



# NextSeq & Miseq 日常维护与常见问题

赵俊

Service and Support Group China

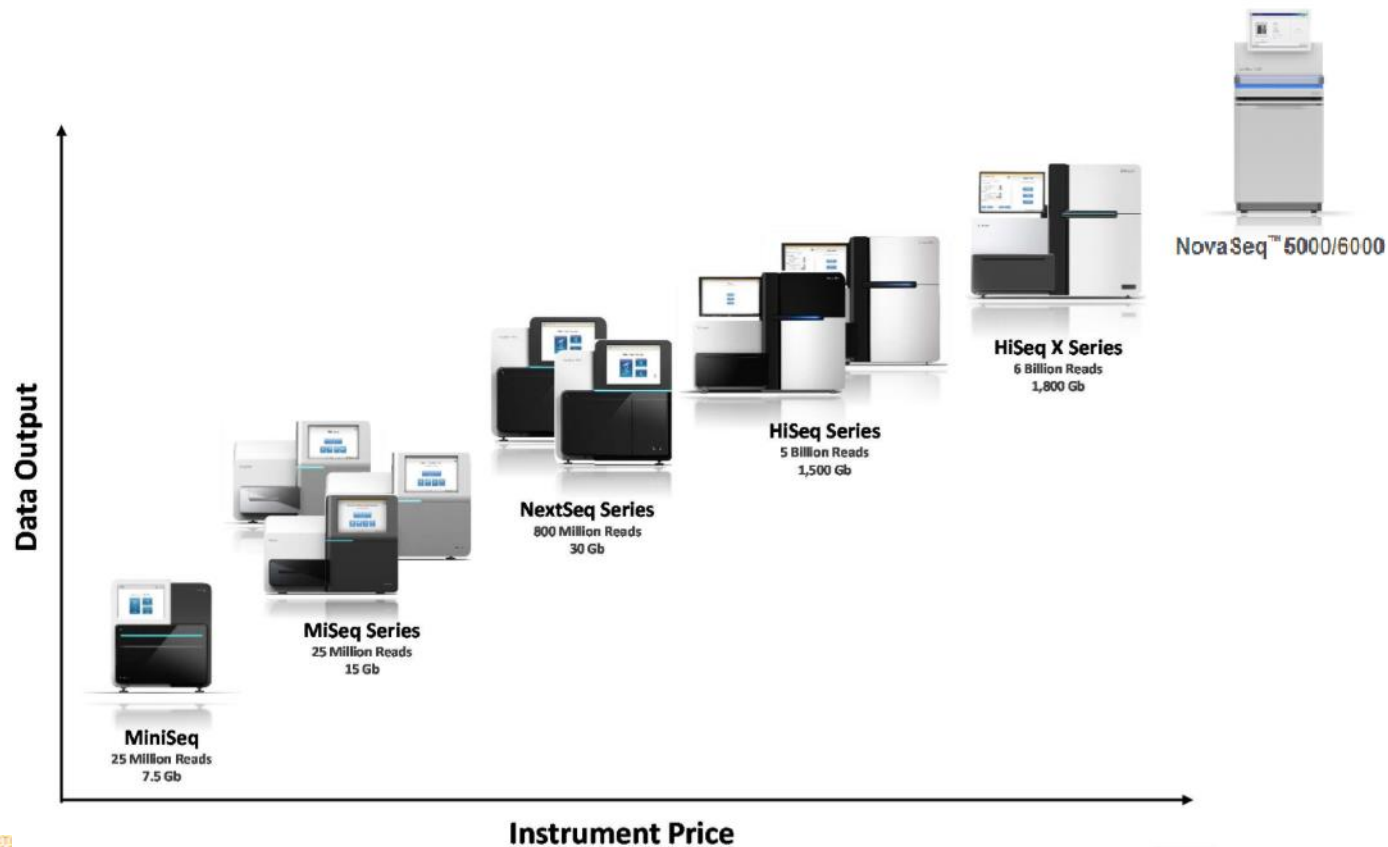
© 2009 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, illuminaDx, Solexa, Making Sense Out of Life, Oligator, Sentrix, GoldenGate, GoldenGate Indexing, DASL, BeadArray, Array of Arrays, Infinium, BeadXpress, VeraCode, IntelliHyb, iSelect, CSpPro, and GenomeStudio are registered trademarks or trademarks of Illumina, Inc. All other brands and names contained herein are the property of their respective owners.

# 内容介绍

- ❖ illumina测序仪family
- ❖ Nextseq/Miseq硬件组成简介
- ❖ Miseq 日常使用及维护
- ❖ Nextseq 日常使用及维护
- ❖ 实验室环境要求

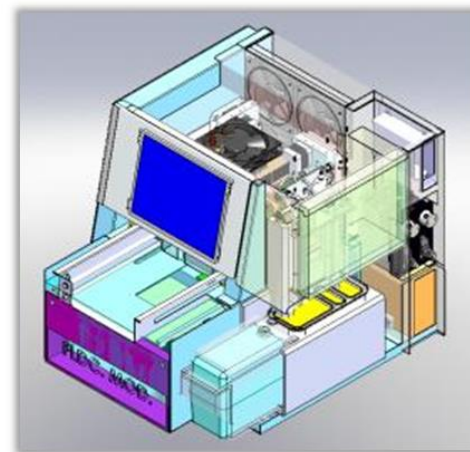
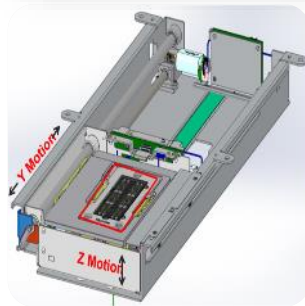
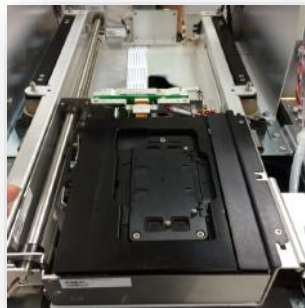
# Illumina测序仪family



# Nextseq/Miseq硬件组成简介

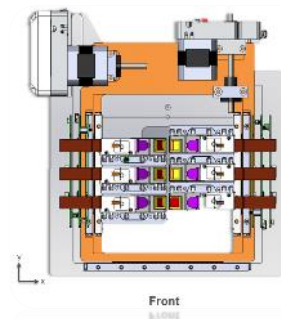
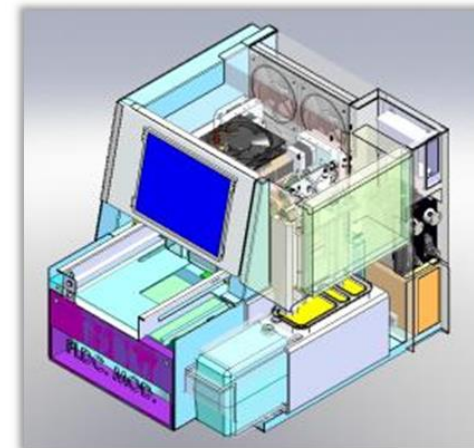
- ❖ Stage and motion System 平台移动系统
- ❖ Optical System 光路系统
- ❖ Fluidics System 液路系统
- ❖ Temperature Control System 温度控制系统

# Nextseq硬件组成简介

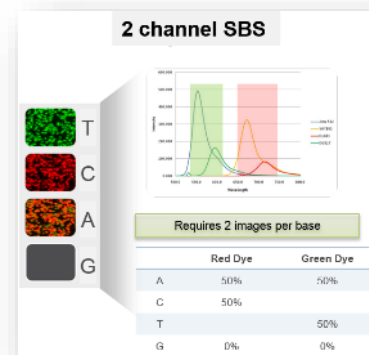


❖ **Stage and motion System 平台移动系统** Flow Cell Load Mechanism ( FCLM )

# Nextseq硬件组成简介

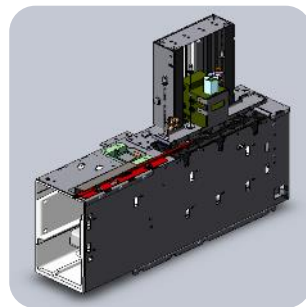


## ❖ Optical System 光路系统 Imaging Module ( IM )

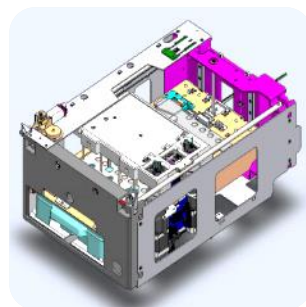
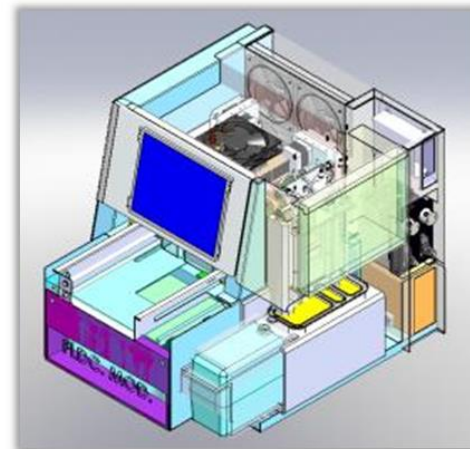




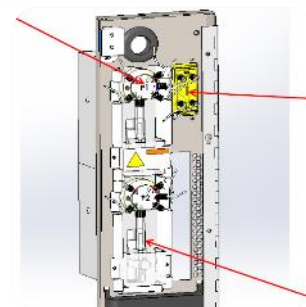
# Nextseq硬件组成简介



Buffer Straw Mechanism (BSM)



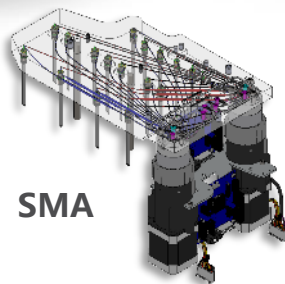
Fluidic Automation module (FAM)



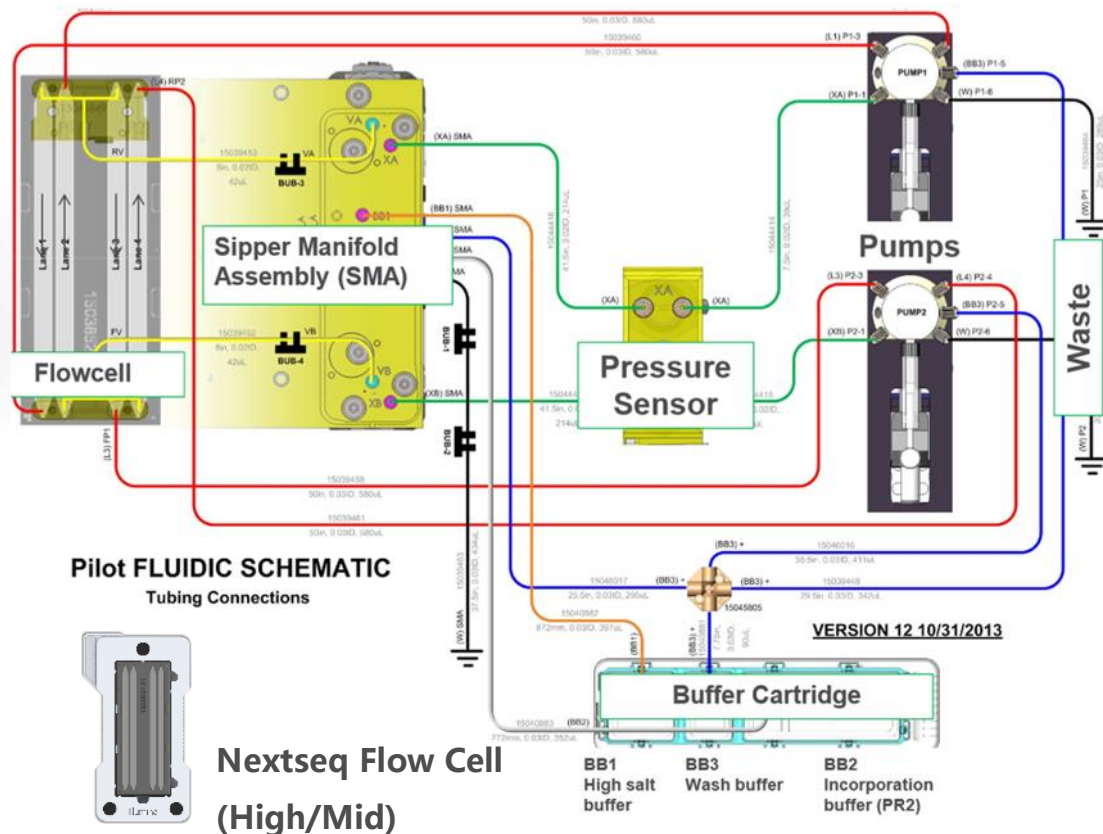
Syringe and Pump

## ❖ Fluidics System 液路系统

# Nextseq硬件组成简介



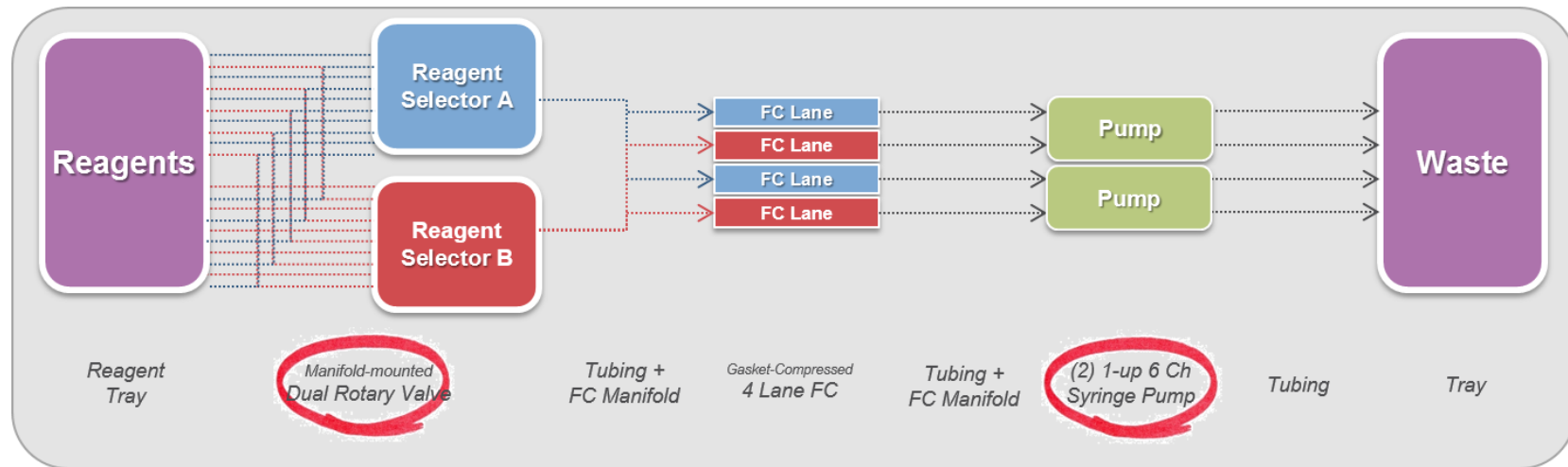
SMA



## ❖ Fluidics System 液路系统

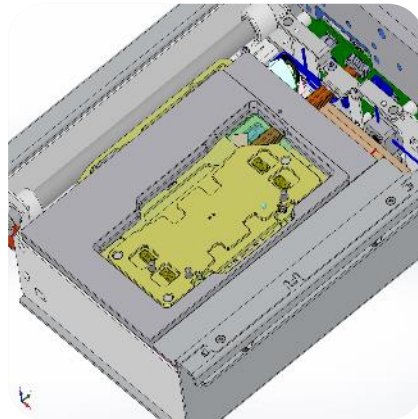


# Nextseq硬件组成简介



## ❖ Fluidics System 液路系统

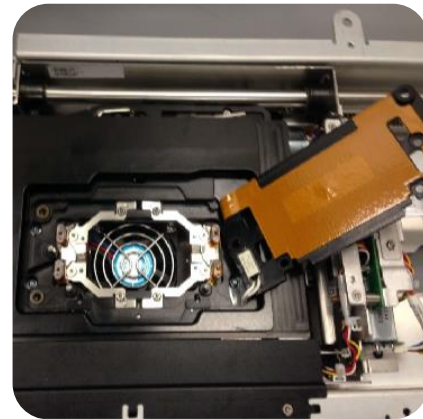
# Nextseq硬件组成简介



FCLM :

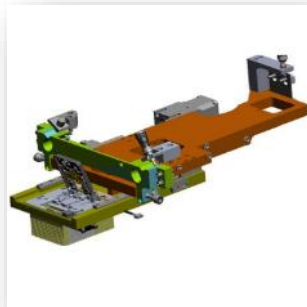
A-Membrane Heater 加热薄膜

B-Cooling Fan 冷却风扇



## ❖ Temperature Control System 温度控制系统

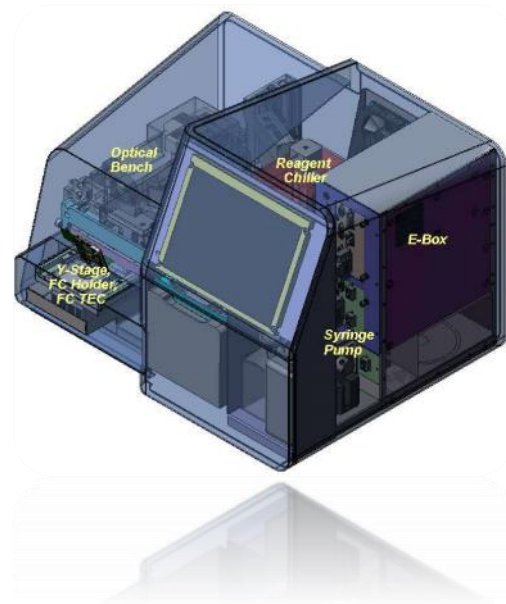
# Miseq硬件组成简介



Y Stage

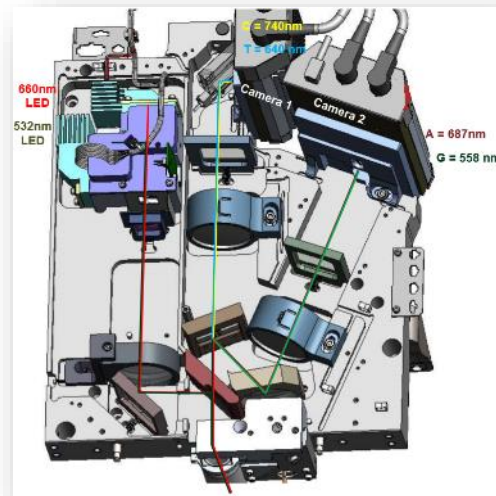


Flow Cell Holder



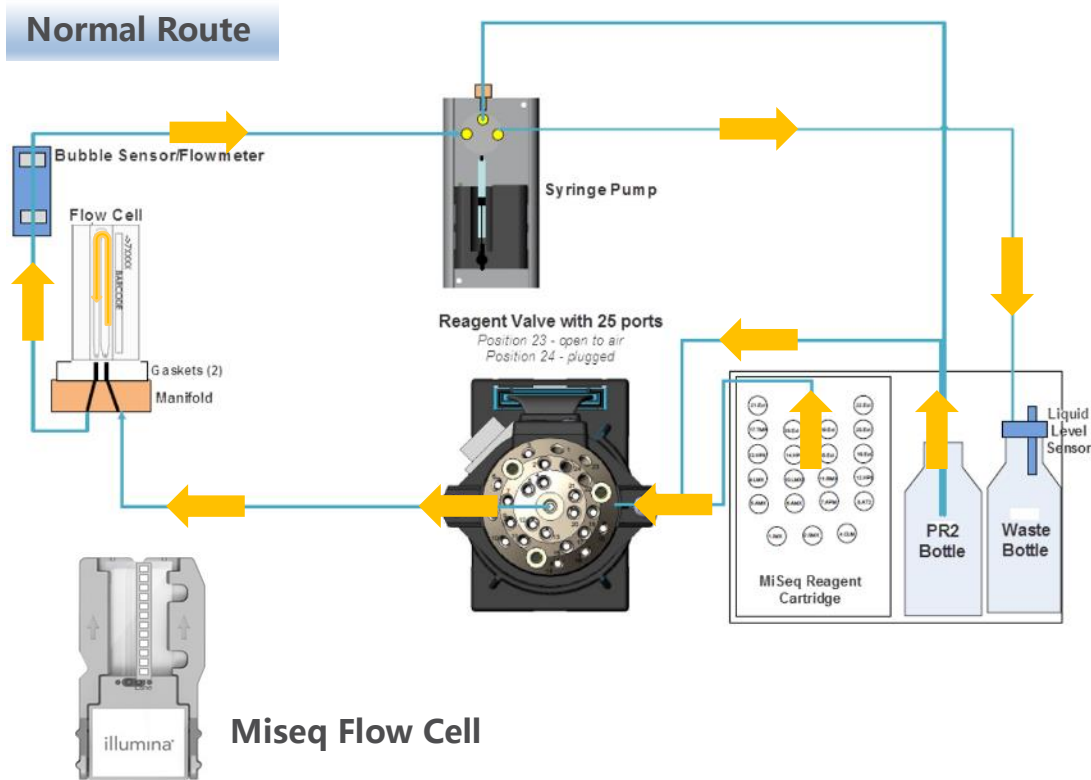
## ❖ Stage System 平台系统

# Miseq硬件组成简介



## ❖ Optical System 光路系统

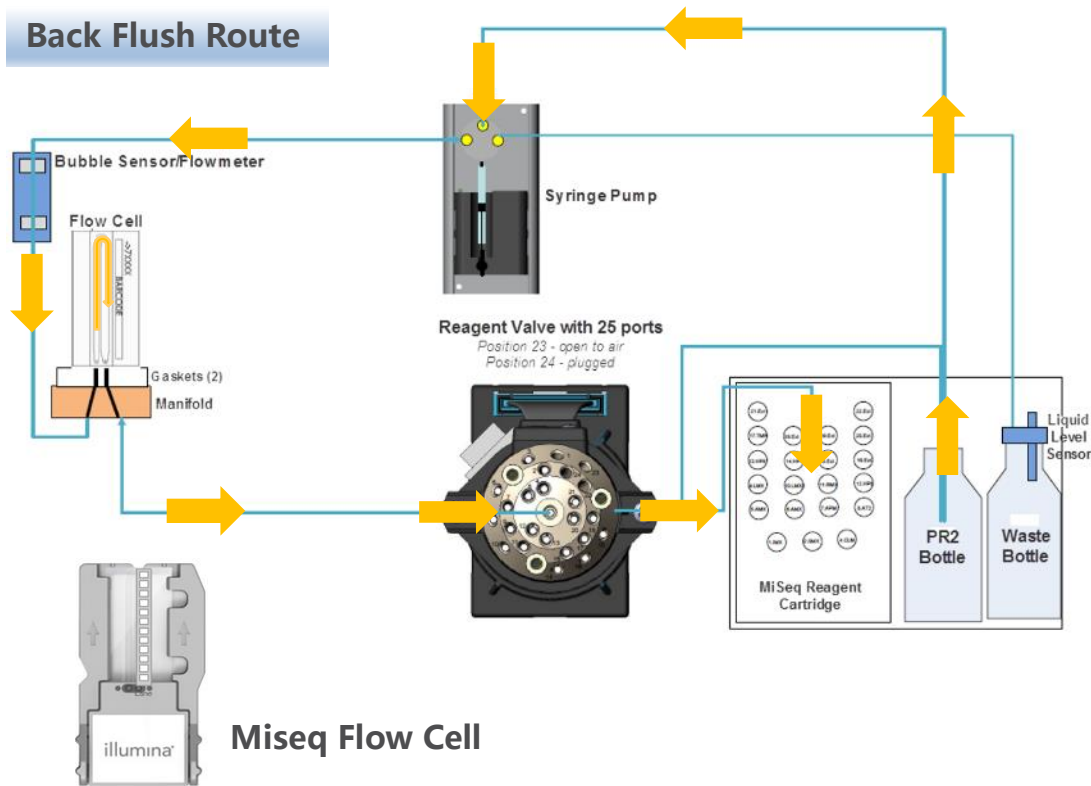
# Miseq硬件组成简介



## ❖ Fluidics System 液路系统



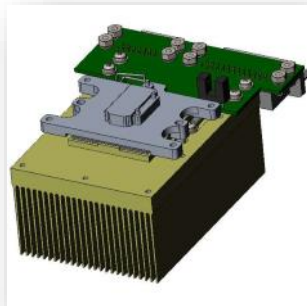
# MiSeq硬件组成简介



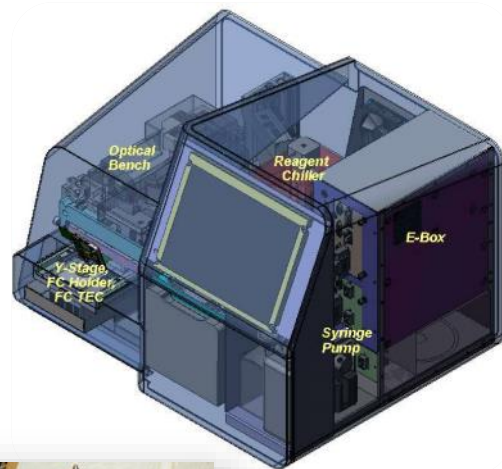
## ❖ Fluidics System 液路系统



# Miseq硬件组成简介



Flow Cell TEC (Thermoelectric Cooler)



## ❖ Temperature Control System 温度控制系统



Reagent Chiller TEC (Thermoelectric Cooler)

# Nextseq日常使用与维护

放入Flow Cell

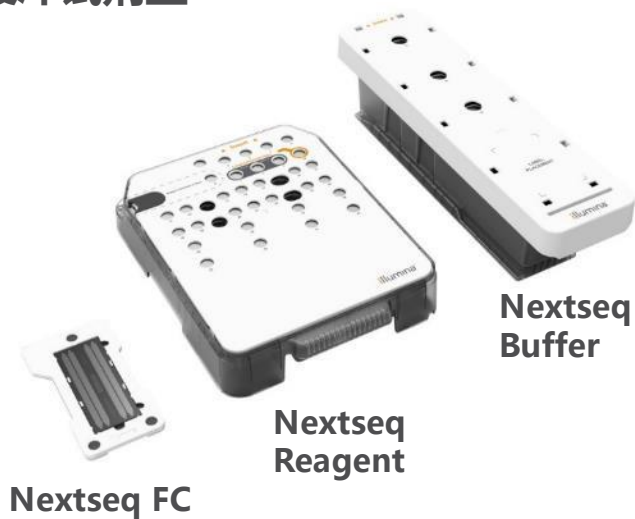
右面板

放入缓冲试剂盒

放入试剂盒

放入废液桶

左侧面板







# Nextseq日常使用与维护 – 软件

## NCS软件界面

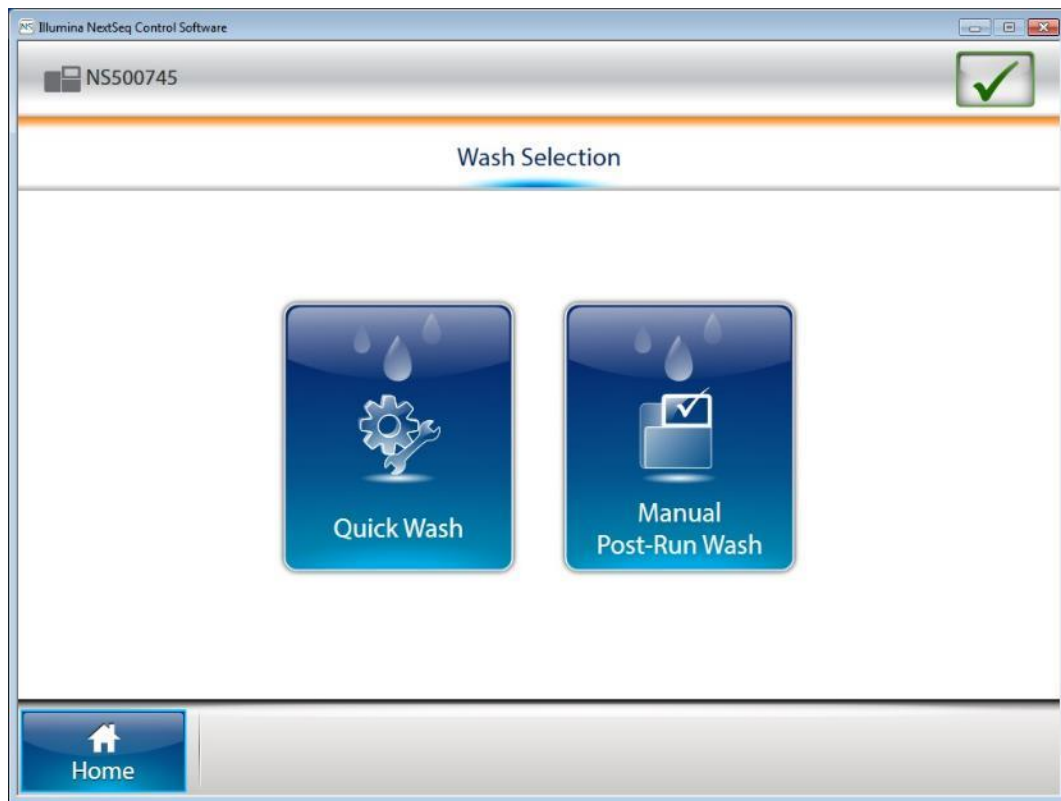


# Nextseq日常使用与维护 – 软件

## 状态信息

Status Icon	Status Name	Description
	Status OK	System is normal.
	Processing	System is processing.
	Warning	A warning has occurred. Warnings do not stop a run or require action before proceeding.
	Error	An error has occurred. Errors require action before proceeding with the run.

# Nextseq日常使用与维护 – 仪器清洗



## Quick Wash:

1. 耗时20分钟；
2. 用吐温清洗；
3. 仪器闲置时每14天执行。

## Manual Post-Run Wash:

1. 耗时90分钟；
2. 用吐温和次氯酸钠 ( 0.12% ) 清洗
3. 没有执行 automatic post-run wash时执行。

# Nextseq日常使用与维护 – 注意事项

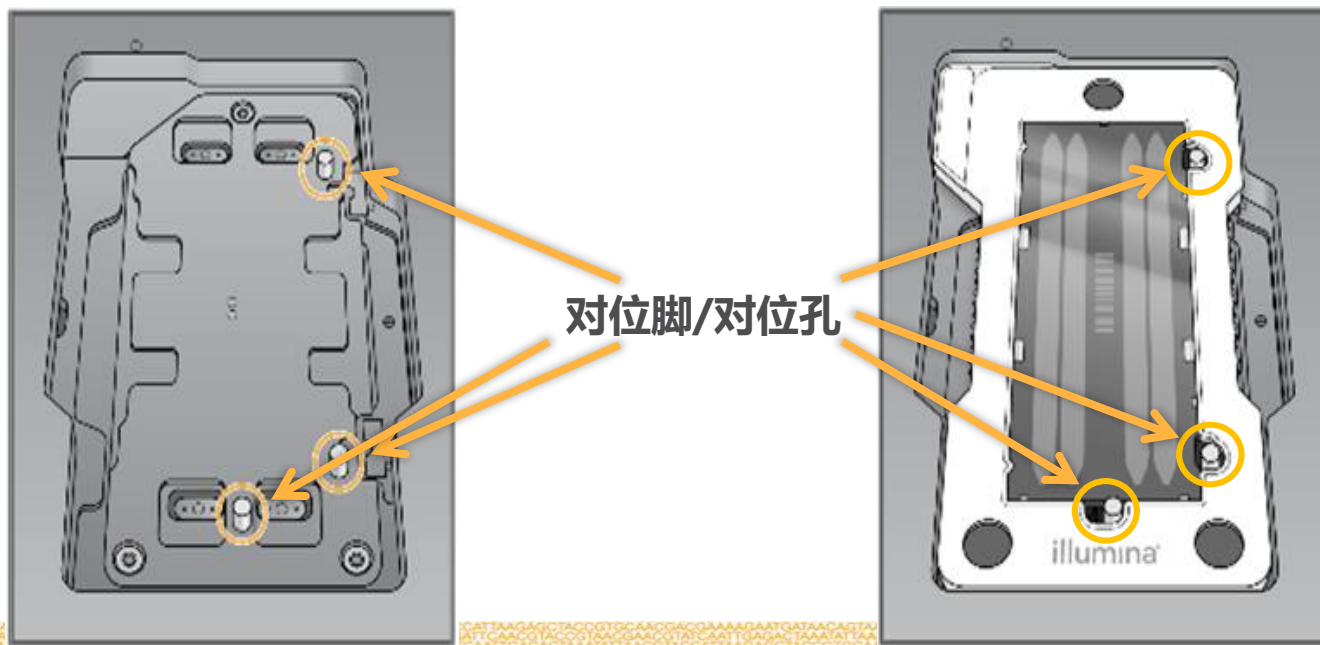
- Load Flow Cell之前，检查Flow Cell外壳没有翘起，确保黑色承载板平整，金属卡簧没有翘起/歪斜/松动
- 检查Flow Cell背部的gaskets完好，平整，没有异物





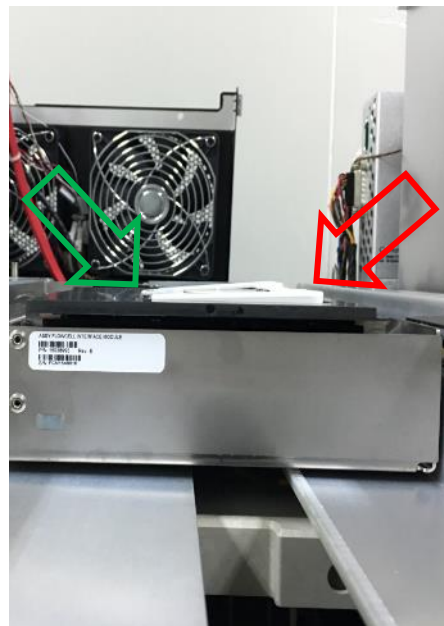
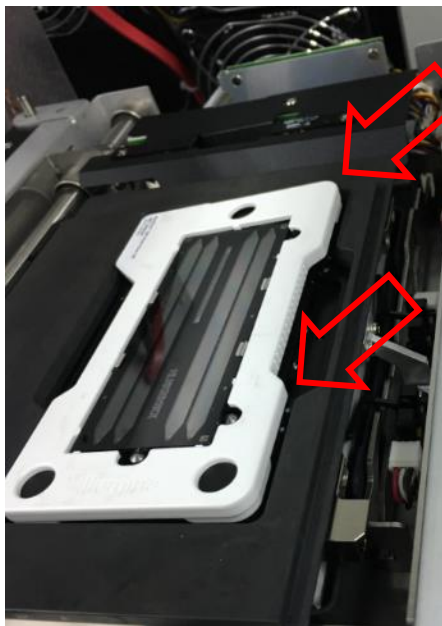
# Nextseq日常使用与维护 – 注意事项

- Load Flow Cell时，位置放置准确，检查Flow Cell放置平整没有翘起。



# Nextseq日常使用与维护 – 注意事项

- Flow Cell位置没有放好，导致的仪器故障



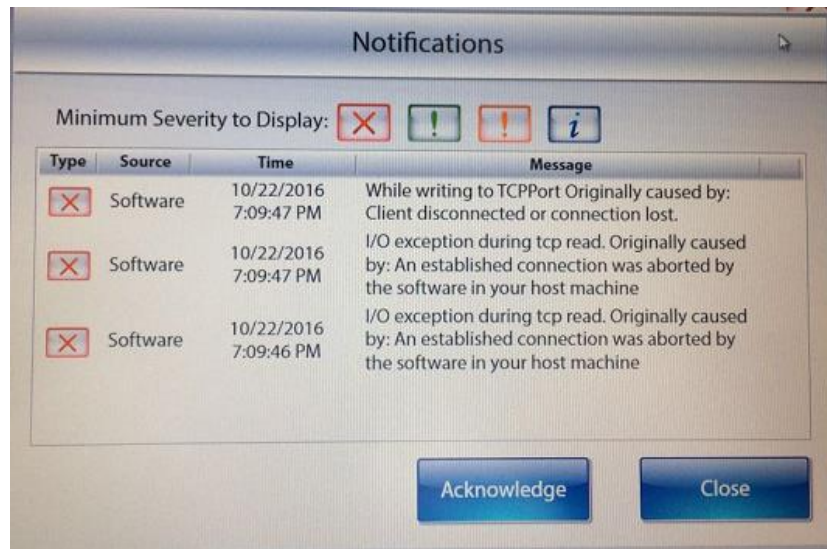
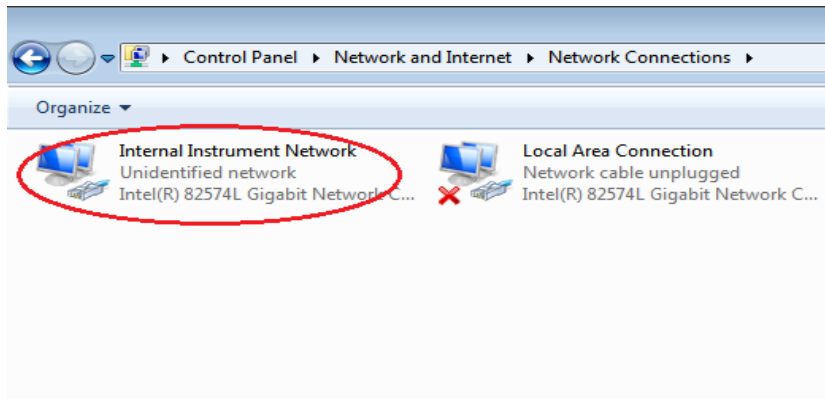
# Nextseq日常使用与维护 – 注意事项

- Load Flow Cell时，检查废液桶是否已满，及时清除废液。
- 如果倒废液后仍报告废液已满，可擦拭废液传感器。



# Nextseq日常使用与维护 – 注意事项

- Nextseq内部网卡设置不要修改，否则仪器不能正常工作



# Nextseq日常使用与维护 – 注意事项

- 测序时，不要插拔USB

```
A problem has been detected and windows has been shut down to prevent damage
to your computer.

If this is the first time you've seen this Stop error screen,
restart your computer. If this screen appears again, follow
these steps:

Check for viruses on your computer. Remove any newly installed
hard drives or hard drive controllers. Check your hard drive
to make sure it is properly configured and terminated.
Run CHKDSK /F to check for hard drive corruption, and then
restart your computer.

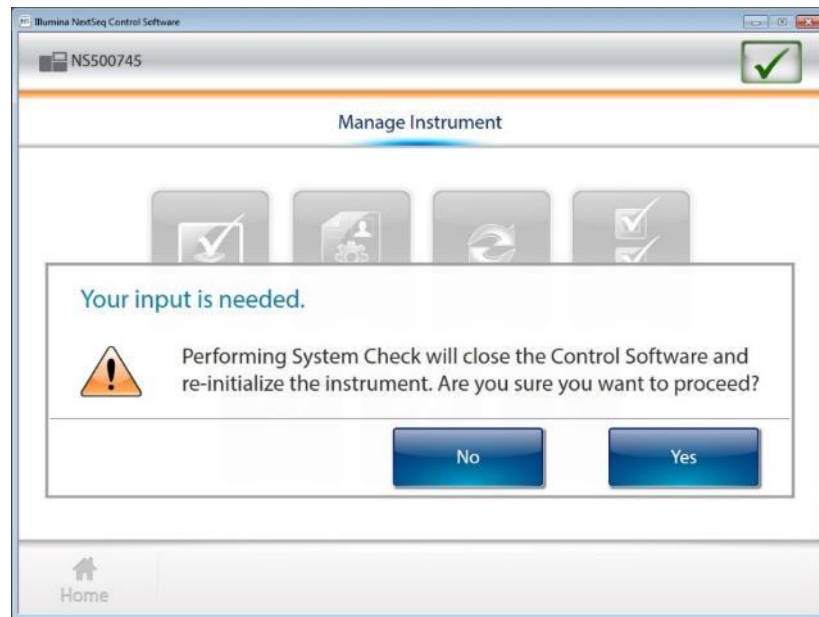
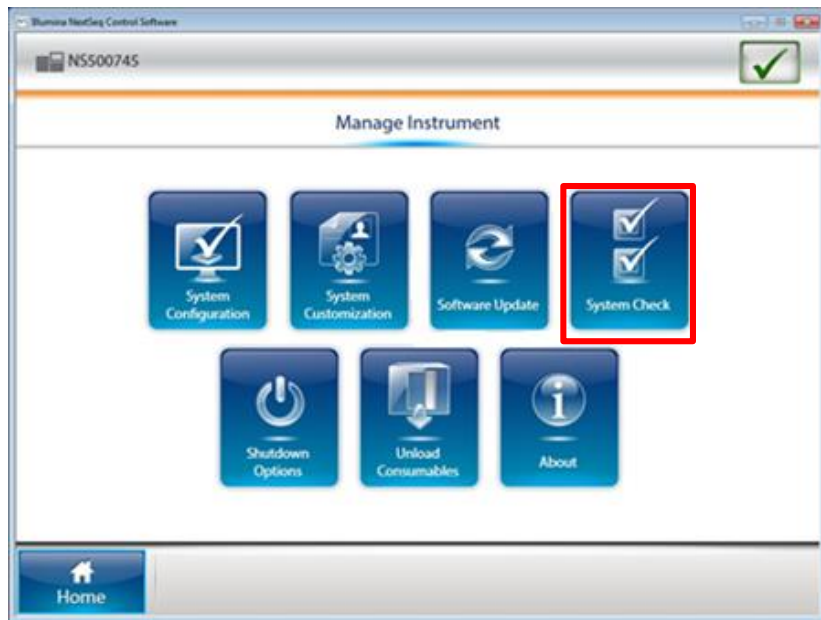
Technical information:

*** STOP: 0x0000007B (0xFFFFFA0FE48083C0, 0xFFFFFFFFC0000034, 0x0000000000000000, 0
x0000000000000000)
```



# Nextseq日常使用与维护 – 系统测试

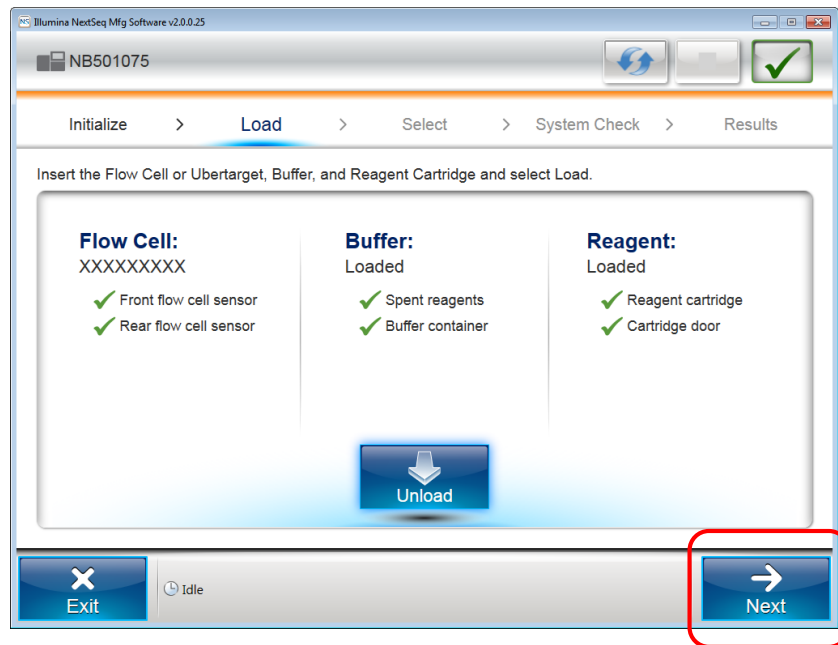
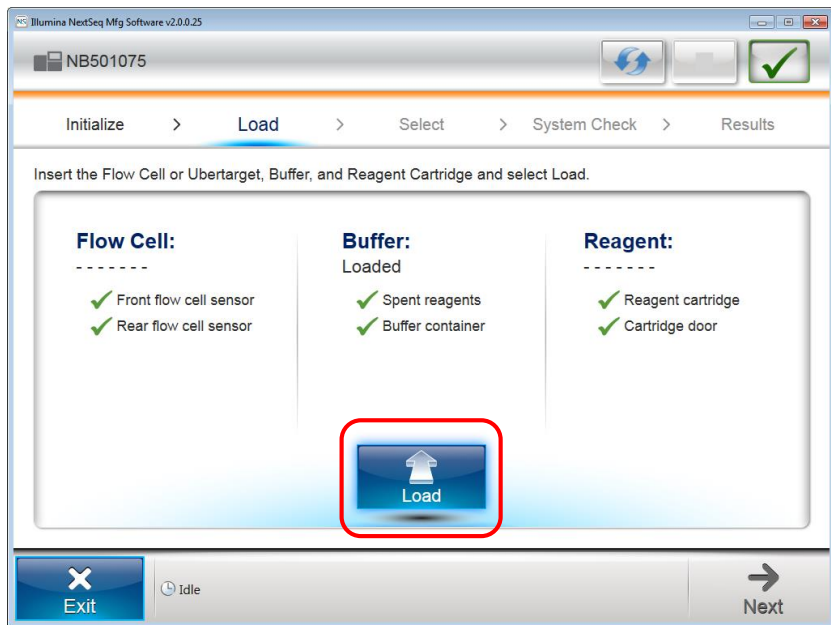
进入维护模式 – NCS - Manage Instrument – System Check



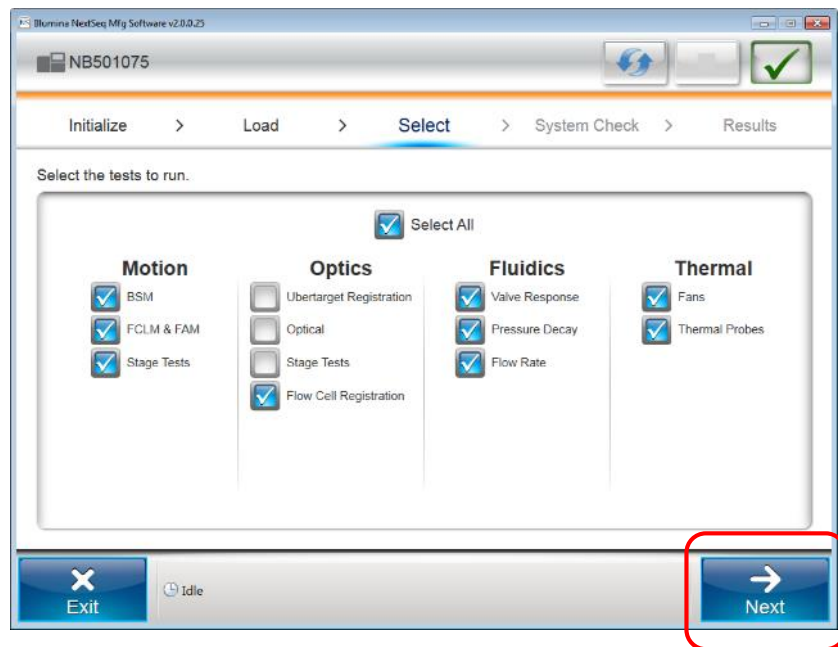


# Nextseq日常使用与维护 – 系统测试

注意：测试时使用高通量的Flow Cell 或者是Wash Flow Cell,使用Mid Flow Cell测试的话，液路测试会失败！

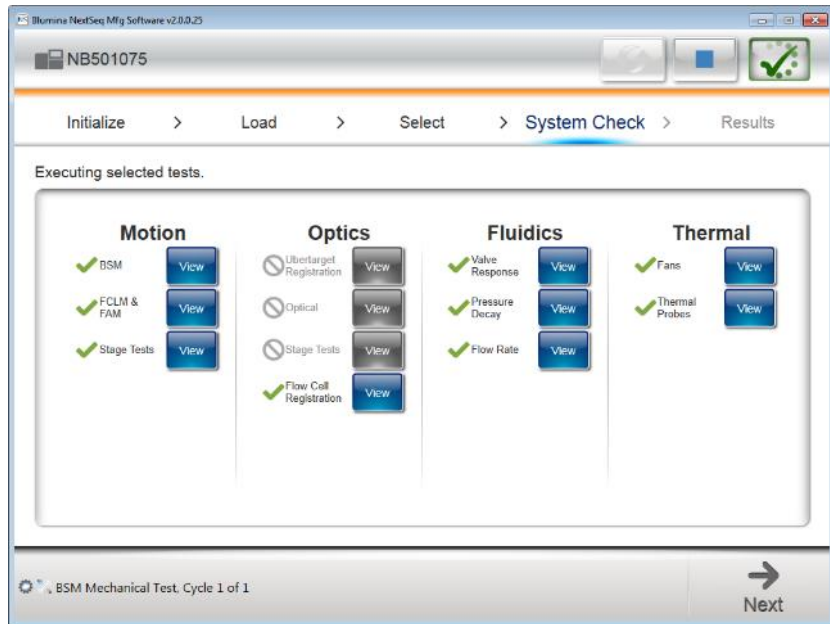


# Nextseq日常使用与维护 – 系统测试



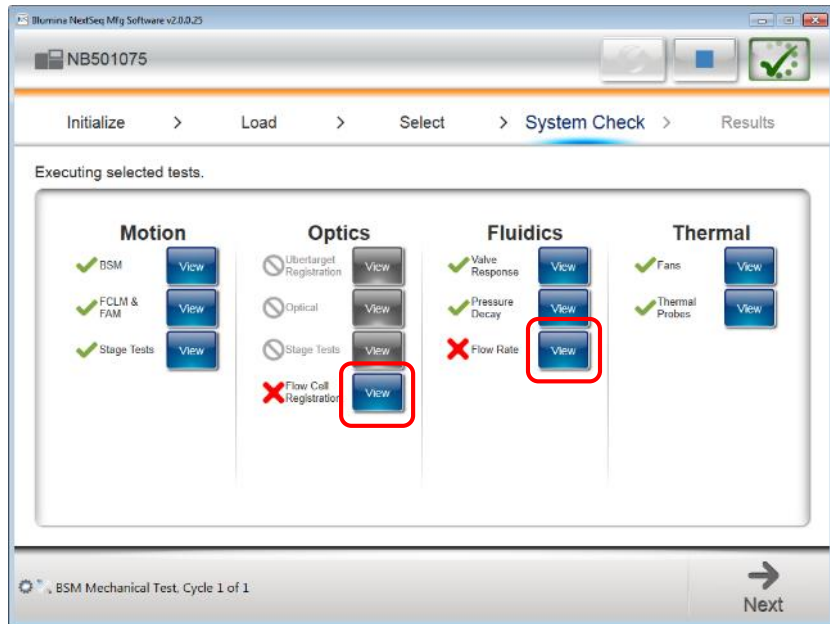
# Nextseq日常使用与维护 – 系统测试

## 测试通过



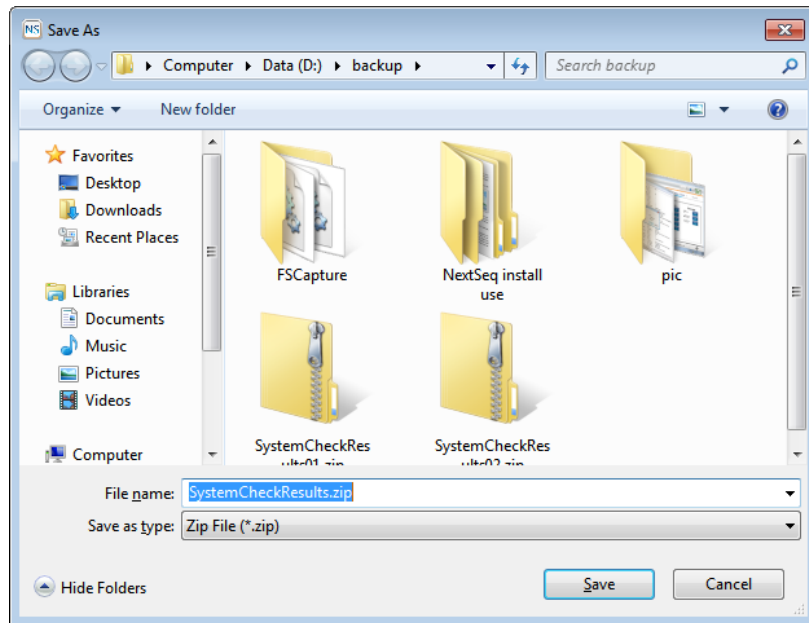
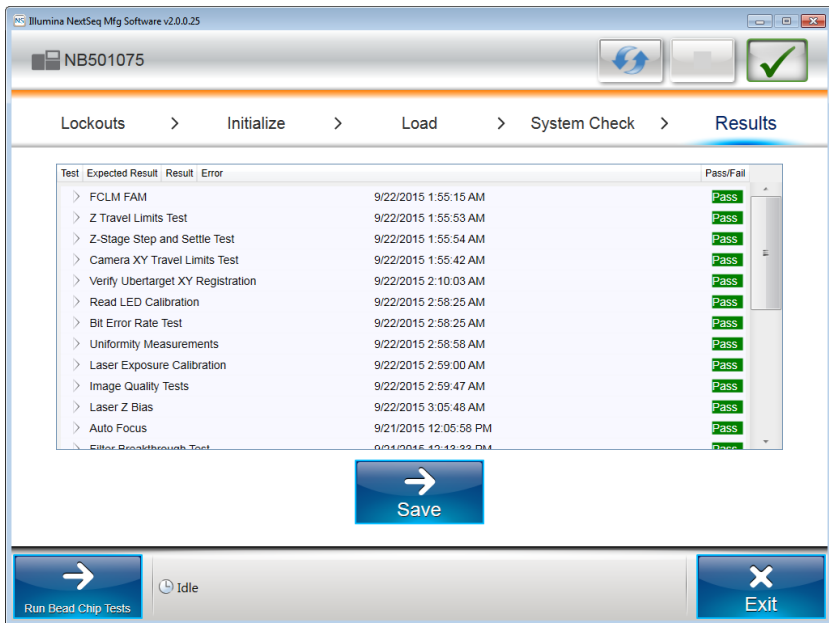
# Nextseq日常使用与维护 – 系统测试

## 测试失败



# Nextseq日常使用与维护 – 系统测试

- 按“ Save” 按钮可以保存测试结果到指定目录
- 系统自动保存结果：D:\Illumina Manufacturing Test Results

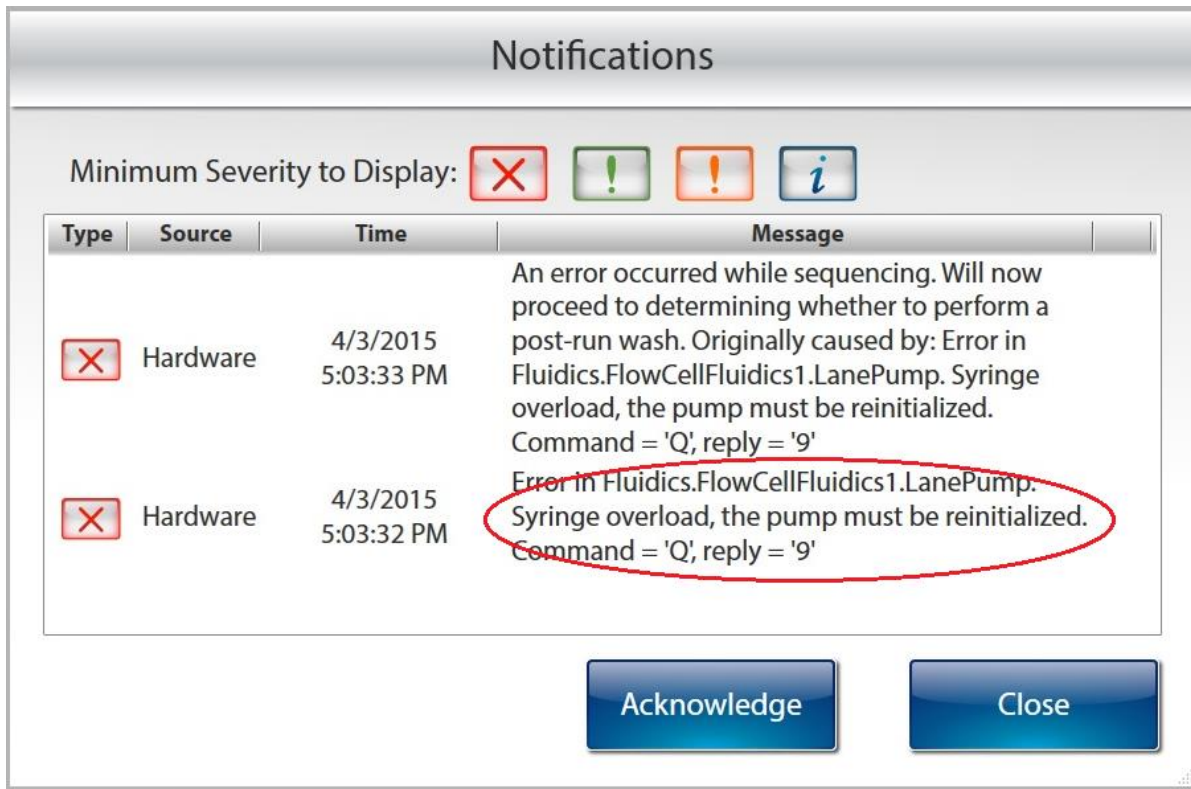


# Nextseq日常使用与维护 – 常见故障

## Syringe overload error

1. 清洗仪器，清洗注射器活塞或更换

2. 更换泵

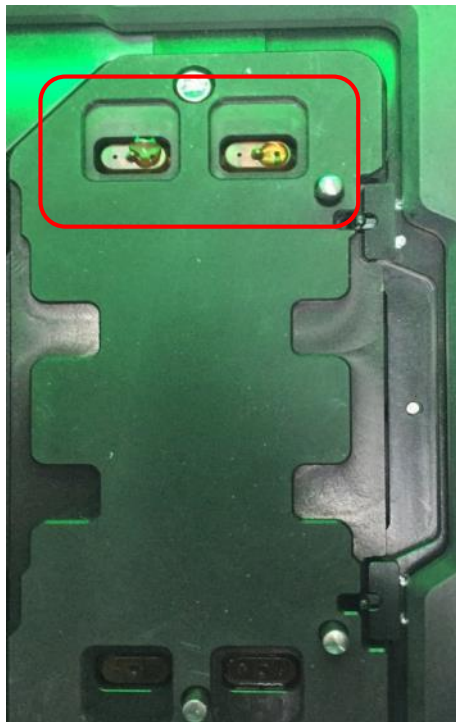




# Nextseq日常使用与维护 – 常见故障

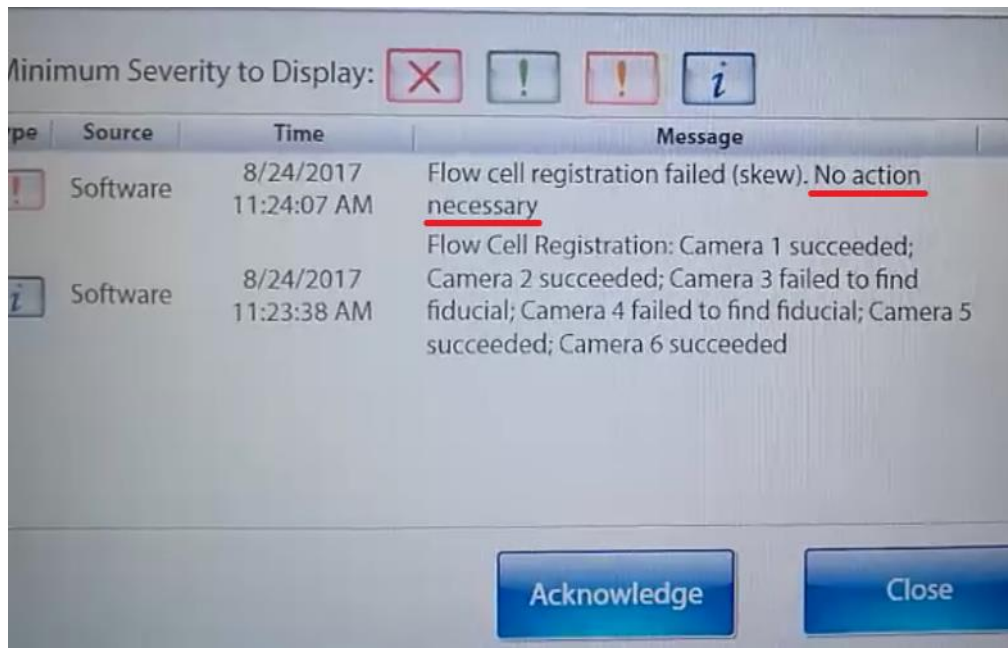
## Flowrate Failed

- 1.检查Flow Cell的Gaskets和FCLM上的Manifold是否平整，破损，异物
- 2.清洗机器
- 3.更换flowcell测试



# Nextseq日常使用与维护 – 常见故障

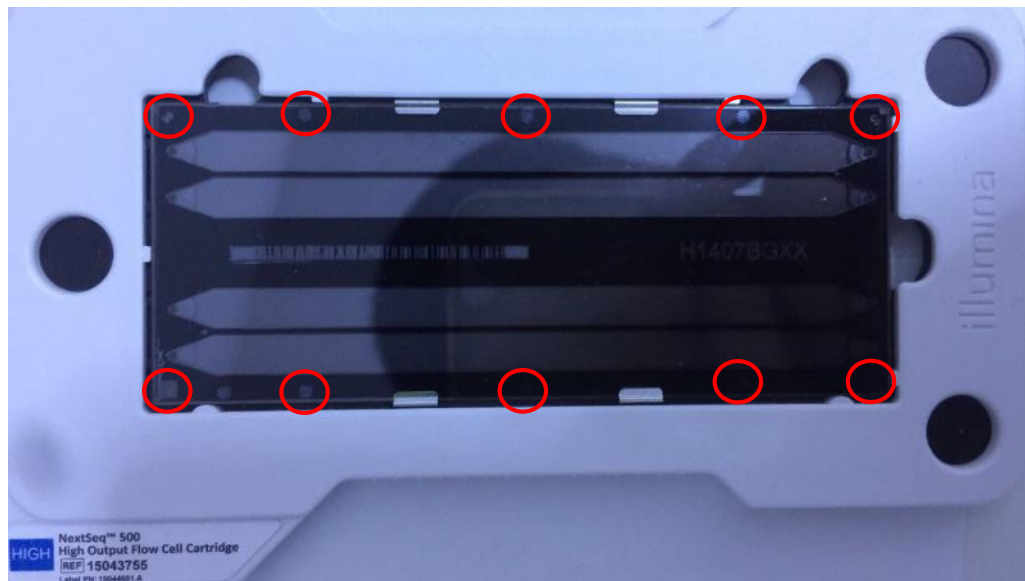
## Flow cell registration fail :



# Nextseq日常使用与维护 – 常见故障

## Flow cell registration fail :

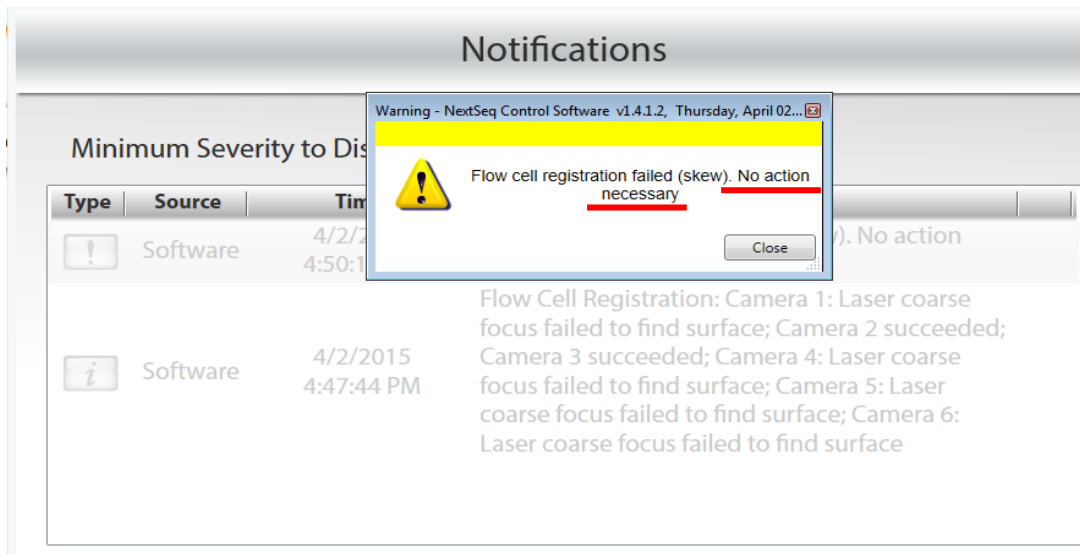
1. 擦干净flow cell边缘的“小格子”



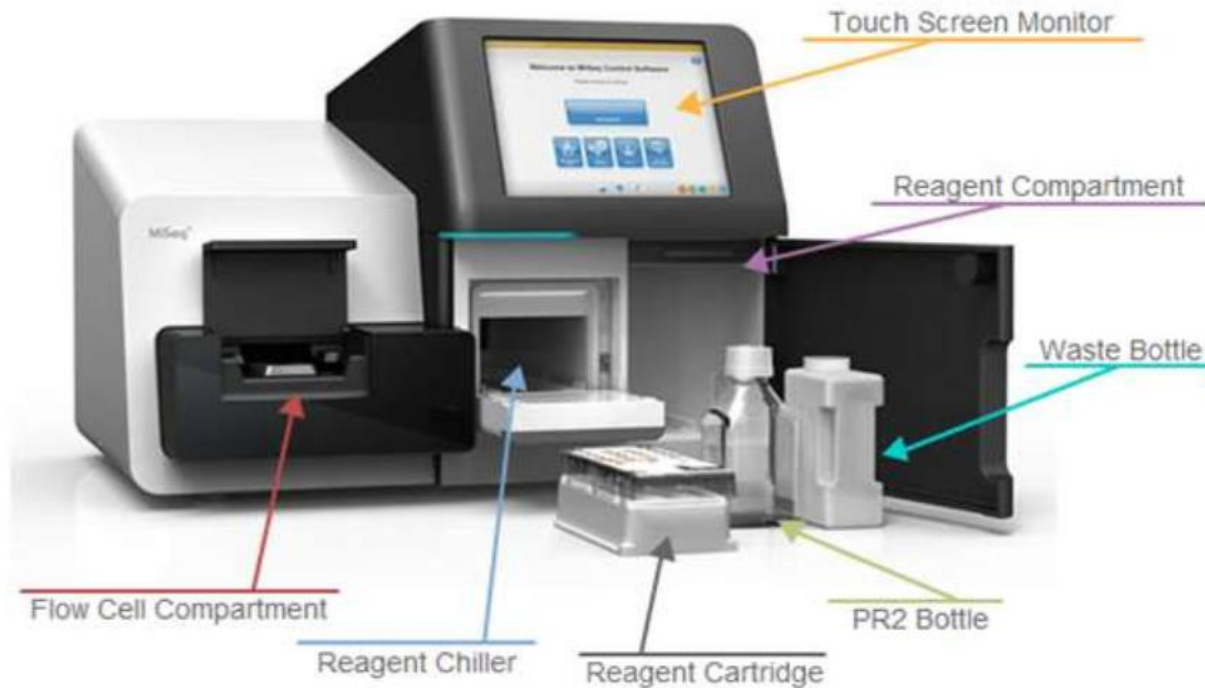
# Nextseq日常使用与维护 – 常见故障

## Flow cell registration fail :

2. 更换flow cell测试，flow cell内部气泡可能造flow cell registration 失败，可用全新flowcell测试。
- 3.运行中报错：继续实验，一般不会对实验结果造成影响



# Miseq日常使用与维护



# Miseq日常使用与维护 – 软件 MCS



Flow cell仓门打开或关闭



小冰箱的温度



Flowcell平台温度



BaseSpace 连接状态







仪器序列号和软件信息



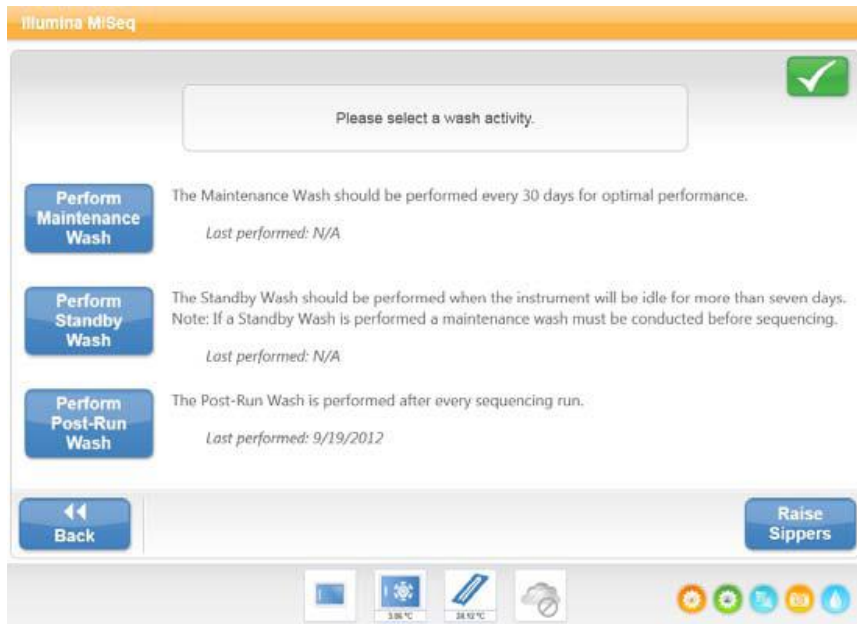
# Miseq日常使用与维护 – 软件 MCS

## 软件状态信息

状态图标	状态名称	描述
	状态正常	未发生更改。系统正常。
	注意	重要信息。建议您采取措施。
	警告	警告不会使运行停止。但是，某些警告需要您采取措施才能继续后面的流程。
	错误	错误通常会导致运行停止，并且通常需要您采取措施才能继续当前运行。

# Miseq日常使用与维护 – 仪器清洗

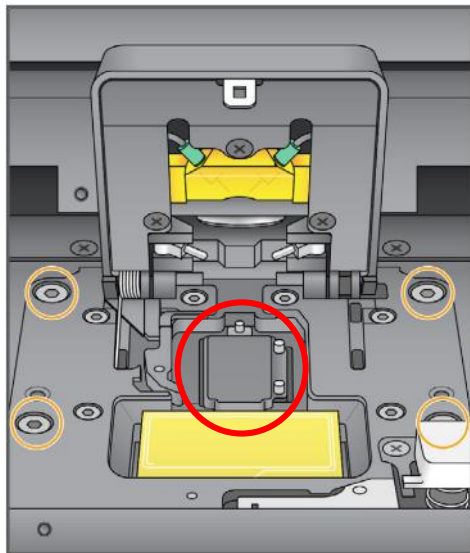
## MCS主界面 -> Perform Wash



- Maintenance Wash (维护清洗)  
每30 天至少执行一次维护清洗维护。  
~ 60分钟
- Standby Wash (待机清洗)  
仪器计划闲置超过7天时执行。仪器进入闲置状态后，在开始新run之前必须执行维护清洗。  
~ 120分钟
- Post-Run Wash (运行后清洗)  
每个run之后清洗。  
~ 20分钟

# Miseq日常使用与维护 – 注意事项

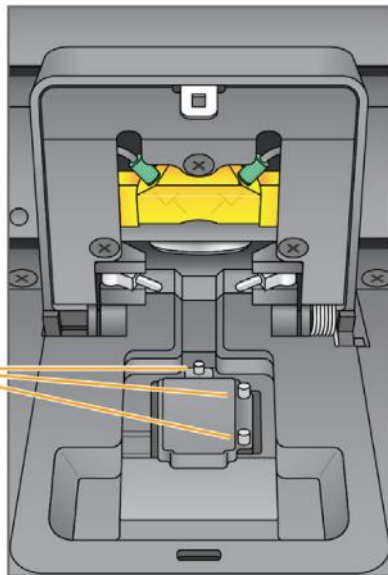
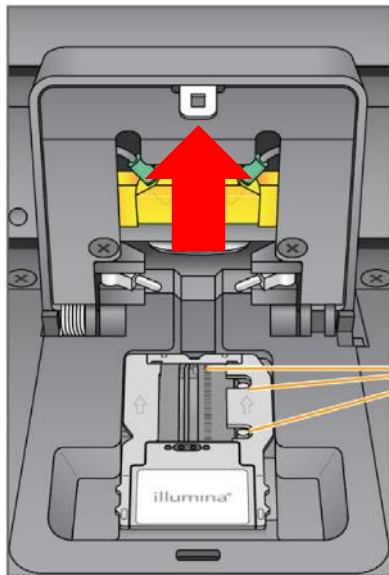
- 清洁Flow Cell Holder表面，不要有灰尘或其他异物



- 用无尘纸清洁Flow Cell上下表面，不要有灰尘/液体残留

# Miseq日常使用与维护 – 注意事项

- 将Flowcell固定夹打开到最大，未充分打开的固定夹会导致Flowcell被挤碎



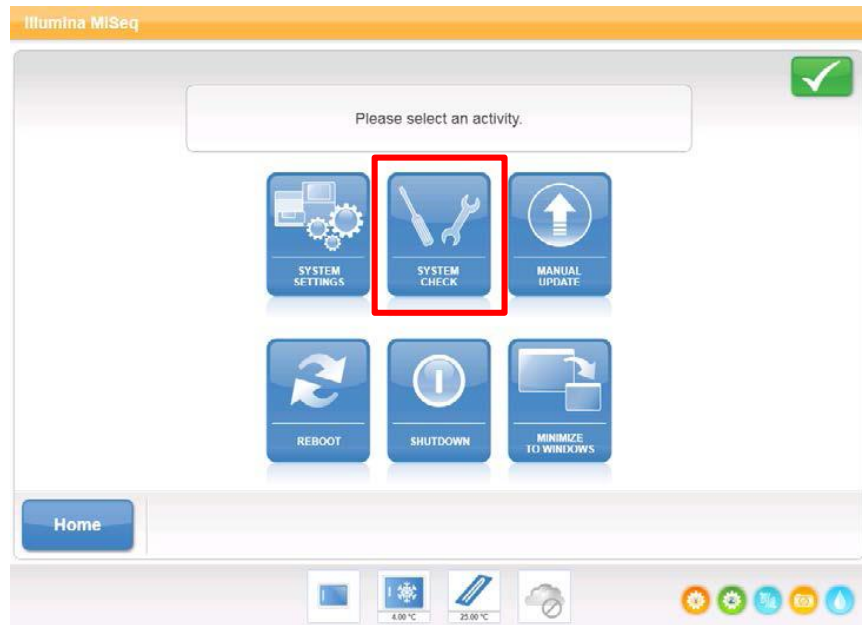
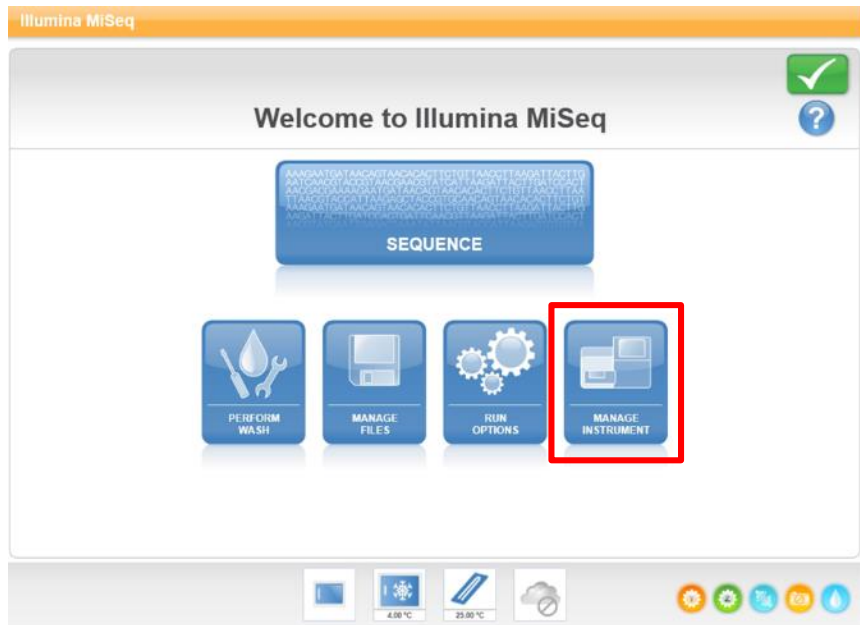
- 放置FC时请将FC定位孔套在定位针上，并向左下角挪动一下，防止FC被挤碎

# Miseq日常使用与维护 – 注意事项

- 每次run之前检查废液瓶，及时清空废液
- 检查小冰箱底部是否有冷凝水，有的话用纸擦干
- 仪器处于闲置状态时，建议每周开机一次并执行清洗过程

# Miseq日常使用与维护 – 系统测试之液路测试

进入维护模式 MCS - Manage Instrument (设备管理) --> System Check (系统检测)





# Miseq日常使用与维护 – 系统测试之液路测试

Motion和Optics测试需要使用特殊的Flow Cell进行

The screenshot shows the Illumina MiSeq system check interface. At the top, it says "Illumina MiSeq". Below that, a message box says "Please select the system check options to perform." There are three columns of checkboxes: "Motion System", "Optics", and "Other". Under "Motion System", there are three options: "Y Stage Test", "M3 Mirror Test", and "Z Stage Test". Under "Optics", there are four options: "LED Power Test", "Tip/Tilt Test", "Autofocus Test", and "Full Optics Test". Under "Other", there are three options: "Prime Reagent Lines", "Conduct Volume Test" (which is checked), and "Thermal Ramp Test". At the bottom left is a "Back" button, and at the bottom right is a "Next" button. There are also status icons at the bottom, including a blue box, a snowflake icon with "4.00 °C", a blue box with "25.00 °C", a cloud icon, and a row of five colored circular icons (orange, green, blue, yellow, blue).

Illumina MiSeq

Please select the system check options to perform.

☐ Select All

Motion System	Optics	Other
<input type="checkbox"/> Y Stage Test	<input type="checkbox"/> LED Power Test	<input type="checkbox"/> Prime Reagent Lines
<input type="checkbox"/> M3 Mirror Test	<input type="checkbox"/> Tip/Tilt Test	<input checked="" type="checkbox"/> Conduct Volume Test
<input type="checkbox"/> Z Stage Test	<input type="checkbox"/> Autofocus Test	<input type="checkbox"/> Thermal Ramp Test
	<input type="checkbox"/> Full Optics Test	

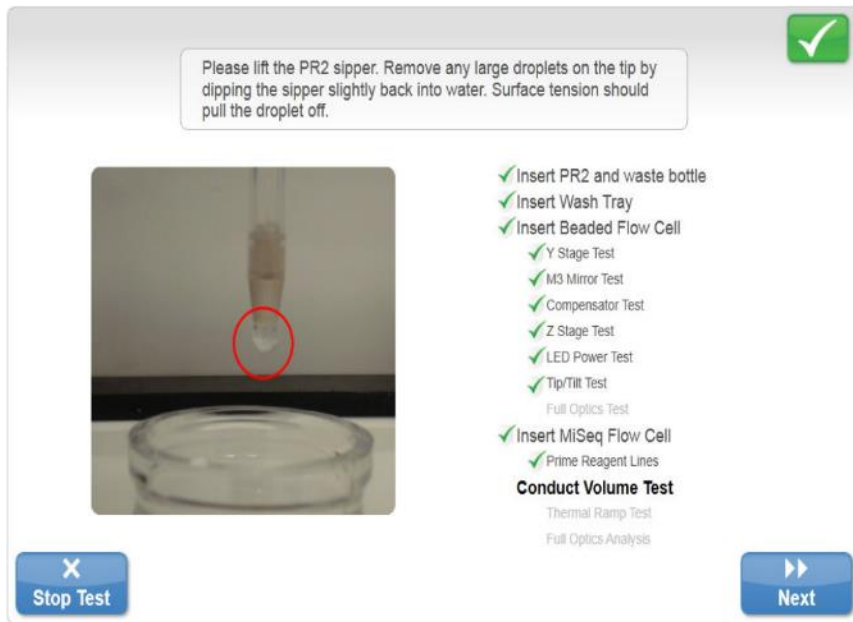
Back Next

4.00 °C 25.00 °C



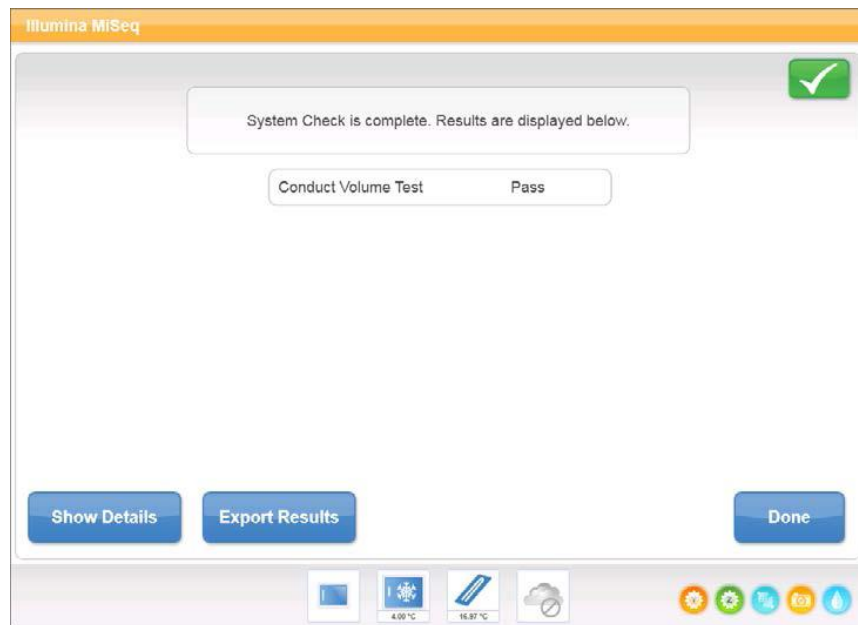
# Miseq日常使用与维护 – 系统测试之液路测试

测试过程中按照提示，执行**两次**：拉起吸管，吸走吸管头上大的液滴，待吸入空气后，拉下吸管



# Miseq日常使用与维护 – 系统测试之液路测试

测试结果如果Fail，执行maintenance wash后，然后再做一次。



# Miseq日常使用与维护 – 常见故障

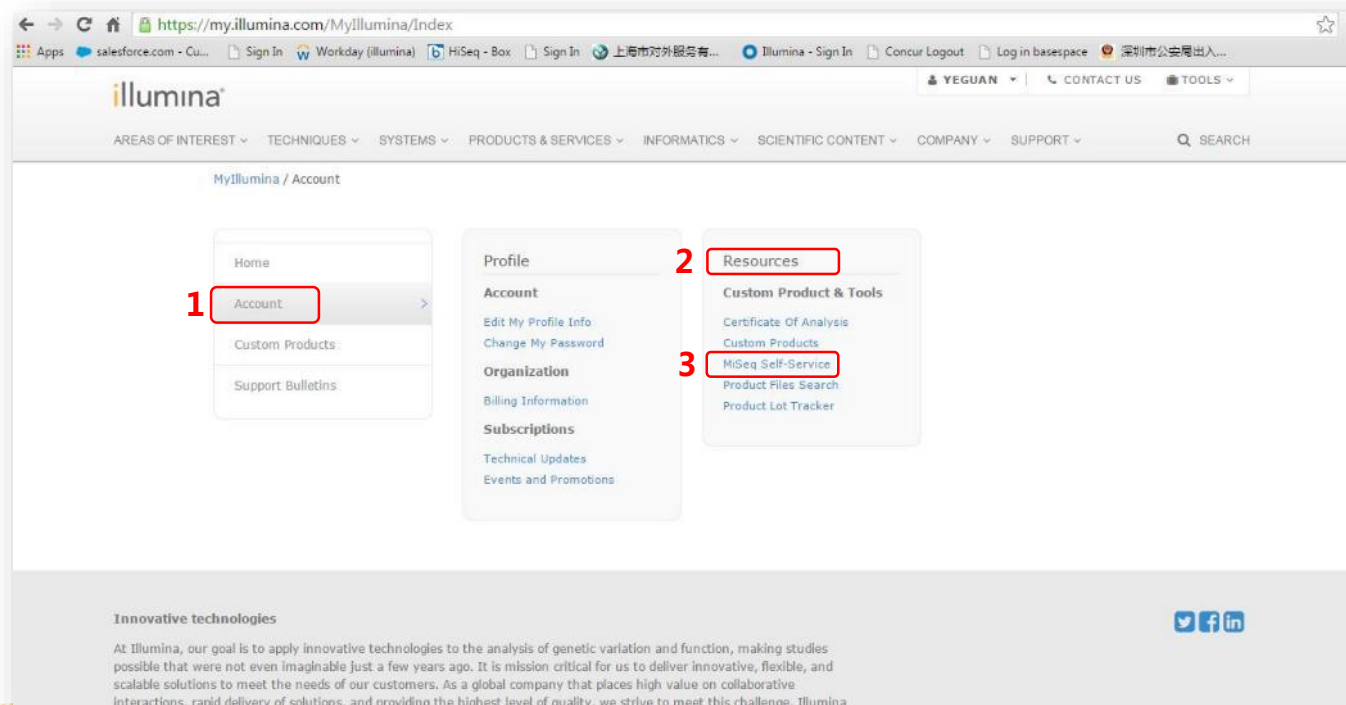
## 不能读取RFID ( Flowcell/PR2/Reagent ) :

1. 重启机器(关闭仪器后面开关)。
2. 获取Bypass code跳过RFID检查
  - A. 在线通过Myillumina账户获取Bypass code。
  - B. 发邮件给Techsupport@illumina.com索取Bypass code。

# Miseq日常使用与维护 – 常见故障

## 在线通过Myillumina账户获取Bypass code

Account ( 帐户 ) --> Resources ( 资源 ) --> MiSeq Self-Service ( MiSeq 自助服务 )





# Miseq日常使用与维护 – 常见故障

## 在线通过Myillumina账户获取Bypass code

Serial Number - 输入仪器序列号

Type of Override Code – 选 RFID Override

Self Service for MiSeq

Home

Account

Custom Products

Support Bulletins

Serial Number

M00443

**输入仪器背后的序列号  
格式：M#####**

**Note:** The MiSeq serial number (M####) can be found under the title "Instrument Name" in the About menu. This Self Service tool is not available for MiSeqDx instruments. If an RFID override code is needed for a MiSeqDx, please contact [Illumina Technical Support](#) with the instrument serial number, the part number and the lot number of the component with the failed RFID.)

Description of the Issue

Type of Override Code

RFID Override

Please select

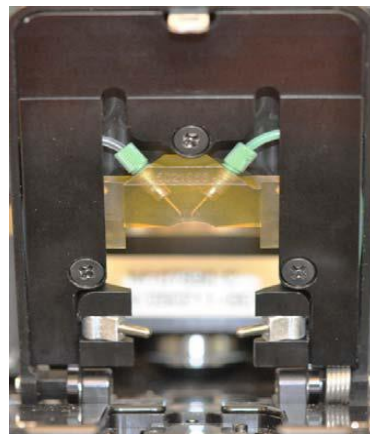
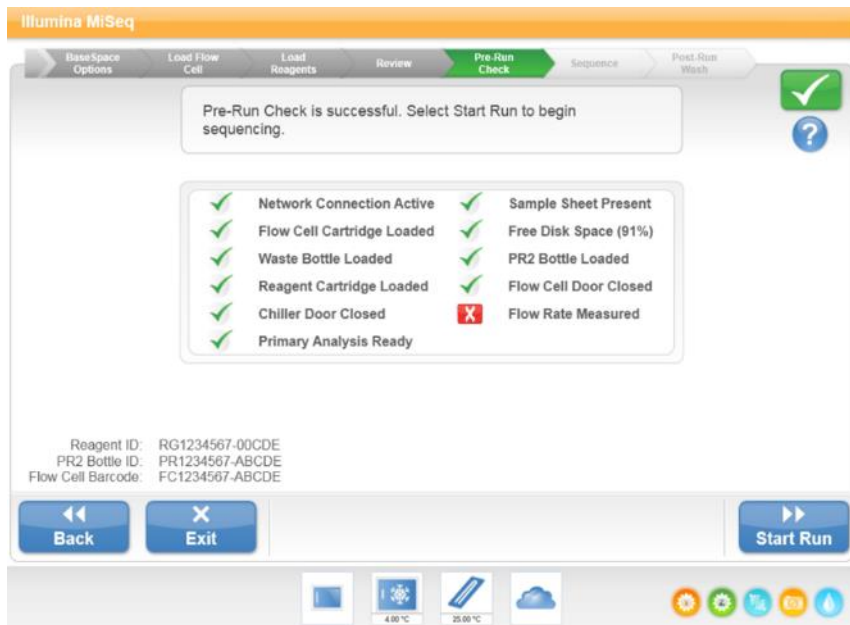
RFID Override

Desktop Access

GET CODE

# Miseq日常使用与维护 – 常见故障

## Flow rate失败：



- 请注意红圈处是否有残留，再使用0.5%吐温20清洗。
- 清洗过程中检查Flow Cell中的液路流动是否正常，有无气泡等

# Nextseq/Miseq实验室环境要求



## 设备运行环境要求

- 温 度** 22℃±3℃，设备运行温度/上机时，温度波动要求小于2℃，波动越小越好。
- 湿 度** Nextseq：湿度20%~80%，无凝露 / Miseq：湿度30%~75%，无凝露。
- 海 拔** 2000米以下经过验证。
- 空 气** 在污染等级II或更高的环境中操作仪器。污染等级II环境被定义为通常仅包括不导电污染物的环境。
- 通 风** 根据实验室总的热量输出计算需求（MiSeq功率:400W, NextSeq功率:600W）



# Nextseq/Miseq实验室环境要求



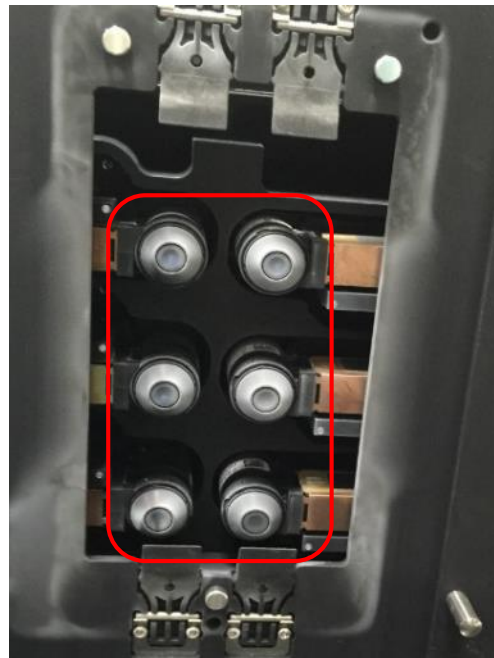
关于实验室推荐及建议：

- 实验台与墙面预留50cm以上的维修及散热空间
- 避免离心机，振荡器等会剧烈振动的设备与仪器安装在同一桌面
- 推荐温度设定在18-20℃，实验室温度波动要求小于2℃，湿度控制在60%
- 避免服务器、超低温冰箱等大型产热设备与仪器位于同一房间
- 避免阳光直射仪器以及实验试剂，如有必要请安装窗帘。
- 实验室建议加装温度湿度实时监控系統



# Nextseq/Miseq实验室环境要求

- 灰尘对仪器的影响



# Nextseq/Miseq实验室环境要求

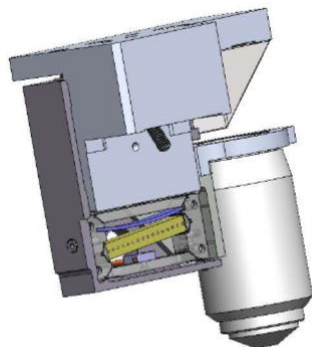
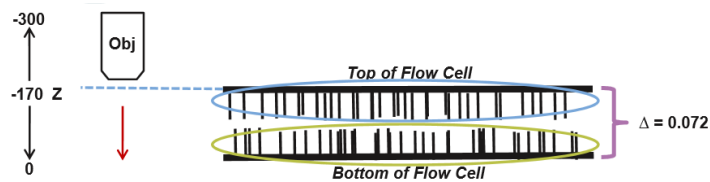
- 灰尘对仪器的影响



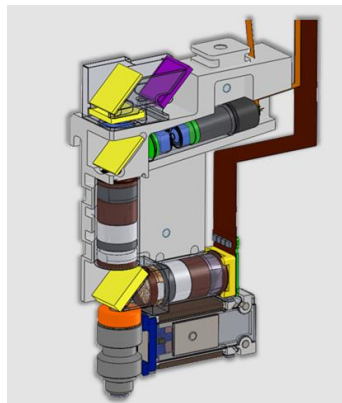


# Nextseq/Miseq实验室环境要求

## - 震动对仪器的影响



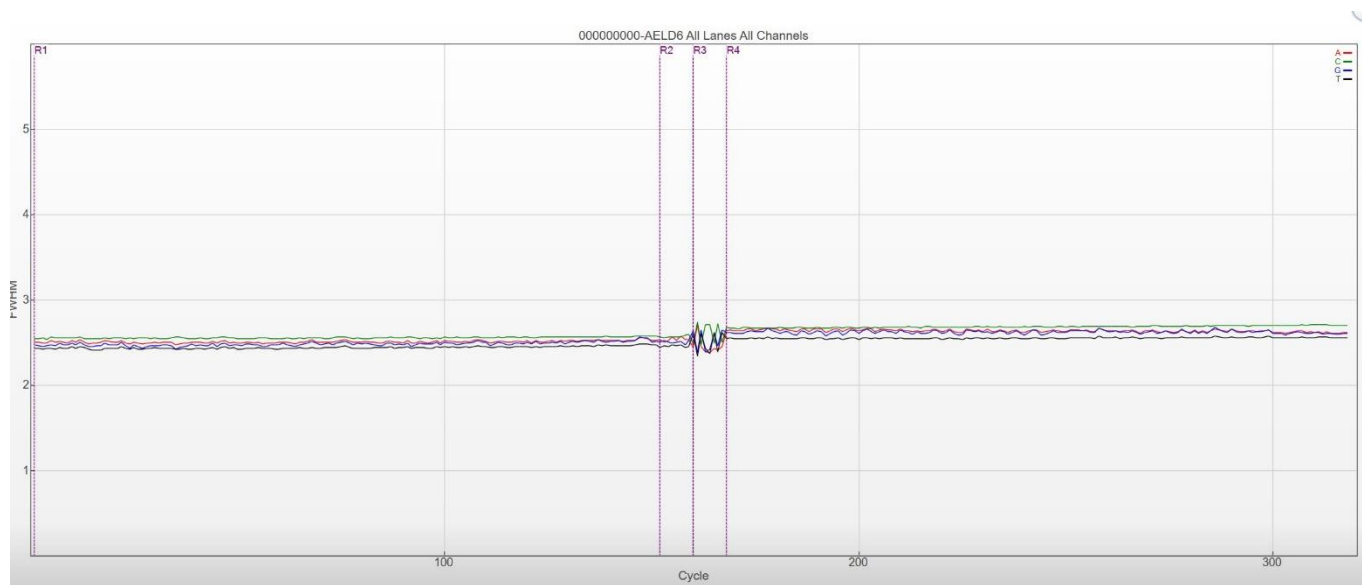
Miseq Z Stage



Nextseq Camera

# Nextseq/Miseq实验室环境要求

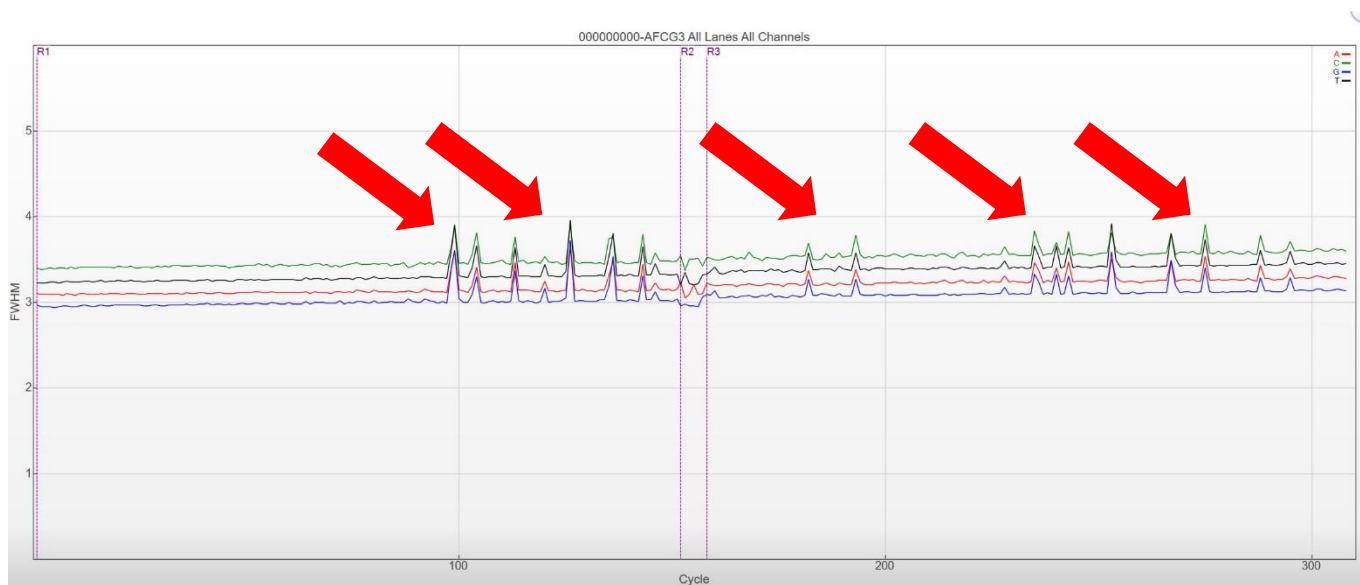
- 震动对仪器的影响



正常的FWHM半波峰宽

# Nextseq/Miseq实验室环境要求

## - 震动对仪器的影响



异常的FWHM半波峰宽

# Nextseq/Miseq实验室环境要求

- 震动对仪器的影响



# 问题





# Thank You!

技术支持

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

400-066-5835