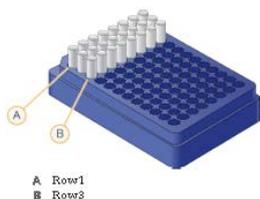
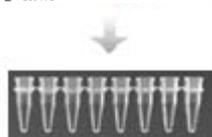


# cBot v1.5 Cluster Generation workflow

## TruSeq Rapid Duo Sample Loading Kit



使用に先立ち、試薬を解凍し、しっかりと混ぜる。



ライブラリを変性し、希釈して、8連チューブの1と2の well にそれぞれ分注する。



cBot の Pre-run wash を行う



cBot ソフトウェアの表記に従い、プロトコルを選択して、試薬プレート、フローセル、マニフォールド、8連チューブを cBot に設置する。



**Pre-run check** を選択して、プレランチェックを行う。



**Start** を選択して、ランを開始する。Run Status Screen で経過をモニタリングする。



試薬類を取り外し、試薬の使用量を確認する。



Post run wash を実施する。

cBot Recipe Name	対応 CG kit Version	Description
PE_Amp_Lin_Block_Hyb_v7.0.xml	v1, v2	通常の PE 用レシピ
PE_Amp_Lin_Block_Hyb_v8.0.xml	v3	同上
PE_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v7.0.xml	v1,v2	8連チューブに用意した Seq Primer を使う PE 用レシピ
PE_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v8.0.xml	v3	同上
PE_Lin_Block_Hyb_forlFC_v7.0.xml	v1,v2	Linearization→Primerhyb までを実施する、トレーニング用の特別レシピ
Repeat_Hyb_v7.0.xml	v1,v2	Seq primer 再ハイブリのための特別レシピ。専用 reagent plate の購入が必要
Repeat_Hyb_v8.0.xml	v3	同上
Repeat_TubeStripHyb_v7.0.xml	v1,v2	8 連チューブに用意した Seq primer を再ハイブリするための特別レシピ。専用 reagent plate の購入が必要。
Repeat_TubeStripHyb_v8.0.xml	v3	同上
<b>RR_TemplateHyb_FirstExt_vR.xml</b>	<b>RR</b>	<b>Raid run Mode 専用レシピ</b>
SR_Amp_Lin_Block_Hyb_v7.0.xml	v1,v2	通常の SR 用レシピ
SR_Amp_Lin_Block_Hyb_v8.0.xml	v3	同上
SR_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v7.0.xml	v1,v2	8 連チューブに用意した Seq Primer を使う SR 用レシピ
SR_Amp_Lin_Block_TubeStripHyb_v8.0.xml	v3	同上

## [1] Template DNA について

イルミナのシーケンスプラットフォームで高いクオリティのデータを得るには、フローセルの各レーンで、最適な密度でクラスターを形成させることが重要である。このためには、Template DNA library の濃度を正確に測定することが必要である。推奨される定量法については、ライブラリ作成時に参照したサンプル調整ガイドを参照すること。

Rapid Run フローセルの場合は、Hiseq での On board clusert generation 時に用いるサンプル濃度を適用すること。

### 推奨クラスター密度

#### HiSeq Flow Cell

Cluster Kit Version	Cluster Density	When Measured With
TruSeq Cluster Kit v3	750-850 K/mm <sup>2</sup>	RTA v1.12 or later
TruSeqDuo cBot Sample Loading Kit	850-1000 K/mm <sup>2</sup>	RTA v1.12 or later

### DNA Template 濃度

初めて使用するサンプルでは、フローセル上に形成されるクラスター数を最適化するため、濃度をふって解析したほうがよい。

- DNA 濃度が低すぎると、形成されるクラスター数は少なくなり、シーケンスデータの yield が低下する。DNA 濃度が高すぎると、クラスター同士がオーバーラップし、yield 低下や、シーケンスデータの質低下の要因となる。

### DNA Template 保存方法

イルミナでは、DNA template の保存濃度を 2nM にすることを推奨している。2nM への濃度調整の際は、0.1% になるよう Tween 20 を添加した、Tris-Cl 10mM, pH 8.5 (または Elution buffer (QIAGEN)) を用いる。

保存 Temple DNA の凍結融解を繰り返すと、クラスター数が減少することがあるが、Tris-Cl 10mM, pH 8.5 に 0.1% になるよう、Tween20 を加えることにより、繰り返しの凍結融解による、template DNA のチューブのプラスチックの壁面への固着を防ぐことができる。

## [2] Template DNA の調整

ここでは、Hiseq Rapid Run のフローセルで、クラスター形成のために DNA template をどのように調製するかを説明する。

### Illumina-Supplied Consumables (キット付属)

- HT1 (Hybridization Buffer), 解凍後、on ice にする

### User-Supplied Consumables

- 0.1N NaOH
- Tris-Cl 10mM, pH 8.5 with 0.1% tween(または Elution buffer (QIAGEN kit より))
- 2nM に調整した DNA template (Tris-Cl 10mM, pH 8.5 with 0.1% tween を用いて調整(希釈)しておく)
- 1.5mL チューブ
- 0.2 ml 8 連チューブ/フタ

(注意) 0.1 N NaOH は、常に用事調整する。クラスター合成に先立ち、サンプルの変性を完全にするために、新鮮な NaOH を用いることが重要である。

(注意) 作業は常にパウダーフリーのグローブを装着して操作すること。

(注意) NaOH は、強アルカリなので、取り扱いに注意する。

(注意) 後のステップで用いる試薬プレートは、解凍に 40min 程度を要するので、事前に解凍を始めておく。

### DNA template の変性

以下の手順に従い、template DNA を、0.1N NaOH で変性し、20pM 濃度に調整する。これは、cBot において、最大 20pM 濃度の最終 DNA 濃度のハイブリダイゼーションステップ の実施に適している。

(注意) 20pM の終濃度を超えるライブラリを調整する場合は、denature 時の NaOH の濃度が 0.05N を超えないようにする。また、HT1 で希釈した後の最終溶液における NaOH の濃度が 0.001N (1mM)を超えないようにする。高い NaOH 濃度は、ライブラリのハイブリダイゼーションを阻害し、クラスター形成を妨げる。

1. HT1 を室温で溶かし、転倒混和してよくミックスする。
2. HT1 を 1000rpm で 1min 遠心し、氷上に置く。
3. 1.5mL チューブに、各 DNA template それぞれを、以下のように調整する：

2nM Template DNA	10 uL
0.1N NaOH	10 uL
<hr/>	
Total Volume	20 uL, DNA template =[1nM], NaOH=[0.05N]

4. Template 溶液を、vortex してミックスする
5. 280 xg, 1min 遠心して溶液をスピンドウンする。
6. 常温で 5min 間置き、変性する(Single strands にする)。
7. 5min 経過後、氷上におく。
8. 氷温の HT1 を 980uL、7 のチューブに足す。この時 DNA template =[20pM], NaOH=[0.001N]。
9. Template 溶液を、vortex してミックスする。280 xg, 1min 遠心して溶液をスピンドウンする。
10. 最終的な濃度に調整するまで、氷上に置く。

## 変性した DNA の希釈

変性した DNA template を、下記の要領で、氷温に冷やした HT1 で最終液量 1000 $\mu$ l に希釈し、最終濃度に調整する。

1. 各レーンにどのサンプルをどの濃度で入れるかを決め、LTF の該当箇所書き込む
2. 1.5mL チューブに、サンプル名と希釈濃度を書き込み、次ページの表に従って、氷温の HT1 を用い、変性した DNA Template を希望の濃度に希釈する。

Final Concentration	10 pM	12 pM	15 pM	18 pM	20 pM
20 pM denatured DNA	500 $\mu$ l	600 $\mu$ l	750 $\mu$ l	900 $\mu$ l	1,000 $\mu$ l
Pre-chilled HT1	500 $\mu$ l	400 $\mu$ l	250 $\mu$ l	100 $\mu$ l	0 $\mu$ l

(注意) denature の 5min の待ち時間に必要量の HT1 を 1.5mL チューブに分注しておいてよい。

3. 1.5mL チューブを数回転倒混和し、しっかりと混ぜた後、遠心して溶液をスピンドウンする。
4. 8 連チューブにロードする用意ができるまで、氷上に置く。

## PhiX control の変性と希釈

Control DNA が必要な場合は、以下の要領にしたがい、10nM の PhiX を 変性および希釈する。

(注意)一般的に、塩基の偏りがないゲノムをシーケンスする場合は、コントロールレーンの必要はない。しかし、塩基に偏りがあるサンプル(例:バイサルファイト処理サンプル)の場合は、Phasing や Matrix の計算のために、コントロールレーンの使用が推奨される。

1. 以下の組成で PhiX library を 2nM に希釈する。

10nM PhiX library	2 $\mu$ L
10 mM Tris-Cl, pH 8.5 with 0.1% Tween 20	8 $\mu$ L
<hr/>	
Total Volume	10 $\mu$ L, PhiX=[2nM]

- 2.しっかりと混ぜ、スピンドウンする。
3. 以下の組成で、2nM PhiX library をと 0.1N NaOH を混ぜる。変性条件、かつ 1nM 濃度になる。

2nM PhiX library	10 $\mu$ L
0.1N NaOH	10 $\mu$ L
<hr/>	
Total Volume	20 $\mu$ L, PhiX=[1nM], NaOH=[0.05N]

4. 3 の 1nM PhiX library 溶液を、ボルテックスしてミックスする。
5. 280 xg, 1min 遠心して溶液をスピンドウンする。
6. 常温で 5min 間置き、変性する(Single strands にする)。
7. 5min 経過後、氷上におく。
8. 氷温の HT1 を 980 $\mu$ L、7 のチューブに足す。この時 PhiX=[20pM], NaOH=[0.001N]

(注意)20pM に希釈した phiX は-20C で 3 週間保存できる。3 週間経過すると、クラスター数は減少する。

9. 以下の組成で、20pM の PhiX library を 10pM に希釈する。

20pM PhiX library	500 uL
Pre Chilled HT1	500 uL
<hr/>	
Total Volume	1000μL PhiX=[10pM], NaOH=[0.0005N]

10. 8 連チューブにロードする用意ができるまで、on ice に置いておく。

### Templates を 8 連チューブに分注

このステップは、Rapid run Mode と High Output とで実施法が分かれる。

#### Rapid Run

1. 8 連チューブに、「template」とラベルし、各ウェルに 1~8 まで番号をふる。
2. Tube 1 と 2 に、各 DNA template を **135uL** ずつ分注する。
3. フタをして、使用するまで氷上に置く。

### [3] 試薬プレートの準備

試薬の正常なパフォーマンスを維持するため、cBot 試薬は-15 から-25℃の間に、使用直前まで保管しておく必要がある。試薬の解凍は、常温のウォーターバスに浸した状態で 40 分ほど要する。解凍したら、以下の指示に従って、試薬の準備を進める。

#### Best Practices

- 各ランをセットアップするごとに、新しいグローブをつける。
- 96-well 試薬プレートを持つ際は、常に下側の青い部分を持つ。
- プレートから試薬チューブを外した場合は、確実に、各チューブを所定の位置に戻す。チューブの順番が変わると、ランは失敗する。
- プレートをボルテックスしたり、転倒混和する前と後に、各チューブが青い plate にしっかりと刺さっていることを確認すること。試薬チューブの刺さり具合が緩いと、ラン中にはずれ、cBot やマニフォールドにダメージを与え、ランが途中で止まる原因となる。  
(注意) プレートの透明なフタは、試薬解凍の間などに、シールの損傷を防ぐ目的がある。必要なとき以外は常にフタをしめておくこと。
- 試薬の準備が終わったら、すぐに、cBot に試薬をセットして、ランを開始する。

#### 試薬の解凍

1. 試薬プレートを-15~-25℃の冷凍庫からとり出す。
2. フタをはずして、各チューブの縁の部分を押込み、各チューブがプレートの所定の位置にしっかりと刺さっていることを確認する。シール部に穴を開けないように注意する。
3. タッパーもしくはアイスバケットなどに、プレートの試薬がつかうだけの分量の室温の水をいれ、試薬プレートごと浸す。コンタミネーションを避けるため、シール部が水に触れないよう注意する。  
40 分ほどつけて、試薬を解凍する。

(注意) 液量の多いチューブは溶けるのに時間がかかる。完全に溶けているかをしっかりと確認すること。

#### 試薬の準備

(注意) 正しいパフォーマンスを得るために、試薬が完全に溶解し、一様に混ざっており、以下のステップに従って、すべての溶液がチューブの底に集まっていることが**重要である**

1. すべてのチューブの試薬が溶けたら、試薬プレートを取り出し、ペーパータオルで水分をふき取る。
2. 試薬プレートの底の部分を持ち、反対側の手で上部を押さえて、5 回、プレートを転倒混和する。
3. 試薬プレートの底の部分を持ち、反対側の手で上部を押さえて 10 秒ほどボルテックスする。
4. 硬いテーブル面に、試薬プレートの底を 5-10 回軽くたたきつけて、試薬をすべてチューブの底に集める。  
もしくは、試薬プレートを 1000rpm で 10 秒ほど遠心してスピンドウンする。  
(注意) 高い rpm で遠心するとプレートが破損するので注意する。
5. 目視で、試薬プレートのチューブの底に泡が無いことを確認する。
6. 目視で、1~3 までのチューブの番号が、プレートの番号と一致していることを確認する。
7. すぐに試薬のセットアップを行う。2-8 度の保管庫に戻したり、室温に放置しないこと。

#### [4] Pre-Run Wash の実施

cBot 各ランの前に、毎回 wash を行うことを推奨する。

1. 「User Name」を押す。キーボード画面が表示される。
2. スクリーンキーボードを用い、名前を入力する。「Enter」を押す。
3. 「Start」を押す。Pre-wash 画面に進む。  
(注意)cBot ソフトウェアはウォッシュ前に、フローセルやマニフォールドが装置に残っていないことを確認する。
4. 「Manifold Removed」の前にあるチェックボックスが選択されていることを確認する。もし選択されていない場合は、次に進む前に、前に使ったマニフォールドを装置から取り外す。  
(注意) オプション設定することで、直前にランを行っていた場合などは、pre-run wash の Skip が可能。「Skip」を選択することで pre-run wash の過程全体をスキップすることができる。
5. cBot 本体のフタを、正面右の角を持ってゆっくりと持ち上げる。
6. 12mL 程度の dH<sub>2</sub>O を、Wash reservoir に注ぐ。クランプを下ろす。

Figure 13 Fill the Wash Reservoir



7. cBot のフタを閉める。(閉めなくても動く)
8. スクリーンのチェックボックスを押し、水が存在することを確認させる。「Wash」がアクティブになる。
9. 「Wash」を押す。Wash が終了すると、「Wash Reservoir Dry」のチェックボックスがアクティブになる。
10. 余剰の水を、レンズ紙などの、毛羽立たない実験用ペーパーで拭く。繊維が出やすいペーパーは、ラインを詰まらせる恐れがあるので使わない。  
(注意)国内製のキムワイプはけば立つのでなるべく使わない。

Figure 14 Dry the Wash Reservoir



11. 「Wash Reservoir Dry」のチェックボックスを押す。「Next」ボタンがアクティブになる。
12. Next を選択して、プロトコルの選択へ進む。

## [5] Run の設定

ここからは、cBot で、どのようにランをセットアップするかを説明する。

Rapid Run モードでは、Rapid Run フローセル専用の、テンプレートハイブリだけを行うプロトコルが走る。

(注意)フローセルを設置するステップでは、必ず、フローセルを、基板上の穴が上になるように設置する。

### Protocol の選択

1. 「Experiment Name」を押す。キーボードが表示される。
2. スクリーンキーボードを使って実験名を入力する。Enter を選択する。
3. Rapid run フローセル用レシピである、「RR\_TemplateHyb\_FirstExt\_vR.xml」を、プロトコルリストから選択する。スクロールバーですべてのレシピを表示させることができる。選択されたレシピは色が濃いグレーになる。

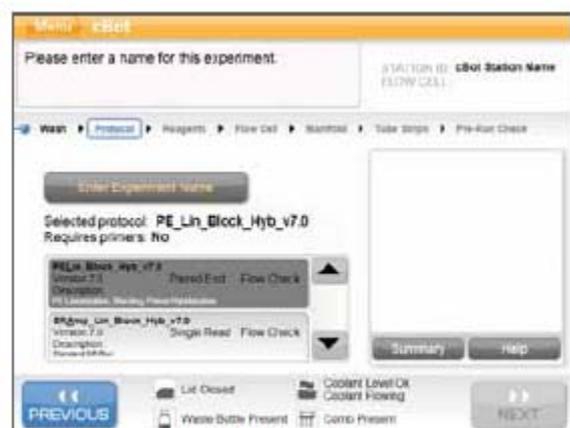


Figure 32 Select a Protocol

4. 「Next」を押すと、Load Reagent ステップに進む

### 試薬の設置

1. 試薬プレートから、透明なプラスチックカバーをとりはずす。裏に水滴や氷が残っている場合は、丁寧にふき取る。
2. 試薬プレートを机などに置き、各チューブの上面をしっかりと押して、すべてのチューブがプレートの該当位置に、しっかりと刺さっていることを確認する。
3. 「Scan Reagent ID」を押すと、バーコードスキャナが起動する。キーボードボタンを押してマニュアルで ID を入力することも可能。



Figure 33 Load Reagents

4. バーコードラベルを装置側に向けた形で、試薬プレートをしっかりを持ち、バーコードスキャナの赤いライトにプレートのバーコード部をかざす。正常に読み取りが行われると、ビーブ音がし、reagent ID が画面に表示される。

Figure 36 Scan Reagent ID



5. cBot 本体のフタを持ち上げる。
6. 右手で試薬プレートを持つ。このとき、row1 が手前になるように持つ。左手で白いレバー(reagent plate lever)を手前に引き、スプリングを緩める。
7. row1 が手前になる向きで、試薬プレートをステージに乗せる。試薬プレートの row1 側の切り欠きが、右手前にあることを確認する。

(注意)Rapid Duo kit には、チューブは 3 本しかない。

Figure 37 Position the Reagent Plate

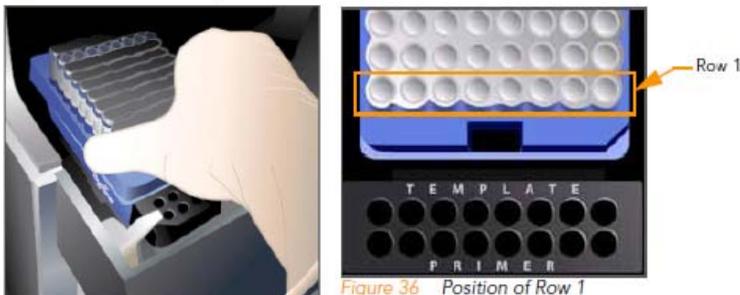


Figure 36 Position of Row 1

8. reagent lever をゆっくりと離し、試薬プレートを所定位置に固定する。
9. 「Reagent plate loaded」チェックボックスを押す
10. 「White lever locked」チェックボックスを押す。「Next」がアクティブになる。
11. 「Next」を押す。次にすすむ。

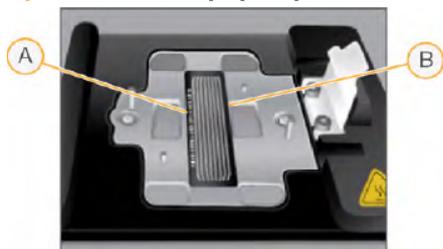
## フローセルの設置の準備

1. milliQ 水で濡らしたレンズ紙で、thermal stage をきれいにする。  
(注意)水滴が残らないようにする。
2. フローセルを、プラスチックのピンセットを用いて保存チューブからとりだす。
3. フローセルのエッジをつまみ、milliQ 水で表面をリンスする。  
(注意)フローセルの穴の部分に水を強くかけないよう注意する。
4. レンズ紙でフローセルをきれいにする。表面が乾くまでしっかりと拭く。  
(注意)フローセル内部の溶液は除かない。  
(注意)穴の周辺にレンズ紙を長く触れさせると、溶液を吸い取るので注意する。  
(注意)クラスター合成後に、フローセルを一旦保管する場合は、保存チューブと保存液をとっておくこと。
5. 「Scan Flow Cell ID」を押す。バーコードスキャナが起動する。キーボードボタンを押すことで、マニュアルで ID を入力することも可能。
6. フローセルケースのバーコードをスキャナー側にむけ、バーコード部をスキャンさせる。スキャンに成功すると、ビープ音がし、スクリーンにバーコードが表示される。

## HiSeq FlowCell の設置

1. **Rapid Run** フローセルを cBot のステージに置いたとき、フローセル上の穴が上に向くように置く。レーン 1 は右側、レーン 2 が左側になる(バーコードは左側)。

Figure 18 Position HiSeq High Output Flow Cell



- A Lane 8 and Barcode (lane 2 will be on this side for a rapid flow cell)  
B Lane 1

(注意)Rapid Run HiSeq FlowCell には、レーンは 2 つしかない。

2. 「Flow cell loaded」チェックボックスを押す。「Next」がアクティブになる。
3. Next を押す。次にすすむ。

## マニフォールドの設置

使用するフローセルおよび、クラスターキットに対応したマニフォールドを使用すること。  
マニフォールドは、フローセルやバージョンによって形状が異なるので注意する。

1. パッケージからマニフォールドをとりだし、ラインを確認する。
  - ・ 吸い込みラインがまっすぐで、曲がりやダメージがないこと
  - ・ 黒いゴムの部分がしっかりとついていること。
  - ・ 黒いゴムの部分の穴にホコリがついている場合は、濡らしたレンズ紙でたたきとる。
2. 吸い込みラインが手前になるようにして、マニフォールドをフローセル上にもっていく。

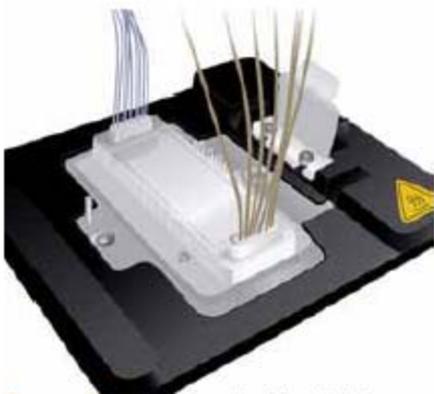


Figure 40 Position the Manifold

(注意)左図は High Output のマニフォールド

3. thermal stage 上のガイドピンを目印に、マニフォールドをフローセル上の所定の位置に設置する。
4. フローセルとの間に隙間ができないよう、マニフォールド本体部をフローセル上にしっかりと押し付ける。
5. 「Manifold seated over Flow Cell」 チェックボックスを押す。



Figure 41 Load the Manifold

6. フローセルクランプを閉める。白いクリップと留め具がしっかりとかみ合っていることを確認する。
7. 「Flow Cell clamp closed」 チェックボックスを押す。
8. 廃液側のマニフォールドを wash reservoir にある outlet port に接続する。

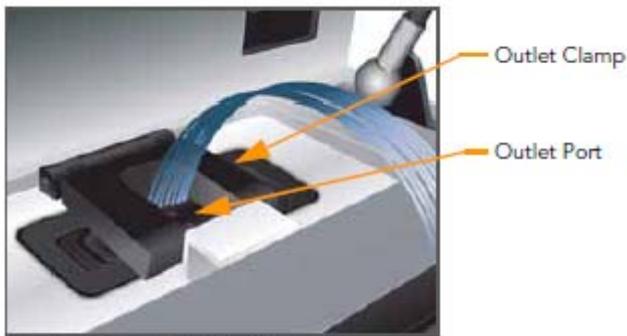


Figure 42 Secure Outlet End

9. アウトレットクランプを閉じ、マニフォルドをしっかりと固定する。
10. 「Outlet clamp closed」チェックボックスを押す。
11. 吸い込みラインのコームを、thermal station の手前のかどにある2つのガイドピンに差し込む。両端のスナップにコーム左右のプラスチックタブがはまり込むまでしっかりと差し込む。  
吸い込みラインが正常に設置されると、「Shipper comb in place」チェックボックスにチェックが自動的に入る。

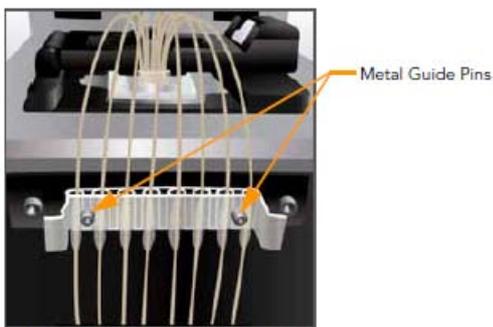


Figure 43 Secure the Sipper Comb

(注意)左図は High Output のマニフォルド

12. 吸い込みラインが、試薬プレートに向けてそれぞれ並行にまっすぐ向いていることを確認する。
13. 「Next」を押すと Loading the tube strips へ移る。

### Templates チューブの設置前の準備

1. 「Enter Template Name」にタッチする。
2. キーボードを使い、Template ID を入力する。

### Raid Run 用 HiSeq FlowCell における template チューブの設置

1. template が 2 チューブにのみ入った 8 連チューブを、#2 が左側、#1 が右側になるよう、以下の図のようにセットする。これにより、HiSeq のフローセルのセットの向きに対応して、正しく template がセットされる

Figure 26 Tube Strip Orientation for HiSeq Rapid Flow Cell



2. 「Template Loaded」チェックボックスにチェックを入れる。
3. 追加のプライマーを用いる場合は、この後のオプションに従ってセットする。それ以外は、cBot 本体のフタを閉める。Next がアクティブになる。

## Perform Pre-Run Check

1. 「Pre check」を押すと、プレランチェックが開始され、装置のセンサーが、ランの状態が正常であることを確認し、ついで、流露チェックで泡の有無を確認する。プレランチェックはおおよそ3分ほどかかる。

### プレランチェックが成功の場合

スタートボタンがアクティブになる。



Figure 46 Perform Pre-Run Check

### プレランチェックが不成功の場合

プレランチェックが不成功の場合、その理由が表示される。指示に従って、該当部の状態を確認し、「Prerun check」を押して再度プレランチェックを行う。

(注意)再チェックは、3回まで実施可能。

(注意)3回以上失敗した場合は、row1の各wellにHT1をマニュアルで追加する必要がある。各レーンに1mLずつ入れると、さらに3回チェックが可能。

(注意)不成功になると、「Bypass Flow Check」がアクティブになる。このチェックボックスを入れることで、「Prerun check」をパスすることが可能。

2. プレランチェックが正常に終了したら、「Start」を押す。Run status 画面に移動し、ランが開始される。
3. Monitoring the Run 画面にすすむ。

## [6] Monitoring the Run

ランが完了するのに、おおよそ1時間かかる。

ランが終了したら、なるべく早く Hiseq で、シーケンスを行う。

## [7] Performing Post-Run Procedures

### Unload Run Components

1. ランが終了したら、Unload を押す。

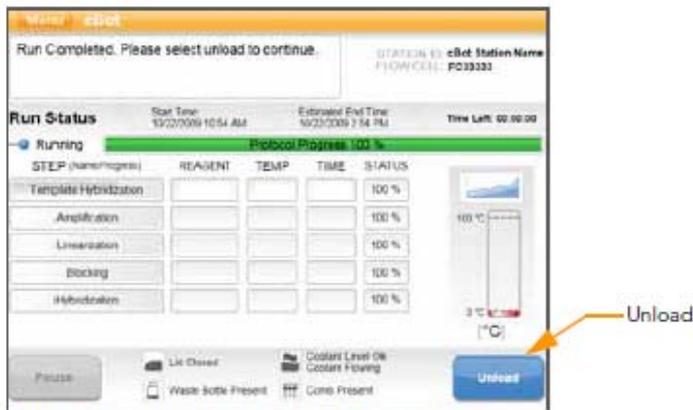


Figure 50 Run Status Screen, Run Complete

2. cBot のフタをあげる。
3. アウトレットクランプをはずす。
4. アウトレット側のマニフォルドを装置からはずす。
5. フローセルのクランプをはずす。
6. 吸い込み口のコームをガイドピンからはずす。吸い込み口コームが外れると、「Manifold removed」チェックボックスにチェックが入る。

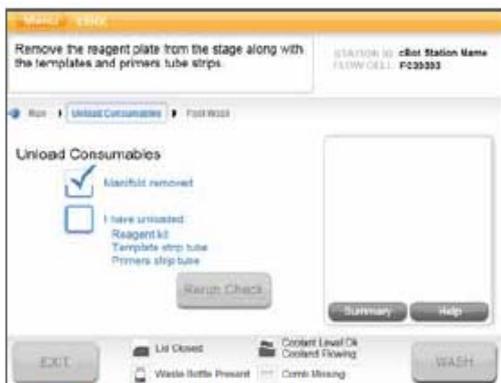


Figure 51 Unload Components

7. マニフォルドを cBot からとりはずす。
8. 慎重にフローセルを thermal stage からとりはずす。このとき、フローセルは、GA でシーケンスをする準備ができています。
9. プレートレバーを手前に引き、reagent plate をゆるめる。
10. reagent plate をステージからとりはずす。試薬の液量チェックをするまで plate はとっておく。
11. template を入れた 8 連チューブをとりはずす。液量チェックをするまでチューブはとっておく。
12. マルチプライマープロトコルの場合はプライマーのチューブもとりはずす。
13. 試薬とテンプレート、プライマーを外したことを示すチェックボックスにチェックを入れる。Wash がアクティブになる。
14. Wash を押すとポストランウォッシュへ進む。

## Flow Cell の保管

Rapid Run を行う場合、サンプルをフローセルへロードしたその日のうちに、シーケンスへ進む必要がある。もしフローセルを保管しておく必要がある場合は、保存チューブに戻して、4℃で保管する。

## Post-Run Wash の実施

1. Thermal stage を、milliQ で濡らしたレンズ紙できれいにする。
2. Wash reservoir に、12mL 程度の milliQ 水を入れる。
3. cBot のフタを閉める。
4. 「Reservoir filled with water」チェックボックスにチェックを入れると、wash ボタンがアクティブになる。



Figure 54 Perform a Post-Run Wash

5. Wash を押す
6. wash が終了したら、残った水をレンズ紙でふき取る。穴にゴミがはいらないように気をつける。
7. 「Wash reservoir dry」チェックボックスにチェックを入れる。Exit がアクティブになる。
8. Exit を押す。初期画面に戻る。cBot 本体のフタを閉める。
9. 廃液ボトルを空にする。

## 試薬使用量の確認

1. 目視でシールされた各試薬の上に穴があいているかを確認する。
2. 各チューブを取り出す。
3. 目視で、各チューブの使用量がそろっているかを確認する。



Figure 55 Successful Reagent Delivery

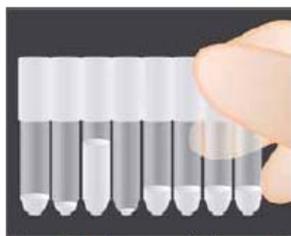


Figure 56 Unsuccessful Reagent Delivery

確認する。Rapid run の場合、チューブの8ウェルすべてが試薬で満たされているが、使用されるのは lane1 と 2 のみである。そのため、lane1.2 と lane3-8 の残液量が異なる。

## [8] Configuration

スタート画面から Menu → Configure を選択し、パスワード「admin」を入力すると、コンフィグセッティング画面が表示される。



Figure 14 Run Setup Tab

このセッティングを変更することで、wash のスキップの On/Off や、入力作業のスキップを設定することができる。

「Save and Exit」ボタンで初期画面に戻る。

## [9] Maintenance

装置の性能を保つため、ランの後に、毎回必ず Post wash を実施する必要がある（装置表示の手順に従う）。

装置が 24 時間以上使用されない状態であった場合は、ランをスタートする前に、必ず pre-wash を行う必要がある（装置表示の手順に従う）。

Maintenance wash は、月に 1 度行う

### Procedure

1. Menu → Manual Commands で、マニュアルモード画面になる
  2. Wash Reservoir に、milliQ 水を 12mL 注ぎ、「Wash」を押す。Wash が終了したらあまった水をふき取る
  3. Wash Reservoir に、5% DECON または 1N NaOH10mL 注ぎ、「Wash」を押す。Wash が終了したらあまった溶液をふき取る。
- (注意)5%DECON と、NaOH は強アルカリなので、取り扱いに気をつけること。
4. Wash Reservoir に、milliQ 水を 12mL 注ぎ、「Wash」を押す。Wash が終了したらあまった水をふき取る
  5. Wash Reservoir に、milliQ 水を 12mL 注ぎ、「Wash」を押す。Wash が終了したらあまった水をふき取る
  6. Menu → Close で初期画面に戻る

(注意)上記方法の場合、Wash の progress が確認しづらいので、ラン画面の wash ボタンで同じ作業を実施してよい。

## [8] On/Off

### 電源 On

装置右側面の電源ボタンを入れる（常に On のままでも良い）。

装置左側面の、銀色のボタンを押すと、装置が立ち上がる。

### 電源 Off

方法 1)

装置が立ちあがっている状態のときに、装置左側面の、銀色のボタンを押すと、装置がシャットダウンされる。

方法 2)

Manu → Configure を選択する。

「admin」と入力する。

Menu → Shut Down を選択する。装置がシャットダウンする。

装置右側面の電源ボタンをオフにする（常に On のままでもよい）。