

Microscopie HiLo

Un microscope HiLo permet d'obtenir des images avec sectionnement optique en microscopie champs large. Ce sectionnement provient de l'acquisition de l'image de l'échantillon avec deux types d'illumination différentes et d'un traitement logiciel de ses deux images^I.

Montage actuel

Lors de la dernière séance de laboratoire, les principaux éléments du système d'illumination de ce type de microscope ont été assemblés. La source d'illumination est le laser He-Ne présent sur la plaque horizontale du montage. La monture de support au laser est sensible, il faut donc éviter de la toucher. Une combinaison de miroirs redirigent le faisceau au point le plus bas de la plaque verticale afin d'être capable de propager celui-ci à travers un système 4f à une hauteur correspondante à celle de la monture du microscope régulier. L'angle extrême de ces miroirs, peut induire du *clipping* si l'alignement n'est pas optimal. Le système 4f sur la plaque verticale grossit le faisceau collimé d'un facteur 8 ($f_1 = 2.54\text{cm}$ et $f_2 = 20\text{cm}$). Sa taille est suffisamment grande pour remplir l'objectif. Il est important que le faisceau entre et sorte collimé du relais 4f. À l'aide d'un autre miroir, le faisceau est dirigé à l'horizontale vers le diffuseur et la plaque séparatrice situé au dessus de la monture du microscope standard. Deux diffuseurs différents ont été testés ; la plaque de verre finement dépolie diffuse trop de lumière et le papier nettoyant ne crée pas de *speckles*. Le système 4f interne du microscope standard est utilisé comme objectif. Le faisceau est lui dirigé par réflexion sur la lame de verre à 45° . Il est possible d'observer que l'échantillon, placé à la distance de travail de l'objectif, est illuminé par le faisceau, ce qui indique un bon alignement. Il y a cependant des artefacts dans l'illumination du à des traces de doigts et de saletés sur la lame de verre qui se trouve trop près du plan focal du système 4f du microscope. En plaçant une feuille blanche au dessus de la plaque de verre séparatrice dans l'axe optique de l'objectif, il est possible d'observer l'image de l'échantillon.

I. <http://biomicroscopy.bu.edu/research/hilo-microscopy>

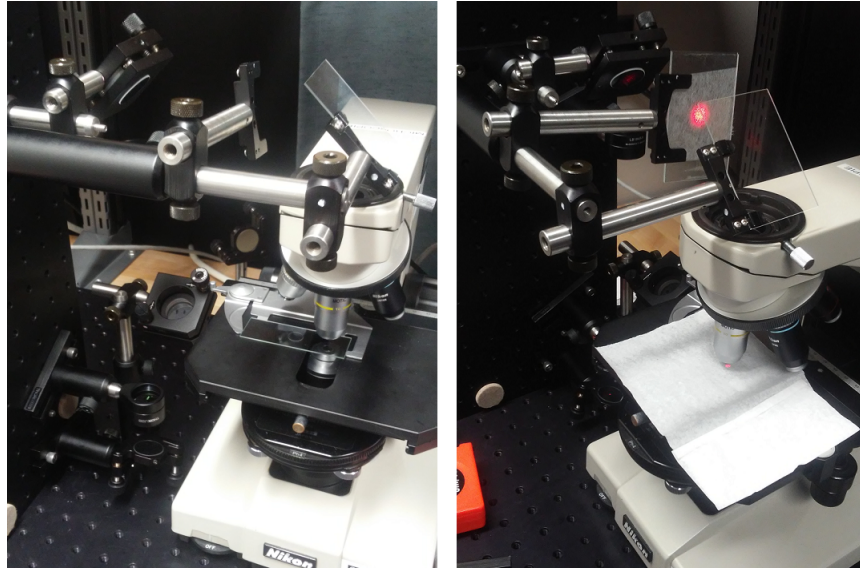


Figure 1: Montage actuel du système de microscopie HiLo.

Prochaines étapes

Afin d'être capable d'acquérir des images, plusieurs choses doivent être optimisées ou ajoutées :

- Un diffuseur permettant la création de *speckles* de taille raisonnable. La taille optimale des *speckles* devra être déterminé. Le diffuseur doit aussi permettre à une quantité suffisante de lumière de se rendre à l'objectif.
- Un système permettant de créer une illumination uniforme devra aussi être implanté. Ce système doit être simple d'utilisation et permettre de changer de mode d'illumination (*speckles*-uniforme) rapidement.
- Sachant qu'on obtient un faisceau de 3 cm de diamètre au dessus du microscope, il faudrait ajouter un relais 4f afin d'obtenir une image qui remplisse le capteur de la caméra. Le faisceau initial est d'environ 3 cm vers la caméra DMK 21AF04. Le capteur de cette caméra est de 6.35 mm^{II}.
- Possibilité d'essayer de déplacer la plaque de verre du plan focal du microscope en le rapprochant davantage et en abaissant ainsi le circuit optique vertical ou en surélevant le microscope afin d'enlever une partie des artefacts sur l'illumination à l'échantillon.
- Il serait préférable de remplacer la plaque de verre (seulement 4% de la puissance est réfléchi) par un cube séparateur 50% afin d'obtenir une puissance optimale à l'échantillon et sur la caméra. Sinon, il est aussi possible de passer une plaque de verre à Daniel en lui indiquant de demander au COPL d'ajouter un coating 50%.

II. <https://www.theimagingsource.com/products/industrial-cameras/firewire-400-monochrome/dmk21af04/>