



Ce document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et ses sociétés affiliées (« Illumina »), et sont exclusivement destinés à l'usage contractuel de son client dans le cadre de l'utilisation du ou des produits décrits dans les présentes et ne peuvent servir à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin et ne seront communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de ses droits d'auteur ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par ce document.

Les instructions contenues dans ce document doivent être suivies strictement et explicitement par un personnel qualifié et adéquatement formé de façon à assurer l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits dans les présentes. Le contenu intégral de ce document doit être lu et compris avant l'utilisation de ce ou ces produits.

SI UN UTILISATEUR NE LIT PAS COMPLÈTEMENT ET NE SUIT PAS EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES, IL RISQUE DE CAUSER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES, NOTAMMENT AUX UTILISATEURS ET À D'AUTRES PERSONNES, AINSI QUE D'AUTRES DOMMAGES MATÉRIELS, ANNULANT AUSSI TOUTE GARANTIE S'APPLIQUANT AU(X) PRODUIT(S).

ILLUMINA DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION INAPPROPRIÉE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LES PRÉSENTES (Y COMPRIS LEURS COMPOSANTES ET LE LOGICIEL).

© 2018 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Historique des révisions

Document	Date	Description des modifications
Document n° 15006165 v05	Mai 2020	Mise à jour des images des plaques des réactifs.
Document n° 15006165 v04	Avril 2019	Mise à jour des descriptions et des images des plaques des réactifs.
Document n° 15006165 v03	Janvier 2019	Mise à jour de la couleur de l'opercule de rouge à blanc pour la barrette à huit tubes HP5. Ajout des renseignements sur la dénaturation et la dilution pour les librairies Nextera DNA Flex. Retrait des références aux trousse TruSeq v2 GA puisqu'elles ne sont plus prises en charge. Retrait du numéro d'un document qui n'est plus imprimé.
Document n° 15006165 v02	Janvier 2016	Ajout des volumes de PhiX et de librairie à la procédure de substance de contrôle PhiX pour les librairies amplifiées sur une Flow Cell HiSeq 3000/4000. Ajout de recommandations relatives au service de maintenance préventive annuelle. Mise à jour des directives concernant le déchargement des composants d'analyse pour y inclure des options de stockage de Flow Cell. Ajout du <i>Guide de configuration du système cBot (document n° 100000005301)</i> dans la section Ressources supplémentaires.
Document n° 15006165 v01	Août 2015	Mise à jour des descriptions du logiciel cBot v3.0, qui permet l'utilisation de la trousse HiSeq 3000/4000 SR Cluster. Ajout des formules pour les Flow Cell suivantes : HiSeq X v2.5, HiSeq 3000/4000 SR, TruSeq v3 et GAllx v2. Ajout des renseignements suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Directives par type de Flow Cell pour la préparation des réactifs de génération d'amplifiats.</li> <li>• Directives pour utiliser les Flow Cell HiSeq X et Flow Cell HiSeq 3000/4000 dans les 4 heures suivant l'ouverture.</li> <li>• Durée de la génération d'amplifiats pour les Flow Cell HiSeq 3000/4000 à lecture unique.</li> <li>• Fisher Scientific, n° de référence AB-0784 pour barrettes de huit bouchons.</li> </ul> Mise à jour des directives pour réinitialiser le lecteur de codes à barres à la configuration par défaut. Déplacement des renseignements relatifs au dépannage dans l'annexe A. Retrait des descriptions des écrans du logiciel. Elles ont été déplacées à la section présentant les étapes de génération des amplifiats, aux endroits pertinents.

Document	Date	Description des modifications
Référence n° 15006165 Rév. O	Février 2015	<p>Ajout de la trousse de réactifs HiSeq X Five v2 (Single-pack et 10-pack) et de la trousse d'amplifiats à lecture appariée HiSeq 3000/4000 aux trousse prises en charge.</p> <p>Ajout du nom des formules utilisées avec les Flow Cell HiSeq X Five v2 et HiSeq 3000/4000.</p> <p>Ajout des Flow Cell HiSeq X Five v2 et HiSeq 3000/4000 au flux de travail de génération d'amplifiats.</p> <p>Modification du nom de la trousse de réactifs HiSeq X HD v2 pour trousse de réactifs HiSeq X Ten v2 et du nom de la trousse 20-pack pour trousse 10-pack (seuls les noms ont changé, mais pas le contenu).</p> <p>Retrait de l'annexe A qui comprenait les procédures de configuration. Pour obtenir les procédures de configuration, consultez le <i>Guide de préparation du site du système cBot (document n° 15053710)</i>.</p> <p>Modification de la durée de la génération des amplifiats pour les Flow Cell HiSeq v4 et HiSeq X, qui passe d'environ 2,5 heures à environ 3 heures.</p>
Référence n° 15006165 Rév. N	Novembre 2014	<p>Ajout de la trousse HiSeq Rapid Duo cBot Sample Loading qui prend en charge la génération d'amplifiats en mode HiSeq Rapid Run v2 sur les systèmes HiSeq 2500 et HiSeq 1500.</p> <p>Ajout de la Flow Cell HiSeq Rapid v2 aux types de Flow Cell rapides, y compris les formules compatibles.</p> <p>Ajout de la durée de la génération d'amplifiats pour les Flow Cell rapides.</p> <p>Ajout de la trousse de réactifs HiSeq X HD v2 (Single-pack et 20-pack).</p> <p>Ajout de renseignements au sujet de l'orientation de la plaque des réactifs cBot pour la trousse HiSeq X.</p> <p>Ajout d'une remarque mentionnant qu'il n'est pas possible de confirmer la distribution des réactifs effectuée par la plaque des réactifs fournit avec la trousse de réactifs HiSeq X HD v2.</p>

Document	Date	Description des modifications
Référence n° 15006165 Rév. M	Septembre 2014	<p>Retrait de la trousse HiSeq Multi-Primer Rehybridization v4 des troussees cBot disponibles. La trousse HiSeq Multi-Primer Rehybridization v4 est utilisée sur le système HiSeq uniquement.</p> <p>Retrait du HiSeq X de la liste des flux de travail requérant que des primers se trouvent à la position des primers. La barrette de huit tubes contenant des réactifs ExAmp et une librairie dans le flux de travail HiSeq X est chargée à la position des modèles.</p> <p>Ajout du nom de la formule utilisée avec la Flow Cell rapide et la trousse TruSeq Rapid Duo Sample Loading aux formules cBot et aux types de Flow Cell.</p> <p>Modification de la fréquence périodique de maintenance pour le lavage de maintenance mensuel.</p> <p>Correction des titres des documents à la section Ressources supplémentaires.</p> <p>Mise à jour de l'adresse URL pour les fiches signalétiques (SDS) : <a href="http://support.illumina.com/sds.html">support.illumina.com/sds.html</a>.</p>
Référence n° 15006165 Rév. L	Avril 2014	<p>Mise à jour concernant le logiciel cBot v2.0 pour mentionner qu'il permet l'utilisation des troussees HiSeq v4 et HiSeq X.</p> <p>Ajout de renseignements au flux de travail sur l'utilisation des Flow Cell HiSeq v4 et HiSeq X.</p> <p>Retrait de la procédure sur la dénaturation des librairies et la préparation d'un contrôle PhiX. Consultez le document <i>Dénaturation et dilution de librairies pour les systèmes HiSeq et GAlx (référence n° 15050107)</i>.</p> <p>Retrait des directives de préparation des réactifs. Pour obtenir les directives sur la préparation des réactifs, dont les renseignements sur les primers de séquençage, consultez la documentation de la trousse.</p> <p>Retrait des renseignements sur la préparation du site et l'installation. Consultez le <i>Guide d'installation et de préparation du site du système cBot (référence n° 15053710)</i>.</p>
Référence n° 15006165 Rév. K	Octobre 2012	Ajout de renseignements sur l'hybridation de modèle sur la Flow Cell TruSeq Rapid.
Référence n° 15006165 Rév. J	Juillet 2012	Ajout des exigences relatives aux primers de séquençage pour les librairies à index double TruSeq HT.
Référence n° 15006165 Rév. H	Avril 2012	<p>Mise à jour des renseignements sur le séquençage de librairies à index double.</p> <p>Ajout des procédures suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• les directives sur la préparation des réactifs, y compris pour la préparation du HP10;</li> <li>• la procédure de réhybridation des primers.</li> </ul>
Référence n° 15006165 Rév. G	Octobre 2011	Ajout d'une nouvelle section intitulée <i>Modifications relatives au séquençage à index double</i> .

Document	Date	Description des modifications
Référence n° 15006165 Rév. F	Juin 2011	Mise à jour des procédures de préparation de modèles d'ADN pour ajouter les directives concernant des concentrations plus élevées, et ajout d'une remarque au sujet de la concentration élevée du NaOH.
Référence n° 15006165 Rév. E	Avril 2011	Mise à jour des descriptions de logiciel pour la version 1.4 du logiciel cBot. Ajout des renseignements suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>• trousse d'amplifiats TruSeq v3 et numéro de référence;</li> <li>• description de l'angle sectionné comme repère visuel lors du chargement de la Flow Cell HiSeq v3;</li> <li>• nouvelle section intitulée <i>Compatibilité des versions des composants de l'analyse</i> qui contient la liste des logiciels compatibles et des versions de formules pour divers types de Flow Cell.</li> </ul> Modification à 2 nmol de la concentration recommandée pour le stockage du modèle d'ADN et ajustement du protocole de préparation de l'ADN pour préciser l'utilisation d'un modèle à 2 nmol.
Référence n° 15006165 Rév. D	Octobre 2010	Mise à jour des descriptions de logiciel pour la version 1.3 du logiciel cBot. Ajout des renseignements suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>• les densités d'amplifiats recommandées en fonction de la version du logiciel d'analyse;</li> <li>• les directives de mise à niveau du logiciel;</li> <li>• les directives pour récupérer une analyse.</li> </ul>
Référence n° 15006165 Rév. C	Mai 2010	Mise à jour des descriptions de logiciel pour la version 1.1 du logiciel cBot. Ajout d'une recommandation concernant le stockage de Flow Cell. Augmentation du volume à 12 ml pour le lavage à eau et à 10 ml pour le DECON.
Référence n° 15006165 Rév. B	Mars 2010	Correction des directives de centrifugation pour la décongélation de la plaque des réactifs. Ajout des renseignements suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>• les directives de chargement de la Flow Cell HiSeq, des modèles associés et des primers;</li> <li>• les directives d'installation de la plaque d'adaptateur;</li> <li>• les numéros de référence et les descriptions des trousseaux HiSeq Cluster Generation;</li> <li>• les directives d'ajustement de la date et de l'heure locale à l'onglet Time (Temps);</li> <li>• la procédure pour réaliser un lavage de maintenance mensuel.</li> </ul>
Référence n° 15006165 Rév. A	Octobre 2009	Publication originale.

# Table des matières

<b>Chapitre 1 Vue d'ensemble</b> .....	<b>1</b>
Introduction .....	1
Ressources supplémentaires .....	2
Composants de l'instrument cBot .....	2
Consommables Illumina .....	5
Plaques des réactifs cBot .....	7
<b>Chapitre 2 Pour commencer</b> .....	<b>9</b>
Démarrer l'instrument cBot .....	9
Compatibilité des versions des composants de l'analyse .....	10
Consommables fournis par l'utilisateur .....	10
<b>Chapitre 3 Préparation des réactifs</b> .....	<b>12</b>
Introduction .....	12
Flow Cell HiSeq X .....	12
Flow Cell HiSeq 3000/4000 .....	16
Flow Cell HiSeq à débit élevé .....	20
Flow Cell HiSeq Rapid .....	21
<b>Chapitre 4 Génération d'amplifiats</b> .....	<b>22</b>
Introduction .....	22
Flux de travail de la génération d'amplifiats .....	22
Effectuer un lavage avant analyse .....	23
Sélectionner un protocole .....	24
Charger des consommables .....	24
Effectuer une vérification avant analyse .....	28
Surveiller l'analyse .....	28
Décharger les composants de l'analyse .....	29
Réaliser un lavage après analyse .....	31
Confirmer la distribution des réactifs (facultatif) .....	31
<b>Chapitre 5 Maintenance</b> .....	<b>33</b>
Réaliser la maintenance périodique .....	33
Lavage de maintenance mensuel .....	34
Changer la plaque d'adaptateur .....	35
Mettre à niveau le logiciel .....	36
Mettre à niveau les formules .....	37
Arrêter l'instrument cBot .....	38
<b>Annexe A Dépannage</b> .....	<b>40</b>
Mettre en pause ou annuler une analyse .....	40
Dépannage de l'échec de la vérification du flux .....	40
Résoudre les problèmes d'analyse .....	43
Réinitialiser le lecteur de codes à barres .....	43
Modification des protocoles .....	44
<b>Index</b> .....	<b>46</b>
<b>Assistance technique</b> .....	<b>49</b>

# Chapitre 1 Vue d'ensemble

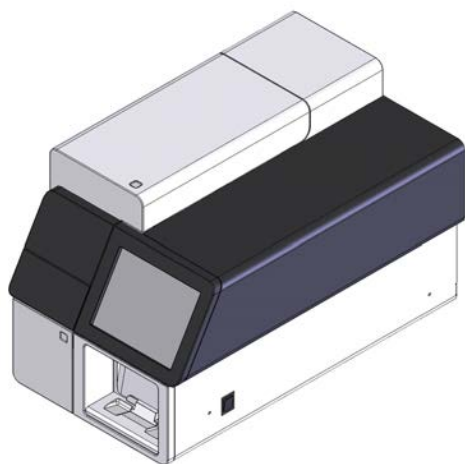
Introduction .....	1
Ressources supplémentaires .....	2
Composants de l'instrument cBot .....	2
Consommables Illumina .....	5
Plaques des réactifs cBot .....	7

## Introduction

Le système cBot utilise une amplification afin de créer simultanément des centaines de millions de modèles d'ADN à molécule unique.

Le logiciel cBot distribue les réactifs et contrôle les délais de réaction, les débits des flux et les températures. La configuration et l'utilisation se déroulent sur instrument depuis l'interface du logiciel cBot à l'aide de l'écran tactile. Un lecteur de codes à barres sur instrument enregistre les réactifs et la Flow Cell utilisés pour chaque expérience.

Figure 1 cBot



Plusieurs trousse d'amplifiats peuvent être utilisées sur l'instrument cBot. Choisissez une trousse compatible avec l'instrument de séquençage et le type d'analyse de séquençage à effectuer. Pour obtenir la liste de trousse offertes, consultez la section [Consommables Illumina](#) à la page 5.



## Ressources supplémentaires

La documentation suivante est disponible en téléchargement sur le site Web d'Illumina.

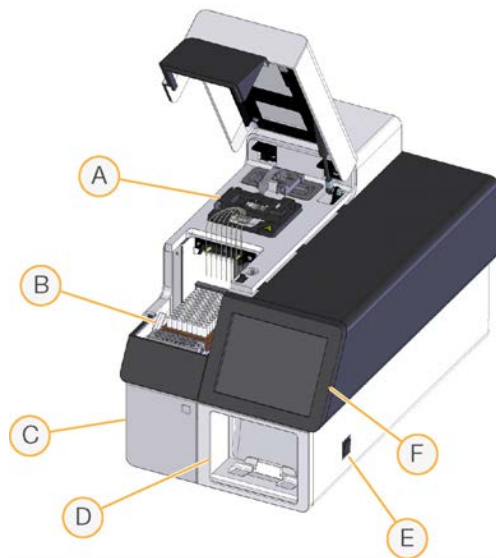
Ressource	Description
<i>Guide de préparation du site du système cBot (document n° 15053710)</i>	Fournit les spécifications relatives à l'espace de laboratoire, aux exigences électriques et aux considérations environnementales, ainsi que les directives de configuration de l'instrument.
<i>Brochure de sécurité et de conformité cBot (référence n° 15012615)</i>	Fournit des renseignements concernant l'étiquetage de l'instrument, les certifications de conformité et les questions de sécurité.
<i>Guide de dénaturation et de dilution de bibliothèques des systèmes HiSeq (document n° 15050107)</i>	Fournit des directives pour la dénaturation et la dilution de bibliothèques préparées avant le séquençage ainsi que pour la préparation d'un contrôle PhiX. Cette étape s'applique à la plupart des types de bibliothèques et des Flow Cell.

Consultez la page d'aide du système cBot sur le site Web d'Illumina pour accéder à la documentation, aux téléchargements de logiciels, à la formation en ligne et aux foires aux questions.

## Composants de l'instrument cBot

L'instrument cBot utilise des capteurs pour détecter la présence des composants de l'analyse et vous prévient si un composant est manquant ou installé incorrectement. La platine thermique et la platine des réactifs sont situées sous le couvercle de l'instrument cBot. Pour des raisons de sécurité, le logiciel de l'instrument vous demande de fermer le couvercle avant de continuer l'analyse.

Figure 2 Composants de l'instrument cBot



- A **Platine thermique** : la platine thermique contient la Flow Cell et contrôle sa température au cours de l'analyse.
- B **Platine des réactifs** : la platine des réactifs contient la plaque des réactifs, les modèles de bibliothèques et les primers de spécialité du cBot.

- C **Compartiment du flacon à déchets** : le compartiment du flacon à déchets contient un flacon à déchets contrôlé par détecteur qui recueille les réactifs usagés.
- D **Lecteur de codes à barres** : le lecteur de codes à barres enregistre l'identifiant unique de la plaque des réactifs et de la Flow Cell utilisées à chaque analyse.
- E **Interrupteur d'alimentation** : met en marche l'instrument. Le bouton de démarrage, situé sur la gauche du compartiment du flacon à déchets, démarre le logiciel de l'instrument.
- F **Écran tactile** : l'écran tactile permet de configurer une analyse sur instrument et d'obtenir un rapport visuel sur le processus de génération d'amplifiats.

## Platine thermique

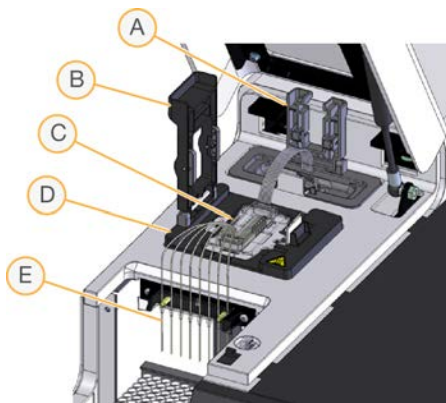
La platine thermique contient la Flow Cell ainsi que le collecteur placé au-dessus de la Flow Cell. La pince verrouille la Flow Cell et le collecteur en place.



### AVERTISSEMENT

Ne touchez jamais au bloc thermique en aluminium situé sur la platine thermique. Tout contact avec le réchauffeur pendant son fonctionnement peut provoquer des brûlures graves. Pour en savoir plus sur la sécurité, consultez la *brochure de sécurité et de conformité du système cBot (document n° 15012615)*.

Figure 3 Platine thermique



- A Pince de sortie
- B Pince de Flow Cell
- C Flow Cell et collecteur
- D Platine thermique
- E Peigne d'aspiration

Le collecteur est un composant à usage unique qui distribue les réactifs provenant de la plaque des réactifs à la Flow Cell. Les dispositifs d'aspiration du peigne percent les tubes de réactifs recouverts d'un opercule en aluminium qui se trouvent sur la plaque des réactifs. L'extrémité de sortie du collecteur transfère les déchets vers le contenant à déchets. La pince de sortie maintient l'extrémité de sortie du collecteur à sa place.

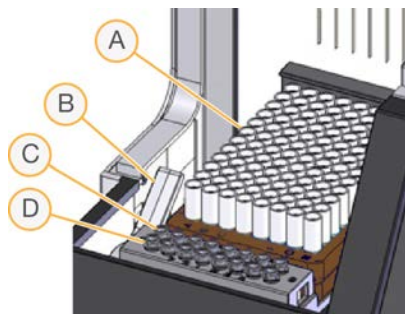
## Plaques d'adaptateur de Flow Cell

Le système cBot effectue une génération d'amplifiats sur des Flow Cell HiSeq. Lors du passage d'un type de Flow Cell à un autre, changez la plaque d'adaptateur sur la platine de Flow Cell. Pour de plus amples renseignements, consultez la section *Changer la plaque d'adaptateur à la page 35*.

## Platine des réactifs

La platine des réactifs contient la plaque des réactifs cBot. Le levier de la plaque des réactifs maintient en place la platine. Deux supports de barrettes de huit tubes situés devant la plaque des réactifs contiennent les modèles de bibliothèques préparés ainsi que des primers supplémentaires.

Figure 4 Platine des réactifs cBot



- A Plaque des réactifs cBot
- B Levier de la plaque des réactifs
- C Rangée du modèle
- D Rangée du primer

## Logiciel cBot










L'interface du logiciel cBot génère des invites destinées à configurer l'instrument et à surveiller la progression de la génération d'amplifiats. Durant une analyse de génération d'amplifiats, les écrans suivants sont utilisés : l'écran Start (Démarrer), les écrans Run Setup (Configuration de l'analyse), et l'écran Run Status (État de l'analyse).

À l'aide de l'interface du logiciel, vous pouvez configurer les exigences d'entrée, les préférences de lavage, les notifications par e-mail et la surveillance à distance.

## Icônes d'état des capteurs

En bas de l'écran, les icônes d'état des capteurs indiquent si un composant est correctement installé et prêt pour l'analyse.

Icône	Indication
	Plaque d'adaptateur de Flow Cell GALx installée.*
	Plaque d'adaptateur de Flow Cell HiSeq installée.
	Type de plaque d'adaptateur de Flow Cell inconnu.
	Le couvercle de l'instrument est ouvert.
	Le couvercle de l'instrument est fermé.

Icône	Indication
	Le flacon à déchets est en place et prêt à l'emploi.
	Le flacon à déchets est plein.
	Le flacon à déchets est manquant.
	Le réfrigérant circule et le niveau de réfrigérant est bon.
	Avertissement : le réfrigérant circule, mais le niveau de réfrigérant est bas.
	Erreur : le réfrigérant ne circule pas, mais le niveau de réfrigérant est bon.
	Erreur : le réfrigérant ne circule pas et le niveau de réfrigérant est bas.
	Le collecteur est chargé et le peigne d'aspiration est en place.
	Le collecteur est manquant ou le peigne d'aspiration n'est pas en place.

\* Cette option est visible, mais elle n'est plus prise en charge.

## Configuration

Utilisez l'interface du logiciel pour configurer les paramètres du système, les exigences d'entrée et les préférences de lavage. En utilisant une connexion réseau, vous pouvez activer la surveillance à distance, les alertes par courriel et la prise en charge de LIMS. Vous pouvez modifier ces réglages au besoin, avant le début de chaque analyse.

Pour obtenir des instructions sur la configuration, consultez le *Guide de configuration du système cBot* (document n° 1000000005301).

## Consommables Illumina

Les réactifs cBot sont fournis dans une plaque de réactifs qui les charge directement sur l'instrument après décongélation. Les plaques des réactifs cBot sont fournies avec les trousse d'Illumina suivantes :

La description du contenu des trousse et les autres documents relatifs aux trousse sont disponibles à [la page d'assistance du cBot](#) sur le site Web d'Illumina. Pour obtenir des instructions sur la préparation des réactifs, consultez la section *Préparation des réactifs* à la page 12.

## Trousses d'amplifiats pour le HiSeq

Chaque trousse contient une Flow Cell HiSeq, un collecteur spécifique à celle-ci et les réactifs requis pour y générer des amplifiats dans le cBot.

Nom de la trousse	N° de référence de la trousse
Trousse d'amplifiats à lecture unique HiSeq 3000/4000	N° de référence GD-410-1001
Trousse d'amplifiats à lecture appariée HiSeq 3000/4000	N° de référence PE-410-1001
Trousse d'amplifiats à lecture unique HiSeq v4	N° de référence GD-401-4001
Trousse d'amplifiats à lecture appariée HiSeq v4	N° de référence PE-401-4001
Trousse d'amplifiats à lecture unique TruSeq v3 - HS	N° de référence GD-401-3001
Trousse d'amplifiats à lecture appariée TruSeq v3 - HS	N° de référence PE-401-3001
Trousse de chargement d'échantillon cBot double rapide HiSeq	N° de référence CT-403-2001

## Trousses d'amplifiats pour le HiSeq X

Chaque trousse contient plusieurs Flow Cell HiSeq X, des collecteurs spécifiques à celles-ci et les réactifs requis pour générer des amplifiats sur chaque Flow Cell dans le système cBot. Les trousse Single-pack contiennent des consommables pour la génération d'amplifiats sur deux Flow Cell et les trousse 10-pack contiennent des consommables pour la génération d'amplifiats sur 20 Flow Cell.

Nom de la trousse	N° de référence de la trousse
Trousse de réactifs HiSeq X Ten v2.5	N° de référence FC-501-2501
Trousse de réactifs HiSeq X Ten v2.5 (10-pack)	N° de référence FC-501-2521
Trousse de réactifs HiSeq X Five v2.5	N° de référence FC-502-2501
Trousse de réactifs HiSeq X Five v2.5 (10-pack)	N° de référence FC-502-2102

## Trousses de réhybridation

Utilisez une trousse de réhybridation cBot pour effectuer une réhybridation du primer de la lecture 1 lors de la récupération d'une analyse ou après un stockage prolongé de la Flow Cell.

Nom de la trousse	N° de référence
Trousse de réhybridation multiprimers HiSeq X cBot v2	N° de référence GD-305-2001
Trousse de réhybridation multiprimers HiSeq 3000/4000 cBot	N° de référence GD-310-1001
Trousse de réhybridation multiprimers TruSeq cBot v2	N° de référence GD-304-2001
Trousse de réhybridation multiprimers HiSeq <sup>MD</sup> v4	N° de référence GD-403-4001

Pour plus de renseignements, consultez le guide de réhybridation pour votre Flow Cell :

- ▶ HiSeq X : *réhybridation du primer de la lecture 1 sur une Flow Cell HiSeq X (document n° 15053711)*
- ▶ HiSeq 3000/4000 : *réhybridation du primer de la lecture 1 sur une Flow Cell HiSeq 3000/4000 (document n° 15058794)*
- ▶ TruSeq v3 : *réhybridation du primer de la lecture 1 sur une Flow Cell TruSeq v3 (document n° 15018149)*

## Primer de séquençage de la lecture 1 pour les bibliothèques Nextera

Le primer de séquençage de la lecture 1 (HP6) fourni dans les trousse suivantes n'est pas compatible avec les bibliothèques Nextera :

- ▶ Trousse d'amplifiats TruSeq v3 – HS

Si vous séquencez des bibliothèques Nextera, utilisez le primer de séquençage de la lecture 1 (HP10), quel que soit le type d'analyse que vous réalisez. Le primer HP10 est fourni dans la TruSeq Dual Index Sequencing Primer Box (boîte de primers de séquençage à index double TruSeq).

Nom de la trousse	N° de référence
Boîte de primers de séquençage à index double TruSeq, lecture unique	N° de référence FC-121-1003
Boîte de primers de séquençage à index double TruSeq, lecture appariée	N° de référence PE-121-1003


Toutes les autres trousse cBot comprennent le primer HP10, qui est compatible avec les bibliothèques TruSeq et Nextera.

## Plaques des réactifs cBot

La configuration de la plaque des réactifs varie selon les types de trousse, y compris le nombre de rangées contenant les réactifs.

Chaque barrette de huit tubes porte une étiquette indiquant le nom du réactif suivi d'un numéro. Le numéro indique la rangée qu'occupe le réactif sur la plaque des réactifs. Si une barrette de huit tubes est délogée, utilisez le numéro de rangée inscrit sur l'étiquette pour remettre la barrette de tubes à la position appropriée.

Type de Flow Cell	Description de la plaque des réactifs
HiSeq X et HiSeq 3000/4000	Contient 12 rangées, chacune composée de huit puits profonds. Chaque réactif occupe une rangée complète de huit puits. Les rangées ne contiennent pas toutes des réactifs.
	
HiSeq à débit élevé (HiSeq v4)	Contient 12 rangées, chacune composée de huit puits profonds. Chaque réactif occupe une rangée complète de huit puits. Les rangées ne contiennent pas toutes des réactifs. Les rangées 9 à 12 sont vides.
	
HiSeq à débit élevé (TruSeq v3)	Contient 11 rangées de barrettes de huit tubes recouverts d'un opercule en aluminium et remplis de réactifs de génération d'amplifiats. La rangée 12 est vide.
	

Type de Flow Cell	Description de la plaque des réactifs
HiSeq Rapid	<p>Contient 12 rangées, chacune composée de huit puits profonds. Les trois premières rangées contiennent des réactifs d'hybridation de modèle et de première extension. Les rangées 4 à 12 sont vides.</p> 



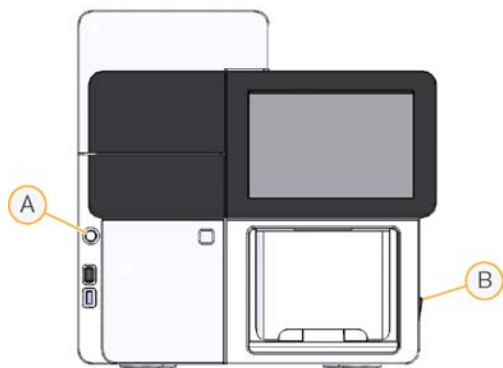
#### AVERTISSEMENT

À l'exception de la plaque des réactifs utilisée avec HiSeq Rapid, ces ensembles de réactifs contiennent du formamide, un amide aliphatique constituant probablement une toxine reproductrice. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Mettez au rebut les contenants et tout contenu inutilisé conformément aux normes de sécurité gouvernementales en vigueur dans votre région. Pour plus de renseignements, consultez la fiche signalétique de cette trousse, mise à votre disposition sur [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

# Chapitre 2 Pour commencer

Démarrer l'instrument cBot .....	9
Compatibilité des versions des composants de l'analyse .....	10
Consommables fournis par l'utilisateur .....	10

## Démarrer l'instrument cBot



- A Bouton de démarrage
- B Bouton d'alimentation

- 1 Mettez le bouton d'alimentation situé sur le côté droit de l'instrument en position ON (Marche).
- 2 Appuyez sur le bouton de démarrage situé à gauche du compartiment du flacon à déchets pour démarrer le logiciel.  
Une fois la routine de démarrage terminée, l'écran Start (Démarrer) s'ouvre.



## Compatibilité des versions des composants de l'analyse

Pour des performances et des résultats optimaux, utilisez toujours des versions compatibles du logiciel et des troussees cBot.

Version de la trousse	Version de la formule	Version du logiciel
Trousse d'amplifiats HiSeq 3000/4000	Formules version 1.0	cBot v3.0.46 ou ultérieure (trousse à lecture unique) cBot v2.0.34 ou ultérieure (version à lecture appariée)
Trousse de réactifs HiSeq X Ten v2.5	Formules version 2.0	cBot v2.0.29 ou ultérieure
Trousse de réactifs HiSeq X Five v2.5	Formules version 2.0	cBot v2.0.29 ou ultérieure
Trousse d'amplifiats HiSeq v4	Formules version 9.0	cBot v2.0.16 ou ultérieure
Trousse de chargement d'échantillon cBot double rapide HiSeq	Formules version R	cBot v1.5 ou ultérieure
Boîte de primers de séquençage à index double TruSeq	Formules version 8.0 (HiSeq) Formules version 7.0 (GA)	cBot v1.4.36 ou ultérieure
Trousse d'amplifiats TruSeq v3 – HS	Formules version 8.0	cBot v1.4 ou ultérieure
Trousse d'amplifiats TruSeq v2 – GA*	Formules version 7.0	cBot v1.3 ou ultérieure

\* Cette option est visible, mais elle n'est plus prise en charge.

## Types de Flow Cell et de formules cBot

Flow Cell	Nom de la formule principale
Flow Cell HiSeq 3000/4000 structurée	HiSeq_3000_4000_SR_HD_Exclusion_Amp_v1.0 HiSeq_3000_4000_HD_Exclusion_Amp_v1.0
Flow Cell HiSeq X Ten v2.5 structurée	HiSeq_X_HD_Exclusion_Amp_v2.0
Flow Cell HiSeq X Five v2.5 structurée	HiSeq_X_HD_Exclusion_Amp_v2.0
Flow Cell HiSeq v4	SR_HiSeq_Cluster_Kit_v4_cBot_recipe_v9.0 PE_HiSeq_Cluster_Kit_v4_cBot_recipe_v9.0
Flow Cell TruSeq v3	SR_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v8.0 PE_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v8.0 SR_Amp_Lin_Block_Hyb_v8.0 PE_Amp_Lin_Block_Hyb_v8.0
Flow Cell rapide HiSeq v2	RR_TemplateHyb_FirstExt_vR <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniquement utilisé avec les troussees doubles rapides.

## Consommables fournis par l'utilisateur

Les consommables fournis par l'utilisateur suivants sont utilisés pour la préparation des réactifs de génération d'amplifiats fournis dans les troussees HiSeq X<sup>MD</sup> et HiSeq<sup>MD</sup> 3000/4000.

Les troussees HiSeq X et HiSeq 3000/4000 nécessitent une étape de dénaturation avant la génération d'amplifiats sur l'instrument cBot. À l'aide de ces troussees, les librairies sont dénaturées dans la barrette de huit tubes avant l'ajout du mélange de réaction ExAmp.

Composant	Fournisseur	Utilisation
NaOH 1 N	Fournisseur de laboratoire général	Dénaturation de librairies
Barrettes de huit bouchons, plates	Fisher Scientific, n° de référence AB-0784	Bouchage des barrettes de huit tubes lorsqu'elles ne sont pas chargées dans l'instrument cBot
Barrettes de huit tubes, 0,2 ml	Fisher Scientific, n° de référence AB-0264	Mélange de réaction ExAmp et de librairies sur le cBot
Eau de laboratoire	Millipore ou fournisseur de laboratoire général	Dénaturation de librairies
Tubes de microcentrifugeuse, 1,5 ml	VWR, n° de référence 20170-038*	Préparation du mélange principal de réaction ExAmp

\* ou équivalent

# Chapitre 3 Préparation des réactifs

Introduction .....	12
Flow Cell HiSeq X .....	12
Flow Cell HiSeq 3000/4000 .....	16
Flow Cell HiSeq à débit élevé .....	20
Flow Cell HiSeq Rapid .....	21

## Introduction

Les instructions de préparation des réactifs dépendent de la trousse de réactifs que vous utilisez. Les instructions sont organisées par type de Flow Cell et portent sur les Flow Cell HiSeq X, HiSeq 3000/4000, HiSeq à débit élevé et HiSeq rapide.

Après la préparation, les réactifs de génération d'amplifiats sont prêts à être chargés sur l'instrument cBot à la demande du logiciel.

## Pratiques exemplaires

- ▶ Portez une nouvelle paire de gants lors de la préparation des réactifs de génération d'amplifiats.
- ▶ Ne retirez pas le couvercle de protection en plastique transparent de la plaque des réactifs tant que vous n'êtes pas prêt à charger les réactifs sur l'instrument cBot. Veillez à ne jamais perforer les opercules en aluminium.
- ▶ Tenez les plaques de réactifs contenant des barrettes de huit tubes par la base de la plaque, afin d'éviter de déloger les tubes de réactifs. Vérifiez que les tubes sont bien en place dans la plaque des réactifs avant d'avoir mélangé les réactifs par agitateur vortex ou retourné la plaque des réactifs et après ces actions. Des tubes mobiles peuvent endommager le collecteur de l'instrument cBot.
- ▶ Pour la génération d'amplifiats sur une Flow Cell HiSeq X ou HiSeq 3000/4000, préparez **toujours** du NaOH nouvellement dilué pour dénaturer les librairies. Cette étape est essentielle au processus de dénaturation. Pour éviter les petites erreurs de pipetage, préparez au moins 1 ml de NaOH 0,1 N nouvellement dilué.

## Flow Cell HiSeq X

Préparez la Flow Cell structurée HiSeq X, puis les réactifs de génération d'amplifiats. Pour préparer les réactifs de génération d'amplifiats, décongelez la plaque des réactifs cBot et préparez le mélange principal ExAmp.

Si vous utilisez la trousse 10-pack, préparez quatre Flow Cell et décongelez quatre plaques de réactifs cBot. Veillez à ce que quatre instruments cBot soient disponibles. Les réactifs ne peuvent pas être stockés après la préparation.

## À propos des réactifs

- ▶ Les réactifs ExAmp sont visqueux, en particulier EPX2 et EPX3. Aspirez et distribuez les réactifs lentement pour assurer la précision du pipetage.
- ▶ Le réactif EPX3 ne bouge pas lorsqu'il est inversé en raison de sa viscosité.
- ▶ **N'agitez jamais** les réactifs ExAmp et ne les recongelez pas après les avoir décongelés.
- ▶ Le mélange principal ExAmp peut être trouble, ce qui est normal. Si la solution se sépare en une partie trouble et une partie transparente, pipettez-la lentement pour la mélanger.

## Préparation de la Flow Cell

- 1 Sortez un nouvel emballage de Flow Cell du lieu de stockage à une température maintenue entre 2 et 8 °C.
- 2 Laissez l'emballage de la Flow Cell à température ambiante pendant au moins 30 minutes.



### REMARQUE

Si l'emballage en papier aluminium est intact, la Flow Cell peut rester à température ambiante durant 12 heures. Vous pouvez remettre la Flow Cell emballée au stockage à 2 à 8 °C pour une utilisation ultérieure une seule fois. Évitez de réchauffer et refroidir répétitivement la Flow Cell.

- 3 Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
- 4 Retirez l'emballage en aluminium en partant de l'extrémité, à l'aide de l'opercule angulaire. Utilisez la Flow Cell dans les 4 heures suivant l'ouverture de l'emballage en aluminium.

**Figure 5** Ouverture de l'emballage de la Flow Cell



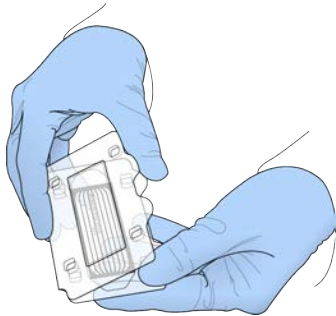
- 5 Sortez l'emballage double coque de l'emballage en aluminium.

**Figure 6** Retrait de l'emballage en aluminium



- 6 Ouvrez l'emballage double coque et sortez la Flow Cell.

**Figure 7** Retrait de la Flow Cell de l'emballage double coque



- 7 Nettoyez la Flow Cell avec un chiffon non pelucheux imbibé d'alcool.
- 8 Séchez à l'aide d'un tissu non pelucheux.
- 9 Réservez à température ambiante.

## Décongélation de la plaque des réactifs cBot

- 1 Retirez la plaque des réactifs du cBot de son lieu de stockage à une température entre -25 et -15 °C.
- 2 Décongelez dans un bain d'eau à température ambiante (19 à 25 °C) pendant au moins 60 minutes. Les plaques des réactifs doivent être utilisées le jour même où elles sont décongelées.

## Décongélation des réactifs EPX1, EPX2, EPX3 et RSB

- 1 Retirez un tube de chacun des réactifs suivants de leur lieu de stockage entre -25 et -15 °C.
  - ▶ **Trousse single-pack** : EPX1, EPX2, EPX3 et RSB. Chaque tube contient suffisamment de réactifs pour une Flow Cell.
  - ▶ **Trousse 10-pack** : EPX1M, EPX2M, EPX3M et RSB. Chaque tube contient suffisamment de réactifs pour quatre Flow Cell.
- 2 Décongelez à température ambiante pendant 10 minutes.
- 3 Réservez sur de la glace.

## Préparer une nouvelle dilution de NaOH

- 1 Combinez les volumes suivants dans un tube de microcentrifugeuse :
  - ▶ Eau de laboratoire (900 µl)
  - ▶ NaOH 1 N en stock (100 µl)Ces volumes permettent d'obtenir 1 ml de NaOH 0,1 N.
- 2 Inversez pour mélanger.

## Dénaturer des bibliothèques et ajouter un contrôle PhiX facultatif

La concentration de chargement d'une bibliothèque dépend de la bibliothèque à séquencer. Les instructions suivantes s'appliquent aux bibliothèques d'ADN Nano TruSeq (350 pb) ou d'ADN sans PCR TruSeq (350 pb). Diluez à une concentration appropriée pour le type de bibliothèque.

- ▶ Une concentration de chargement d'ADN trop élevée entraîne une réduction du %PF.

- ▶ Une trop faible concentration de chargement d'ADN entraîne une réduction du %PF ainsi qu'un pourcentage élevé de doublons qui affecte négativement la profondeur de couverture.

Répétez les instructions suivantes pour chaque Flow Cell à séquencer.

- 1 Diluez la librairie ou le groupement de librairies à la concentration appropriée :
  - ▶ **Librairies d'ADN Nano TruSeq** : diluez en une solution de 2 à 3 nM dans la solution RSB.
  - ▶ **Librairies d'ADN sans PCR TruSeq** : diluez en une solution de 1 à 2 nM dans la solution RSB.
- 2 **[Facultatif]** Préparez des librairies *non dénaturées* en y ajoutant une substance de contrôle PhiX d'Illumina *non dénaturée* dans un rapport de 1 % :
  - ▶ **Librairies d'ADN Nano TruSeq** : ajoutez 0,5 µl de contrôle PhiX de 2 à 3 nM à 50 µl d'une librairie de 2 à 3 nM.
  - ▶ **Librairies d'ADN sans PCR TruSeq** : ajoutez 0,5 µl de contrôle PhiX de 1 à 2 nM à 50 µl d'une librairie de 1 à 2 nM.
- 3 Étiquetez de 1 à 8 les tubes de la barrette de huit tubes.
- 4 Dénaturez la librairie dans la barrette de huit tubes comme suit :
  - a Ajoutez 5 µl de librairie *non dénaturée* au fond de chaque puits.
  - b Ajoutez 5 µl de NaOH 0,1 N nouvellement dilué. Pipettez lentement pour mélanger.
  - c Incubez à température ambiante pendant huit minutes.
  - d Ajoutez 5 µl de Tris-HCl 200 mM pH 8,0. Pipettez lentement pour mélanger.
- 5 Réservez sur la glace jusqu'à ce que vous soyez prêt à ajouter le mélange principal ExAmp.



#### ATTENTION

Préparez et ajoutez le mélange principal ExAmp dans un délai de **30 minutes**.

## Préparer la plaque des réactifs cBot

- 1 Inversez pour mélanger.
- 2 Agitez pour déloger les éventuelles bulles d'air piégées.
- 3 Tapotez sur une surface dure pour recueillir les gouttelettes de réactif. Vous pouvez également passer la plaque à la centrifugeuse à impulsions.
- 4 Préservez sur la glace.

## Préparer la réaction ExAmp

Préparez le mélange principal de la réaction ExAmp immédiatement avant utilisation. Suivez les instructions appropriées pour le nombre de Flow Cell que vous préparez.

### Réaction ExAmp pour une Flow Cell (trousse Single-pack)

- 1 Inversez les réactifs EPX1 et EPX2 pour les mélanger.
- 2 Centrifugez brièvement les réactifs EPX1, EPX2 et EPX3.
- 3 Préparez le mélange principal ExAmp dans un tube de 1,5 ml comme suit :
  - a Ajoutez 210 µl du réactif EPX1.
  - b Ajoutez 30 µl du réactif EPX2. Pipettez lentement pour mélanger.
  - c Ajoutez 110 µl du réactif EPX3. Pipettez lentement pour mélanger.

- d Assurez-vous que le fond du tube est exempt de bulles.
- 4 Ajoutez 35 µl du mélange principal au fond de chaque puits de la barrette de huit tubes.
    - ▶ Pipettez lentement pour mélanger.
    - ▶ Changez les pointes entre les échantillons.
  - 5 Centrifugez brièvement, puis réservez-la sur la glace pendant jusqu'à 15 minutes, jusqu'à ce que vous soyez prêt à charger l'instrument cBot.

## Réaction ExAmp pour quatre Flow Cell (trousse 10-pack)

- 1 Renversez le EPX1M et le EPX2M pour les mélanger.
- 2 Centrifugez brièvement les réactifs EPX1M, EPX2M et EPX3M.
- 3 Préparez le mélange principal ExAmp dans un tube de 1,5 ml comme suit :
  - a Ajoutez 756 µl du réactif EPX1M.
  - b Ajoutez 108 µl du réactif EPX2M. Pipettez lentement pour mélanger.
  - c Ajoutez 396 µl du réactif EPX3M. Pipettez lentement pour mélanger.
  - d Assurez-vous que le fond du tube est exempt de bulles.
- 4 Ajoutez 35 µl du mélange principal au fond de chaque puits des barrettes de huit tubes.
  - ▶ Pipettez lentement pour mélanger.
  - ▶ Changez les pointes entre les échantillons.
- 5 Centrifugez brièvement la barrette de huit tubes, puis réservez-la sur la glace pendant jusqu'à 15 minutes, jusqu'à ce que vous soyez prêt à charger l'instrument cBot.

## Flow Cell HiSeq 3000/4000

Préparez la Flow Cell structurée HiSeq 3000/4000, puis les réactifs de génération d'amplifiats. Pour préparer les réactifs de génération d'amplifiats, décongelez la plaque des réactifs cBot et préparez le mélange réactif principal ExAmp.

### À propos des réactifs

- ▶ Les réactifs ExAmp sont visqueux, en particulier EPX2 et EPX3. Aspirez et distribuez les réactifs lentement pour assurer la précision du pipetage.
- ▶ Le réactif EPX3 ne bouge pas lorsqu'il est inversé en raison de sa viscosité.
- ▶ ***N'agitez jamais*** les réactifs ExAmp et ne les recongelez pas après les avoir décongelés.
- ▶ Le mélange principal ExAmp peut être trouble, ce qui est normal. Si la solution se sépare en une partie trouble et une partie transparente, pipettez-la lentement pour la mélanger.

### Préparation de la Flow Cell

- 1 Sortez un nouvel emballage de Flow Cell du lieu de stockage à une température maintenue entre 2 et 8 °C.
- 2 Laissez l'emballage de la Flow Cell à température ambiante pendant au moins 30 minutes.



### REMARQUE

Si l'emballage en papier aluminium est intact, la Flow Cell peut rester à température ambiante durant 12 heures. Vous pouvez remettre la Flow Cell emballée au stockage à 2 à 8 °C pour une utilisation ultérieure une seule fois. Évitez de réchauffer et refroidir répétitivement la Flow Cell.

- 3 Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
- 4 Retirez l'emballage en aluminium en partant de l'extrémité, à l'aide de l'opercule angulaire. Utilisez la Flow Cell dans les 4 heures suivant l'ouverture de l'emballage en aluminium.

**Figure 8** Ouverture de l'emballage de la Flow Cell



- 5 Sortez l'emballage double coque de l'emballage en aluminium.

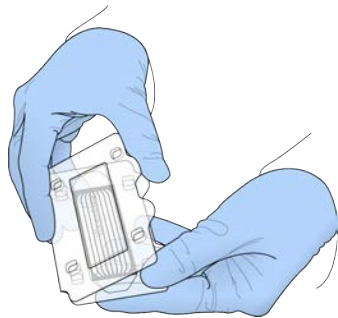
**Figure 9** Retrait de l'emballage en aluminium





- 6 Ouvrez l'emballage double coque et sortez la Flow Cell.

**Figure 10** Retrait de la Flow Cell de l'emballage double coque



- 7 Nettoyez la Flow Cell avec un chiffon non pelucheux imbibé d'alcool.
- 8 Séchez à l'aide d'un tissu non pelucheux.
- 9 Réservez à température ambiante.

## Décongélation de la plaque des réactifs cBot

- 1 Retirez la plaque des réactifs du cBot de son lieu de stockage à une température entre -25 et -15 °C.
- 2 Décongelez dans un bain d'eau à température ambiante (19 à 25 °C) pendant au moins 60 minutes. Les plaques des réactifs doivent être utilisées le jour même où elles sont décongelées.

## Décongeler les réactifs EPX1, EPX2, EPX3 et RSB

- 1 Retirez le EPX1, le EPX2, le EPX3 et le RSB de leur lieu de stockage entre -25 et -15 °C.
- 2 Décongelez à température ambiante pendant dix minutes.
- 3 Préservez sur la glace.

## Préparer une nouvelle dilution de NaOH

- 1 Combinez les volumes suivants dans un tube de microcentrifugeuse :
  - ▶ Eau de laboratoire (900 µl)
  - ▶ NaOH 1 N en stock (100 µl)Ces volumes permettent d'obtenir 1 ml de NaOH 0,1 N.
- 2 Inversez pour mélanger.

## Dénaturer des librairies et ajouter un contrôle PhiX facultatif

La concentration de chargement d'une librairie dépend de la librairie à séquencer. Les instructions suivantes s'appliquent aux librairies d'Illumina prises en charge et sous-entendent une taille d'insert type pour le type de librairie associé. Assurez-vous de diluer à une concentration appropriée au type de librairie.

- ▶ Une concentration de chargement d'ADN trop élevée entraîne une réduction du %PF.
  - ▶ Une trop faible concentration de chargement d'ADN entraîne une réduction du %PF ainsi qu'un pourcentage élevé de doublons qui affecte négativement la profondeur de couverture.
- 1 Diluez la librairie ou le groupement de librairies à la concentration appropriée.

Type de librairie	Dilution
ADN sans PCR TruSeq	Diluez à 1 à 2 nM dans la solution RSB.
ADN Flex Nextera	Diluez à 2 à 3 nM dans la solution RSB.
ADN Nano TruSeq	Diluez à 2 à 3 nM dans la solution RSB.
Exome saisie rapide Nextera	
ARN total à brins TruSeq	
ARNm à brins TruSeq	

- 2 **[Facultatif]** Préparez des librairies *non dénaturées* en y ajoutant une substance de contrôle PhiX d'Illumina *non dénaturée* dans un rapport de 1 %.

Type de librairie	Substance de contrôle
ADN sans PCR TruSeq	Ajoutez 5 µl de contrôle PhiX de 100 à 200 pM à 45 µl d'une librairie de 1 à 2 nM.
ADN Flex Nextera	Diluez à 2 à 3 nM dans la solution RSB.
ADN Nano TruSeq	Ajoutez 5 µl de contrôle PhiX de 200 à 300 pM à 45 µl d'une librairie de 2 à 3 nM.
Exome saisie rapide Nextera	
ARN total à brins TruSeq	
ARNm à brins TruSeq	

- 3 Étiquetez de 1 à 8 les nouvelles barrettes de huit tubes.
- 4 Dénaturez la librairie dans la barrette de huit tubes comme suit :
- Ajoutez 5 µl de librairie *non dénaturée* au fond de chaque puits.
  - Ajoutez 5 µl de NaOH 0,1 N nouvellement dilué. Pipettez lentement pour mélanger.
  - Incubez à température ambiante pendant huit minutes.
  - Ajoutez 5 µl de Tris-HCl 200 mM pH 8,0. Pipettez lentement pour mélanger.
- 5 Réservez sur la glace pendant un maximum de 30 minutes, jusqu'à ce que vous soyez prêt à ajouter le mélange principal ExAmp.

## Préparer la plaque des réactifs cBot

- Inversez pour mélanger.
- Agitez pour déloger les éventuelles bulles d'air piégées.
- Tapotez sur une surface dure pour recueillir les gouttelettes de réactif. Vous pouvez également passer la plaque à la centrifugeuse à impulsions.
- Préservez sur la glace.

## Préparer la réaction ExAmp

Préparez le mélange principal de la réaction ExAmp immédiatement avant utilisation.

- Inversez les réactifs EPX1 et EPX2 pour les mélanger.
- Centrifugez brièvement les réactifs EPX1, EPX2 et EPX3.
- Préparez le mélange principal ExAmp dans un tube de 1,5 ml comme suit.
  - Ajoutez 210 µl du réactif EPX1.

- b Ajoutez 30 µl du réactif EPX2. Pipettez lentement pour mélanger.
  - c Ajoutez 110 µl du réactif EPX3. Pipettez lentement pour mélanger.  
Assurez-vous que le fond du tube est exempt de bulles.
- 4 Ajoutez 35 µl du mélange principal au fond de chaque puits de la barrette de huit tubes.
  - ▶ Pipettez lentement pour mélanger.
  - ▶ Changez les extrémités entre les échantillons.
- 5 Bouchez les tubes et centrifugez-les brièvement.
- 6 Réservez sur la glace pendant un maximum de 15 minutes, jusqu'à ce que vous soyez prêt à charger l'instrument cBot.

## Flow Cell HiSeq à débit élevé

Pour préparer les réactifs, décongelez et inspectez la plaque des réactifs. Environ 60 minutes sont nécessaires pour décongeler la plaque des réactifs dans un bain d'eau à température ambiante. Vous pouvez également décongeler les réactifs à une température entre 2 et 8 °C pendant une nuit entière, sans dépasser 16 heures.



### REMARQUE

Lorsque vous agitez ou retournez la plaque des réactifs cBot, gardez une main sur le dessus des plaques.

## Décongélation de la plaque des réactifs cBot

- 1 Retirez la plaque des réactifs du cBot de son lieu de stockage à une température entre -25 et -15 °C.
- 2 Décongelez dans un bain d'eau à température ambiante (19 à 25 °C) pendant au moins 60 minutes. Les plaques des réactifs doivent être utilisées le jour même où elles sont décongelées.

## Préparation la plaque des réactifs cBot

- 1 Inversez pour mélanger.
- 2 Agitez pour déloger les éventuelles bulles d'air piégées.
- 3 Tapotez sur une surface dure pour recueillir les gouttelettes de réactif. Vous pouvez également passer la plaque à la centrifugeuse à impulsions.
- 4 **[Pour les réactifs TruSeq v3]** Assurez-vous que les tubes ne contiennent pas de bulles d'air, qu'ils sont bien en place et qu'ils sont alignés conformément à leur numérotation.
- 5 Procédez immédiatement à la configuration de l'instrument cBot.
- 6 Si vous effectuez le séquençage des bibliothèques Nextera sur une Flow Cell TruSeq v3, passez à la section *Préparer le HP10 (TruSeq v3)* avant de configurer le cBot.

## Préparer le HP10 (TruSeq v3)

Préparez le HP10 à utiliser sur le cBot uniquement lors de l'utilisation de bibliothèques Nextera sur une Flow Cell TruSeq v3. Le HP10 est également compatible avec d'autres types de bibliothèques d'Illumina.

- 1 Retirez le primer HP10 de son lieu de stockage entre -25 et -15 °C.
- 2 Décongelez-le dans un bécher contenant de l'eau désionisée à température ambiante pendant 20 minutes.

- 3 Ajoutez 150 µl de HP10 dans chacun des tubes d'une barrette de huit tubes.
- 4 Préservez sur la glace.
- 5 Procédez immédiatement à la configuration de l'instrument cBot.

## Flow Cell HiSeq Rapid

Pour préparer les réactifs, décongelez et inspectez la plaque des réactifs. Environ 60 minutes sont nécessaires pour décongeler la plaque des réactifs dans un bain d'eau à température ambiante. Vous pouvez également décongeler les réactifs entre 2 et 8 °C pendant une nuit entière, mais pas plus de 16 heures.



### REMARQUE

Lorsque vous agitez ou retournez la plaque des réactifs cBot, gardez une main sur le dessus de la plaque.

## Décongélation de la plaque des réactifs cBot

- 1 Retirez la plaque des réactifs du cBot de son lieu de stockage à une température entre -25 et -15 °C.
- 2 Décongelez dans un bain d'eau à température ambiante (19 à 25 °C) pendant au moins 60 minutes. Les plaques des réactifs doivent être utilisées le jour même où elles sont décongelées.

## Préparer la plaque des réactifs cBot

- 1 Inversez pour mélanger.
- 2 Agitez pour déloger les éventuelles bulles d'air piégées.
- 3 Tapotez sur une surface dure pour recueillir les gouttelettes de réactif. Vous pouvez également passer la plaque à la centrifugeuse à impulsions.
- 4 Procédez immédiatement à la configuration de l'instrument cBot.

# Chapitre 4 Génération d'amplifiats

Introduction .....	22
Flux de travail de la génération d'amplifiats .....	22
Effectuer un lavage avant analyse .....	23
Sélectionner un protocole .....	24
Charger des consommables .....	24
Effectuer une vérification avant analyse .....	28
Surveiller l'analyse .....	28
Décharger les composants de l'analyse .....	29
Réaliser un lavage après analyse .....	31
Confirmer la distribution des réactifs (facultatif) .....	31

## Introduction

Toutes les étapes de génération d'amplifiats sont effectuées sur le cBot, à l'exception de la préparation de bibliothèques pour le séquençage et de la préparation de la plaque des réactifs du cBot. La génération d'amplifiats pour une Flow Cell rapide consiste simplement en l'hybridation et en la première extension du modèle. Les étapes restantes sont effectuées sur l'appareil de séquençage.

La configuration de l'instrument cBot pour la génération d'amplifiats comprend les étapes de sélection d'un protocole, puis de chargement des consommables. Numériser l'entrée requise, comme les identifiants de réactif et de Flow Cell, en utilisant le lecteur de codes à barres, ou en sélectionnant l'icône du clavier et en entrant les identifiants manuellement. La saisie manuelle et l'entrée effectuées par le système sont affichées sur l'écran.

## Préparation des bibliothèques

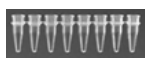
Avant de configurer le cBot pour la génération d'amplifiats, préparez les bibliothèques pour le séquençage. La procédure diffère selon le type de bibliothèque et le type de Flow Cell.

- ▶ La plupart des bibliothèques sur les Flow Cell TruSeq et HiSeq nécessitent une étape de dénaturation et de dilution. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques pour les systèmes HiSeq (document n° 15050107)*.
- ▶ Le protocole de dénaturation diffère pour les Flow Cell structurées HiSeq X et HiSeq 3000/4000. Dénaturez les bibliothèques à utiliser avec ces types de Flow Cell **uniquement** comme décrit dans les instructions de préparation des réactifs pour votre type de Flow Cell. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Préparation des réactifs* à la page 12.

## Flux de travail de la génération d'amplifiats



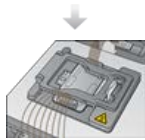
Préparez la plaque des réactifs et la Flow Cell. Consultez la section *Préparation des réactifs* à la page 12.



Préparez des bibliothèques pour le séquençage et chargez les bibliothèques dans une barrette de huit tubes.



Effectuez un lavage avant analyse.



Sélectionnez un protocole, balayez et chargez les consommables, puis chargez les barrettes de tubes contenant les librairies préparées.



Sélectionnez **Pre-Run Check** (Vérification avant analyse) pour lancer la vérification avant analyse automatisée.



Sélectionnez **Start** (Démarrer). Surveillez la progression de l'analyse sur l'écran Run Status (État de l'analyse).



Déchargez les composants de l'analyse et vérifiez la distribution des réactifs.



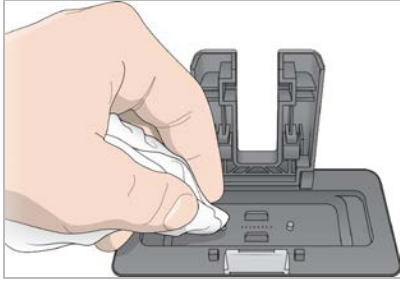
Effectuez un lavage après analyse.

## Effectuer un lavage avant analyse

Il est recommandé d'effectuer un lavage avant de générer des amplifiats sur l'instrument cBot.

- 1 Sélectionnez **User Name** (Nom d'utilisateur).
- 2 À l'aide du clavier à l'écran, tapez votre nom, puis appuyez sur la touche **Enter** (Entrée).
- 3 Sélectionnez **Start** (Démarrer).
- 4 Si la case **Manifold removed** (Collecteur retiré) n'est pas cochée sur l'écran Wash (Lavage), retirez le collecteur.
- 5 Soulevez le couvercle de l'instrument par le coin supérieur droit.
- 6 Remplissez le réservoir de lavage avec environ 12 ml d'eau désionisée.
- 7 Fermez le couvercle de l'instrument.
- 8 Cochez la case **Réservoir filled with water** (Réservoir rempli d'eau).
- 9 Sélectionnez **Wash** (Lavage).
- 10 Lorsque le lavage est terminé, épongez tout excès d'eau dans le réservoir de lavage avec un tissu non pelucheux.

**Figure 11** Sécher le réservoir de lavage



- 11 Cochez la case **Wash reservoir dry** (Réservoir de lavage sec).
- 12 Sélectionnez **Next** (Suivant).

## Sélectionner un protocole

- 1 Sélectionnez **Experiment Name** (Nom de l'expérience).
- 2 À l'aide du clavier à l'écran, tapez le nom de votre expérience, puis appuyez sur la touche **Enter** (Entrée).
- 3 Sélectionnez la formule qui convient à votre expérience dans la liste des protocoles. Faites défiler la liste pour voir tous les protocoles disponibles.
- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant).

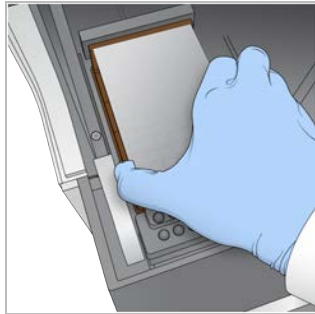
## Charger des consommables

Le logiciel vous guide à travers les étapes de chargement de la plaque des réactifs du cBot, de la Flow Cell, du collecteur du cBot et des barrettes de huit tubes contenant les bibliothèques préparées. Selon le protocole de génération d'amplifiats que vous avez choisi, le logiciel peut vous inviter à charger une barrette de huit tubes contenant des primers supplémentaires.

### Chargement de la plaque des réactifs

- 1 Retirez le couvercle en plastique transparent de la plaque des réactifs cBot.
- 2 Sélectionnez **Scan Reagent ID** (Balayer l'identifiant de réactif) pour activer le lecteur de codes à barres.
- 3 Soulevez le couvercle de l'instrument par le coin supérieur droit.
- 4 **[Pour les réactifs TruSeq v3]** Retirez l'opercule en aluminium blanc comme suit.
  - a Maintenez chaque extrémité de la barrette de tubes de la rangée 10 et retirez l'opercule en aluminium blanc de la barrette de huit tubes. Jetez l'opercule de manière appropriée.
  - b Cochez la case pour indiquer que l'opercule a été retiré.
- 5 Tirez le levier de la plaque des réactifs vers vous et placez la plaque des réactifs sur la platine des réactifs :
  - ▶ **HiSeq à débit élevé (TruSeq v3)** : Disposez la plaque de sorte que la rangée 1 se trouve directement derrière les supports des barrettes de tubes. Le coin biseauté de la plaque est positionné dans le coin avant droit.
  - ▶ **Toutes les plaques de réactifs sauf HiSeq à débit élevé (TruSeq v3)** : Disposez la plaque de sorte que l'étiquette code à barres soit orientée vers l'arrière de l'instrument. Les coins biseautés de la plaque sont positionnés directement derrière les supports des barrettes de tubes.

**Figure 12** Positionner la plaque des réactifs



- 6 Libérez le levier pour fixer la plaque des réactifs.
- 7 Cochez la case pour indiquer que la plaque des réactifs est chargée, puis sélectionnez **Next** (Suivant).

## Charger la Flow Cell

- 1 Soulevez la pince de Flow Cell.
- 2 Lavez la plaque d'adaptateur de la platine thermique avec une petite quantité d'eau désionisée.
- 3 Séchez à l'aide d'un tissu nettoyant non pelucheux.
- 4 Retirez la Flow Cell de son lieu de stockage :
  - ▶ **Toutes les Flow Cell à l'exception des Flow Cell HiSeq X et HiSeq 3000/4000** : retirez la Flow Cell du tube de stockage à l'aide d'une pince en plastique. Rincez la Flow Cell avec de l'eau désionisée et séchez-la doucement avec un chiffon pour nettoyage de lentilles. Réservez le tube et le tampon pour un stockage ultérieur.
  - ▶ **Flow Cell HiSeq X et HiSeq 3000/4000** : la Flow Cell structurée est prête à l'emploi après la préparation de la Flow Cell.
- 5 Sélectionnez **Scan Flow Cell ID** (Numériser l'identifiant de la Flow Cell) pour activer le lecteur de codes à barres.
- 6 Numériser l'identifiant de la Flow Cell en maintenant le tube ou l'emballage étiqueté de la Flow Cell à proximité du plateau du lecteur, le code à barres orienté vers l'instrument.
- 7 Positionnez la Flow Cell sur la platine thermique, les orifices de ses ports orientés vers le **haut**. La ligne 1 se trouve du côté droit avec l'angle sectionné.
- 8 Cochez la case pour indiquer que la Flow Cell est chargée, puis sélectionnez **Next** (Suivant).

## Chargement du collecteur

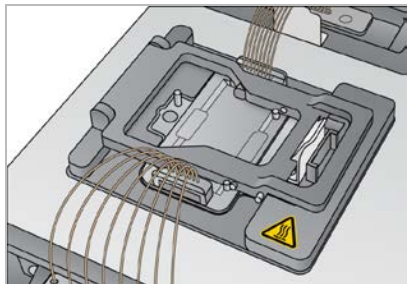
Utilisez le collecteur fourni dans la même trousse d'amplifiats que la Flow Cell.

- 1 Inspectez les dispositifs d'aspiration du peigne d'aspiration pour déceler la présence de dommages. Assurez-vous que les joints en caoutchouc noir sont fixés uniformément.
- 2 Positionnez le collecteur au-dessus de la Flow Cell, le peigne d'aspiration orienté vers l'avant de l'instrument cBot.
- 3 Alignez le collecteur et les broches de guidage sur la platine thermique, puis placez le collecteur sur la Flow Cell.  
Placez-le de manière uniforme afin de former un joint serré.



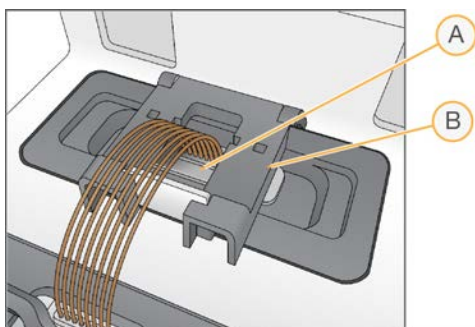
- 4 Cochez la case **Manifold seated over flow cell** (Collecteur placé au-dessus de la Flow Cell).
- 5 Fermez la pince de Flow Cell pour maintenir le collecteur.

**Figure 13** Fermer la pince de Flow Cell



- 6 Cochez la case **Flow cell clamp closed** (Pince de Flow Cell fermée).
- 7 Connectez l'extrémité de sortie du collecteur au port de sortie du réservoir de lavage. Assurez-vous que l'extrémité de sortie est connectée de manière uniforme.

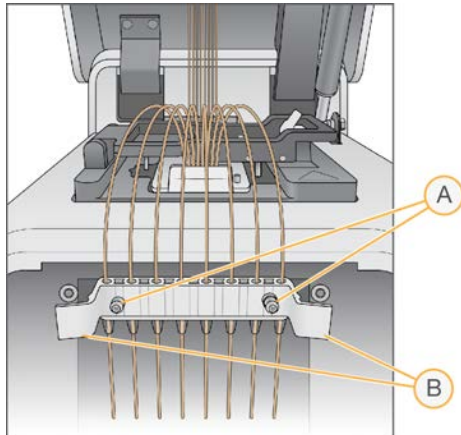
**Figure 14** Sécuriser l'extrémité de sortie



- A Port de sortie
- B Pince de sortie

- 8 Maintenez la pince de sortie fermée afin de sécuriser l'extrémité de sortie du collecteur.
- 9 Cochez la case **Outlet clamp closed** (Pince de sortie fermée).
- 10 Alignez le peigne d'aspiration et les deux broches de guidage métalliques à l'avant de la platine thermique.

**Figure 15** Sécuriser le peigne d'aspiration



- A Broches de guidage métalliques
- B Onglets en plastique

- 11 Maintenez le peigne d'aspiration en place à l'aide des onglets en plastique situés de part et d'autre du peigne.  
Assurez-vous que les dispositifs d'aspiration sont droits et perpendiculaires à la plaque des réactifs.
- 12 Cochez la case (**Peigne d'aspiration en place**), puis sélectionnez **Next** (Suivant).

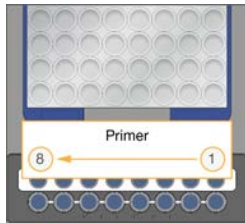
## Charger les modèles

- 1 Sélectionnez **Enter Template Name** (Saisir le nom du modèle).
- 2 À l'aide du clavier à l'écran, tapez l'identifiant du modèle, puis appuyez sur la touche **Enter** (Entrée).
- 3 Chargez la barrette de huit tubes contenant les bibliothèques préparées dans la rangée des modèles.
- 4 Cochez la case pour indiquer que les modèles sont chargés.
- 5 Si vous utilisez des primers supplémentaires, consultez la section *Charger les primers*. Dans le cas contraire, fermez le couvercle de l'instrument cBot et sélectionnez **Next** (Suivant), puis passez à la section *Effectuer une vérification avant analyse à la page 28*.

## Charger les primers

L'écran Load Primers (Charger les primers) s'affiche pour les flux de travail autorisant des primers personnalisés ou nécessitant des primers supplémentaires. Pour séquencer des bibliothèques Nextera sur une Flow Cell TruSeq v3, vous devez charger une barrette de huit tubes contenant du HP10.

- 1 Sélectionnez **Enter Primer Name** (Saisir le nom du primer).
- 2 À l'aide du clavier à l'écran, tapez le nom du primer, puis appuyez sur la touche **Enter** (Entrée).
- 3 Chargez la barrette de huit tubes contenant les primers dans la rangée des primers.  
Assurez-vous que l'ordre des tubes numérotés correspond à l'orientation des lignes de la Flow Cell.  
Les tubes sont numérotés de droite à gauche.



HiSeq X, HiSeq 3000/4000, HiSeq v4  
et TruSeq v3 (HiSeq)

- 4 Cochez la case pour indiquer que les primers sont chargés.
- 5 Fermez le couvercle de l'instrument.
- 6 Sélectionnez **Next** (Suivant).

## Effectuer une vérification avant analyse

La vérification avant analyse lit les capteurs de l'instrument pour détecter si les composants de l'analyse sont installés correctement. Elle effectue ensuite une vérification du flux à l'aide de capteurs à bulles afin de détecter la présence d'air dans les tubes. La vérification avant analyse dure approximativement trois minutes.

- 1 Après avoir correctement effectué une vérification avant analyse, sélectionnez **Start** (Démarrer). L'écran Run Status (État de l'analyse) s'ouvre et l'analyse démarre.

## Erreurs de composants de l'analyse

Si la vérification avant analyse échoue en raison d'erreurs liées aux composants de l'analyse, suivez les étapes ci-dessous :

- 1 Vérifiez chaque composant de l'analyse associé à une erreur pour vous assurer de son existence et de son bon chargement.
- 2 Sélectionnez **Rerun Check** (Relancer la vérification) pour recommencer la vérification par capteurs.
- 3 Si la vérification échoue à nouveau, sélectionnez **Cancel Run** (Annuler l'analyse) pour terminer l'analyse et en configurer une nouvelle.

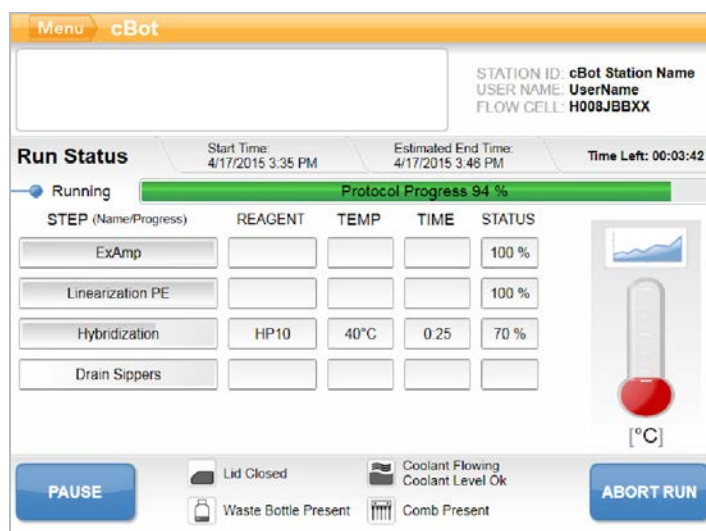
## Échec de la vérification du flux

L'échec de la vérification du flux peut être provoqué par le mauvais chargement d'une Flow Cell, un collecteur défectueux ou une obstruction dans les lignes. Avant de contourner la vérification du flux, consultez la section [Dépannage de l'échec de la vérification du flux](#) à la page 40.

## Surveiller l'analyse

- 1 Utilisez l'écran Run Status (État de l'analyse) afin de surveiller l'analyse en cours. L'écran Run Status (État de l'analyse) vous communique l'état de l'analyse et les détails suivants :
  - ▶ Date et heure de début, date et heure de fin et temps restant
  - ▶ Étapes du protocole de génération d'amplifiats avec barre d'état pour chaque étape
  - ▶ Réactif actuellement en cours d'utilisation
  - ▶ Température actuelle (°C)
  - ▶ État de la commande à l'étape actuelle

Figure 16 Écran Run Status (État de l'analyse)



- 2 Attendez la fin de l'analyse :
  - ▶ HiSeq v4, HiSeq 3000/4000 PE ou HiSeq X : prévoyez environ trois heures.
  - ▶ HiSeq 3000/4000 SR : prévoyez environ quatre heures.
  - ▶ HiSeq rapide v2 : prévoyez environ une heure.
  - ▶ TruSeq v3 : prévoyez environ cinq heures.
- 3 Une fois l'analyse terminée, vous pouvez laisser la Flow Cell sur l'instrument pendant la nuit. Sinon, passez à la section *Décharger les composants de l'analyse*. L'instrument maintient la Flow Cell à 20 °C.

## Rapport sur les données de l'analyse

Le rapport sur les données de l'analyse fournit un résumé de l'analyse en cours. Il répertorie les renseignements suivants :

- ▶ Nom du protocole
- ▶ Identifiant de la Flow Cell
- ▶ Identifiant de réactif
- ▶ Nom du modèle
- ▶ Heure de démarrage et de fin

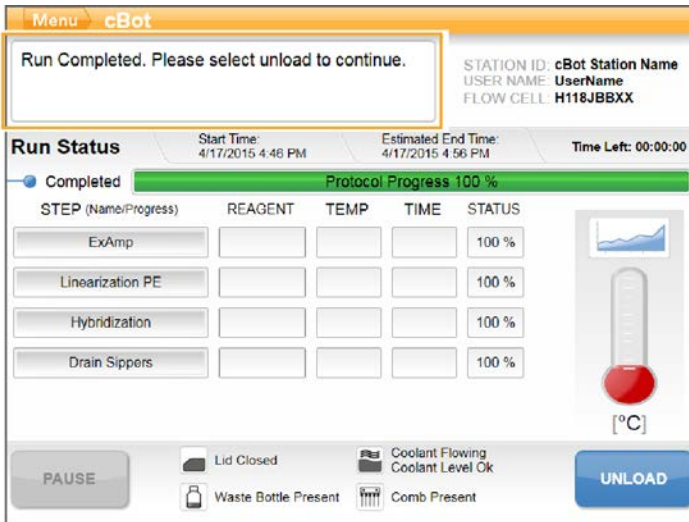
À la fin de l'analyse, le rapport sur les données de l'analyse s'ouvre automatiquement pour signaler que l'analyse est terminée.

- 1 Pour voir le rapport pendant l'analyse, sélectionnez **Menu** (Menu) | **Run Data** (Données de l'analyse).

## Décharger les composants de l'analyse

- 1 Lorsque l'analyse est terminée, sélectionnez **Unload** (Décharger) pour continuer.

Figure 17 Analyse terminée, décharger les composants



- 2 Soulevez le couvercle de l'instrument.
- 3 Relâchez la pince de sortie sécurisant l'extrémité de sortie du collecteur.
- 4 Déconnectez l'extrémité de sortie du collecteur du port de sortie du réservoir de lavage.
- 5 Retirez le peigne d'aspiration des broches de guidage métalliques à l'aide des onglets en plastique sur chaque côté du peigne d'aspiration.
- 6 Relâchez la pince de Flow Cell.
- 7 Retirez le collecteur.  
Vérifiez que la Flow Cell se trouve toujours sur la platine thermique.
- 8 Soulevez la Flow Cell de la platine thermique.
- 9 Stockez la Flow Cell comme il convient :
  - ▶ **Flow Cell TruSeq v3 et HiSeq v4** : stockez dans un tampon de stockage dans le tube de Flow Cell à une température comprise entre 2 et 8 °C. La Flow Cell reste stable jusqu'à dix jours après l'hybridation du primer lorsqu'elle est correctement stockée dans son tube.
  - ▶ **Flow Cell rapide HiSeq v2** : effectuez l'analyse de séquençage le même jour que le chargement de la librairie.
  - ▶ **Flow Cell HiSeq X et HiSeq 3000/4000** : stockez dans un tampon de stockage pendant 48 heures maximum à une température de 2 à 8 °C.
- 10 Pour relâcher la plaque des réactifs, tirez son levier vers vous.
- 11 Retirez la plaque des réactifs de la platine des réactifs.



**AVERTISSEMENT**

Ce groupe de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez l'équipement de protection approprié selon les risques d'exposition, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 12 Retirez la barrette de huit tubes contenant les librairies.
- 13 Le cas échéant, retirez la barrette de huit tubes contenant les primers supplémentaires.
- 14 Cochez la case afin d'indiquer que vous avez déchargé les réactifs, les modèles et les primers.
- 15 Choisissez une option de lavage :
  - ▶ Sélectionnez **Wash** (Laver) afin de procéder au lavage après analyse.
  - ▶ Sélectionnez **Exit** (Quitter) pour contourner le lavage après analyse, si l'option de contournement est disponible.

## Réaliser un lavage après analyse

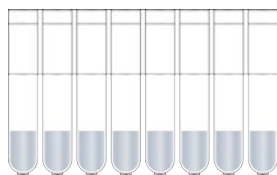
- 1 Lavez la plaque située sur la platine thermique avec de l'eau désionisée afin de retirer tout résidu salin.
- 2 Séchez à l'aide d'un tissu nettoyant non pelucheux.
- 3 Mettez environ 12 ml d'eau désionisée dans le réservoir de lavage et fermez le couvercle de l'instrument.
- 4 Cochez la case pour indiquer la présence de l'eau, puis sélectionnez **Wash** (Lavage).
- 5 Lorsque le lavage est terminé, épongez tout excès d'eau dans le réservoir de lavage. Prenez soin de ne pas frotter les ports de sortie pour éviter que des fibres ne bouchent les orifices.
- 6 Cochez la case pour indiquer que le réservoir de lavage est sec, puis sélectionnez **Exit** (Quitter). L'écran Start (Démarrer) s'ouvre et l'instrument cBot est prêt pour une autre analyse.

## Confirmer la distribution des réactifs (facultatif)

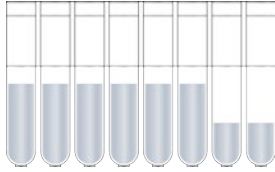
Vous pouvez confirmer la distribution de chaque réactif provenant de la plaque des réactifs à débit élevé HiSeq (TruSeq V3).

- 1 Examinez les opercules en aluminium de chaque barrette de tubes pour vous assurer que tous sont percés.
- 2 Retirez chaque barrette de tubes de la base de la plaque des réactifs de la façon suivante :
  - a Tenez fermement la plaque des réactifs en plaçant le bout de vos doigts sous la base.
  - b Poussez délicatement vers le haut les tubes centraux de la barrette de tubes.
- 3 Inspectez chaque tube pour confirmer qu'il contient un volume similaire restant. Il est normal de constater de légères différences.

**Figure 18** Exemple de distribution réussie des réactifs (Flow Cell à huit lignes)



**Figure 19** Exemple de distribution réussie des réactifs (Flow Cell à deux lignes)



- 4 Si la distribution des réactifs a échoué et que les opercules d'aluminium des tubes sont percés, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
- 5 Inspectez la barrette de huit tubes contenant le modèle de librairie.
- 6 Si vous avez utilisé des primers supplémentaires pour votre analyse, inspectez les barrettes de huit tubes les contenant.

# Chapitre 5 Maintenance

Réaliser la maintenance périodique .....	33
Lavage de maintenance mensuel .....	34
Changer la plaque d'adaptateur .....	35
Mettre à niveau le logiciel .....	36
Mettre à niveau les formules .....	37
Arrêter l'instrument cBot .....	38

## Réaliser la maintenance périodique

Effectuez les étapes de maintenance de base décrites dans cette section pour garantir les performances optimales de l'instrument.

Maintenance	Fréquence	Description
Lavage de l'instrument	Après chaque analyse et si l'instrument est inactif pendant plus d'une journée.	Effectuez toujours un lavage de l'instrument après chaque analyse pour éliminer les résidus salins et les enzymes du matériel et pour éviter la formation de bouchons. Si l'instrument n'a pas été utilisé pendant plus de 24 heures, un lavage avant analyse est recommandé. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section <i>Effectuer un lavage avant analyse à la page 23</i> .
Vidange du flacon à déchets	Après chaque analyse.	Pour vous assurer que votre analyse ne soit pas interrompue, videz le flacon à déchets entre les analyses.
Nettoyage des surfaces	Une fois par semaine.	Utilisez de l'eau désionisée et un tissu nettoyant non pelucheux pour nettoyer la surface de la platine thermique et de la platine des réactifs. Nettoyez la surface des supports des barrettes de tubes contenant le modèle et le primer.
Nettoyage de la vitre du lecteur de codes à barres	Une fois par semaine.	Utilisez de l'eau désionisée et un tissu nettoyant non pelucheux pour nettoyer la vitre du lecteur de codes à barres.
Lavage de maintenance	Une fois par mois.	Utilisez une solution de DECON à 5 % (ou du NaOH 100 mM) pour enlever les traces de réactifs sur les composants internes de l'instrument cBot et pour empêcher la prolifération de microorganismes. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section <i>Lavage de maintenance mensuel à la page 34</i> .
Vérification du niveau de réfrigérant	Tous les trois mois.	Assurez-vous que le réfrigérant vert est visible à travers la vitre du réfrigérant, située sur le panneau arrière de l'instrument. Si nécessaire, utilisez un miroir pour voir la vitre du réfrigérant. Si le niveau de réfrigérant est bas, utilisez une grande pièce de monnaie ou un tournevis standard pour retirer le bouchon du réservoir de réfrigérant et remplissez le réservoir jusqu'en dessous du bouchon du réservoir. Utilisez uniquement le réfrigérant d'Illumina (n° de référence 1003709). Si vous avez besoin de réfrigérant supplémentaire, communiquez avec votre scientifique spécialiste en application sur le terrain (FAS) ou votre technicien d'assistance sur le terrain (FSE) d'Illumina.

## Maintenance préventive

Illumina vous recommande de planifier un service de maintenance préventive chaque année. Si vous n'êtes pas lié par un contrat de services, communiquez avec le gestionnaire de compte commercial de votre zone ou avec l'assistance technique d'Illumina pour organiser un service de maintenance préventive facturable.



## Lavage de maintenance mensuel

Effectuez un lavage de maintenance mensuel en utilisant une solution de DECON à 5 % pour enlever les traces de réactifs sur les composants internes du cBot et pour empêcher la prolifération microbienne. Si une solution de DECON n'est pas disponible, remplacez-la par une solution de NaOH 100 mmol.

Le lavage de maintenance nécessite environ 10 minutes de manipulation et comprend quatre étapes de lavage : un lavage initial à l'eau, un lavage au DECON ou au NaOH et enfin deux lavages à l'eau.

### Lavage à l'eau

- 1 Confirmez que tous les composants de l'analyse sont retirés.
- 2 À partir de l'écran Start (Démarrer), sélectionnez **Menu** (Menu), puis **Manual Commands** (Commandes manuelles) afin d'ouvrir l'écran Manual Commands (Commandes manuelles).
- 3 Sélectionnez **Commands** (Commandes) pour ouvrir l'onglet Commands (Commandes).
- 4 Remplissez le réservoir de lavage avec environ 12 ml d'eau désionisée.
- 5 Sélectionnez **Wash** (Lavage).
- 6 Lorsque le lavage est terminé, épongez tout excès d'eau dans le réservoir de lavage avec un tissu non pelucheux.  
Prenez soin de ne pas frotter les ports de sortie pour éviter que des fibres ne bouchent les orifices.

### Lavage au DECON (ou au NaOH)

- 1 Remplissez le réservoir de lavage avec 10 ml de DECON à 5 % ou de NaOH 100 mM.
- 2 Sélectionnez **Wash** (Lavage).
- 3 Une fois le lavage terminé, enfiler une nouvelle paire de gants.
- 4 Épongez le DECON à 5 % restant dans le réservoir de lavage à l'aide d'un tissu non pelucheux. Évitez les ports de sortie.



#### ATTENTION

Le DECON est hautement alcalin.

- 5 Procédez **immédiatement** au lavage à l'eau pour éviter que le DECON ne sèche et ne bouche les orifices du réservoir de lavage.

### Lavage à l'eau (premier rinçage)

- 1 Remplissez le réservoir de lavage avec environ 12 ml d'eau désionisée.
- 2 Sélectionnez **Wash** (Lavage).
- 3 Lorsque le lavage est terminé, épongez tout excès d'eau dans le réservoir de lavage avec un tissu non pelucheux. Évitez les ports de sortie.

### Lavage à l'eau (dernier rinçage)

- 1 Remplissez le réservoir de lavage avec environ 12 ml d'eau désionisée.
- 2 Sélectionnez **Wash** (Lavage).

- 3 Lorsque le lavage est terminé, épongez l'eau restante dans le réservoir de lavage avec un tissu non pelucheux. Évitez les ports de sortie.
- 4 Fermez le couvercle de l'instrument.
- 5 Videz le flacon à déchets.  
Votre instrument cBot est prêt pour la prochaine analyse de génération d'amplifiats.

## Changer la plaque d'adaptateur

Vous pouvez utiliser une Flow Cell HiSeq sur l'instrument cBot. Chaque type de Flow Cell nécessite l'installation d'une plaque d'adaptateur spécifique. Les icônes sur l'écran Start (Démarrer) indiquent quelle plaque d'adaptateur est installée.

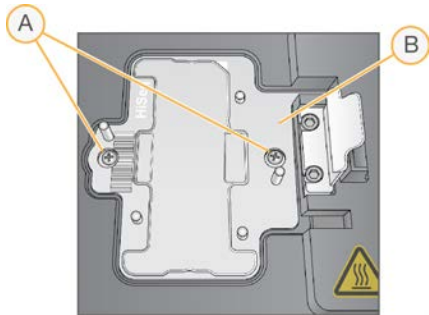


### REMARQUE

L'instrument cBot vous est livré avec la plaque d'adaptateur HiSeq déjà installée.

- 1 Ouvrez le couvercle de l'instrument en le soulevant délicatement par le coin supérieur droit.
- 2 Soulevez la pince de Flow Cell.
- 3 Dévissez les deux vis imperdables à tête cruciforme qui maintiennent la plaque d'adaptateur.

Figure 20 Plaque d'adaptateur de Flow Cell

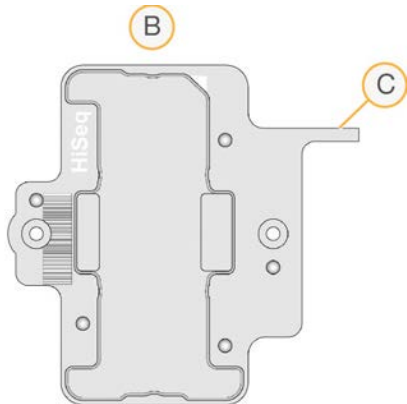


A Vis imperdables

B Plaque d'adaptateur

- 4 Soulevez la plaque d'adaptateur actuelle, retirez-la de la platine thermique et mettez-la de côté.
- 5 Si vous constatez la présence de sels sur la platine thermique, essuyez avec un tissu nettoyant non pelucheux légèrement imbibé d'eau.
- 6 Positionnez la nouvelle plaque d'adaptateur sur la platine thermique. Alignez le bras du capteur sur la fente qui lui correspond du côté droit de la platine thermique.

Figure 21 Emplacement de l'élément détecteur



- A Plaque d'adaptateur HiSeq
- B Élément détecteur de la plaque d'adaptateur

- 7 Serrez les deux vis pour fixer la plaque d'adaptateur.  
Pour un transfert de chaleur optimal, assurez-vous que la plaque d'adaptateur est à plat et que les vis sont uniformément serrées.
- 8 Essuyez la plaque d'adaptateur installée avec un tissu nettoyant non pelucheux imbibé d'eau. Séchez à l'aide d'un tissu propre.

## Mettre à niveau le logiciel

Si vous utilisez le logiciel cBot v1.3 ou une version ultérieure, vous pouvez mettre à niveau le logiciel de l'instrument avec une clé USB.

- 1 Insérez la clé USB contenant le programme d'installation de la nouvelle version du logiciel (par exemple cBotSetupX86\_1.3.1.0.exe) dans l'un des ports USB situés à l'avant de l'instrument.  
Le programme d'installation doit être enregistré dans le répertoire racine de la clé USB, pas dans un dossier.



### ATTENTION

Laissez la clé USB dans le port USB pendant la mise à niveau. N'interagissez pas avec l'instrument pendant la mise à niveau.

- 2 Sélectionnez **Menu** (Menu) dans le coin supérieur gauche de l'écran Start (Démarrer), puis sélectionnez **Configure** (Configurer).

**Figure 22** Menu de l'écran Start (Démarrer)



- 3 Utilisez le clavier à l'écran pour saisir le mot de passe par défaut, **admin**, puis appuyez sur la touche **Enter** (Entrée).
- 4 Sélectionnez **Menu** (Menu), puis sélectionnez **Upgrade** (Mettre à niveau).
- 5 Une boîte de dialogue s'ouvre et affiche un message concernant la version logicielle :

Message	Action
The software installer version is greater than the version currently installed on the cBot (La version du programme d'installation du logiciel est supérieure à la version actuellement installée sur l'instrument cBot)	Sélectionnez <b>OK</b> pour passer à l'installation de la nouvelle version.
cBot cannot find a valid software installer (cBot ne trouve pas de programme d'installation valide du logiciel)	Vous pouvez soit insérer une mise à niveau valide de l'instrument cBot et sélectionner <b>OK</b> pour réessayer, soit sélectionner <b>Cancel</b> (Annuler) pour annuler la mise à niveau.
The software installer version is equal or lower than the version currently installed on the cBot (La version du programme d'installation du logiciel est inférieure ou identique à la version actuellement installée sur l'instrument cBot)	Sélectionnez <b>Cancel</b> (Annuler) pour annuler la mise à niveau ou <b>OK</b> pour passer à l'installation d'une version antérieure.

- 6 Vous pouvez retirer la clé USB dès que le redémarrage est terminé et que l'écran de connexion apparaît.

## Mettre à niveau les formules

Vous pouvez mettre à niveau les versions des formules indépendamment des mises à niveau du logiciel à l'aide d'une clé USB contenant le programme d'installation de formules.

- 1 Insérez la clé USB contenant le programme d'installation des nouvelles formules dans l'un des ports USB situés à l'avant de l'instrument.  
Le programme d'installation doit être enregistré dans le répertoire racine de la clé USB, pas dans un dossier.
- 2 Sélectionnez **Menu** (Menu) dans le coin supérieur gauche de l'écran Start (Démarrer), puis sélectionnez **Configure** (Configurer).

Figure 23 Menu de l'écran Start (Démarrer)



- 3 Utilisez le clavier à l'écran pour saisir le mot de passe par défaut, **admin**, puis appuyez sur la touche **Enter** (Entrée).
- 4 Sélectionnez **Menu** (Menu), puis sélectionnez **Upgrade Recipes** (Mettre à niveau les formules). L'instrument cBot redémarre automatiquement une fois la mise à niveau effectuée. Le processus de redémarrage prend environ 10 minutes.



**ATTENTION**

Laissez la clé USB dans le port USB pendant la mise à niveau. N'interagissez pas avec l'instrument pendant la mise à niveau.

- 5 Vous pouvez retirer la clé USB dès que le redémarrage est terminé et que l'écran de connexion apparaît.

## Arrêter l'instrument cBot

L'instrument cBot est conçu pour fonctionner en état de veille à partir de l'écran Start (Démarrer); il n'est donc pas nécessaire de l'éteindre entre les analyses.

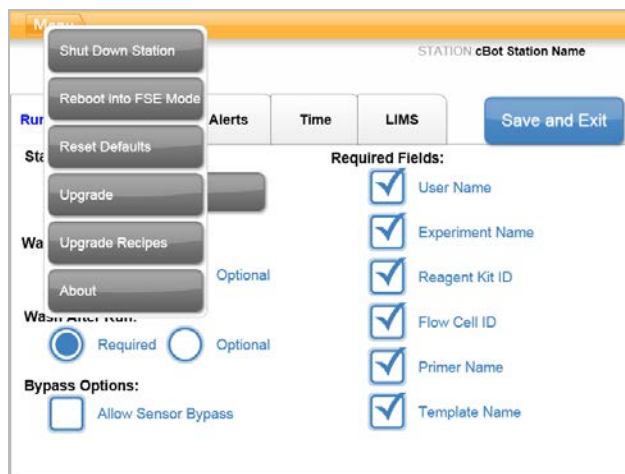
- 1 Sélectionnez **Menu** (Menu) dans le coin supérieur gauche de l'écran Start (Démarrer), puis sélectionnez **Configure** (Configurer).

Figure 24 Menu de l'écran Start (Démarrer)



- Utilisez le clavier à l'écran pour saisir le mot de passe par défaut, **admin**, puis appuyez sur la touche **Enter** (Entrée).
- À partir de l'écran de configuration, sélectionnez **Menu** (Menu), puis sélectionnez **Shut Down Station** (Arrêter la station).  
Le logiciel cBot s'arrête.

Figure 25 Shut Down Station (Arrêter la station)



- Après l'arrêt du logiciel, mettez le bouton d'alimentation en position OFF (Arrêt).

## Redémarrage en mode FSE

L'option de redémarrage en mode FSE ne doit être utilisée que par un scientifique spécialiste en application sur le terrain (FAS) ou un technicien d'assistance sur le terrain (FSE) d'Illumina formé pour la mise à jour du logiciel ou la maintenance de l'instrument.

# Annexe A Dépannage

Mettre en pause ou annuler une analyse .....	40
Dépannage de l'échec de la vérification du flux .....	40
Résoudre les problèmes d'analyse .....	43
Réinitialiser le lecteur de codes à barres .....	43
Modification des protocoles .....	44

## Mettre en pause ou annuler une analyse

Utilisez les commandes de l'écran Run Status (État de l'analyse) pour mettre l'analyse en pause ou l'annuler.

- ▶ **Pause** (Pause) : termine la commande actuelle du protocole, puis interrompt l'analyse. Attendez quelques minutes avant que l'analyse se mette en pause. Lorsque c'est le cas, les dispositifs d'aspiration sont soulevés des tubes de réactifs, la platine des réactifs revient à la position d'origine et le bouton Pause se change en bouton Resume (Reprendre).
  - ▶ Lorsque l'analyse est active, sélectionnez **Pause** (Pause) pour interrompre l'analyse.
  - ▶ Lorsque l'analyse est en pause, sélectionnez **Resume** (Reprendre) pour reprendre l'analyse.
- ▶ **Abort Run** (Annuler l'analyse) : arrête l'analyse sans possibilité de la reprendre. Sélectionnez **Unload** (Décharger) pour décharger les composants de l'analyse.

## Dépannage de l'échec de la vérification du flux

Effectuez la procédure suivante pour déterminer le problème en cas d'échec de la vérification du flux. Ne sélectionnez pas l'option de contournement de la vérification du flux avant d'avoir terminé cette procédure afin de déterminer les conditions suivantes :

- ▶ La Flow Cell est correctement positionnée sur l'instrument.
- ▶ Le collecteur et le matériel fonctionnent correctement.



### ATTENTION

Contourner la vérification du flux peut entraîner l'échec de la génération d'amplifiats de certaines lignes.

Puisque des types de Flow Cell différents utilisent des vérifications de flux différentes, assurez-vous que vous utilisez la bonne association de formule, de collecteur et de Flow Cell.

- 1 Assurez-vous que la quantité d'HT1 dans la rangée 1 de la plaque des réactifs est suffisante. Réapprovisionnez-la au besoin.
- 2 Notez les lignes concernées par l'échec de vérification du flux. Vous trouverez ce renseignement dans le coin supérieur gauche de l'écran d'interface.
  - ▶ Si l'échec s'est produit sur l'ensemble des huit lignes, cela signifie probablement que la Flow Cell n'est pas chargée correctement. Retirez le collecteur. Vérifiez que les orifices de la Flow Cell sont orientés vers le haut et que l'orientation de la Flow Cell est correcte.
  - ▶ Si seulement quelques lignes ont échoué, la Flow Cell n'est probablement pas bien en place. Retirez le collecteur, remplacez la Flow Cell et réinstallez le collecteur.
- 3 Sélectionnez **Rerun Check** (Relancer la vérification) pour recommencer la vérification du flux.
- 4 Si la vérification du flux échoue une deuxième fois, observez quelles sont les lignes concernées et effectuez l'une des actions suivantes :
  - ▶ Votre collecteur est vraisemblablement défectueux si l'échec s'est produit sur l'ensemble des huit lignes. Remplacez-le par un nouveau collecteur.

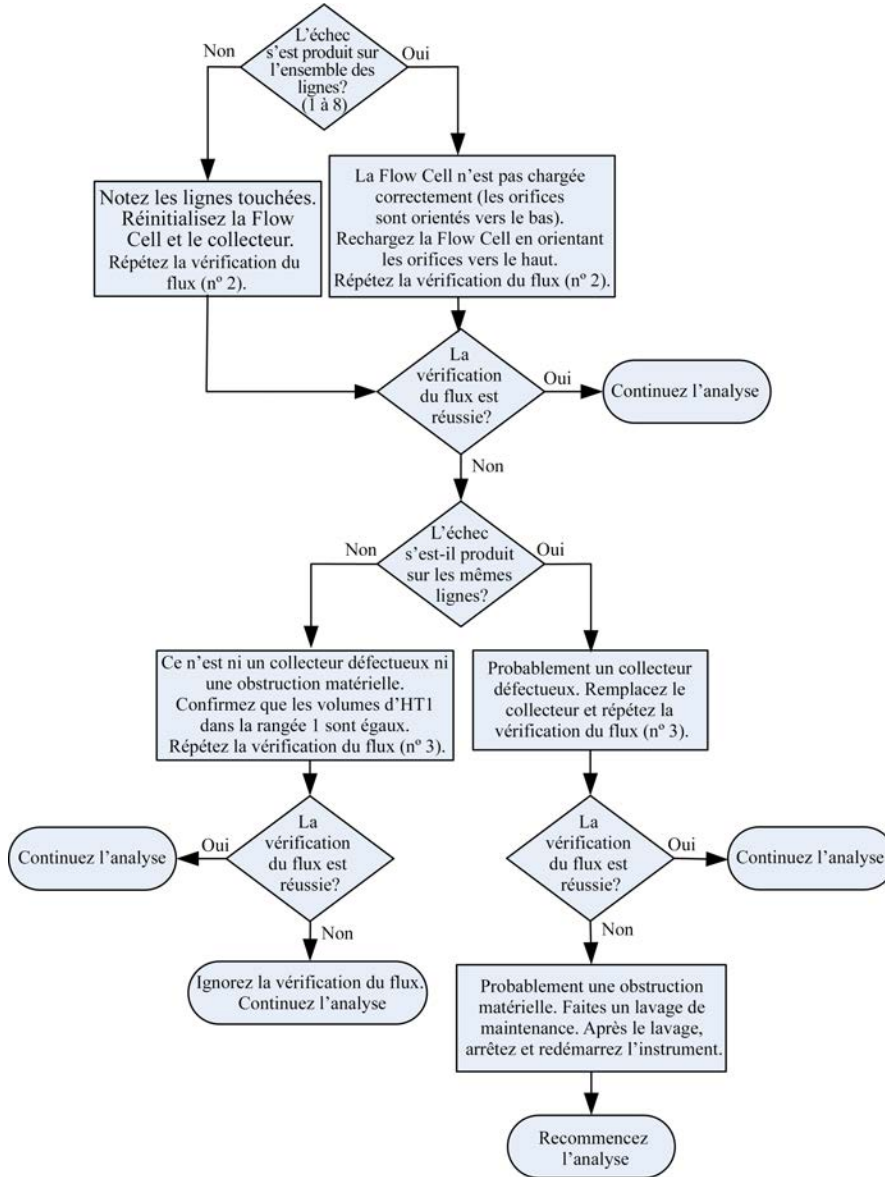
- ▶ Si l'échec porte sur des lignes différentes, votre collecteur n'est probablement pas défectueux. Inspectez les volumes d'HT1 de la rangée 1 afin de vous assurer que les quantités dans les tubes sont égales.
- 5 Sélectionnez **Rerun Check** (Relancer la vérification) pour recommencer une troisième fois la vérification du flux.
- ▶ Si la vérification du flux échoue après le remplacement du collecteur, allez à l'étape 6.
  - ▶ Si la vérification échoue et que vous n'aviez pas eu à remplacer le collecteur, allez à l'étape 7.
- 6 Si la vérification du flux échoue une troisième fois après le remplacement du collecteur, il est possible qu'une obstruction se soit formée à l'intérieur du matériel.
- a Inspectez les volumes d'HT1 de la rangée 1 afin de vous assurer que les quantités dans les tubes sont égales. Des volumes plus élevés dans les tubes correspondant aux lignes concernées à plusieurs reprises par un échec de la vérification du flux indiquent une obstruction à l'intérieur du matériel.
  - b Déchargez les composants de l'analyse et effectuez un lavage de maintenance.
  - c Une fois le lavage terminé, mettez l'instrument hors tension à l'aide du bouton d'alimentation. Après quelques secondes, appuyez sur le bouton d'alimentation puis sur le bouton de démarrage pour redémarrer le logiciel. La mise hors tension de l'instrument réinitialise le nombre autorisé de tentatives de vérification avant analyse.
  - d Suivez les invites du logiciel pour recharger les composants de l'analyse et pour configurer celle-ci.
- 7 Si la vérification du flux échoue une troisième fois, vous pouvez contourner en toute sécurité la vérification du flux :
- a Sélectionnez **Bypass Flow Check** (Ignorer la vérification du flux) pour continuer l'analyse.
  - b Après l'analyse, vérifiez la distribution des réactifs de tous les tubes.



## Organigramme de dépannage

L'organigramme suivant illustre la procédure de dépannage. Les étapes indiquant de procéder à une nouvelle vérification du flux portent un numéro montrant le nombre de tentatives autorisées de vérification de flux effectuées à ce moment de la procédure.

Figure 26 Organigramme de dépannage



## Résoudre les problèmes d'analyse

Utilisez le tableau suivant pour résoudre les problèmes rencontrés au cours d'une analyse de génération d'amplifiats.

Problème	Cause possible	Action
Température hors de la plage.	Indique souvent que l'instrument cBot n'a pas atteint la température de consigne dans l'intervalle de temps alloué. Peut également indiquer une éventuelle panne du tableau de commande.	Envoyez un courriel à l'assistance technique d'Illumina.
Le réfrigérant circule et le niveau de réfrigérant est bas.	Le réfrigérant s'est lentement évaporé jusqu'à atteindre un niveau bas.	Ajoutez du réfrigérant Illumina (n° de référence 1003709) dans le réservoir de réfrigérant.
Le réfrigérant ne circule pas et le niveau de réfrigérant est bas.	Le niveau de réfrigérant est peut-être trop bas pour permettre sa circulation.	Ajoutez du réfrigérant Illumina (n° de référence 1003709) dans le réservoir de réfrigérant.
Le réfrigérant ne circule pas et le niveau de réfrigérant n'est pas bas.	Possible panne de la pompe à réfrigérant.	Envoyez un courriel à l'assistance technique d'Illumina.
L'instrument est verrouillé.	Possible erreur logicielle.	Envoyez un courriel à l'assistance technique d'Illumina.

## Réinitialiser le lecteur de codes à barres

Le lecteur de codes à barres est prêt à l'emploi à la réception de votre instrument cBot. Si le lecteur est réinitialisé d'après une configuration incorrecte, utilisez les instructions suivantes pour le restaurer d'après sa configuration par défaut.

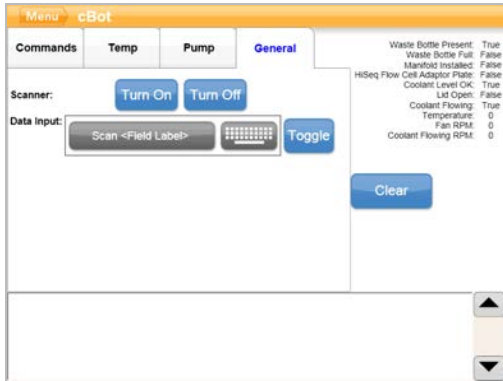
- 1 Imprimez le code à barres.

Figure 27 Restaurer le code à barres par défaut



- 2 À l'écran Start (Démarrer), sélectionnez **Menu** (Menu), puis sélectionnez **Manual Commands** (Commandes manuelles).
- 3 Sélectionnez l'onglet **General** (Général) pour accéder aux entrées pour le contrôle manuel du lecteur de codes à barres.

Figure 28 Manual Commands (Commandes manuelles), onglet General (Général)



- 4 Sélectionnez **Turn Off** (Désactiver), puis **Turn On** (Activer) pour activer le lecteur de codes à barres. La raie laser doit être visible sur la plaque du lecteur, sous l'écran LCD.
- 5 Placez le code à barres sous le lecteur de codes à barres.
- 6 Sélectionnez **Turn Off** (Désactiver), puis **Turn On** (Activer) pour lire le code à barres. Un bip sonore indique une lecture réussie.

## Modification des protocoles

Utilisez la fonction de modification des protocoles pour modifier les protocoles selon vos besoins. Par exemple, vous pouvez répéter les étapes d'un protocole ou modifier le nombre de cycles d'amplification dans la section Chemistry (Chimie).

Chaque protocole comprend deux sections principales :

- ▶ **Section Chemistry (Chimie)** : elle contient les directives sur le pompage des réactifs, les modifications des températures et les temps d'attente. Cette section apparaît dans la partie supérieure de l'écran Protocol Editor (Modification des protocoles).
- ▶ **Section Protocol (Protocole)** : elle contient une série d'étapes constituées de définitions chimiques. Cette section apparaît dans la partie inférieure de l'écran Protocol Editor (Modification des protocoles).

Si vous modifiez un protocole existant, veillez à le renommer.

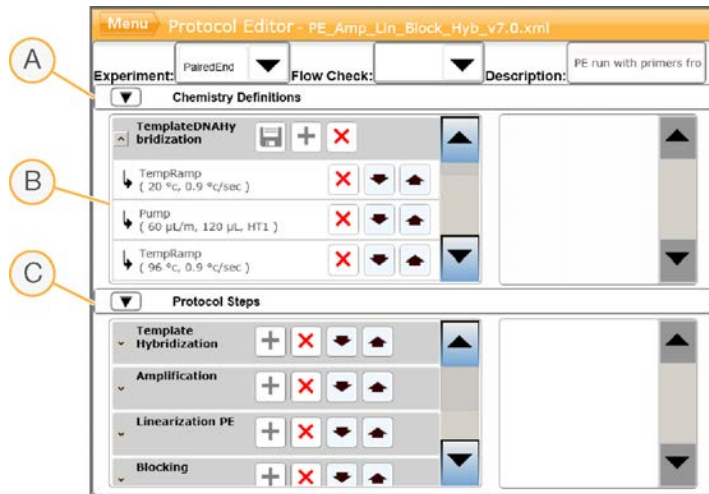
## Protocol Editor (Modification des protocoles)

- 1 À l'écran Start (Démarrer), sélectionnez **Menu** (Menu), puis sélectionnez **Protocol Editor** (Modification des protocoles).
- 2 À partir de Protocol Editor (Modification des protocoles), sélectionnez **Menu** (Menu), puis sélectionnez la commande appropriée :
  - ▶ Sélectionnez **Open** (Ouvrir) pour ouvrir un protocole existant.
  - ▶ Sélectionnez **Load from Library** (Charger à partir de la librairie) pour charger une définition chimique existante ou une étape du protocole stockée dans la librairie cBot.
  - ▶ Sélectionnez **New Chemistry Definition** (Nouvelle définition chimique) ou **New Protocol Step** (Nouvelle étape du protocole) pour créer une nouvelle définition ou étape et la stocker dans la librairie cBot.
- 3 Utilisez la flèche vers le bas située à gauche de l'étape pour développer les commandes de celle-ci. Utilisez la flèche vers le haut pour réduire les commandes.
- 4 Pour modifier une étape dans une définition chimique, mettez-la en surbrillance.

Les sélections permettant de modifier les commandes relatives à la pompe, à la rampe de température ou à l'attente apparaissent dans le panneau de droite.






- 5 Pour modifier une étape dans un protocole, mettez-la en surbrillance. Les sélections permettant de modifier le nombre de cycles de la définition chimique sélectionnée apparaissent dans le panneau de droite.
- 6 Utilisez les icônes de Protocol Editor (Modification des protocoles) à droite du nom de l'étape pour réorganiser, supprimer ou copier des étapes et des commandes.

Figure 29 Protocol Editor (Modification des protocoles), étapes développées



- A Section Chemistry (Chimie)
- B Section développée Chemistry (Chimie)
- C Section Protocol (Protocole)

## Icônes de Protocol Editor (Modification des protocoles)

Icône	Description
	Déplace l'étape en surbrillance sous l'étape suivante du protocole.
	Déplace l'étape en surbrillance au-dessus de l'étape précédente du protocole.
	Supprime l'étape en surbrillance.
	Répète l'étape en surbrillance.
	Enregistre les modifications apportées à la librairie de protocoles.

# Index

## A

aide  
documentation 2  
aide, technique 49  
aluminium non percé 32  
analyse  
démarrage 28  
arrêt 38  
assistance clientèle 49  
assistance technique 49

## C

capteurs 2  
collecteur  
peigne d'aspiration 3, 26  
pince de sortie 26  
collecteurs 25  
commandes manuelles 34  
compatibilité de la version  
consommables 10  
logiciel 10  
composants 2  
configuration 4-5  
consommables  
compatibilité de la version 10  
déchargement 29  
consommables fournis par l'utilisateur  
préparation des réactifs 10  
contourner la vérification du flux 40

## D

DECON 34  
DECON à 5 % 34  
décongélation de la plaque des réactifs 14, 18  
dénaturation 22  
dénaturation de librairie 14, 18  
dépannage  
échec de la vérification du flux 40  
dilution 22  
distribution des réactifs, échec 32  
documentation 2, 49  
documents relatifs aux trousse 5  
durée de la génération d'amplifiats 29  
durée du lavage de maintenance 34

## E

échec de la vérification du flux 43  
dépannage 42  
écran Run Status (État de l'analyse) 28  
erreurs de composants de l'analyse 28  
erreurs de logiciel 43  
étapes de génération d'amplifiats 28  
état de veille 38  
état du système 4  
exigences d'analyse  
configuration 5

## F

fin d'une analyse 40  
flacon à déchets 33  
Flow Cell  
emballage 13, 16  
formules compatibles 10  
nettoyage 13, 16  
plaques d'adaptateur 35  
positionnement 25  
préparation 13, 16  
préparation du chargement 25  
stockage 29  
formules  
liste de 10  
mise à niveau 37

## H

HP10, préparation 20

## I

icônes  
état du capteur 4  
icônes d'état des capteurs 4  
interruption d'une analyse 40

## L

lavage  
plaques d'adaptateur 25  
lavage après analyse 33  
lavage avant analyse 33  
lavage de l'instrument 31

- lavages 23
  - fréquence 33
- lecteur de codes à barres
  - nettoyage 33
  - réinitialisation 43
- librairie
  - chargement 27
  - concentration de chargement 14
  - dénaturation 14, 18
  - dilution 14
- librairies
  - concentration de chargement 18
  - dilution 18
- logiciel
  - compatibilité de la version 10
  - mise à niveau 36

## M

- maintenance 31, 34, 39
  - entretien périodique 33
- maintenance préventive 33
- mélange principal ExAmp 19
- messages d'erreur 43
- mise hors tension 38
- mode FSE 39
- modèles
  - chargement 27
- modification des protocoles 44

## N

- NaOH 34
- niveau du réfrigérant 33
- numéro de référence du réfrigérant 43
- numéros de référence
  - réfrigérant 43

## O

- opercule en aluminium blanc 24
- opercule, aluminium blanc 24
- opercules non percé 32

## P

- PhiX
  - % de substance de contrôle 14, 18
  - ajout 14, 18
- plage de température 43

- plaque des réactifs 4
  - configurations 7
  - décongélation 14, 18, 20-21
  - positionnement 24
  - préparation 15, 19
- plaque des réactifs cBot 7
- plaque des réactifs, débit élevé
  - préparation 20
- plaque des réactifs, rapide
  - préparation 21
- plaques d'adaptateur 35
  - lavage 25
- platine des réactifs 4
- platine thermique 3
  - lavage 31
- positionnement des Flow Cell 25
- pratiques exemplaires
  - préparation des réactifs 12
- préparation des réactifs
  - consommables fournis par l'utilisateur 10
  - pratiques exemplaires 12
- primers
  - chargement 27
  - nom, saisie 27
  - orientation de la barrette de tubes 27
  - personnaliser 27
- problèmes de collecteur 43
- problèmes de réfrigérant 43
- procédures après analyse 29
- progression de l'analyse 28
- Protocol Editor (Modification des protocoles) 44
  - icônes 45
- protocole
  - sélection 24
- protocoles de chimie 44
- protocoles, modification 44

## R

- rapport sur les données de l'analyse 29
- réactifs de génération d'amplifiats
  - préparation 12
- réactifs ExAmp
  - à propos 12, 16
  - décongélation 14, 18
  - préparation 19
  - préparation, quatre Flow Cell 16
  - préparation, une Flow Cell 15
- réactifs, préparation
  - débit élevé 20
  - Flow Cell HiSeq X 12

- HiSeq 3000/4000 16
  - rapide 21
- réaction ExAmp
  - préparation, quatre Flow Cell 16
  - préparation, une Flow Cell 15
- reprise d'une analyse 40
- réservoir de lavage 23
- résidus salins, retrait 31
- résumé d'analyse 29
- retrait des barrettes de huit tubes 31

## S

- stockage des Flow Cell 25, 29-30
- stocker des Flow Cell 30
- substitut DECON 34

## T

- température hors plage 43

## V

- vérification avant analyse
  - erreurs 28
  - réalisation 28
- vérification du flux 28
  - dépannage en cas d'échec 40
- volumes distribués 31

# Assistance technique

Pour obtenir de l'assistance technique, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.

Site Web : [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
Courriel : [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Numéros de téléphone de l'assistance clientèle d'Illumina

Région	Numéro sans frais	Numéro régional
Amérique du Nord	+ (1) 800 809 4566	
Allemagne	+ 49 8001014940	+ 49 8938035677
Australie	+ (1) 800 775 688	
Autriche	+ 43 800006249	+ 43 19286540
Belgique	+ 32 80077160	+ 32 34002973
Chine	400 066 5835	
Corée du Sud	+ 82 80 234 5300	
Danemark	+ 45 80820183	+ 45 89871156
Espagne	+ 34 911899417	+ 34 800300143
Finlande	+ 358 800918363	+ 358 974790110
France	+ 33 805102193	+ 33 170770446
Hong Kong, Chine	800960230	
Irlande	+ 353 1800936608	+ 353 016950506
Italie	+ 39 800985513	+ 39 236003759
Japon	0800 111 5011	
Norvège	+ 47 800 16836	+ 47 21939693
Nouvelle-Zélande	0800 451 650	
Pays-Bas	+ 31 8000222493	+ 31 207132960
Royaume-Uni	+ 44 8000126019	+ 44 2073057197
Singapour	+ (1) 800 579 2745	
Suède	+ 46 850619671	+ 46 200883979
Suisse	+ 41 565800000	+ 41 800200442
Taiwan, Chine	00806651752	
Autres pays	+ 44 1799 534 000	

Fiches signalétiques (SDS) : disponibles sur le site Web d'Illumina à l'adresse [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Documentation sur les produits : disponible en téléchargement sur le site [support.illumina.com](http://support.illumina.com).





Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, CA 92122 États-Unis

+(1) 800 809-ILMN (4566)

+(1) 858 202-4566 (en dehors de l'Amérique du Nord)

[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

[www.illumina.com](http://www.illumina.com)

**Destiné à la recherche uniquement.  
Ne pas utiliser dans le cadre d'examens diagnostiques.**

© 2020 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

**illumina®**