

## Microscope confocal inversé

**Références :** Microscope confocal (CLSM) inversé Zeiss LSM700 AxioObserver Z1

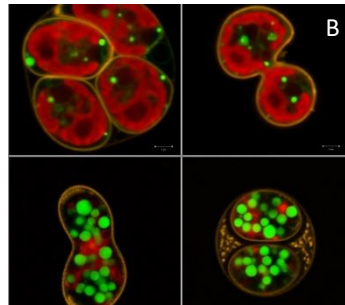
### Principe :

Le microscope confocal repose sur l'utilisation d'une lumière Laser d'excitation intense et focalisée. Le faisceau laser d'excitation est réfléchi par un miroir dichroïque puis envoyé sur des miroirs galvanométriques permettant le balayage rapide de l'ensemble du champ. La lumière d'émission récupérée via l'objectif passe à travers un sténopé, puis parvient au détecteur. La lumière provenant des plans adjacents au plan focal est bloquée par le sténopé. Il est ainsi possible d'obtenir une coupe optique nette correspondant uniquement au plan focal observé. En faisant varier ce plan, on peut reconstituer une image en 3D.

### Objectifs :

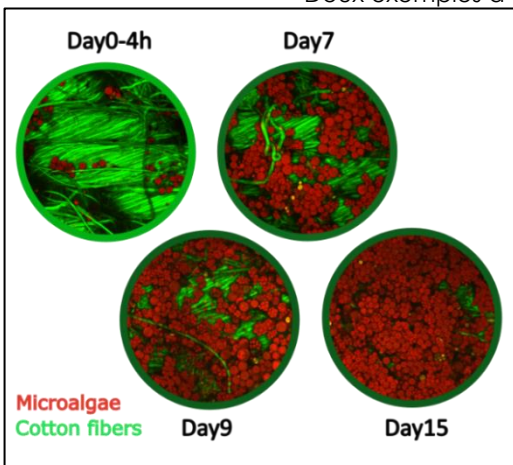
- *Imagerie confocale d'échantillons fixés ou vivants* multi dimensionnelle 6D (XYZ, Temps, Position, Chanel) dans un environnement contrôlé (température, humidité, %CO<sub>2</sub>, lumière, etc.)
- *Analyse FRAP et analyse de la topographie de surfaces (Laser 405nm).*
- *Les résultats sont obtenus sous forme d'images en 2D et 3D.*

La résolution latérale est de 0,12 µm, la résolution verticale de 0,35 µm lors de l'utilisation de l'objectif x63 NA 1.40 et du faisceau Laser 405nm.



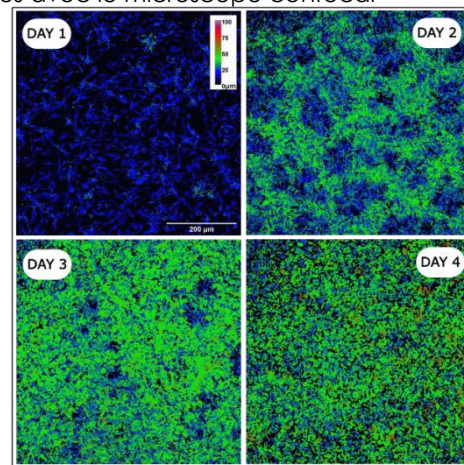
Illustrations montrant le CLSM (A) et un Multi marquage de *Chlamydomonas reinhardtii* (B).

Deux exemples d'applications réalisées avec le microscope confocal



Suivi de croissance d'un biofilm d'*Haematococcus pluvialis* sur un support en coton. Les fibres de coton sont visibles en vert (ex. 488 nm) et les microalgues en rouge (ex. 639 nm; auto-fluorescence de la chlorophylle).

Morgado, D., Fanesi, A., Martin, T., Tebbani, S., Bernard, O., & Lopes, F. (2023). Exploring the dynamics of astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* biofilms using a rotating biofilm-based system. *Biotechnology and Bioengineering*, 121(3), 991-1004



Exemple de topographie d'un biofilm de microalgues obtenu à partir d'images 3D acquises avec un CLSM. Les couleurs sont calibrées en fonction de l'épaisseur du biofilm.

Fanesi, A., Martin, T., Breton, C., Bernard, O., Briandet, R., & Lopes, F. (2022). The architecture and metabolic traits of monospecific photosynthetic biofilms studied in a custom flow-through system. *Biotechnology and Bioengineering*, 119(9), 2459-2470.

