



UTILISATION DU STEREOMICROSCOPE LUMAR ZEISS

CARACTERISTIQUES DU SYSTEME.....	2
DEMARRAGE DU SYSTEME.....	3
OBSERVER AUX OCULAIRES.....	5
OBSERVER AUX OCULAIRES A PARTIR DU LOGICIEL.....	7
ACQUERIR UN OU PLUSIEURS CANAUX.....	8
ACQUERIR UNE SERIE Z.....	10
ACQUERIR UNE SERIE TEMPORELLE.....	11
VISUALISATION DES IMAGES ACQUISES.....	12
ENREGISTREMENT DES IMAGES.....	13
ETEINDRE LE SYSTEME.....	14

CARACTERISTIQUES DU SYSTEME

Stéréo microscope Zeiss Lumar.V12 motorisé.

Caméra sCMOS Hamamatsu ORCA-Flash4.0 LT

2 Lampes halogène à lumière froide pour trans et épi-illumination

Lampe mercure HBO pour la fluorescence avec alignement automatique

Filtres Disponibles	DAPI	CFP	GFP	YFP	Cy 3
Excitation	365	436/20	470/40	500/20	545/25
Dichroïque	395	455	495	515	570
Émission	445/50	480/40	525/50	535/30	605/70

Objectifs disponibles	NeoLumar S 0.8x		NeoLumar S 1.5x	
Distance de travail	80mm		30mm	
Grossissement	6,4X	80X	12X	150X
Résolution	10 µm	1,5 µm	5,5 µm	0,8 µm
Profondeur de champ net	2 mm	42 µm	0,6 mm	12 µm
Champ de vision	35,9 mm	2,9 mm	19,2 mm	1,5 mm



NeoLumar S 0.8x

NeoLumar S 1.5x

www.zeiss.fr

DEMARRAGE DU SYSTEME

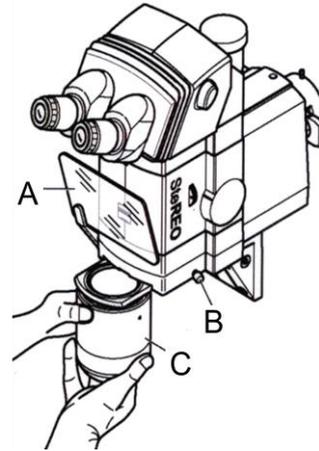
1. Si besoin allumer la lampe pour la fluorescence (FluoArc).



2. Si besoin Insérer l'objectif choisi : NeoLumar S 0.8x ou NeoLumar S 1.5x (dans le meuble)



www.zeiss.fr



A- relever l'écran

B- dévisser

C- retirer / insérer l'objectif jusqu'à la butée

Attention au poids 0,8x = 2,5kg 1,5x = 3,5kg

D- resserrer la vis

E- Si vous avez changé l'objectif, afin d'avoir accès aux bon paramètres de zoom, Déclarer le nouvel objectif sur l'écran de la manette SyCoP.

F- Pour sélectionner l'objectif : cliquer sur SETUP puis OBJECTIF puis sur 



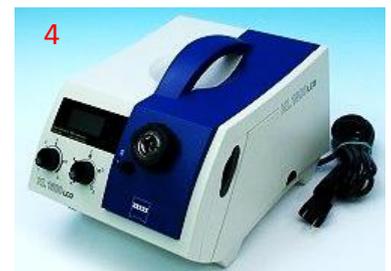
F

3. Allumer la multiprise.

4. Si elles sont éteintes, allumer les lampes halogènes (sur la face avant).

5. Allumer la caméra (bouton à l'arrière).

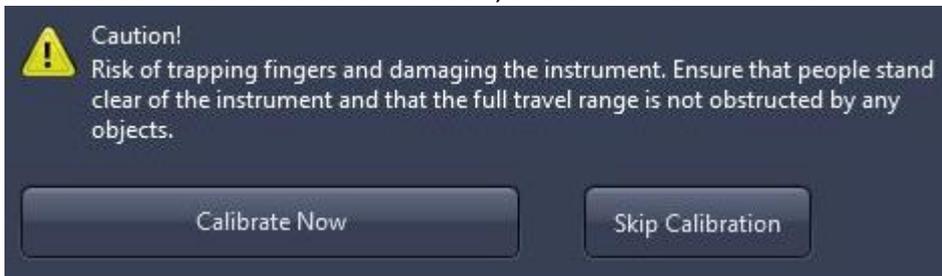
6. Allumer le PC et démarrer la session USER.



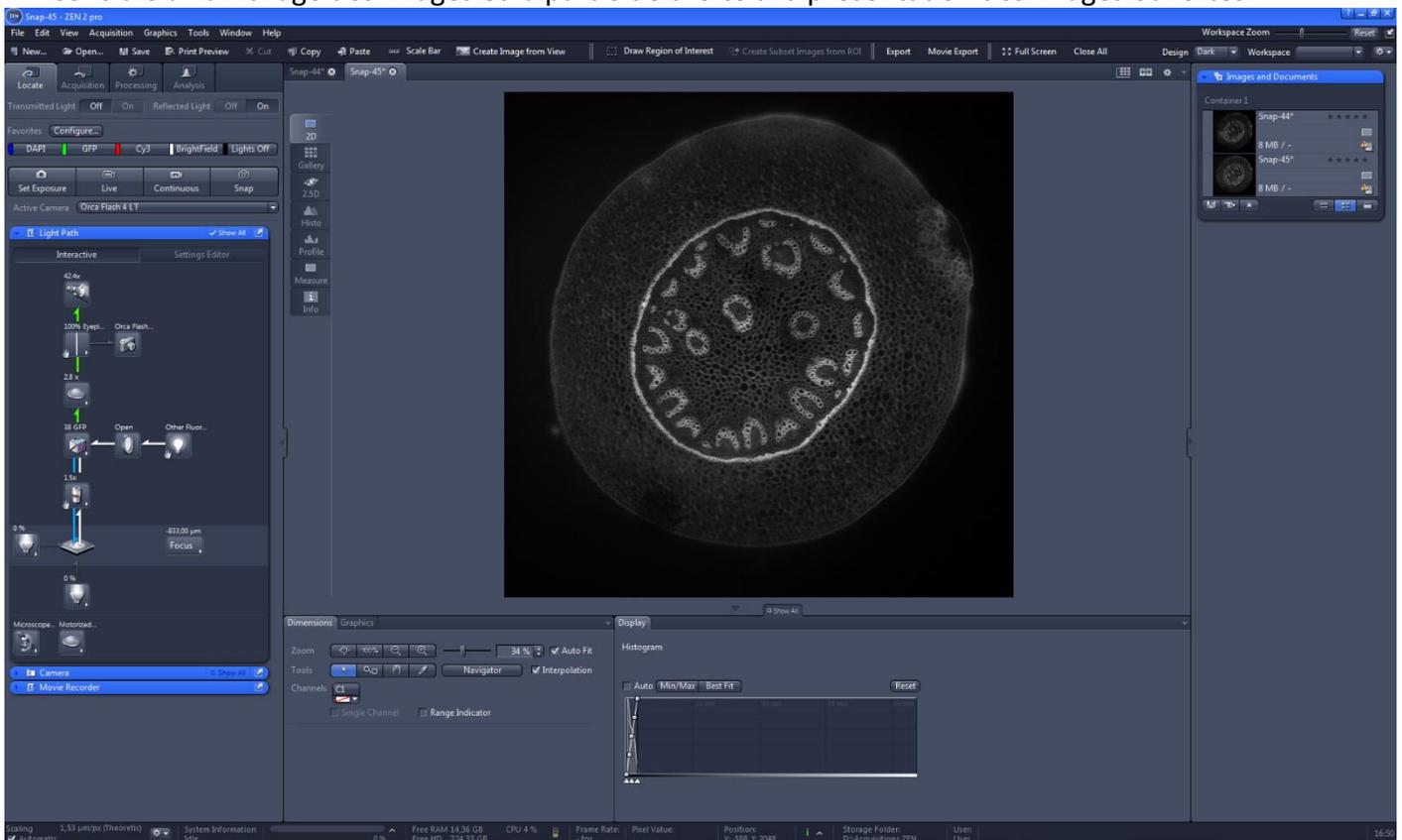
7. Démarrer le logiciel en cliquant sur l'icône ZEN sur le bureau.



8. Lors de la demande de calibration, choisir SKIP CALIBRATION



9. Le logiciel Zen se répartit en 3 parties: la partie gauche dédiée aux réglages des acquisitions, la partie centrale à l'affichage des images et la partie de droite à la présentation des images ouvertes.



OBSERVER AUX OCULAIRES

1. Mettez le miroir en position oculaire

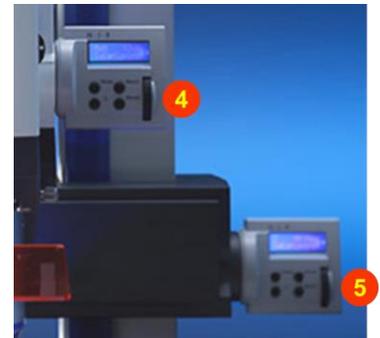
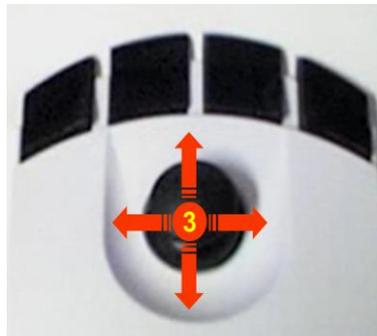


2. La manette SYCOP permet de régler tous les paramètres d'observation. Ceux-ci sont affichés sur l'écran principal HOME.



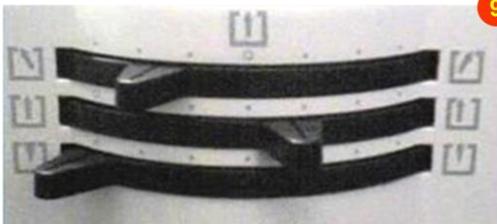
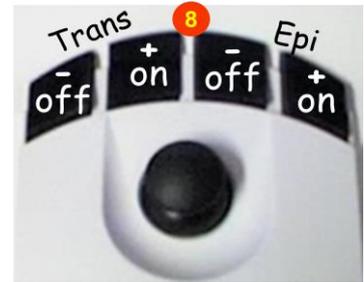
Réglage du zoom et du focus

3. bouger le joystick de gauche à droite pour régler le zoom et de haut en bas pour régler la mise au point. Bouger le joystick faiblement pour une variation fine.
Ou
4. Utiliser la molette du module H.I.P en haut pour régler le zoom.
5. Utiliser la molette du module H.I.P en bas pour faire la mise au point.
6. Enfoncer les boutons "Mem" pendant 2 sec pour sauvegarder une position ou un zoom. Possibilité de sauvegarder 2 positions par module puis faire un simple clic pour charger la position correspondante.
7. Sur le module de mise au point : cliquer sur la molette pour passer d'un réglage rapide à fin.
Sur le module de zoom : cliquer sur la molette pour ouvrir ou fermer le shutter de la lampe fluo.

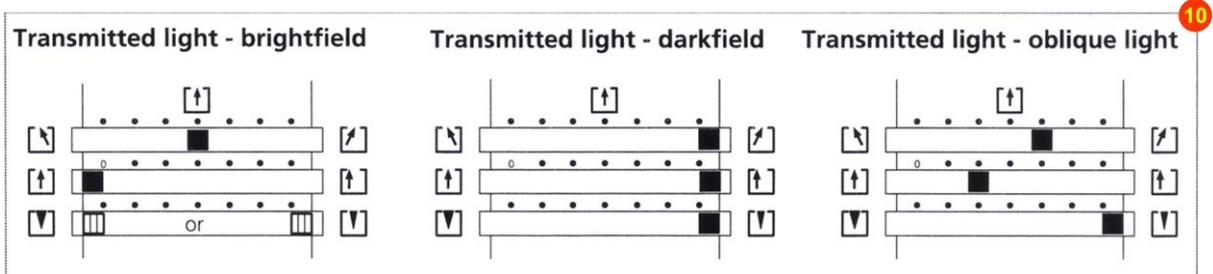


Utiliser la lumière blanche

8. Sur la manette SYCOP faire un double clic sur Off pour éteindre.
Faire un simple clic sur ON pour allumer.
Faire un clic long pour augmenter/réduire (+/-) l'intensité lumineuse.
9. Utiliser les languettes situées sur le côté droit pour ajuster l'illumination.



10. Utiliser la position correspondant au type d'illumination choisi puis utiliser les positions intermédiaires pour améliorer le contraste.



Utiliser la fluorescence

11. Sélectionner le filtre pour la fluorescence en appuyant sur le bouton de la roue de filtres.
- 12- cliquer sur la molette module de zoom en haut pour ouvrir/fermer le shutter de la lampe fluo.



OBSERVER AUX OCULAIRES A PARTIR DU LOGICIEL

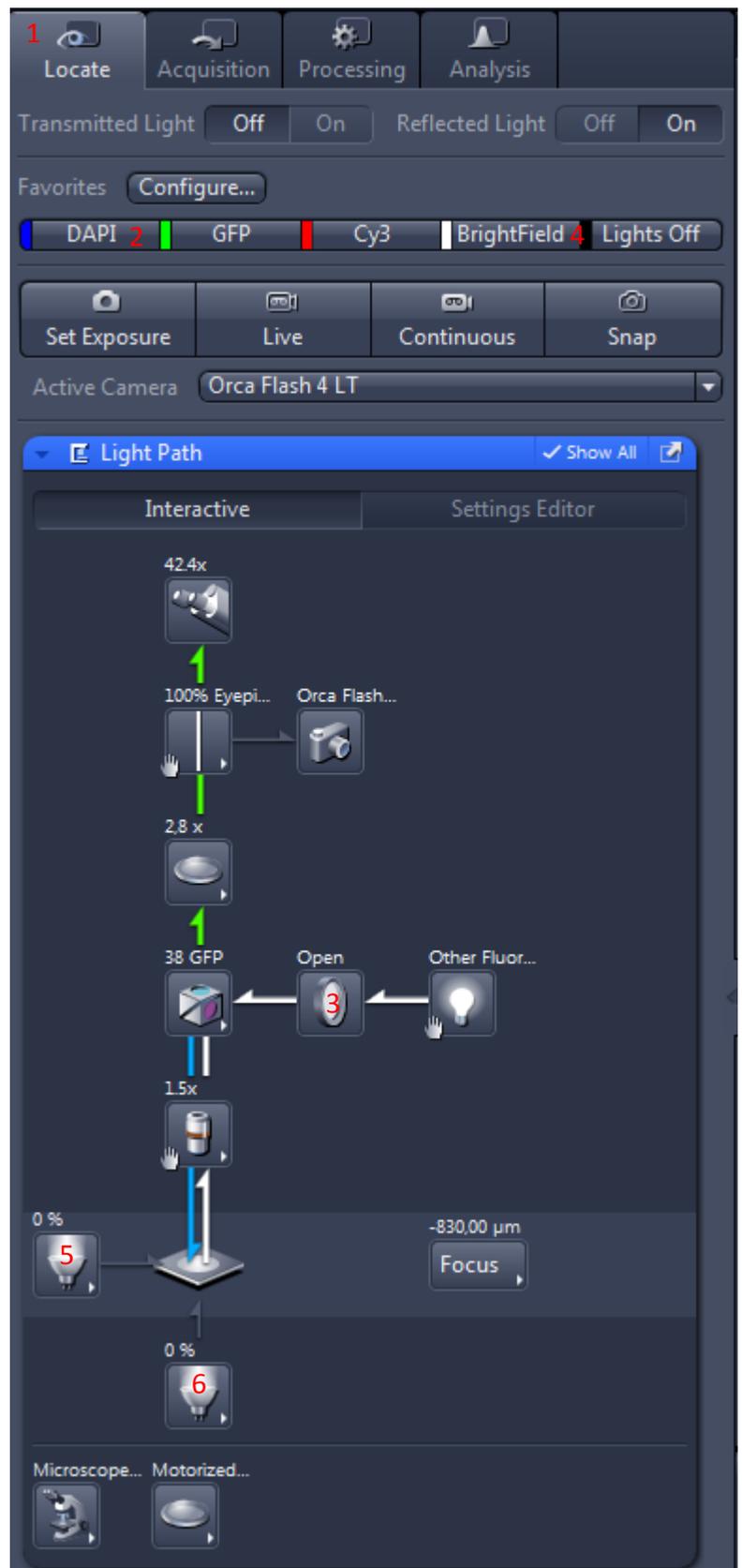
1. Choisir le 1^{er} onglet LOCATE.

En fluorescence

2. Cliquer sur le set de filtres à utiliser.
3. Ouvrir/Fermer le shutter pour la fluorescence.

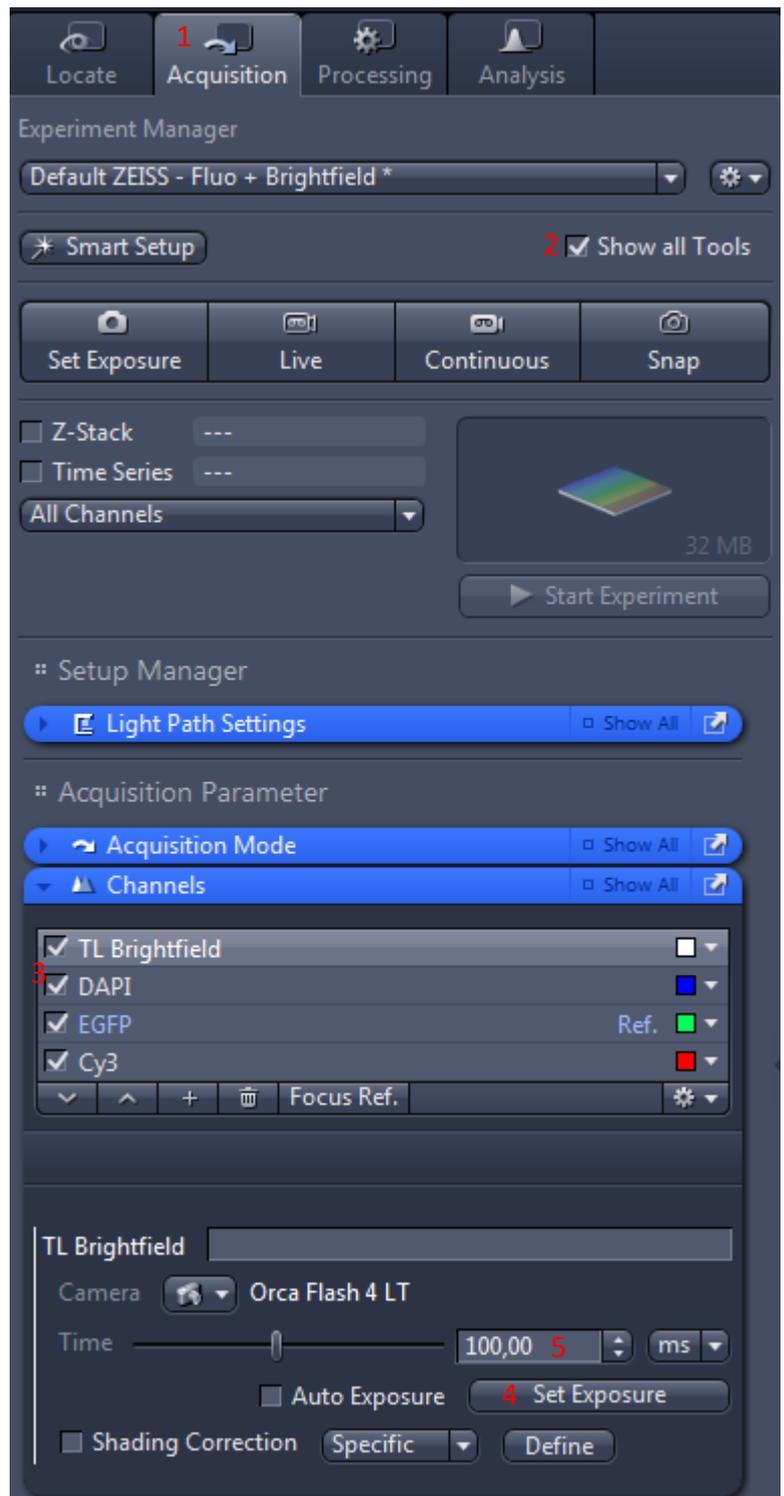
En lumière blanche

4. Cliquer sur BRIGHTFIELD.
5. Allumer/éteindre et choisir l'intensité de la lampe halogène en épi-illumination.
6. Allumer/éteindre et choisir l'intensité de la lampe halogène en transmission.
7. Faire les réglages des lampes et trajets lumineux décrits dans le chapitre précédent.



ACQUERIR UN OU PLUSIEURS CANAUX

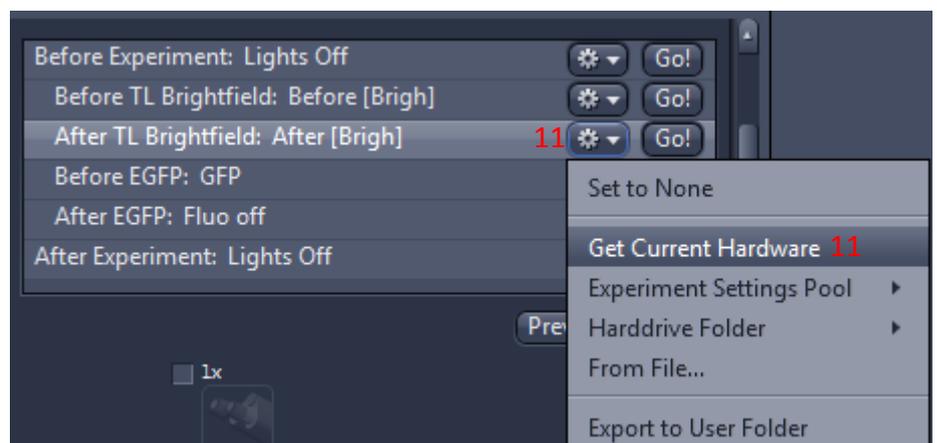
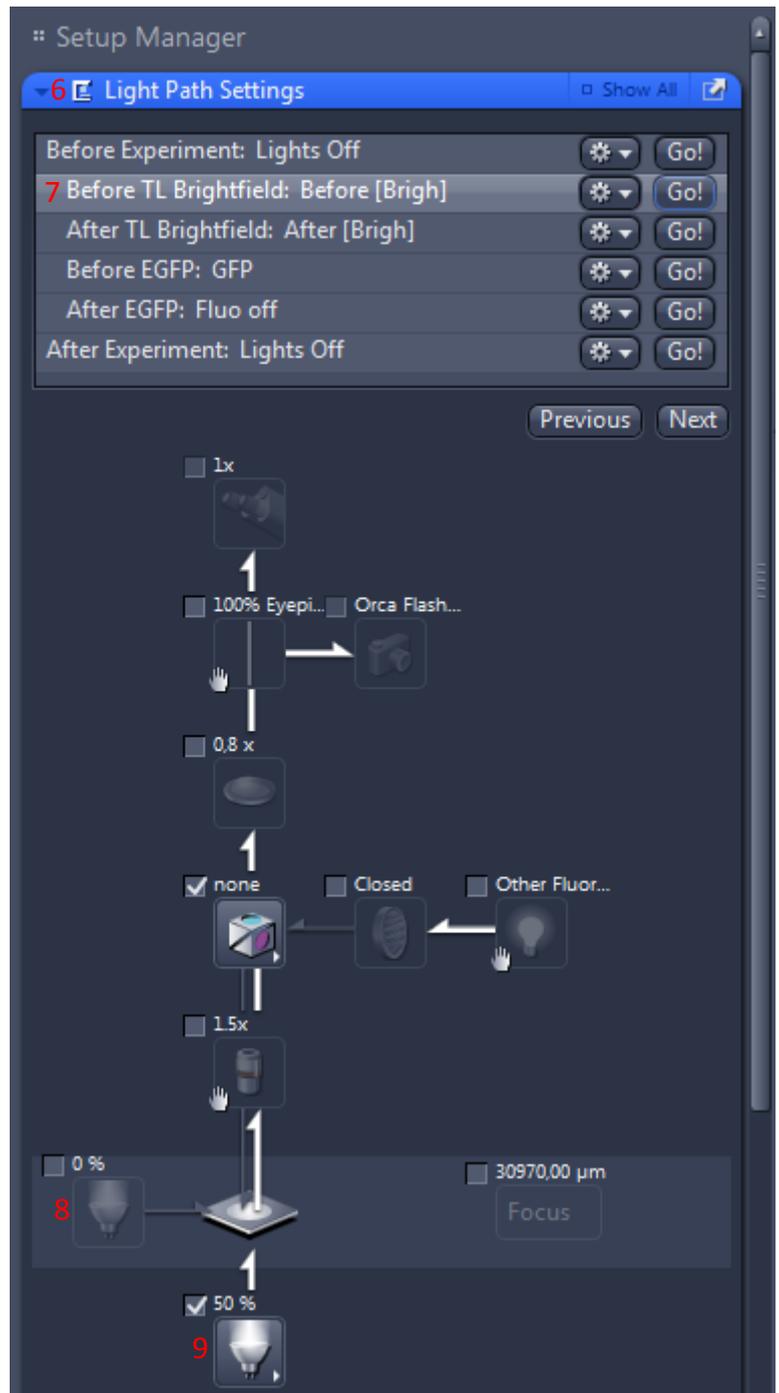
1. Choisir l'onglet ACQUISITION
2. Cocher SHOW ALL TOOLS
3. Dans la boîte d'outils CHANNELS, cocher les illuminations que vous souhaitez utiliser (fluorescence et/ou brightfield).
4. Cliquer sur SET EXPOSURE pour déterminer automatiquement le temps d'exposition nécessaire à l'illumination maximum du capteur de la caméra. (Il n'est souvent pas nécessaire d'atteindre les 16 bit de niveaux de gris de la caméra, pour avoir une bonne qualité d'image).
Ou
5. Choisir le temps d'exposition manuellement.



6. Si vous utiliser le canal brightfield, allez Dans la boîte d'outils LIGHT PATH.
7. Choisir le setting BEFORE BRIGHTFIELD
8. Allumer/éteindre et choisir l'intensité de la lampe halogène en épi-illumination.
9. Allumer/éteindre et choisir l'intensité de la lampe halogène en transmission.

Ou

10. Allumer à l'aide de la manette SYCOP, les lampes halogène à l'intensité voulue.
11. Puis, cliquer sur l'icône en forme d'engrenage puis sur GET CURRENT HARDWARE.

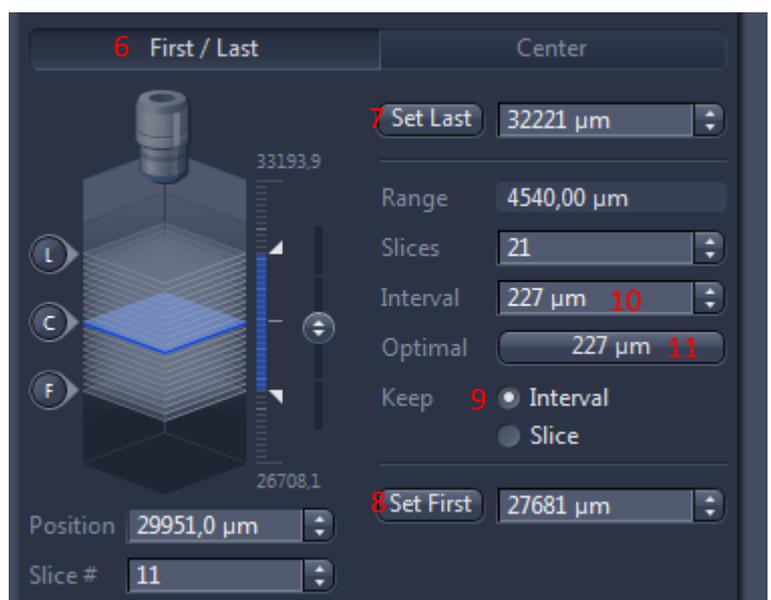
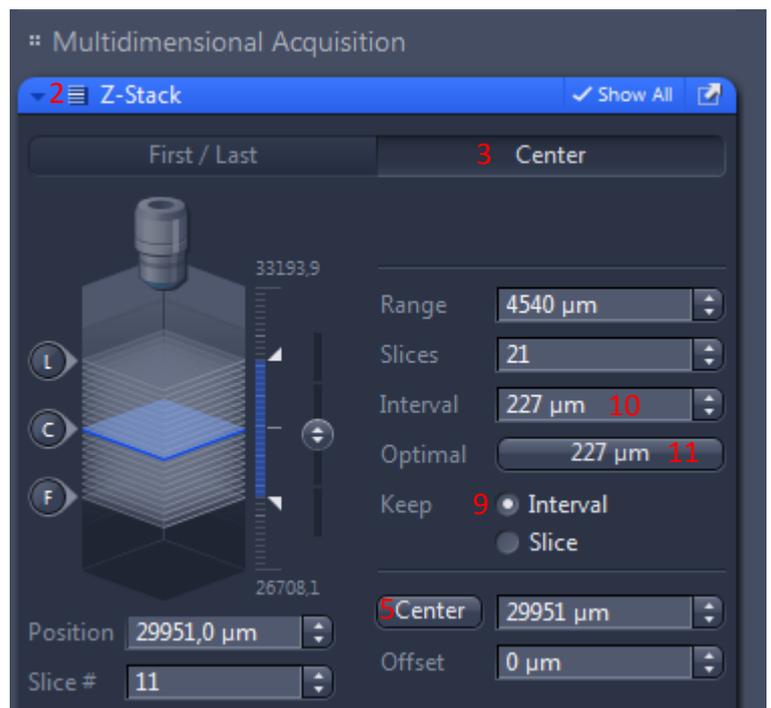


ACQUERIR UNE SERIE Z

1. Dans l'onglet ACQUISITION, cocher Z-STACK.
2. Aller dans le menu MULTIDIMENSIONAL ACQUISITION - Z-STACK.

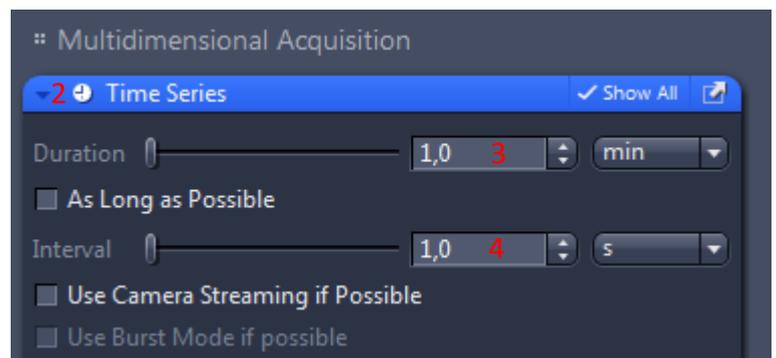
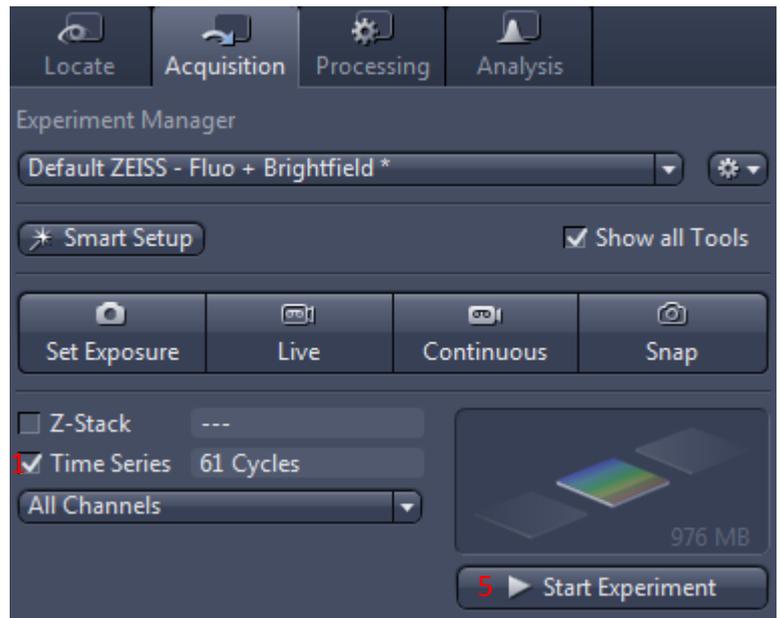
Il existe deux méthodes pour faire une série en Z :

3. Soit Choisir l'onglet CENTER
4. faire la mise au point au centre de l'échantillon
5. Cliquer sur le bouton CENTER
6. Soit choisir l'onglet FIRST/LAST
7. Faire la mise au point en haut, cliquer sur SET LAST
8. Faire la mise au point en bas, cliquer sur SET FIRST
9. Choisir la distance entre deux coupes en cochant INTERVAL
10. Ecrire l'intervalle en μm .
Ou
11. choisir la distance optimale affichée en cliquant dessus.
12. Choisir FULL Z-STACK PER CHANNEL afin de faire tout le stack avec un canal avant d'en changer.
Ou
13. Choisir ALL CHANNELS PER SLICE pour faire tous les canaux à chaque Z.
14. Cliquer sur START EXPERIMENT pour démarrer l'acquisition.



ACQUERIR UNE SERIE TEMPORELLE

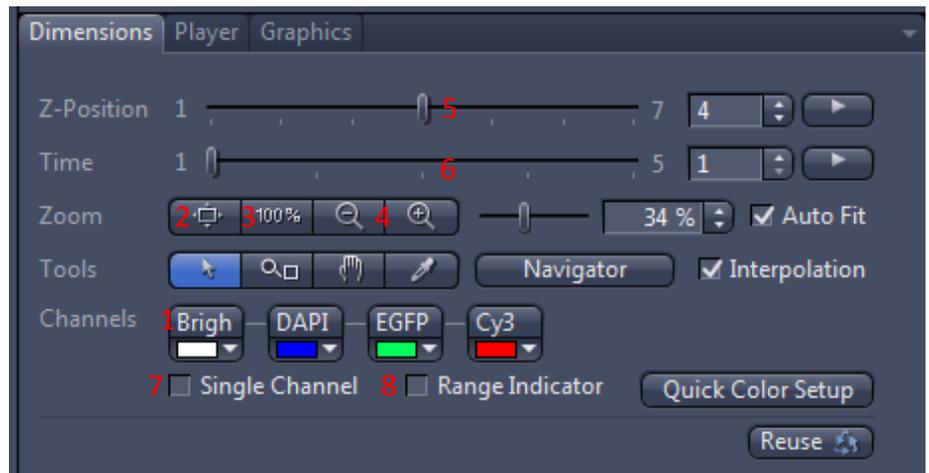
1. Dans l'onglet ACQUISITION, cocher TIME SERIES.
2. Aller dans le menu MULTIDIMENSIONAL ACQUISITION - TIME SERIES.
3. Choisir la durée de l'acquisition.
4. Choisir l'intervalle entre chaque point de temps.
5. Cliquer sur START EXPERIMENT pour démarrer l'acquisition



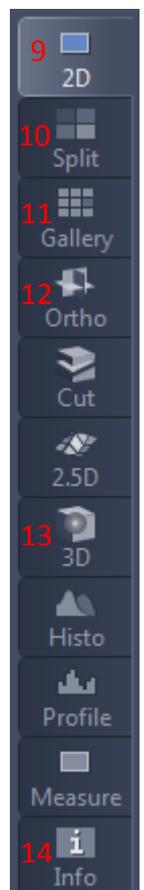
VISUALISATION DES IMAGES ACQUISES

Sous l'image se situe un panneau permettant de sélectionner les canaux visibles à l'écran.

1. Activer/désactiver les canaux visible à l'écran en cliquant sur le nom.
2. Zoom plein écran
3. Taille native de l'image (pixel de l'image = pixel écran)



4. Zoomer / dézoomer
5. Se déplacer dans le stack en Z
6. Se déplacer dans le stack en temps
7. Cocher SINGLE CHANNEL pour voir les canaux séparément.
8. Cocher RANGE INDICATOR pour voir les couleurs de réglages afin d'éviter la saturation.
9. Voir tous les canaux superposés.
10. Voir tous les canaux séparés.
11. Voir toute la galerie d'images
12. Coupe orthogonale XZ et YZ
13. Représentation 3D
14. Informations de l'image



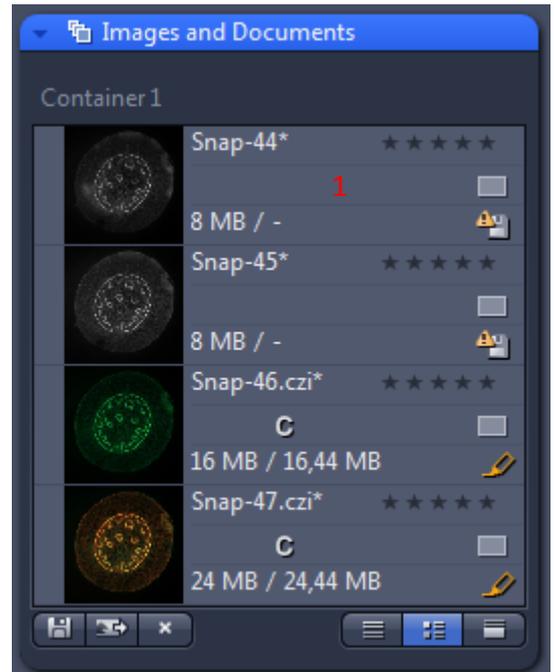
ENREGISTREMENT DES IMAGES

Enregistrement manuel

1. En haut à droite, sélectionner les images à sauver en cliquant dessus tout en maintenant la touche Ctrl enfoncée. Faire un clic droit puis SAVE. Sauver les images dans le dossier USER/année/mois/jour/nom d'utilisateur.

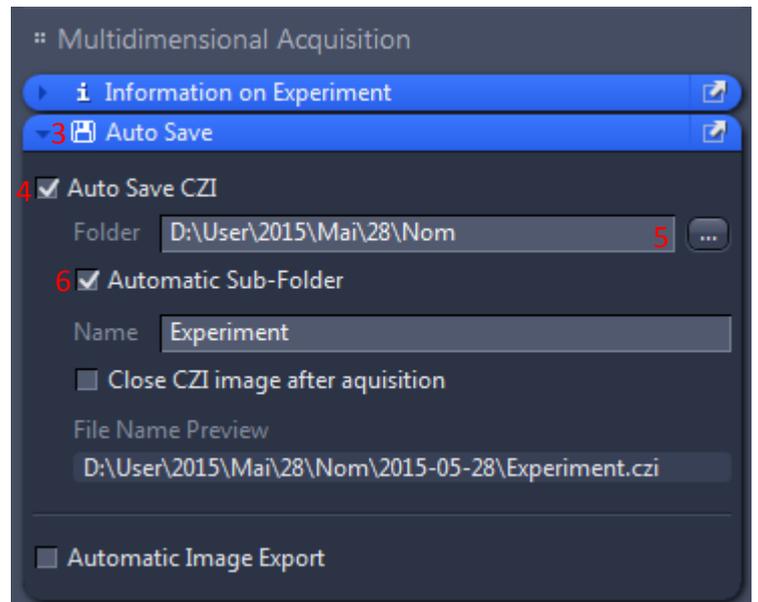
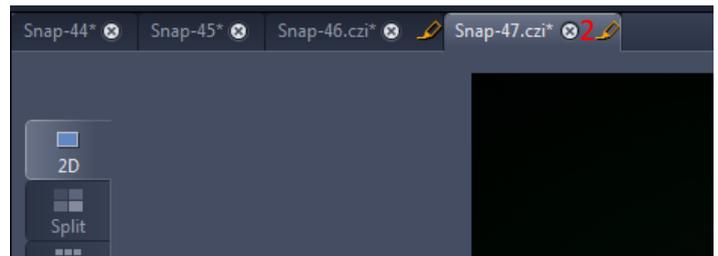
Ou

2. Sur l'écran central au-dessus des images, ou sélectionner l'image souhaitée en cliquant sur l'onglet. Dans le menu en haut à gauche, cliquer sur FILE – SAVE AS et sauvegarder l'image dans le dossier USER/année/mois/jour/nom d'utilisateur.



Enregistrement automatique

3. Dans l'onglet ACQUISITION, aller dans le menu MULTIDIMENSIONAL ACQUISITION - AUTO SAVE.
4. Cocher AUTO SAVE CZI.
5. Choisir le dossier USER/année/mois/jour/nom d'utilisateur.
6. Décocher AUTOMATIC SUB-FOLDER pour ne pas créer de sous-dossier à chaque expérience.



ETEINDRE LE SYSTEME

1. Fermer ZEN et vérifier sur le planning que personne n'utilise le système dans les 3 heures. Sinon laisser le système allumé.
2. Eteindre le PC.
3. Eteindre la caméra (bouton à l'arrière).
4. Eteindre la prise multiple.
5. Eteindre la lampe de fluorescence (FluoArc) en dernier.
6. Remettre la house de protection mais ne pas recouvrir la lampe fluo brillante.