, ce qui permet de connecter plusieurs cubes sur la même alimentation avec un répartiteur de puissance. Ces répartiteurs de 1 à 2 ou de 1 à 4 sont souvent fournis avec les systèmes Doric.

2.6.2 Batterie



(a) *Batterie standard*

(b) *Batterie rechargeable*

Figure 2.6 : *Batteries du détecteur de fluorescence Doric*

Deux packs de batteries sont disponibles en option.

- Une *batterie 9V* (Fig. 2.6a) utilisant une batterie standard de type 9V/E. Elles permettent une utilisation optimale du détecteur lorsque les prises murales ne sont pas disponibles ou lorsque le courant provenant d'une prise murale introduit un bruit important dans le signal. La batterie peut être connectée directement au port d'**alimentation** et une seule batterie durera en moyenne 20 heures pour un seul port de fluorescence (10 heures pour 2 et 6 heures pour 3).
- Un *bloc-batterie rechargeable* (Fig. 2.6b) peut être fourni sur demande. Ces batteries 12V 6000 mAH peuvent alimenter un seul détecteur pendant environ une semaine sans interruption. Ces blocs d'alimentation sont idéaux pour ceux qui souhaitent utiliser les détecteurs uniquement sur batterie.

3

Caractéristiques

3.1 Caractéristiques optiques

Tableau 3.1 : *Caractéristiques optiques générales*

Caractéristiques	Valeur	Unité
Ouverture numérique maximale transmise	0.50	-
Transmission typique du port d'excitation	70	%
Transmission typique du port d'opsine	70	%
Atténuation du filtre optique en dehors de la bande d'intérêt	$< 10^{-5}$	-
DEL intégrée		
Taille de l'illumination	400	µm
Ouverture numérique de l'illumination	0.22	-
Détecteur		
Matériau	Si	-
Taille	1.1 x 1.1	mm
Gamme de longueurs d'onde	320-1100	nm
Réactivité	0.6	A/H

Tableau 3.2 : *Puissance optique typique de la DEL intégrée pour chaque port d'excitation à 500mA. La puissance minimale et maximale est contrôlée par l'atténuateur intégré. Les puissances 540-570 et 555-570 ne sont pas réglables.*

Port	Puissance minimale (µW)	Puissance maximale (µW)
400-410	9.25	175
420-445	8	250
460-490	3.25	300
540-570	-	780
555-570	-	312.5

Tableau 3.3 : *Largeur de bande de transmission typique pour les deux configurations standard de l'iFMC et de l'ilFMC*

Mini-cubes de fluorescence	Excitation (nm)	Fluorescence (nm)	Opsine (nm)
FMC3			
GFP	460-490	500-550	
RFP	540-570	580-680	
FMC4			
GFP et Opsin	460-490	500-550	580-650
GCaMP Isosbéstique et Fonctionnel	400-410	500-550	
	460-490		
FRET	420-445	460-500	
		528-556	
FMC5			
GFP + RFP	460-490	500-540	
	555-570	580-680	
GCaMP Isos. + Fonct. et Opsin	400-410	500-550	580-650
	460-490		
FMC6			
GCaMP Isos. + Fonct. et RFP	400-410	500-540	
	460-490	500-540	
	555-570		
FMC7			
Fluorescence à trois fluorophores	400-410	420-450	
	460-490	500-540	
	555-570	580-680	

Tableau 3.4 : *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

3.2 Spécifications électriques

Tableau 3.5 : *Caractéristiques électriques générales*

Spécification	Valeur	Unité de mesure
Tension d'entrée minimale	6	V
Tension d'entrée recommandée	9 à 12	V
Tension d'entrée maximale	32	V
Tension d'entrée minimale avant dommages irréversibles	-0.3	V
Tension d'entrée maximale avant dommages irréversibles	36	V
Consommation de courant par canal	25	mA
Interface de sortie électrique	BNC	-
Impédance de sortie	50	Ω

Tableau 3.6 : *Caractéristiques électriques du détecteur*

Spécification de la valeur	Valeur	Unité de mesure
Gain de transimpédance	2.10^9	V/A
Puissance équivalente au bruit (NEP)	12	fW√Hz
Bande passante DC	0-1000	Hz
Bande passante AC	30-1000	Hz
Sensibilité du détecteur		
550 nm	0.38	A/W
960 nm (pic)	0.60	A/W
Gain de conversion à 550 nm		
1x	$0.76 . 10^9$	V/W
10x	$7.60 . 10^9$	V/W
100x	$76.0 . 10^9$	V/W
Gain de conversion à 960 nm	$1.2 . 10^9$	V/W
Niveau de saturation à 550 nm		
1x	7.2	nW
10x	0.72	nW
100x	72	pW

3.3 Spécifications mécaniques

Veuillez consulter le dessin client de chaque iFMC et ilFMC pour obtenir des dimensions plus détaillées sur les produits. Ils peuvent être téléchargés sur la page du produit correspondant sur le site web.

Tableau 3.7 : *Taille globale*

Modèle	Profondeur (mm)	Largeur (mm)
iFMC3	57	81
iFMC4	82	76
iFMC5	92	93
iFMC6	92	108
iFMC7	92	127
iIFMC 3 1 DET 1 LED	95	82
iIFMC 4 1 DET 2 LED	111	114
iIFMC 4 1 DET 1 LED 1 FC	111	76
iIFMC 4 2 DET 1 LED	92	131
iIFMC 5 1 DET 2 LED 1 FC	151	90
iIFMC 5 1 DET 2 LED	122	131
iIFMC 6 2 DET 2 LED 1 FC	151	108
iIFMC 6 2 DET 3 LED	151	146
iIFMC 7 3 DET 3 LED	151	165

4

Soutien

4.1 Dépannage

4.1.1 Détecteur intégré

Problème	Solutions possibles
La tension est stabilisée autour de 0,8V et de 0,5V les voyants d'état de l'amplification sont éteints.	• L'interrupteur d'alimentation est éteint. Pousser l'interrupteur d'alimentation vers le haut pour mettre les amplificateurs sous tension. • Le cordon d'alimentation n'est pas correctement branché. Vérifier que l'alimentation utilisée est correcte et que les connecteurs sont enfoncés à fond. • La batterie est complètement déchargée. Remplacez la pile 9V ou rechargez la batterie rechargeable.
La tension est stabilisée autour de 0V et les DELs d'état de l'amplification sont allumées.	Le gain est à 1X et le capuchon est présent sur le port d'échantillon. Dévissez le capuchon ou utilisez un gain plus élevé pour voir apparaître le signal. S'il n'y a pas de signal avec le port d'échantillon ouvert dans une pièce lumineuse, contactez le service d'assistance Doric.
La tension est stabilisée à 5,84 V.	L'amplificateur est saturé. Diminuer le gain ou réduire l'entrée de lumière dans le port d'échantillon
La tension est stabilisée à 2,47 V.	Le BNC n'est pas correctement connecté à l'i(l)FMC.

4.1.2 Port d'excitation ou d'opsine

Problème	Solutions possibles
La lumière n'est pas correctement transférée vers le port d'échantillon	Vérifier que la longueur d'onde de la source se situe dans la plage de longueurs d'onde de l'excitation ou du port de l'opsine.

4.1.3 LED intégrée

Problème	Solutions possibles
L'intensité lumineuse est trop faible ou trop lumineuse	• Tournez la bague de réglage dans le sens des aiguilles d'une montre pour augmenter la puissance transmise par l'atténuateur variable. • Tourner la bague de réglage dans le sens inverse des aiguilles d'une montre pour diminuer la puissance transmise par l'atténuateur variable. • Utilisez un wattmètre et un cordon de raccordement 400um NA0.57 avec le courant réglé sur 200mA pour reproduire les chiffres de puissance minimale et maximale indiqués sur la fiche technique de l'ilFMC. Si l'écart est supérieur à 10 %, contactez l'assistance Doric pour vous assurer que l'ilFMC fonctionne correctement.
Il n'y a pas de bague de réglage sur ma DEL intégrée.	Certaines DEL sont trop faibles pour être atténuées davantage sans compromettre l'expérience. Elles sont livrées sans atténuateur variable et ne possèdent donc pas de bague de réglage.
La longueur d'onde et la limite de courant ne sont pas correctement lues lorsqu'elles sont connectées au contrôleur de la DEL.	Contacter l'assistance Doric.

4.2 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.

4.3 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 de les conditions énoncées dans ce manuel. Pour plus d'informations, consultez notre site Internet.

4.4 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