



Flo 400 :

Guide d'utilisation du logiciel

Connexion via wifi



Sommaire

| | |
|--|----|
| Avant propos : | 1 |
| Lexique : | 2 |
| 1. Mise en route de l'automate : | 3 |
| 2. Connexion par wifi : | 3 |
| 3. Identifiez-vous : | 3 |
| 4. Navigation sur le logiciel : | 5 |
| 1. Lancer une expérience : | 5 |
| i. Base de données des expériences | 5 |
| ii. Détail d'une expérience: | 5 |
| iii. Exécuter une expérience : | 7 |
| iv. Stopper une expérience | 9 |
| 2. Configurations de l'automate : | 9 |
| 3. Enregistrer un protocole : | 11 |
| i. La base de données : | 11 |
| ii. Configurer un protocole | 12 |
| 4. Editer un Rapport : | 13 |
| 5. Maintenance de l'appareil : | 14 |
| 6. Lavage de la machine (WASH CYCLE) : | 15 |
| 7. Contact : | 16 |

Avant propos :

Cet automate de biologie à haut débit est conçu pour l'automatisation des techniques **d'hybridation *in situ*, d'immunohistochimie et d'hybridation *in situ* en fluorescence** sur des échantillons *in toto* ($400\mu\text{m} < X < 3\text{cm}$) ou sur des échantillons sur lame. Il est également possible d'utiliser ce robot pour effectuer les protocoles de clarification d'échantillons.

Cet automate permet un recyclage des réactifs, notamment sondes ARN et Anticorps. Cette spécificité entraîne une diminution du bruit de fond lors de l'acquisition des échantillons et une nécessité de concentration des sondes inférieure à celle utilisée en condition manuelle.

L'automate est universel sur les réactifs. Cependant pour le nettoyage, nous vous conseillons d'effectuer un cycle de lavage à l'eau distillée puis au RNaseZap ou similaire avant d'effectuer vos expérimentations.

Lexique :

Flowcells : Nous appelons Flowcells les tubes en quartz dans lesquels les échantillons sont déposés, elles sont au nombre de 4 et sont dénommées respectivement F1, F2, F3 et F4.

Tankers : Les tankers sont les différents contenants des solutions utilisées pour le protocole. Ils sont au nombre de 10 (notés de 1 à 10) et peuvent contenir différents volumes (50, 500 ou 2000mL). Les tankers 1 et 2 peuvent être recyclés, c'ad que les réactifs utilisés passent dans les flowcells et sont de nouveau renvoyés dans le tanker.

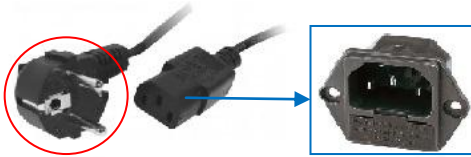
Probes : Les probes définissent les contenants des sondes. Ils sont au nombre de 4 et sont spécifiques pour chaque Flowcell (P1 pour F1, P2 pour F2 etc). Comme les tankers 1 et 2, ils peuvent être recyclés.

Reagents : Reagents définit le réactif/ la solution utilisée.

Waste : Waste définit la poubelle, il s'agit du récipient qui accumulera toutes les solutions déjà utilisées dans l'expérience. Elle a un volume de 2000 mL

1. Mise en route de l'automate :

Brancher l'automate à une prise secteur à l'aide du câble d'alimentation, la prise dans le cercle rouge se branche sur une prise secteur, et l'autre bout du câble se fixe à la prise onduleur accessible à l'arrière de l'appareil.






Une fois l'automate branché, mettez en route le robot en appuyant sur le bouton O/I disponible au dessus de la prise de branchement.

2. Connexion par wifi :

La connexion à l'automate se fait par liaison wifi. Pour vous connecter, il vous est nécessaire de rechercher les différents réseaux wifi proposés par votre ordinateur et de vous connecter au réseau identifié FLO-XXX. Vous pourrez alors vous connecter à l'automate à l'aide de la clé de connexion wifi qui vous a été fournie.

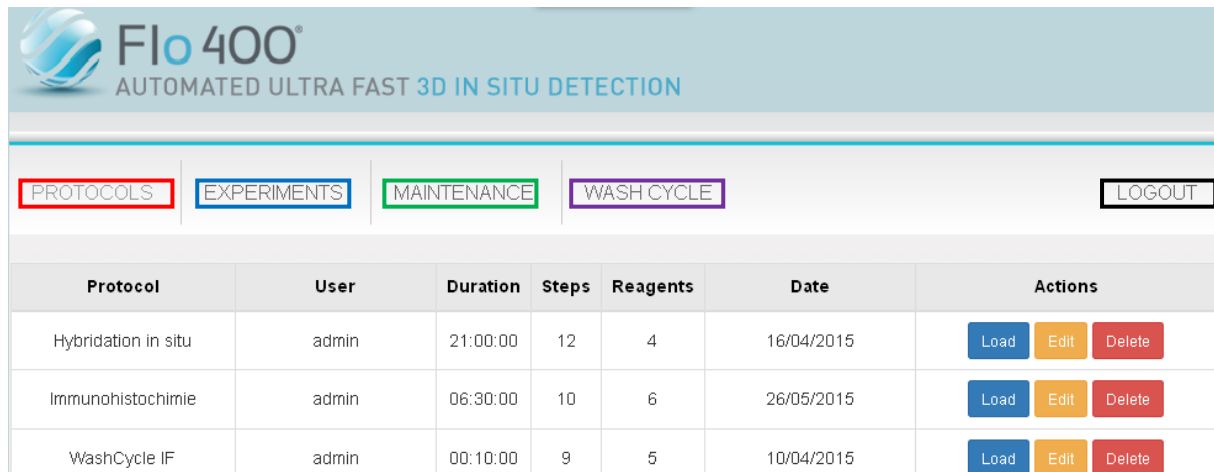
3. Identifiez-vous :

Avant toute utilisation du logiciel, il est nécessaire de se connecter au wifi de la Flo 400 et de rentrer sur le navigateur l'adresse IP du site de l'automate qui vous a été fournie. Le site est optimisé pour être utilisé avec les 3 navigateurs suivants : Google Chrome  , Mozilla Firefox  et Internet Explorer  . Pour avoir accès au logiciel et enregistrer vos protocoles, identifiez-vous grâce aux identifiants (LOGIN) et mot de passe (PASSWORD) fournis lors de votre achat et cliquez sur Login.

Bienvenue sur le logiciel de programmation de l'automate Flo 400 :



Un message « successfully logged in » s’affiche alors. Vous êtes ensuite redirigé sur la base de données des expériences.



The screenshot shows the Flo 400 software interface. At the top, there is a header with the logo and the text "Flo 400® AUTOMATED ULTRA FAST 3D IN SITU DETECTION". Below the header is a navigation menu with five tabs: "PROTOCOLS" (highlighted with a red border), "EXPERIMENTS" (blue border), "MAINTENANCE" (green border), "WASH CYCLE" (purple border), and "LOGOUT" (black border). Below the menu is a table with the following data:

| Protocol | User | Duration | Steps | Reagents | Date | Actions |
|---------------------|-------|----------|-------|----------|------------|--|
| Hybridation in situ | admin | 21:00:00 | 12 | 4 | 16/04/2015 | Load Edit Delete |
| Immunohistochimie | admin | 06:30:00 | 10 | 6 | 26/05/2015 | Load Edit Delete |
| WashCycle IF | admin | 00:10:00 | 9 | 5 | 10/04/2015 | Load Edit Delete |

En haut vous pouvez accéder au menu du logiciel comprenant les différents onglets :

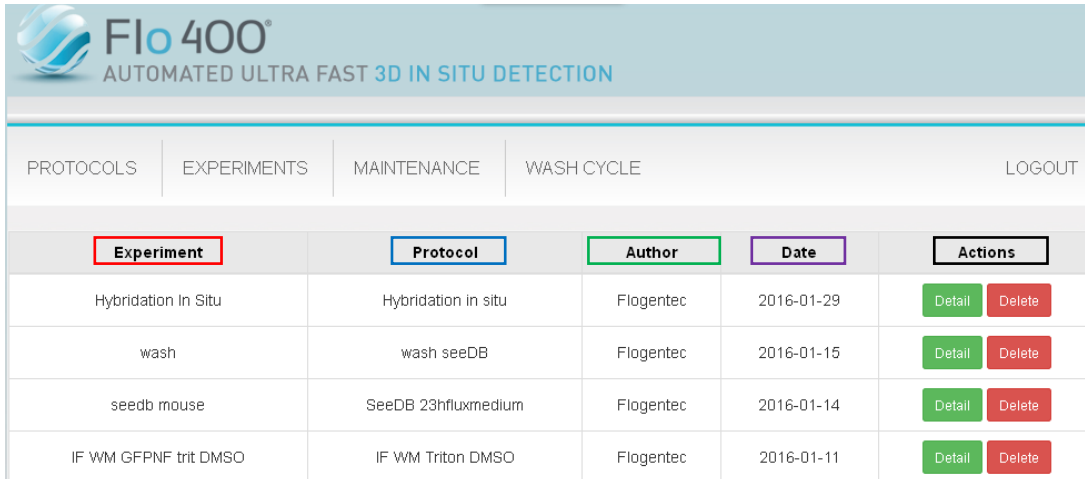
- **Protocols** (accès à la base de données des protocoles cf p 11)
- **Experiments** (accès à la base de données des expériences cf p 5)
- **Maintenance** (accès au système de maintenance de l’automate cf p 14)
- **Wash Cycle** (accès à l’expérience de lavage de l’automate cf p 15)
- **Log Out** (permet de se déconnecter du logiciel)

4. Navigation sur le logiciel :

1. Lancer une expérience :

i. Base de données des expériences

Le tableau en dessous vous liste les différentes expériences déjà enregistrées sur l'automate. Chaque nouvelle expérience lancée sur l'automate sera ajoutée à ce tableau.



The screenshot shows the FIo 400 software interface. At the top, there is a header with the logo and text: "FIo 400® AUTOMATED ULTRA FAST 3D IN SITU DETECTION". Below the header is a navigation bar with tabs: "PROTOCOLS", "EXPERIMENTS", "MAINTENANCE", "WASH CYCLE", and "LOGOUT". The "EXPERIMENTS" tab is active. Below the navigation bar is a table with the following columns: "Experiment", "Protocol", "Author", "Date", and "Actions". The table contains four rows of data:

| Experiment | Protocol | Author | Date | Actions |
|-----------------------|---------------------|-----------|------------|---|
| Hybridation In Situ | Hybridation in situ | Flogentec | 2016-01-29 | Detail Delete |
| wash | wash seeDB | Flogentec | 2016-01-15 | Detail Delete |
| seedb mouse | SeeDB 23hfluxmedium | Flogentec | 2016-01-14 | Detail Delete |
| IF WM GFPNF trit DMSO | IF WM Triton DMSO | Flogentec | 2016-01-11 | Detail Delete |

La colonne **Experiment** vous donne le nom de l'expérience.

La colonne **Protocol** vous donne le nom du protocole utilisé lors de cette expérience.

La colonne **Author** vous donne le nom de l'auteur de l'expérience.

La colonne **Date** vous donne la date à laquelle l'expérience a été lancée.

La colonne Action vous permet :

- D'accéder à l'expérience sélectionnée (bouton **Detail**)
- De supprimer une expérience (bouton **Delete**)

Pour lancer une expérience déjà enregistrée dans l'automate, vous devez cliquer sur le bouton **Detail** à côté de l'expérience voulue.

ii. Détail d'une expérience:

En haut, le fil d'Ariane du logiciel (steps processing) vous permet d'accéder aux différentes étapes de mise en place de l'expérience :

- Configuration cf p.9
- Protocol cf p.11
- Experiment (onglet activé)

STEPS PROCESSING CONFIGURATION > PROTOCOL > EXPERIMENT

| EXPERIMENT | | REAGENTS | | |
|----------------|------------|----------|------|-------------|
| Protocol | Disco 2h10 | Reagent | Tank | Volume (mL) |
| Experiment | Flogentec | THF50% | T3 | 24 |
| Author | Flogentec | THF80% | T4 | 24 |
| Date | 29/01/2016 | THF100% | T1 | 50 |
| Total duration | 2:15:08 | THF100% | T2 | 50 |
| | | DCM | P1 | 20 |

Save Report History

Le bloc **Experiment** vous résume les différentes données de l'expérience :

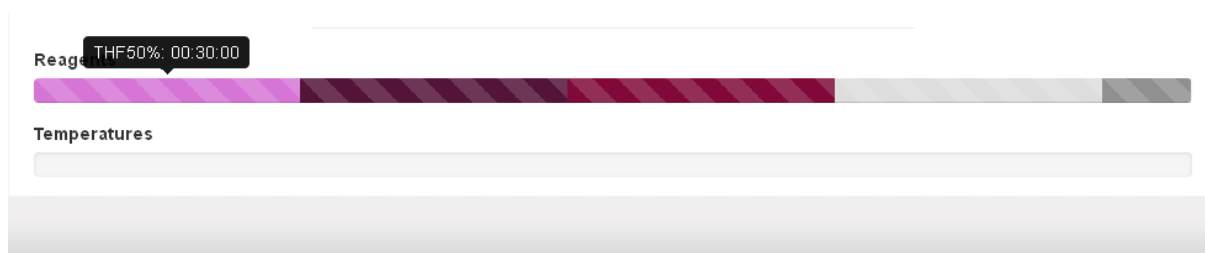
- Le protocole associé à cette expérience (Protocol)
- Le nom de l'expérience (Experiment)
- L'auteur de cette expérience (Author)
- La date de l'expérience (Date)
- La durée totale de l'expérience (Total duration)

Vous pouvez modifier ces informations pour le lancement d'une nouvelle expérience

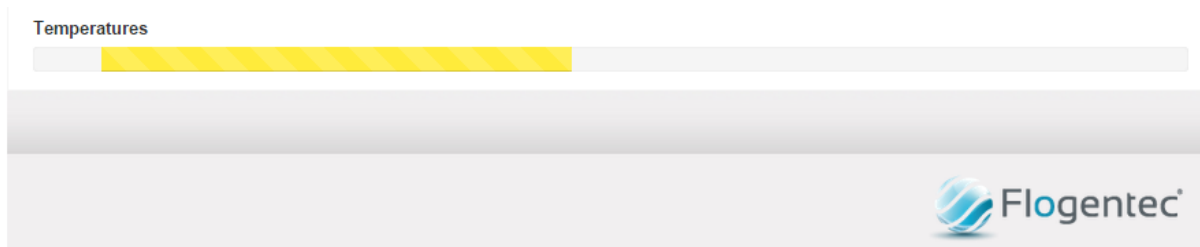
Le **Bloc Reagents** récapitule les différents réactifs utilisés :

- La colonne Reagent est le nom des réactifs utilisés
- La colonne Tank indique le numéro du tank dans lequel le réactif doit être déposé
- La colonne Volume indique (en mL) la quantité de réactif nécessaire pour cette expérience.
- Les 3 boutons disponibles en dessous vous permettent :
 - D'enregistrer les nouveaux paramètres de votre expérience (bouton Save)
 - D'accéder au rapport rédigé sur l'expérience (Report)
 - D'accéder à l'historique des expériences (history)

Le schéma en couleur dessous vous récapitule le déroulement de l'expérience. Chaque couleur correspond à un réactif. En cliquant sur les segments de couleur, il vous est indiqué le réactif ainsi que la durée de l'étape sélectionnée.



Le schéma en dessous vous récapitule les différentes températures utilisées au cours de l'expérience. En cliquant sur le segment de couleur, vous accédez à la température référencée dans le protocole ainsi que la température paramétrée pour chaque flowcell (le premier nombre correspond à la flowcell 1, le deuxième à la 2, etc...).



iii. Exécuter une expérience :

Si les paramètres de cette expérience vous conviennent, vous pouvez charger le protocole en cliquant sur le bouton **Load protocol**.

EXPERIMENT

Protocol

Experiment

Author

Date

Total duration

REAGENTS

| Reagent | Tank | Volume (mL) |
|---------|------|-------------|
| THF50% | T3 | 24 |
| THF80% | T4 | 24 |
| THF100% | T1 | 50 |
| THF100% | T2 | 50 |
| DCM | P1 | 20 |

Save
Report
History

Reagents

Temperatures

Load Protocol

La barre de progression de chargement apparaît.

The screenshot shows the Flogentec software interface. On the left, under 'EXPERIMENT', there are fields for Protocol (Disco 2h10), Experiment (Flogentec), Author (Flogentec), Date, and Total duration. On the right, under 'REAGENTS', there is a table:

| Reagent | Tank | Volume (mL) |
|---------|------|-------------|
| THF50% | T3 | 24 |
| THF80% | T4 | 24 |
| THF100% | T1 | 50 |
| | | 50 |
| | | 20 |

A modal dialog box titled 'Loading protocol ...' is centered on the screen. It contains a progress bar showing 10% completion, and the text 'Commands : 2/20' and 'Errors : 0'. At the bottom of the dialog, there is a 'Close' button.

Patientez pendant le chargement du protocole. Une fois le protocole chargé à 100%, appuyez sur **Close** pour fermer la fenêtre de chargement puis cliquez sur Execute.

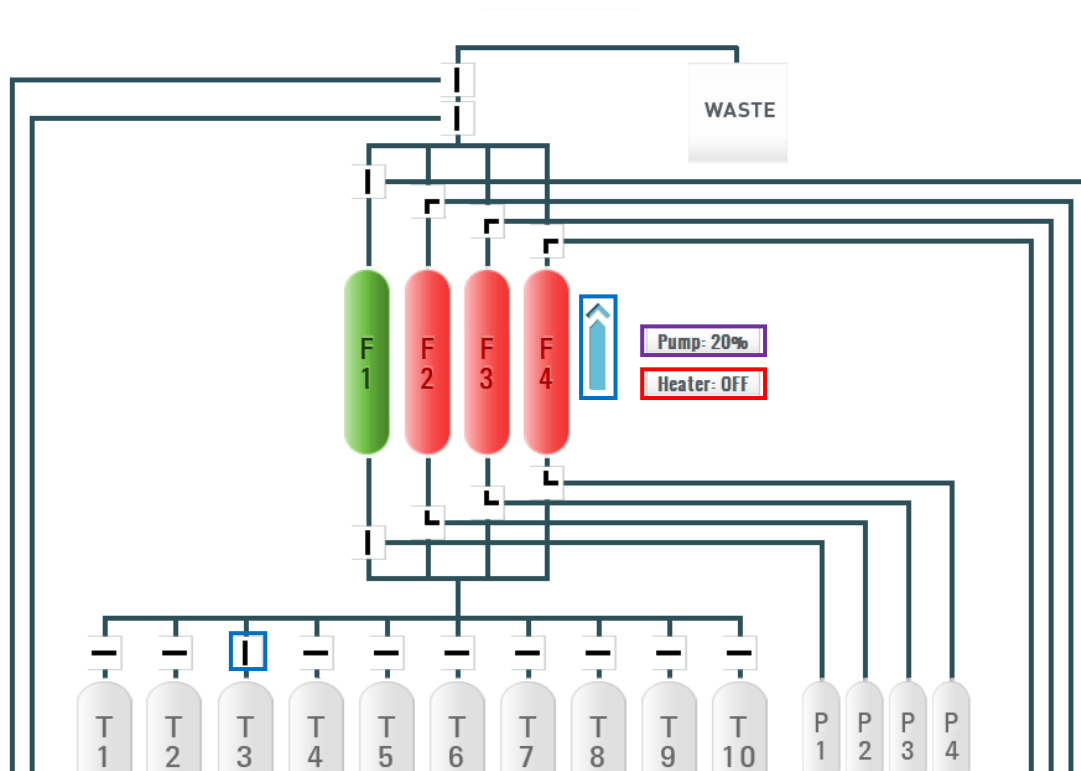
Protocol loaded

The screenshot shows the 'Protocol loaded' status. It features a blue progress bar at 100%. Below the bar, it displays 'Commands : 20/20' and 'Errors : 0'. At the bottom right, there is a 'Close' button highlighted with a red rectangular box.

Une barre de progression apparaît vous montrant l'évolution de l'expérience.

The screenshot shows the main interface with three progress bars: 'Reagents' (partially filled with purple and red), 'Temperatures' (empty), and 'Progress' (empty). Below the progress bars, there are two buttons: a green 'State' button and a red 'Stop' button.

Vous pouvez à tout moment accéder à l'état de système pour vérifier les températures et la distribution des réactifs en cliquant sur le bouton State.

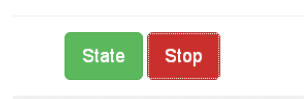


Ce schéma d'état récapitule :

- Les **flowcells actives**
- La direction du **flux des réactifs**
- Le **débit de la pompe**
- La **température** des résistances

iv. Stopper une expérience

Cliquez sur le bouton « experiment is running », puis cliquez sur le bouton **stop**, à ce moment, une fenêtre apparaît vous demandant si vous êtes sûre de vouloir arrêter l'expérience. Appuyez sur **Oui** si vous désirez la stopper, sinon cliquez sur **Non**.



Si vous désirez modifier les configurations de l'expérience cliquez sur l'onglet configuration sur le fil d'Ariane.

2. Configurations de l'automate :

Le bloc **Pump** vous permet de paramétrer les différentes vitesses de pompes.

Le bloc **Flowcells** vous permet de choisir les flowcells activées pour ce protocole et de paramétrer les températures pour chacune d'elles :

Les flowcells activées sont affichées en vert, et les désactivées en rouge.

Pour chaque flowcells vous pouvez paramétrer 4 températures différentes. Cliquez sur l'onglet déroulant de la flowcell sélectionnée et appuyez sur la température désirée.

Le bloc **Reagents** vous permet d'enregistrer les différents réactifs que vous allez utiliser pour cette expérience et de définir leurs tankers :

- La colonne reagent vous permet d'entrer le nom du réactif que vous désirez ajouter.
- La colonne Tank vous permet de paramétrer le tank dans lequel le réactif sera contenu.
- La colonne Can cycle vous rappelle les tankers pouvant être recyclés
- La colonne couleur vous permet de définir une couleur associée au réactif pour ce protocole, ce sera cette couleur qui sera utilisée pour le schéma récapitulatif de l'expérience.
- La colonne Action vous permet :
 - De modifier le réactif déjà enregistré (bouton Edit)
 - De supprimer un des réactifs (bouton Delete)
 - D'enregistrer un nouveau réactif (bouton add reagent)

Une fois les paramètres enregistrés, vous pouvez sauvegarder le tout en cliquant sur le bouton Save ou revenir aux paramètres de base en cliquant sur le bouton Cancel.

PROTOCOLS
EXPERIMENTS
MAINTENANCE
BUY / NEEDS
LOGOUT

STEPS PROCESSING
CONFIGURATION > PROTOCOL > EXPERIMENT

PUMP

Low : 20 %

Medium : 50 %

High : 70 %

FLOWCELLS

| | FC1 | FC2 | FC3 | FC4 |
|----|-------|-------|------|------|
| T1 | 41 °C | 40 °C | 0 °C | 0 °C |
| T2 | 0 °C | 0 °C | 0 °C | 0 °C |
| T3 | 0 °C | 0 °C | 0 °C | 0 °C |
| T4 | 0 °C | 0 °C | 0 °C | 0 °C |

Save
Cancel

REAGENTS

| Reagent | Tank | Can cycle | Color | Actions |
|--|---|--|--|---|
| PBS | T1 | Yes | | Edit Delete |
| alpha-DIG | T2 | Yes | | Edit Delete |
| DMTP | T3 | No | | Edit Delete |
| <input style="width: 80%;" type="text" value="Reagent"/> | <input style="width: 80%;" type="text" value="Tank"/> | <input style="width: 80%;" type="text"/> | <input style="width: 80%;" type="text"/> | Add reagent |

Une fois tous ces paramètres établis, vous pouvez modifier ou créer un protocole en cliquant sur l'onglet protocole sur le fil d'Ariane.

| REAGENTS | | | | |
|----------|------|-----------|-------|--------------|
| Reagent | Tank | Can cycle | Color | Actions |
| THF50% | T3 | No | | Valid Cancel |
| THF80% | T4 | No | | Edit Delete |
| THF100% | T1 | Yes | | Edit Delete |
| THF100% | T2 | Yes | | Edit Delete |
| DCM | P1 | Yes | | Edit Delete |
| Reagent | Tank | | | Add reagent |

Pour définir la couleur de votre réactif cliquez sur la zone color, puis choisissez la couleur désirée pour votre réactif à l'aide de la palette.

3. Enregistrer un protocole :

i. La base de données :

Pour accéder à la base de données des protocoles cliquer sur le bandeau protocoles sur le menu. Vous pouvez, **charger** un protocole déjà entré, le **supprimer**, le **modifier**, ou en **créer** un nouveau. Si vous venez de créer un nouveau protocole, après avoir cliqué sur le bouton **Create**, appuyez sur le bouton **Edit** pour pouvoir rédiger le nouveau protocole.

Un récapitulatif du protocole est affiché avec le nom du protocole, l'utilisateur l'ayant enregistré, la durée du protocole, le nombre d'étapes, le nombre de réactifs et la date d'enregistrement.

| Protocol | User | Duration | Steps | Reagents | Date | Actions |
|---------------------|-------|----------|-------|----------|------------|------------------|
| Hybridation in situ | admin | 21:00:00 | 12 | 4 | 16/04/2015 | Load Edit Delete |
| Immunohistochimie | admin | 06:30:00 | 10 | 6 | 26/05/2015 | Load Edit Delete |
| WashCycle IF | admin | 00:10:00 | 9 | 5 | 10/04/2015 | Load Edit Delete |

| | | | | | |
|------|-------|--|--|------------|--------|
| Name | admin | | | 29/01/2016 | Create |
|------|-------|--|--|------------|--------|

ii. Configurer un protocole

Si vous venez de créer un nouveau protocole, ou que vous souhaitez en modifier un, vous arrivez sur la page suivante :

1 → Name: Disco 2h30

Date: 2015-11-30

Author: admin

Steps: 7

Reagents: 5

Duration: 02:15:08

3 → Save Cancel

| Order | Step | Duration | Reagent | Cycling | Actions |
|--------|----------|--------------|---------|---------|-------------|
| 0 | Pump Low | 00:00:00 | | | Edit Delete |
| 1 | Flow | 00:30:00 | THF50% | No | Edit Delete |
| 2 | Flow | 00:30:00 | THF80% | No | Edit Delete |
| 3 | Flow | 00:30:00 | THF100% | Yes | Edit Delete |
| 4 | Flow | 00:30:00 | THF100% | Yes | Edit Delete |
| 5 | Probe | 00:10:00 | | | Edit Delete |
| 6 | Pump OFF | 00:00:00 | | | Edit Delete |
| Action | | Hour Min Sec | Reagent | Cycling | Add step |

2 → Add step

Vous pouvez nommer votre protocole (1)

Entrez les différentes étapes de votre protocole via les différents onglets et le bouton ADD STEP (2):

Onglet **Step**: sélectionnez le travail attendu dans l'étape (flow, pump high/medium/low, heater T1/2/3/4, heater OFF).

Onglet **Duration**: permet d'indiquer la durée de l'étape (Heures/minutes/secondes).

Onglet **Reagent**: sélectionnez le réactif que vous utilisez.

Onglet **Cycling**: activez si besoin l'utilisation des réactifs de façon cyclique.

Onglet **Action**: modifiez l'action déjà enregistrée en la supprimant ou en l'éditant.

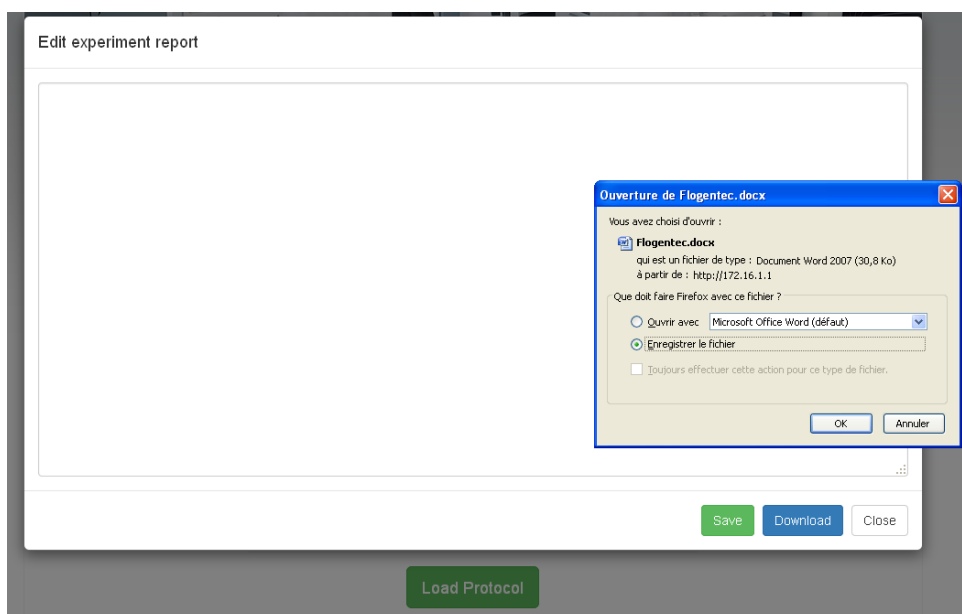
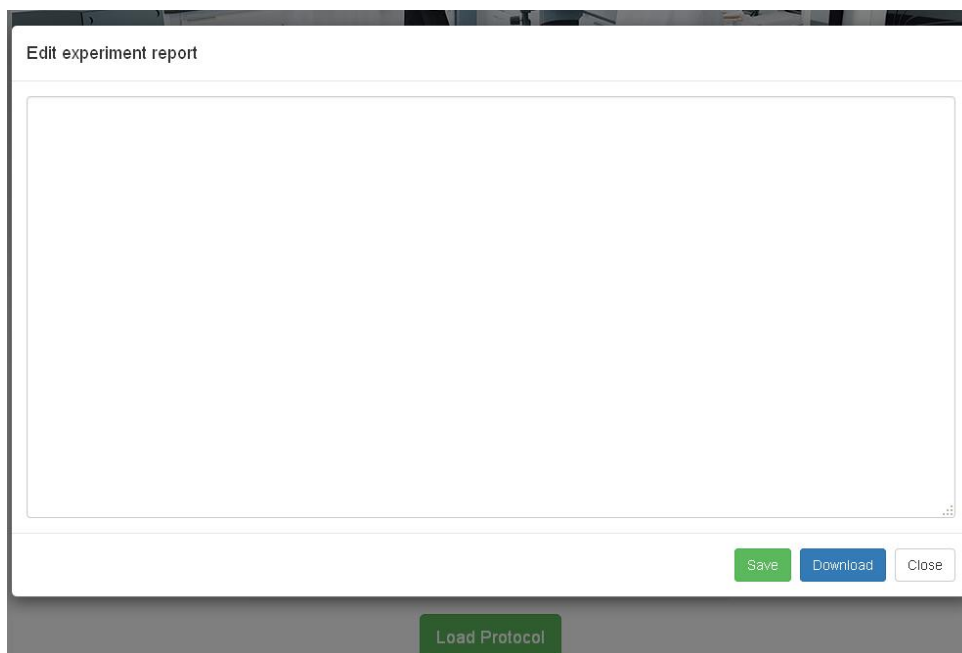
Vous pouvez également déplacer les étapes les unes par rapport aux autres via les flèches situées à gauche.

Une fois le protocole achevé, sauvegardez le protocole grâce au bouton SAVE (3).

Accédez à la mise en place de l'expérience en cliquant sur le bouton EXPERIMENT (4).

4. Editer un Rapport :

A la fin de l'expérience, vous pouvez synthétiser vos résultats dans un rapport dans lequel vous pouvez directement importer vos images. Le protocole peut ensuite être publié ou exporté en document word. Tous les rapports d'expériences sont accessibles lors du chargement d'une expérience à l'aide du bouton report.



EXPERIMENT REPORT

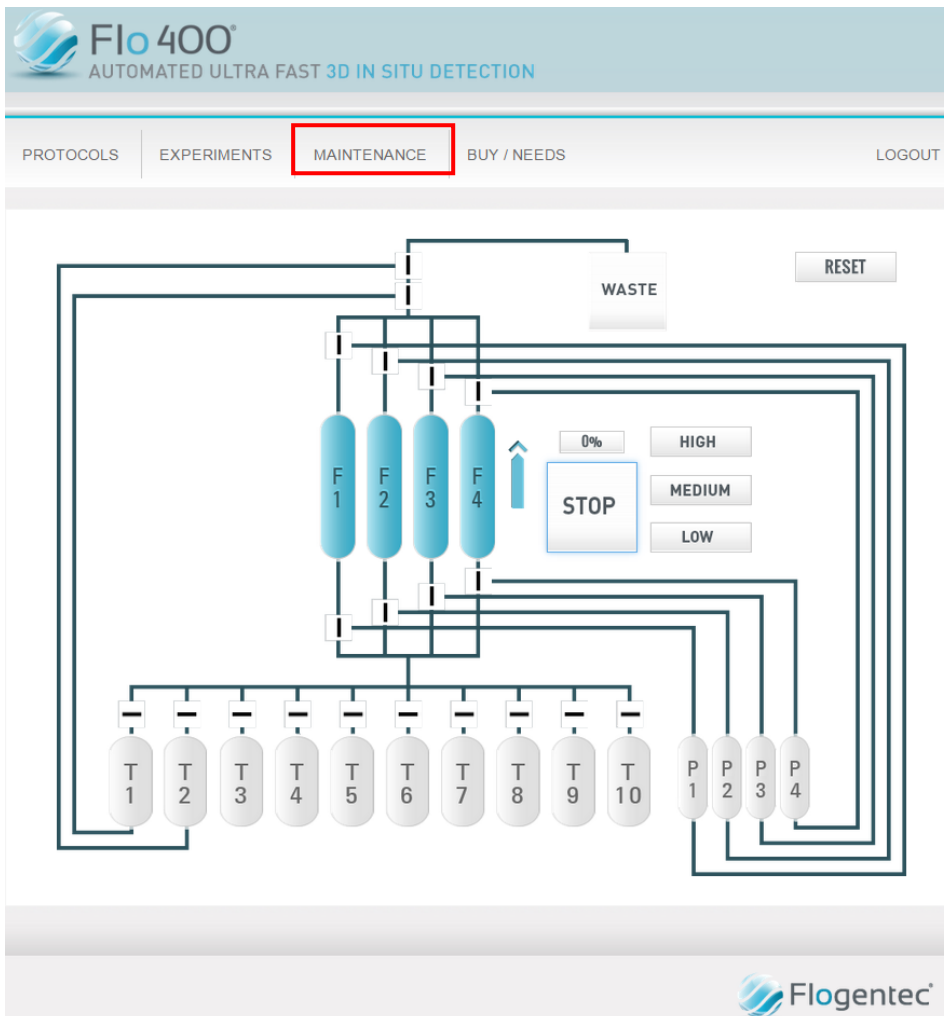
| Experiment | Protocol | Author | Date |
|------------|---------------------|--------|------------|
| Test | Hybridation in situ | test | 11/04/2015 |


| Order | Reagent | Duration | Temperature (°C) |
|-------|-----------|----------|---------------------------|
| 0 | PBS | 00:15:00 | |
| 1 | Probe | 08:00:00 | T1 : 41°C, 40°C, 0°C, 0°C |
| 2 | PBS | 00:30:00 | |
| 3 | DMTP | 01:00:00 | |
| 4 | alpha-DIG | 07:00:00 | T2 : 0°C, 0°C, 9°C, 0°C |
| 5 | PBS | 00:30:00 | T2 : 0°C, 0°C, 9°C, 0°C |

Comments :
Test hybridation in situ

5. Maintenance de l'appareil :

Pour afficher le système de maintenance de l'appareil, cliquez sur l'onglet **MAINTENANCE**.
Vous avez ainsi les circuits effectués par les différents réactifs au sein de l'appareil.



Vous pouvez, tester l'appareil et modifier les connexions entre les Flowcells et les tankers via les différents carrés de branchement . Il est également possible de tester les différents flux créés via les boutons HIGH, MEDIUM et LOW ainsi que le bouton STOP. Cet onglet permet également de contrôler la position des tankers lors de l'exécution d'une expérience.

6. Lavage de la machine (WASH CYCLE) :

Cet onglet vous permet de lancer un lavage de la machine.

Le protocole de lavage est déjà inscrit dans l'automate et prends en compte les volumes nécessaires pour un fonctionnement de pompe à 100%.

7. Contact :

Une maintenance à distance peut être effectuée par notre société en cas de demande.
Nous restons disponibles aux coordonnées suivantes :

www.flogentec.com

Tel : +33 (0)4.28.61.78.43

99 Chemin des Huguenots
26000 Valence
France

La société Flogentec® reste à votre écoute pour toutes autres demandes.