

**epi-fluorescence**  
microscope



## epi-fluorescence microscope

Certaines substances dès qu'ils sont excitées avec de la lumière de certain longueur d'onde, possèdent-elles la capacité d'émettre à nouveau de la lumière d'une longueur d'onde plus grande que celle-là, étant donné son structure chimique. Ce propriété s'appelle fluorescence et elle concerne à certaines molécules tel que collagène, élastine, lignine ou chlorophylle et d'une série de composants chimiques, les fluorochromes (FITC, DAPI, TRITC) avec des nombreuses et différentes applications; à souligner ces deux techniques de routine dans des laboratoires d'investigation et diagnostic dans lesquelles il est indispensable l'utilisation du microscope de fluorescence :

- Immunofluorescence (IF): il consiste à la détection et marquage de certaines molécules d'intérêt dans de biopsies ou coupes histologiques avec l'utilisation d'anticorps spécifiques conjugués avec certain fluorochrome ce qui permet le diagnostic de certaines maladies.

- Hybridation in situ avec fluorescence (FISH): il consiste à l'hybridation de certains parties de DNA avec ce qui sont les sondes marquées avec fluorochrome, ce qui permet la détection de mutations et altérations génétiques en facilitant le diagnostic prénatale et la détection et diagnostic de certaines tumeurs

## théoriques fondements

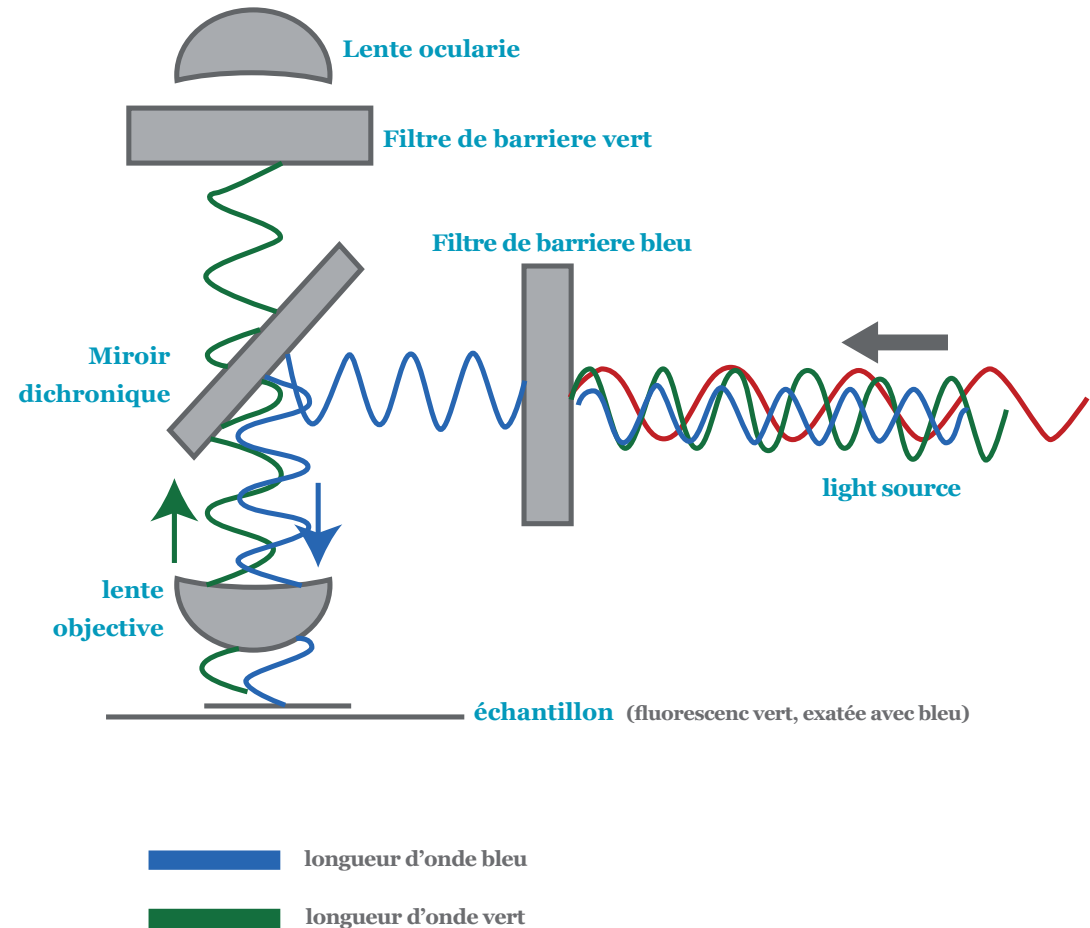
La epi-fluorescence ou fluorescence de lumière reflétée consiste à l'incidence d'un faisceau de lumière de certaine longueur d'onde sur l'échantillon à voir. Cet échantillon absorbe l'énergie de la lumière incidente et émet à nouveau de la lumière à une longueur d'onde supérieure à celle-là.

Pour permettre ce phénomène il est nécessaire l'utilisation d'un système de filtres (cubes) avec les suivants composants :

- Filtre d'excitation (EX): il sélectionne la longueur d'onde de la lumière incidente.
- Miroir dichroïque (DM): Il reflète la lumière de certaines longueurs d'onde tandis qu'il laisse passer la lumière de longueurs d'onde supérieures. De cette façon-là il reflète la lumière d'excitation pour que celle-ci arrive à l'échantillon tandis qu'il laisse passer la lumière émise par les substances fluorescentes
- Filtre d'émission ou barrière (BA): il sélectionne la longueur d'onde fluorescente émise par le fluorochrome et permet qu'il arrive aux oculaires.

Au suivant graphique on montre un schème du fonctionnement du microscope d'epi-fluorescence. La lumière arrivée de la source (lampe de mercure), elle traverse d'abord un filtre dont-il sélectionne la longueur d'onde capable d'exciter le fluorochrome. Cette lumière est reflétée par le moyen d'un miroir dichroïque et ensuite tombe sur l'échantillon, en excitant le fluorochrome de façon que ceci émet des photons d'une longueur d'onde supérieure à celle d'incidence. Cette lumière émise par l'échantillon traverse le miroir dichroïque et arrive jusqu'à un seconde filtre dont-il sélectionne la longueur d'onde de émission du fluorochrome, en permettant son arrivée aux oculaires.

epi-fluorescence microscope



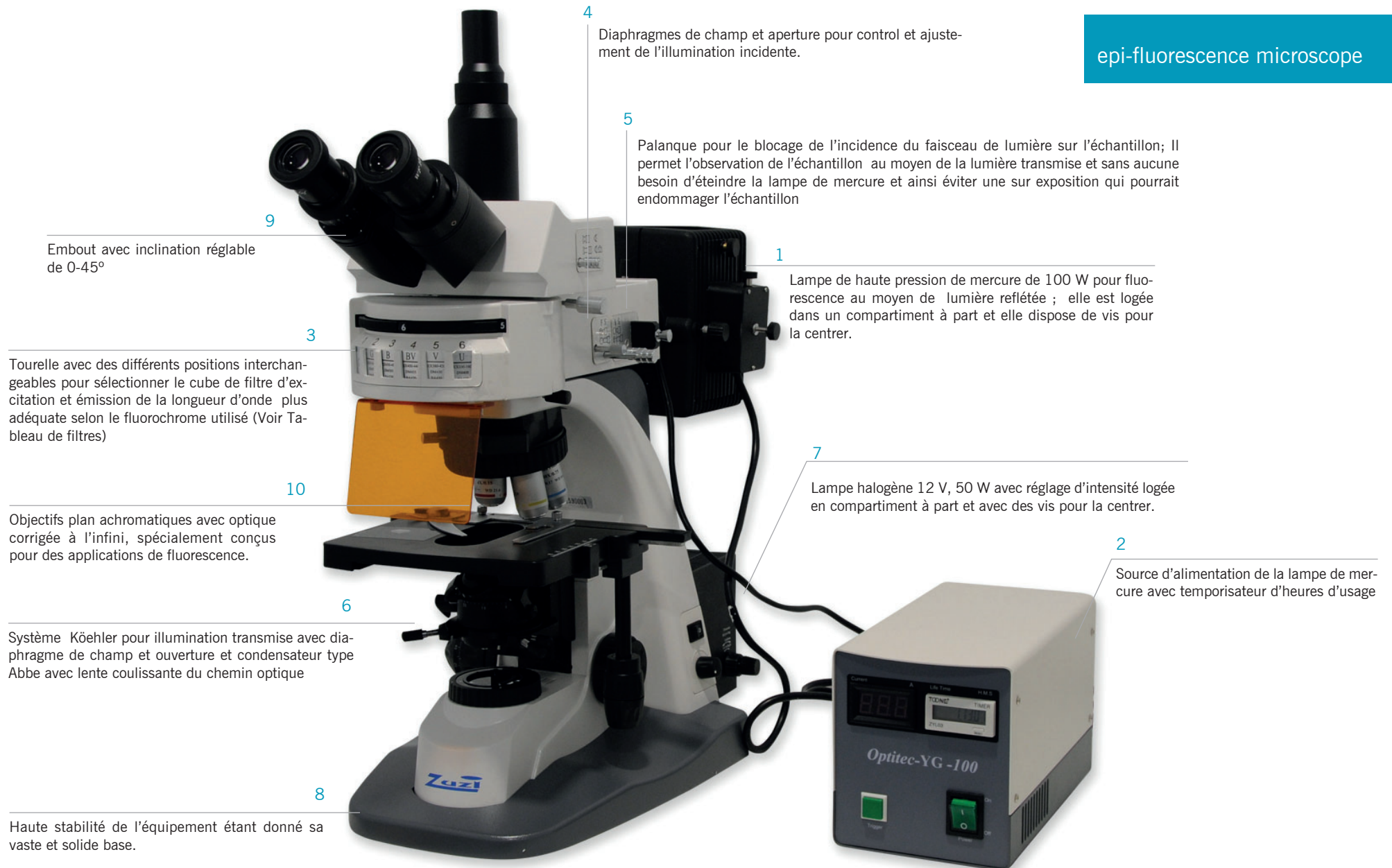
epi-fluorescence microscope

tableau  
de filtres



Position tourelle	Filtre excitation(EX)	Filtre émission (BA)	Miroir dichroïque (DM)	Fluore chrome applicable
V (verde)	510-560	590	575	TRITC Phycoérythrine Bromure d'éthidium
B (azul)	450-490	520	505	FITC GFP Cy2
BV (azul/violeta)	400-440	470	455	Orange acridine Jaune acridine Alexa fluor 488
V (violeta)	380-420	450	430	---
U (ultravioleta)	330-380	420	400	DAPI Alexa fluor 350

## epi-fluorescence microscope



## caractéristiques techniques

Référence	HBFO01
Embout	Trioculaire, inclination réglable 0-40°; ajustement de distance interpupilar (50-75 mm) et correction dioptrique
Optique	Corrigé à l'infini
Oculaires	WF10x/20
Barillet	Séxtuple
Objectifs	Plan apochromatiques de fluorescence 4x, A.N.: 0.15 10x, A.N.: 0.35 40x (R), A.N.: 0.75 100x (R), A.N.: 0.90
Platine	Mécanique de double platine (180x160 mm); déplacement (80x50 mm)
Condensateur	Abbe (AN: 1.25), avec lente condensateur coulissante
Illumination	Type Köehler avec diaphragme de champ et ouverture
Source lumière	
Epi-fluorescence	Lampe de haute pression de mercure 220V, 100W
Transmis	Lampe halogène 12V, 30W

caractéristiques  
objectifs  
tableau



Objectif	4x	10x	40x	100x
Ouverture numérique	0.15	0.35	0.75	0.90
Long. tube mécanique	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
Grosueur couvre	0.17	0.17	0.17	0.17
Couleur réf.	Rouge	Jaune	Bleu	Blanc
Système	Sec	Sec	Sec	Sec
Distance travail	21.6	2.9	0.6	0.62
Diamètre champ vision	6	2.4	0.60	0.24
Résolution	2.24	0.96	0.45	0.37