illumina

# Guía del usuario de cBot™



PROPIEDAD DE ILLUMINA N.º componente 15006165 Rev. N ESP Noviembre de 2014

N.º de catálogo SY-301-9001DOC

Personalice una breve guía de flujo de trabajo integral con la herramienta de selección de protocolos personalizados support.illumina.com/custom-protocol-selector.html



Este documento y su contenido son propiedad de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina"), y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes con relación al uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, derechos de autor ni consuetudinarios ni derechos de terceros similares.

Para garantizar el uso correcto y seguro de los productos aquí descritos, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir sus instrucciones de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEEN COMPLETAMENTE NI SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES AQUÍ CONTENIDAS, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN LOS PRODUCTOS, LESIONES EN PERSONAS (USUARIOS O TERCEROS) Y DAÑOS EN OTRA PROPIEDAD.

ILLUMINA NO ASUME NINGUNA RESPONSABILIDAD QUE SE DERIVE DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE) NI DEL USO DE DICHOS PRODUCTOS FUERA DEL ÁMBITO DE LAS LICENCIAS EXPRESAS ESCRITAS O LOS PERMISOS OTORGADOS POR ILLUMINA EN RELACIÓN CON LA ADQUISICIÓN DE DICHOS PRODUCTOS POR PARTE DE LOS CLIENTES.

#### PARA USO EXCLUSIVO EN INVESTIGACIÓN

© 2014 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Illumina, 24sure, BaseSpace, BeadArray, BlueFish, BlueFuse, BlueGnome, cBot, CSPro, CytoChip, DesignStudio, Epicentre, GAIIx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, HiSeq X, Infinium, iScan, iSelect, ForenSeq, MiSeq, MiSeqDx, MiSeq FGx, NeoPrep, Nextera, NextBio, NextSeq, Powered by Illumina, SeqMonitor, SureMDA, TruGenome, TruSeq, TruSight, Understand Your Genome, UYG, VeraCode, verifi, VeriSeq, el color naranja calabaza y el diseño de las bases de streaming son marcas comerciales de Illumina, Inc. o de sus filiales en EE. UU. u otros países. Todos los demás nombres, logotipos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

## Historial de revisiones

N.º de referencia	Revisión	Fecha	Descripción del cambio
15006165_ESP	Ν	Noviembre de 2014	Adición del HiSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit, que admite la generación de grupos en el modo de experimento rápido de HiSeq Rapid Run v2 en el instrumento HiSeq 2500 y el HiSeq 1500.
			celda de flujo HiSeq Rapid v2, incluidas las fórmulas compatibles.
	Adición de duración de la generación de grupos para las celdas de flujo rápidas.		
			Adición de HiSeq X HD Reagent Kit v2, paquete de una sola unidad o paquete de 20 unidades.
			Adición de información sobre la orientación de la placa de reactivos de cBot para el kit HiSeq X.
			Adición de nota indicando que no es posible confirmar la administración de reactivos de la placa de reactivos suministrada en el HiSeq X HD Reagent Kit v2.

N.º de referencia	Revisión	Fecha	Descripción del cambio
15006165_ESP	М	Septiembre de 2014	Eliminación del kit de rehibridación de cebadores HiSeq Multi-Primer Rehybridization Kit v4 de los kits cBot disponibles. El kit de rehibridación de cebadores HiSeq Multi-Primer Rehybridization Kit v4 solo se utiliza en el HiSeq. Eliminación de HiSeq X de la lista de flujos de trabajo que requieren cebadores en la posición Primers (Cebadores). La gradilla de ocho tubos que contiene los reactivos ExAmp y la biblioteca del flujo de trabajo de HiSeq X se cargan en la posición Templates (Plantillas). Adición del nombre de la fórmula utilizada con una celda de flujo rápida y el kit de carga de muestras TruSeq Rapid Duo Sample Loading Kit a las fórmulas y los tipos de celdas de flujo de cBot. Corrección de la frecuencia del programa de mantenimiento periódico para el lavado de mantenimiento mensual. Corrección de los títulos de documentación en la sección Recursos adicionales. Modificación de la URL de las hojas de datos de seguridad (SDS) a support.illumina.com/sds.html.
15006165_ESP	L	Abril de 2014	<ul> <li>Actualización a la versión 2.0 del software de cBot, lo que permite utilizar los kits de HiSeq v4 y HiSeq.</li> <li>Adición de información del flujo de trabajo para utilizar celdas de flujo de HiSeq v4 y de HiSeq X.</li> <li>Eliminación del procedimiento de desnaturalización de bibliotecas y preparación de un control PhiX. Consulte <i>Desnaturalización y dilución de bibliotecas para HiSeq y GAIIx (n.º de referencia 15050107)</i>.</li> <li>Eliminación de las instrucciones de preparación de reactivos. Para obtener instrucciones sobre la preparación de reactivos, incluida información sobre los cebadores de secuenciación, consulte la documentación del kit.</li> <li>Eliminación de la información sobre la instalación y la preparación del centro. Consulte la <i>Guía de preparación e instalación del centro de cBot (n.º de referencia 15053710_ESP)</i>.</li> </ul>

N.º de referencia	Revisión	Fecha	Descripción del cambio
15006165_ESP	K	Octubre de 2012	Adición de información para la hibridación de cadenas molde en una celda de flujo de TruSeq Rapid.
15006165_ESP	J	Julio de 2012	Adición de los requisitos de los cebadores de secuenciación para las bibliotecas de doble índice de TruSeq HT.
15006165	Н	Abril de 2012	Solo disponible en inglés. Actualización de la información sobre la secuenciación de bibliotecas de doble índice.
			Adición de los procedimientos siguientes:
			<ul> <li>Instrucciones para la preparación de reactivos, incluidas las instrucciones para la preparación de HP10.</li> </ul>
			<ul> <li>Procedimiento de rehibridación del cebador.</li> </ul>
15006165	G	Octubre de 2011	Solo disponible en inglés. Adición de la nueva sección titulada <i>Modificaciones de</i> secuencia de doble índice.
15006165	F	Junio de 2011	Solo disponible en inglés. Actualización del procedimiento para la preparación de plantillas de ADN para incluir las instrucciones relativas a concentraciones más altas y adición de la nota sobre la concentración de NaOH elevada.
15006165	E	Abril de 2011	Solo disponible en inglés. Actualización de las descripciones de software a la versión 1.4 del software de cBot.
			Adición de la siguiente información:
			<ul> <li>TruSeq Cluster Kit v3 y número de catálogo.</li> </ul>
			<ul> <li>Descripción de esquina grabada como orientación visual para la carga de la celda de flujo de HiSeq v3.</li> </ul>
			• Nueva sección titulada <i>Compatibilidad de la versión de los componentes del experimento</i> que enumera las versiones de software y fórmulas compatibles con varios tipos de celdas de flujo.
			Actualización del almacenamiento recomendado para la plantilla de ADN a una concentración de 2 nM y protocolo adaptado para la preparación de ADN con una plantilla de 2 nM.

N.º de referencia	Revisión	Fecha	Descripción del cambio
15006165	D	Octubre de 2010	<ul> <li>Solo disponible en inglés.</li> <li>Actualización de las descripciones de software a la versión 1.3 del software de cBot.</li> <li>Adición de la siguiente información:</li> <li>Densidades de grupo recomendadas basadas en la versión del software de análisis.</li> <li>Instrucciones para la actualización del software.</li> <li>Instrucciones para la recuperación de un experimento.</li> </ul>
15006165	С	Mayo de 2010	Solo disponible en inglés. Actualización de las descripciones de software a la versión 1.1 del software de cBot. Adición de recomendaciones para el almacenamiento de celdas de flujo. Incremento del volumen del lavado con agua a 12 ml y del lavado con DECON a 10 ml.
15006165	В	Marzo de 2010	<ul> <li>Solo disponible en inglés.</li> <li>Corrección de las instrucciones de centrifugado para la descongelación de la placa de reactivos.</li> <li>Adición de la siguiente información: <ul> <li>Instrucciones para la carga de la celda de flujo de HiSeq y las cadenas molde y los cebadores asociados.</li> <li>Instrucciones para la instalación de la placa adaptadora.</li> <li>Números de catálogo y descripciones del kit de generación de grupos HiSeq Cluster Generation Kit.</li> <li>Instrucciones para la configuración de la fecha y la hora locales con la ficha Time (Hora).</li> </ul> </li> <li>Procedimiento de lavado de mantenimiento mensual.</li> </ul>
15006165	А	Octubre de 2009	Solo disponible en inglés. Versión original

# Índice

	Historial de revisiones Índice	. iii .vii
Capítulo 1	Descripción general	. 1
	Introducción Componentes de cBot Consumibles proporcionados por Illumina Compatibilidad de la versión de los componentes del experimento Inicio del sistema cBot Software de cBot	2 4 7 10 12 13
Capítulo 2	Generación de grupos en cBot	19
	Introducción Flujo de trabajo de generación de grupos Realización de un lavado previo al experimento Selección de un protocolo Carga de consumibles Realización de una comprobación previa al experimento Monitorización del experimento Realización de procedimientos posteriores al experimento	20 22 23 25 26 33 35 36
Capítulo 3	Procedimientos de mantenimiento	4 <b>1</b>
	Realización de un mantenimiento periódico Realización del lavado de mantenimiento mensual	.42 .44
Capítulo 4	Solución de problemas	47
	Pausa o cancelación de un experimento Solución de problemas de fallos de comprobación del flujo Solución de problemas de experimentos Reinicio del lector de códigos de barras Recuperación de un experimento Actualizaciones del software Actualización de fórmulas Editor de protocolos	.48 .49 .53 .54 .57 .58 .60 .62

	Apagado de cBot	64
Apéndice A	Configuración de cBot	67
	Introducción Requisitos para configurar un experimento Control remoto Cambio de la placa adaptadora	
Índice alfab	ético	79
Asistencia te	écnica	

# Descripción general

2
1
7
)
2
3



## Introducción

cBot utiliza amplificación por puente para crear cientos de millones de plantillas de ADN de molécula única de forma simultánea.

El software de cBot suministra reactivos y controla los tiempos de reacción, la velocidad de flujo y las temperaturas. La configuración y el funcionamiento se llevan a cabo en el instrumento desde la interfaz de software de cBot con el monitor de pantalla táctil. Un lector de códigos de barras integrado en el instrumento registra los reactivos y la celda de flujo empleados para cada experimento.

Figura 1 cBot



Los siguientes kits de generación de grupos están disponibles para su uso en cBot. Utilice un kit de generación de grupos que sea compatible con el instrumento de secuenciación y el tipo de experimento de secuenciación que desee realizar. Para obtener una lista de los kits disponibles, consulte *Consumibles proporcionados por Illumina* en la página 7.

## Recursos adicionales

Puede descargar la siguiente documentación en el sitio web de Illumina.

Recurso	Descripción
Guía de instalación y preparación del centro de cBot (n.º de referencia 15053710_ESP)	Proporciona especificaciones para el espacio del laboratorio, los requisitos eléctricos y las cuestiones medioambientales.
Guía de cumplimiento y seguridad de cBot (n.º de referencia 15012615)	Proporciona información sobre el etiquetado del instrumento, las certificaciones de conformidad y las cuestiones de seguridad.
Desnaturalización y dilución de bibliotecas para HiSeq y GAIIx (n.º de referencia 15050107)	Proporciona instrucciones para la desnaturalización y dilución de bibliotecas preparadas antes de la secuenciación, y la preparación de un control PhiX. Este paso se aplica a la mayoría de los tipos de bibliotecas.

Visite la página de asistencia de cBot del sitio web de Illumina para acceder a la documentación, incluidas las instrucciones de preparación de reactivos para los kits de generación de grupos disponibles, así como las descargas de software, la formación en línea y las preguntas frecuentes.

## Componentes de cBot

cBot utiliza sensores para detectar la presencia de componentes del experimento y muestra mensajes cuando falta un componente o se ha instalado de forma incorrecta. La platina térmica y la platina de reactivos se encuentran debajo de la tapa de cBot. Por motivos de seguridad, el software le avisa de que debe cerrar la tapa antes de continuar con el experimento.

Figura 2 Componentes de cBot



- A **Platina térmica:** La platina térmica contiene la celda de flujo y controla la temperatura de la celda de flujo durante el experimento.
- **B Platina de reactivos:** La platina de reactivos contiene la placa de reactivos, las cadenas molde de la biblioteca y los cebadores específicos de cBot.
- C Compartimento de la botella de residuos: El compartimento de la botella de residuos contiene una botella de residuos controlada mediante un sensor que recoge los reactivos utilizados.
- D Lector de códigos de barras: El lector de códigos de barras integrado en el instrumento registra el ID único de la placa de reactivos y la celda de flujo empleadas con cada análisis.
- **E** Interruptor de alimentación: El interruptor de alimentación enciende el instrumento. El botón de arranque, situado a la izquierda del compartimento de la botella de residuos, inicia el software del instrumento.

F Monitor de pantalla táctil: El monitor de pantalla táctil ofrece el estado visual y la configuración del experimento integrado en el instrumento del proceso de generación de grupos.

### Platina térmica

La platina térmica contiene la celda de flujo y el distribuidor, que se encuentra por encima de la celda de flujo. La abrazadera de la celda de flujo fija la celda de flujo y el distribuidor en su sitio.



#### PRECAUCIÓN

No toque el bloque térmico de aluminio de la platina térmica. El calentador conlleva riesgos de quemadura grave mientras está en funcionamiento. Para obtener información adicional sobre seguridad, consulte *Guía de cumplimiento y seguridad de cBot (n.º de referencia 15012615)*.

Figura 3 Platina térmica



- A Abrazadera de salida
- B Abrazadera de la celda de flujo
- **C** Celda de flujo y distribuidor
- D Platina térmica
- E Peine dispensador

El distribuidor es un componente de un solo uso que suministra reactivos desde la placa de reactivos hasta la celda de flujo. Los dispensadores del peine dispensador perforan los cierres metálicos de los tubos de reactivos de la placa de reactivos. El extremo de salida del distribuidor transfiere los residuos al contenedor de residuos. La abrazadera de salida fija el extremo de salida del distribuidor en su sitio.

### Placas adaptadoras de celdas de flujo

cBot lleva a cabo la generación de grupos en las celdas de flujo de HiSeq y GAIIx. Para cambiar entre tipos de celdas de flujo, cambie la placa adaptadora de la platina de la celda de flujo. Para obtener más información, consulte *Cambio de la placa adaptadora* en la página 77.

## Platina de reactivos

La platina de reactivos contiene la placa de reactivos de cBot. La placa de reactivos está bloqueada en su posición con la palanca de la placa de reactivos. Dos portagradillas de ocho tubos situadas delante de la placa de reactivos contienen cebadores adicionales y las cadenas molde de la biblioteca preparada.



- A Placa de reactivos de cBot
- B Palanca de la placa de reactivos
- C Cadenas molde
- **D** Cebadores

## Consumibles proporcionados por Illumina

Los reactivos de cBot se suministran en una placa de reactivos que se carga directamente en el instrumento tras su descongelación. cBot es compatible con las celdas de flujo de GAIIx y todas las celdas de flujo de HiSeq. Los siguientes kits de Illumina están disponibles para su uso en cBot. El documento con los kits disponibles se encuentra en la página de asistencia de cBot en el sitio web de Illumina.

#### Kits de generación de grupos para HiSeq

Cada kit contiene una celda de flujo de HiSeq, un distribuidor específico según la celda de flujo y los reactivos necesarios para agrupar una celda de flujo en cBot. Para obtener una descripción del contenido del kit e instrucciones para la preparación de los reactivos, consulte la documentación del kit.

Nombre del kit	N.º de catálogo del kit
HiSeq SR Cluster Kit v4	N.º de catálogo GD-401-4001
HiSeq PE Cluster Kit v4	N.º de catálogo PE-401-4001
TruSeq SR Cluster Kit v3 - HS	N.º de catálogo GD-401-3001
TruSeq PE Cluster Kit v3 - HS	N.º de catálogo PE-401-3001
HiSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit	N.º de catálogo CT-403-2001
TruSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit	N.º de catálogo CT-402-4001

### Kits de generación de grupos para HiSeq X

Cada kit contiene múltiples celdas de flujo de HiSeq X, distribuidores específicos según la celda de flujo y los reactivos necesarios para agrupar celdas de flujo en el instrumento cBot. Los kits de paquete de una sola unidad contienen consumibles para la agrupación de dos celdas de flujo y los kits de paquetes de 20 unidades contienen consumibles para agrupar 20 celdas de flujo. Para obtener una descripción del contenido del kit e instrucciones para la preparación de los reactivos, consulte la documentación del kit.

Nombre del kit	N.º de catálogo del kit
HiSeq X HD Reagent Kit	N.º de catálogo FC-501-1001
HiSeq X HD Reagent Kit v2	N.º de catálogo FC-501-2001
HiSeq X HD Reagent Kit v2 (paquete de 20 unidades)	N.º de catálogo FC-501-2021

## Kits de generación de grupos para GAIIx

Cada kit contiene una celda de flujo de GA, un distribuidor específico según la celda de flujo y los reactivos necesarios para agrupar una celda de flujo en cBot. Para obtener una descripción del contenido del kit e instrucciones para la preparación de los reactivos, consulte la documentación del kit.

Nombre del kit	N.º de catálogo del kit
TruSeq PE Cluster Kit v2 - GA (cBot)	N.º de catálogo PE-300-2001
TruSeq SR Cluster Kit v2 - GA (cBot)	N.º de catálogo GD-300-2001

## Kit de rehibridación

Utilice un kit de rehibridación de cBot para realizar la rehibridación del cebador de Lectura 1 para la recuperación de experimentos o tras ampliar el almacenamiento de celdas de flujo.

Nombre del kit	N.º de catálogo
HiSeq X cBot Multi-Primer Rehybridization Kit	N.º de catálogo GD-305-1001
TruSeq cBot Multi-Primer Rehybridization Kit v2	N.º de catálogo GD-304-2001

Para obtener más información, consulte el documento de la celda de flujo que esté utilizando:

HiSeq X: Read 1 Primer Rehybridization on a HiSeq X Flow Cell (Rehibridación del cebador de Lectura 1 en una celda de flujo de HiSeq X), n.º de referencia 15053711 ▶ GAIIx o TruSeq v3: *Read 1 Primer Rehybridization on the cBot* (Rehibridación del cebador de Lectura 1 en cBot), n.º de referencia 15018149

#### Cebador de secuenciación Lectura 1 para bibliotecas de Nextera

El cebador de secuenciación Lectura 1 (HP6) suministrado en los siguientes kits no es compatible con las bibliotecas de Nextera:

- TruSeq Cluster Kit v3 HS
- TruSeq Cluster Kit v2 GA

Si va a realizar secuenciaciones de bibliotecas de Nextera, utilice el cebador de secuenciación Lectura 1 (HP10), independientemente del tipo de experimento que esté llevando a cabo. HP10 se suministra en la caja TruSeq Dual Index Sequencing Primer Box.

Nombre del kit	N.º de catálogo
TruSeq Dual Index Sequencing Primer Box, Single Read	N.º de catálogo FC-121-1003
TruSeq Dual Index Sequencing Primer Box, Paired End	N.º de catálogo PE-121-1003

Los demás kits de cBot incluyen HP10, que es compatible con las bibliotecas de TruSeq y de Nextera.

# Compatibilidad de la versión de los componentes del experimento

Para obtener unos resultados y un rendimiento óptimos, utilice siempre versiones compatibles del software y de los kits del instrumento cBot.

Versión de kit	Versión de fórmula	Versión del software
HiSeq X HD Reagent Kit v2	Fórmulas de la versión 2.0	cBot v2.0.29 o posterior
HiSeq X HD Reagent Kit	Fórmulas de la versión 1.0	cBot v2.0.16 o posterior
HiSeq Cluster Kit v4	Fórmulas de la versión 9.0	cBot v2.0.16 o posterior
HiSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit	Fórmulas de la versión R	cBot v1.5 o posterior
TruSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit	Fórmulas de la versión R	cBot v1.5 o posterior
TruSeq Dual Index Sequencing Primer Box	Fórmulas de la versión 8.0 (HiSeq) Fórmulas de la versión 7.0 (GA)	cBot v1.4.36 o posterior
TruSeq Cluster Kit v3 - HS	Fórmulas de la versión 8.0	cBot v1.4 o posterior
TruSeq Cluster Kit v2 - GA	Fórmulas de la versión 7.0	cBot v1.3 o posterior

11

## Fórmulas y tipos de celdas de flujo de cBot

Celda de flujo	Nombre de fórmula principal
Celda de flujo de tramas de HiSeq X HD v2	HiSeq_X_HD_Exclusion_Amp_v2.0
Celda de flujo de tramas de HiSeq X HD	HiSeq_X_HD_Exclusion_Amp_v1.0
Celda de flujo de HiSeq v4	SR_HiSeq_Cluster_Kit_v4_cBot_recipe_v9.0 PE_HiSeq_Cluster_Kit_v4_cBot_recipe_v9.0
Celda de flujo de TruSeq v3	SR_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v8.0 PE_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v8.0
Celda de flujo de HiSeq Rapid	RR_TemplateHyb_FirstExt_vR (Solo se utiliza con el HiSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit y TruSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit)
Celda de flujo de TruSeq Rapid	RR_TemplateHyb_FirstExt_vR (Solo se utiliza con el HiSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit y TruSeq Rapid Duo cBot Sample Loading Kit)
Celda de flujo de GAIIx v2	SR_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v7.0 * PE_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v7.0 *

\* Para acceder a las fórmulas v7, vaya a la ubicación C:\Illumina\cBot\bin\Recipes\Hidden de la unidad del instrumento. Copie las fórmulas en C:\Illumina\cBot\bin\Recipes.

## Inicio del sistema cBot

Para iniciar cBot, pulse primero el interruptor de alimentación y, a continuación, el botón de arranque.

Figura 5 Interruptor de alimentación y botón de arranque



- A Botón de arranque
- B Interruptor de alimentación
- 1 Localice el interruptor de alimentación en la parte derecha del instrumento y muévalo a la posición **ON** (encendido).
- Localice el botón de arranque en la parte izquierda de la puerta del compartimento de la botella de residuos y púlselo para iniciar el software.
  El software inicia un proceso de encendido. Cuando el proceso de encendido finaliza, se abre la pantalla de inicio.

## Software de cBot

La interfaz del software de cBot proporciona información para configurar el instrumento y supervisar el progreso de la generación de grupos.

Las pantallas de software siguientes se utilizan durante un experimento de generación de grupos: la pantalla de inicio, las pantallas de configuración del experimento y la pantalla de estado del experimento.

Utilice la interfaz del software de cBot para configurar los requisitos de entrada, las preferencias de lavado, las notificaciones por correo electrónico y el control remoto. Para obtener más información, consulte *Configuración de cBot* en la página 67.

## Pantalla de inicio

La pantalla de inicio de cBot se abre cuando se enciende el instrumento y se está ejecutando el software.



Figura 6 Pantalla de inicio de cBot

- A Botón Menu (Menú): Permite acceder a las pantallas de configuración, la configuración
  - de comandos manuales, el editor de protocolos y la pantalla About (Acerca de).
- B Estado del sensor: Muestra el estado de los componentes de cBot.
- C Nombre de usuario: Permite registrar el nombre de usuario.
- **D Botón Start** (Iniciar): Seleccione **Start** (Iniciar) para ir a la pantalla de configuración del experimento.

**E** Mensajes de error: Los mensajes de error aparecen en la pantalla y solicitan información.

## Pantallas de configuración del experimento

Las pantallas de configuración del experimento le guiarán a través de los pasos de configuración del experimento, tal y como se indica a continuación:

- **Wash** (Lavado): Realice un lavado previo al experimento.
- **Protocol** (Protocolo): Defina un nombre para el experimento y seleccione un protocolo.
- **Reagents** (Reactivos): Registre el ID del kit de reactivos y cargue los reactivos.
- Flow Cell (Celda de flujo): Registre el ID de la celda de flujo y cargue la celda de flujo.
- Manifold (Distribuidor): Cargue el distribuidor, y asegure las abrazaderas y el peine dispensador.
- **Tube Strips** (Gradillas de tubos): Cargue la gradilla de ocho tubos que contiene las cadenas molde.
- Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento): Comprueba la disponibilidad de los componentes y confirma la corrección del flujo.

## Características de la pantalla de configuración del experimento

Cada pantalla de configuración del experimento contiene mensajes con instrucciones, estados del sensor y campos de entrada.

Lea los datos obligatorios, como el ID de reactivo y el ID de la celda de flujo, con el lector de códigos de barras, o seleccione el icono del teclado e introduzca el ID manualmente. Se muestran las entradas manuales y del sistema en la pantalla.

Figura 7 Tipos de entradas de la pantalla de configuración del experimento

	Menu CBot	
A	A wash is recommended before each run. You may select skip if you would like to bypass the wash.	
B	Wash > Protocol > Reagents > Flow Cell > Manifold > Tube Strips > Pre-Run Check	
C	Manifold removed	
/	Reservoir filed with water	E
D	Wash reservoir dry	F
	Summary Help	
	PREVIOUS Waste Bottie Present The Comb Missing	

- A Mensajes con instrucciones: Proporcionan información para realizar acciones necesarias.
- **B** Entrada del sistema: Una casilla de verificación coloreada hasta la mitad indica la entrada por parte del instrumento.
- **C Entrada manual:** Una casilla de verificación completamente coloreada indica la entrada manual.
- D Iconos del sensor: Los sensores indican el estado de los componentes del experimento.
- **E Summary** (Resumen): Proporciona una lista de los ID de los componentes y el estado de la configuración.
- **F Help** (Ayuda): Abre la ayuda integrada en el instrumento, que contiene instrucciones y vídeos detallados.

#### Iconos de estado del sensor

Los iconos de estado del sensor indican si un componente se ha instalado correctamente y está listo para el experimento. La tabla siguiente describe los distintos estados de los iconos de estado del sensor.

#### Icono Indicación/significado

Placa adaptadora de la celda de flujo de GAIIx instalada.



Placa adaptadora de la celda de flujo de HiSeq instalada.

Icono	Indicación/significado
Ø	Tipo de placa adaptadora de la celda de flujo desconocido.
	La tapa del instrumento está abierta.
	La tapa del instrumento está cerrada.
	Hay una botella de residuos y está lista para el uso.
	La botella de residuos está llena.
?	Falta la botella de residuos.
~	El refrigerante circula y el nivel de refrigerante es bueno.
	Advertencia: El refrigerante circula, pero el nivel de refrigerante es bajo.
*	Error: El refrigerante no circula, pero el nivel de refrigerante es bueno.
	Error: El refrigerante no circula y el nivel de refrigerante es bajo.
Î	El distribuidor está cargado y el peine dispensador está asegurado.
	Falta el distribuidor o el peine dispensador no está asegurado.

## Pantalla de estado del experimento

La pantalla de estado del experimento muestra el estado de un experimento de generación de grupos e incluye los siguientes detalles del experimento:

- La barra de estado que muestra el progreso del experimento
- La fecha y la hora de inicio, la fecha y la hora de fin y el tiempo restante
- Los pasos del protocolo de generación de grupos con la barra de estado de cada paso
- El reactivo en uso en ese momento
- La temperatura en ese momento (°C)
- El estado del comando en el paso en el que se encuentre

#### Figura 8 Pantalla de estado del experimento

				STATION IE USER NAME FLOW CELL	CBot Station Name UserName FC1234
Run Status	Start Time 4/12/2010 11.56 AM		Estimated E 4/12/2010 1	nd Time 59 PM	Time Left: 01:31:54
Running		Protoco	Progress	77.%	
STEP (Name/Progress)	REAGENT	TEMP	TIME	STATUS	
Template Hybridization				100 %	
Amplification			-	100 %	0
Linearization PE	LMX1	37.9°C	33:54	67 %	
Blocking					
Hybridization					
Drain Sippers			[		[°C]
	Lid Closed	2	Coolant Fi	owing evel Ök	( and a second

- A Barra de estado visual
- B Pasos del protocolo
- C Iconos del sensor
- **D** Tiempo restante del experimento
- E Conmutación entre los pasos del experimento y el gráfico de la temperatura
- F Información de los pasos del protocolo

# Generación de grupos en cBot

Introducción	20
Flujo de trabajo de generación de grupos	22
Realización de un lavado previo al experimento	23
Selección de un protocolo	25
Carga de consumibles	26
Realización de una comprobación previa al experimento	33
Monitorización del experimento	35
Realización de procedimientos posteriores al experimento	36



## Introducción

Todos los pasos de generación de grupos se realizan en cBot, a excepción de la preparación de bibliotecas para la secuenciación y la preparación de la placa de reactivos de cBot. Los pasos de la generación de grupos para una celda de flujo rápida se componen únicamente de la hibridación de la plantilla y de la primera extensión. Los demás pasos se llevan a cabo en el instrumento de secuenciación.

La configuración de cBot para la generación de grupos incluye los pasos para seleccionar un protocolo y, después, cargar los consumibles.

La duración de la generación de grupos depende de la celda de flujo que esté utilizando:

- HiSeq v4: El experimento dura, aproximadamente, 2,5 horas.
- GAIIx v2 o TruSeq v3: El experimento dura, aproximadamente, 5 horas.
- HiSeq Rapid v2 o TruSeq Rapid (v1): Deje que pase aproximadamente 1 hora para que finalice el experimento.

### Preparación de consumibles

Antes de configurar cBot para la generación de grupos, consulte la documentación del kit para obtener las instrucciones de preparación:

> Se debe descongelar y comprobar la placa de reactivos de cBot de todos los kits.



Las placas de reactivos de cBot difieren en su configuración. Consulte la documentación del kit para comprobar su contenido y leer las instrucciones de preparación de reactivos.

La generación de grupos en una celda de flujo de HiSeq X requiere unos pasos adicionales para preparar la celda de flujo de tramas y los reactivos para la reacción de ExAmp. Para obtener información adicional, consulte la documentación del kit.

Descargue la documentación del kit de cBot en la página de asistencia de cBot del sitio web de Illumina.

## Preparación de bibliotecas

Antes de configurar cBot para la generación de grupos, prepare las bibliotecas para la secuenciación. El proceso será diferente en función del tipo de biblioteca y el tipo de celda de flujo.

- La mayoría de las bibliotecas de las celdas de flujo de TruSeq y las celdas de flujo de HiSeq requiere un paso de desnaturalización y dilución. Para obtener más información, consulte *Bibliotecas de desnaturalización y dilución para la secuenciación en HiSeq y GAIIx* (n.º de referencia 15050107).
- *No* desnaturalice bibliotecas para su uso en la celda de flujo de tramas de HiSeq X.

## Flujo de trabajo de generación de grupos



Prepare la placa de reactivos y la celda de flujo. Consulte *Preparación de consumibles* en la página 20.

Prepare las bibliotecas para la secuenciación y cárguelas en una gradilla de ocho tubos. Consulte *Preparación de bibliotecas* en la página 20.

Realice un lavado previo al experimento.

Seleccione un protocolo, cargue los consumibles y cargue las gradillas de tubos que contienen las bibliotecas preparadas.

Seleccione **Pre-Run Check** (Comprobación previa al experimento) para iniciar la comprobación previa al experimento automatizada.



Seleccione **Start** (Iniciar). Supervise el progreso del experimento desde la pantalla de estado del experimento.



Descargue los componentes del experimento y confirme la administración de reactivos.



Lleve a cabo un lavado posterior al experimento.

## Realización de un lavado previo al experimento

Se recomienda llevar a cabo un lavado antes de la generación de grupos en cBot.

- 1 Seleccione **User Name** (Nombre de usuario). Se abre el teclado.
- 2 Con el teclado en pantalla, escriba su nombre y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).
- 3 Seleccione Start (Iniciar) para continuar con el lavado previo al experimento.
- 4 Compruebe que la casilla de verificación, controlada por el sistema, que está situada junto a **Manifold Removed** (Distribuidor retirado) está seleccionada. Si no lo está, retire el distribuidor antes de continuar.
- 5 Levante la tapa de cBot con cuidado desde la esquina superior derecha.
- 6 Llene el depósito de lavado situado detrás de la platina térmica con aproximadamente 12 ml de agua desionizada.
- 7 Cierre la tapa de cBot.
- 8 Seleccione la casilla de verificación que aparece en pantalla para indicar que hay agua. El botón Wash (Lavado) se activará.
- 9 Seleccione Wash (Lavado).
- 10 Tras finalizar el lavado, elimine el exceso de agua del depósito de lavado con una toallita sin pelusa. Evite los puertos de salida para impedir que las fibras entren en los orificios.

Figura 9 Secado del depósito de lavado



- 11 Seleccione la casilla de verificación que aparece en pantalla para indicar que el depósito de lavado está seco.
- 12 Seleccione Next (Siguiente).

## Selección de un protocolo

- 1 Seleccione **Experiment Name** (Nombre del experimento). Se abre el teclado.
- 2 Con el teclado en pantalla, escriba el nombre del experimento y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).
- 3 Seleccione la fórmula adecuada para su experimento en la lista de protocolos. Seleccione la barra de desplazamiento para desplazarse por los protocolos disponibles. Para obtener información adicional, consulte *Fórmulas y tipos de celdas de flujo de cBot* en la página 11.
- 4 Seleccione Next (Siguiente).

## Carga de consumibles

El software le guía por los pasos necesarios para cargar la placa de reactivos de cBot, la celda de flujo, el distribuidor del cBot y la gradilla de ocho tubos que contiene las bibliotecas preparadas. En función del protocolo de generación de grupos seleccionado, el software le solicita que cargue una gradilla de ocho tubos de los cebadores adicionales.

## Carga de la placa de reactivos

- 1 Retire la tapa de plástico transparente de la placa de reactivos de cBot.
- 2 Ejerza una ligera presión hacia abajo en los tubos de la placa de reactivos para asegurarse de que estén bien colocados en esta.
- 3 Seleccione Scan Reagent ID (Leer ID de reactivo) para activar el lector de códigos de barras. Oirá un pitido que indica que el lector ha leído correctamente el código de barras. El ID de reactivo aparece en la pantalla.
- 4 Levante la tapa de cBot.
- 5 [Para las placas de reactivos de TruSeq v3 (HS) y TruSeq v2 (GA)] **Retire la lámina** roja de la fila 10 (HP5):
  - a Sujetando cada extremo de la gradilla de tubos de la fila 10, retire con cuidado la lámina roja de la gradilla de ocho tubos. Deseche la lámina como corresponda.
  - b Seleccione la casilla de verificación que aparece en pantalla para indicar que se ha retirado la lámina.
- 6 Tire de la palanca de la placa de reactivos accionada mediante resorte para abrir la abrazadera.
- 7 Coloque la placa de reactivos en la platina de reactivos como se indica a continuación:
  - **Para todas las placas de reactivos, excepto HiSeq X HD v2:** Coloque la placa con la fila 1 directamente detrás del portagradillas de ocho tubos. Asegúrese de que la esquina biselada de la placa está colocada en la esquina delantera derecha.
  - **Para las placas de reactivos HiSeq X HD v2:** Coloque la placa con la etiqueta del código de barras orientada hacia la parte posterior del instrumento. Asegúrese de que las esquinas biseladas de la placa de reactivos están colocadas directamente detrás de los portagradillas de ocho tubos.



La configuración de la placa de reactivos difiere en función de los tipos de kits. Las placas de reactivos varían en el número de filas que contiene una gradilla de tubos.

La placa de reactivos suministrada en los kits de reactivos HiSeq X HD v2 es una placa de pocillos profundos que no contiene ninguna gradilla de tubos.

Consulte la documentación del kit para obtener más información sobre la configuración de la placa de reactivos.

Figura 10 Colocación de la placa de reactivos



- 8 Suelte la palanca de la placa de reactivos para fijar la placa de reactivos.
- 9 Seleccione la casilla de verificación que aparece en pantalla para indicar que se ha cargado la placa de reactivos.
- 10 Seleccione Next (Siguiente).

## Carga de la celda de flujo

- 1 Levante la abrazadera de la celda de flujo.
- 2 Lave la placa adaptadora de la platina térmica con una pequeña cantidad de agua desionizada y utilice un paño sin pelusa para secarla. Evite la entrada de fluidos en el interior del instrumento.
- 3 Extraiga la celda de flujo del almacenamiento:
  - Todas las celdas de flujo, a excepción de las de HiSeq X: Extraiga la celda de flujo del tubo de almacenamiento con pinzas de plástico. Lave la celda de flujo con agua desionizada y séquela con cuidado con una toallita para limpiar lentes aplicando un movimiento de arrastre. Repita el procedimiento hasta que la celda de flujo esté seca. Guarde el tubo y el tampón para un almacenamiento posterior.

- **Celda de flujo de HiSeq X:** La celda de flujo de tramas de HiSeq X está lista para su uso tras la preparación de la celda de flujo. Para obtener más información, consulte la *Guía de referencia del HiSeq X HD Reagent Kit (n.º de referencia 15050092).*
- 4 Seleccione **Scan Flow Cell ID** (Leer ID de celda de flujo) para activar el lector de códigos de barras.

También puede introducir el ID de reactivo con el teclado. Seleccione el icono del teclado para activar la opción de teclado.

5 Para leer el ID de la celda de flujo, acerque el tubo o el paquete de la celda de flujo etiquetado a la bandeja del lector de código de barras con el código de barras orientado hacia el instrumento. Oirá un pitido que indica que el lector ha leído correctamente el código de barras. El ID de la celda de flujo aparece en la pantalla.



PRECAUCIÓN

cBot requiere que la celda de flujo esté cargada con los orificios del puerto de la celda de flujo hacia arriba. La orientación de los carriles de las celdas de flujo de GAIIx y de HiSeq es opuesta cuando los orificios del puerto de la celda de flujo están hacia arriba.

- 6 Coloque la celda de flujo en la platina térmica con los orificios del puerto de la celda de flujo hacia arriba.
  - **Celdas de flujo de HiSeq y HiSeq X:** Con los orificios orientados hacia arriba, el carril 1 se encuentra en la parte derecha con la esquina grabada.
  - **Celdas de flujo de GAIIx:** Con los orificios orientados hacia arriba, el carril 8 se encuentra en la parte derecha con el ID del código de barras.
- 7 Seleccione la casilla de verificación para indicar que ha cargado la celda de flujo.
- 8 Seleccione Next (Siguiente).

## Carga del distribuidor

Utilice el distribuidor del mismo kit de generación de grupos que la celda de flujo. Los distribuidores son específicos en función del tipo de celda de flujo.

- 1 Extraiga el distribuidor del embalaje y revise los dispensadores del peine dispensador para detectar daños. Asegúrese de que las juntas de goma negras están colocadas correctamente.
- 2 Coloque el distribuidor sobre la celda de flujo con el peine dispensador orientado hacia la parte delantera de cBot.
- 3 Alinee el distribuidor con los pasadores guía de la platina térmica y colóquelo en su sitio encima de la celda de flujo. Asegúrese de que el distribuidor esté colocado correctamente para que cree un sellado hermético.
- 4 Seleccione la casilla de verificación para indicar que el distribuidor está colocado.
- 5 Cierre la abrazadera de la celda de flujo para que el distribuidor quede en su sitio y asegúrese de que el soporte esté bien fijado debajo de la pinza blanca.

Figura 11 Cierre de la abrazadera de la celda de flujo



- 6 Seleccione la casilla de verificación para indicar que ha cerrado la abrazadera de la celda de flujo.
- 7 Conecte el extremo de salida del distribuidor al puerto de salida del depósito de lavado y asegúrese de que está bien fijado.

B

Figura 12 Fijación del extremo de salida

- A Abrazadera de salida
- B Puerto de salida
- 8 Cierre la abrazadera de salida para fijar el extremo de salida del distribuidor.

- 9 Seleccione la casilla de verificación para indicar que el distribuidor está conectado al puerto de salida.
- 10 Alinee el peine dispensador con los 2 pasadores guía de metal situados en la parte delantera de la platina térmica.

Figura 13 Fijación del peine dispensador



- A Pasadores guía de metal
- B Lengüetas de plástico
- 11 Ajuste bien el peine dispensador en su sitio mediante las lengüetas de plástico situadas a cada lado del peine.
- 12 Asegúrese de que los dispensadores no están doblados y están colocados en perpendicular a la placa de reactivos.
- 13 Seleccione Next (Siguiente).

### Carga de cadenas molde

- 1 Seleccione **Enter Template Name** (Introducir nombre de cadena molde). Se abre el teclado.
- 2 Con el teclado en pantalla, introduzca el ID de la cadena molde y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).

Figura 14 Carga de cadenas molde y cebadores



- A Placa de reactivos (se muestra como referencia)
- **B** Cadenas molde
- C Cebadores
- 3 Cargue la gradilla de ocho tubos que contiene las bibliotecas preparadas en la fila TEMPLATE (CADENA MOLDE) del portagradillas de tubos. Asegúrese de que el orden de los tubos numerados se corresponda con la orientación de los carriles de la celda de flujo.
  - Celdas de flujo de HiSeq y HiSeq X: Asegúrese de que los tubos estén numerados de derecha a izquierda.
  - Celdas de flujo de GAIIx: Asegúrese de que los tubos estén numerados de izquierda a derecha.



HiSeq X, HiSeq v4 y TruSeq v3 (HiSeq)



HiSeq Rapid, TruSeq Rapid (HiSeq)



TruSeq v2 (GAIIx)

- 4 Seleccione la casilla de verificación para indicar que ha cargado las cadenas molde.
- 5 Si está utilizando cebadores adicionales, consulte *Carga de cebadores* en la página 32. De lo contrario, cierre la tapa de cBot. El botón Next (Siguiente) se activará.

### Carga de cebadores

La pantalla Load Primers (Carga de cebadores) aparece para los flujos de trabajo que permiten utilizar cebadores personalizados o requieren cebadores adicionales en función del protocolo seleccionado. Los siguientes flujos de trabajo requieren la carga de HP10 en la posición Primers (Cebadores) de cBot. Si desea obtener instrucciones para la preparación de reactivos, consulte la documentación del kit.

- Uso de bibliotecas de Nextera en una celda de flujo de TruSeq v3 (HiSeq)
- Uso de bibliotecas de Nextera en una celda de flujo de TruSeq v2 (GAIIx)
- 1 Seleccione **Enter Primer Name** (Introducir nombre de cebador). Se abre el teclado.
- 2 Con el teclado en pantalla, introduzca el ID de cebador y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).
- 3 Cargue la gradilla de ocho tubos que contiene los cebadores en la fila PRIMER (CEBADOR) del portagradillas de tubos. Asegúrese de que el orden de los tubos numerados se corresponda con la orientación de los carriles de la celda de flujo.
  - Celdas de flujo de HiSeq y HiSeq X: Asegúrese de que los tubos estén numerados de derecha a izquierda.
  - Celdas de flujo de GAIIx: Asegúrese de que los tubos estén numerados de izquierda a derecha.



HiSeq X, HiSeq v4 y TruSeq v3 (HiSeq)



HiSeq Rapid, TruSeq Rapid (HiSeq)



TruSeq v2 (GAIIx)

- 4 Seleccione la casilla de verificación para indicar que los cebadores están cargados y cierre la tapa de cBot.
- 5 Seleccione Next (Siguiente).

# Realización de una comprobación previa al experimento

La comprobación previa al experimento lee los sensores del instrumento para detectar la correcta instalación de los componentes del experimento y, a continuación, comprueba el fluido mediante los sensores de burbujas para detectar si hay aire en los conductos. La comprobación previa al experimento dura, aproximadamente, tres minutos.

Tras la correcta finalización de la comprobación previa al experimento, seleccione **Start** (Iniciar). Se abre la pantalla Run Status (Estado del experimento) y empieza la ejecución.

### Errores en los componentes del experimento

Si la comprobación previa al experimento falla debido a que se producen errores relacionados con los componentes del experimento, realice lo siguiente:

- 1 Compruebe que los componentes del experimento que han provocado algún error estén presentes y se hayan cargado correctamente.
- 2 Seleccione **Rerun Check** (Volver a ejecutar comprobación) para repetir la comprobación del sensor.
- 3 Si la comprobación sigue arrojando errores y el instrumento está configurado para que ignore el sensor, realice lo siguiente:
  - a Inspeccione visualmente los componentes del experimento para confirmar si están orientados correctamente.
  - b Seleccione Bypass Sensor Check (Ignorar comprobación del sensor) y Rerun Check (Volver a ejecutar comprobación). El instrumento continúa con la comprobación del flujo.

Si no ve la opción Bypass Sensor Check (Ignorar comprobación del sensor), el instrumento no está configurado para que ignore el sensor.

### Fallo de comprobación del flujo

El fallo de comprobación del flujo lo puede causar una celda de flujo cargada de forma incorrecta, un distribuidor defectuoso o una obstrucción en los conductos. Antes de utilizar la opción de ignorar la comprobación de flujo, consulte *Solución de problemas de fallos de comprobación del flujo* en la página 49.



NOTA El software le permite comprobar el flujo hasta tres veces.

### Monitorización del experimento

Menu CBot STATION ID: cBot Station Name USER NAME: UserName FLOW CELL: FC1234 Start Time: 4/12/2010 11:56 AM Estimated End Time 4/12/2010 1:59 PM **Run Status** Time Left: 01:31:54 - Running STEP (Name/Progress) REAGENT TEMP STATUS TIME Template Hybridization 100 % Amplification 100 % Linearization PE LMX1 37.9°C 33:54 67 % Blocking Hybridization **Drain Sippers** [°C] Coolant Flowing Coolant Level Of Lid Closed PAUSE ABORT RUN Waste Bottle Present Comb Present

La pantalla de estado del experimento le permite supervisar el experimento en curso.

Figura 15 Pantalla de estado del experimento

La duración de la generación de grupos depende de la celda de flujo que esté utilizando:

- HiSeq v4 o HiSeq X: El experimento dura, aproximadamente, 2,5 horas.
- GAIIx v2 o TruSeq v3: El experimento dura, aproximadamente, 5 horas.

Una vez finalizado el experimento, cBot mantiene la celda de flujo a una temperatura de 20 °C. La celda de flujo puede permanecer en el instrumento a esta temperatura durante la noche. Si desea obtener más información, consulte Almacenamiento de celdas de flujo en la página 38.

### Informe de datos del experimento

El informe de datos del experimento proporciona un resumen del experimento en curso. Puede ver el informe en cualquier momento durante el experimento o al final. Seleccione Menu (Menú) y, a continuación, Run Data (Datos del experimento).

# Realización de procedimientos posteriores al experimento

Los procedimientos posteriores al experimento sirven para confirmar si ha finalizado correctamente. Entre ellos se incluyen la visualización del informe de datos del experimento, la descarga de los componentes del experimento, la realización del lavado del instrumento y la confirmación de la administración de reactivos.

### Visualización del informe de datos del experimento

Al final del experimento, se abre automáticamente el informe de datos del experimento para indicarle que el experimento ha finalizado. El informe de datos del experimento muestra la siguiente información:

- El nombre del protocolo
- El ID de la celda de flujo
- El ID de reactivo
- El nombre de la cadena molde
- La hora de inicio y fin

### Descarga de componentes del experimento

1 Una vez finalizado el experimento, seleccione Unload (Descargar) para continuar.

Figura 16 Experimento finalizado, descarga de componentes

				USER NAME FLOW CELL	UserName FC1234
Run Status	Start Time: 4/12/2010 11:56 AM		Estimated En	nd Time: 00 PM	Time Left: 00:00:0
Completed		Protocol	Progress	100 %	
STEP (Name/Progress)	REAGENT	TEMP	TIME	STATUS	
Template Hybridization				100 %	
Amplification				100 %	0
Linearization PE				100 %	
Blocking				100 %	
Hybridization				100 %	
Drain Sippers				100 %	[°C]
PAUSE	Lid Closed	esent 🗐	Coolant Fi Coolant Le Comb Pre	owing rvel Ök sent	UNLOAD

- 2 Levante la tapa de cBot con cuidado desde la esquina superior derecha.
- 3 Suelte la abrazadera de salida que fija el extremo de salida del distribuidor.
- 4 Desconecte del puerto de salida el extremo de salida del distribuidor situado en el depósito de lavado.
- 5 Extraiga el peine dispensador de los pasadores guía de metal con las lengüetas de plástico situadas a ambos lados del peine.

Una vez extraído el peine dispensador, el instrumento selecciona la casilla de verificación que indica que el distribuidor está retirado.

Figura 17 Manifold Removed (Distribuidor retirado)

Remove the reagent plate from the stage along with the templates and primers tube strips.	STATION ID: cBot Station Name USER NAME: UserName FLOW CELL: FC1234
Run  Unload Consumables Post Wash	
Unload Consumables Manifold removed I have unloaded Reagent plate Template strip tube Primers strip tube	
	Summary Help
EXIT Lid Open Coolant Coolant	Flowing Level Ok WASH

- 6 Suelte la abrazadera de la celda de flujo.
- 7 Extraiga el distribuidor del cBot y asegúrese de que la celda de flujo sigue en la platina térmica. Es posible que la celda de flujo se pegue al fondo del distribuidor.
- 8 Levante con cuidado la celda de flujo de la platina térmica.
- 9 Tire hacia usted de la palanca de la placa de reactivos para soltarla. Retire la placa de reactivos de la platina de reactivos. Apártela hasta que vaya a comprobar la administración de reactivos.
- 10 Retire la gradilla de ocho tubos que contiene las cadenas molde. Apártela hasta que vaya a comprobar la administración de reactivos.

Este grupo de reactivos contiene formamida, una amida alifática que es una toxina que puede alterar la capacidad reproductora. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos puesto que puede provocar lesiones. Deseche los contenedores y el contenido no utilizado de acuerdo con las normativas de seguridad oficiales de su zona. Para obtener más información, consulte la hoja de datos de seguridad (SDS) de este kit en support.illumina.com/sds.html.

- 11 Si procede, retire la gradilla de ocho tubos que contiene los cebadores adicionales. Apártela hasta que vaya a comprobar la administración de reactivos.
- 12 Seleccione la casilla de verificación para indicar que ha descargado los reactivos, las cadenas molde y los cebadores. Cuando se hayan retirado todos los componentes, se activará el botón Wash (Lavado).
  - a Si no se retira un componente y aparece un error, retire el componente.
  - b Si el error continúa una vez retirado el componente, seleccione Bypass Sensor Check (Ignorar comprobación del sensor) para continuar con el lavado posterior al experimento.

Si no ve la opción Bypass Sensor Check (Ignorar comprobación del sensor), el instrumento no está configurado para que ignore el sensor.

 Seleccione Wash (Lavado) para continuar con el lavado posterior al experimento.
 Si ha configurado como opcional el lavado posterior al experimento, puede seleccionar Exit (Salir) para ignorar el lavado.

### Almacenamiento de celdas de flujo

**Celdas de flujo de TruSeq v2, TruSeq v3 y HiSeq v4:** Puede almacenar la celda de flujo en un tampón de almacenamiento en el tubo de la celda de flujo a una temperatura entre 2 °C y 8 °C. La celda de flujo permanece estable tras la hibridación del cebador hasta diez días si se ha almacenado correctamente en el tubo de la celda de flujo.

**Celdas de flujo de HiSeq y TruSeq Rapid:** Si va a realizar un experimento rápido, realícelo el mismo día que la carga de muestras.

**Celda de flujo de HiSeq X:** Puede almacenar la celda de flujo en un tampón de almacenamiento durante un máximo de 48 horas a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

### Realización de un lavado posterior al experimento

- 1 Lave la placa de la platina térmica con agua desionizada para eliminar los residuos de sal y séquela con un paño sin pelusa.
- 2 Llene el depósito de lavado con aproximadamente 12 ml de agua desionizada. Cierre la tapa de cBot.
- 3 Seleccione la casilla de verificación que aparece en pantalla para indicar que hay agua.
- 4 Seleccione Wash (Lavado).
- 5 Cuando haya finalizado el lavado, elimine el exceso de agua restante del depósito de lavado. Evite los puertos de salida para impedir que las fibras entren en los orificios.
- 6 Seleccione la casilla de verificación que aparece en pantalla para indicar que el depósito de lavado está seco. El botón Exit (Salir) se activará.
- 7 Seleccione **Exit** (Salir). Se abre la pantalla de inicio. cBot está listo para otro experimento.

### Confirmación de la administración de reactivos



La confirmación de la administración de los reactivos es un paso opcional posible con las placas de reactivos que contienen gradillas de ocho tubos. No es posible confirmar la administración de reactivos individuales de la placa de reactivos suministrada en los kits de reactivos HiSeq X HD v2.

- 1 Compruebe visualmente los cierres metálicos de cada una de las gradillas de tubos y asegúrese de que los cierres se hayan perforado.
- 2 Sujete con firmeza la base de la placa de reactivos con los dedos y ejerza una ligera presión hacia arriba en los tubos centrales de la gradilla para soltar todas las gradillas de la base.
- 3 Compruebe visualmente los tubos para asegurarse de que haya un volumen similar en cada uno de ellos.



### NOTA

Una pequeña diferencia en la administración por carril es normal y no afecta al rendimiento.

Figura 18 Ejemplo de administración correcta de reactivos (celda de flujo de ocho carriles)







- 4 Si la administración de reactivos no se ha realizado correctamente y las láminas de los tubos de reactivos están perforadas, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
- 5 Compruebe la gradilla de ocho tubos que contiene las cadenas molde de la biblioteca.
- 6 Si ha utilizado cebadores adicionales con el experimento, compruebe la gradilla de ocho tubos que contiene los cebadores.

# Procedimientos de mantenimiento

Realización de un mantenimiento periódico	42
Realización del lavado de mantenimiento mensual	44



Guía del usuario de cBot

**Capítulo 3** 

### Realización de un mantenimiento periódico

Lleve a cabo los pasos de mantenimiento básico descritos en esta sección para garantizar un rendimiento óptimo.

Mantenimiento	Frecuencia	Descripción
Lavado del instrumento	Entre cada experimento y si el instrumento está inactivo durante más de un día.	Lleve siempre a cabo un lavado del instrumento después de cada experimento para eliminar las sales y las enzimas del hardware del instrumento y evitar obstrucciones. Si el instrumento ha permanecido inactivo más de 24 horas, se recomienda llevar a cabo un lavado previo al experimento. Para obtener más información, consulte <i>Realización de un</i> <i>lavado previo al experimento</i> en la página 23.
Vaciado de la botella de residuos	Entre cada experimento.	Para asegurarse de que el experimento no se interrumpa, vacíe la botella de residuos entre experimentos.
Limpieza de las superficies	Una vez a la semana.	Utilice agua desionizada y un paño sin pelusa para limpiar la superficie de la platina térmica y la platina de reactivos. Limpie la superficie de la cadena molde y los portagradillas de los cebadores.
Limpieza de la ventana del lector de códigos de barras	Una vez a la semana.	Utilice agua desionizada y un paño sin pelusa para limpiar la ventana del lector de códigos de barras.
Lavado de mantenimiento	Una vez al mes.	Utilice DECON al 5 % (o 100 mM de NaOH) para eliminar los restos de reactivos de los componentes internos de cBot e inhibir la proliferación de microorganismos. Para obtener más información, consulte <i>Realización del lavado de mantenimiento</i> <i>mensual</i> en la página 44.

Mantenimiento	Frecuencia	Descripción
Comprobación del nivel de refrigerante	Cada 3 meses.	Asegúrese de que el refrigerante verde se pueda ver a través de la ventana del refrigerante en el panel trasero del instrumento. Si es necesario, utilice un espejo para ver la ventana del refrigerante.
		Si el nivel de refrigerante es bajo, utilice una moneda ancha o un destornillador estándar para extraer la tapa del depósito de refrigerante y llene el depósito justo por debajo de la tapa del depósito.
		Utilice únicamente refrigerante suministrado por Illumina (n.º de referencia 1003709). Si necesita más refrigerante, póngase en contacto con un científico de aplicación de campo o un ingeniero de servicio de campo de Illumina.

### Realización del lavado de mantenimiento mensual

Realice un lavado de mantenimiento mensual con DECON al 5 % para eliminar los restos de reactivos de los componentes internos de cBot y evitar la proliferación microbiana. En regiones en las que DECON no esté disponible, se puede utilizar 100 mM de NaOH.

El lavado de mantenimiento requiere, aproximadamente, 10 minutos de participación activa y consta de cuatro pasos: un lavado con agua, un lavado con DECON o NaOH y dos lavados más con agua.

Consumibles proporcionados por el usuario

- Agua desionizada
- DECON al 5 % o 100 mM de NaOH
- Toallitas de laboratorio sin pelusa

### Realización de un lavado con agua

- 1 Compruebe que se hayan retirado todos los componentes del experimento antes de continuar. Para obtener más información, consulte *Descarga de componentes del experimento* en la página 36.
- 2 En la pantalla de inicio, seleccione **Menu** (Menú) y, a continuación, **Manual Commands** (Comandos manuales). Se abre la pantalla de comandos manuales.
- 3 Seleccione Commands (Comandos) para abrir la ficha Commands (Comandos).
- 4 Llene el depósito de lavado con aproximadamente 12 ml de agua desionizada.
- 5 Seleccione Wash (Lavado) en la ficha Commands (Comandos).
- 6 Tras finalizar el lavado, elimine el exceso de agua del depósito de lavado con una toallita sin pelusa. Evite los puertos de salida para impedir que las fibras entren en los orificios.

### Realización de un lavado con DECON (o NaOH)



PRECAUCIÓN

DECON es una solución de lavado altamente alcalina. Lleve guantes al eliminar la solución de DECON al 5 % para proteger la piel.

1 Llene el depósito de lavado con 10 ml de DECON al 5 % o 100 mM de NaOH.

- 2 Seleccione Wash (Lavado).
- 3 Tras finalizar el lavado, elimine el exceso de DECON al 5 % que quede en el depósito de lavado con una toallita sin pelusa. Evite los puertos de salida para impedir que las fibras entren en los orificios.
- 4 Continúe *immediatamente* con el lavado con agua para evitar que la solución de DECON se seque y obstruya los orificios del depósito de lavado.

### Realización de un lavado con agua (primer aclarado)

- 1 Llene el depósito de lavado con aproximadamente 12 ml de agua desionizada.
- 2 Seleccione Wash (Lavado).
- 3 Tras finalizar el lavado, elimine el exceso de agua que queda en el depósito de lavado con una toallita sin pelusa. Evite los puertos de salida para impedir que las fibras entren en los orificios.

### Realización de un lavado con agua (aclarado final)

- 1 Llene el depósito de lavado con aproximadamente 12 ml de agua desionizada limpia.
- 2 Seleccione **Wash** (Lavado).
- 3 Tras finalizar el lavado, elimine el exceso de agua que queda en el depósito de lavado con una toallita sin pelusa. Evite los puertos de salida para impedir que las fibras entren en los orificios.
- 4 Cierre la tapa de cBot y vacíe la botella de residuos. cBot está listo para el siguiente experimento de generación de grupos.

## 46

N.º de referencia 15006165 Rev. N ESP

# Solución de problemas

Pausa o cancelación de un experimento	48
Solución de problemas de fallos de comprobación del flujo	49
Solución de problemas de experimentos	53
Reinicio del lector de códigos de barras	54
Recuperación de un experimento	57
Actualizaciones del software	58
Actualización de fórmulas	60
Editor de protocolos	62
Apagado de cBot	64



Guía del usuario de cBot

### Pausa o cancelación de un experimento

Puede poner en pausa o cancelar el experimento con los comandos de la pantalla Run Status (Estado del experimento).

- Pause (Pausar): Finaliza el comando en curso del protocolo y, a continuación, pausa el experimento. Espere unos minutos a que el experimento se ponga en pausa. Una vez pausado el experimento, los dispensadores se extraen de los tubos de reactivos, la platina de reactivos regresa a su posición inicial y el botón Pause (Pausar) pasa a ser el botón Resume (Reanudar).
  - Si el experimento está activo, seleccione Pause (Pausar) para ponerlo en pausa.
  - Si el experimento está pausado, seleccione Resume (Reanudar) para reanudarlo.
- Abort Run (Cancelar experimento): Cancela el experimento sin la opción de reanudarlo.



NOTA La cancelación de un experimento es definitiva. No le permite reanudarlo. Seleccione **Unload** (Descargar) y descargue los componentes del experimento.

# Solución de problemas de fallos de comprobación del flujo

Realice el siguiente procedimiento para solucionar un fallo de comprobación del flujo. No seleccione la opción de ignorar la comprobación del flujo hasta que no haya finalizado este procedimiento para determinar las siguientes condiciones:

- La celda de flujo está correctamente colocada en el instrumento.
- El distribuidor y el hardware funcionan correctamente.

Dado que las celdas de flujo de TruSeq v3 y las celdas de flujo rápido utilizan comprobaciones de flujo distintas, asegúrese de utilizar la combinación de celda de flujo, distribuidor y fórmula correcta.

Asegúrese de que tiene suficiente HT1 en la fila 1 de la placa de reactivos. Si el nivel queda bajo debido a comprobaciones de flujo repetidas, añada el HT1 que se incluye en el TruSeq Cluster Kit.



NOTA

Al omitir la comprobación del flujo, puede provocar que algunos carriles no se agrupen correctamente.

- 1 Observe qué carriles no realizan la comprobación de flujo. Esta información se suministra en la esquina superior izquierda de la pantalla de la interfaz.
  - Si fallan los ocho carriles, es probable que la celda de flujo esté mal cargada. Quite el distribuidor, y confirme que los orificios de la celda de flujo están orientados hacia arriba y que la orientación de la celda de flujo es la correcta para la celda de flujo que está usando.
  - Si solo fallan algunos carriles, es posible que la celda de flujo no esté correctamente colocada. Quite el distribuidor, vuelva a colocar la celda de flujo y vuelva a instalar el distribuidor.
- 2 Seleccione **Rerun Check** (Volver a ejecutar comprobación) para repetir la comprobación de flujo por segunda vez.
- 3 Si la comprobación del flujo falla una segunda vez, tome nota de los carriles que fallan y lleve a cabo una de las acciones siguientes:
  - Si vuelven a fallar los ocho carriles, es probable que el distribuidor esté defectuoso. Quite el distribuidor y sustitúyalo por uno nuevo. Para obtener información adicional, consulte *Carga del distribuidor* en la página 28.

- Si han fallado distintos carriles, probablemente no sea problema del distribuidor. Compruebe visualmente los volúmenes de HT1 de la fila 1 para asegurarse de que los tubos contienen los mismos volúmenes.
- 4 Seleccione **Rerun Check** (Volver a ejecutar comprobación) para repetir la comprobación de flujo por tercera vez.
  - Si la comprobación de flujo falla después de sustituir el distribuidor, vaya al paso 5.
  - Si la comprobación falla y no tiene que sustituir el distribuidor, vaya al paso 6.
- 5 Si la comprobación de flujo falla por tercera vez después de sustituir el distribuidor, es posible que haya un atasco en el hardware.
  - a Compruebe visualmente los volúmenes de HT1 de la fila 1 para asegurarse de que los tubos contienen los mismos volúmenes. Los volúmenes más elevados en los tubos que se corresponden con los carriles que presentan repetidos fallos de comprobación del flujo indican una obstrucción en el hardware.
  - b Extraiga los componentes del experimento y realice un lavado de mantenimiento. Para obtener más información, consulte *Realización del lavado de mantenimiento mensual* en la página 44.
  - c Después del lavado, apague el instrumento con el interruptor de alimentación. Tras unos segundos, encienda el interruptor de alimentación y pulse el botón de arranque para reiniciar el software. Lleve a cabo este ciclo de apagado y encendido del instrumento para restablecer el número permitido de intentos de comprobación antes del experimento.
  - d Siga los mensajes del software para volver a cargar los componentes del experimento y configure el experimento.
- 6 Si la comprobación de flujo falla por tercera vez, puede ignorar con total seguridad la comprobación de flujo:
  - a Seleccione **Bypass Flow Check** (Ignorar comprobación de flujo) para continuar con el experimento.
  - b Después del experimento, compruebe que se ha administrado el reactivo de todos los tubos. Para obtener información adicional, consulte *Confirmación de la administración de reactivos* en la página 39.

# Solución de problemas de fallos de comprobación del flujo

### Diagrama de flujo para la solución de problemas

El siguiente diagrama de flujo ilustra el procedimiento para la solución de problemas. En los pasos para repetir la comprobación del flujo se incluye un número que indica cuántos intentos de los permitidos se han realizado hasta dicho momento del procedimiento.



experimento

Figura 20 Diagrama de flujo para la solución de problemas

### Solución de problemas de experimentos

Utilice la siguiente tabla para solucionar los posibles problemas que surjan durante un experimento de generación de grupos.

Problema	Causa posible	Acción
Temperatura fuera de rango	Suele indicar que cBot no ha alcanzado la temperatura determinada en el tiempo previsto. También puede indicar un posible fallo en la placa de control.	Envíe un correo electrónico al servicio de asistencia técnica de Illumina.
El refrigerante circula, pero el nivel es bajo	El refrigerante se ha evaporado lentamente y ahora el nivel es bajo.	Añada el refrigerante suministrado por Illumina (n.º de referencia 1003709) al depósito de refrigerante.
El refrigerante no circula y el nivel de refrigerante es bajo	Puede que el nivel de refrigerante sea demasiado bajo para generar flujo.	Añada el refrigerante suministrado por Illumina (n.º de referencia 1003709) al depósito de refrigerante.
El refrigerante no circula y el nivel de refrigerante no es bajo	Posible fallo de la bomba de refrigerante.	Envíe un correo electrónico al servicio de asistencia técnica de Illumina.
El instrumento está bloqueado	Posible error de software.	Envíe un correo electrónico al servicio de asistencia técnica de Illumina.

### Reinicio del lector de códigos de barras

El lector de códigos de barras cBot está listo para su uso cuando recibe el instrumento. Si el lector de códigos de barras se reinicia con una configuración incorrecta, siga estas instrucciones para restablecer la configuración predeterminada.

- 1 Imprima los códigos de barras.
- 2 Corte cada código de barras en una franja individual.
- 3 En la pantalla de inicio, seleccione **Menu** (Menú) y, a continuación, **Manual Commands** (Comandos manuales).
- 4 En la pantalla de comandos manuales, seleccione **General** para acceder a las entradas de control manual del lector de códigos de barras.





- 5 En primer lugar, seleccione **Turn Off** (Apagar) y, a continuación, **Turn On** (Encender) para activar el lector de códigos de barras. Verá la línea láser en la placa del lector debajo de la pantalla LCD.
- 6 Lea los 11 primeros códigos de barras uno a uno y en orden secuencial (del 1 al 11) como se indica a continuación:

- Reinicio del lector de códigos de barras
- a Coloque el código de barras 1 debajo del lector de códigos de barras. Después, seleccione **Turn Off** (Apagar) y, a continuación, **Turn On** (Encender). Oirá un pitido que indica que el código de barras se ha leído.
- b Repita el paso anterior con los códigos de barras del 2 al 11. Léalos en orden secuencial.



Orden de lectura	Código de barras
10	
11	Level (00h)

### Recuperación de un experimento

Si un experimento falla, reinicie cBot. Al reiniciar el instrumento, puede recuperar el experimento u optar por cancelar completamente el experimento parcial.

1 Reinicie el instrumento. Tras el reinicio, aparece el siguiente mensaje en la pantalla de inicio:

"A recoverable run exists. Select Start to recover the run." (Hay un experimento por recuperar. Seleccione Start [Iniciar] para recuperarlo).

- 2 Seleccione **Start** (Iniciar). Se abre el cuadro de diálogo de recuperación de experimentos de cBot.
- 3 Seleccione OK (Aceptar). El software abre la pantalla de comprobación previa al experimento. Tras finalizar correctamente la comprobación previa al experimento, se reinicia el experimento desde el punto en el que se detuvo. También puede seleccionar Cancel (Cancelar) para cancelar el experimento parcial.

### Actualizaciones del software

Si utiliza la versión de software 1.3 o posterior, puede actualizar el software del instrumento en la pantalla de configuración con una unidad flash USB.

- 1 Introduzca la unidad flash USB que contiene el instalador de la nueva versión del software (por ejemplo, cBotSetupX86\_1.3.1.0.exe) en uno de los puertos USB de la parte delantera del instrumento. El instalador debe encontrarse en el directorio raíz de la unidad flash USB.
- 2 Seleccione **Menu** (Menú) en la esquina superior izquierda de la pantalla y, a continuación, **Configure** (Configurar). Se abre el teclado.
- 3 Inicie sesión con la contraseña predeterminada y seleccione **Enter** (Intro) para cerrar el teclado. Se abre la pantalla de configuración.
  - a Seleccione la tecla Mayús para que se muestren las letras minúsculas.
  - b Escriba la contraseña predeterminada (**admin**). La contraseña predeterminada se debe escribir con letras minúsculas.
- 4 Seleccione **Menu** (Menú) en la esquina superior izquierda de la pantalla y, a continuación, **Upgrade** (Actualizar).

Figura 22 Menú Upgrade Software (Actualizar software)

Shut Down Station
Reboot into FSE Mode
Reset Defaults
Upgrade
Upgrade Recipes
About

5 Se abre un cuadro de diálogo con un mensaje sobre la versión del software:

Mensaje	Acción
The software installer version is greater than the version currently installed on the cBot (La versión del instalador de software es posterior a la versión instalada actualmente en cBot).	Seleccione <b>OK</b> (Aceptar) para continuar con la instalación de la versión más reciente.
cBot cannot find a valid software installer (cBot no encuentra un instalador de software válido).	Puede introducir una actualización de cBot válida y seleccionar <b>OK</b> (Aceptar) para volver a intentarlo o <b>Cancel</b> (Cancelar) para cancelar la actualización.
The software installer version is equal or lower than the version currently installed on the cBot (La versión del instalador de software es la misma o una anterior a la versión instalada actualmente en cBot).	Seleccione <b>Cancel</b> (Cancelar) para cancelar la actualización u <b>OK</b> (Aceptar) para proceder a la instalación de la versión anterior.



**ADVERTENCIA** 

La unidad USB debe permanecer en la ranura USB durante el proceso de actualización. No utilice el instrumento durante la actualización.

6 Una vez que ha finalizado el reinicio de cBot y se muestra la pantalla de inicio de sesión, ya puede extraer la unidad flash USB.

### Actualización de fórmulas

Actualice las versiones de las fórmulas independientemente de las actualizaciones de software con una unidad flash USB que contenga el instalador de fórmulas.

1 Introduzca la unidad flash USB que contiene el nuevo instalador de fórmulas en uno de los puertos USB de la parte delantera del instrumento.



NOTA El instalador debe encontrarse en el directorio raíz de la unidad flash USB y no en una carpeta.

- 2 Seleccione **Menu** (Menú) en la esquina superior izquierda de la pantalla y, a continuación, **Configure** (Configurar).
- 3 Inicie sesión con la contraseña predeterminada y seleccione **Enter** (Intro) para cerrar el teclado.
  - a Seleccione la tecla Mayús para que se muestren las letras minúsculas.
  - b Escriba la contraseña predeterminada (**admin**). La contraseña predeterminada se debe escribir con letras minúsculas.
- 4 Seleccione **Menu** (Menú) en la esquina superior izquierda de la pantalla y, a continuación, **Upgrade Recipes** (Actualizar fórmulas).

Figura 23 Menú Upgrade Recipes (Actualizar fórmulas)

Shut Down Station
Reboot into FSE Mode
Reset Defaults
Upgrade
Upgrade Recipes
About



ADVERTENCIA

La unidad USB debe permanecer en la ranura USB durante el proceso de actualización. No utilice el instrumento durante la actualización. Tras completar la actualización, el instrumento cBot se reinicia de forma automática. El proceso de reinicio tarda unos 10 minutos.

5 Cuando haya finalizado el reinicio de cBot y se haya mostrado la pantalla de inicio de sesión, extraiga la unidad flash USB.

### Editor de protocolos

Puede editar protocolos en función de sus necesidades con el editor de protocolos. Puede repetir los pasos de un protocolo o cambiar el número de ciclos de amplificación en la sección de análisis químicos.

Cada protocolo consta de dos secciones principales:

- Sección de análisis químicos: Contiene instrucciones para los reactivos de bombeo, los cambios de temperatura y los tiempos de espera. La sección de análisis químicos del protocolo aparece en la parte superior de la pantalla Protocol Editor (Editor de protocolos).
- Sección de protocolos: Contiene una serie de pasos que constan de definiciones de análisis químicos. La sección de protocolos aparece en la parte inferior de la pantalla Protocol Editor (Editor de protocolos).

Si edita un protocolo existente, recuerde cambiar el nombre del protocolo.

- 1 En la pantalla de inicio, seleccione **Menu** (Menú) y, a continuación, **Protocol Editor** (Editor de protocolos). Se abre el editor de protocolos.
- 2 En Protocol Editor (Editor de protocolos), seleccione **Menu** (Menú) y, a continuación, seleccione un comando que describa lo que desea hacer:
  - Seleccione **Open** (Abrir) para abrir un protocolo existente.
  - Seleccione **Load from Library** (Cargar desde biblioteca) para cargar una definición de química o un paso del protocolo guardado en la biblioteca de cBot.
  - Seleccione New Chemistry Definition (Nueva definición de química) o New Protocol Step (Nuevo paso del protocolo) para crear una definición o un paso y guardarlos en la biblioteca de cBot.
- 3 Utilice la flecha de dirección hacia abajo situada a la izquierda del paso para ampliar los comandos del paso o la flecha de dirección hacia arriba para contraer los comandos.
- 4 Para editar un paso de una definición de química, selecciónelo. Las selecciones aparecen en el panel de la derecha para cambiar la bomba, la rampa de temperatura o los comandos de espera.
- 5 Para editar un paso del protocolo, seleccione el paso. Las selecciones aparecen en el panel de la derecha para cambiar el número de ciclos para la definición de química seleccionada.

6 Utilice los iconos del editor de protocolos situados a la derecha del nombre del paso para reorganizar, eliminar o copiar pasos y comandos.

-	Experiment: Flow	w Check:	Description:	
	TemplateDNAHy bridization	×		-
	↓ TempRamp ( 20 °c, 0.9 °c/sec )	× • •		
	Pump ( 60 μL/m, 120 μL, HT1 )	× • •		
	↓ TempRamp (96 °c, 0.9 °c/sec)	× • •		ľ
	Protocol Steps			
	- Template Hybridization + ×	* *		
	- Amplification + ×	* *		
	Linearization PE + ×	-		
- 1	Blocking		-	

Figura 24 Editor de protocolos, pasos ampliados

- A Sección de análisis químicos
- B Sección de análisis químicos ampliada
- C Sección de protocolos

### Iconos del editor de protocolos

Icono	Descripción
-	Mueve el paso seleccionado debajo del siguiente paso del protocolo.
	Mueve el paso seleccionado encima del paso anterior del protocolo.
×	Elimina el paso seleccionado.
+	Repite el paso seleccionado.
	Guarda los cambios en la biblioteca de protocolos.

### Apagado de cBot

No es necesario apagar cBot entre experimentos. Está diseñado para continuar funcionando en estado de espera en la pantalla de inicio.

- 1 Seleccione **Menu** (Menú) y, a continuación, **Configure** (Configurar). Se abre el teclado.
- 2 Introduzca la contraseña predeterminada con el teclado:
  - a Seleccione la tecla **Mayús** para que se muestren las letras minúsculas y escriba la contraseña predeterminada (**admin**). La contraseña predeterminada se debe escribir con letras minúsculas.
  - b Seleccione Enter (Intro). Aparece la pantalla de configuración.
- 3 En la pantalla de configuración, seleccione **Menu** (Menú) y, a continuación, **Shut Down Station** (Apagar estación). El software de cBot se apaga.

Figura 25 Shut Down Station (Apagar estación)



4 Para apagar cBot, mueva el interruptor de alimentación del panel de la derecha a la posición OFF (apagado).
# Reinicio en modo FSE

Los científicos de aplicación de campo o los ingenieros de servicio de campo cualificados de Illumina utilizan la opción de reinicio en modo FSE para actualizar el software o realizar el mantenimiento del instrumento.

# 66

# Configuración de cBot

ntroducción	. 68
Requisitos para configurar un experimento	69
Control remoto	. 76
Cambio de la placa adaptadora	. 77



Guía del usuario de cBot

# Introducción

Configure cBot utilizando el monitor de la pantalla táctil. Los pasos de la configuración incluyen la asignación del nombre del instrumento, la determinación de los requisitos del experimento y la selección de los tipos de entradas necesarios para cada experimento durante su configuración. Con una conexión de red, puede activar el control remoto, las alertas de correo electrónico y la compatibilidad con LIMS.

## Menú de la pantalla de inicio

1 Seleccione **Menu** (Menú) en la esquina superior izquierda de la pantalla y, a continuación, **Configure** (Configurar). Se abre el teclado.

Configure			
Manual Commands			
Protocol Editor	User Name:		
About	STAR		
	n Name		
ATION: cBot Statio			
ATION: cBot Statio	Coolant Flowing Coolant Level Ok	HiSeq	

Figura 26 Menú de la pantalla de inicio

- 2 Introduzca la contraseña predeterminada con el teclado:
  - a Seleccione la tecla Mayús para que se muestren las letras minúsculas.
  - b Escriba la contraseña predeterminada (**admin**). La contraseña predeterminada se debe escribir con letras minúsculas.
  - c Seleccione Enter (Intro). Se cierra el teclado.

# Requisitos para configurar un experimento

La pantalla de configuración incluye cuatro fichas: la ficha Run Setup (Configuración del experimento), la ficha Remote (Remoto), la ficha Alerts (Alertas) y la ficha Time (Hora).

En la ficha Run Setup (Configuración del experimento), puede definir un nombre para el instrumento, configurar las opciones de lavado y omisión del sensor, e indicar los campos que se deben rellenar antes de poder iniciar cada experimento. Esta configuración se puede modificar según sea necesario antes de iniciar cada experimento.

Menu						
STATION US					Save and	Exit
Run Setup	Remote	Alerts	Time	LIMS	Validation	
Station Nan	ne:		Requ	uired Fields	:	
	cBot Station Ne	ime		Use	er Name	-
Wash Before	e Run:		i I	Ext	periment Name	0
O F	Required	Optional		Rei	agent Kit ID	
Wash After	Run:	1		Flo	w Cell ID	
	(equired	Optional		Prir	mer Name	
Bypass Opt	ions:			_		

Figura 27 Ficha Run Setup (Configuración del experimento)

- A Nombre de la estación
- **B** Opciones de lavado y opciones de omisión
- **C** Campos obligatorios
- 1 Seleccione **Station Name** (Nombre de la estación) para asignar un nombre a cBot. Se abre el teclado.



#### NOTA

Seleccione la tecla **Mayús** para activar las letras minúsculas. Seleccione la tecla **Alt** para activar las teclas de los símbolos.

2 Escriba el nombre del instrumento con el teclado en pantalla y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).

3 Utilice los botones radiales para seleccionar las opciones de lavado previo y posterior al experimento.



NOTA

Para un rendimiento óptimo, Illumina recomienda lavar el instrumento con agua antes y después de cada experimento.

4 Para facilitar la opción de permitir que continúe el experimento incluso si se produce una lectura de sensor no válida durante la comprobación previa al experimento, seleccione la casilla de verificación **Allow Sensor Bypass** (Permitir ignorar sensor). Esta opción está desactivada de forma predeterminada.

Si esta función está activada, la opción aparece en la pantalla de comprobación previa al experimento si esta comprobación falla debido a un error en el sensor. Confirme visualmente que los componentes del experimento estén cargados correctamente antes de ignorar los sensores y continuar con la comprobación de la fluídica. Para obtener más información, consulte *Realización de una comprobación previa al experimento* en la página 33.

5 Seleccione la casilla de verificación para seleccionar los campos que se deben rellenar antes de iniciar cada experimento.

Los campos incluyen el nombre del usuario, el nombre del experimento, el ID del kit de reactivos, el ID de la celda de flujo, el nombre de cebador y el nombre de la cadena molde.

### Configuración de fecha y hora

En la ficha Time (Hora), puede definir la hora local y la fecha actual en el instrumento.

- 1 Seleccione la ficha Time (Hora).
- 2 Seleccione **Edit Date/Time** (Editar fecha/hora). Aparece el cuadro de diálogo Windows Date and Time Properties (Propiedades de la hora y la fecha de las ventanas).

#### Figura 28 Ficha Time (Hora)

STATION.US					Save and	d Ex
Run Setup	Remote	Alerts	Time	LIMS	Validation	
Time zo	Date and Tim	e Properties Time Zone	Ine	2 🛛		•
	Denuery 5 H T	2010 C	15			
Time:	3 4 5 10 11 1 17 18 1	1 2 6 7 8 9 2 13 14 15 16 9 20 21 22 23	17	1	Edit Date / Ti	me

- 3 Seleccione la zona horaria pertinente, la fecha actual y la hora actual correspondiente de su región.
- 4 Seleccione **OK** (Aceptar) para cerrar el cuadro de diálogo Windows Date and Time Properties (Propiedades de la hora y la fecha de las ventanas). Los cambios aparecen en la ficha Time (Hora).

#### Configuración de alertas de correo electrónico

En la ficha Alerts (Alertas), puede configurar el instrumento para que envíe una alerta por correo electrónico si se produce un problema en el sistema o cuando el experimento haya finalizado. Se requiere conexión de red.

1 Seleccione la ficha Alerts (Alertas).

#### Figura 29 Ficha Alerts (Alertas)

STATION US Save and Exit Run Setup Remote Alerts Time LIMS Validation SMTP Server: Server Port: Votification Events Vourname@domain.com Vhen run is completed For temperature out of range For mechanical failures	Menu						
Run Setup       Remote       Alerts       Time       LIMS       Validation         SMTP Server:       Server Port:       Notification Events         yourname@domain.com       Image: Completed in the properties of the	STATION US					Save and Exit	
SMTP Server: Server Port: yourname@domain.com Vhen run is completed For temperature out of range For mechanical failures	Run Setup	Remote	Alerts	Time	LIMS	Validation	
When run is completed For temperature out of range For mechanical failures	SMTP Serve Server Por	r:			Notificati	on Events	
						hen run is completed or temperature out of range	

- A Servidor de correo electrónico
- B Direcciones de correo electrónico
- C Eventos de notificación
- 2 Seleccione SMTP Server (Servidor SMTP). Se abre el teclado.



NOTA

Consulte con el administrador de las instalaciones el nombre del servidor SMTP y el puerto de servicio.

- 3 Con el teclado en pantalla, escriba el nombre del servidor SMTP y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).
- 4 Seleccione Server Path (Ruta del servidor). Se abre el teclado.
- 5 Con el teclado en pantalla, introduzca el puerto del servidor SMTP de correo electrónico y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).
- 6 Introduzca la dirección de correo electrónico para cada destinatario de alerta previsto:
  - a Seleccione **Add** (Añadir) para añadir las direcciones de correo electrónico de los destinatarios de las alertas. Se abre el teclado.
  - b Con el teclado en pantalla, escriba una dirección de correo electrónico y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).
  - c Vuelva a seleccionar **Add** (Añadir) para introducir una dirección de correo electrónico adicional.

- d Para verificar una dirección de correo electrónico, selecciónela y, a continuación, seleccione **Test** (Verificar).
- 7 En la zona Notification Events (Eventos de notificación), seleccione la casilla de verificación para identificar los eventos que activan una alerta de correo electrónico.

#### Activación del control remoto

En la ficha Remote (Remoto), puede configurar el software para supervisar el experimento de forma remota con la función de control remoto. Se requiere conexión de red.

- 1 Seleccione la ficha Remote (Remoto).
- 2 Seleccione la casilla de verificación que aparece junto a **Allow Remote Access** (Permitir acceso remoto).

La dirección IP del instrumento aparece en pantalla.

 Monu
 Save and Exit

 Run Setup
 Remote
 Alerts
 Time
 LIMS
 Validation

 Image: Constraint of the state of the

Figura 30 Ficha Remote (Remoto)

3 Utilice el navegador web de otro ordenador para acceder a la función de control remoto. Para obtener información adicional, consulte *Control remoto* en la página 76.

### Activación de la compatibilidad con LIMS

En la ficha LIMS, puede definir la hora local y la fecha actual del instrumento.

- 1 Seleccione la ficha LIMS.
- 2 Seleccione la casilla de verificación que aparece junto a Enable LIMS (Activar LIMS).

STATION US					Save and	d Exit
Run Setup	Remote	Alerts	Time	LIMS	Validation	
Ena	able LIMS					
	LIMS Server		_	_		

Figura 31 Ficha LIMS

- 3 Seleccione el campo junto al servidor LIMS. Se abre el teclado.
- 4 Con el teclado en pantalla, escriba el nombre del servidor LIMS y, a continuación, seleccione **Enter** (Intro).

# Definición de expresiones de validación

En la ficha Validation (Validación), defina expresiones regulares para los ID de las cadenas molde y los cebadores con el fin de estandarizar el modo de introducción de los ID.

1 Seleccione la ficha Validation (Validación).

Figura 32	Ficha Validation	(Validación)
-----------	------------------	--------------

- 2 Para definir expresiones para ID de cadenas molde, seleccione los campos que aparecen junto a **Templates** (Cadenas molde). Se abre el teclado.
  - a Introduzca una descripción del patrón para el ID de cadenas molde.
  - b Introduzca una expresión regular para el ID de cadenas molde.

La tabla siguiente muestra ejemplos de expresiones de validación:

Descripción del patrón	Expresión regular	Valor válido
Cadena molde: (###)	Cadena molde: $(\d{3})$	Cadena molde: (123)
ILMN: <de a="" f="">###</de>	ILMN: [a - fA - F]\d{3}	ILMN: D341
PR: <número 30="" 59="" a="" de=""></número>	PR: [3 - 5] [0 - 9]	PR: 41

3 Repita estos pasos para definir expresiones para ID de cebadores personalizados.

#### Cierre de la pantalla de configuración

Cuando haya finalizado la configuración de las opciones de instalación, seleccione **Save and Exit** (Guardar y salir). Se abre la pantalla de inicio de cBot. Ya puede iniciar un experimento de generación de grupos.

# Control remoto

El control remoto es una función que le permite supervisar el estado de cBot desde otro ordenador. Para aprovechar la función del control remoto, debe asegurarse de cumplir los requisitos siguientes:

- cBot debe estar conectado a una red.
- Allow Remote Access (Permitir acceso remoto) está seleccionado en la ficha Remote (Remoto). Para obtener más información, consulte Activación del control remoto en la página 73.

# Adición de cBot

- 1 Utilice el navegador web para ir a la dirección IP de control remoto indicada en la ficha Remote (Remoto) de la pantalla de configuración de cBot.
- 2 En el campo de la pantalla de control remoto, introduzca la dirección IP de cBot. Esta dirección es la misma dirección IP que aparece en la ficha Remote (Remoto) de cBot. Para obtener más información, consulte *Activación del control remoto* en la página 73.
- 3 Haga clic en **Add Instrument** (Añadir instrumento). Aparece en pantalla una imagen que representa el instrumento.

Figura 33 Pantalla de control remoto



La pantalla de control remoto muestra todos los instrumentos que ha añadido por nombre de instrumento. A primera vista, esta pantalla le permite supervisar el progreso del experimento y ver el estado actual del instrumento. Hay cuatro estados posibles: en funcionamiento, en pausa, detenido o error.

# Cambio de la placa adaptadora

Puede utilizar una celda de flujo de HiSeq o de GAIIx en cBot. Cada tipo de celda de flujo requiere que haya instalada una placa adaptadora específica en cBot antes de iniciar el experimento. Los iconos de la página de inicio indican qué placa adaptadora está instalada en cBot.

- 1 Levante la tapa de cBot con cuidado desde la esquina superior derecha.
- 2 Levante la abrazadera de la celda de flujo.
- 3 Afloje los dos tornillos de tipo Phillips que fijan la placa adaptadora.

Figura 34 Placa adaptadora de la celda de flujo



- A Tornillos de fijación
- B Placa adaptadora
- 4 Levante la placa adaptadora existente de la platina térmica y apártela.
- 5 Asegúrese de que la platina térmica está limpia. Si hay sal, limpie la platina con una toallita de limpieza sin pelusa ligeramente humedecida con agua.
- 6 Coloque la nueva placa adaptadora en la platina térmica alineando el brazo del sensor con la ranura correspondiente del lado derecho de la platina térmica.



- A Placa adaptadora de GAIIx
- B Placa adaptadora de HiSeq
- C Brazo del sensor de la placa adaptadora
- 7 Apriete los dos tornillos de tipo Phillips que fijan la placa adaptadora.
- 8 Para una transferencia de calor óptima, asegúrese de que la placa adaptadora está en posición horizontal y que los tornillos están completamente ajustados.
- 9 Limpie la placa adaptadora instalada con una toallita de limpieza sin pelusa, humedecida con agua y séquela con una toallita limpia. Evite la entrada de fluidos en el interior del instrumento.

# Índice alfabético

#### A

alertas de correo electrónico 71 asistencia al cliente 81 asistencia técnica 81 ayuda documentación 3 ayuda, en línea 14

#### В

botella de residuos 4, 42

#### С

cadenas molde carga 30 ID, introducción 30 orientación de la gradilla de tubos 30 campos obligatorios 69 cancelación de un experimento 48 cebadores, personalización carga 32 orientación de la gradilla de tubos 32 celda de flujo almacenamiento 35, 38 lectura de códigos de barras 27 limpieza 27 placa adaptadora 6,77 compatibilidad de versiones consumibles 10 software 10 componentes descarga 37 descripción general 4 comprobación de flujo sensores de burbujas 33 comprobación del flujo acerca de 14

fallo 49, 53 comprobación previa al experimento acerca de 14 realización 33 configuración de fecha y hora local 70 configuración de los requisitos del experimento 75 configuración de requisitos del experimento 68 configuración del experimento, campos obligatorios 69 confirmación de la administración de reactivos 39 consumibles compatibilidad de versiones 10 control remoto 73, 76

### $\Box$

definir fecha y hora local 73 depósito de lavado 23, 44 detención de un experimento 48 distribuidor abrazadera de salida 29 carga 28 descarga 37 inspección 28 peine dispensador 5, 29 solución de problemas 53 documentación 3, 81

#### Ε

editor de protocolos 62 estado del sistema 15

#### F

ficha de alertas 71 ficha de hora 70, 73 ficha de validación 74 ficha remoto 73 formación en línea 3

#### l

ID de cadena molde, expresión regular 74 ID de cebador, expresión regular 74 ignorar comprobación del flujo 49

#### L

lavado posterior al experimento 39, 42 lavado previo al experimento 23, 42 lavados configuración 69 frecuencia 42 posterior al experimento 39 previo al experimento 23 lector de códigos de barras 4 configuración 54 limpieza 42 reinicio 54

#### Μ

mantenimiento 65 cuidado periódico 42 lavado previo al experimento 23 lavados posteriores al experimento 39 mensajes de error 13, 71 modo FSE 65 monitor de la pantalla táctil 4

#### Ν

nombre de la estación 69 nombre de usuario 13, 23

#### C

opción para ignorar el sensor 33, 38, 70

#### Ρ

pantalla de estado del experimento 16 pantalla de inicio 13 Pantalla de inicio 68 pantallas de configuración 68 pantallas de configuración del experimento 14, 35 pausa de un experimento 48 placa adaptadora 6, 77 placa adaptadora de HiSeq 6, 77 placa de reactivos 6 platina de reactivos 4, 6 platina térmica 4-5 protocolo edición 62 selección 25

## R

reactivos carga 26 confirmación de la administración 39 ID, introducción 26 refrigerante flujo para la resolución de problemas 53 nivel 43 resumen del experimento 36

### S

sensores, iconos 14-15 solución de problemas fallo de comprobación del flujo 49, 53 mensajes de error 53

#### Т

teclado, pantalla táctil 14, 64, 68 técnica, ayuda 81 temperatura fuera de rango 53

# Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Tabla 1 Información de contacto general de infumin	Tabla I	Information	de	contacto	general d	e Illumina
--	---------	-------------	----	----------	-----------	------------

Dirección	5200 Illumina Way San Diego, CA 92122, EE. UU.
Sitio web de	www.illumina.com
Correo electrónico	techsupport@illumina.com

Tabla 2 Números de teléfono del Servicio de asistencia al cliente de Illumina

Zona	Número de contacto	Zona	Número de contacto
Norteamérica	1.800.809.4566	Irlanda	1.800.812949
Alemania	0800.180.8994	Italia	800.874909
Austria	0800.296575	Noruega	800.16836
Bélgica	0800.81102	Países Bajos	0800.0223859
Dinamarca	80882346	Reino Unido	0800.917.0041
España	900.812168	Suecia	020790181
Finlandia	0800.918363	Suiza	0800.563118
Francia	0800.911850	Otros países	+44.1799.534000

#### Hojas de datos de seguridad

Las hojas de datos de seguridad (SDS) están disponibles en el sitio web de Illumina en support.illumina.com/sds.html.

#### Documentación del producto

La documentación del producto en PDF está disponible para su descarga en el sitio web de Illumina. Vaya a support.illumina.com, seleccione un producto y, a continuación, haga clic en **Documentation & Literature** (Documentación y literatura).

### **AAA**

Illumina 5200 Illumina Way San Diego, California 92122 U.S.A. +1.800.809.ILMN (4566) +1.858.202.4566 (fuera de Norteamérica) techsupport@illumina.com www.illumina.com