

Cytomètre

Cytobuoy, Cytosense : Eau de mer, plancton.

Installé à bord le 07/01/2021 avant la campagne en mer SWINGS.

Petit récap instrumental

Caractéristiques	Instrument / PC portable
Numéro Réseau	-
Numéro Inventaire UR	29443
Numéro de série	CS-2020-100
Processeur	Intel Core i3 / Intel Core i5
RAM	8 GB / 32 GB
OS	Windows 10 Pro / Windows 10 Pro
IP	172.16.131.200 / 172.16.131.201
GW / DNS	172.16.131.254 / 172.16.131.254
Nom réseau	CS-2020-100-EMB / CS-2020-100
ID session	Cyto / Cyto
Mot de passe	buoy / buoy
PI	Mélilotus Thyssen (melilotus.thyssen@mio.osupytheas.fr)
ID / PWD Anydesk	848 841 322 / Cyto_mapio 493 659 628 / Cyto_mapio
ID / PWD TeamViewer	611 850 025 / mapio!974



Historique de l'instrument

Le Cytomètre est arrivé au LACy début novembre 2020. Il a été testé au LACy début décembre 2020, puis renvoyé aux Pays-Bas pour un défaut de laser. Il a été installé le 07/01/2021 à bord du Marion Dufresne, par Mélilotus Thyssen (PI).

Calendrier des maintenances

Tous les 2 jours	Nettoyer les filtres de la Pompe Moyen débit Vider les bulles du Sous-échantillonneur
1 jour avant chaque escale	Éteindre le Cytomètre, le robinet et la pompe Petit débit
A chaque escale	Nettoyer le sous-échantillonneur Changement du liquide de gaine (si arrêt > 1 semaine)
1 jour après chaque escale	Allumer la pompe Petit débit, le robinet et le Cytomètre
Si nécessaire	Changer (le tube de) la pompe péristaltique Remplissage des filtres Remplissage des billes Remplissage de biocide

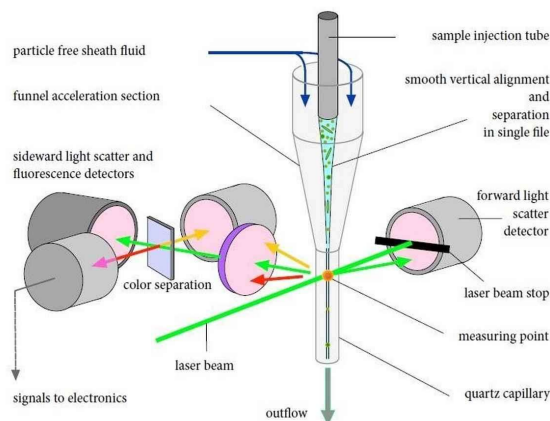
Brève description de son fonctionnement et conseils

La cytométrie en flux de type Cytosense en quelques mots :

- La cytométrie en flux est une technique qui permet de compter les particules en suspension dans un milieu liquide, une à une en les alignant devant un faisceau laser. Les signaux enregistrés lorsque la cellule intercepte le faisceau laser est composé d'un ensemble de profils optiques de diffusion (liées à la taille et à la structure interne de la particule), ou à la fluorescence (liée à l'excitation des pigments photosynthétiques ou au marqueur fluorescent s'il a été ajouté).
- Le Cytosense enregistre le profil entier de chaque signal optique émis, et pour les particules de plus grande taille (en général $> 10\mu\text{m}$), il est capable de prendre une photo pour une analyses taxonomique.

Principe de fonctionnement :

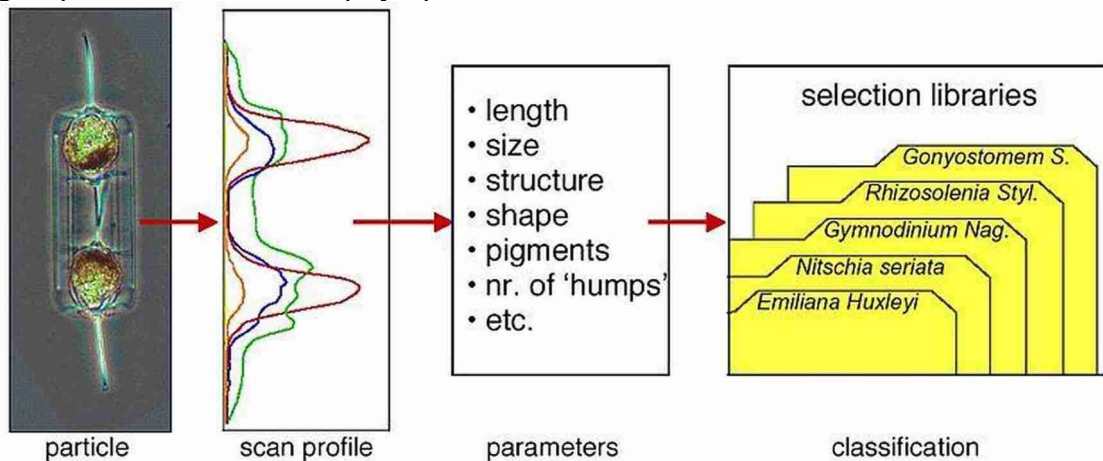
- L'échantillon est prélevé dans un sous-échantillon du continu de surface (eau de mer pompée en continu pendant la route du navire) par une pompe péristaltique. Un liquide de gaine composé d'eau de mer filtrée avec un débit rapide entoure l'échantillon pompé et provoque la formation d'un filet laminaire centrée dans une cuvette en quartz.
- Le filet laminaire permet aux particules de s'aligner les unes après les autres, et d'intercepter un laser (Coherent 488 nm 120 mW) focalisé. Deux signaux de diffusion (grand angles (SWS) et petits angles (FWS)) sont enregistrés, ainsi que deux signaux de fluorescence (rouge, FLR, et jaune (FLY)).
- Pour ne pas enregistrer toutes les particules marines, le déclenchement de l'acquisition du signal optique peut démarrer au moment où un signal de fluorescence suffisant est observé. Afin de ne pas surcharger un fichier avec trop de particules, il est possible d'enregistrer deux ou trois fichiers ou les seuils de déclenchement sont plus élevés (FLR20, FLR5). Cela permet d'augmenter le volume analysé et le comptage des cellules plus grosses et moins abondantes dans le milieu.
- Le programme d'échantillonnage est sauvegardé sur le logiciel CytoUSB et dans le dossier My Cytosense/schedule. Un programme de nettoyage est programmé tous les jours.
- A tout moment il est possible d'éteindre l'instrument de force. Il redémarrera avec le programme.
- Pour interrompre un programme (ou le déprogrammer), il faut décocher la case à gauche dans la fenêtre MeasurementsWindows.
- **Mettre le bidon de waste à la même hauteur que le Cyto pour éviter une perte du liquide de gaine par gravité !!!**
- **Attention à la puissance laser, classé 3B.**



Les données :

- Chaque cellule du phytoplancton qui passe devant le faisceau laser émet des profils de fluorescence et de diffusion en lien avec la quantité de pigments de type chlorophylle et phycoérythrine et leur morphologie, respectivement.

- Les particules détritiques, qui ne possèdent pas de pigments (ou en dégradation) peuvent malgré tout émettre un faible signal qui sera enregistré, et qui sera souvent assimilé à du bruit.
- Le Cytomètre peut mesurer des particules de 0.5µm à 700µm.
- L'ensemble des particules sont enregistrées dans un fichier qui sera lu par un logiciel d'analyse (cytoclus4). Il permet de visionner la distribution des particules en fonction de leur diffusion et de leur fluorescence (cytogrammes). L'utilisation de plusieurs ensembles de cytogrammes a deux dimensions permet de visualiser des groupes qui possèdent des propriétés optiques similaires et qui sont affiliées à des groupes fonctionnels du phytoplancton.



- Il y a deux dossiers :
 - My Cytosense (avec espace) : settings
 - MyCytosense (sans espace) : data

Contrôle qualité :

- Analyse des blancs du liquide de gaine :
 - Afin d'identifier si le seuil de détection du signal n'est pas trop bas ou s'il n'y a pas de pollution du liquide de gaine, il est recommandé d'effectuer régulièrement un « blanc » du liquide de gaine. Il s'agit d'interrompre la pompe à échantillon lors de l'acquisition, de force.
- Analyse des billes, contrôle de l'alignement :
 - Les billes de taille et de fluorescence connue sont analysées tous les jours avec le système « Ferrybox », une seringue est remplie avant chaque traversée avec une solution de billes et est automatiquement analysées au moins une fois par jour. L'utilisation d'un cytogramme TFWS left vs TFWS right permet de vérifier le bon alignement du laser.
 - Des billes de calibrage (en général composées de silice) pour convertir la diffusion en taille sont utilisées avant et après une mission.
- Pompe péristaltique :
 - Le débit est un critère important puisqu'il conditionne la conversion en abondance (cellules/mL) des particules comptées. La pompe péristaltique doit être calibrée avec des pesées à peu près toutes les 3 ou 4 semaines s'il y a une utilisation intensive. Et à chaque changement de tube.
 - Lorsque le tube est sur utilisé, des bulles d'air peuvent se former. C'est un signe qu'il faut rapidement changer le tube dans le cors de la pompe.

Lors du contrôle du Cytomètre, il faut vérifier que :

- Sur le Cytomètre (labo humide) :

- Il n'y a pas de bulle dans le sous-échantillonneur (l'aspiration d'air provoque un remplissage des filtres d'air, ce qui à la longue provoque une surpression dans le système, et un arrêt du cytomètre)
- Le robinet est ouvert normalement (marque : ~ un tour de la poignée)
- Si PC portable (PC Sciences) :
 - Le remote control est ouvert. Sinon, connexion au CS-2020-100-EMB.
 - Vérification des capteurs de pression et de température interne (à noter dans le cahier, fig. 1)
 - Les dernières mesures datent de moins de 2 heures (fig. 2).
 - Le liquide de gaine a bien été nettoyé par filtre charbon chaque jour (automatique) (fig. 1 ou Explorateur Windows)
 - L'analyse des billes (beads) a bien lieu une fois par jour (automatique) (fig.1 ou Explorateur Windows)

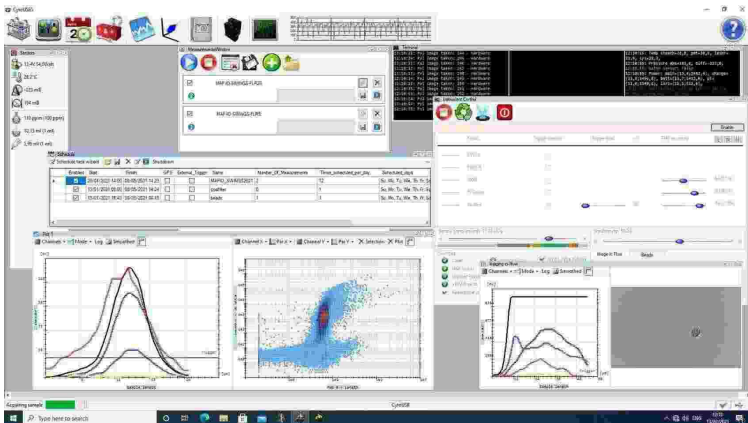


Figure 1: Logiciel d'acquisition du Cytomètre CytoUSB5

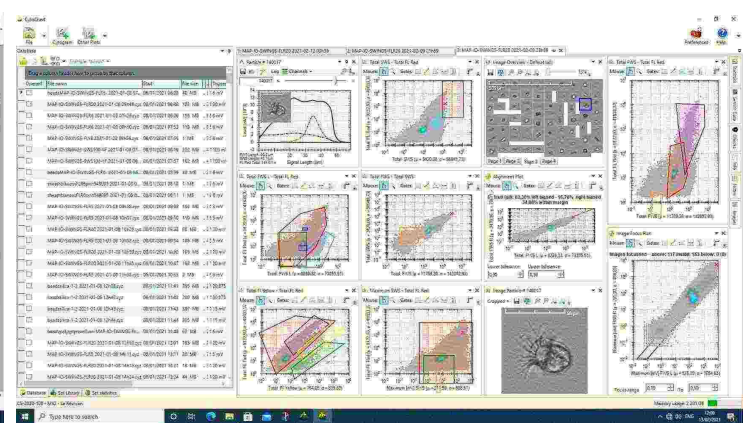


Figure 2: Logiciel CytoClus 4 de visualisation des données

Documents utiles

- User manual (EN)
- Software Manual (EN)

Serveur temps

L'instrument et le PC portable sont synchronisés avec le serveur de temps MAP-IO du bateau (172.16.131.3) toutes les heures.

Récupération des données

Les données se trouvent dans le répertoire C:\Users\Cyto\Documents\MyCytoSense\mapio-swings2021_data

Elles sont enregistrées sous la forme d'un fichier .cyz ouvrable uniquement avec le logiciel CytoClus4. Ce fichier trace les différents profils, cytogrammes et photos prises sur chaque échantillons (10 minutes, 1 à 5 mL).

Ces données sont récupérées via Ethernet et sont stockées sur le serveur du bateau. A chaque escale, elles sont récupérées manuellement, et mise sur le serveur du LACy. Seul 2 fichiers logs sont envoyés chaque jour au PI pour contrôle rapide de fonctionnement.

Inventaire du matériel de l'instrument

Dénomination	Quantité
Cytosense + alimentation	1
PC portable + alimentation	1
Housse de PC portable	1
Souris	1
Tapis de souris	1
Écouteurs	1
Câble Ethernet	1
Trousse à outils	1
Bracelet antistatique	1
Jeu de filtres	1
Spare pompe péristaltique	1
Sous-échantillonneur	1
Microscope	1
Tubing gaine + Luers	1m + 5
Tubing échantillonnage + Luers	2m + 5
Seringues biocide 3mL	3
Solution Billes 15mL	2
Rouleau Boots	1 x 15m
Seringues 5mL	4
Seringues 30mL	3
Filtres eau de mer 22µm	4
Tubing maintenance 10cm	1
Brosses nettoyage	10
Filtre MIO testé	1

Redémarrage de l'instrument (PDF)

A l'approche des ports, l'eau est plus polluée et risque d'endommager l'appareil. Il faut donc l'éteindre la veille de l'arrivée proche d'un port (même au mouillage), et le rallumer le lendemain du départ.

La veille de l'arrivée :

- Écrire la date et l'heure TU dans le cahier de laboratoire, le nom de l'instrument et celui de l'opérateur, et noter le nom de la manip.
- Le bouton ON/OFF se situe au dessus de l'appareil. Il suffit de le mettre OFF la veille de l'arrivée au Port/mouillage.



- Fermer le robinet d'arrivée d'eau.
- Éteindre la pompe moyen débit du bateau.

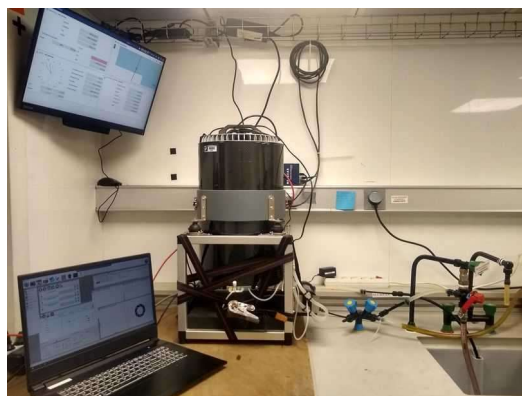
Le lendemain du départ :

- Remettre en route la pompe du bateau.
- Au niveau du robinet, fermer complètement la vanne plastique rouge du Y (cf. photo 3 de la **procédure Réglage du robinet**)
- Ouvrir à fond le robinet principal et laisser couler pendant 3 à 5 heures
- Ensuite, effectuer le réglage du robinet selon la **procédure Réglage du robinet**.
- Bien penser à vider les bulles du sous-échantillonneur une fois la circulation d'eau rétablie.
- Appuyer sur le bouton ON du Cytomètre.
- Écrire la date et l'heure TU de remise en route et les éventuelles remarques dans le cahier de laboratoire.

Maintenances diverses

Réglage du robinet (PDF)

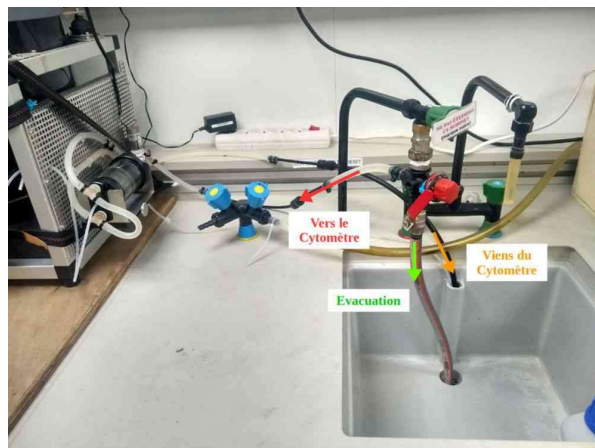
Le Cytomètre se trouve au pont E, dans le labo 5024 (stockage boutique TAAF ou labo OISO).



Le robinet d'eau de mer alimentant le Cytomètre se trouve à côté de l'instrument.

Il est important que l'écoulement se fasse en permanence par le deux tuyaux vert et orange. Si aucune eau ne sort par l'un des deux tuyau, il est important de régler à nouveau l'écoulement.

- La vanne ronde rouge doit être ouverte à fond
- La vanne longue rouge doit être alignée avec le trait de marqueur rouge
- Le robinet doit être ouvert d'un tour, les lignes blanches coincidentes.
- Déconnecter le raccord noir (pointe de la flèche rouge) en appuyant du bout des doigts sur la partie plastique au plus près du tube.
- A l'aide d'une bouteille d'1L, chronométrer le temps de remplissage de la bouteille pour évaluer le débit du tuyau rouge : la bouteille doit mettre environ 15 secondes pour se remplir. Le débit souhaité est de 4 L/min. Si le débit est suffisant, le sous-échantillonneur restera plein, et si des bulles apparaissent, elles s'évacueront d'elle même.



Élimination des bulles du sous-échantillonneur (PDF)

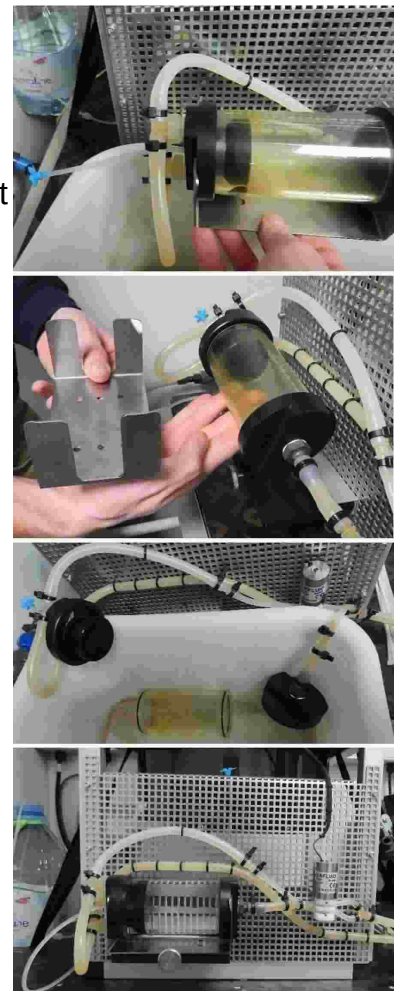
- Dévisser la vis de maintien du sous-échantillonneur (fig. 1)
- sortir délicatement la boîte inox de son support (coincé entre une plaque inox et le socle plastique noir) (fig. 2) :
- Incliner le sous-échantillonneur pour permettre l'évacuation de l'eau par la sortie du circuit (fig. 3).
- **Remettre le sous-échantillonneur en place et revisser la vis à fond pour bien le bloquer.**



Nettoyage du sous-échantillonneur (PDF)

Matériel nécessaire : bassine, tubing bougie, bouteille, papier absorbant.

- Écrire la date et l'heure TU dans le cahier de laboratoire, et noter le nom de la manip et de l'opérateur.
- Stopper le Cytomètre et le robinet Petit débit (**voir procédures jointes**).
- Démonter le tubing allant du sous-échantillonneur (SE) au Cytomètre et le remplacer par le tubing avec l'embout de bougie (fig. 1).
- Démonter le SE de son socle.
- Retirer le support métallique en glissant le SE vers le haut (fig. 2).
- Placer la bassine sous le SE
- Démonter les deux extrémités noires en les tirant délicatement. Des joints O-ring permettent l'étanchéité (fig. 3).
- Rincer le cylindre et les deux extrémités à l'eau douce. Utiliser du papier absorbant pour les dépôts tenaces.
- Remettre en place les deux extrémités jusqu'au « clac » en prenant garde d'aligner les encoches verticales.
- Remonter le support métallique sur le SE, et remettre le tout sur le socle.
- Rebrancher le SE au Cytomètre (fig. 4).
- Ouvrir et régler le robinet sur 4 L/min.
- Contrôler les fuites.
- Remettre le Cytomètre en route.



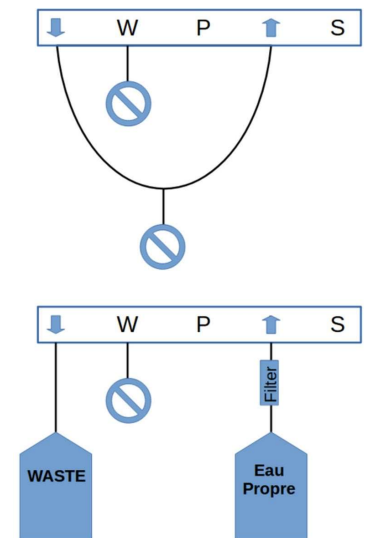
Changement du liquide de gaine (PDF)

Lorsque le cytomètre doit être stoppé plus d'une semaine, il est important de changer le liquide de gaine par de l'eau MilliQ le temps de l'arrêt, et de remettre de l'eau de mer filtrée lors du départ du bateau. **Il ne faut pas que l'eau de mer stagne dans le circuit.**

- Préparer 2L d'eau milliQ ou d'eau de mer.
- Vérifier que la pompe du liquide de gaine est OFF.

Tout se passe au niveau de la boucle du liquide de gaine située sur la base du cytomètre, au niveau du point de prélèvement :

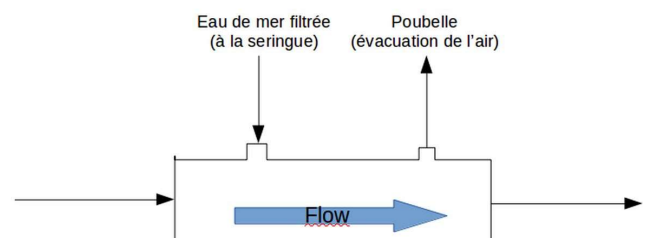
- Décrocher cette base pour qu'elle pivote vers le bas et ainsi vous permet de voir le sens des flèches entrée, sortie du liquide de gaine.
- FERMER la sortie "WASTE" sinon, il y aura un effet siphon, et il faudra remplir les filtre à la main.
- Flush et vider les bulles du filtre FiberFlo 1µm à l'aide d'une seringue (attention au sens d'écoulement !) avec de l'eau de mer
- Brancher le filtre FiberFlo à l'entrée du Cyto
- Raccorder le filtre à la bouteille d'eau « propre »
- Mettre une seconde rallonge à la sortie, vers une bouteille vide qui récupérera le liquide de gaine en cours de changement.
- Lancer la pompe du liquide de gaine et attendre que 1.5L d'eau soit passée, suffisant pour changer de liquide de gaine.
- Remettre les tubes du Cyto en place.
- Rincer le filtre en backflush avec de l'eau douce et la seringue (200 à 300 mL nécessaires), le vider en ouvrant des deux côtés, et laisser sécher.



Remplissage des filtres (PDF)

À faire si la pression est très inférieure à la normale, que de l'air a été pompé ou que des bulles apparaissent dans le waste lors du remplissage du liquide de gaine. Commencer par le filtre inférieur, puis passer à l'intermédiaire, puis au supérieur.

- Ouvrir le Cytomètre
- Repérer le sens du flow du filtre concerné.
- Ouvrir le bouchon d'évacuation de l'air et brancher un tube allant jusqu'à un contenant « poubelle ».
- Démonter le tube au niveau de l'entrée du liquide de gaine.
- A l'aide d'une grosse seringue et avec le même liquide que dans le liquide de gaine, injecter rapidement l'eau dans le filtre jusqu'à voir ressortir de l'eau dans le tube d'évacuation. Plusieurs seringues peuvent être nécessaires pour les remplir complètement.



- Démontez le tube d'évacuation, remettez en place le bouchon et le tube d'entrée.
- Passer au filtre suivant.

Remplissage des billes (PDF)

Le cytomètre peut rester fermé.

- Dans Instrument Control :
 - Deflate pinchvalve
 - Beads pinchvalve
 - Sample pump ON
- Utiliser le tubing « PS 2µm SF de SM 19/11/20 » et connecter une seringue remplie d'eau MilliQ + billes (1mL de bille + 9mL d'eau).
- La faire « sucer » par la pompe péristaltique. Pas besoin d'ouvrir la seringue.
- Remplir les Settings avec la nouvelle quantité / concentration de billes.

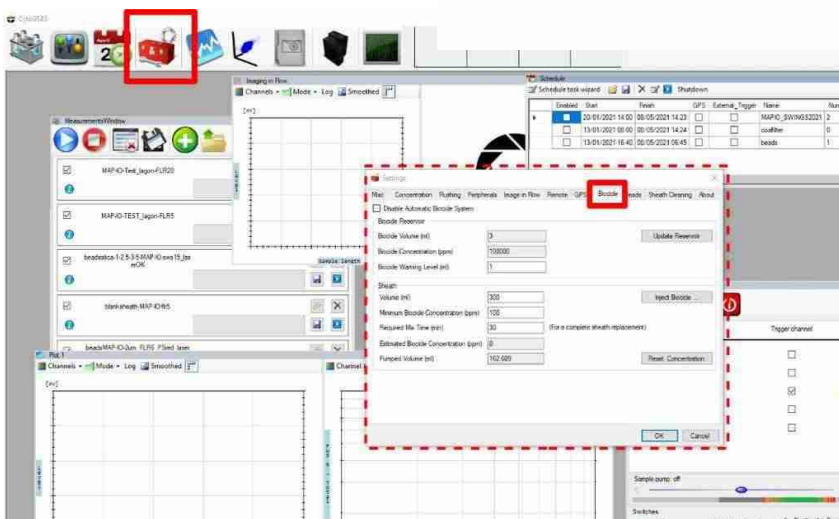
Remplissage du biocide (PDF)

- Ouvrir le Cytomètre
- Injecter le contenu d'une seringue (3mL) de biocide dans le réservoir (tubing court à droite, avec bouchon et clapet anti retour).
- Ajouter 7mL d'eau MilliQ et agiter la poche.
- Dans la boîte à outils du logiciel (encadré rouge), onglet «biocide », cocher la case (si décochée) « Enable biocide injection »
- Entrer la quantité de biocide injecté, et sa nouvelle concentration (Tableur biocide associé) :

Paramètres à remplir dans CytoUSB :

	Procline	950	300
Pur	Concentration %	9,5	3,0
	Concentration µL/mL	95	30
	Concentration ppm	95000	30000
Dilué (10mL)	Concentration %	2,9	0,9
	Concentration µL/mL	28,5	9,0
	Concentration ppm	28500	9000

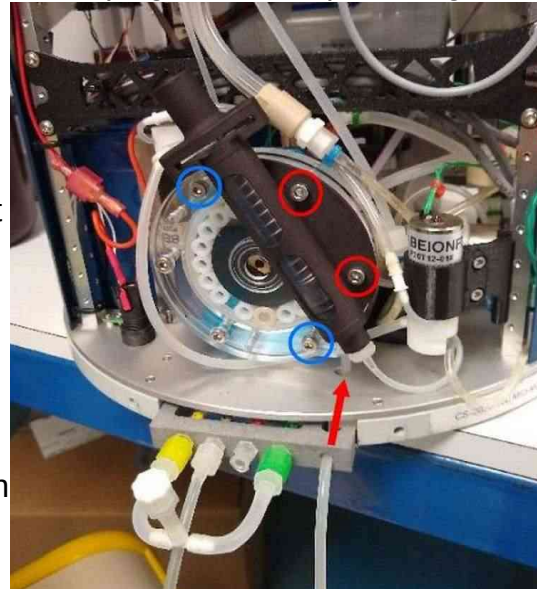
Biocide reservoir	
Biocide Volume (mL)	10
Biocide Concentration (ppm)	28500,0
Biocide Warning Level (mL)	1
Sheath	
Volume (mL)	500
Minimum Biocide Conc (ppm)	15
Required Mix Time (min)	30
Estimated Biocide Conc (ppm)	0
Pumped Volume (mL)	19000



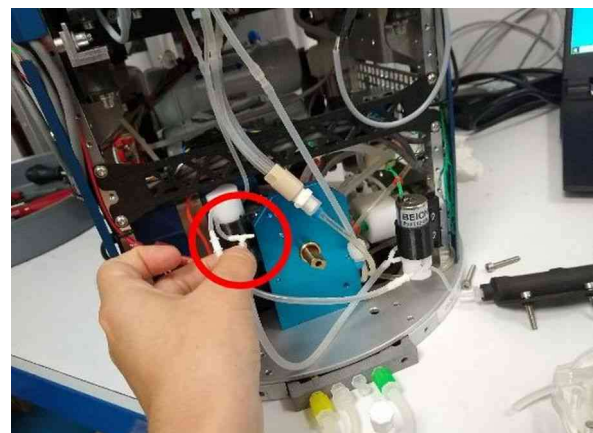
Changement du tube de pompe péristaltique (PDF)

La durée de vie du tube de la pompe péristaltique est de quelques mois. Après ça, elle commence à créer des bulles d'air dans l'échantillon, qui seront mesurées et photographiées, et biaiserons les résultats.

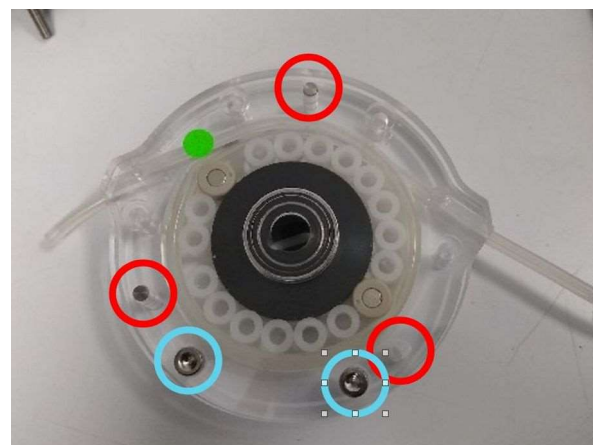
- Écrire la date et l'heure TU dans le cahier de laboratoire, et noter le nom de la manip et de l'opérateur.
- Sortir le Cytomètre de sa coque carbone : dévisser les 8 vis sur le bas de la coque, et tirer délicatement le cytomètre vers le haut via ses poignées. Bien prendre garde à ne mettre aucun câble en tension.
- **Clamper le tube de sortie de l'injecteur pour ne pas vider le circuit de gaine (Photo à ajouter).**
- Libérer le tube d'entrée d'échantillon du châssis en abaissant la base de distribution et en tirant délicatement le tube par le haut (flèche rouge).
- Clamper le tube de sortie de la seringue.
- Démontez les vis du support de la seringue (ronds rouges).
- Démontez les vis maintenant la pompe sur son support bleu (ronds bleus).



- Démontez le tube de sortie de pompe au niveau du Té proche de l'électrovanne (rond rouge ci-contre).
- Sortir la pompe et la poser à plat sur une table. Prendre une photo de l'état initial pour aider au remontage.



- Marquer le tube au niveau des entrée/sortie de la pompe.
- Démontez les deux dernières vis (ronds bleus).
- Retirez les 3 bâtonnets métalliques (ronds rouges) en les poussant avec le tournevis.
- Démontez délicatement la partie supérieure de plexiglas en observant bien la disposition du tube.



- Retirer les petits anneaux de plastique et les deux anneaux aimantés.
- Retirer le vieux tube (pousser les parties siliconées avec un tournevis fin si nécessaire).
- Marquer le nouveau tube comme l'ancien pour le placer correctement au niveau de l'entrée et de la sortie de la pompe.
- Placer le nouveau tube correctement dans la pompe (marquages) et replacer les anneaux aimantés pour bloquer le nouveau tube en place, puis ceux en plastique.
- Replacer les bâtonnets métalliques pour aider la remise en place de la partie supérieure de la pompe et refermer la pompe. Remonter les vis de blocage.
- Injecter du nouveau silicone dans les encoches pour bloquer le tube dans la pompe (risque de déplacement progressif lors du pompage).
- Remettre la pompe en place sur son châssis et revisser les vis bleue de la photo 1.
- Rebrancher les différents tubes (électrovanne et entrée d'échantillon) et les replacer comme initialement.
- Remettre la seringue en place avec les vis rouges de la photo 1.
- Déclamper le tube d'entrée d'injecteur et de la seringue.
- Tester le fonctionnement de la pompe en activant *Sample pump* dans la fenêtre **Instrument control**.



Nettoyage du filtre de la pompe Petit débit

Cette maintenance est réalisée par LDA tous les 2 jours.

Problèmes rencontrés

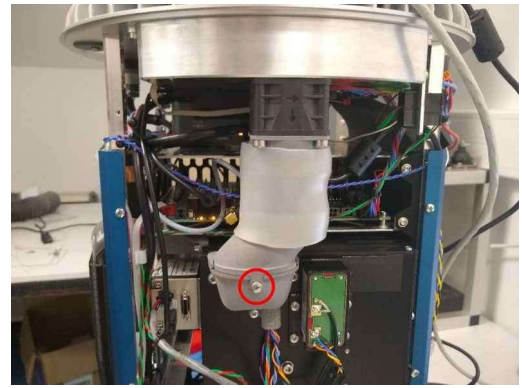
Cytogramme décentré : réglage cœur de jet (PDF)

Lorsque les cytogrammes ne sont pas bons et que les mesures sont décentrées, il est possible que le cœur du jet soit décalé par rapport au laser.

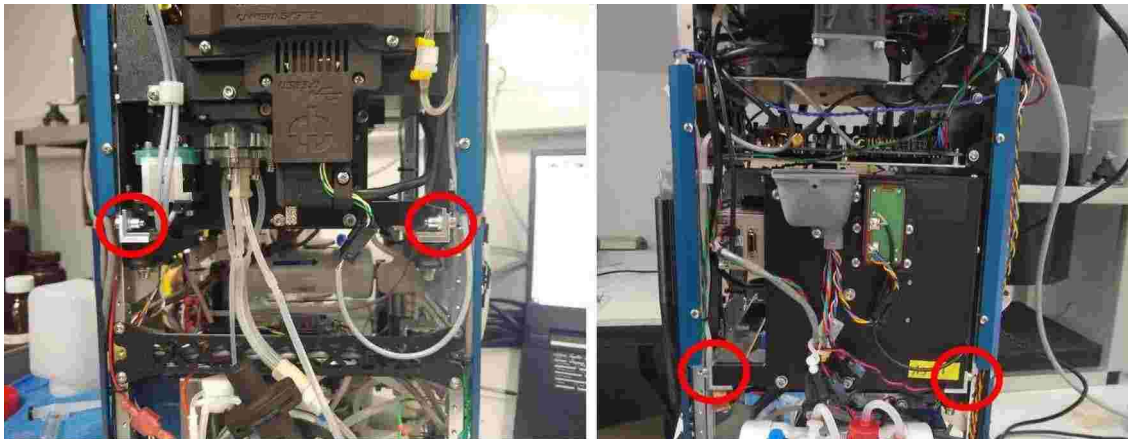
- Écrire la date et l'heure TU dans le cahier de laboratoire, et noter le nom de la manip et de l'opérateur.
- Sortir le Cytomètre de sa coque carbone : dévisser les 8 vis sur le bas de la coque, et tirer délicatement le cytomètre vers le haut via ses poignées. Bien prendre garde à ne mettre aucun câble en tension.
- Ouvrir le logiciel **Coherent, OBIS Connection** et baisser la puissance du laser de 120 (initial) à 20 (final).



- Démontez le tube de ventilation à l'arrière de la chambre optique en dévissant la petite vis rouge et en faisant coulisser la partie grise attenante et la partie souple blanche.

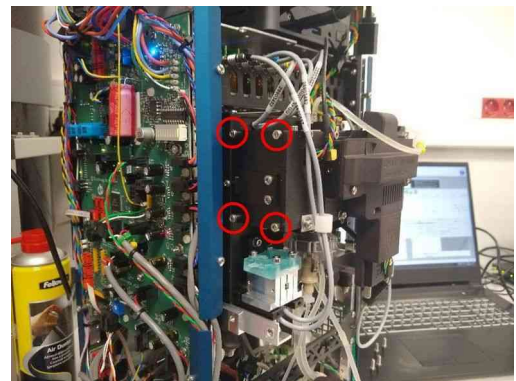


- Démontez les 4 vis des rails de la chambre optique (ci-dessous).

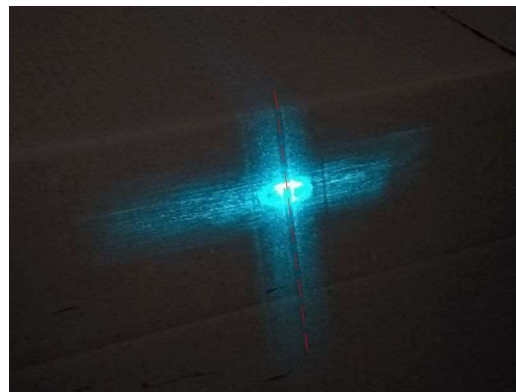


- Tirez délicatement en prenant bien garde aux câbles la chambre optique vers l'avant (max 5 cm).

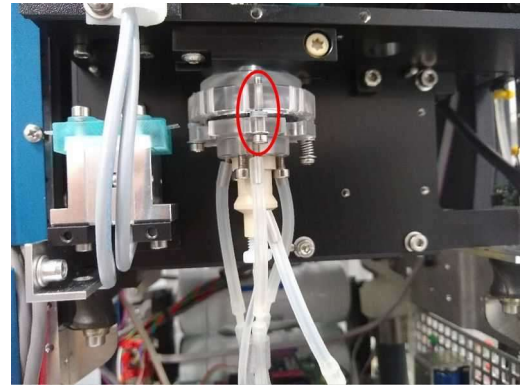
- Ouvrez la fenêtre du laser sur le côté gauche de la chambre optique (4 vis).



- Placer un carton à 1 mètre de la fenêtre de la chambre optique pour visualiser le faisceau laser.
- Mettre l'entrée du tube d'échantillonnage dans un échantillon d'éthanol.
- Dans la fenêtre **Instrument control**, activer la *Sheath pump* pour visualiser le cœur du jet dans le faisceau laser.



- Si le cœur du jet est effectivement décentré, tourner légèrement la vis frontale du bloc cylindrique situé sous la chambre optique et contrôler visuellement son centrage. Quelques millimètres sont suffisants.

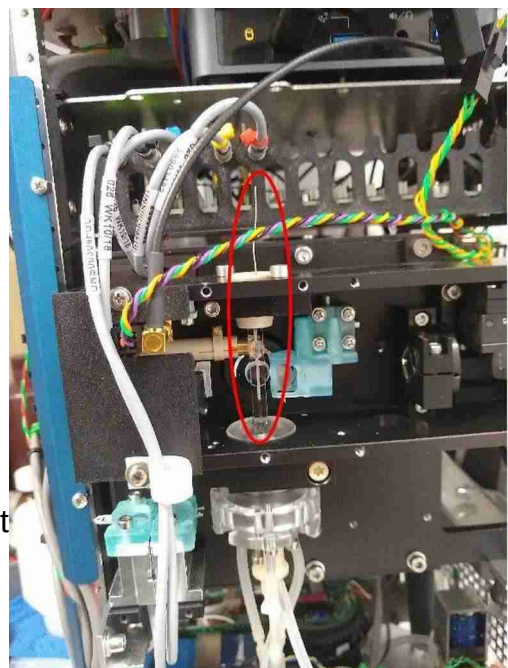


- Passer un échantillon d'eau de mer pour contrôler l'efficacité de la manip.
- Effectuer les éventuelles autres maintenances (nettoyage injecteur, centrage laser, etc.) si nécessaire.
- Remettre en place la plaque latérale de la chambre optique (4 vis).
- Renfoncer la chambre dans sa position initiale en prenant toujours bien garde à ne pas coincer de câble et remettre les 4 vis en place.
- Remonter le tube de ventilation.
- Régler le laser sur 120 dans le logiciel **OBIS connection**.
- Refermer le Cytomètre.

Cytogramme décentré : nettoyage injecteur (PDF)

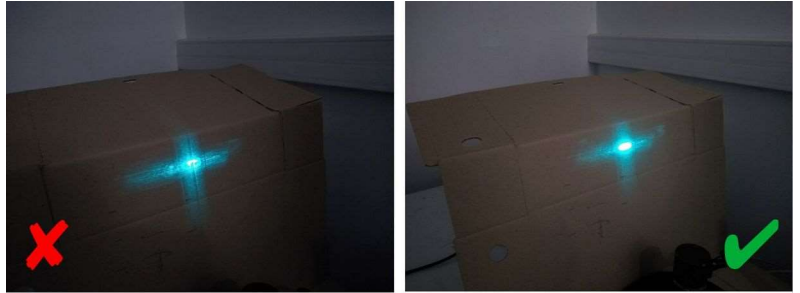
Lorsque les cytogrammes ne sont pas bons et que les mesures sont décentrées, et que la procédure de réglage de cœur du jet n'a pas suffi, il est possible que l'injecteur soit encrassé.

- Écrire la date et l'heure TU dans le cahier de laboratoire, et noter le nom de la manip et de l'opérateur.
- Appliquer la procédure de **Réglage du cœur du jet**.
- Démontez la face avant de la caméra (3 vis).
- Clamper le tuyau de sortie du liquide de gaine en haut de la chambre optique.
- Dévisser à la main l'écrou noir du circuit du liquide de gaine.
- Tremper la brosse interdentaire dans de l'éthanol.
- Insérer la brosse interdentaire dans l'orifice, jusqu'en bas de l'injecteur et effectuer des vas et viens pour bien nettoyer la section. Plusieurs dizaines d'A/R peuvent être nécessaires.
- Revisser l'écrou et déclamer le tube.



- Mettre l'entrée du tube d'échantillonnage dans un échantillon d'eau de mer.
- Dans la fenêtre **Instrument control**, activer la *Sheath pump* et la *Sample pump* pour visualiser le cœur du jet dans le faisceau laser.

- Régler à nouveau le cœur du jet si nécessaire. La tâche doit être la plus nette et délimitée possible. Nettoyer une nouvelle fois l'injecteur si la tâche est toujours trop diffuse.

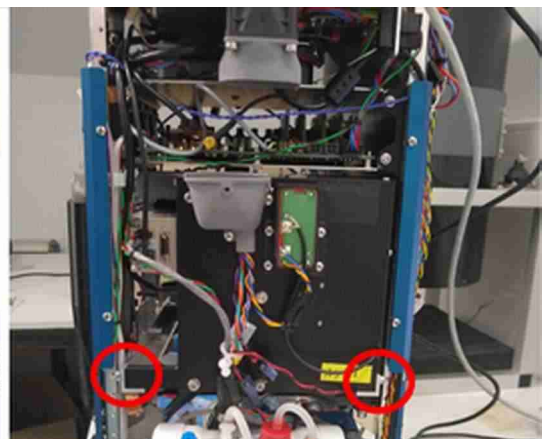
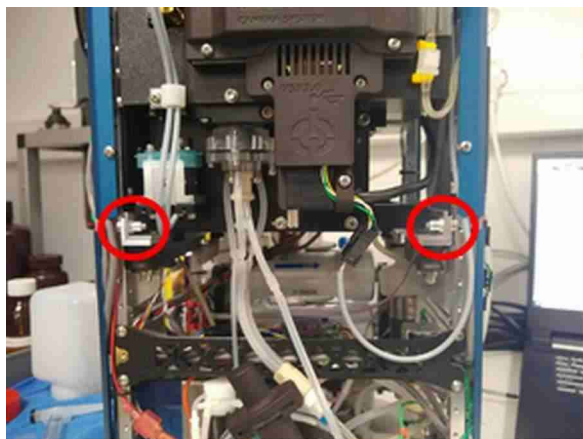
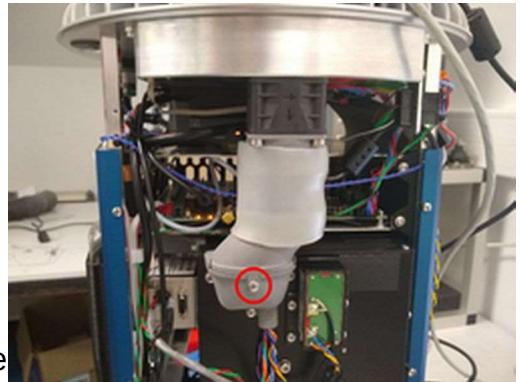


- Une fois l'injecteur propre, remonter la face avant de la caméra sans serrer les vis.
- Lancer un échantillon avec *Image in flow* pour visualiser le réglage de hauteur de la caméra. Si des coins noirs sont visibles, repositionner le cache à la main. Une fois qu'aucune zone noire n'est visible, serrer les vis de fixation.
- Finir la procédure de **Réglage du cœur du jet**.

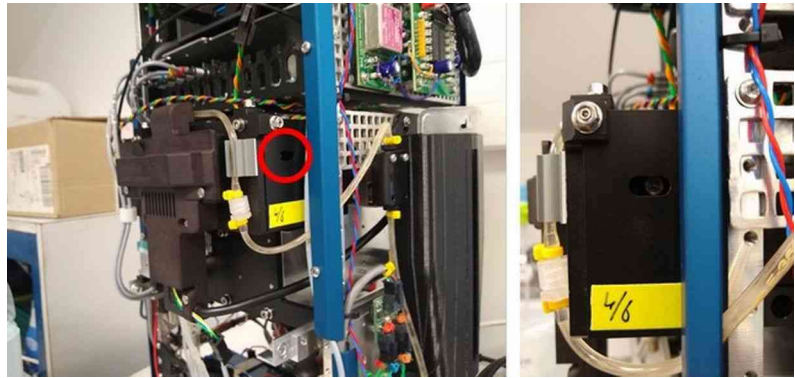
Cytogramme décentré : alignement du laser (PDF)

Lorsque les gaussiennes de FWS R et FWS L ne sont pas superposées lors de la mesure des beads (si l'une toujours inférieure à l'autre, car signal très variable)

- Écrire la date et l'heure TU dans le cahier de laboratoire, et noter le nom de la manip et de l'opérateur.
- Sortir le Cytomètre de sa coque carbone : dévisser les 8 vis sur le bas de la coque, et tirer délicatement le cytomètre vers le haut via ses poignées. Bien prendre garde à ne mettre aucun câble en tension.
- Démontez le tube de ventilation à l'arrière de la chambre optique en dévissant la petite vis rouge et en faisant coulisser la partie grise attenante et la partie souple blanche (ci-contre).
- Démontez les 4 vis des rails de la chambre optique (ci-dessous).



- Tirer délicatement en prenant bien garde aux câbles la chambre optique vers l'avant (max 5 cm) pour libérer l'accès à la vis de réglage (ci-contre).

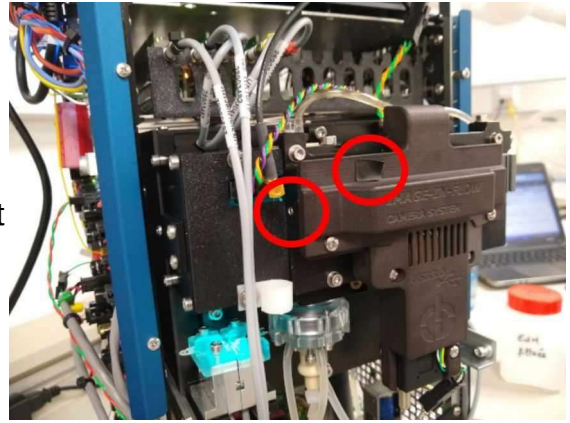


- Mettre le Cytomètre sous tension et préparer une séquence de beads de 3 à 5 minutes. Préparer fenêtre de Plot 1 avec les paramètres suivants (capture ci-dessous) :
 - Plot de gauche (gaussiennes) : cocher uniquement FWS L et FWS R
 - Plot de droite : Channel X : FWS L , Par X : Total – Channel Y : FWS R , Par Y : Total
- Préparer 5 à 10mL de solution de beads PS 2 μ m dans l'un des flacons plastiques et y plonger le tube d'échantillonnage.
- Lancer la séquence de beads préalablement programmée et attendre la fin du préchauffage et du flush.
- Lorsque la mesure commence, apparaîtront les 2 courbes noires sur le plot de gauche, et des points sur celui de droite. Attendre la fin de l'auto-scale du plot de droite et entourer la zone des beads avec la souris (capture ci-dessus). Ne se verrons alors plus que les gaussiennes des beads à gauche.
- Avec un tourne vis Allen, tourner très légèrement la vis de réglage du laser dans un sens ou dans l'autre afin que les deux courbes se superposent le mieux possible. Le signal est très variable, les courbes doivent être en moyenne superposées, mais l'une sera parfois supérieure à l'autre.
- Effectuer les éventuelles autres maintenances (nettoyage injecteur, centrage cœur du jet, etc...)
- Renfoncer la chambre dans sa position initiale en prenant toujours bien garde à ne pas coincer de câble et remettre les 4 vis en place.
- Remonter le tube de ventilation.
- Refermer le Cytomètre.

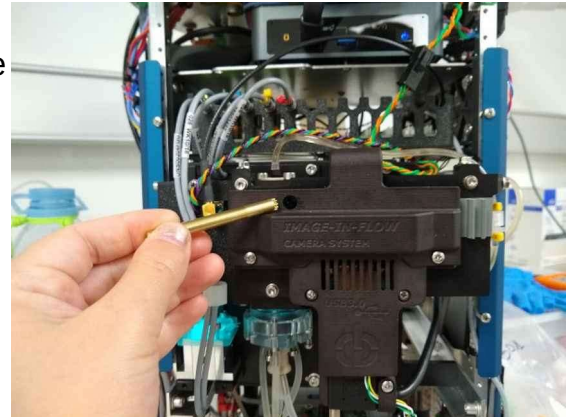
Réglage de la camera

Lorsque les photos sont floues alors que le cœur du jet et le laser sont bien centrés, il est possible que le réglage de la camera ait bougé.

- Écrire la date et l'heure TU dans le cahier de laboratoire, et noter le nom de la manip et de l'opérateur.
- Sortir le Cytomètre de sa coque carbone : dévisser les 8 vis sur le bas de la coque, et tirer délicatement le cytomètre vers le haut via ses poignées. Bien prendre garde à ne mettre aucun câble en tension. Mettre le Cytomètre en route.



- Avec la petite clé allen, dévisser de quelques tours la vis de blocage de la mise au point de la caméra (photo ci-contre).
- Retirer le petit scotch noir à l'avant de la camera et insérer la tige à cran dans le trou jusqu'à la bloquer dans l'engrenage (ci-contre).



- Faire passer un échantillon de beads avec l'Image in Flow activé pour voir les photos défiler.
- Tourner légèrement la tige dans un sens ou dans l'autre pour améliorer la mise au point sur les beads.
- Vérifier le résultat sur le fichier de sortie avec CytoClus, et répéter l'opération si nécessaire.
- Retirer la tige, remettre le scotch en place et revisser la vis de blocage.
- Refermer le Cytomètre.