# Tutoriel <u>Microscope confocal Leica SPE 2</u>



## Plateforme d'imagerie Quantitative

http://imageriepiq.u-strasbg.fr/

Faculté de pharmacie de Strasbourg CNRS UMR 7213 Laboratoire de biophotonique et Pharmacologie

## Allumage et extinction du système

## Mise en marche:

- 1) Allumez la lampe à vapeur de mercure [1] Il y a un shutter [2] en entrée de la fibre optique celle-ci se dégrade à l'usage. N'oubliez pas de refermer le shutter lorsque vous n'utilisez plus l'épifluorescence.
- 2) Allumez l'ordinateur (bouton de droite) et l'électronique de pilotage du microscope [3]
- 3) Allumez le banc laser [4] et tournez la clef [5]
- 4) Avant de lancer le logiciel, baissez les objectifs au maximum. La platine va se repositionner pour son initialisation, il ne faut pas qu'elle heurte les objectifs. Durant toute l'utilisation du microscope, rien de doit entraver les mouvements de la platine et de ses câbles.
- 5) Lancez le logiciel LAS-AF
- 6) Vous pouvez maintenant placer votre échantillon (Après initialisation de la platine)
- 7) Dans la page Configuration, allumez les lasers et sélectionnez une dynamique de 12 bits





## **Extinction:**

- 1) Enregistrez vos images et fermez LAS-AF.
- 2) Coupez les lasers [5] et éteignez le banc [4]
- 3) Eteignez la lampe de fluorescence [1] et l'électronique de contrôle du statif [3]
- 4) Si vous l'avez utilisé, nettoyez l'huile de l'objectif 63x. Ne nettoyez jamais l'objectif 20x. Le nettoyage doit être fait délicatement et uniquement avec le papier optique. Ne frottez pas la lentille, les traitements de surface sont délicats.
- 5) Rebaissez les objectifs au maximum.
- 6) Récupérez vos données et assurez vous de ne rien laisser sur les tables avant de partir.
- 7) Remettez la housse du microscope si vous êtes le dernier utilisateur du jour (attendez que lampe halogène soit froide !)

## **Remarques importantes**



Vérifiez que personne n'utilise le microscope après vous. Dans ce cas laissez tout les équipements allumés.

Fermez le shutter de la lumière de fluorescence lorsque vous passez en observation confocale. Prenez soin de la surplatine, veuillez à ne jamais forcer sa position sur z en appuyant dessus ou en le poussant vers le haut avec l'objectif.

## Présentation des équipements

- [1] Miroir de redirection vers les oculaires
- [2] Shutter de fluorescence
- [3] Cubes filtres
- [4] Molette de focus rapide
- [5] Molette de focus fin
- [6] Interrupteur de la lumière transmise
- [7] Variateur de la lumière transmise
- [8] Diaphragme de champ en fluorescence[9] Joystick
- [10] Déplacement sur l'axe Y
- [11] Déplacement sur l'axe X
- [12] Sensibilité du joystick
- [13] Interrupteur de la lampe à fluorescence
- [14] Shutter pré-fibre de la fluorescence
- [15] Variateur d'intensité de fluorescence
- [16] Shutter manuel de la lumière transmise
- [17] Diaphragme d'ouverture du condenseur









#### Changement d'objectif

La tourelle d'objectif est manuelle. Abaissez les objectifs avant de faire tourner le revolver. Si vous passez du 63x au 20x, n'oubliez pas de nettoyer votre lamelle à l'alcool, <u>il ne doit jamais y</u> <u>avoir d'huile sur l'objectif 20x</u>

#### 1. Démarrage

- 1) Lancez le logiciel LAS AF avant de placer votre échantillon. Avant de lancer l'initialisation de la platine, veuillez à ce que les câbles puissent se déplacer librement et à ce que les objectifs soient baissés.
- 2) Choisissez votre objectif, faites attention à ne pas heurter la platine avec.
- 3) Placez votre échantillon. Prenez soin de ne pas appuyer sur la surplatine z.
- 4) Placez vous en mode d'observation aux oculaires [1]

#### En lumière transmise

- Sélectionnez le mode de lumière transmise [6]

- Ajustez l'intensité d'éclairement [7], faites la mise au point avec le focus du statif [4&5] et trouvez votre zone d'intérêt avec le joystick [9]

#### En fluorescence

- Ouvrez le shutter d'entrée de fibre [14] (le voyant lumineux est allumé)

- Sélectionnez un cube de fluorescence [3]
- Ouvrez le shutter du statif [2]

- Ajustez la puissance de l'illumination sur le boitier de la lampe [15]

- Utilisez le contrôleur de la platine et le focus du statif pour trouver votre zone d'intérêt.

- Coupez la fluorescence avec le shutter du statif [2] dès que vous n'observez plus l'échantillon pour éviter le bleaching.

- Coupez la fluorescence avec le shutter d'entrée de fibre [14] quand vous passez en mode confocal. En effet il s'agit d'une fibre à liquide qui est photosensible, il faut la solliciter le moins possible pour la faire durer.

#### **<u>2. Acquisition confocale</u>**

5) Il n'y a aucune manipulation à faire sur le microscope, le renvoi de l'image sur le détecteur est automatique lorsque l'on prend la main sur le logiciel.



- 6) Entrez dans la page *Configuration* [A]:
  - Dans *Settings* <u>passez le paramètre *Resolution* de *8bits* à *12bits* (il s'agit de la dynamique de l'image, soit le nombre de niveaux de gris)</u>
  - Dans Lasers cochez les raies laser dont vous avez besoin.
- 7) Passez dans la page Acquire [B]: Celle-ci contient 3 onglets: Experiment, Beam Path et Acquisition
- 8) Mode de scan (Onglet Acquisition)



Définissez les dimensions à scanner [1]:

Balayage dans le plan horizontal (xyz), vertical (xzy), acquisition temporelle (t), balayage spectral( $\lambda$ )

Etant donné que notre système n'a qu'un seul PMT, vous travaillerez qu'en mode séquentiel [2], toutefois, ce mode doit être désélectionné pour pouvoir utiliser les modes de balayages multispectraux ( $\lambda$ -scan)

#### 9) Par Plateforme d'Imagere Quantitative <u>http://imageriepiq.u-strasbg.fr/</u>

*Format* : Taux d'échantillonnage, il est à ajuster à la résolution dans le cas idéal, le pixel size vaut la moitié de la résolution.

*Speed*: Vitesse de balayage, elle influe sur la quantité de signal recueilli (pixel time) et donc le rapport signal/bruit.

*Pinhole*: Cliquez sur le bouton pour faire apparaître le menu la glissière. La coupe est optimale pour une unité d'Airy (cliquez sur *Airy 1*)

*Zoom factor* : Zoom confocal, il est à 1.5 par défaut et ne peux être en dessous de 3 en balayage rapide.

*Frame Average*: En faisant une image moyenne sur plusieurs passages, on réduit le bruit de fond au détriment du photobleaching et du temps d'acquisition. Il est aussi possible de sommer plusieurs expositions (*Accu*)



#### **Echelles** :

*Pixel size* donne la taille latérale du pixel, soit l'échantillonnage XY. Il dépend de *Format, Zoom* et du grandissement de l'objectif.

*Section thickness* donne la hauteur du voxel, soit l'épaisseur de la coupe (échantillonnage Z) Il dépend de l'ouverture du pinhole et de l'ouverture numérique de l'objectif.

10) Séquence d'acquisition (Onglet Beam PathSettings)

En mode séquentiel, cliquez sur + pour Ajouter un canal – pour le supprimer, le canal sélectionné (en rouge) est en cours d'édition [1]

#### Chargement des canaux de détection [2]

- Moyennes et cumuls

• Si *Seq*. [3] est activé, vous avez accès à la banque de séquences qui vous permet de sauver et de charger une séquence contenant plusieurs canaux.

• Si *Single* [3] est activé, vous avez accès à la banque de canaux qui vous permet de sauver et de charger le canal en cours d'édition.

Banques Single. et Seq.	Paramètres non sauvegardés:
- Les fenêtres spectrales de détection	- L'échantillonnage
- Le gain et l'offset du PMT	- Le zoom
- La puissance du laser	- La vitesse
- Le miroir dichroïque	- Options de scan bidirectionnel
- La couleur du canal	- Settings de time lapse
- L'ouverture du pinhole	- Settings de balayage spectral
-	- Settings de stacks tridimentionnel
Banques Seq. uniquement	-
- L'option Stack by Stack	

• *Stack by stack* [5] est une fonction pour les acquisitions 3D (voir chap. 5)

• *Visible* [4] doit être allumé pour que les lasers soient actifs et le PMT doit être activé [12]

• Choisissez votre raie laser d'excitation [6] et sa puissance.

• Choisissez un miroir dichroïque [7] qui reflète les raies d'excitation de tous vos canaux. Il risque d'y avoir un décalage latéral enter les canaux s'ils n'ont pas le même dichroïque.

RT 30/70	30% de la lumière est réfléchie (utilisé
	pour le balayage spectral)
QD 405/488/561/635	Les valeurs indiquées sont celles des
DD 488/561	longueurs d'ondes réfléchies

• Choisissez la couleur attribuée au canal [11].

 $\circ$  Un base de données des fluorophores courants [9] permet d'afficher les spectres d'émission pour ajuster les fenêtres de détection.

 $\circ$  [10] Déplacez et étirez la fenêtre spectrale de détection à recouvrir le spectre d'émission. Double-cliquez sur la barre pour entrer les valeurs limites de la bande passante.

#### 11) **Paramètres de détection**

**Remarque :** Il n'y a pas de procédure linéaire pour optimiser une image confocale, la plupart des paramètres influents les uns sur les autres et il y a souvent des compromis à faire. Les critères de qualité prioritaires dépendent du type d'acquisition et du type d'analyse que vous voulez faire, reportez vous à l'**annexe 1.Qualité de l'image** pour plus de détails.

• Dynamique.

La dynamique est le nombre de niveau de gris exploités, plus elle est étendue plus l'image est informative. Dans la plupart des cas, on peut garder quelques pixels saturés (environ 1%) Pour visualiser la saturation, cliquez sur le bouton *Palette* (écran de droite) pour faire apparaître les pixels saturés en bleu et les pixels nuls en vert

• Le temps de faire vos réglages, vous pouvez choisir un échantillonnage faible (512\*512 ou 256\*256) Le scan sera plus rapide sans modifier la dynamique. Pendant cette étape de réglage il faut réduire le photobleaching au maximum.

Valeurs de bases conseillées : laser 15-20%, gain [12] de 700-800 V, offset [13] à 0







• Lancez le scan live

• Utilisez le contrôleur de la platine pour affiner votre position sur Z. Vous pouvez utiliser le zoom confocal (dans l'onglet *acquisition*) pour cibler votre zone d'intérêt.

• Ajustez le gain et la puissance du laser pour avoir un contraste satisfaisant.

- En augmentant la puissance du laser, vous augmentez le photoblanchiment. Vous augmentez aussi son effet phototoxique (il détériore la cellule) qui peut influer sur le phénomène que vous observez.

- En augmentant le gain (amplification du PMT), vous augmentez le bruit de détection, évitez au possible de le pousser au delà de 1000

• Augmentez l'*Offset* du PMT [13], c'est-à-dire le seuil de détection, jusqu' à voir quelques pixels verts apparaître dans le fond de l'image (jusqu'a 1%) L'offset décale le cadre de lecture de la dynamique si on le modifie on peut retoucher le gain.

#### • Pinhole

Utilisez la glissière dans l'onglet Acquisition pour régler l'ouverture du pinhole.

En fermant le pinhole, on diminue l'épaisseur de la coupe optique mais aussi la quantité de signal détectée.

• Stoppez le scan live quand vous avez un contraste satisfaisant.

• Si l'image est bruitée vous pouvez faire une moyenne sur plusieurs scans avec *Average*. Cette fonction allonge le temps d'acquisition et donc augmente le bleaching. Les moyennes ne sont pas prises en compte dans le live. Utilisez la fonction *Capture Image* pour lancer une acquisition sur le canal en cours d'édition (cette image est sauvegardée)

Capture Image | 🔵

• Faites ces réglages pour chaque canal.

• Cliquez à nouveau sur l'outil *Palette* dans la fenêtre image pour revenir à une visualisation en fausses couleurs classique.

• Réglages communs à tous les canaux

- *Speed* en réduisant la vitesse vous augmentez la quantité de lumière collectée ce qui améliore considérablement le contraste et le rapport signal sur bruit.

- Pour activer le balayage bidirectionnel, cochez la case *Bidirectional X*. Une glissière de correction de phase apparaît, la phase de balayage est à régler manuellement en mode live.

Ce type de balayage permet de d'augmenter la vitesse de scan sans perte de signal.

- *Format* et *Zoom* (échantillonnage) quand vos canaux sont réglés, vous pouvez reprendre un échantillonnage plus important (1024\*1024) pour lancer l'acquisition.

• Ajustement des fenêtres spectrales

Plus la bande passante de détection est large plus le PMT collectera de signal, après l'avoir modifiée il faut revoir les paramètres de gain/offset.

Une bande passante large récoltera également plus de signal non spécifique (tel que l'autofluorescence) et augmentera le bruit de fond.

En réduisant la fente spectrale on améliore la spécificité de la détection. Dans le cas d'un marquage multiple, il y a un risque de recouvrement spectral à l'émission.

Par exemple dans un marquage Dapi –GFP, on veillera à ne pas prendre les longueurs d'ondes les plus hautes du Dapi car elles correspondent aussi à celles de la GFP. La GFP étant partiellement excitée à 405, on retrouvera du signal GFP dans le canal Dapi.



12) *Start* lance le protocole d'acquisition complet, c'est-à-dire tout ce qui a pu être paramétré: canaux multiples, volume z, time lapse, multiposition, balayage spectral ...

Les réglages peuvent être assez longs, une fois optimisés, il est conseillé de travailler sur un autre champ qui n'a pas subit de photobleaching.

#### 3. Fenêtre de visualisation

## Icône de LUT (Look Up Table)

La lut est la gamme de couleur représentant les niveaux de gris, on peut basculer entre une échelle de gris, une couleur ou bien la lut de saturation. Cette dernière est utilisée pour ajuster la dynamique, elle présente les pixels ayant pour valeur 0 en vert et les pixels saturés en bleu. Les nivaux intermédiaires s'étendent dans une gamme rouge/orange/blanc



On peut choisir les canaux affichés dans l'overlay.

Pour visualiser un seul cadran en plein écran, double cliquez dessus.

On peu retoucher le contraste pour la visualisation, en cliquant sur la barre de contraste on peut changer la LUT de couleur.

#### 4. Formats et gestion des données (Onglet Experiment)

- Toutes les images créées avec *Capture Image* et *Start* sont stockées dans un fichier temporaire. On peut renommer ces images et le classer dans des dossiers (*New*)
- Lorsque l'on enregistre les images, un fichier au format .lif et crée pour chaque dossier.
- Ces fichiers peuvent êtres lu avec LAS-AF-Lite (<u>ftp://ftp.llt.de/softlib/LAS\_AF\_Lite/</u>) ou avec FIJI (<u>http://fiji.sc/wiki/index.php/Fiji</u>)

• On peut rappeler tout les paramètres utilisés dans une image enregistrée en double-cliquant sur *Apply*, n'hésitez pas à vous en servir !



 $\circ$  Exportation : pour exporter les images n'utilisez que le format .tif pour lequel il n'y a pas de perte de données. (clic droit puis *Export*)

Dans ce mode, les .tif ne sont pas des stacks, il y a un fichier enregistré pour chaque image de la série, avec la nomenclature suivante :

Séries numéro d'acquisition

- \_z numéro de position dans le stack3d
- \_ch numéro de canal
- \_t numéro du timepoint
- \_la numéro de point d'échantillonnage spectral

D'autres fichiers contenant les métadonnées accompagnent les images.

#### 4. Timelapse

Choisissez un mode comprenant la dimension temporelle (t) et ouvrez le menu *t* dans l'onglet *Acquisition*.

Le time lapse est caractérisé par 3 valeurs:

*Time interval* : Temps écoulé entre chaque image, on peut limiter au temps d'acquisition en cochant *Minimize*.

*Frame*: Nombre de timepoint.

Duration: Durée totale de l'expérience.

Acquire until stop: Timelapse de durée non prédéfinie

Cliquez sur Accept pour valider le timelapse.

t: 1   00:00:01.36	0 h   00:00:01.360 h	00
Time Interval:	0 h 0 m 1 :	360 ms
Minimize		
Acquire unti	l stopped	
Duration	0 d 0 h 0 m	1 s 360 ms
O Frames	1	
	Reset	Apply

### 5. Acquisition tridimentionnelle

Choisissez un mode comprenant la dimension axiale (z) et ouvrez le menu Z-stack dans l'onglet *Acquisition*.

1) Le plan orange représente la position actuelle, vous pouvez vous déplacer sur Z :

en déplaçant ce plan sur l'image

en cliquant sur le plan et en utilisant la molette de la souris

avec la molette z sur le tableau de bord

- Lancez le Live

2) Pour définir le volume, déplacez vous sur z et enregistrez les positions limite *Begin* et *End* en cliquant sur les étiquettes sur le coté du plan.

Les étiquettes sont rouges quand leurs positions sont fixées. La position courante est indiquée dans z-position.

- Stoppez le live.

Set Plane permet de mémoriser la position d'un plan dans le stack

Go to sert à déplacer la position courante vers le plan mémorisé, la limite haute ou la limite basse du volume.

La hauteur du stack est indiquée dans z-volume.

3) Cochez *Nr. of steps* ou *z-step size* (n'utilisez pas *System optimized*) Entrez le nombre coupes ou l'intervalle de déplacement entre chaque plan.

4) Pour optimiser l'intervalle entres les plans (soit l'échantillonnage Z), il faut l'ajuster à l'épaisseur de la coupe (résolution axiale).

- Cliquez sur *Section Thickness* (cf. page 4), cliquez sur *Apply to step size* (sans vous soucier de la formule) et fermez cette fenêtre.

Le *Step size* a maintenant pour valeur la moitié de la résolution axiale, ce qui nous place dans les conditions d'échantillonnage de Shannon-Nyquist.

Si l'option *Stack by stack* est enclenchée, le z- stack 3D complet est scanné pour le premier canal avant de passer au second, sinon tous les canaux sont scannés sur un plan avant de passer au plan suivant.

En gardant cette option le temps d'acquisition sera plus rapide (moins de déplacement de fenêtre spectrale) Sur un échantillon vivant mieux vaut décocher l'option car les éléments peuvent se déplacer avant que l'on passe au canal suivant

5) Pour lancer l'acquisition 3D, cliquez sur Start. Une estimation du temps restant est affichée en bas à droite.



#### 6. Balayage Spectral

Le  $\lambda$ -scan consiste à prendre une série d'image à des longeurs d'ondes différentes en déplaçant une fenêtre spectrale fine que l'on va déplacer le long du spectre. La pile d'image obtenue permet de mesurer un spectre sur chaque pixel.

Choisissez le mode d'acquisition simultané pour avoir accès à la dimension spectrale axiale ( $\lambda$ ) et ouvrez le menu *Lambda-Scan Range Properties*.



Entrez les limites de la bande passante à balayer dans *Begin* et *End. Band width* donne la largeur de la fenêtre qui va balayer le domaine, soit la résolution spectrale.

Entrez ensuite le nombre de points d'échantillonnage dans *Nb of steps*. L'intervalle séparant ces points est affiché dans *Interval*. Pour recouvrir tout le domaine scanné sans qu'il y ait de recouvrement des bandes passantes entre deux échantillons successifs, prenez un intervalle qui ait la valeur de la résolution définie dans *Band width*.

-Scan Range Properties:	00
Detection Begin:	500 nm
Detection End:	599 nm
Total Detection Range:	99 nm
Detection Band Width:	10 nm
No. of Detection Steps:	34 7.5
λ-Detection Stepsize:	3 nm _
PMT Selection:	1



### Annexe 1 Qualité de l'image

Les critères de qualité de l'image sont:

- La résolution (xy et z, la résolution axiale)
- Le contraste, la dynamique (répartition des niveaux de gris) doit être exploitée au maximum.
- Le rapport signal sur bruit.
- La vitesse d'acquisition (résolution temporelle pour un time lapse)
- Le photoblanchissement et la phototoxicité.

Paramètre	Effet (de l'augmentation)
Gain du PMT	Il augmente le signal mais génère du bruit. Evitez d'aller au-delà de 1000V
Offect	Définit l'origine de la dynamique en conservant son étendue. Il peut seuiller le
Olisei	bruit de fond voir couper le signal spécifique s'il est trop haut.
Puissance du laser	Améliore le rapport signal sur bruit. Accélère photobleaching et phototoxicité
Vitesse de scan	Diminue le photobleaching, l'intensité du signal et le rapport signal/bruit.
Echantillonnage	Augmente le temps d'acquisition et du photobleaching.
Ouverture du ninhele	Baisse de la résolution, en particulier sur Z (diminution de l'effet confocal)
	Augmente considérablement le signal.
Zoom	Diminue la surface de balayage en conservant le même nombre de pixel.
ZOOIII	Augmente l'échantillonnage (réduction du pixel size)
Moyenne	Améliore le rapport signal sur bruit. Augmente le temps d'acquisition et le
Average	photobleaching.

### **Quelques pistes:**

- ▶ Pour une image de présentation (observation "simple"):
  - Saturer légèrement l'image pour exploiter toute la dynamique.
  - Choisir un taux d'échantillonnage maximal.
  - Moyenner plusieurs images s'il n'y a pas d'éléments mobiles.
- ► Pour une quantification
  - Il ne doit y avoir ni saturation, ni seuillage.
  - Les conditions d'acquisitions doivent être identiques entre les différents échantillons observés.
  - Il préférable de régler les paramètres sur les tests supposés donner le plus de signal.
- ► Pour une collocalisation
  - Adapter l'échantillonnage à l'échelle des structures observées.
  - Vérifier qu'il n'y a pas de croisement des spectres d'émission.

- Sur du matériel vivant, pensez que les éléments peuvent avoir bougé entre l'acquisition des canaux successifs

- ► Pour une image 3D
  - Adapter le nombre de coupes à l'ouverture du pinhole.

- Limiter le photobleaching, il se produit sur toute l'épaisseur de l'échantillon bien que l'on observe qu'une coupe optique. Il faut s'assurer de ne pas avoir tout bleaché avant de finir le stack

▶ Pour un time lapse

- Selon la dynamique du phénomène observé, la vitesse peut être primordiale
- Limiter le photobleaching et la phototoxicité

### Annexe 2 Résolution des problèmes courants

Voici une liste de points à vérifier si vous êtes bloqué.

Plantage logiciel

- Notez les messages d'erreur pertinents et transmettez-les à l'équipe imagerie, même si vous avez résolu le problème vous-même (reboot du logiciel, de la session ou du PC).

- N'oubliez pas qu'en relançant le système, la platine va de nouveau se réinitialiser, vérifiez qu'elle peut se déplacer librement et rebaissez les objectifs.

Lumière transmise

- Le statif est bien en mode "Observation visuelle"
- La potence du condenseur est bien rebaissée
- Le variateur de la lumière transmise est à un niveau suffisant
- Passez en fluorescence (choisissez un filtre) et revenez en mode transmission
- Le shutter manuel sur le condenseur est ouvert.

#### Fluorescence

- Le statif est bien en mode "Observation visuelle"
- La lampe à vapeur de mercure est allumée.
- Le shutter du statif est ouvert.
- Le shutter d'entrée de la fibre est ouvert.
- Vous utilisez le bon cube de filtres (vérifiez que la lumière d'excitation sort de l'objectif)

#### Image confocale

- La clef du banc laser est tournée.
- Les lasers sont allumés dans Configuration
- Les lasers sont activés (bouton Visible)
- Vérifiez que la raie laser sort bien de l'objectif.
- Le PMT est bien activé.
- Vérifiez le gain et l'offset du photomultiplicateur, la position de la fente spectrale.
- Le miroir dichroïque sélectionné correspond à vos raies d'excitation.

- Vérifiez votre position sur l'axe Z, votre structure d'intérêt est peut être hors de la section optique, vous pouvez ouvrir le pinhole pour épaissir la section optique.

- Si vous utilisez un zoom, votre structure d'intérêt est bien dans le champ observé.
- Le bon cadran est sélectionné dans la fenêtre de visualisation
- L'objectif est propre : au 20x n'a pas de trace d'huile, il doit rester parfaitement sec.

- au 63x il n'y a pas de bulle dans l'huile.

#### Impossible de faire le focus

- Vérifiez la propreté de l'objectif (voir ci dessus)
- Renseignez vous sur la qualité du support (épaisseur des lamelles, boites à fond en plastique ...)

- Si vous êtes au bord de l'échantillon, il est possible que bord de l'objectif pousse l'insert de la surplatine. Dans ce cas replacez votre échantillon. Prenez soin de ne jamais forcer la surplatine.

#### Contacter le PIQ

La réservation des instruments sur ActivPlaning est obligatoire: http://activplanning.u-strasbg.fr/ En cas de problème, pour toute demande de formation ou de projet, adressez vous à l'ingénieur du plateau : Romain Vauchelles: 0368854298 romain.vauchelles@unistra.fr Site du plateau d'imagerie quantitative: <u>http://imageriepiq.u-strasbg.fr/</u> Responsables scientifiques: Philippe Rondé: 0368854184 Jan De Mey : 0368854290