



---

---

## Utilisation de la station d'hybridation TECAN HS 4800

---

---

Version 1

---

---

Responsable machine: Caroline PROUX (3513)

---

---

### Sommaire

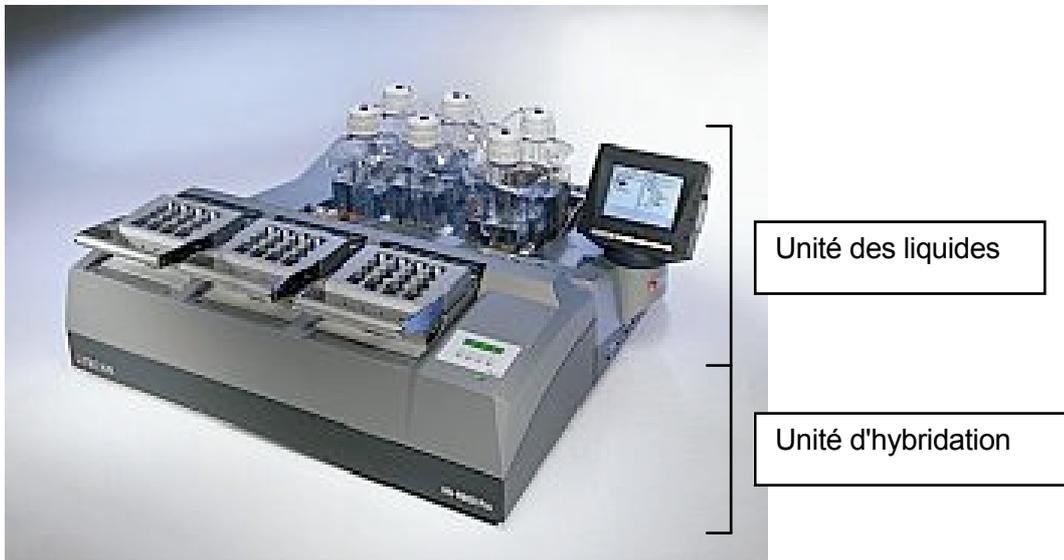
1.	DESCRIPTION DE LA MACHINE:.....	2
1.1	L'unité des liquides:.....	2
1.2	L'unité d'hybridation: .....	2
2.	INSERTION DES LAMES: .....	2
3.	LANCER UN PROGRAMME:.....	2
3.1	Avant chaque hybridation:.....	2
3.2	L'hybridation:.....	2
3.3	Après chaque hybridation: .....	2
4.	MAINTENANCE:.....	2
4.1	Tous les 2 mois:.....	2
4.2	Désinfection des tuyaux 1 fois par an:.....	2

**ATTENTION: La station d'hybridation est une machine fragile et n'est donc pas disponible en libre service. Vous devez contacter Caroline PROUX (3513) pour l'utiliser.**

**Utilisation de la station d'hybridation TECAN HS 4800**

Version 1

Responsable machine: Caroline PROUX (3513)

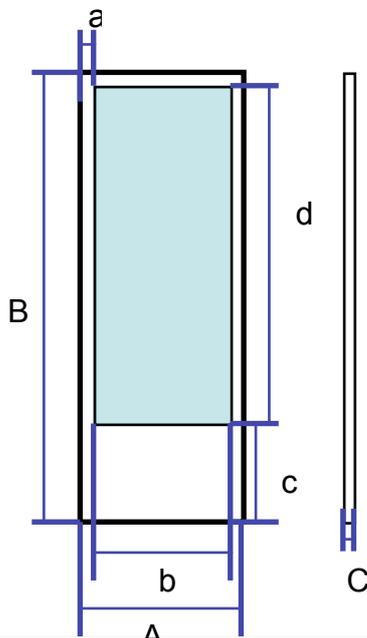
**1. DESCRIPTION DE LA MACHINE:****1.1 L'unité des liquides:**

Elle est constituée d'un écran tactile, et des liquides de lavage et rinçage. L'écran tactile permet de paramétrer facilement la machine. Il existe 6 bouteilles de liquides dont 4 sont situées sur une plaque chauffante (60°C) et 2 pour le rinçage et le séchage des lames. Le volume minimum requis pour un RUN classique est de 1000ml.

**1.2 L'unité d'hybridation:**

Elle est constituée d'un écran à cristaux liquides et de 3 blocs comprenant chacun 4 chambres d'hybridation. L'écran à cristaux liquides donne les instructions lors d'un RUN.

Les blocs sont totalement indépendants les uns des autres. Dans sa configuration actuelle, la station ne permet pas d'hybrider des lames contenant plusieurs arrays (format multi-pack Agilent) Spécificités des chambres d'hybridations 63,5 X 20:



		Dimension (mm)	
		Min	Max
Slide	A	25	26
	B	75,3	76,5
	C	0,8	1,2
Array	a	2,7	
	b		20
	c	8,4	
	d		60,7



---

## Utilisation de la station d'hybridation TECAN HS 4800

---

Version 1

---

Responsable machine: Caroline PROUX (3513)

---

### 2. INSERTION DES LAMES:



1. Retirer du bloc l'adaptateur de lame et le poser sur la paillasse
2. Délicatement, poser le haut de la lame en poussant la languette et déposer la lame sur l'adaptateur (coté spotté vers le haut).
3. Répéter les étapes 1 et 2 pour toutes les lames.
4. Vérifier que les lames sont bien insérées en appliquant une légère pression sur les 4 coins de la lame.
5. Déposer délicatement l'adaptateur dans le bloc chauffant.
6. Fermer à fond très doucement le bloc.

**Attention:**

- ∞ Ne pas toucher la partie spottée de la lame.
- ∞ Si moins de 4 lames sont utilisées dans un bloc, il faut insérer des lames vierges aux emplacements vides.
- ∞ Ne pas toucher à la station d'hybridation sans gants.

### 3. LANCER UN PROGRAMME:

**En cas de doute, se reporter au manuel d'utilisation disponible dans le classeur de la machine bureau N°6 ou contacter C. Proux**

#### 3.1 Avant chaque hybridation:

1. Allumer l'unité des liquides à l'aide du bouton sur la façade juste en dessous de l'écran, puis du bouton à l'arrière de la station.
2. Vérifier que la bonbonne de gaz est à 2,5 Bar environ.
3. Vérifier que la poubelle à déchets liquides est vide (posée sur le sol)
4. Mettre les liquides à chauffer; dans le menu : [INSTRUMENT / START HEATING BOTTLES](#)



---

## Utilisation de la station d'hybridation TECAN HS 4800

---

Version 1

---

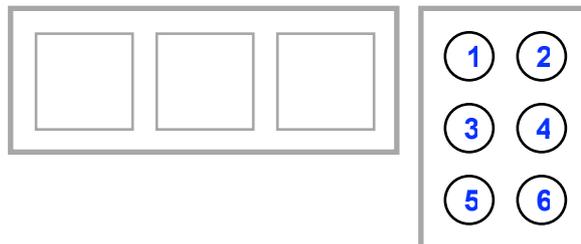
Responsable machine: Caroline PROUX (3513)

---

5. Insérer des lames vierges dans tous les blocs (12 lames au total) et fermer les blocs délicatement.
6. Remplir la bouteille H<sub>2</sub>O de 2L, d'eau milli-Q, et mettre tous les tuyaux dans le fond de la bouteille.
7. Lancer un RINSE: [INSTRUMENT / RINSE](#) (environ 30min), valider la case [FULL SYSTEM DRYING, MODULE ALL](#) et faire [OK](#).
8. La fin du RINSE est indiquée par une alarme sonore et un message apparaît sur l'écran à cristaux liquides de l'unité d'hybridation: "[Remove all tubes from all liquids](#)": enlever les tuyaux de la bouteille H<sub>2</sub>O, les mettre dans la bouteille vide RINSE et presser [OK](#) sur l'écran à cristaux liquides.
9. A la fin du RINSE, un message sur l'écran de l'unité des liquides indique que le RINSE est fini. Ouvrir les blocs complètement et laisser sécher les petites gouttelettes d'eau (présentes sur les lames vierges et sur les chambres d'hybridations) à l'air libre pendant 5 minutes.
10. Fermer les blocs en déposant délicatement le couvercle sur les lames sans actionner la manette de fermeture complète.

### 3.2 L'hybridation:

1. Insérer les lames à hybrider dans les blocs (cf. paragraphe 2. Insertion des lames). Noter pour chaque lame le numéro de bloc, de chambre d'hybridation ainsi que la cible utilisée pour l'hybridation.
2. Fixer les tuyaux dans les bouteilles correspondantes:



3. Lancer un PRIME: [INSTRUMENT / PRIME sur channel 1](#) (environ 30s)
4. Optionnel en fonction des échantillons ou des lames: dénaturer les cibles à 95° pendant 3 minutes.
5. Ouvrir un programme: [FILE / OPEN A PROGRAM / nom du programme.hpr](#)
6. Vérifier le programme en cliquant sur l'onglet Program Tree
7. Lancer le programme: [INSTRUMENT / RUN \(choisir les blocs utilisés\)](#), après avoir vérifié les points de contrôle que la machine demande, faire [OK](#) et le programme démarre.
8. Après une dizaine de minutes, la machine sonne et demande l'injection des cibles (110 µl)
9. L'écran de l'unité d'hybridation indique "Probe Injection", faire [OK](#) (dernier bouton à droite).
10. Sur l'écran de l'unité d'hybridation, la machine indique par une croix la première injection à faire. Ouvrir le bouchon blanc correspondant et injecter délicatement les 110 µl de cible. L'injection se fait en déposant le cône au fond du trou de la chambre d'hybridation, à la perpendiculaire par rapport à la machine (voir photo suivante)



---

## Utilisation de la station d'hybridation TECAN HS 4800

---

Version 1

---

Responsable machine: Caroline PROUX (3513)

---



11. Refermer le bouchon sans forcer
12. Appuyer sur OK sur l'écran de l'unité d'hybridation. La machine indique par une croix dans quelle chambre d'hybridation doit ce faire l'injection suivante. Répéter les étapes 10 et 11 si nécessaire.
14. Après les injections l'hybridation est lancée automatiquement. Sa durée est indiquée sur l'écran de l'unité des liquides.

### **3.3 Après chaque hybridation:**

1. La fin du RUN est signalé par une alarme sonore. Faire OK sur l'écran de l'unité d'hybridation qui indique "RUN FINISH".
2. Ouvrir délicatement les blocs (les lames peuvent être collées dans la chambre d'hybridation).
3. Eteindre le chauffage des liquides de lavage. [INSTRUMENT / STOP HEATING BOTTLES](#).
4. Récupérer les lames, elles sont prêtes à être scannées.
5. Lancer un RINSE (étapes 6 à 9 du paragraphe 3.2).
6. Eteindre la machine: bouton à l'arrière de l'unité des liquides puis bouton sous l'écran de la façade de la même unité.
7. Vider la poubelle des liquides.

**Il est obligatoire de procéder aux étapes de nettoyage et rinçage après hybridation .  
L'utilisation de la station est soumise au respect très strict de cette procédure.**



---

## Utilisation de la station d'hybridation TECAN HS 4800

---

Version 1

---

Responsable machine: Caroline PROUX (3513)

---

### 4. MAINTENANCE:

#### 4.1 Tous les 2 mois:

1. Enlever les chambres d'hybridation des blocs, et les rincer à l'eau milli-Q
2. Changer les joints de chaque chambre: laisser tremper les joints neufs 1h dans de l'eau milli-Q; enlever doucement les vieux joints des chambres d'hybridation; sécher à l'air libre les joints neufs et les installer sur les chambres.
3. Nettoyer les filtres des tubes plongeant dans les 6 bouteilles contenant les différents liquides.
4. Vérifier les petits joints noirs faisant connexion entre le manifold (arrivée/sortie des liquides et azote) et la chambre d'hybridation.

#### 4.2 Désinfection des tuyaux 1 fois par an:

1. Remplir la bouteille H<sub>2</sub>O de 2L, d'eau milli-Q (bonbonne sur l'évier), et mettre tous les tuyaux dans le fond de la bouteille.
2. Lancer un RINSE: [INSTRUMENT / RINSE \(environ 30min\)](#), valider la case [FULL SYSTEM DRYING, MODULE ALL](#) et faire [OK](#).
3. A la fin du RINSE, la machine sonne et un message apparaît sur l'écran à cristaux liquides de l'unité d'hybridation: "[Remove all tubes from all liquids](#)": enlever les tuyaux de la bouteille H<sub>2</sub>O, les mettre dans la bouteille vide RINSE et presser [OK](#) sur l'écran à cristaux liquides.
4. A la fin du RINSE, un message sur l'écran de l'unité des liquides indique que le RINSE est fini.
5. Préparer 500ml de Microcide SQ (désinfectant à diluer au 1/64<sup>e</sup>) dans la bouteille prévue à cet effet.
6. Placer les tuyaux dans la bouteille Microcide.
7. Lancer un PRIME sur les channels 1 à 6, les uns après les autres: [INSTRUMENT / PRIME sur channel 1](#) (environ 30s), puis [INSTRUMENT / PRIME sur channel 2](#) (environ 30s), .....
8. Laisser reposer 30 min.
9. Remplir la bouteille H<sub>2</sub>O de 2L, d'eau milli-Q (bonbonne sur l'évier), et mettre tous les tuyaux dans le fond de la bouteille.
10. Lancer un PRIME sur les channel 1 à 6, les uns après les autres: [INSTRUMENT / PRIME sur channel 1](#) (pour 1 min), puis [INSTRUMENT / PRIME sur channel 2](#) (pour 1 min), .....
11. Remplir la bouteille H<sub>2</sub>O de 2L, d'eau milli-Q (bonbonne sur l'évier), et mettre tous les tuyaux dans le fond de la bouteille.
12. Lancer un RINSE: [INSTRUMENT / RINSE \(environ 30min\)](#), valider la case [FULL SYSTEM DRYING, MODULE ALL](#) et faire [OK](#).
13. La fin du RINSE est indiquée par une alarme sonore et un message apparaît sur l'écran à cristaux liquides de l'unité d'hybridation: "[Remove all tubes from all liquids](#)": enlever les tuyaux de la bouteille H<sub>2</sub>O, les mettre dans la bouteille vide RINSE et presser [OK](#) sur l'écran à cristaux liquides.
14. A la fin du RINSE, un message sur l'écran de l'unité des liquides indique que le RINSE est fini.
15. Répéter les étapes 11 à 14.
16. Ouvrir les blocs complètement et laisser sécher les petites gouttelettes d'eau (présentes sur les lames vierges et sur les chambres d'hybridations) à l'air libre pendant 5 minutes.
17. Fermer les blocs en déposant délicatement le couvercle sur les lames sans actionner la manette de fermeture complète.
18. Eteindre la machine: bouton à l'arrière de l'unité des liquides puis bouton sous l'écran de la façade de la même unité.



---

---

**Utilisation de la station d'hybridation TECAN HS 4800**

---

---

Version 1

---

---

Responsable machine: **Caroline PROUX (3513)**

---

---

19. Vider la poubelle des liquides.