

# UTILISATION DU SPINNING DISK CSU-X1 T°AMBIANTE

Allumage du système	2
Commandes du microscope et de la lampe	3
Faire une image en single camera	4
Faire une image en Dual camera	5
Faire une série d'image en Z	6
Faire une série d'image dans le temps	8
Multi-positions	9
Faire une mosaïque	10
Outils graphiques	13
Enregistrement des images et des paramètres	14
Eteindre le système	14

# Allumage du système

1. allumer les 3 blocs multiprises sur la table du microscope.





- 2. allumez le PC, utilisez la session « IJM ».
- 3. Désactiver la sécurité



4. Démarrer le logiciel « ZEN » en cliquant sur l'icône située sur le bureau.



- 5. Sélectionnez l'onglet « Locate ».
- 6. « BF» permet d'observer en transmission.

Si vous voulez observer en contraste de phase ou en DIC, après avoir cliqué sur « *BF* » il suffit de sélectionner « *PH* » ou « *DIC* » sur l'écran TFT.

- 7. « DAPI » permet d'observer la fluorescence bleue.
- 8. « GFP » permet d'observer en vert.
- 9. « DsRed » permet d'observer en orange-rouge.
- 10. « Cy5 » permet d'observer en rouge lointain.
- 11. « *Lights off* » ferme le shutter en lumière transmise ou en fluorescence.



Dans le cas d'une observation en lumière transmise, contraste de phase et contraste interférentiel de Nomarski (DIC), il est très important de procéder à des réglages sur le statif du microscope!

Reportez-vous aux panneaux affichés dans la pièce du microscope.

# Commandes du microscope et de la lampe

#### Côté droit

- 1. Baisser la tourelle des objectifs en position la plus basse.
- 2. Remonter l'objectif à la position de travail.
- 3. Vis macrométrique.
- 4. Vis micrométrique.
- 5. Ouvrir/Fermer le shutter en transmission « TL ».
- 6. Ouvrir/Fermer le shutter en fluorescence « RL ».



#### **Face avant**

7. Réglage de l'intensité lumineuse avec la molette.



## Le Joystick

Déplacer la platine motorisée en X et Y.

Maintenez le bouton enfoncé pour un déplacement rapide.

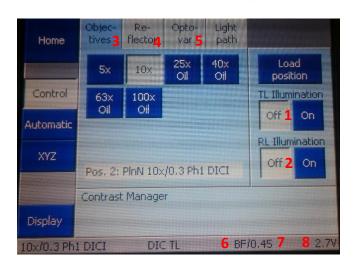


#### L'écran tactile

- 1. Ouvrir / Fermer le shutter de transmission.
- 2. Ouvrir / Fermer le shutter de fluorescence.

Dans la rubrique « *Microscope* », dans le menu « *Control* », il existe différentes onglets permettant de :

- 3. Choisir l'objectif « Objectives ».
- 4. Choisir le bloc filtres pour la fluo « Reflector ».
- 5. Ajouter/enlever une lentille 1,5x « Optovar ».
- 6. Affichage de la transmission BF, contraste de phase ou DIC.
- 7. Taille du diaphragme d'ouverture
- 8. Puissance de la lampe halogène

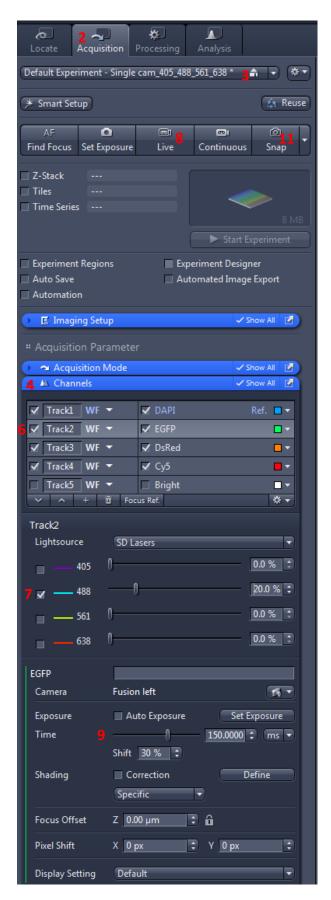


# Faire une image en single camera

#### 1. Activer la sécurité



- 2. Cliquer sur l'onglet « Acquisition ».
- 3. Choisir le mode « single cam ».
- 4. Ouvrir le menu « Channels ».
- 5. Cocher la/les ligne(s) correspondants à vos fluorophores
- 6. sélectionner un seul canal (en gris clair).
- 7. fixer la puissance du laser désiré
- 8. Faites un « Live ».
- 9. Fixer manuellement le temps d'exposition.
- 10. Recommencer pour chaque canal désiré.
- 11. Cliquer sur « *Snap* » pour prendre l'image des canaux cochés.



Page 4 sur 14

# Faire une image en Dual camera

#### 1. Activer la sécurité



- 2. Cliquer sur l'onglet « Acquisition ».
- 3. Choisir le mode « Dual Cam ».
- 4. Ouvrir le menu « Channels ».
- 5. Cocher la ligne correspondant à vos fluorophores.
- 6. fixer la puissance des lasers désirés
- 7. Faire un « Live ».
- 8. Fixer manuellement le temps d'exposition.
- 9. Cliquer sur « Snap » pour prendre l'image



# Faire une série d'image en Z

#### **Acquisition du stack**

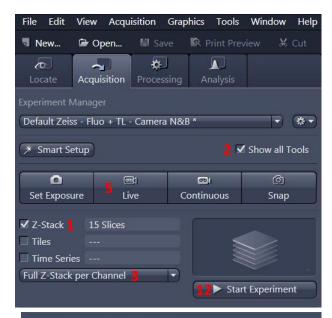
- 1. Cocher « Z-Stack ».
- 2. Cocher « Show all Tools ».
- 3. Choisir la séquence d'acquisition lorsque vous êtes en multicouleurs : faire un stack entier en une couleur puis passer au canal suivant « Full Z-Stack per Channel » ou tous les canaux à chaque plan « All Channels per Slices ».

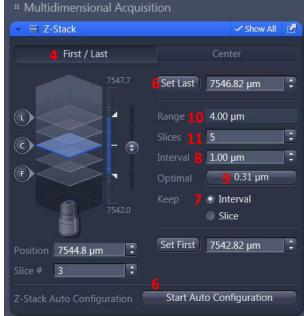
Il existe deux modes d'acquisition : la première définit les bornes inférieures et supérieures du stack, la deuxième définit le centre du stack.

- 4. Dans le menu « Z-Stack » cliquer sur l'onglet « First/Last »
- 5. Cliquer sur « Live ».
- 6. Cliquer sur « *Set First* » pour définir le début du stack puis « *Set Last* » pour la fin

#### OU

- 4. Dans le menu « *Z-Stack* » cliquer sur l'onglet « *Center* ».
- 5. Cliquer sur « Live ».
- 6. Définir le centre de votre stack en cliquant sur « *Center* ».
- 7. « *Interval* » doit être coché pour garantir que la valeur choisie restera fixe.
- 8. Entrer la valeur en µm de l'intervalle souhaité.
- Pour choisir une résolution optimale cliquer sur la distance indiquée à côté de la mention « Optimal ».
- 10. La taille du stack est indiquée dans « Range ».
- 11. Le nombre de coupes peut être modifié dans « *Slices* ».
- 12. Lancer l'acquisition en cliquant sur « *Start Experiment* ».





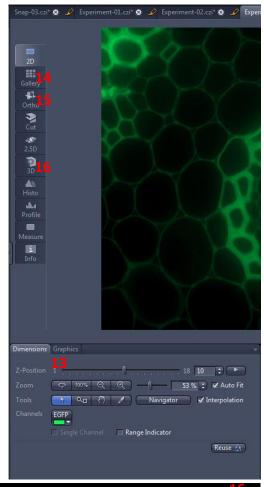


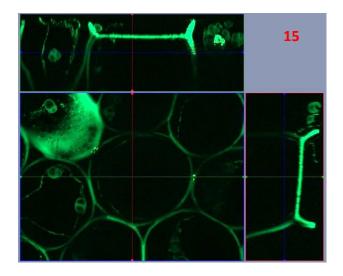
## Visualiser le stack

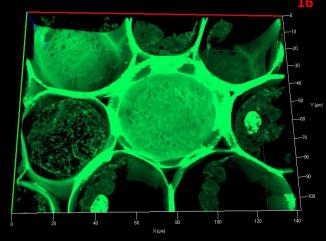
A la fin de votre acquisition, votre stack est affiché au centre de l'interface ZEN.

Dans l'onglet « Dimensions » :

- 13. Pour se déplacer dans le stack, il suffit de bouger le curseur du « *Z-Position* ».
- 14. Le mode « *Gallery* » affiche l'ensemble des images composant le stack.
- 15. Le mode « *Ortho* » permet d'avoir une vue en coupe de votre stack.
- 16. Le mode « *3D* » permet d'avoir une visualisation en volume de votre stack.







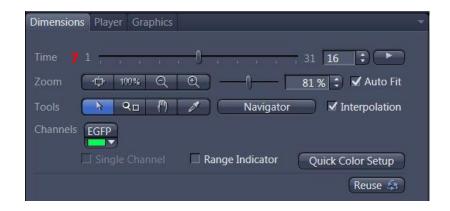
# Faire une série d'image dans le temps

- 1. Cocher « Time Series ».
- 2. Ouvrir le menu « Time Series ».
- 3. Définir l'intervalle de temps entre deux images.
- 4. Choisir le nombre de cycle ou la durée d'acquisition.
- 5. Remarque : la durée d'un stack Z ou mosaïque doit être incluse dans la durée de l'intervalle de temps. Vous pouvez le mesurer en cliquant sur « Measure Speed », la valeur s'affichera dans la rubrique « Interval ».
- 6. Pour pouvoir faire une acquisition avec un intervalle de temps minimal, cocher « *Use Camera Streaming if Possible* ».

A la fin de votre acquisition, votre série est affichée au centre de l'interface ZEN.

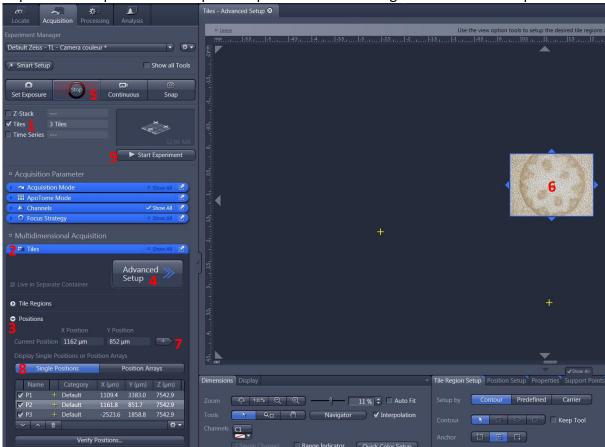
7. Dans l'onglet « *Dimensions* » vous pouvez faire défiler votre série en bougeant le curseur de la rubrique « *Time* »





# **Multi-positions**

- 1. Cocher « Tiles ».
- 2. Ouvrir le menu « Tiles ».
- 3. Ouvrir la rubrique « Positions ».
- 4. Cliquer sur « *Advanced Setup* » pour afficher l'espace dans lequel vous allez définir vos différentes positions.
- 5. Cliquer sur « Live ».
- 6. Double cliquer, au niveau de l'espace de navigation, à l'endroit où vous voulez acquérir une image ou déplacez-vous avec la manette.
- 7. Une fois positionné, cliquer sur la flèche au niveau de la rubrique « *Positions* ». Répéter cette opération à chaque fois que vous voulez enregistrer une nouvelle position.

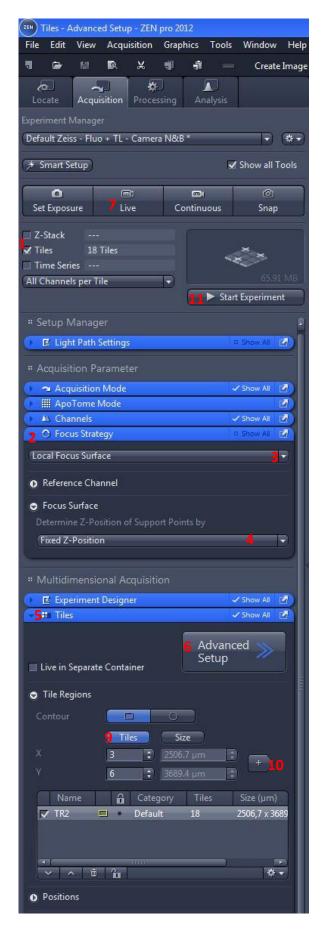


- 8. Dans l'onglet « *Single Positions* », vous pouvez voir la liste des coordonnées de toutes les positions que vous avez enregistrées.
- Cliquer sur « Start Experiment ».
   Il est possible de faire de la multiposition sur différents formats de plaque de puits.
   Demander conseil aux ingénieurs de la plateforme.

# Faire une mosaïque

#### Acquisition de la mosaïque

- 1. Cocher « Tiles ».
- 2. Ouvrir le menu « Focus Strategy ».
- 3. Choisir l'option « Local Focus Surface ».
- 4. Sélectionner « Fixed Z-position ».
- 5. Ouvrir le menu « Tiles ».
- 6. Cliquer « Advanced Setup ».
- 7. Cliquer sur « Live ».
- 8. Au centre de l'interface du software, l'espace de navigation s'affiche. Double-cliquer sur la position souhaitée pour placer la mosaïque ou la déplacer avec la manette.
- Dans le menu « *Tile Regions* », cliquer sur « *Tiles* » et entrer les dimensions de votre mosaïque. Celle-ci prendra comme centre la position actuelle.
- 10. Cliquer sur « + », la mosaïque se dessine alors sur l'espace de navigation.
- 11. Cliquer sur « *Start Experiment* » pour lancer l'acquisition.



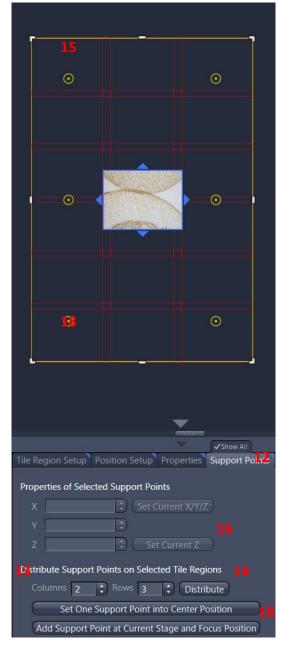
#### **Correction du focus**

Il y a deux manières de corriger le focus sur l'ensemble de la mosaïque. A faire avant de lancer l'acquisition.

- 12. Cliquer sur « *Support Points* » sous l'espace de navigation.
- 13. Entrer le nombre de positions où le focus sera corrigé.
- 14. Cliquer sur « Distribute ».
- 15. Des points jaunes se distribuent sur la mosaïque.
- 16. Cliquer sur un point jaune, faire un « *Live* », régler le focus et cliquer sur « *Set Current Z* » pour l'enregistrer. Recommencer pour chacun des points.

## ΟU

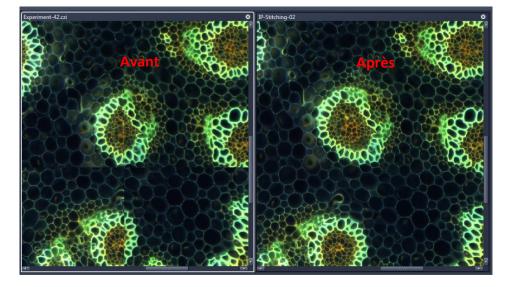
- 17. Double-cliquer à l'endroit où vous voulez enregistrez le Z sur votre mosaïque. Faire le focus.
- 18. Cliquer sur « *Add Support Point at Current Stage and Focus position*», un point jaune apparaît.
- 19. Répéter la procédure sur au moins cinq positions.
- 20. Cliquer sur « *Star Experiment* » pour lancer l'acquisition.



#### Finalisation de la mosaïque en fluorescence après l'acquisition

Pour cette étape, l'option « Online Stitching » (voir la page précédente) devait être décochée pendant l'acquisition.

- 1. Cliquer sur l'onglet « Processing ».
- 2. Cliquer sur « Single ».
- 3. Ouvrir le menu « Method ».
- 4. Aller dans la rubrique « *Geometric* » et sélectionner « *Stiching* ».
- 5. Ouvrir le menu « *Input* » et sélectionner la mosaïque.
- 6. Ouvrir le menu « Parameters ».
- 7. Cliquer sur « New Output ».
- 8. Cocher « Fuse Tiles ».
- Si l'ombrage n'est pas correcte, cocher « Correct Shading » et sélectionner le mode « Automatic ».
   Si vous avez acquis plusieurs couleurs (canaux) ou une série en Z :
- 10. Ouvrir le menu « Select dimension reference for stitching ».
- 11. Cliquer sur « *All by reference* » et choisir le canal de référence pour la reconstruction en cliquant dessus.
- 12. choisir le plan en Z de référence.
- 13. Cliquer enfin sur « Apply ».
- 14. L'image ajustée se nomme « IP- Stitching ».



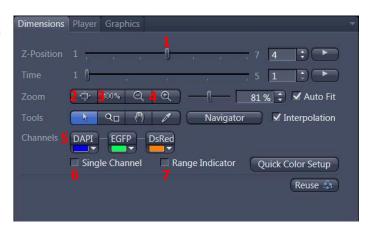


Page 12 sur 14

# **Outils graphiques**

### Dans l'onglet « Dimensions »

- 1. Afficher l'image d'une position en Z ou en temps de la série en entrant son numéro ou en bougeant le curseur correspondant.
- 2. Ajuster l'image à la taille de l'écran.
- 3. Ajuster la taille des pixels de l'image à la taille des pixels de l'écran.
- 4. Agrandir ou rétrécir l'image.
- 5. Afficher/Cacher une couleur (channel) à l'écran.
- 6. Voir un seul canal à la fois.
- 7. Affichage des niveaux de gris et de la saturation.



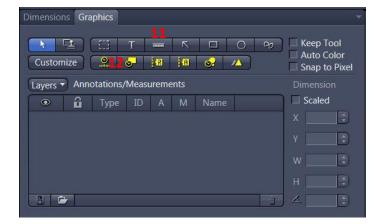
Dans l'onglet « *Display* » se trouve les options de contraste.

- 8. Choisir la couleur à modifier ou « *All* » pour toute les modifier.
- 9. Ajuster le contraste automatiquement.
- 10. Réinitialiser le contraste.

Dans l'onglet « *Graphics* » se trouve les options d'annotation.

- 11. Afficher la barre d'échelle.
- 12. Afficher le temps.

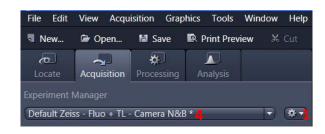




# **Enregistrement des images et des paramètres**

#### Sauver votre configuration expérimentale

- 1. Cliquer sur le logo paramètres.
- 2. Sélectionner « Save As ».
- 3. Renommer votre configuration et l'enregistrer.
- 4. Pour recharger les paramètres, ouvrir le menu déroulant sous « *Experiment Manager* » et sélectionner votre configuration.



## Sauver les images acquises

- 5. Toutes les images de la session sont affichées dans la colonne de droite « *Images and Documents* ».
- 6. Pour enregistrer, double-cliquer sur l'image à enregistrer.
- 7. Cliquer sur la petite disquette.
- 8. Nommer vos images.
- 9. Enregistrer les images dans le dossier « *Users* » du disque J.
  - Créer un dossier à la date ainsi qu'à votre nom.



# Eteindre le système

- 1. Baisser les objectifs, nettoyer les objectifs sur le dessus et sur les côtés avec le papier adapté.
- 2. Sortir du logiciel « ZEN ».
- 3. Transférer vos données sur votre disque dur.

## Vérifier le planning de réservation. S'il n'y a personne après vous :

- 4. Eteindre le PC.
- 5. Eteindre le microscope sur le côté gauche.
- 6. Eteindre les blocs multipriseS.