

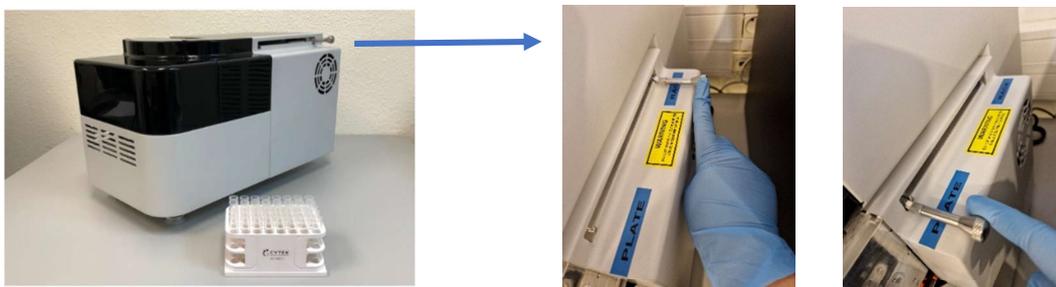
# Guide d'utilisation du Chargeur de tubes et plaques

## 1. Présentation du Chargeur

Le chargeur d'échantillons automatisé (ASL) est un système de chargement automatisé qui mélange les échantillons et délivre les portoirs et les plaques au cytomètre pour l'acquisition. L'ASL remet les échantillons en suspension à l'aide d'un agitateur orbital. Il peut prendre en charge une gamme de plaques à 96 puits (96 U-Bottom [Fond en U à 96 puits], 96 V-Bottom [Fond en V à 96 puits], 96 Flat-Bottom [Fond plat à 96 puits], 96 Deep) ainsi qu'un portoir de 40 tubes (Tube Rack).

La poignée manuelle située sur le côté droit du chargeur est un levier mécanique utilisé pour placer l'appareil en mode Plaque, en mode Tube ou en mode Portoir de tubes. La poignée peut être déplacée lorsque l'appareil est sous tension ou hors tension.

**Important** : Si vous passez de l'acquisition en tubes à l'acquisition en plaque, assurez-vous qu'il n'y a pas de tube sur le SIP (Sample Injection Port) et que la ligne échantillon est dans l'instrument. Si un tube est sur la SIP ou si la ligne d'échantillon est en dehors de la SIP, le système sera endommagé quand vous aller déplacer le levier en mode plaque.



## 2. Procédure de mise en marche du Chargeur

- Allumez le cytomètre et l'ordinateur (s'ils ne le sont pas déjà). Mettre le Chargeur sous tension en appuyant sur l'interrupteur situé à l'arrière de l'appareil.
- Lancez le logiciel SpectroFlo et connectez-vous en utilisant le nom d'utilisateur approprié. Une fois que vous êtes connecté au logiciel, la procédure d'initialisation du cytomètre commence. Lorsque le chargeur est connecté au logiciel, le voyant d'état dans le coin inférieur droit de l'écran affiche une coche verte. Une croix rouge apparaît si le chargeur n'est pas sous tension ou s'il n'est pas connecté au logiciel.
- Chargez un tube d'eau DI et attendez que l'étape d'autodiagnostic de l'appareil et du chargeur soit terminée. NB : Si avant votre arrivée un shutdown ou un Clean Flow Cell en tube rack a été fait, une fois le logiciel SpectroFlo ouvert, le rack sera automatiquement déplacé et vous aurez accès à la SIP pour charger le tube d'eau.

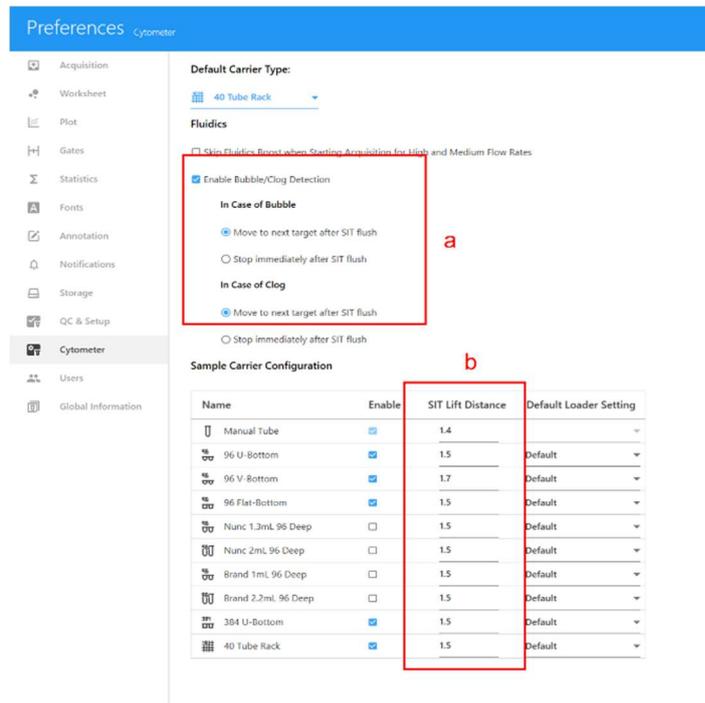


## 3. Paramétrer une expérience avec le Chargeur

- Sous l'onglet Cytometer du module Préférences :
  - Utilisez les cases à cocher pour configurer les préférences relatives à la détection des bulles/bouchons comme indiqué dans la figure suivante (a).
  - Si vous utilisez pour la première fois un type de plaque, réglez la SIT lift distance (b). A cette fin dans une plaque test mettez de l'eau en position A1 et vérifiez que vous avez le bon débit adapté au flow rate correspondant (tableau ci-dessous). Si le débit mesuré est trop

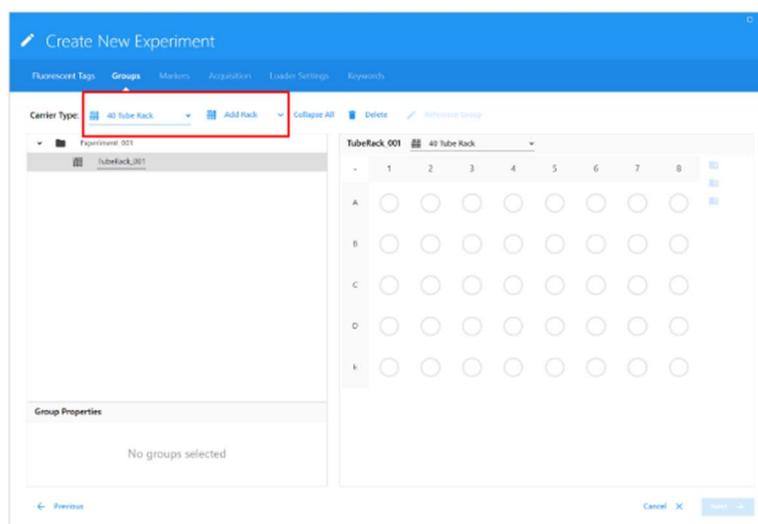
faible ou si vous obtenez un message « bubble detection », cela signifie que la ligne échantillon est trop en haut, baissez donc la valeur de SIT lift distance. Si vous avez un flow rate égal à 0 cela signifie que la ligne échantillon est collée au fond du puit, il faudra donc augmenter la valeur de SIT lift distance.

Flow rate	Débit (µl/minute)
Low	15
Medium	30
High	60 (tubes) 100 (plaques)

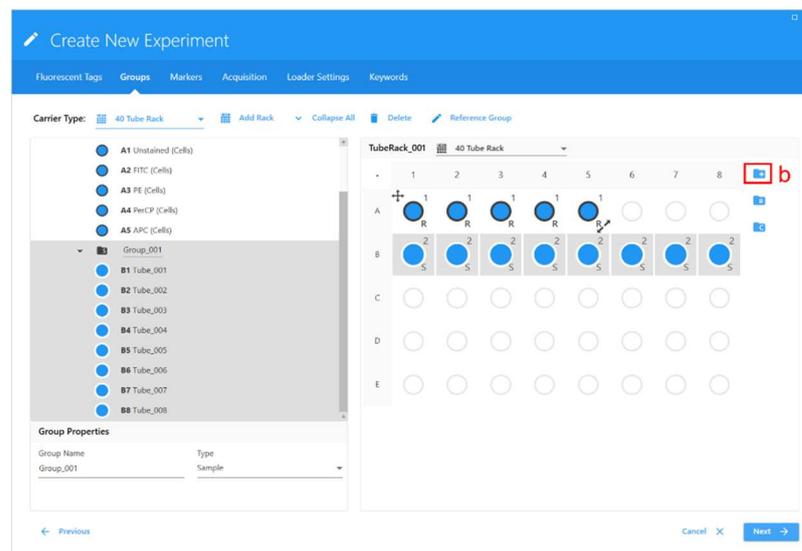
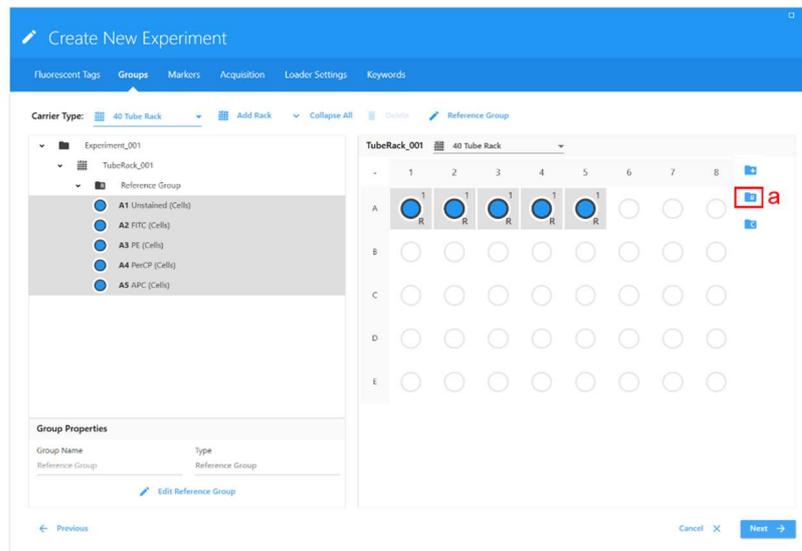


2) Sous l'onglet **Group** du module de création ou modification d'une expérience :

- Sélectionnez le Carrier type et ajoutez-le en cliquant sur Add Rack/Plaque. Un plan de tubes/plaque apparaît à droite.



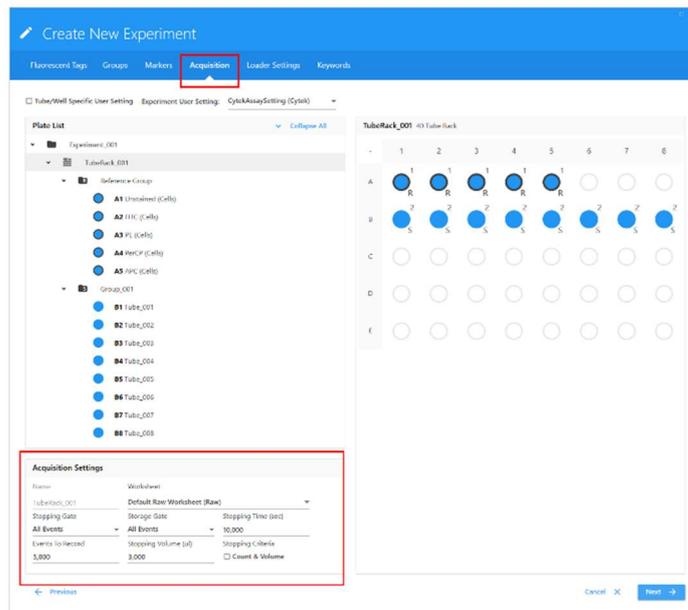
- Sélectionnez sur le plan de rack/plaque les puits destinés à l'acquisition du groupe de référence en cliquant sur l'icône **R** à droite (**a**) et les puits destinés à l'acquisition du groupe échantillons en cliquant sur l'icône **+** à droite (**b**). Les tubes du groupe de référence seront automatiquement placés dans l'ordre croissant de longueur d'onde d'excitation des fluorochromes correspondants et pour les fluorochromes excités par le même laser dans l'ordre croissant de longueur d'onde du pic d'émission. Si cet ordre ne correspond pas à votre plan de plaque, vous pouvez changer la position des puits par glissement sur la vue de la plaque.



### 3) Sous l'onglet **Acquisition** du module de création ou modification d'une expérience

Configurez les paramètres de l'expérience. Ils incluent la worksheet, les fenêtres d'arrêt et à enregistrer et les critères d'acquisition. Vous pouvez appliquer les mêmes paramètres à l'ensemble de l'expérience (groupe de référence et groupe échantillons) ou configurer des paramètres spécifiques pour les différents groupes ainsi que pour différents tubes d'un groupe.

**Important** : Dans Stopping Volume mettre toujours 60µl en moins de ce que vous avez dans les tubes/plaques parce qu'au début de l'acquisition il y a un boost qui fait perdre 36µl plus en petit volume supplémentaire qui est perdu pour le Record Delay Time (voir paragraphe suivant).



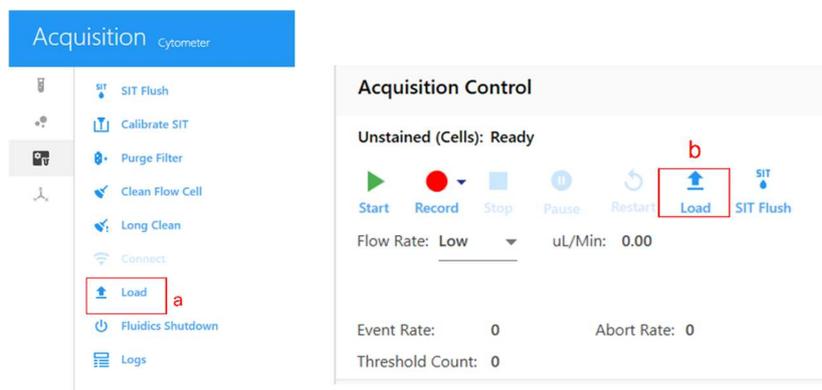
- 4) Sous l'onglet **Loader Settings** du module de création ou modification d'une expérience :  
 Configurez les paramètres de fonctionnement du chargeur. Ils incluent la configuration de l'agitation, SIT Flush Times (Nombre de rinçage de la SIT), Sample Recovery (Récupération des échantillons) et Record Data Delay Time (Délai d'enregistrement).

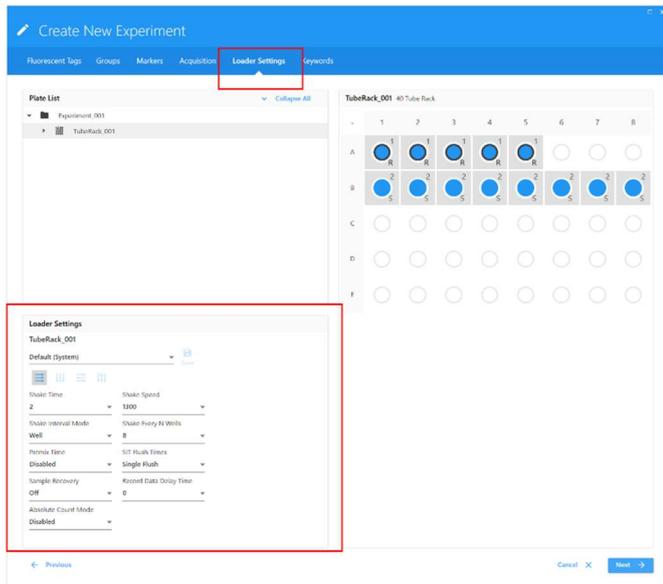
**Important :**

- Si vous faites une acquisition en plaque, attention à la vitesse d'agitation (Shake Speed) parce qu'en fonction du volume que vous avez dans vos puits et de leur profondeur une vitesse d'agitation inadaptée pourrait causer le débordement de vos échantillons. Si vous utilisez pour la première fois un type de plaque, nous vous recommandons de faire un test avec de l'eau.
- Etant donné que le liquide de gaine de l'analyseur est de l'eau milli-Q, sélectionnez toujours OFF pour la récupération des échantillons (Sample Recovery).

- 5) Une fois le paramétrage de l'expérience complété, vous pouvez positionner votre plaque ou le tube rack avec vos échantillons et cliquer sur Load.

**Important :** A chaque fois que vous mettez une plaque ou le tube rack sur son support (y compris pour faire le Shutdown ou le Clean Flow Cell), pensez à refaire un Load afin que le support se positionne sur la position XY correcte. Vous avez accès au Load soit sous l'onglet Cytometer (**a**) (quand une expérience n'est pas ouverte, par exemple avant de faire le Shutdown ou le Clean Flow Cell) soit dans l'Acquisition Control (**b**) (quand une expérience est ouverte).





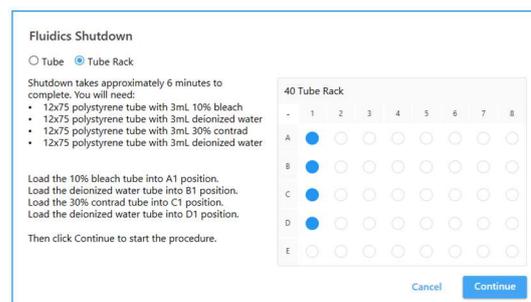
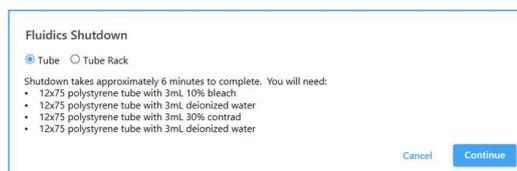
Paramètre	Description
Selected Settings (Paramètres sélectionnés)	Trois paramètres de chargeur sont disponibles : Default (Défaut), High Throughput (Haut débit) et Low Carryover (Contamination croisée faible). Vous pouvez créer vos propres paramètres personnalisés.
Acquisition order (Ordre d'acquisition)	Sélectionnez l'ordre dans lequel vous souhaitez analyser la plaque. Les puits sont acquis par : <ul style="list-style-type: none"> <li>rangée de gauche à droite (A1-A12, B1-B12, etc.)</li> <li>colonne de haut en bas (1A-1H, 2A-2H, etc.)</li> <li>rangée de gauche à droite, puis de droite à gauche (A1-A12, B12-B1, C1-C12, etc.)</li> <li>colonne de haut en bas, puis de bas en haut (1A-1H, 2H-2A, etc.)</li> </ul>
Shake Time (Durée d'agitation)	Sélectionnez la durée (en secondes) d'agitation de la plaque/du portoir de tubes. Vous pouvez aussi désactiver la durée d'agitation.
Shake Speed (Vitesse d'agitation)	Sélectionnez la vitesse de l'agitateur orbital (en tr/min).
Shake Interval Mode (Mode d'intervalle d'agitation)	Sélectionnez l'intervalle d'agitation : tous les N puits/tubes ou après un délai déterminé. Vous pouvez aussi désactiver l'agitation.
Shake Every N Wells, or Shake Interval (Agiter tous les N puits, ou intervalle d'agitation)	Sélectionnez la fréquence (nombre de puits/tubes ou durée en secondes) d'agitation de la plaque/du portoir de tubes.
Premix Time (Durée de prémélange)	Sélectionnez la durée (en secondes) de l'agitation de la plaque/du portoir de tubes avant l'acquisition du premier tube/puits.
SIT Flush Times (Nombre de rinçage de la SIT)	Un rinçage de la SIT est effectué sur le poste de lavage après chaque acquisition. Choisissez Single Flush (Rinçage simple), Double Flush (Rinçage double) ou Disabled (Désactivé) si vous ne souhaitez pas effectuer de rinçage de la SIT.
Sample Recovery (Récupération des échantillons)	Permet de redéposer dans les puits tout échantillon restant dans la SIT une fois l'acquisition terminée.
Record Data Delay Time (Délai de temporisation d'enregistrement des données)	Sélectionnez la durée de prévisualisation des données d'un puits/tube, en secondes, avant le début de l'enregistrement après avoir cliqué sur Record (Enregistrer).

#### 4. Arrêt du Chargeur

**A la fin de chaque session vérifier systématiquement sur le site de réservation de MRI si un autre créneau est encore réservé.**

1) S'il n'y a pas de créneau réservé après vous et vous êtes donc le dernier utilisateur de la journée exécutez la procédure d'arrêt du système :

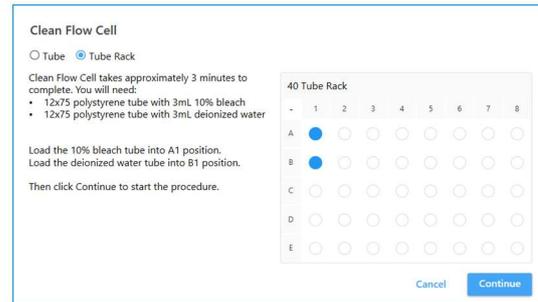
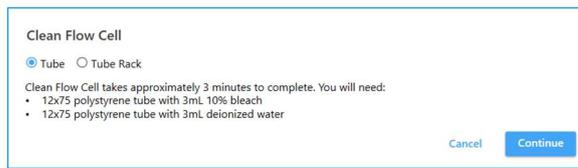
- Sous l'onglet Cytometer sélectionnez Fluidics Shutdown et suivez les instructions. Vous avez le choix entre faire la procédure manuellement ou avec portoir de tubes :



- A la fin de la procédure de Shutdown cliquez sur Done
- Laissez la SIT immergée dans l'eau du dernier tube.
- Éteignez le cytomètre et le chargeur.
- Quittez le logiciel SpectroFlo.
- Sortez de votre session MRI (icône Logout sur le bureau).
- Laissez l'ordinateur allumé.

2) S'il y a un créneau réservé après vous :

- Sous l'onglet Cytometer sélectionnez Clean FlowCell et suivez les instructions. Vous avez le choix entre faire la procédure manuellement ou avec portoir de tubes :



- Une fois le nettoyage de la Flow Cell terminé, cliquez sur Done
- Laissez le tube d'eau sur la SIP.
- Éteignez le chargeur.
- Quittez le logiciel SpectroFlo.
- Sortez de votre session MRI (icône Logout sur le bureau)

### Choses importantes à ne pas oublier

- 1) Si vous passez de l'acquisition en tubes à l'acquisition en plaque, **assurez-vous qu'il n'y a pas de tube sur le SIP** et que la ligne échantillon est retractée dans l'instrument. Si un tube est sur la SIP ou si la ligne d'échantillon est en dehors de la SIP, le système sera endommagé quand vous allez déplacer le levier en mode plaque.
- 2) Si vous utilisez pour la première fois un type de plaque, réglez la SIT lift distance et **faites un test avec de l'eau** pour adapter la vitesse d'agitation au volume que vous avez dans les puits.
- 3) Dans les Acquisition Settings, mettre toujours en **Stopping Volume 60µl en moins** de ce que vous avez dans les tubes et sélectionnez toujours **OFF pour la récupération des échantillons** (Sample Recovery).
- 4) A chaque fois que vous mettez une plaque ou le tube rack sur son support (y compris pour faire le Shutdown ou le Clean Flow Cell), pensez à **refaire un Load** afin que le support se positionne sur la position XY correcte.