Guide d'utilisation

du logiciel

Gen5™

BioTek Instruments GmbH, Bureau de Liaison France, Colmar

SOMMAIRE

Introduction et présentation	3
Concepts clef	4
Wellcome to Gen5	5
Wizard	6
Stepwise	6
Procedure	7
Read step	7
Absorbance point final	7
Absorbance spectres	8
Absorbance scanning	8
Zone de mesure de la microplaque	9
Fluorescence FI	9
Sensibilité FI	10
Types d'optiques	10
Fluorescence TRF	11
Fluorescence FP	11
Luminescence LU	12
Dispense step	12
Shake step	13
Delay step	13
Kinetic step	13
Monitor well	14
Plate layout	14
Analyse quantitative et gamme standards	15
Courbes de calibration	16
Statistiques échantillons et calibrateurs	16
Matrices de concentrations	16
Data reduction	17
Blank subtraction	18
Curve analysis	19
Cutoff	20
Validation	20
Well analysis – cinétiques	21
Well analysis – spectres	21
Export et edition	22
Report builder	22
Power export builder	23
Objets d'insertion Excel	27
Quick export	28
Lecture directe d'une microplaque	33
Lecture directe de plusieurs microplaques	35
Lecture via un protocole	36
Menu système	37
Reader control	37
Plate type	39
Filter cartridges	39
Reader configuration	40
Menu sécurité	41

Introduction

Le but de ce guide d'utilisation est de présenter très succinctement les fonctionnalités les plus importantes du logiciel Gen5.

Les fonctionnalités de pilotage, d'analyses de données et d'éditions de rapports personnalisés seront examinées afin de fournir les outils nécessaires et indispensables pour la création de protocoles.

Ce guide n'est pas un outil à suivre « mot à mot », mais il devra fournir les éléments et les réflexes à acquérir pour toute utilisation du logiciel Gen5.

Pour toute question ou complément d'information contacter :

Fisher Scientific Bioblock
Parc d'innovation - BP 50111 - 6700 illkirch cedex
Tel. 03 88 67 14 14
Fax 03 88 67 11 68

Présentation générale

Gen5 est le logiciel d'applications microtitration de BioTek pilotant l'ensemble de la gamme de lecteurs de microplaques Biotek Instruments (photomètres, spectrophotomètres, luminomètres et lecteurs multi-détections).

Gen5 assure l'acquisition de données brutes, leur traitement et exportation ainsi que la préparation de rapports personnalisés.

Une fonction « Power Export » utilisant les liens OLE de Microsoft assure une liaison directe entre les données ou les paramètres de mesure acquis par Gen5 et le logiciel Excel™ .

Cette fonctionnalité unique assure un transfert de données totalement sécurisé.

Une fonction « Quick Export » assure une exportation rapide et aisée vers un document Excel™.

Concepts clef

Les **Protocoles** contiennent toutes les informations de lecture, de calcul et d'édition de rapport
Gen5 permet la creation de 3 types de protocole :

- Standard protocol
  - Par défaut le plus utilisé
- Calibrator Plate protocol
  - Permet l'utilisation d'une ou plusieurs plaques « contrôle » pour les plaques suivantes d'une expérimentation
- Multi-Plate Assay protocols
  - Permet l'utilisation de différents protocoles dans une même expérimentation

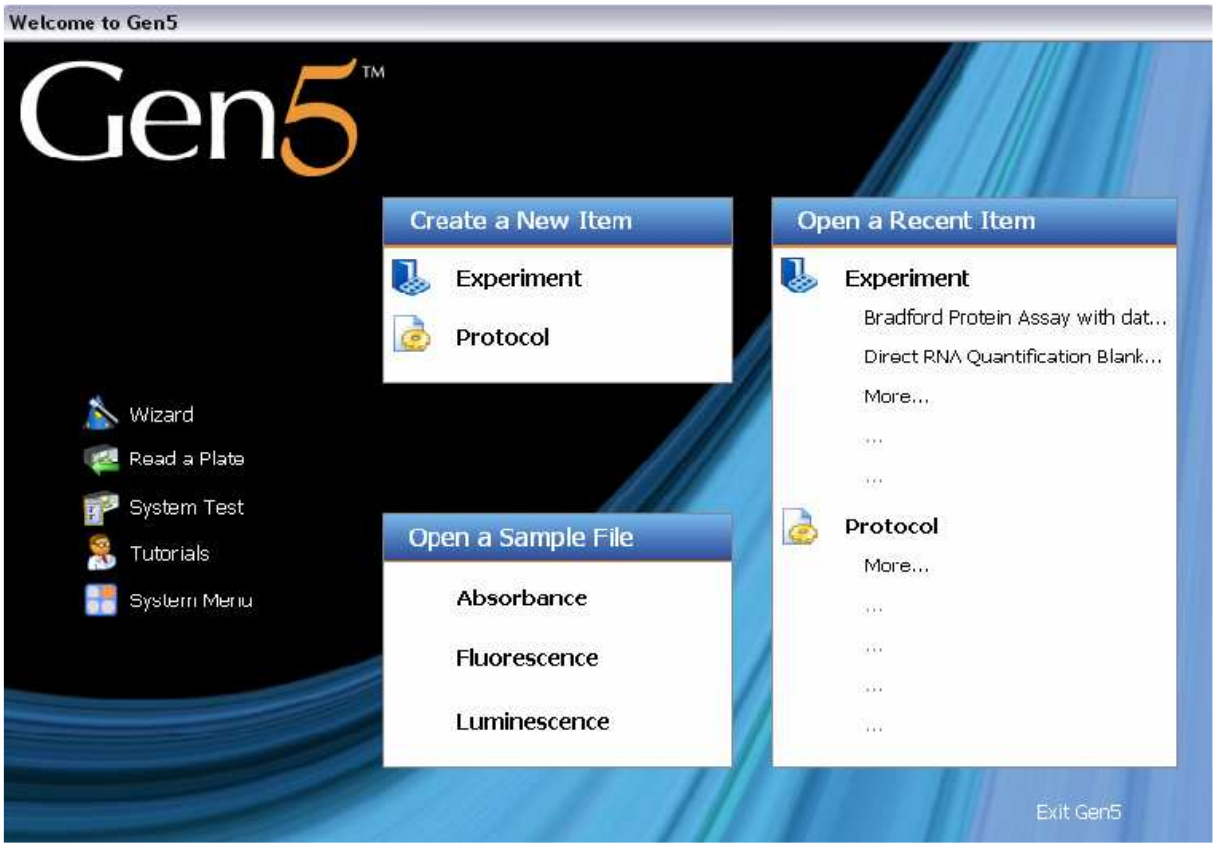
Les **Expérimentations** contiennent un protocole et au moins une plaque de data.

- Une experimentation peut contenir jusqu'à 1000 plaques de données sauvegardables dans un seul fichier !
- Pas de limitation d'expérimentations
- Les experimentations Gen5 sont des fichiers globaux de type .xpt

Présentation de Gen5

Ouvrir Gen5 à partir du bureau.

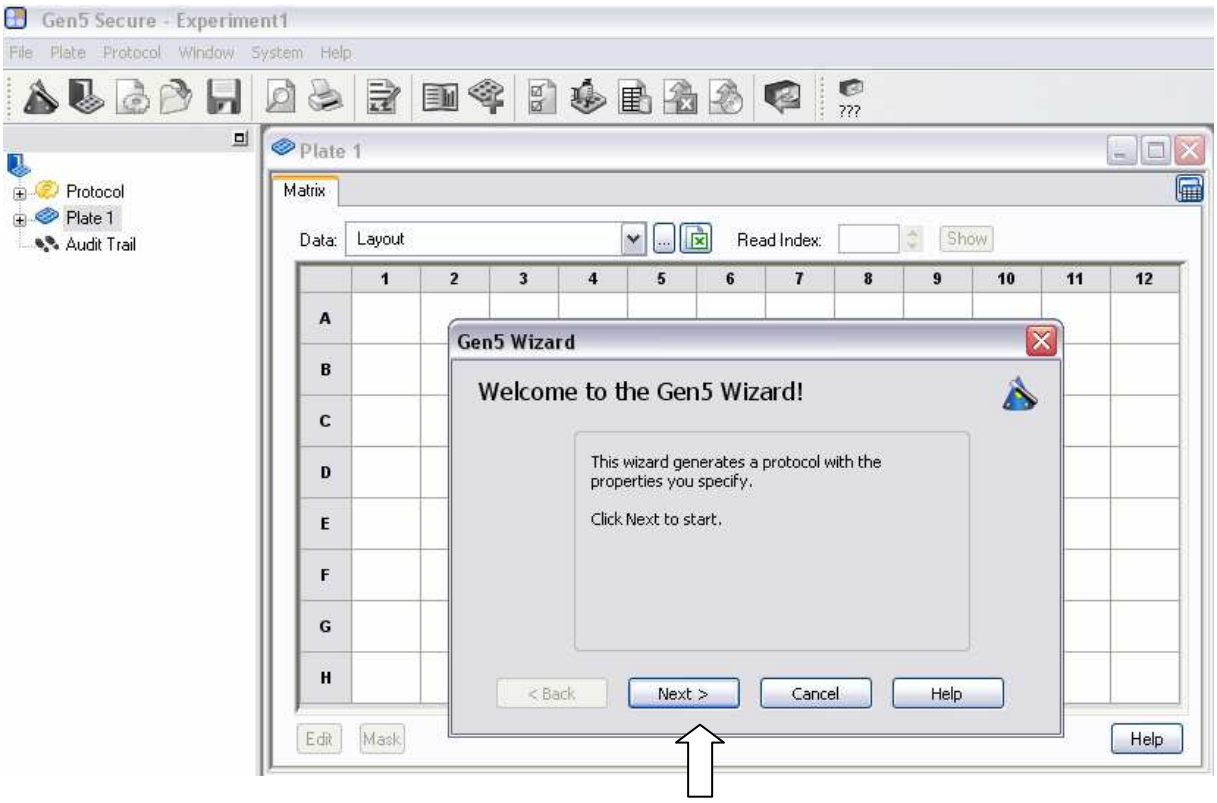
Saisir un mot de passe (Gen5 Secure) par défaut : admin



Menu principal d'accès direct aux protocoles et expérimentations (protocoles + data), à la base de donnée (Gen5 Secure), à la création des méthodes, au wizard, au menu système, aux tests machine et à une lecture directe de microplaque.

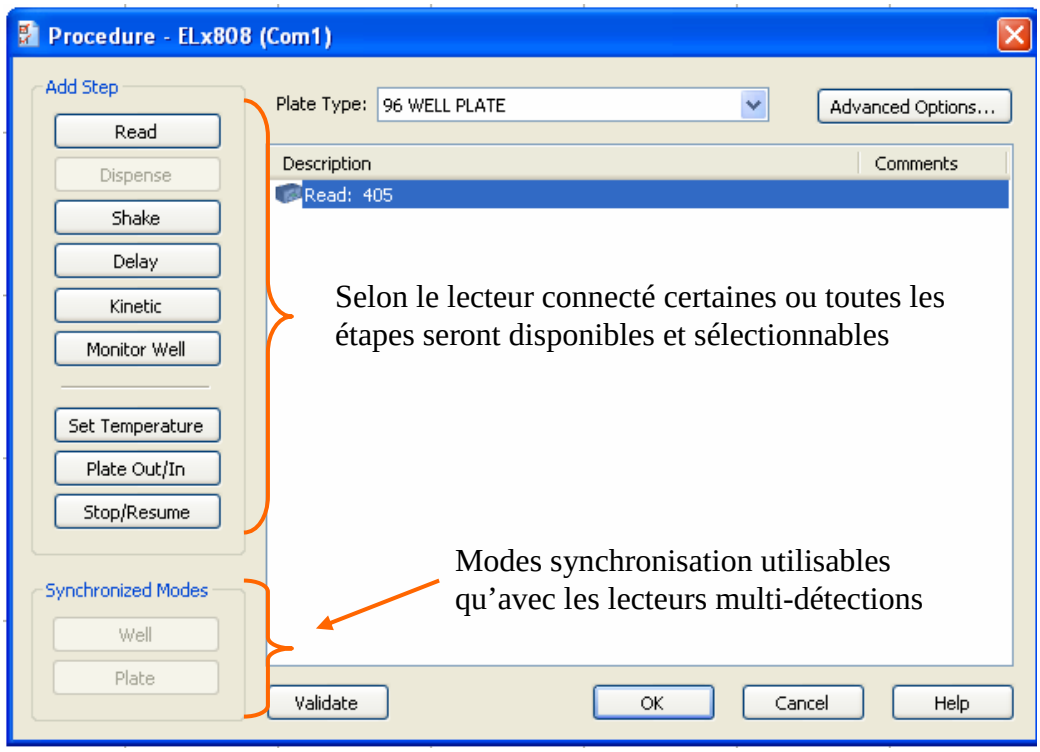
Types d'extentions : .xpt (expérimentation)
.prt (protocoles)

Cliquer sur **Wizard** afin d'examiner le cheminement de la programmation d'une nouvelle expérimentation.

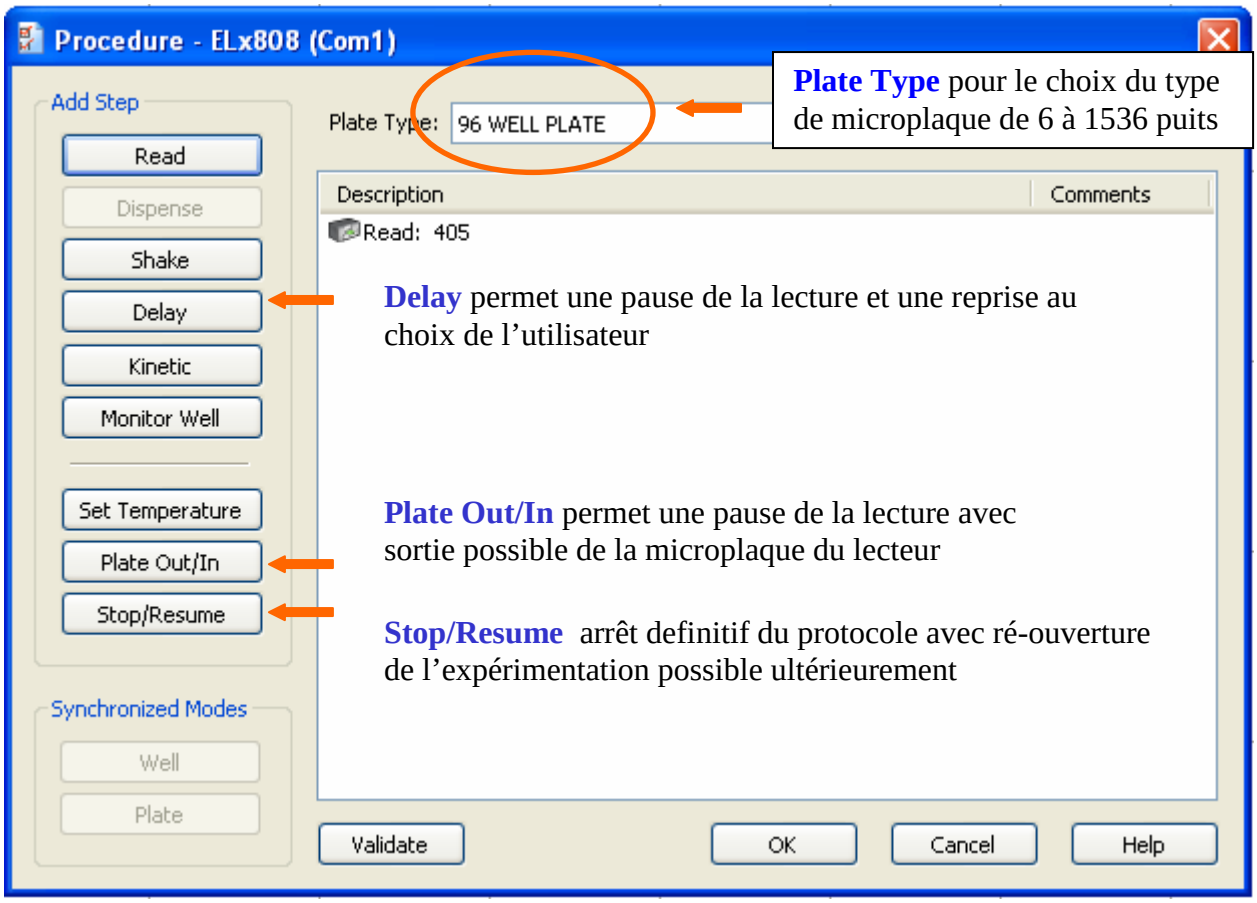


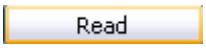
A partir de maintenant l'utilisation de l'assistant « Wizard » va faciliter le cheminement de programmation de Gen5.

Cliquer sur **Next >** puis l'icône pour l'accès aux étape de programmation de la procédure (Utilitaire StepWise™).

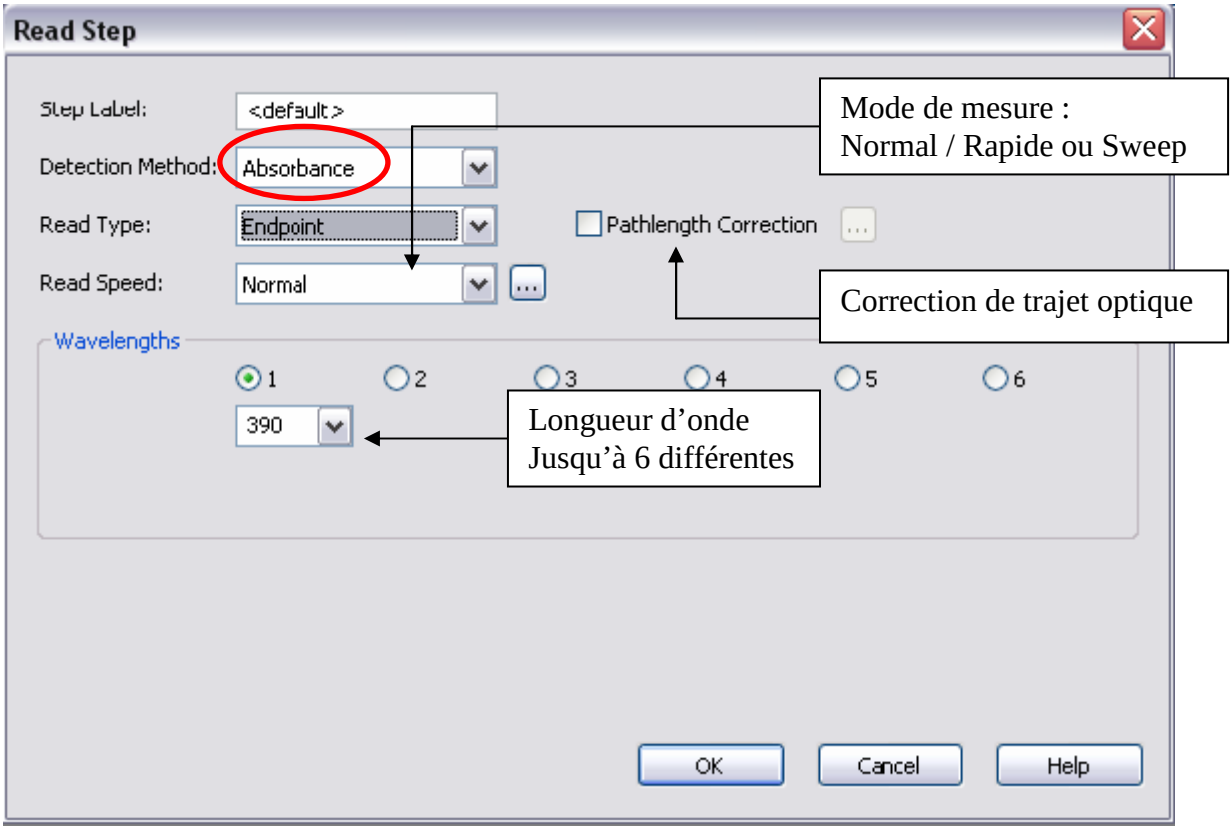


Paramètres de lecture

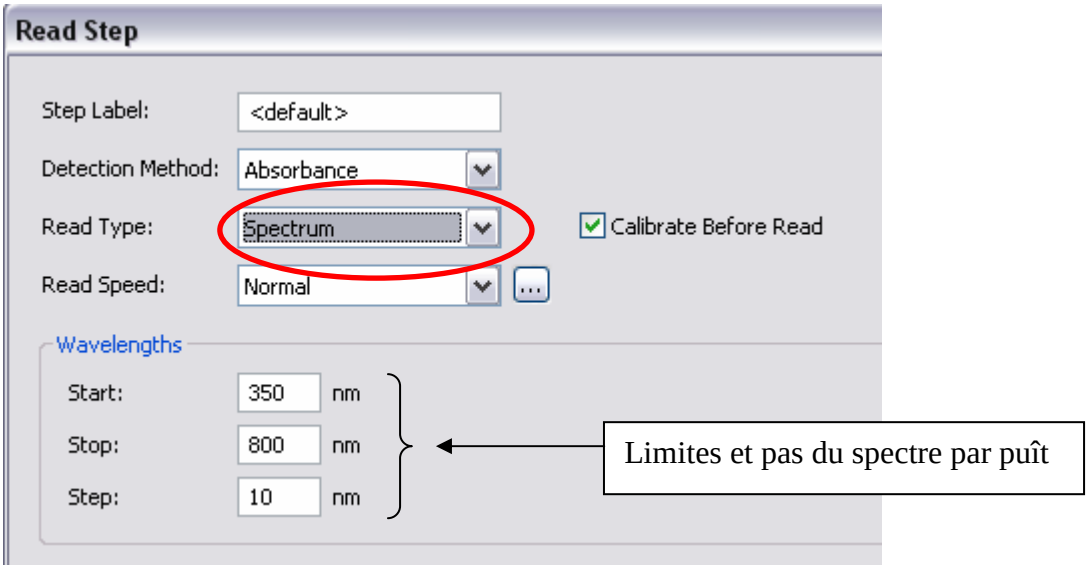


Cliquer sur 

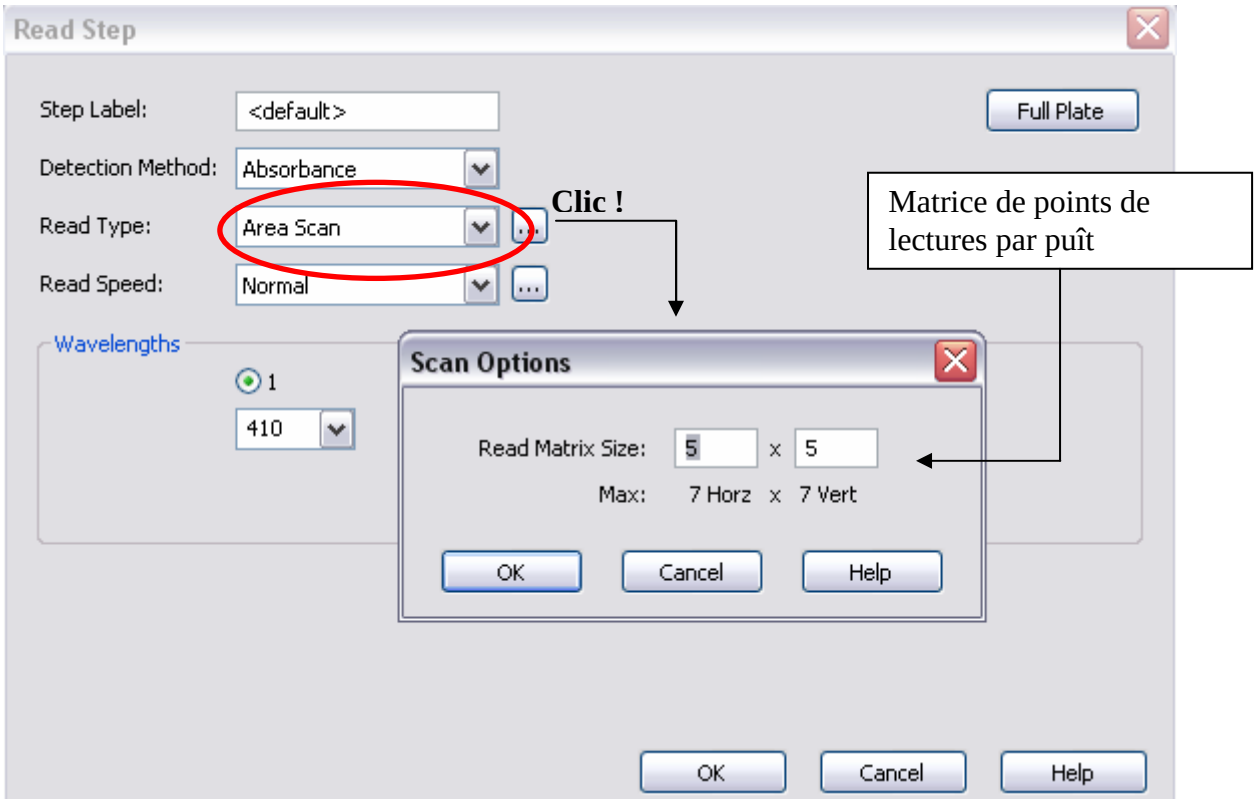
Absorbance en point final



Absorbance en analyse spectrale

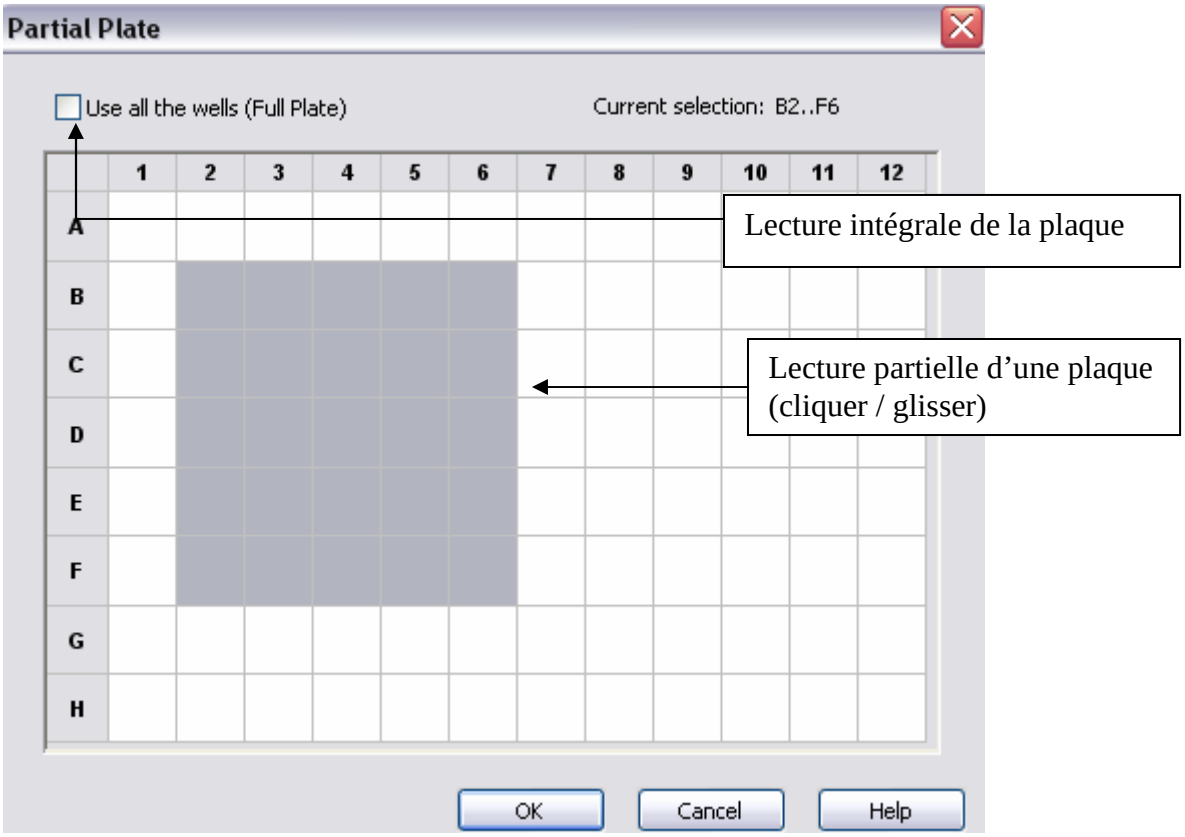


Absorbance en modes scanning

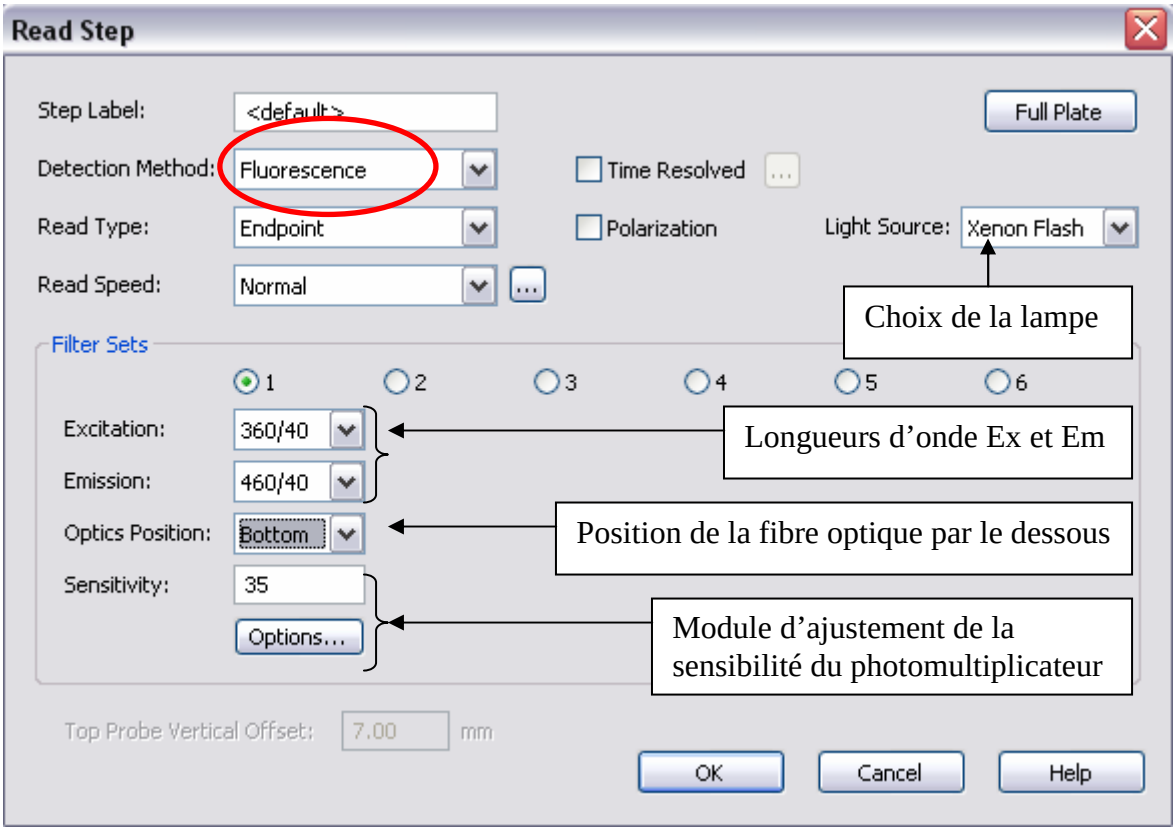


Zone de mesure sur la microplaque

Cliquer

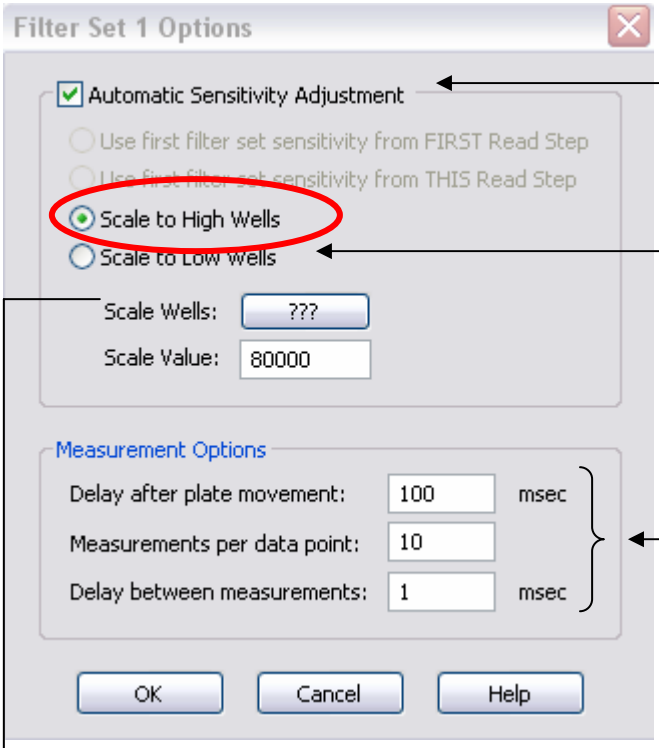


Fluorescence conventionnelle (FI)



Ajustement de la sensibilité du photomultiplicateur

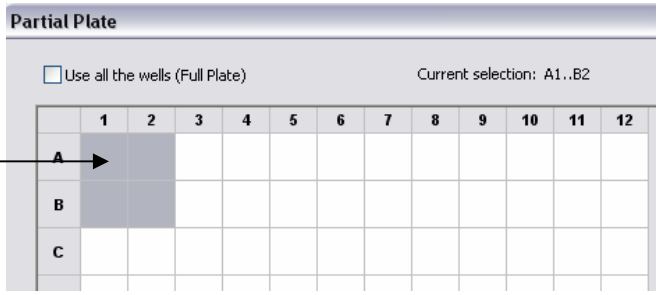
Cliquer sur Options... de la précédente boite de dialogue



Ajustement automatique : calcul de la décade adéquate pour un rapport signal/bruit optimal

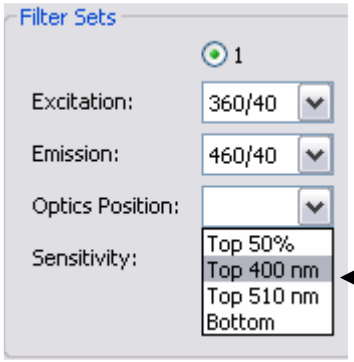
Ajustement effectué toujours par rapport à un ou plusieurs puits de référence (100% ou Positif)

Temps d'intégration pour chaque puit



Puit(s) servant de référence(s) pour l'ajustement de sensibilité. Ici la valeur de ces puits sera de 80000 RFU

Types d'optique sélectionnables sur les appareils Multi-détections :

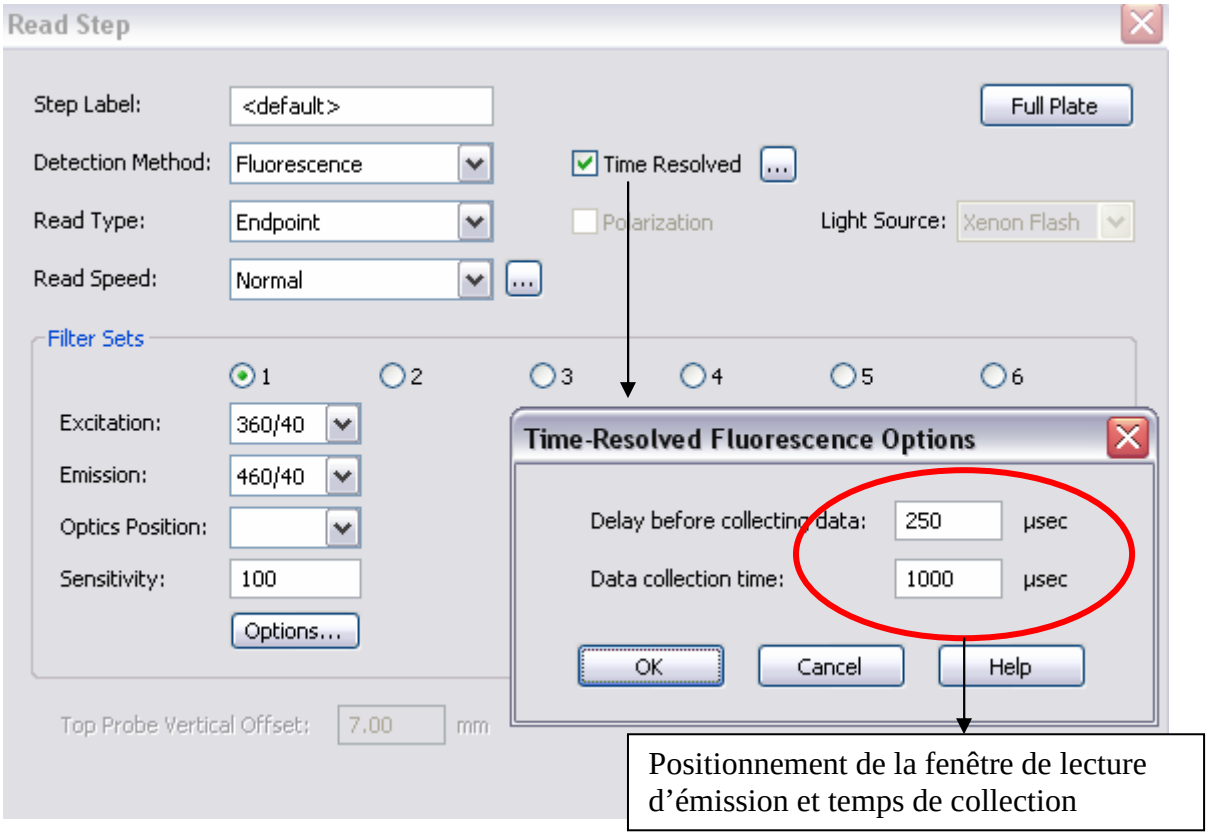


Configuration Synergy 2

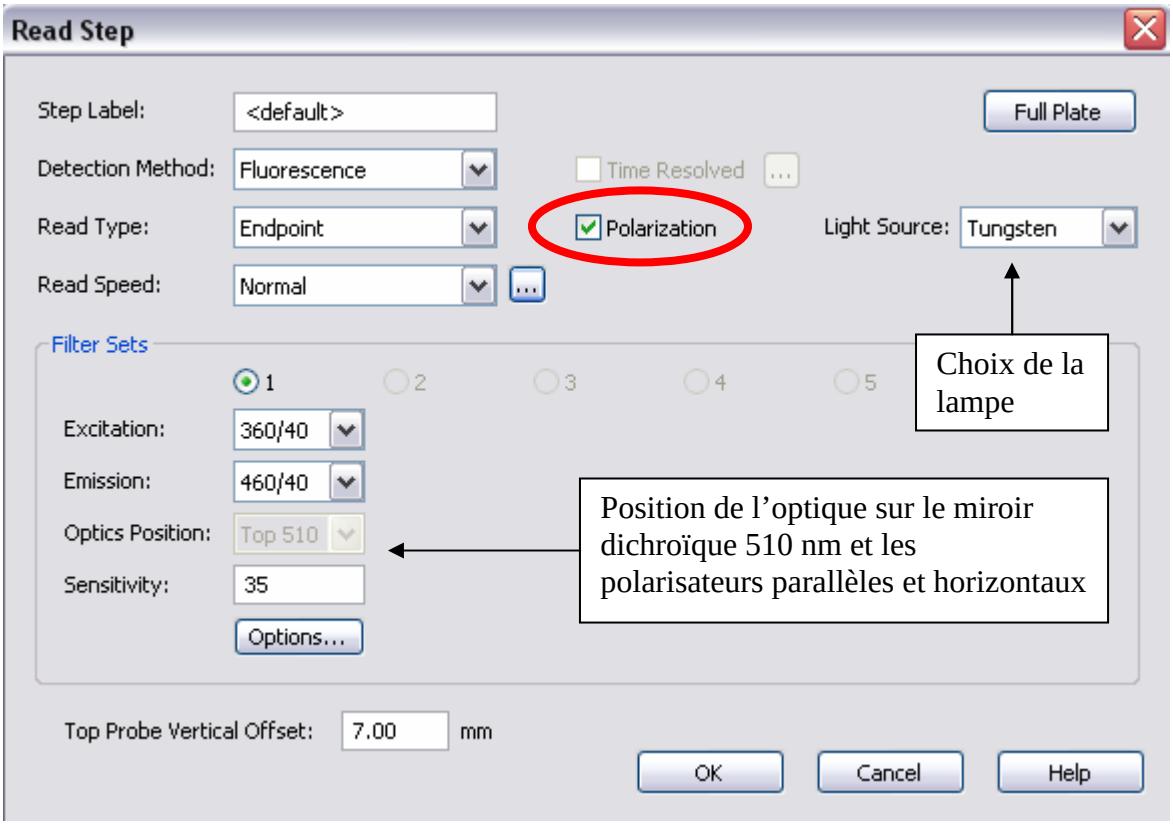
En mode FI et TRF choix entre la position « Top », « Bottom », Miroir 50% ou Dichroïque.
En mode FP uniquement Miroir Dichroïque 510 nm
En LU uniquement « Top »

Pour le FLx800 et Synergy HT : Uniquement Top et Bottom en modes FI et LU

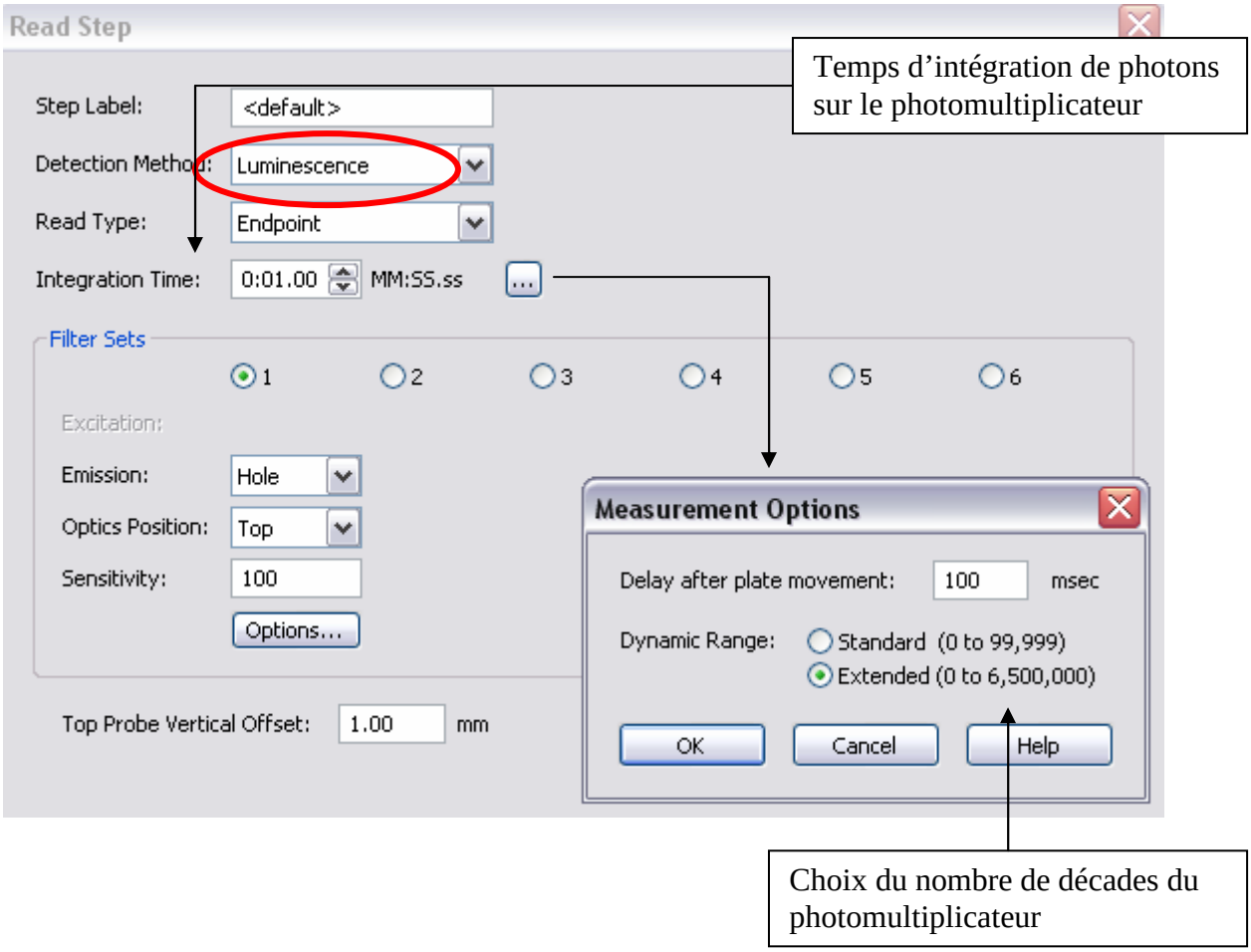
Fluorescence « en temps résolu » (TRF)



Polarisation de fluorescence (FP)

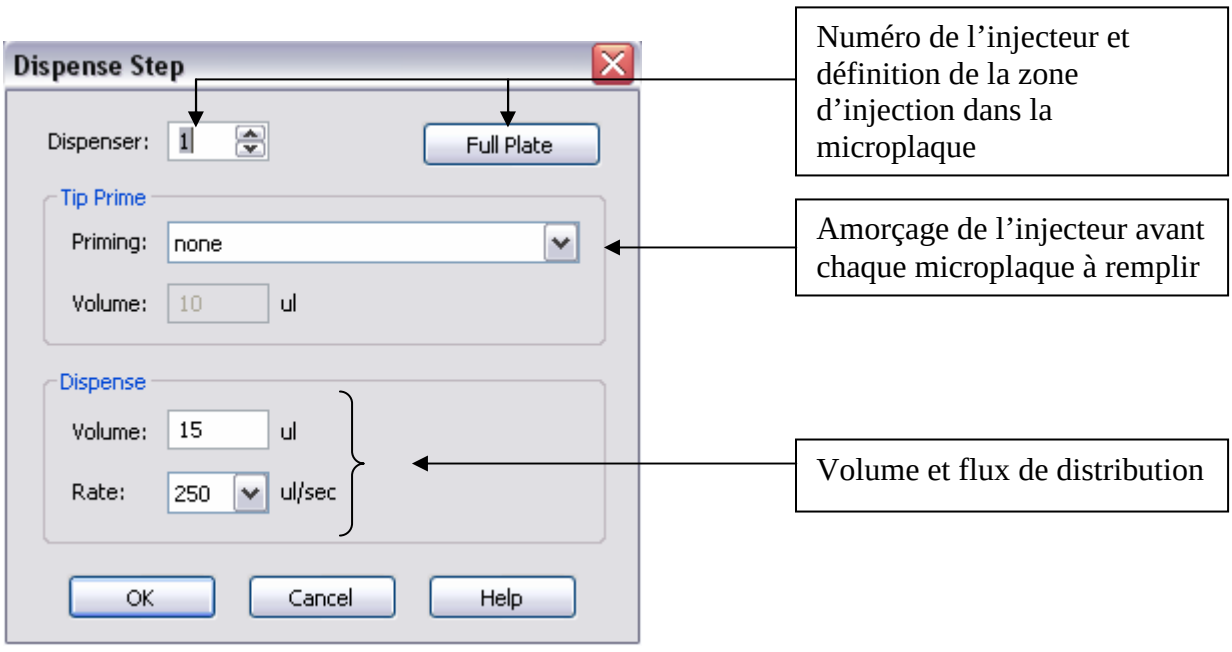


Luminescence (LU)

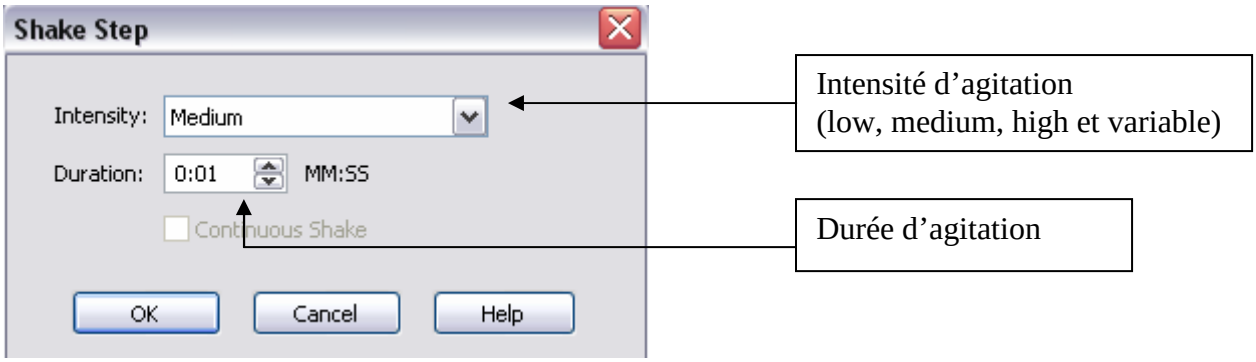


Retour dans le module « Step Wise »

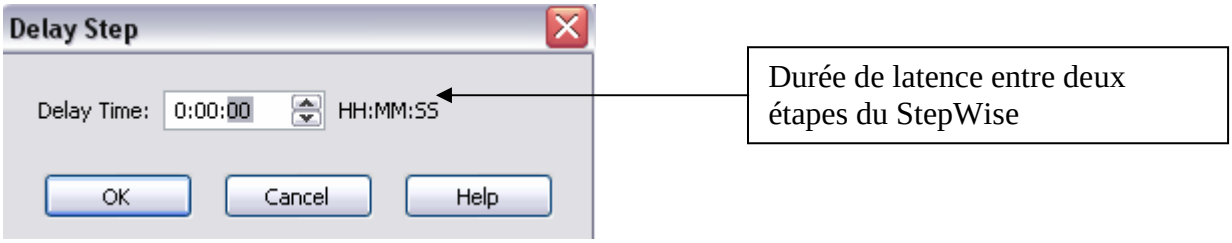
Cliquer sur dans le module « Step Wise » : Etape de distribution de réactif



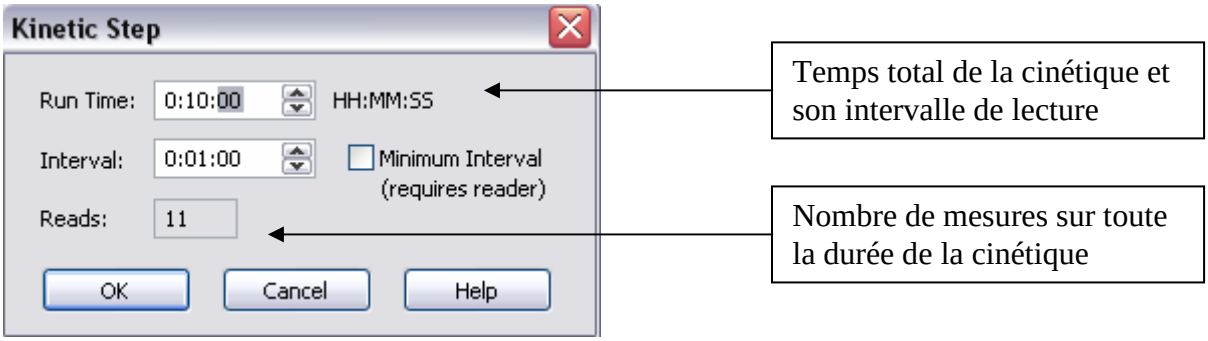
Cliquer sur Shake dans le « Step Wise » Etape d'agitation de la microplaque



Cliquer sur Delay dans le « Step Wise » Etape de latence



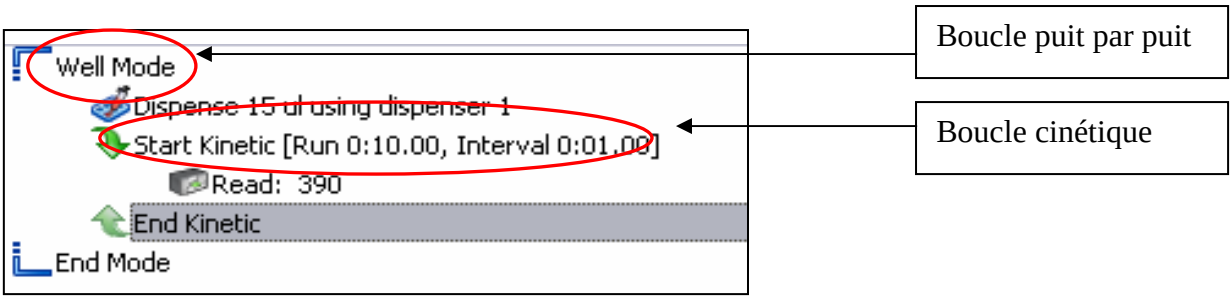
Cliquer sur Kinetic dans le « Step Wise » Lecture en cinétique



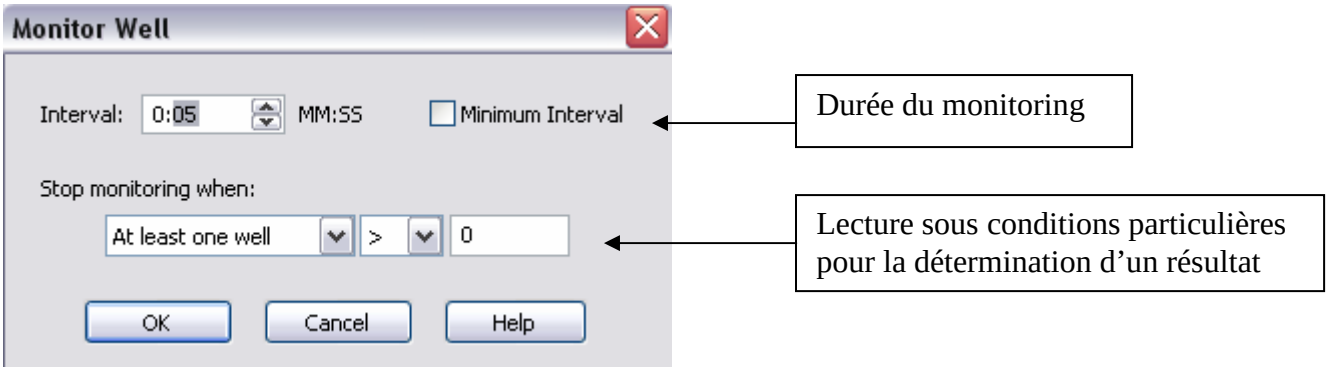
Possibilité de combiner une injection (d'un réactif déclenchant par exemple), d'une agitation et d'une cinétique rapide « puit par puit » : Lecture en cinétique flash

Pour cela cliquer sur Well puis Dispense puis Kinetic puis enfin Read

Le « Step Wise » affichera la séquence suivante :

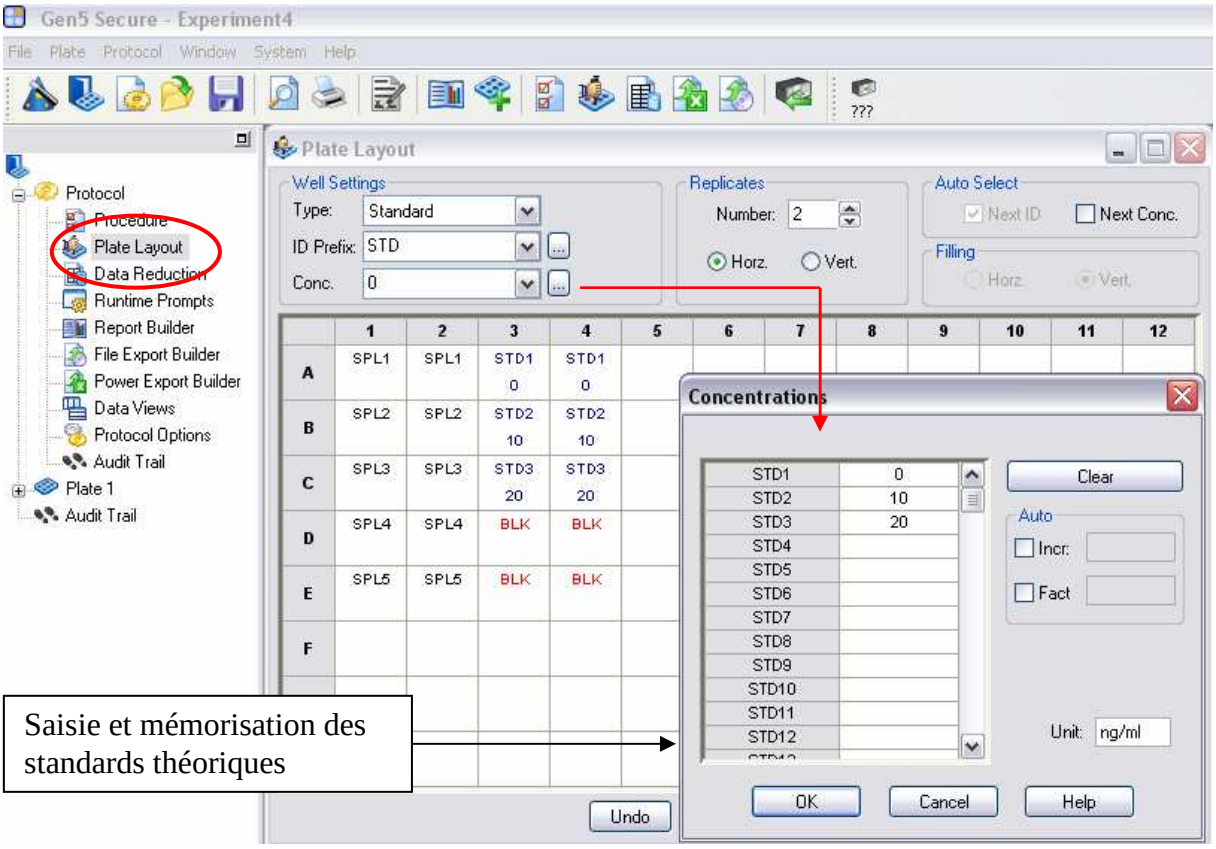


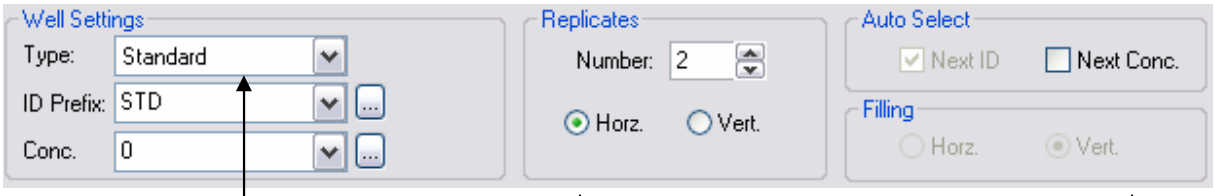
Cliquer sur Monitor Well dans le « StepWise » <u>Monitoring de puit(s)</u>



<u>Gestion du schéma de plaque :</u>

Cliquer sur « Plate Layout » dans l'arborescence de Protocol ou Next > du Wizard et



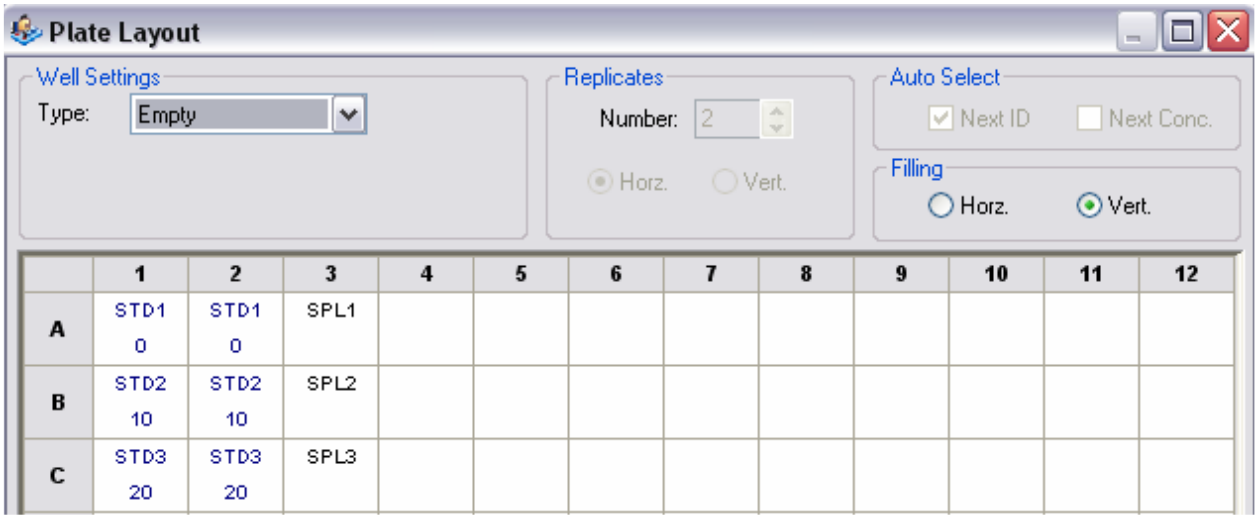


Choix du type d'élément à déposer sur la plaque : Blanc, Echantillon, Standard et Contrôle

Gestion des répliqués et sens de remplissage automatique

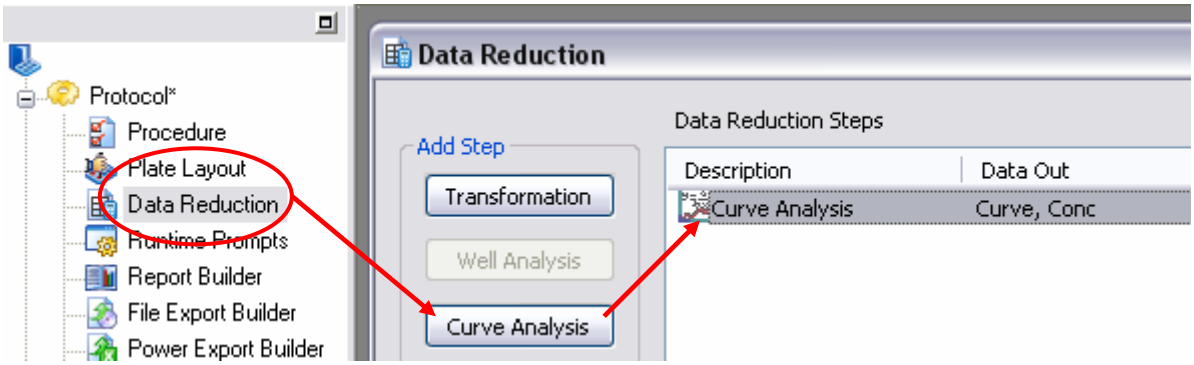
<u>Analyse quantitative avec gamme standard</u>

Le schéma de plaque doit contenir des échantillons et une gamme standard pour la génération automatique de la concentration des échantillons.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	STD1 0	STD1 0	SPL1									
B	STD2 10	STD2 10	SPL2									
C	STD3 20	STD3 20	SPL3									

Ce type de schéma de plaque générera une courbe de standards définie par un algorithme et des axes (voir ultérieurement « Algorithmes et définitions de représentation des graphes et analyse quantitative » dans la rubrique « Calculs à appliquer sur les données générées ») en cliquant sur :



Gen5 appliquera automatiquement l'équation de la courbe modélisée sur les données brutes afin de déterminer la concentration des échantillons sur la plaque (nouveau fichier généré : « conc »).

Courbe de calibration

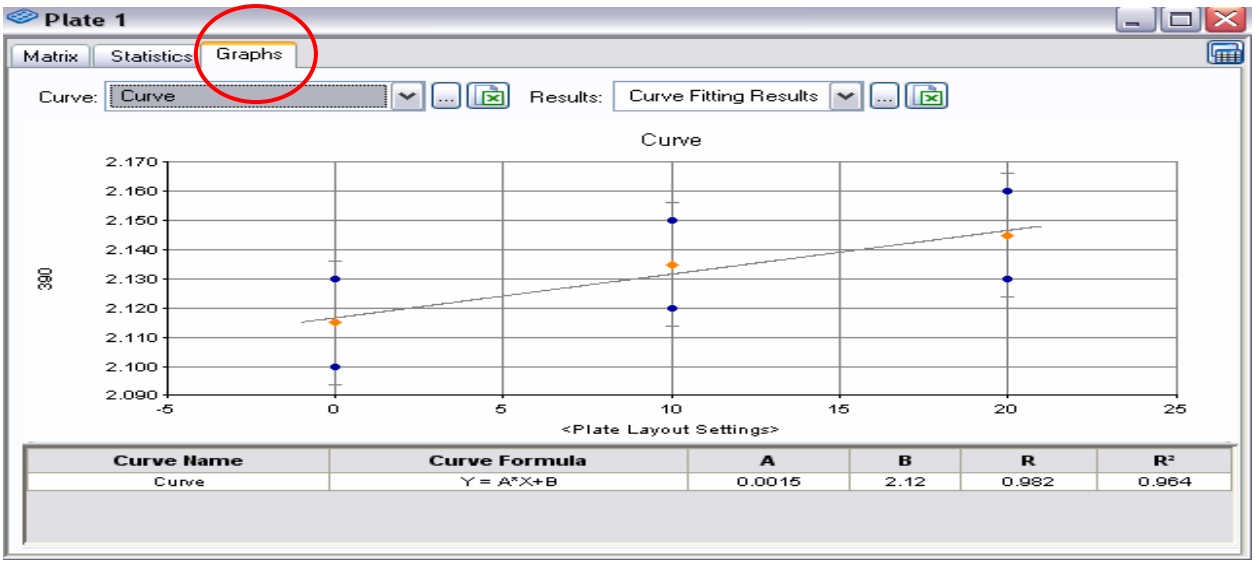
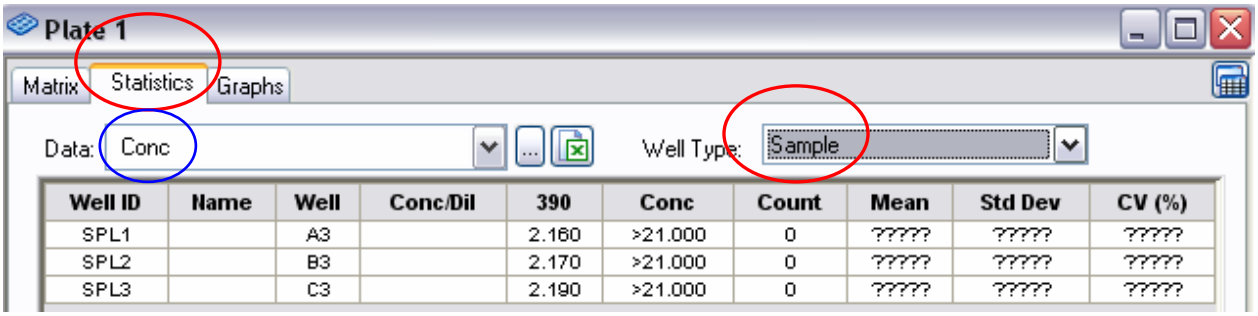
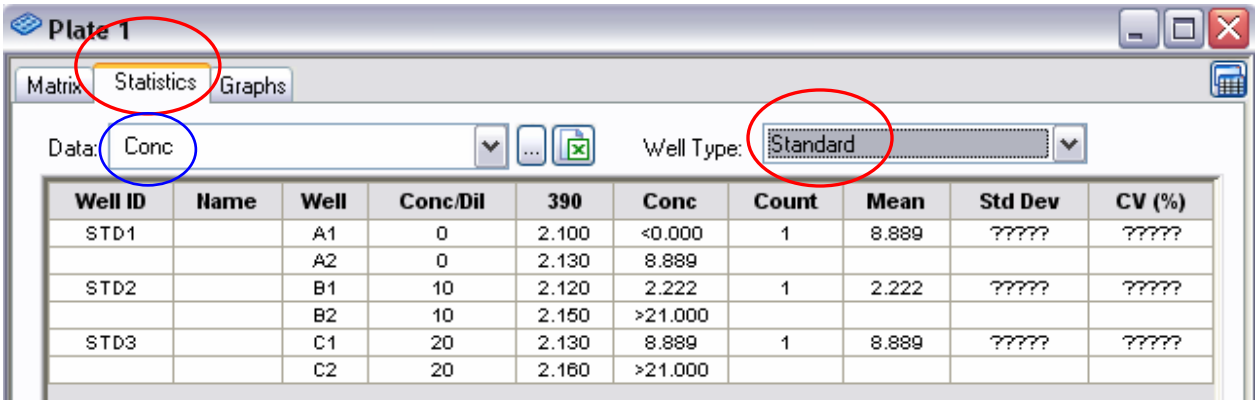


Tableau statistique des échantillons et des calibrateurs

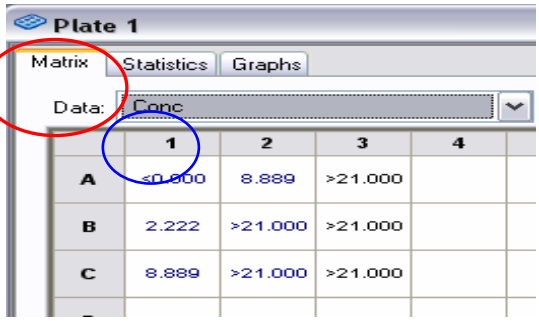


Well ID	Name	Well	Conc/Dil	390	Conc	Count	Mean	Std Dev	CV (%)
SPL1		A3		2.160	>21.000	0	?????	?????	?????
SPL2		B3		2.170	>21.000	0	?????	?????	?????
SPL3		C3		2.190	>21.000	0	?????	?????	?????



Well ID	Name	Well	Conc/Dil	390	Conc	Count	Mean	Std Dev	CV (%)
STD1		A1	0	2.100	<0.000	1	8.889	?????	?????
		A2	0	2.130	8.889				
STD2		B1	10	2.120	2.222	1	2.222	?????	?????
		B2	10	2.150	>21.000				
STD3		C1	20	2.130	8.889	1	8.889	?????	?????
		C2	20	2.160	>21.000				

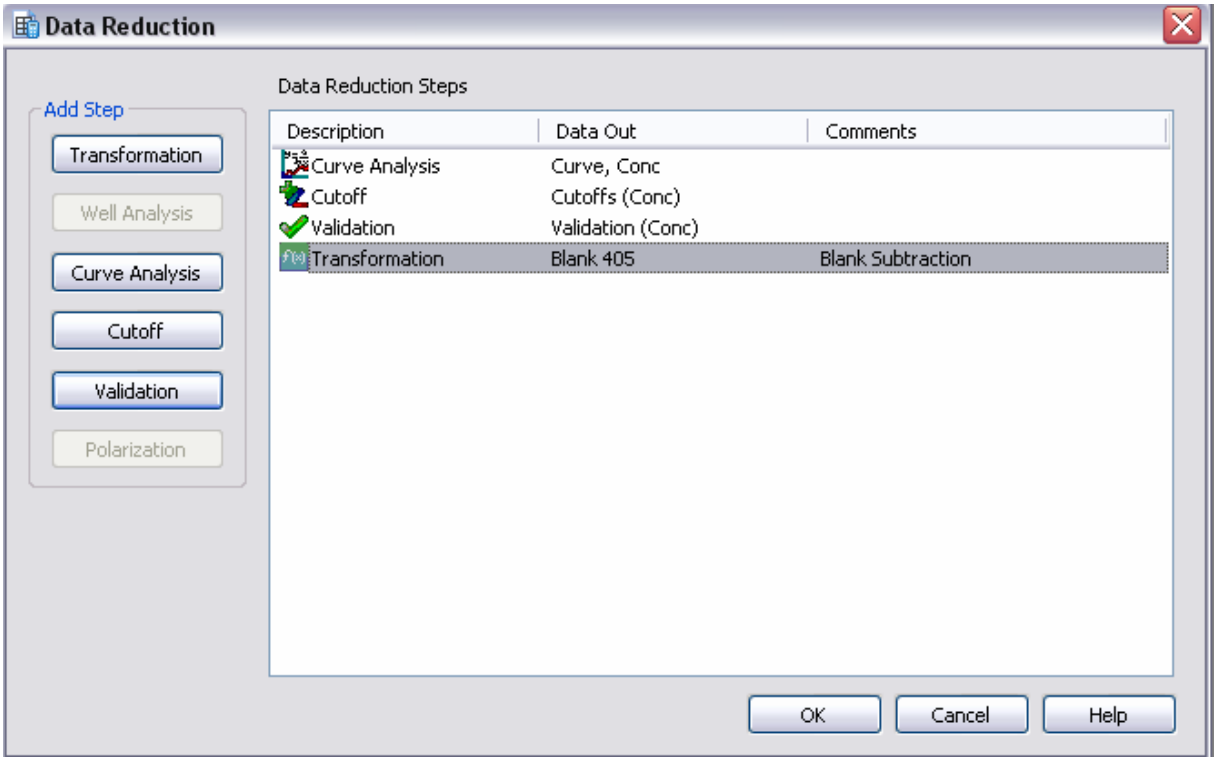
Matrice de concentrations



	1	2	3	4
A	<0.000	8.889	>21.000	
B	2.222	>21.000	>21.000	
C	8.889	>21.000	>21.000	

Cliquer « Next » sur le Wizard

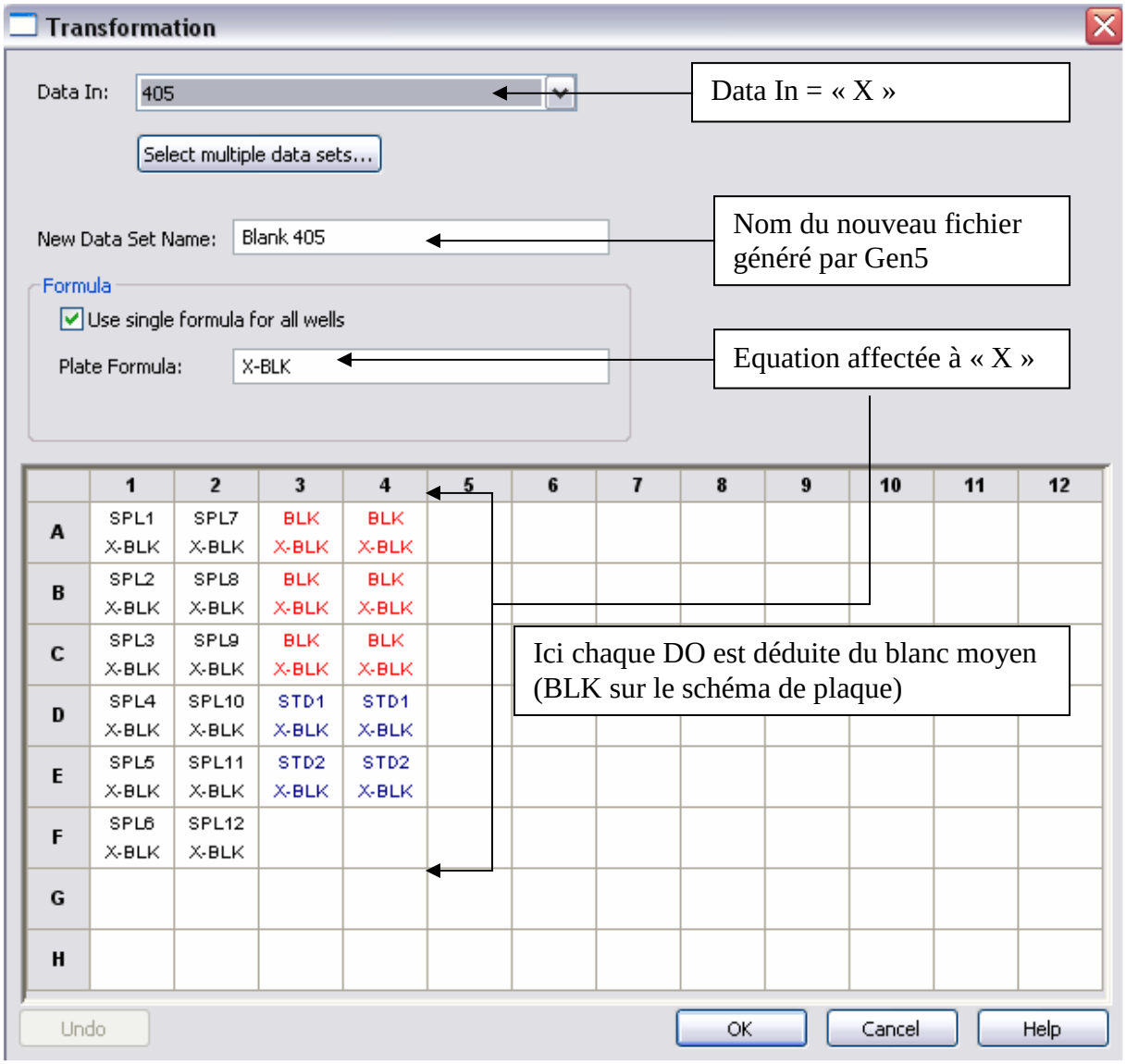
Analyse des transformations « Data Reduction » : Calculs à appliquer sur les données générées



Cette invite doit être systématiquement renseignée pour la bonne exécution des calculs à appliquer sur les données brutes en fonction des éléments du schéma de plaque (blancs, calibrateurs, etc…)

Cliquer sur

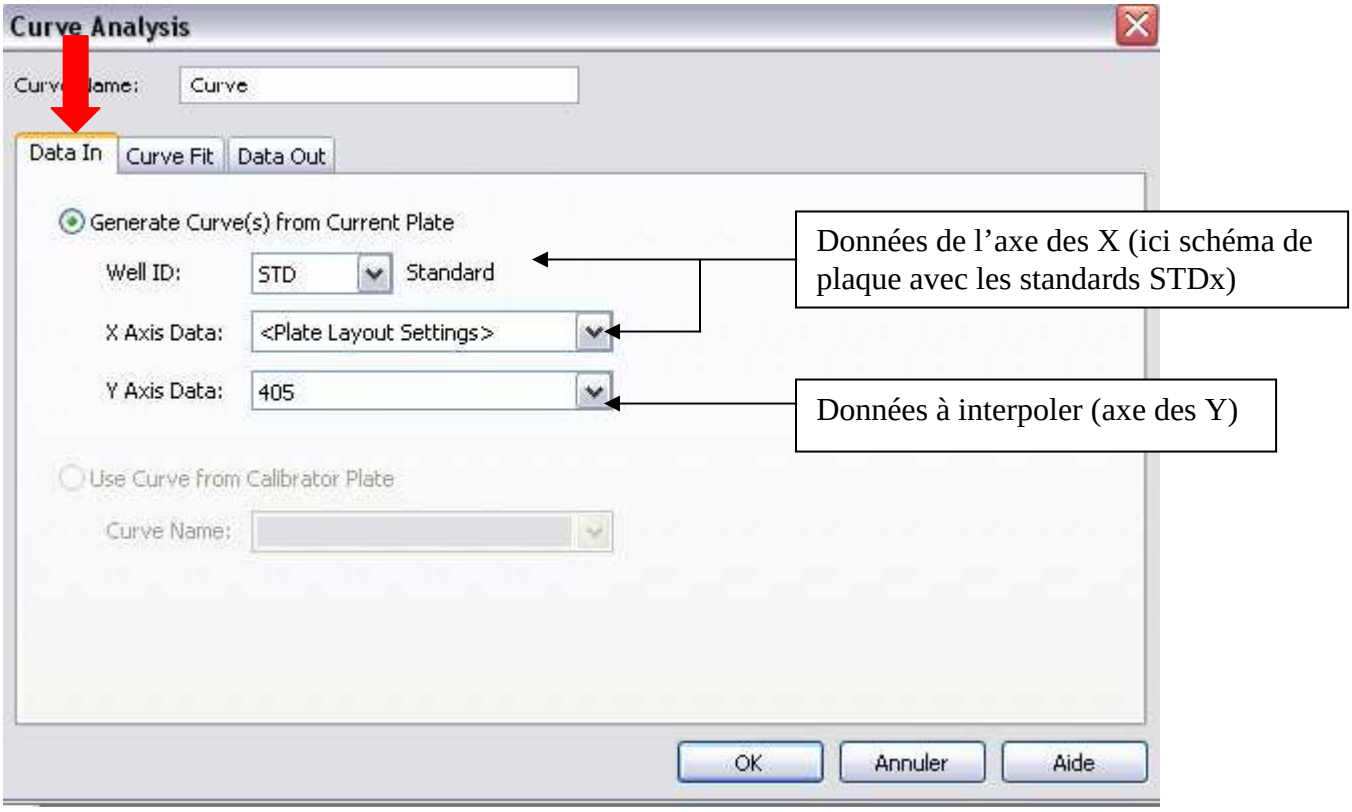
Accès au mini-tableur permettant d'affecter des calculs sur les données brutes (OD, RFU, RLU, mP, etc …) ou calculées (Concentrations par ex.) : Transformations

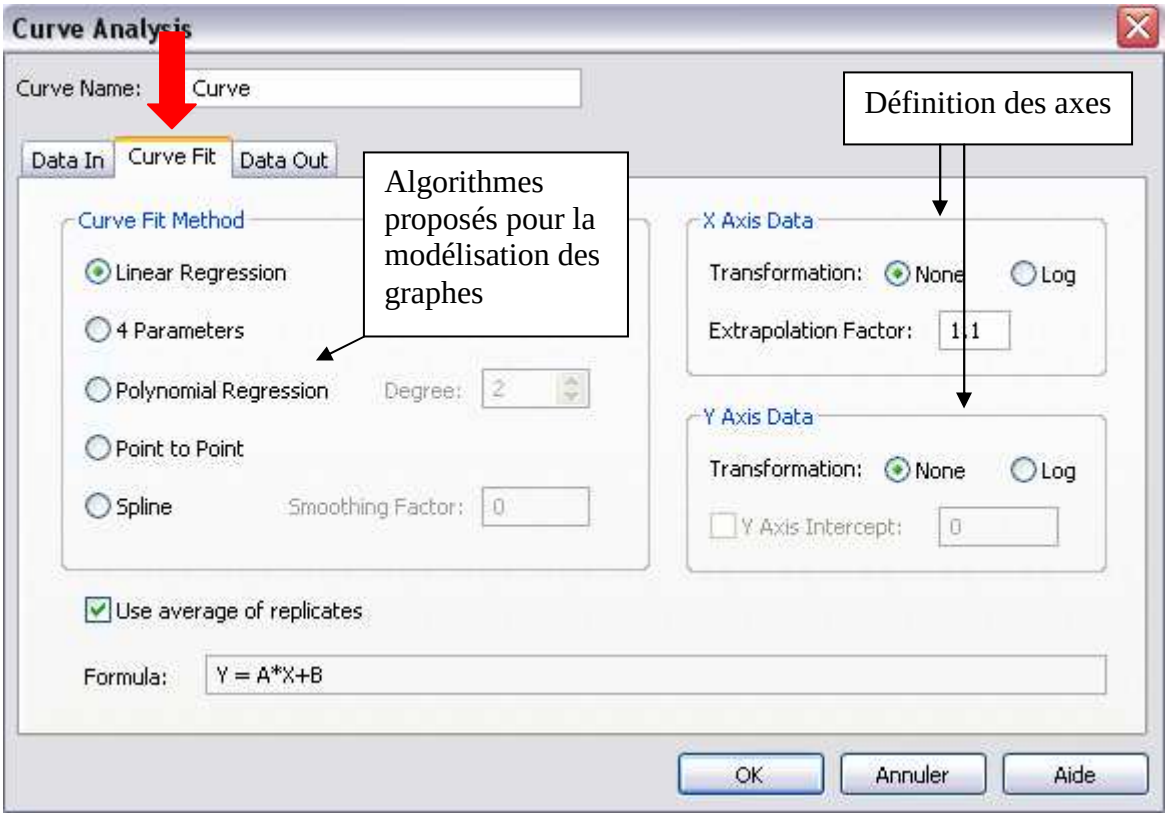


	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SPL1 X-BLK	SPL7 X-BLK	BLK X-BLK	BLK X-BLK								
B	SPL2 X-BLK	SPL8 X-BLK	BLK X-BLK	BLK X-BLK								
C	SPL3 X-BLK	SPL9 X-BLK	BLK X-BLK	BLK X-BLK								
D	SPL4 X-BLK	SPL10 X-BLK	STD1 X-BLK	STD1 X-BLK								
E	SPL5 X-BLK	SPL11 X-BLK	STD2 X-BLK	STD2 X-BLK								
F	SPL6 X-BLK	SPL12 X-BLK										
G												
H												

Cliquer sur Curve Analysis Curve, Conc

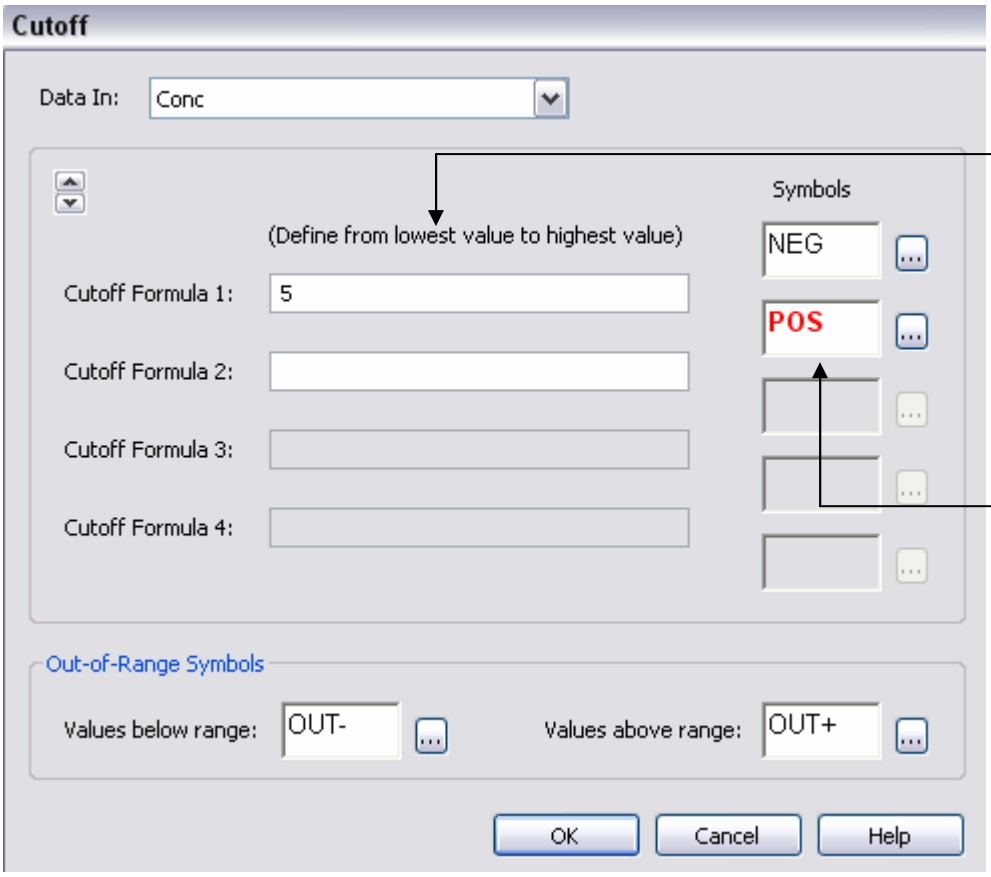
Algorithmes et définitions de représentation des graphes et analyse quantitative





Cliquer sur

gestion des « CutOff » pour une analyse qualitative des résultats : CutOff et analyse qualitative

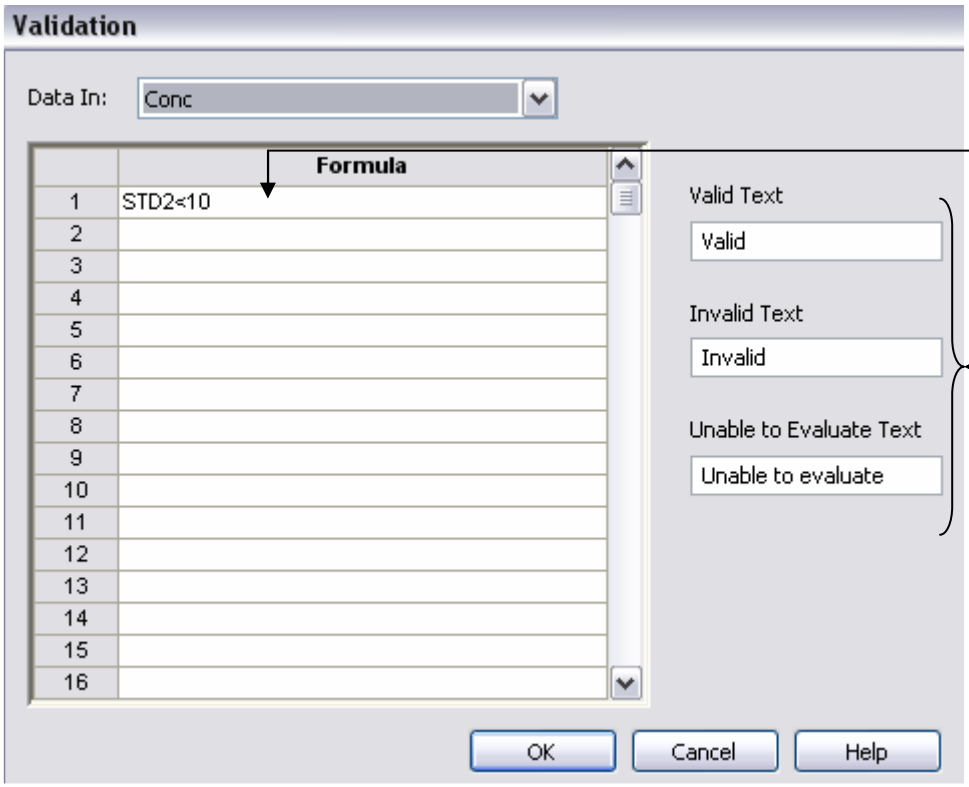


CutOff (valeurs, formules mathématiques ou éléments du schéma de plaque)

Résultats d'interprétation

Cliquer sur

validation des plaques (CQ)



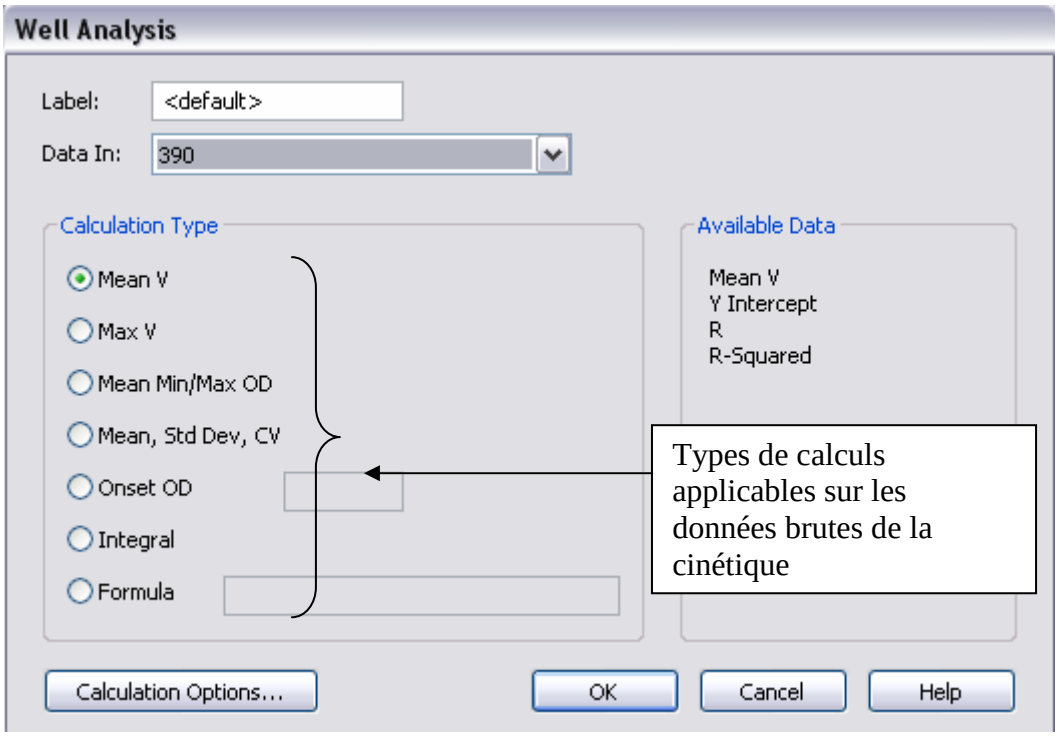
Conditions de validation

Messages de résultat des validations

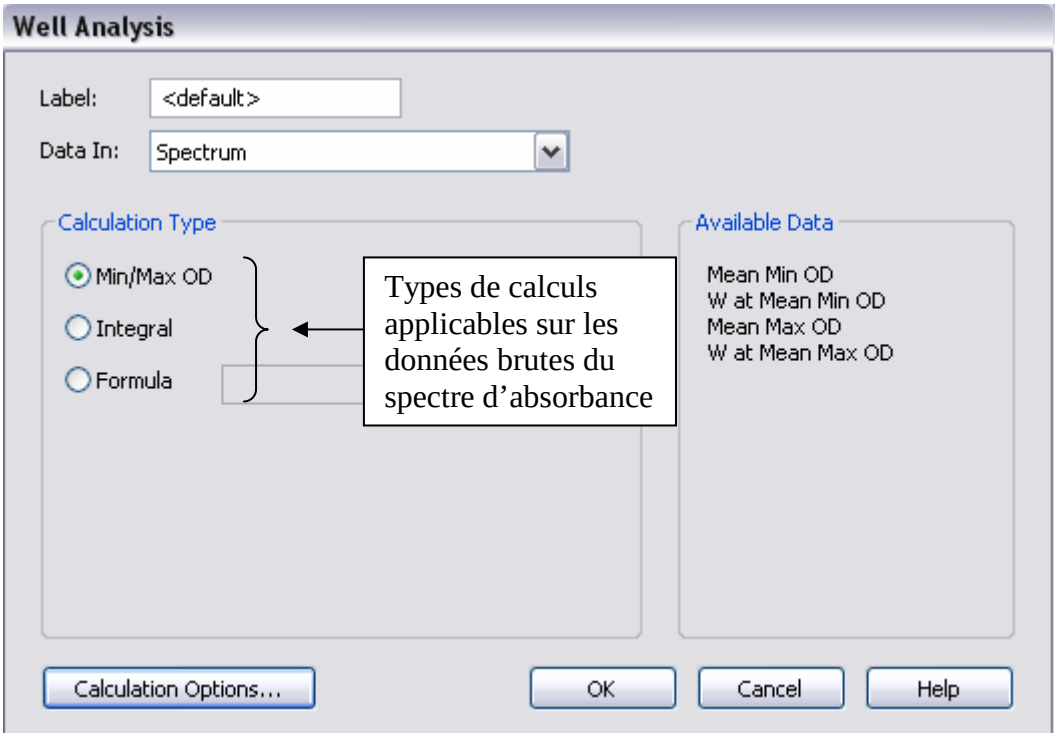
Calculs applicables aux analyses cinétiques et spectres d'absorbance :

Cliquer sur

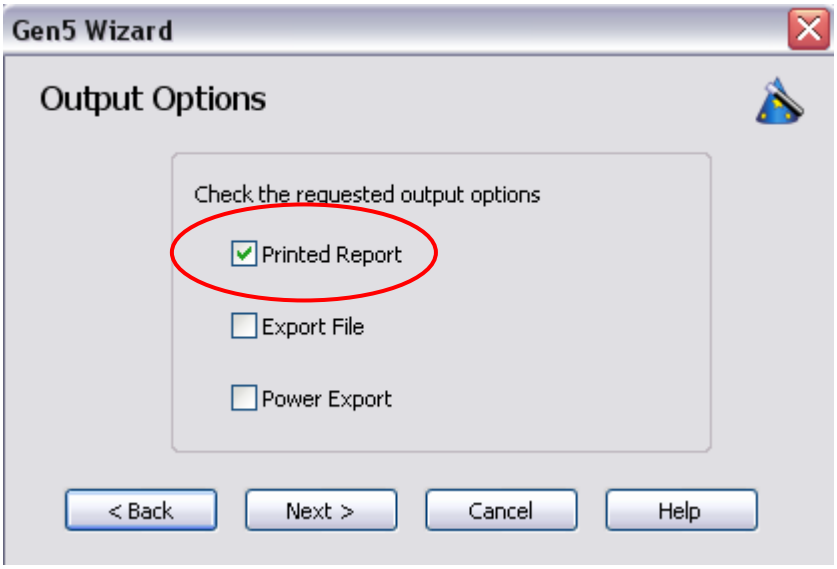
Analyses cinétiques



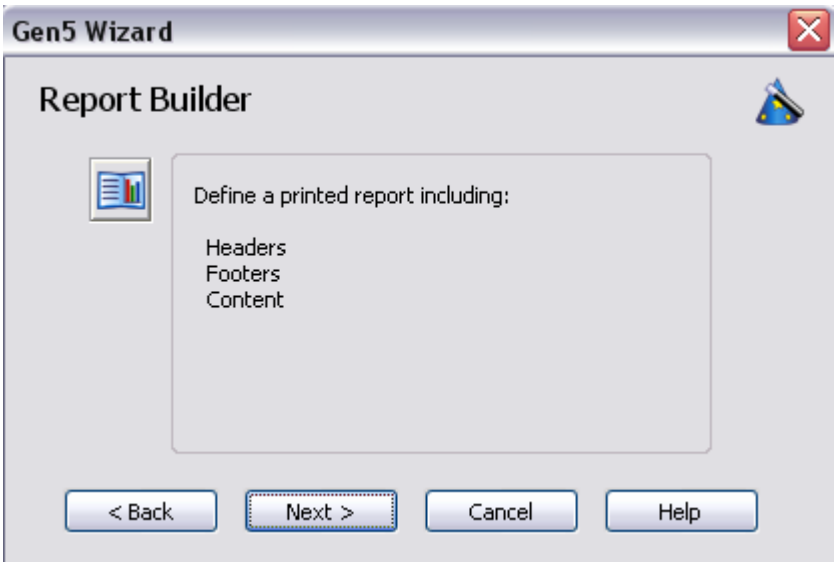
Spectres d'absorbance



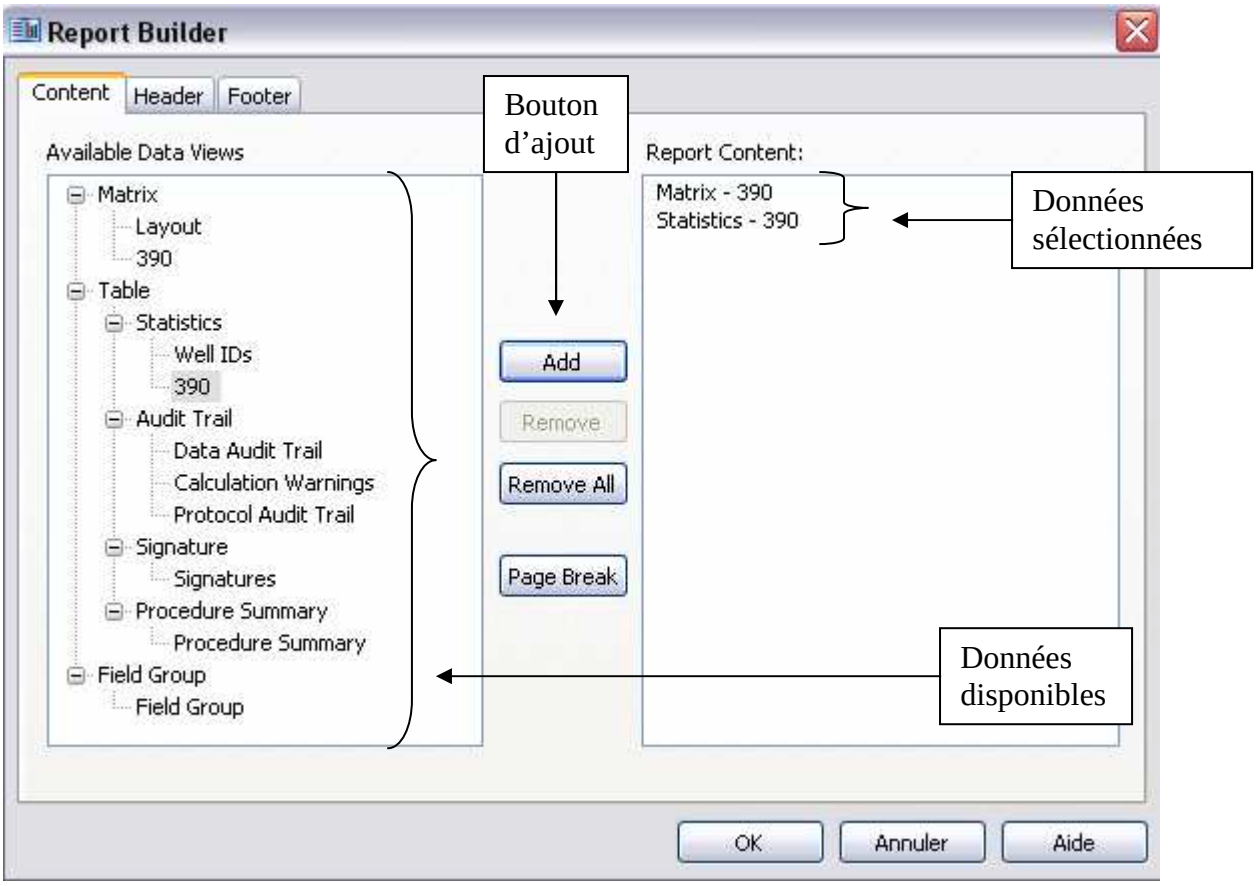
Cliquer »Next » sur le Wizard



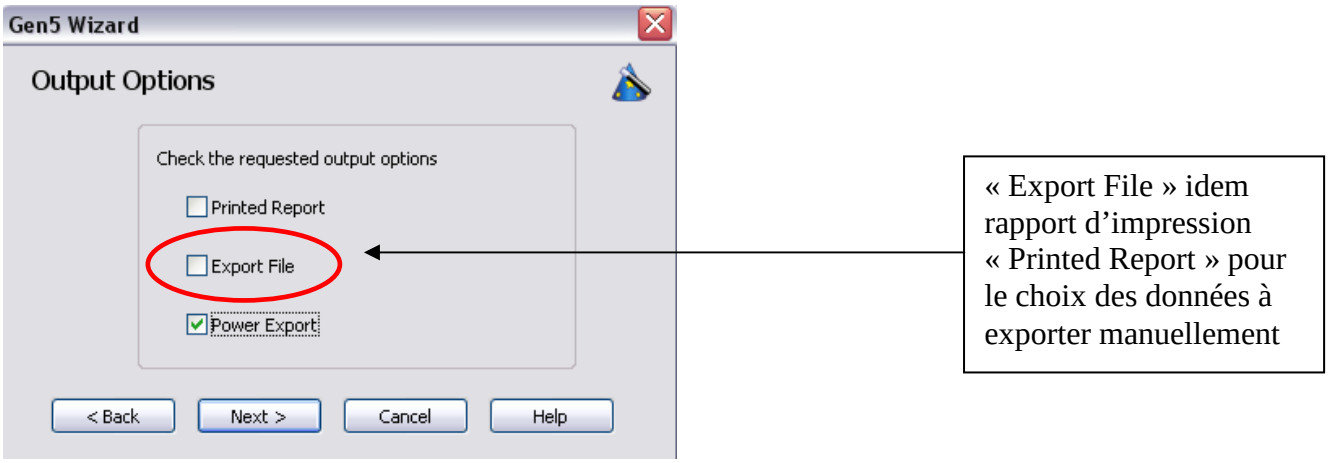
Sélectionner « Printed Report » puis « Next »

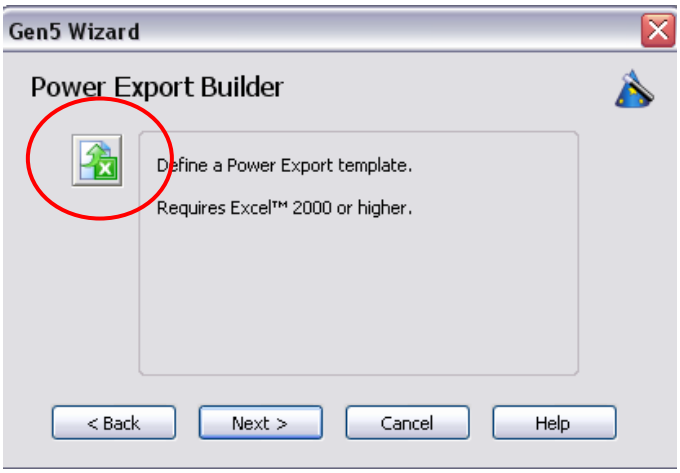


Click sur pour l'élaboration du rapport d'impression des résultats

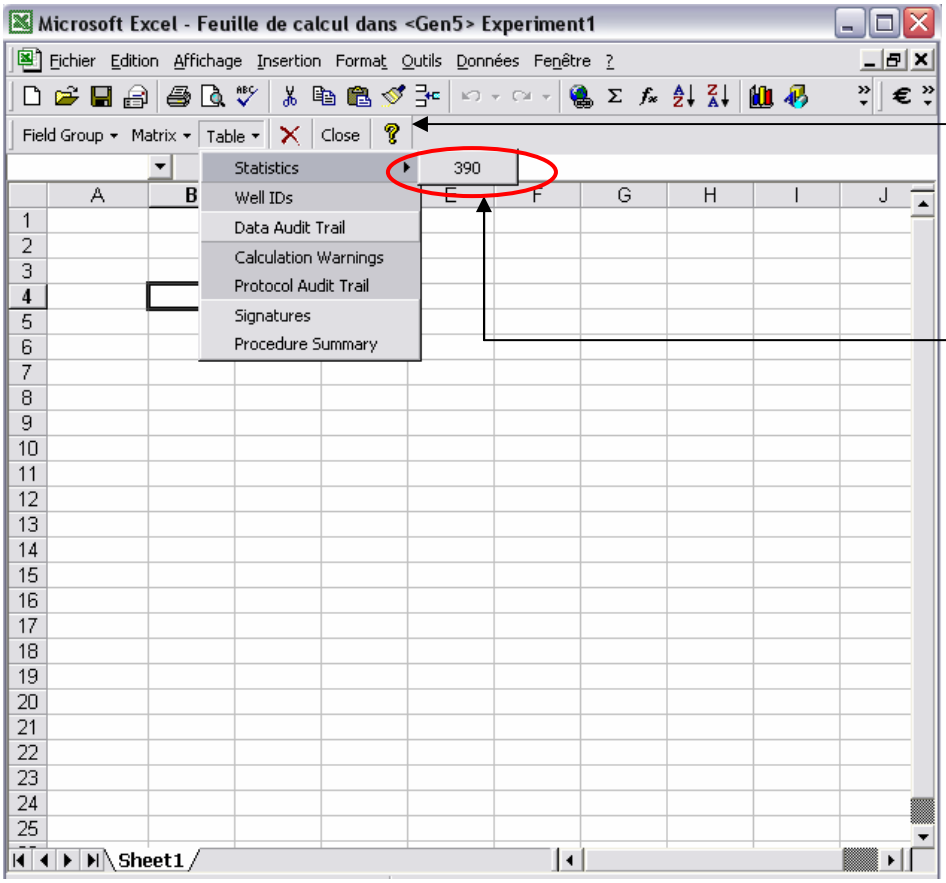


Cliquer « Power Export » sur le Wizard pour la création d'une feuille de macros dans Excel™





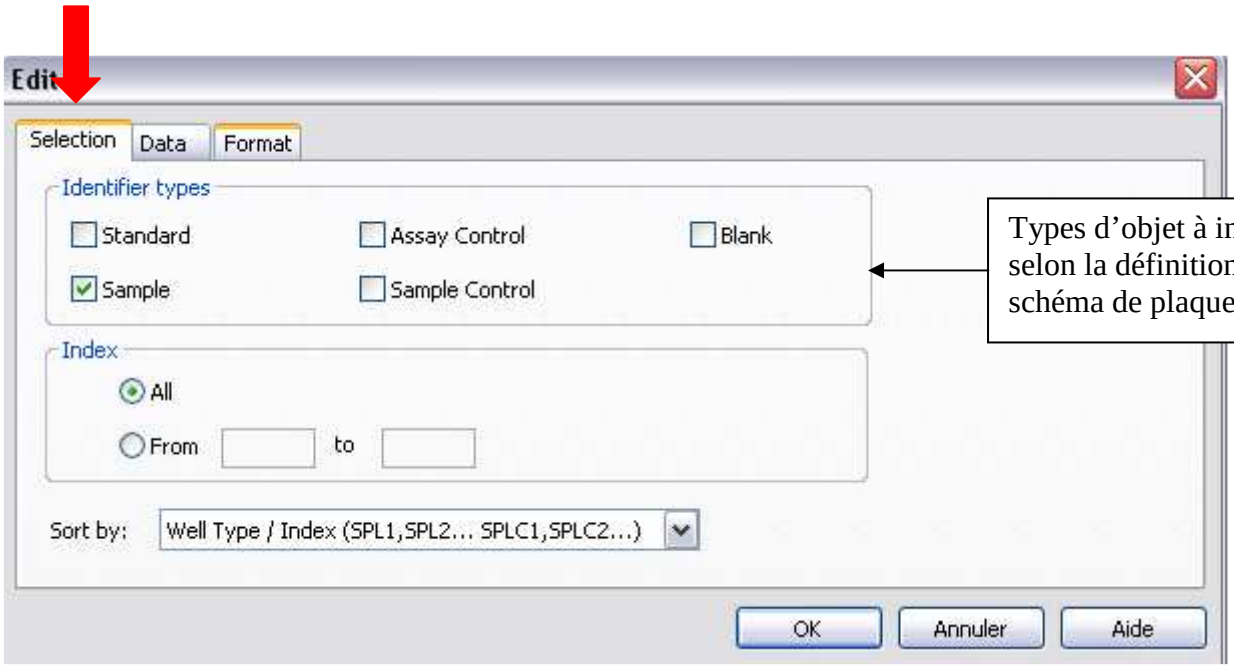
Click sur : accès à la feuille de macros Excel™



Menu d'insertion d'objets Gen5 (lien OLE)

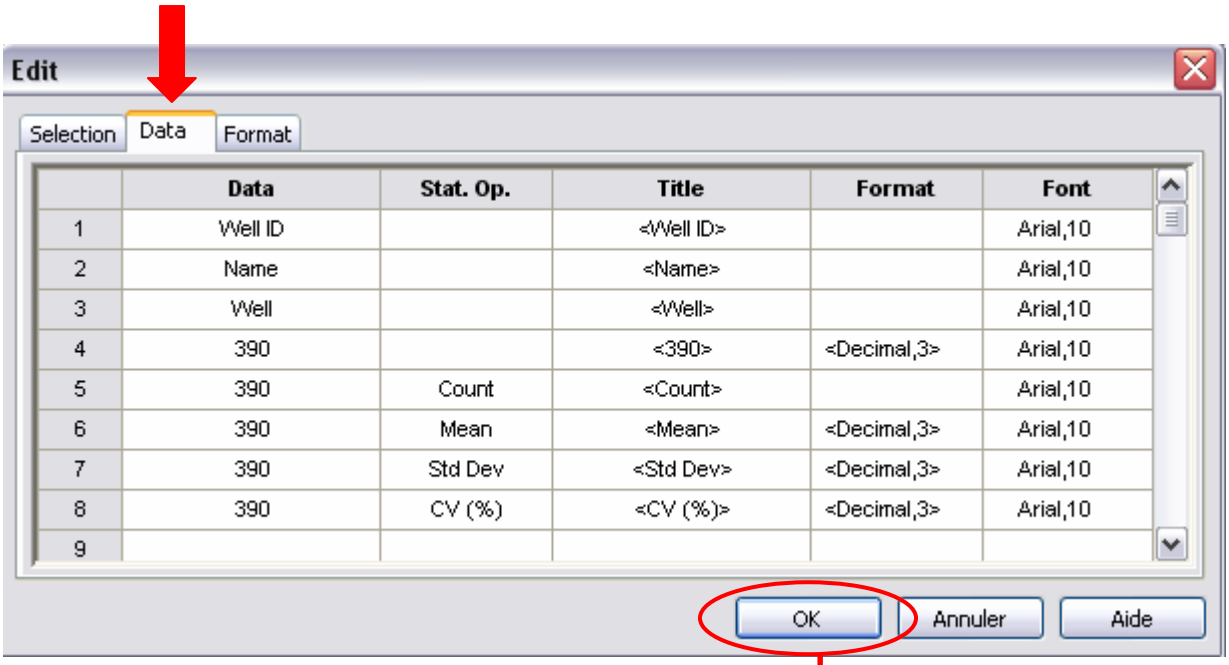
Choix d'un objet à inserer dans la cellule « B4 »

Cliquer sur un objet au choix (exemple : DO 390 nm en forma table statistique)



Types d'objet à insérer selon la définition du schéma de plaque

Données disponibles et formas appropriés



	Data	Stat. Op.	Title	Format	Font
1	Well ID		<Well ID>		Arial,10
2	Name		<Name>		Arial,10
3	Well		<Well>		Arial,10
4	390		<390>	<Decimal,3>	Arial,10
5	390	Count	<Count>		Arial,10
6	390	Mean	<Mean>	<Decimal,3>	Arial,10
7	390	Std Dev	<Std Dev>	<Decimal,3>	Arial,10
8	390	CV (%)	<CV (%)>	<Decimal,3>	Arial,10
9					

Cliquer « OK »

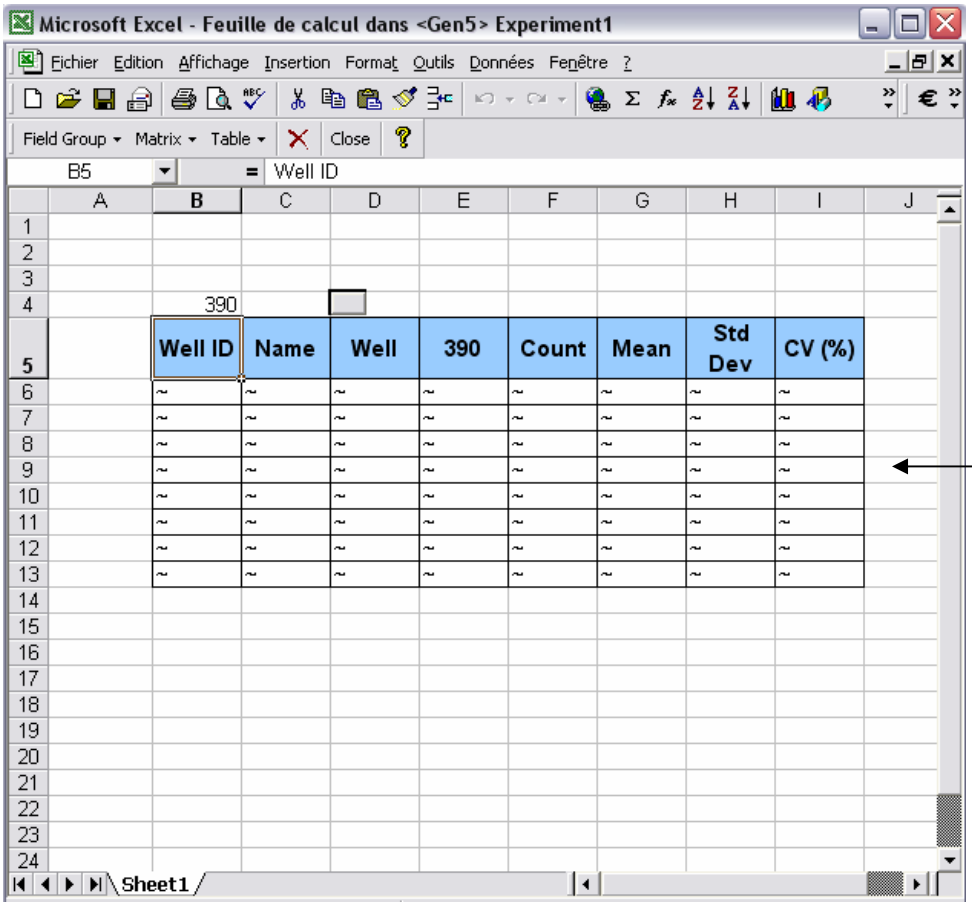
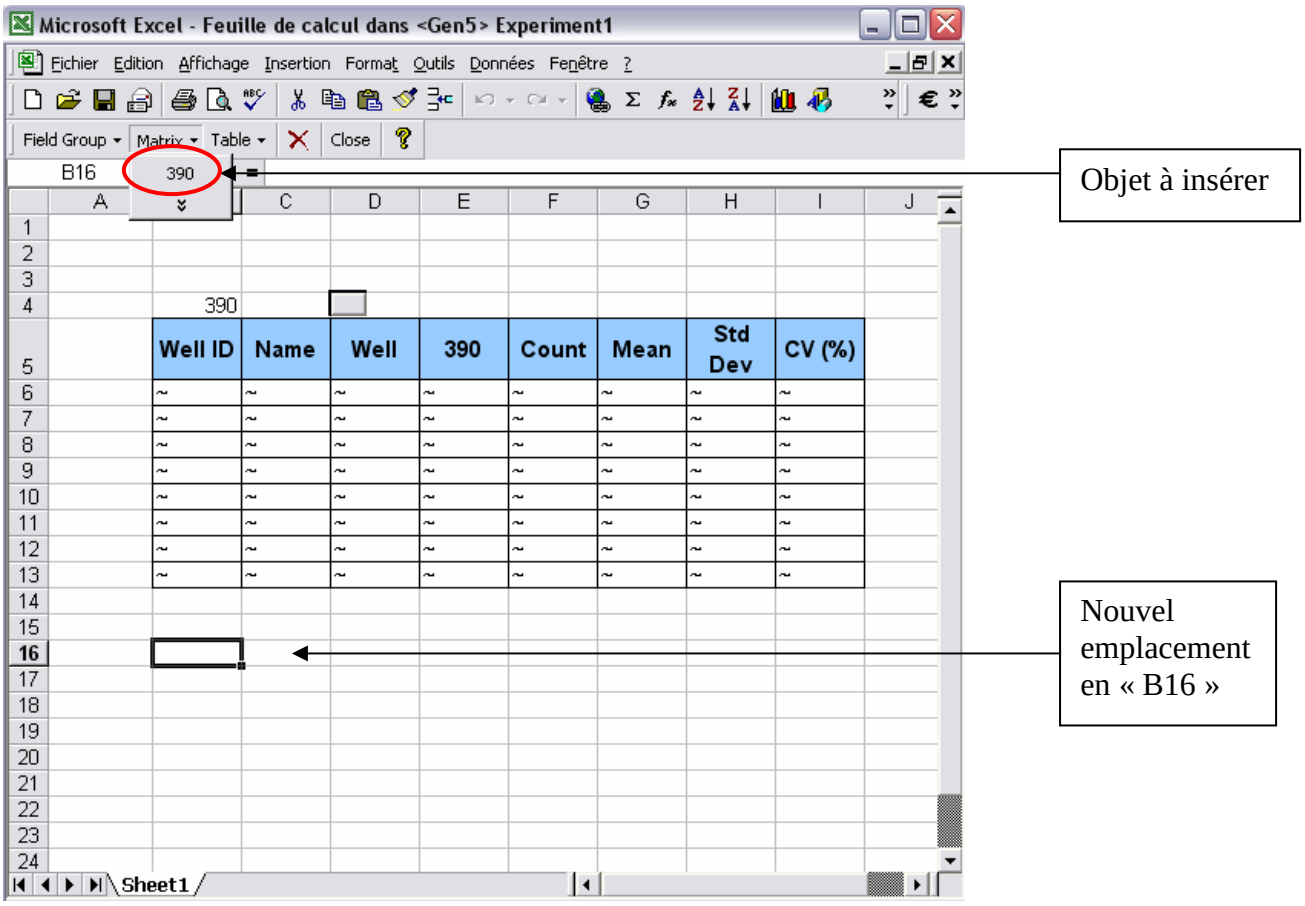
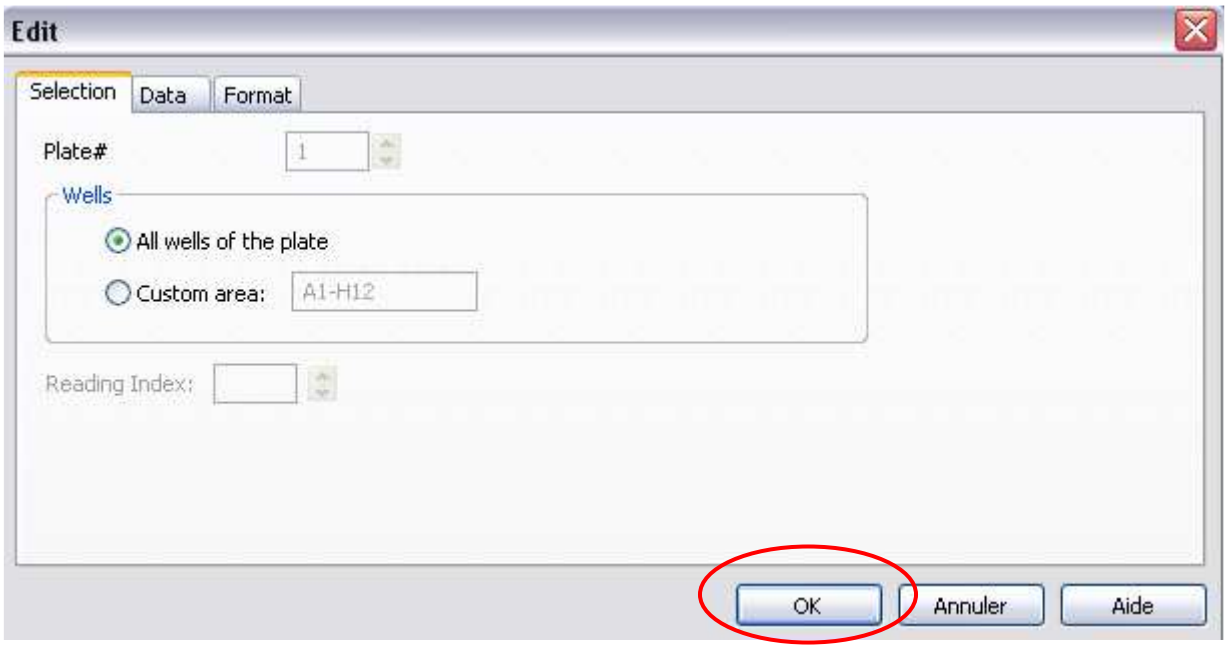


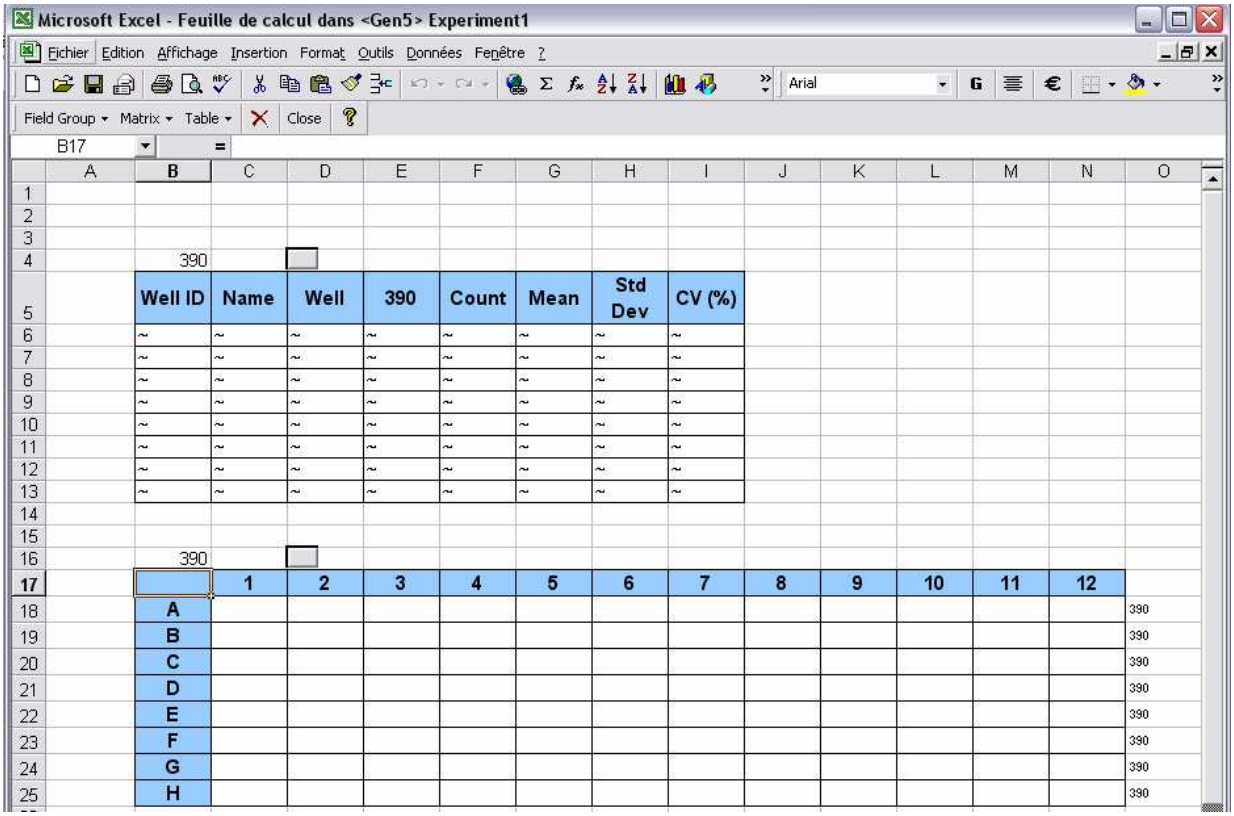
Tableau pré-établi pour l'insertion des données brutes à chaque lecture d'une microplaque.

Procéder de même pour l'insertion d'un objet au forma microplaque de données brutes par exemple (ici 390 nm)



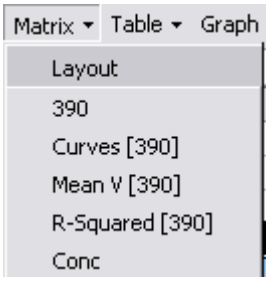


Cliquer « OK »

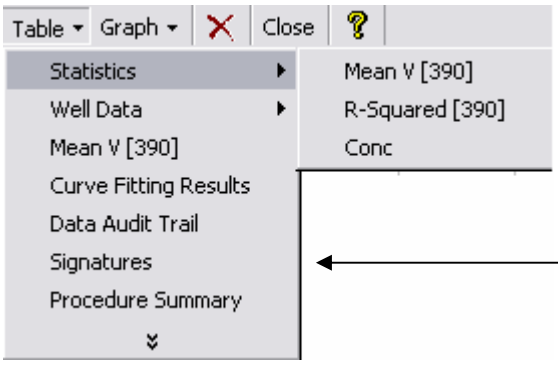


Addition d'une matrice 96 puits dans la quelle les données brutes seront implémentées

<u>Autres « objets » disponibles :</u>

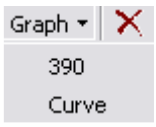


Forma matrice : data, courbes cinétiques, vitesses, concentrations, etc …



Statistiques des données brutes et calculées

Fitting, traçabilité, signature, etc …



Insertion des graphes (courbes standards, cinétiques ou spectres)

Champs divers (prompts, infos système, infos procédures et expérimentations, date, heure, identification, etc …

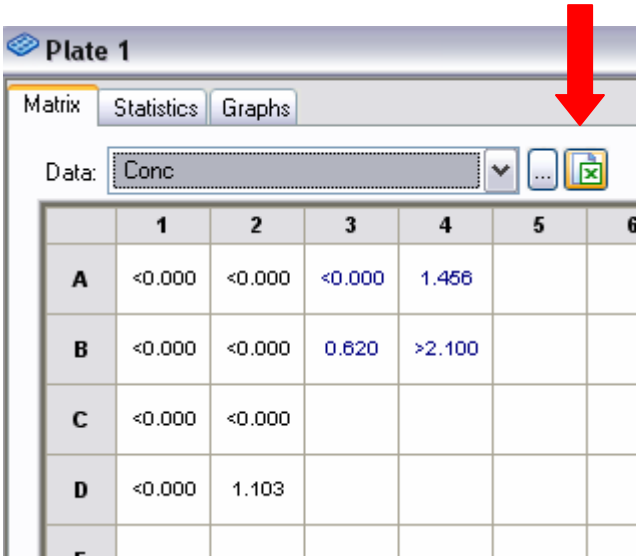
Fonction « Quick Export »

Les données ou les graphes affichés à l'écran peuvent être exportés directement dans Excel™ grâce à cette fonctionnalité

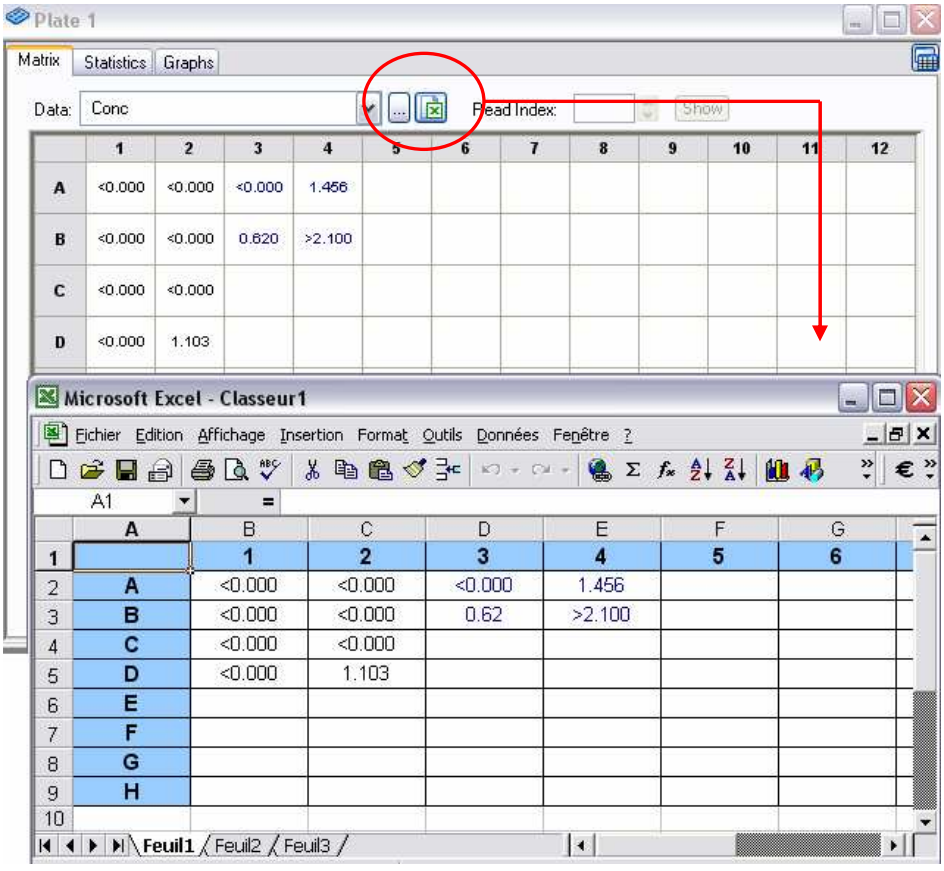
Un bouton accessible au niveau des résultats affichés autorise le transfert direct.

Exemples :

Résultats de concentrations

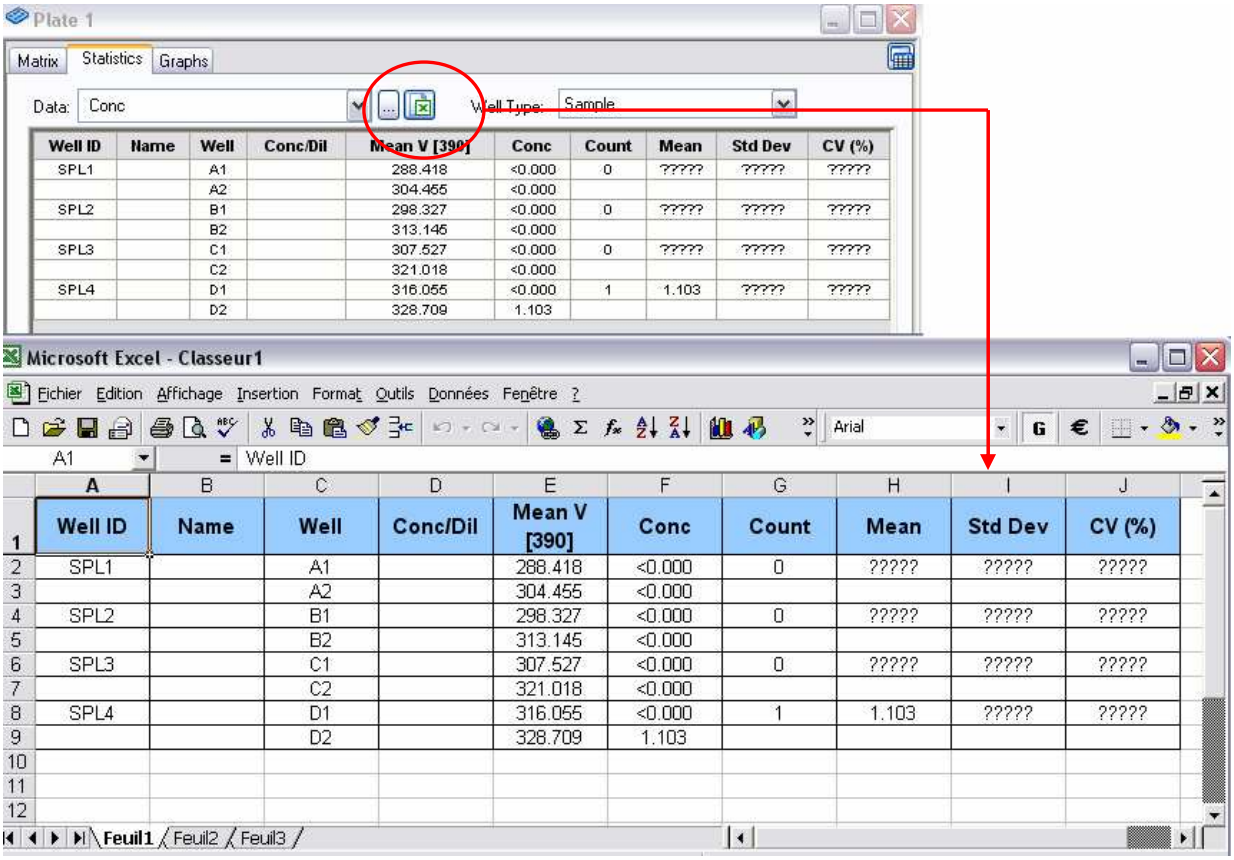


	1	2	3	4	5	6
A	<0.000	<0.000	<0.000	1.456		
B	<0.000	<0.000	0.620	>2.100		
C	<0.000	<0.000				
D	<0.000	1.103				



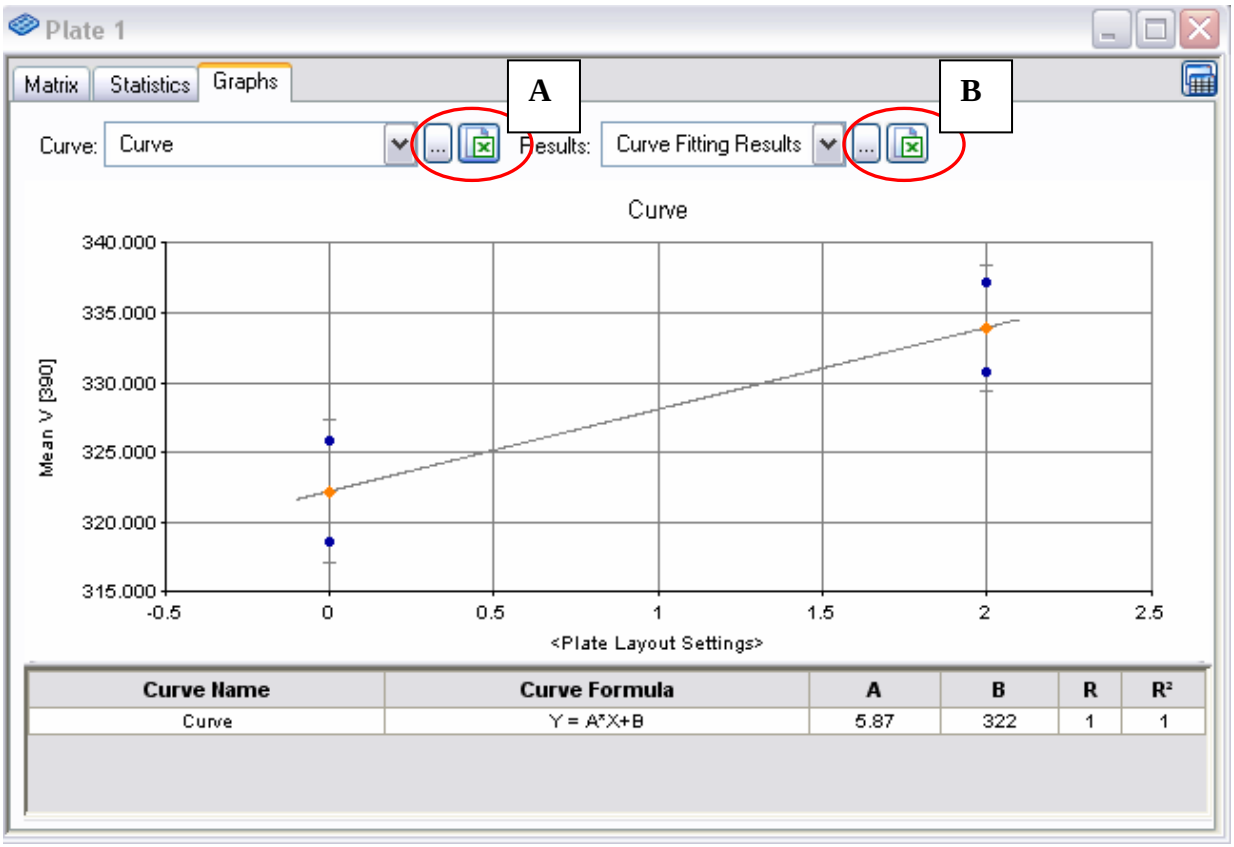
	A	B	C	D	E	F	G
1		1	2	3	4	5	6
2	A	<0.000	<0.000	<0.000	1.456		
3	B	<0.000	<0.000	0.62	>2.100		
4	C	<0.000	<0.000				
5	D	<0.000	1.103				
6	E						
7	F						
8	G						
9	H						
10							

Tableau statistique



Well ID	Name	Well	Conc/Dil	Mean V [390]	Conc	Count	Mean	Std Dev	CV (%)
SPL1		A1		288.418	<0.000	0	?????	?????	?????
		A2		304.455	<0.000				
SPL2		B1		298.327	<0.000	0	?????	?????	?????
		B2		313.145	<0.000				
SPL3		C1		307.527	<0.000	0	?????	?????	?????
		C2		321.018	<0.000				
SPL4		D1		316.055	<0.000	1	1.103	?????	?????
		D2		328.709	1.103				

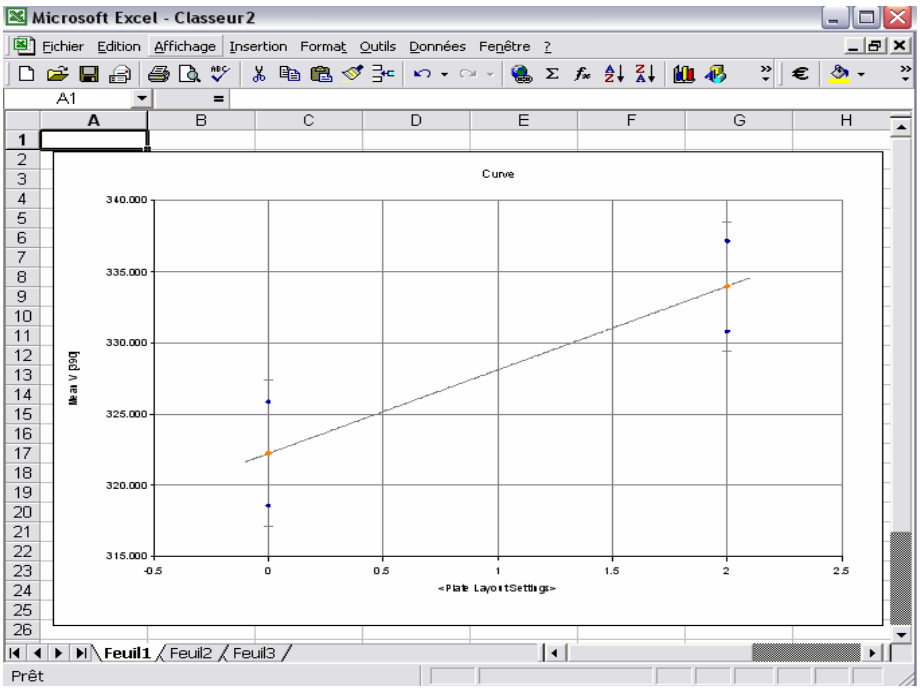
Graphes



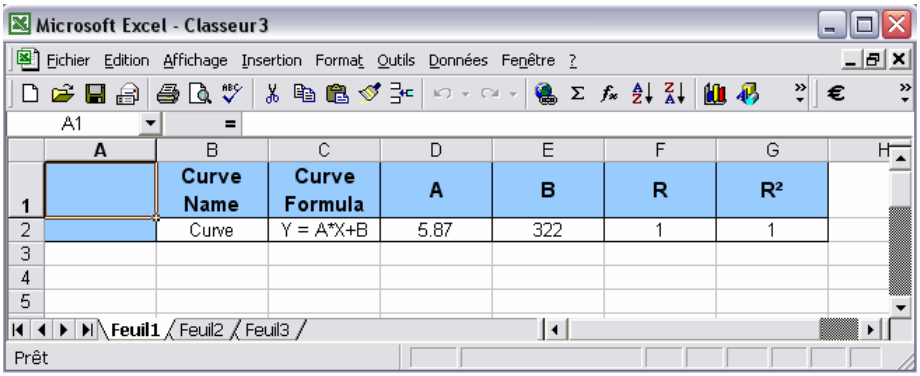
Curve Name	Curve Formula	A	B	R	R²
Curve	Y = A*X+B	5.87	322	1	1

Courbe et fitting sont exportables

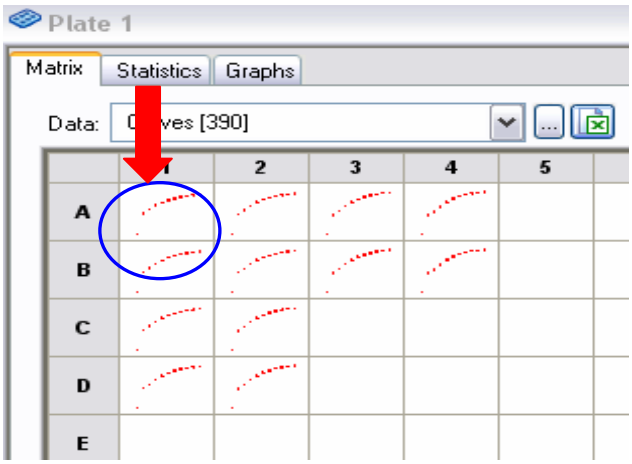
A



B

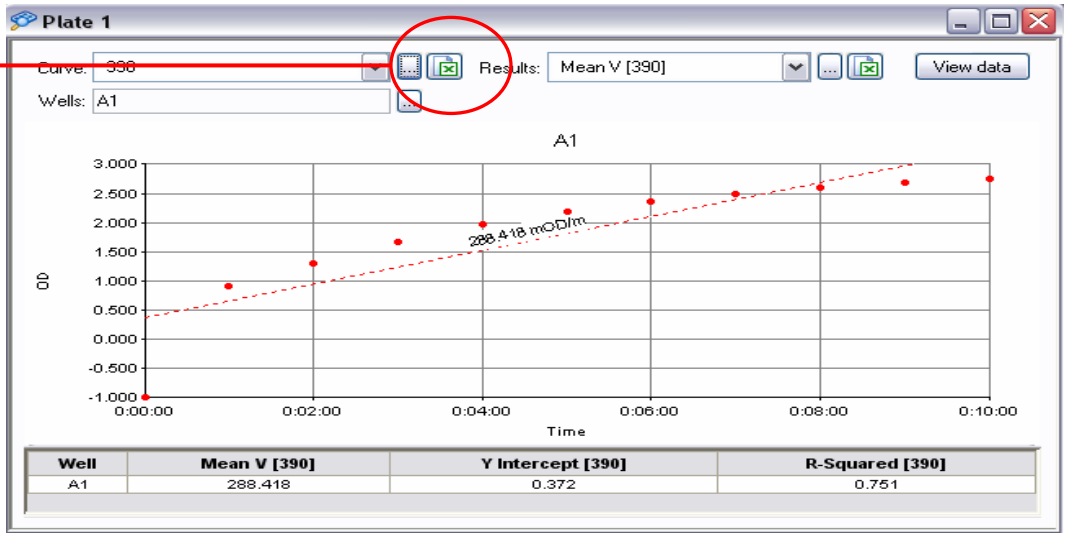


Courbes cinétiques

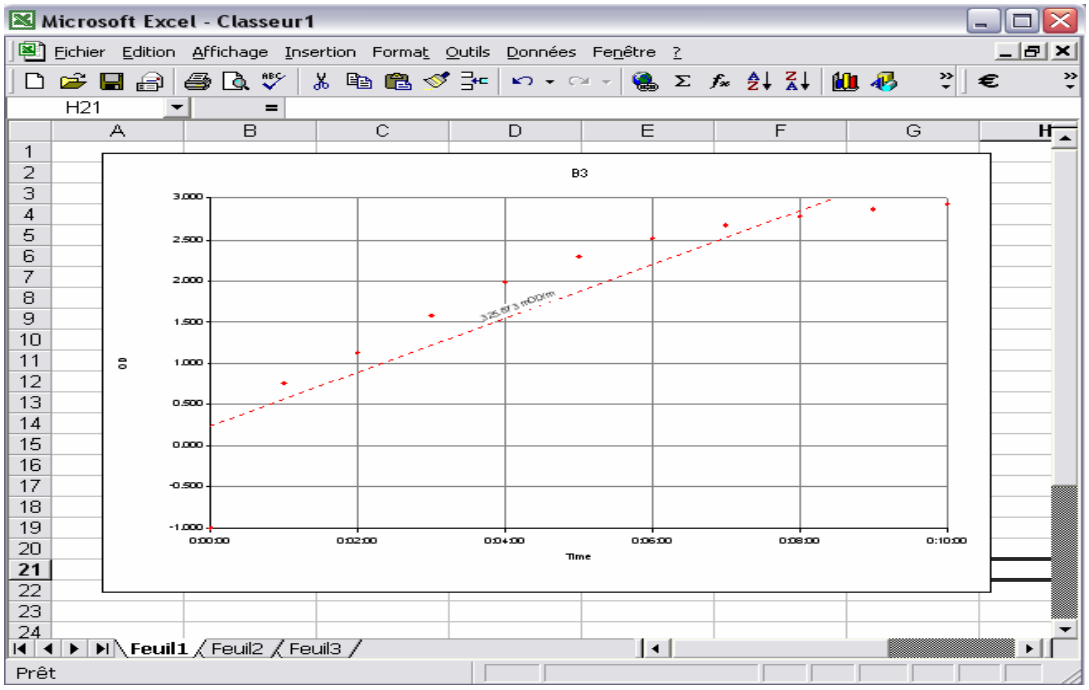


Cliquer sur le puit à sélectionner en vue d'exporter le profil de cinétique

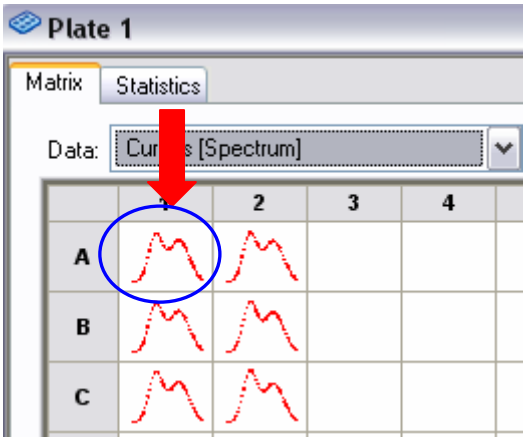
« Zoom »



Un simple click exporte le profil de cinétique dans Excel™

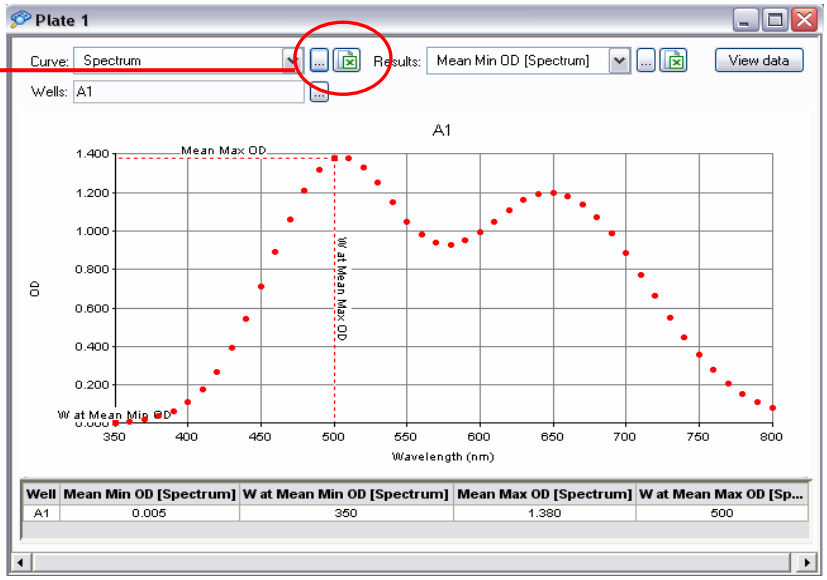


Spectres d'absorbance

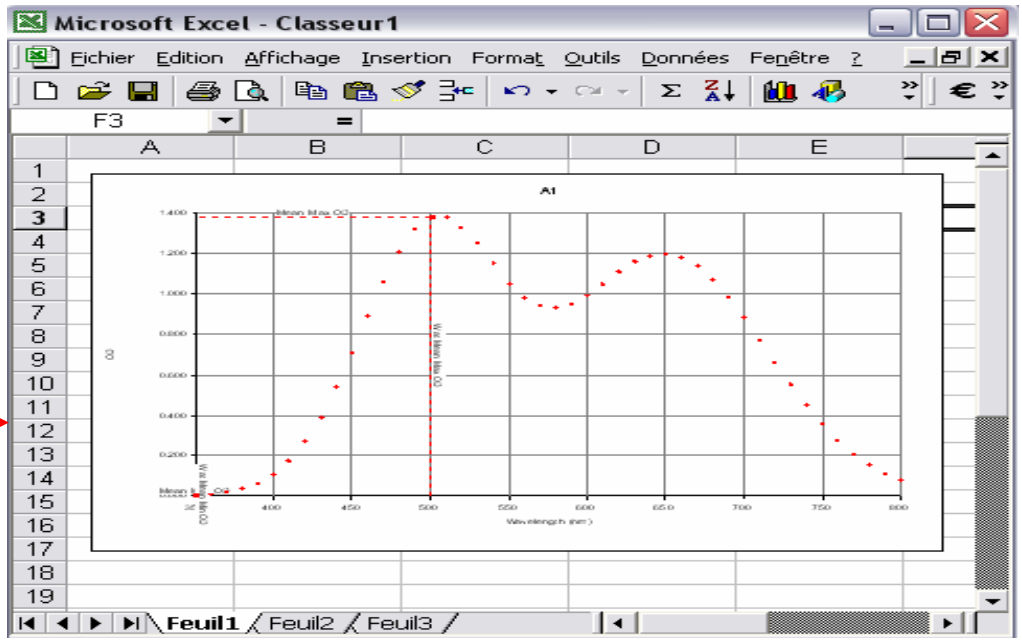


Cliquer sur le puit à sélectionner en vue d'exporter le profils du spectre d'absorbance

« Zoom »



Un simple click exporte le profil du spectre d'absorbance dans Excel™



Synoptique de lecture directe d'une ou plusieurs microplaque(s)

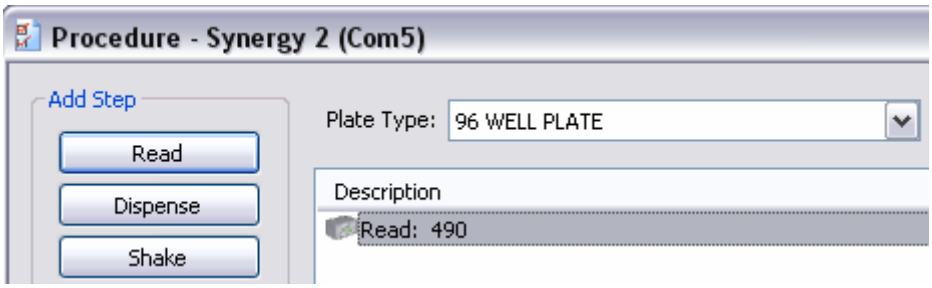
Lecture directe d'une microplaque

Ouvrir Gen5

Cliquer

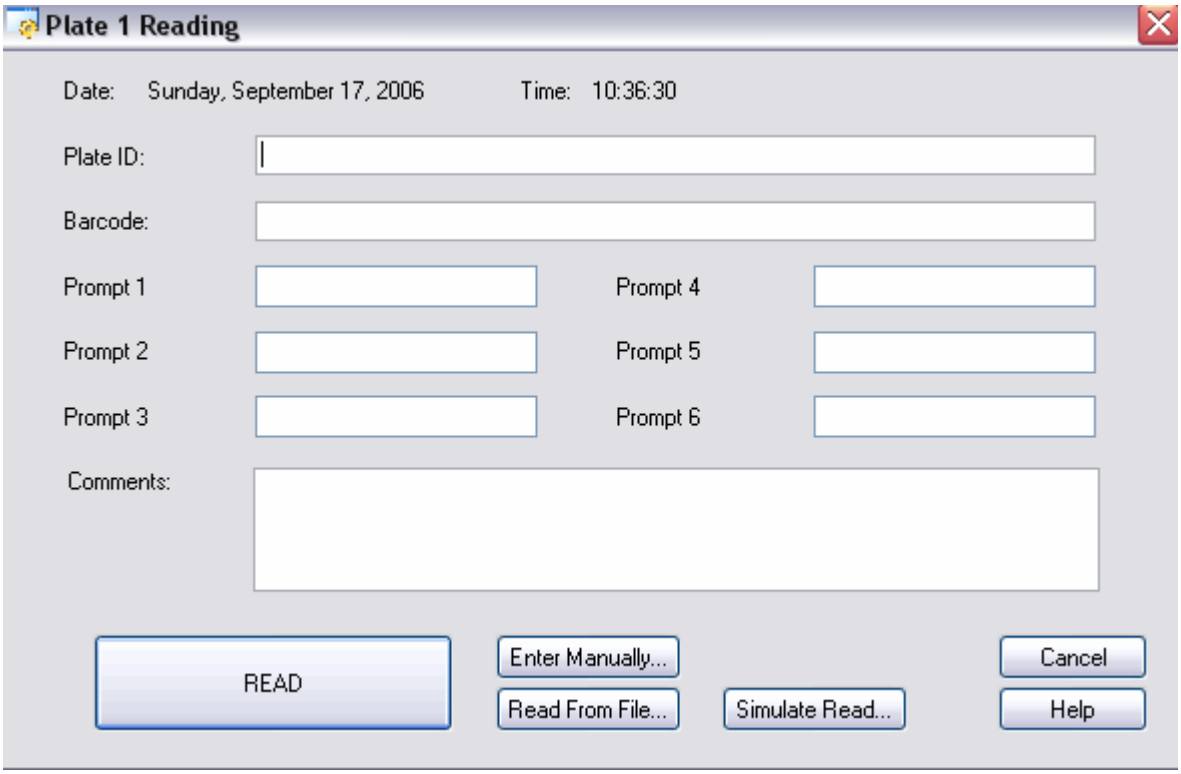
dans l'invite d'accueil

La fenêtre de Procédure « Step Wise » offre le choix du mode de lecture



Ici, simple mesure à 490 nm d'une plaque 96 puits

Cliquer OK

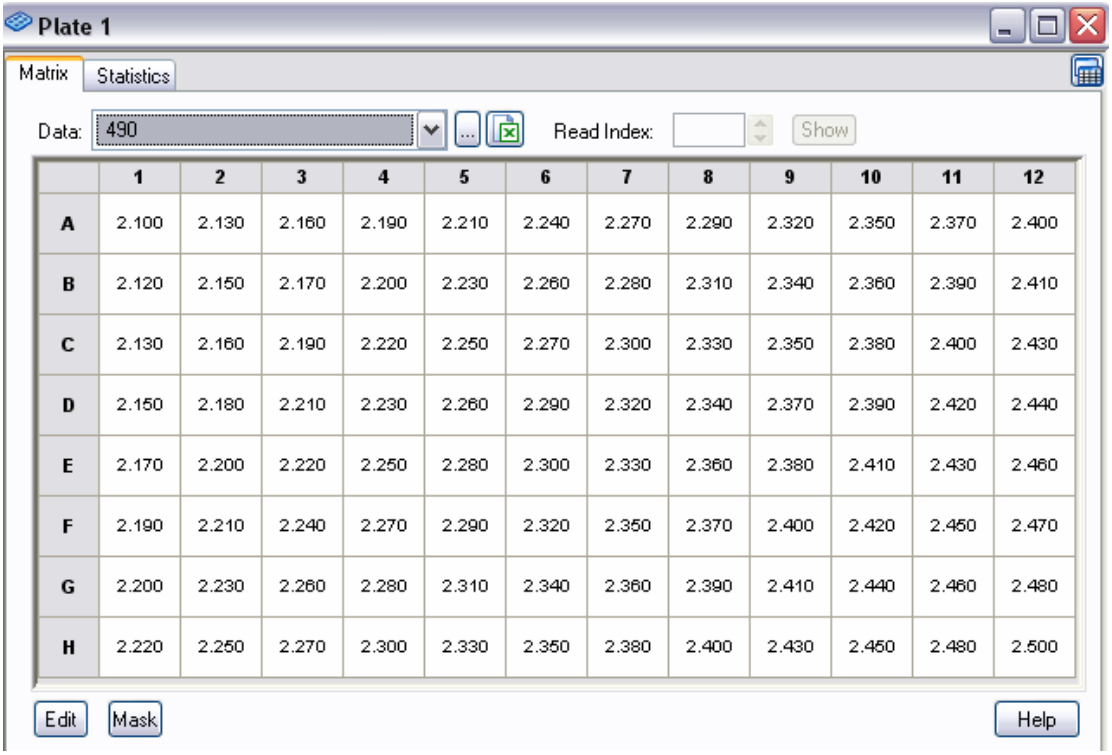


Cliquer

Positionner la plaque dans le lecteur

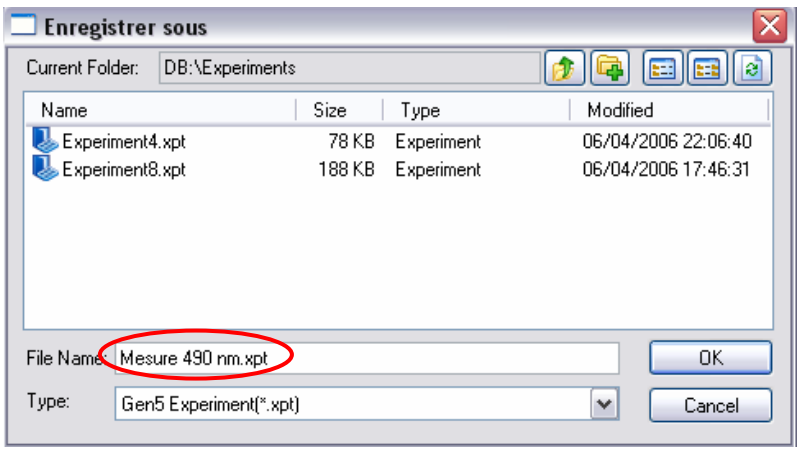
Cliquer OK

Affichage écran des données



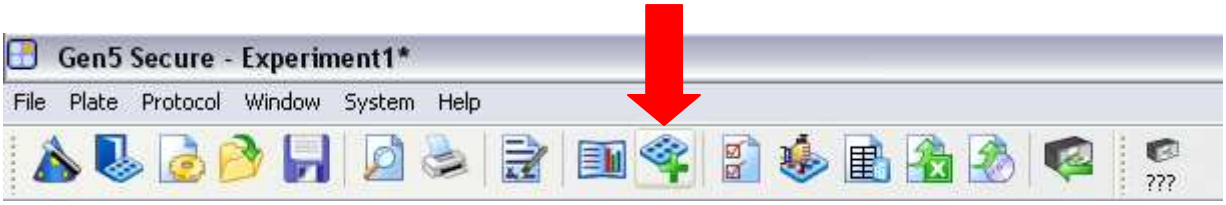
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2.100	2.130	2.160	2.190	2.210	2.240	2.270	2.290	2.320	2.350	2.370	2.400
B	2.120	2.150	2.170	2.200	2.230	2.260	2.280	2.310	2.340	2.360	2.390	2.410
C	2.130	2.160	2.190	2.220	2.250	2.270	2.300	2.330	2.350	2.380	2.400	2.430
D	2.150	2.180	2.210	2.230	2.260	2.290	2.320	2.340	2.370	2.390	2.420	2.440
E	2.170	2.200	2.220	2.250	2.280	2.300	2.330	2.360	2.380	2.410	2.430	2.460
F	2.190	2.210	2.240	2.270	2.290	2.320	2.350	2.370	2.400	2.420	2.450	2.470
G	2.200	2.230	2.260	2.280	2.310	2.340	2.360	2.390	2.410	2.440	2.460	2.480
H	2.220	2.250	2.270	2.300	2.330	2.350	2.380	2.400	2.430	2.450	2.480	2.500

Cliquer pour l'export direct dans Excel™
Puis sauvegarder dans <File> <Save As …> en (.xpt) sur le disque dur.



Lecture directe de plusieurs microplaques

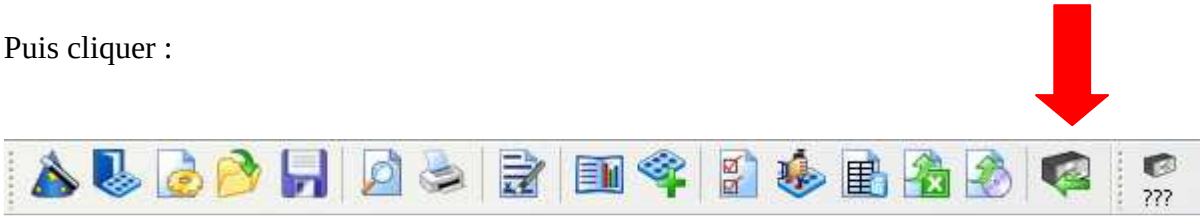
A l'identique que précédemment mais suite à la lecture de la première microplaque, ajouter de 1 à 999 plaques en cliquant :



Sélectionner un nombre de plaques additionnelles

Se positionner sur le numéro de la plaque que l'on souhaite lire, au niveau de l'arborescence Gen5

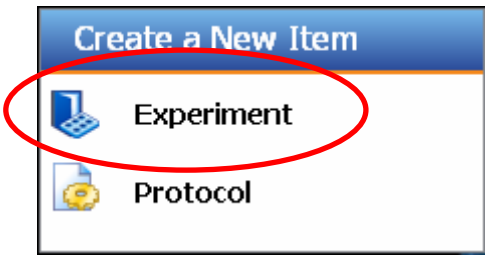
Puis cliquer :



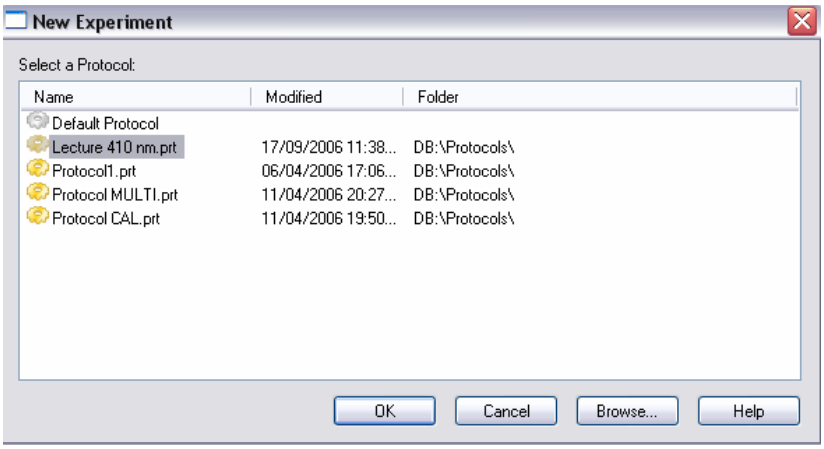
La suite est identique à précédemment.

Lecture de microplaques via un protocole mémorisé

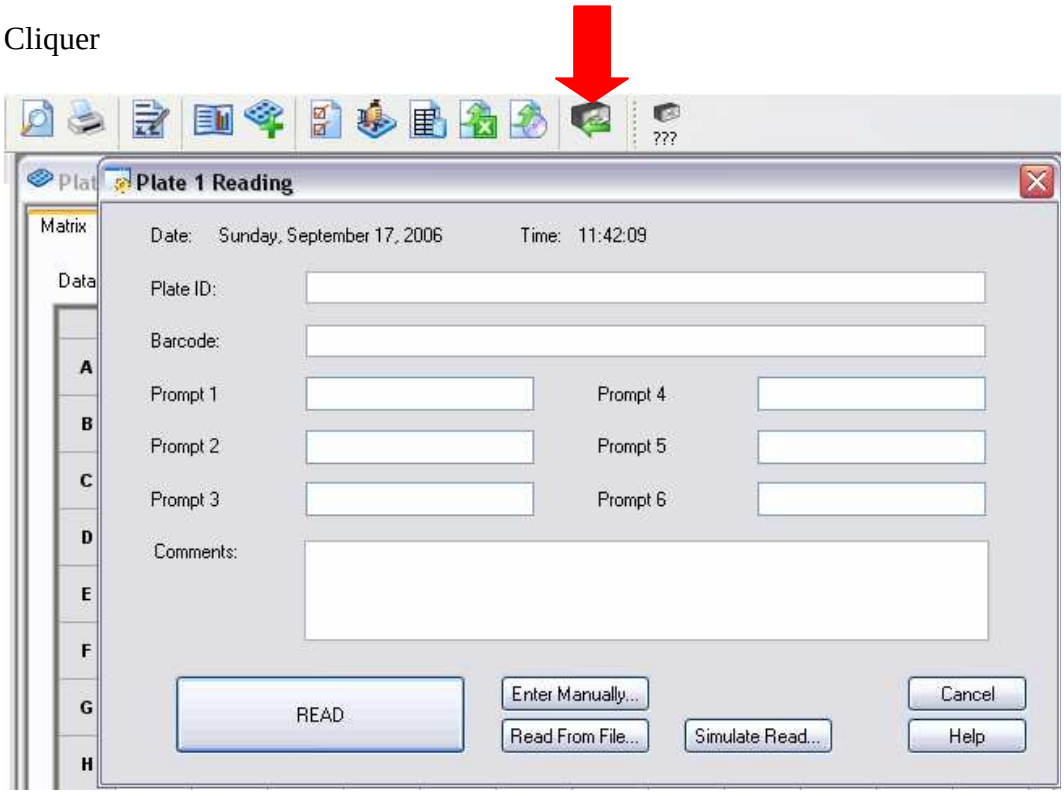
Ouvrir Gen5 et cliquer Experiment dans l'invite d'accueil



Sélectionner un protocole parmi la liste proposée

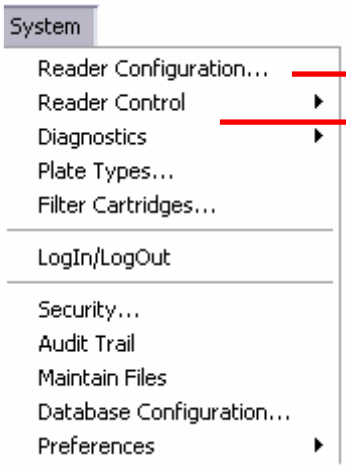


Cliquer

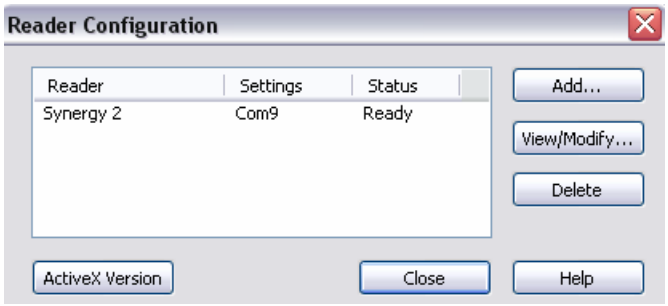


Idem que précédemment pour la suite …

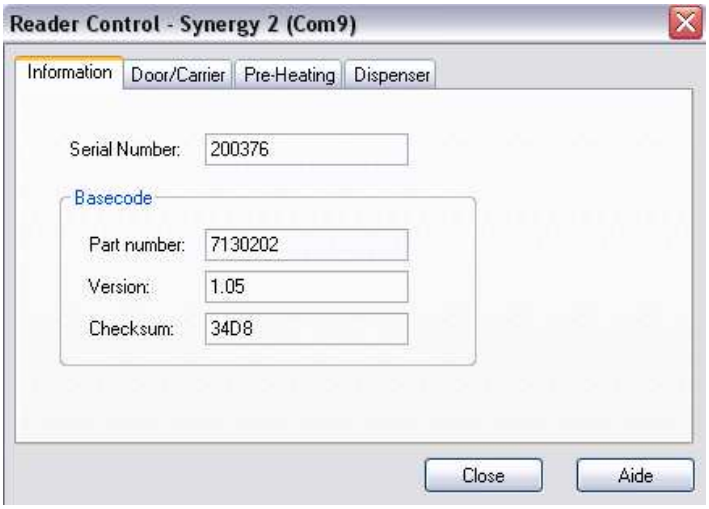
Menu System de Gen5 : contrôle machine, microplaques, filtres, miroirs, etc …



Configuration du driver à l'installation

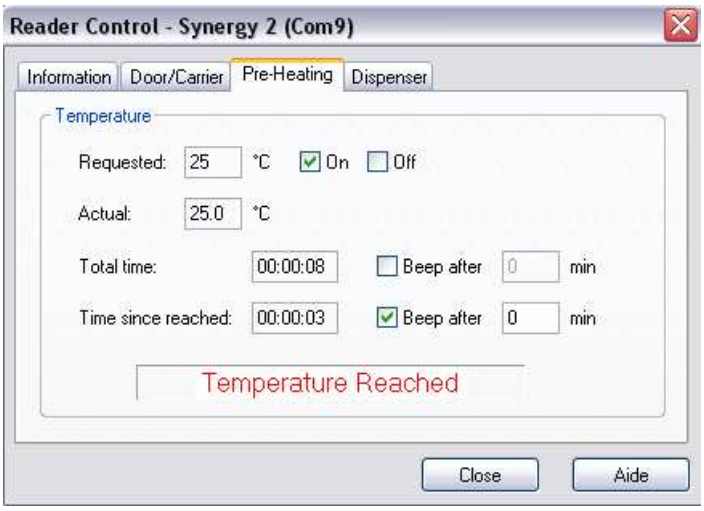


Contrôle du lecteur connecté

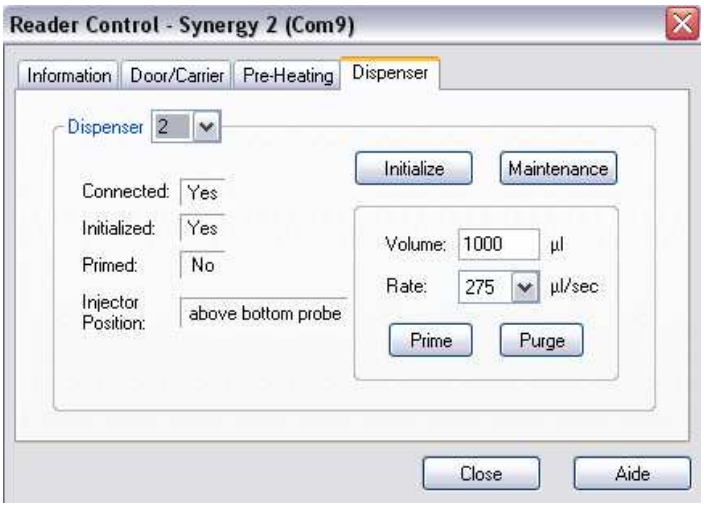


Info lecteur

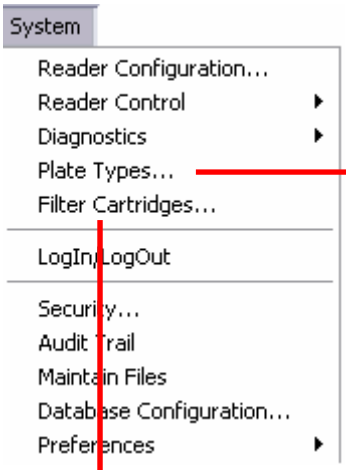
Contrôle d'ouverture du chariot du lecteur avec le type de microplaque posée

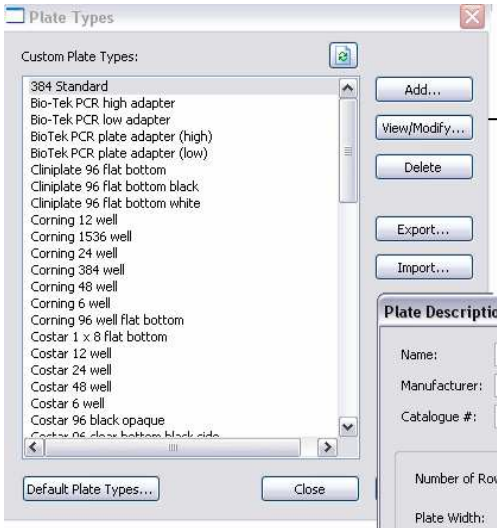


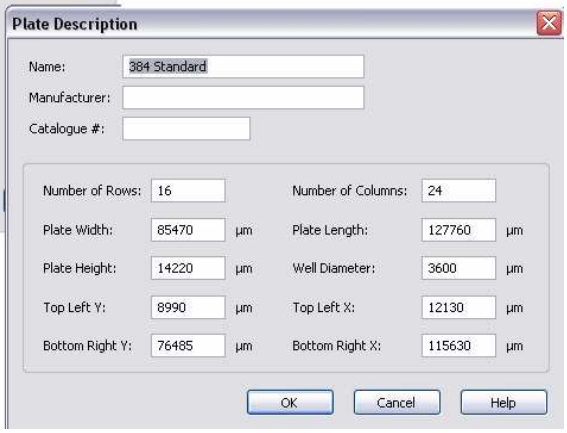
Contrôle de la température de pré-incubation de l'appareil (selon modèle)



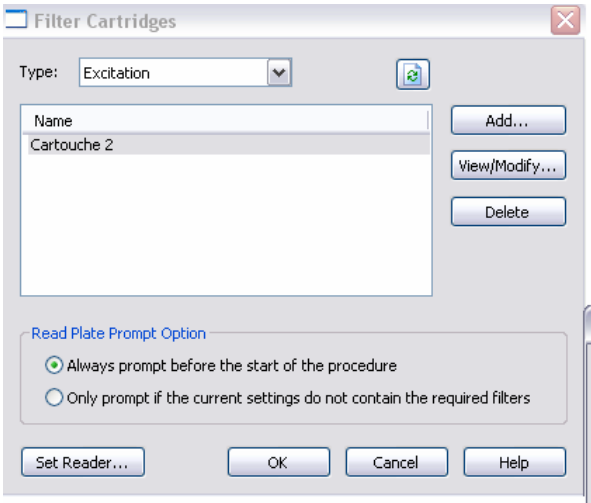
Contrôle du module de distribution des Synergy HT, Synergy 2 et FLx800

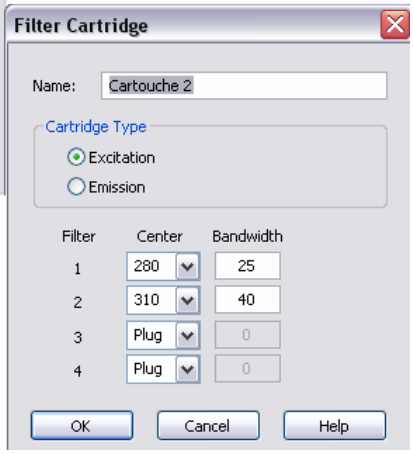






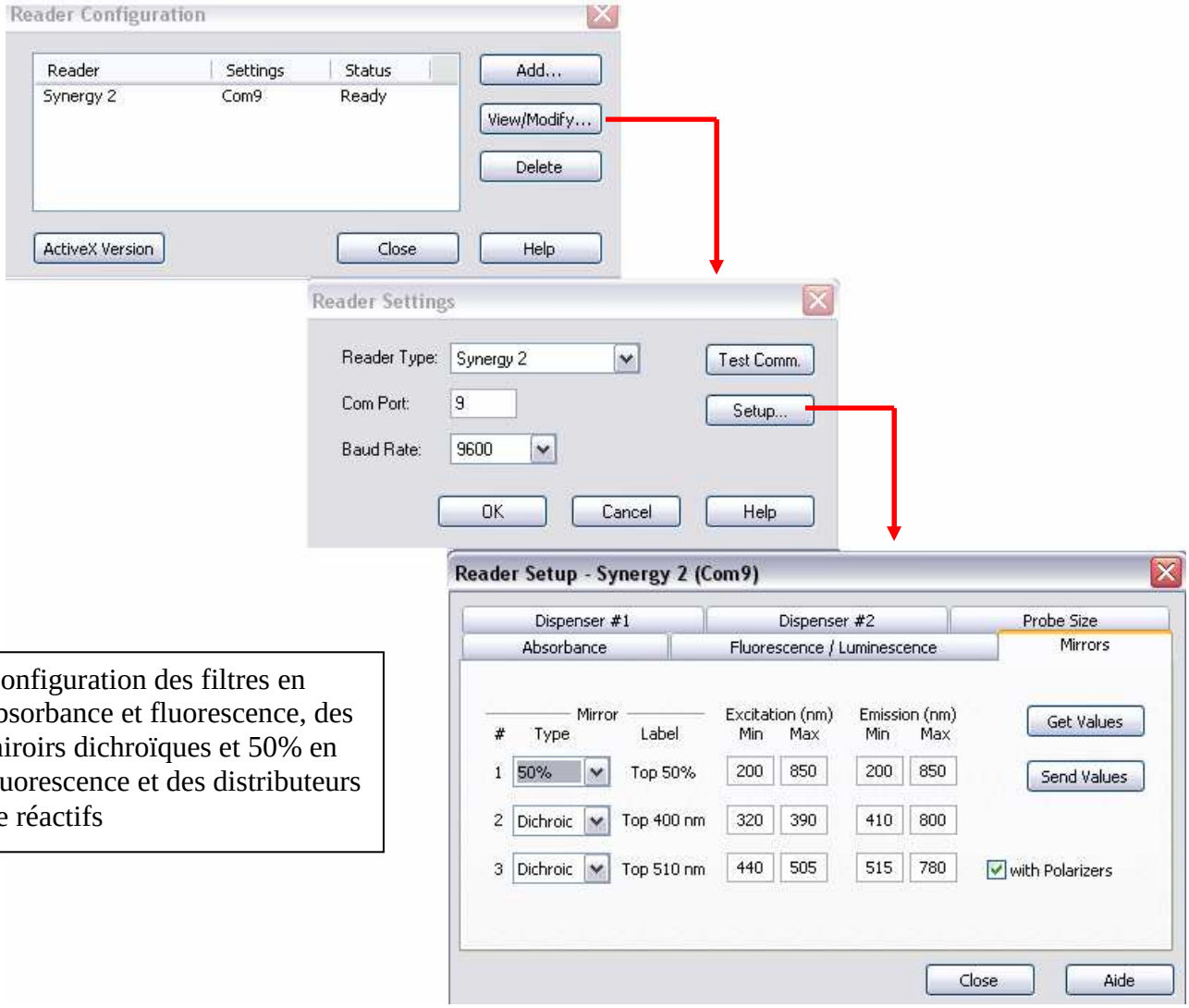
Bibliothèque de microplaques mémorisées





Gestion des cartouches de filtres additionnelles sur Synergy HT, Synergy 2 et FLx800

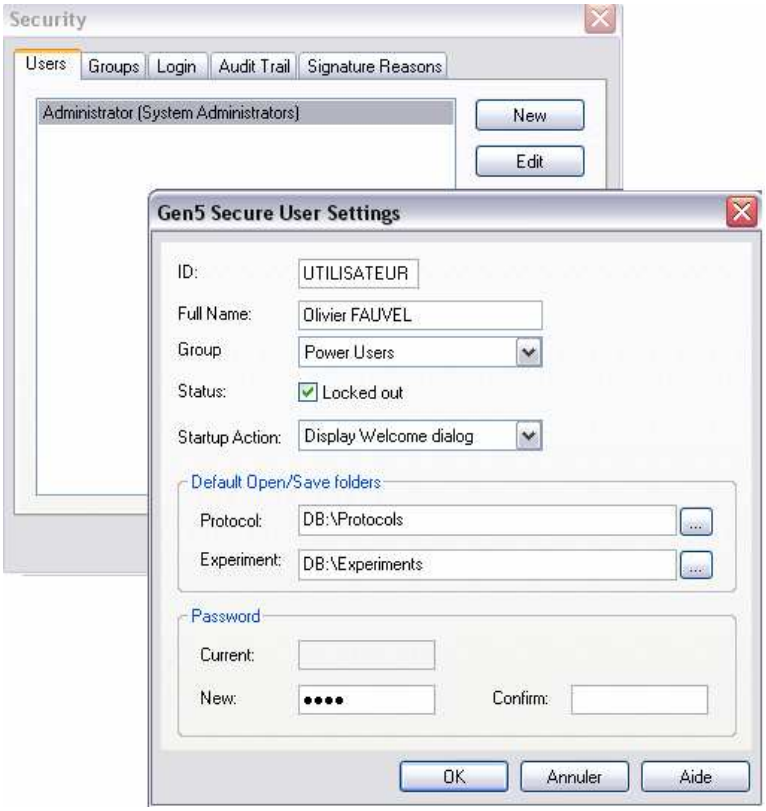
Configuration lecteur



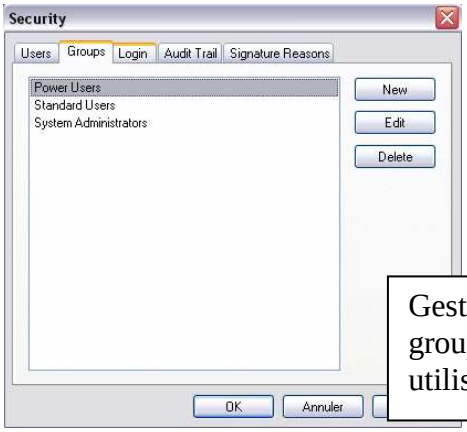
Configuration des filtres en absorbance et fluorescence, des miroirs dichroïques et 50% en fluorescence et des distributeurs de réactifs

Menu sécurité (Gen5 Secure)

Cliquer <System Security>

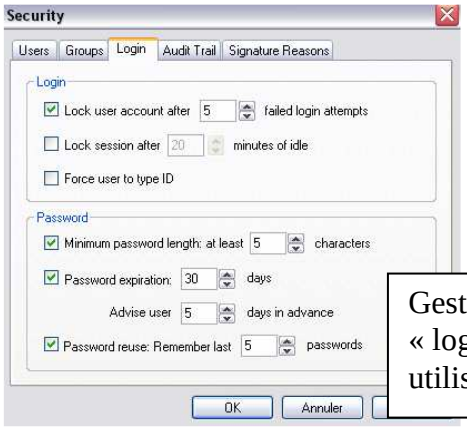


Création d'un nouveau profil utilisateur

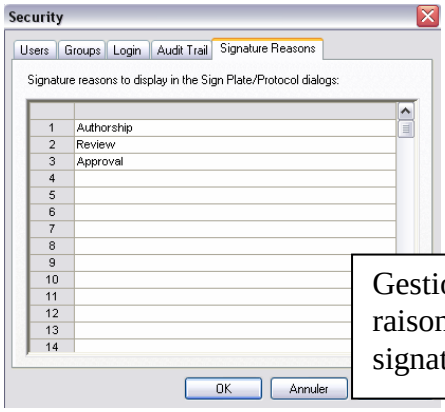


Gestion des groupes utilisateurs

Gestion traçabilité des actions



Gestion des « login » des utilisateurs



Gestion des raisons de signatures