

# MiSeqのランのセットアップ時・開始時に起こるトラブルの対処方法

July 31, 2015



崎川 真里  
イルミナ株式会社  
テクニカルアプリケーションサイエンティスト

© 2015 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, 24sure, BaseSpace, BeadArray, BlueFish, BlueFuse, BlueGnome, cBot, CSPPro, CytoChip, DesignStudio, Epicentre, ForenSeq, Genetic Energy, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, HiSeq X, Infinium, iScan, iSelect, MiSeq, MiSeqDx, MiSeq FGx, NeoPrep, NextBio, Nextera, NextSeq, Powered by Illumina, SureMDA, TruGenome, TruSeq, TruSight, Understand Your Genome, UYG, VeraCode, verifi, VeriSeq, the pumpkin orange color, and the streaming bases design are trademarks of Illumina, Inc. and/or its affiliate(s) in the US and/or other countries. All other names, logos, and other trademarks are the property of their respective owners.

illumina®

# 本日の内容

- ▶ MiSeqのラン前によくお問い合わせいただくトラブル
  - RFIDが読み込めない
  - プレランチェックが通らない
- ▶ MiSeqのラン開始後のエラー
  - ラン開始直後にエラーでランが中断
  - ラン開始後（1時間～1時間半）以降にエラーで中断

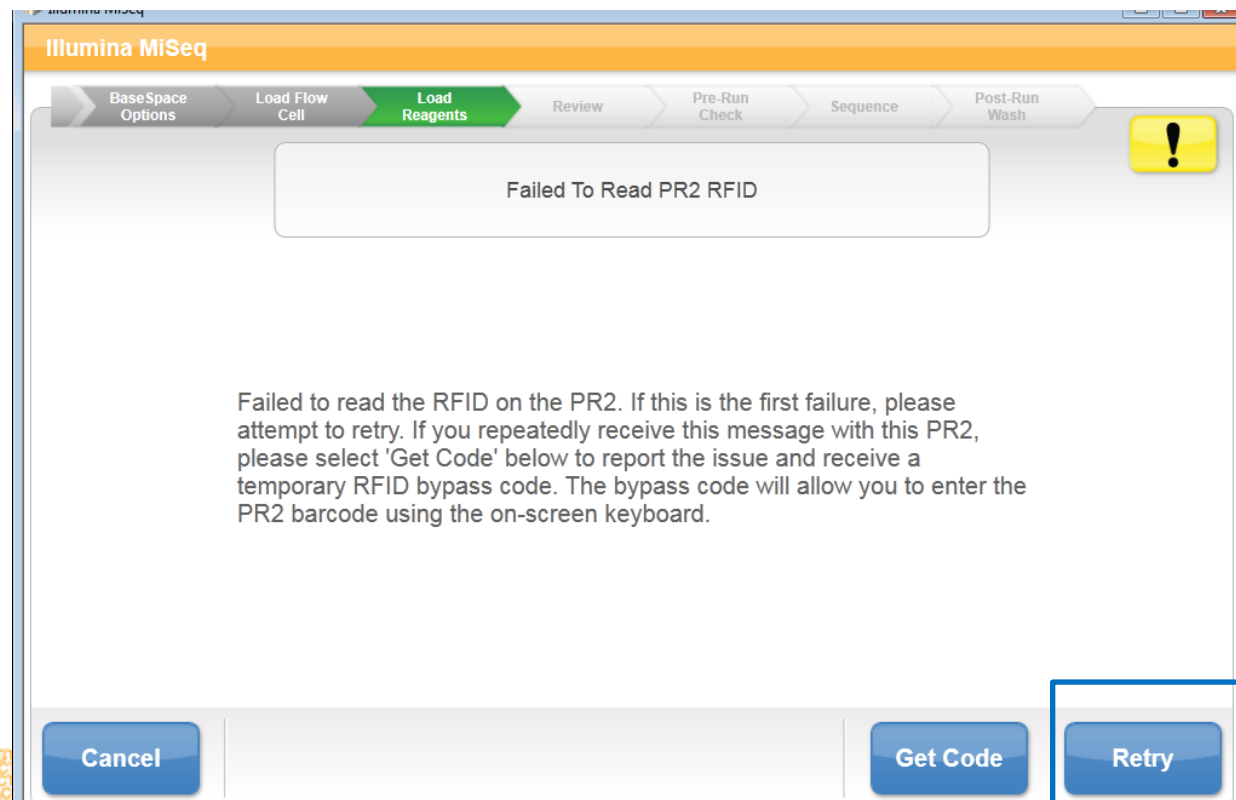
# 本日の内容

- ▶ MiSeqのラン前によくお問い合わせいただくトラブル
  - RFIDが読み込めない
  - プレランチェックが通らない
- ▶ MiSeqのラン開始後のエラー
  - ラン開始直後にエラーで中断
  - ラン開始後（1時間～1時間半）以降にエラーで中断

# RFIDが読み込めない

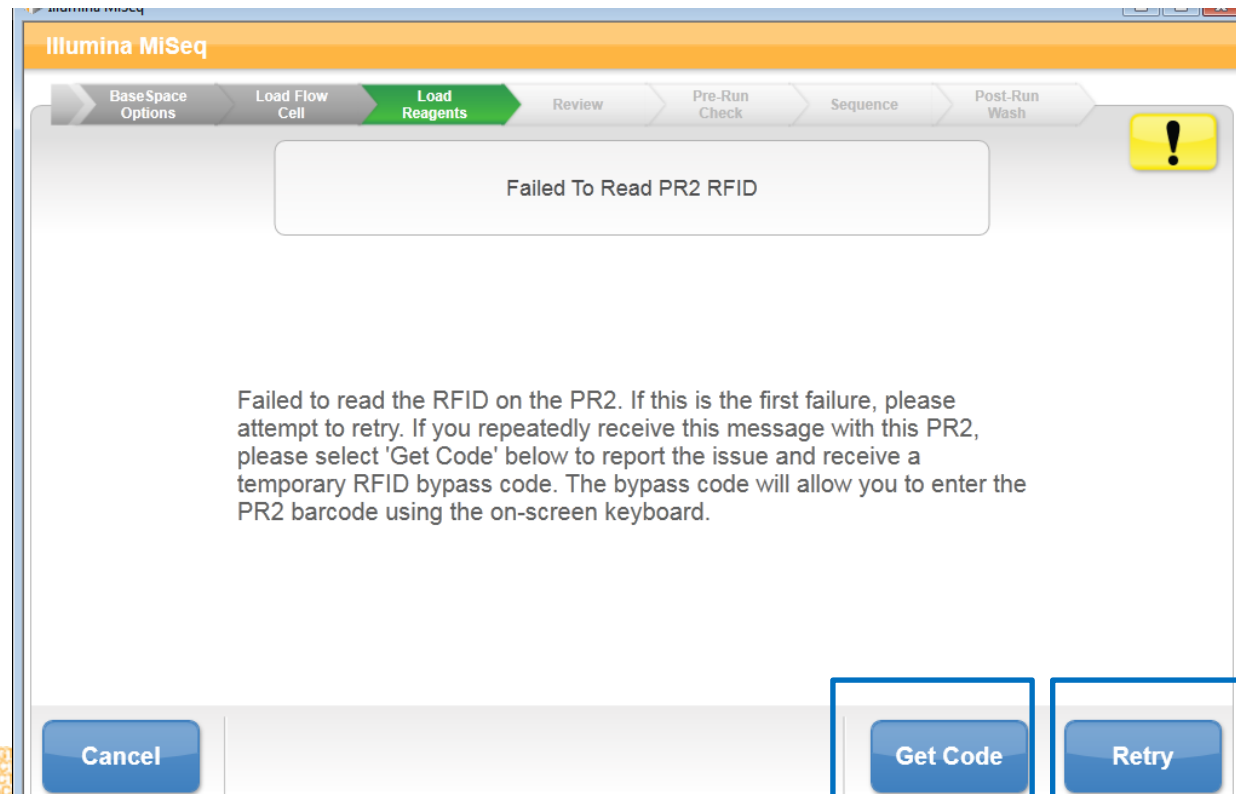
## 各試薬の情報の読み込み、書き込みに必要なRFID

- ▶ フローセル、試薬カートリッジ、PR2試薬には各試薬の情報の読み込み、書き込みに必要なRFIDタグがついている。
- ▶ ランのセットアップ時にフローセル、試薬カートリッジ、PR2ボトルのRFIDが読み込めないときに警告画面が表示される。



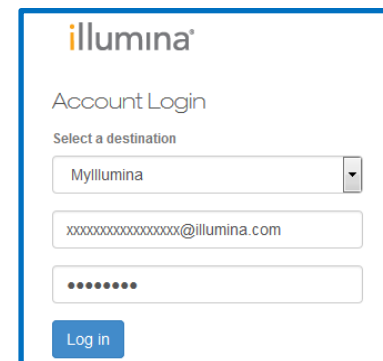
# RFIDが読み込めない エラーの原因と対処方法

- ▶ 試薬消耗品のRFIDタグの不良 ->”Retry”を選択し、再度読み込む。
- ▶ RFIDセンサー不良-> “Get Code”を選択し、RFIDバイパスコードの入力画面に進む。

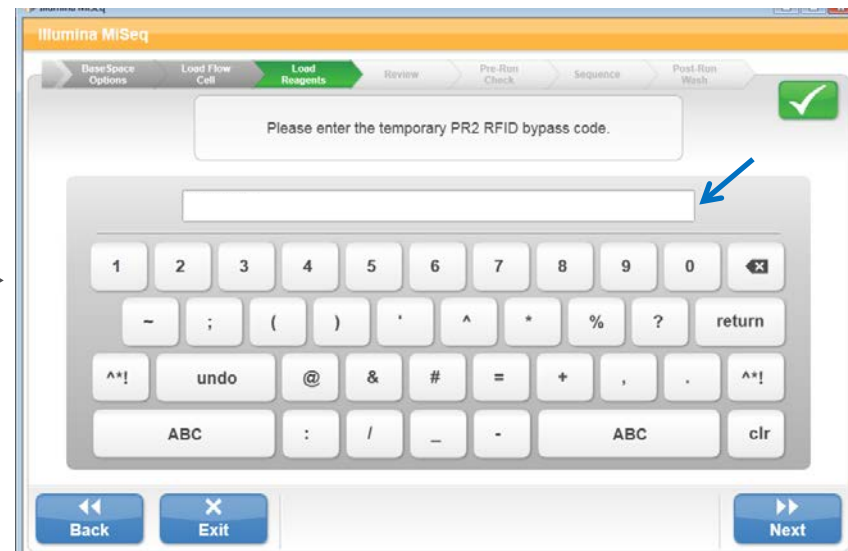
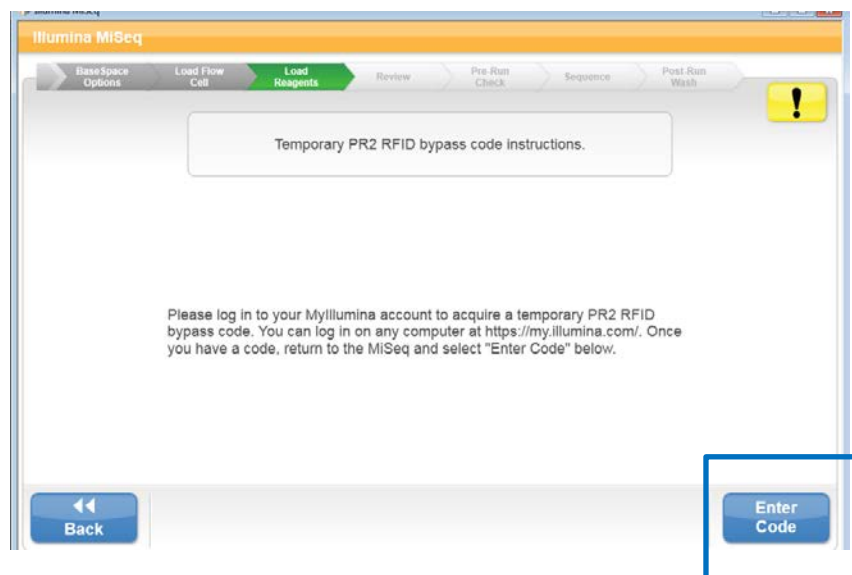


# RFIDが読み込めない

- ▶ Myllumina からバイパスコードを取得するよう通知があるので [Enter Code] でバイパスコードの入力画面に移る。
- ▶ ランのセットアップのため、Mylluminaへアクセス。



illumina®  
Account Login  
Select a destination  
Myllumina  
xxxxxxxxxxxxxxxx@illumina.com  
.....  
Log in



# MyIlluminaからバイパスコードを取得

<http://www.illumina.com/>にアクセスし、MyIlluminaにログイン

illumina®

Account Login

Select a destination

MyIllumina

xxxxxxxxxx@illumina.com

.....

Log in

[Forgot your password?](#)

New Customer

Why register? Illumina has more to offer when you register.

**BaseSpace®**  
Next-generation sequencing cloud computing environment for biologists.

**DesignStudio**  
Web-based design tool for custom targeting projects.

**MyIllumina**  
Access technical bulletins, order and product resources, such as lot tracker and assay design tool.

Register now

illumina®

Hello, [name] Quick Order View Cart (0) Contact Us MyIllumina Tools

AREAS OF INTEREST TECHNIQUES SYSTEMS PRODUCTS & SERVICES INFORMATICS SCIENTIFIC CONTENT COMPANY SUPPORT

MyIllumina

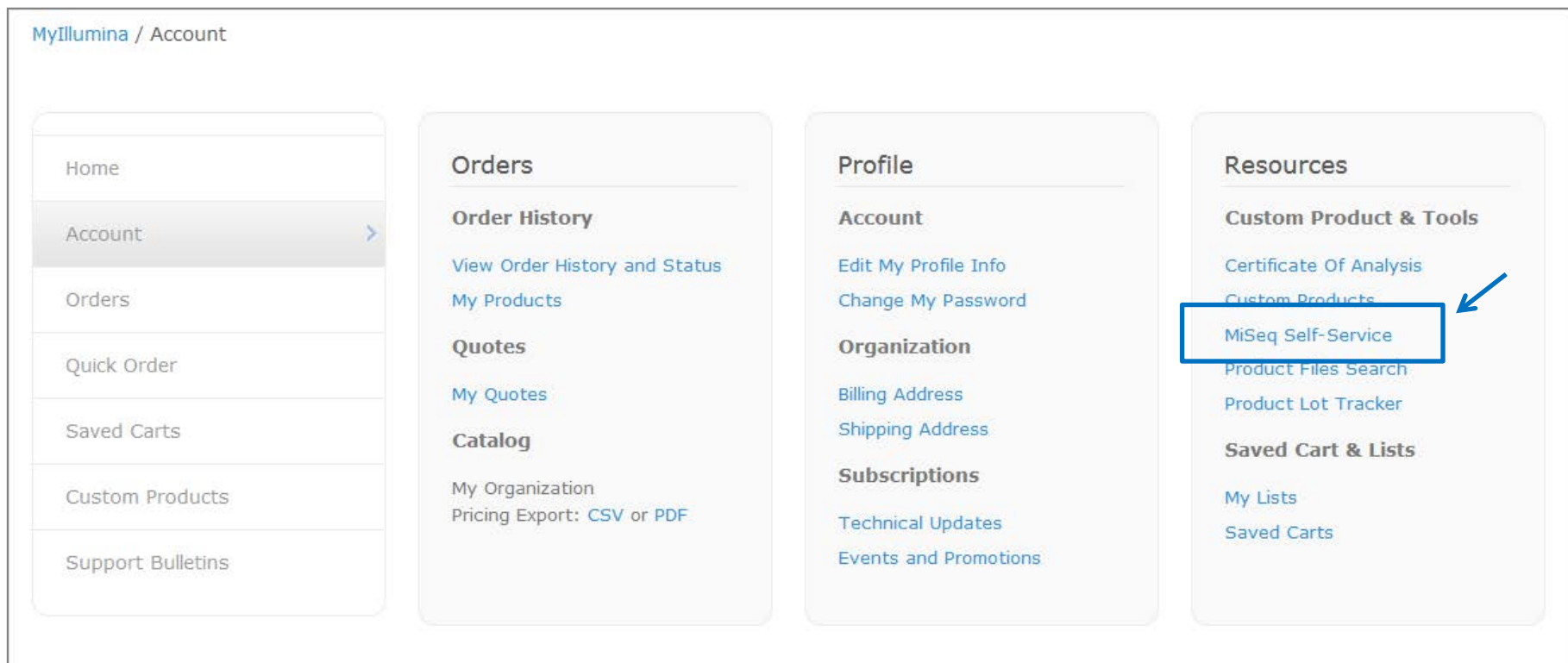
Welcome [name]

Home Account Orders

**System Maintenance Notification:** Illumina will perform system maintenance to our online order processing system from July 23-26, 2015. During this time, the Illumina online purchasing website will not be available. Please plan to make online purchases after this window; online purchasing will be available again on July 27, 2015.

# Myilluminaからバイパスコードを取得 Account>MiSeq Self-Serviceを選択

Myillumina / Account



The screenshot displays the Myillumina Account page. The navigation menu on the left includes Home, Account (highlighted with a right-pointing arrow), Orders, Quick Order, Saved Carts, Custom Products, and Support Bulletins. The main content area is divided into four columns: Orders, Profile, and Resources. The Resources column contains several options, with 'MiSeq Self-Service' highlighted by a blue box and a blue arrow pointing to it from the right. Other options in Resources include Certificate Of Analysis, Custom Products, Product Files Search, Product Lot Tracker, Saved Cart & Lists, My Lists, and Saved Carts.

**Orders**

- Order History**
  - [View Order History and Status](#)
  - [My Products](#)
- Quotes**
  - [My Quotes](#)
- Catalog**
  - [My Organization](#)
  - [Pricing Export: CSV or PDF](#)

**Profile**

- Account**
  - [Edit My Profile Info](#)
  - [Change My Password](#)
- Organization**
  - [Billing Address](#)
  - [Shipping Address](#)
- Subscriptions**
  - [Technical Updates](#)
  - [Events and Promotions](#)

**Resources**

- Custom Product & Tools**
  - [Certificate Of Analysis](#)
  - [Custom Products](#)
  - MiSeq Self-Service**
  - [Product Files Search](#)
  - [Product Lot Tracker](#)
- Saved Cart & Lists**
  - [My Lists](#)
  - [Saved Carts](#)



# MyIlluminaからバイパスコードを取得 必要な項目を入力

illumina® Hello, [User Name] Quick Order View Cart (0) Contact Us MyIllumina Tools

AREAS OF INTEREST TECHNIQUES SYSTEMS PRODUCTS & SERVICES INFORMATICS SCIENTIFIC CONTENT COMPANY SUPPORT

MyIllumina / Account / MiSeq Self Service

### Self Service for MiSeq

Home Account Orders Quick Order Saved Carts Custom Products Support Bulletins

**\* MiSeq Serial Number** ← ①  
M00001

**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.

**ご使用のMiSeqのシリアル番号を入力  
(例: M00001)**

Description of the Issue

**\* Type of Override Code**  
RFID Override

[GET CODE](#)

**Products**

- + Documentation
- + Epigenetics
- + Gene Expression
- + Genotyping

# MyIlluminaからバイパスコードを取得 MiSeqのシリアル番号の確認方法

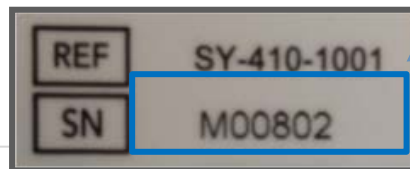
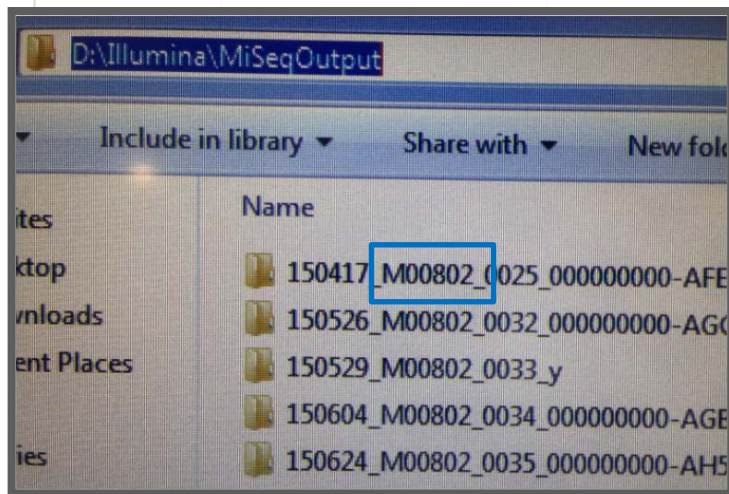
Self Service for MiSeq

\* MiSeq Serial Number  
M00001

①

ご使用のMiSeqのシリアル番号を入力  
(例: M00001)

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.



# MyIlluminaからバイパスコードを取得 必要な項目を入力

The screenshot shows the 'Self Service for MiSeq' page on MyIllumina. The page has a left sidebar with navigation links: Home, Account, Orders, Quick Order, Saved Carts, Custom Products, and Support Bulletins. The main content area is titled 'Self Service for MiSeq' and contains a form with the following elements:

- A text input field for '\* MiSeq Serial Number' with the value 'M00001'. A blue box highlights this field, with a circled '1' and an arrow pointing to it.
- A text area for 'Description of the Issue'.
- A dropdown menu for '\* Type of Override Code' with 'RFID Override' selected. A blue box highlights this dropdown, with a circled '2' and an arrow pointing to it.
- A 'GET CODE' button. A blue box highlights this button, with a circled '3' and an arrow pointing to it.

A note on the right side of the page reads: "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."

A central callout box contains the text: "ご使用のMiSeqのシリアル番号を入力 (例: M00001)".

# MyIlluminaからバイパスコードを取得

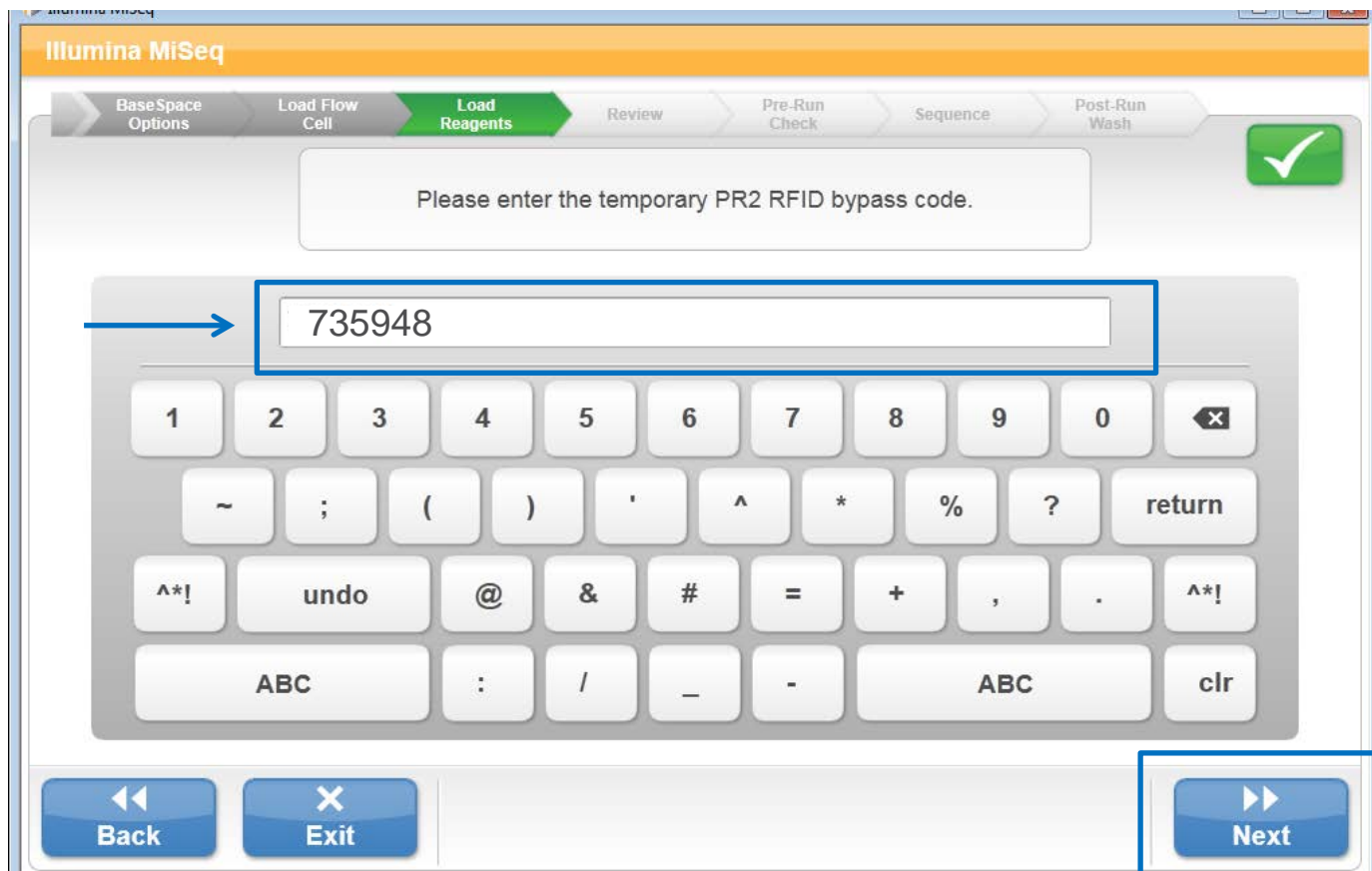
## RFIDバイパスコードを取得

The screenshot shows the MyIllumina account page for MiSeq Self Service. On the left is a navigation menu with links for Home, Account, Orders, and Quick Order. The main content area features a blue notification box with an information icon and the text "RFID Override Code: 735948" and "This code is valid until 7/29/2015". A blue arrow points from a box labeled "RFIDバイパスコード" to the code. Below the notification is a section titled "Self Service for MiSeq" with a label "\* MiSeq Serial Number" and a partially visible serial number "M00001". A note on the right states: "Note: The MiSeq serial number (M####) can be".

- ▶ RFIDバイパスコードは発行日から7日間有効
- ▶ 2か月に3回発行可能

# バイパスコードを入力

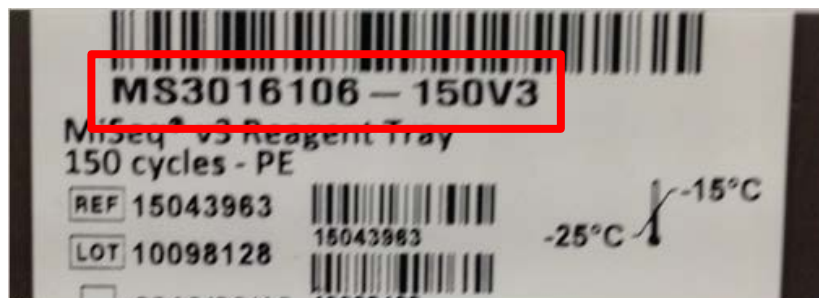
- ▶ 取得したバイパスコードをMCSの画面に入力



# バーコード番号は各試薬に貼付のシールを確認

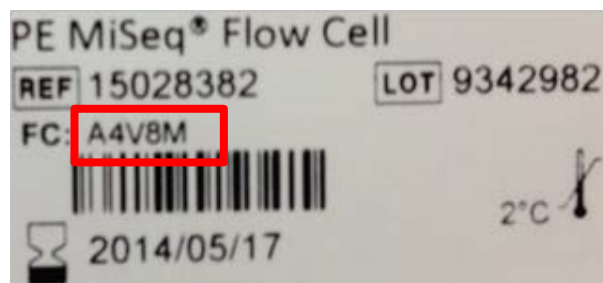
- ▶ 試薬カートリッジとPR2試薬は、本体に貼付のシールに記載
- ▶ フローセルは、保存容器に貼付のシールに記載

試薬カートリッジ



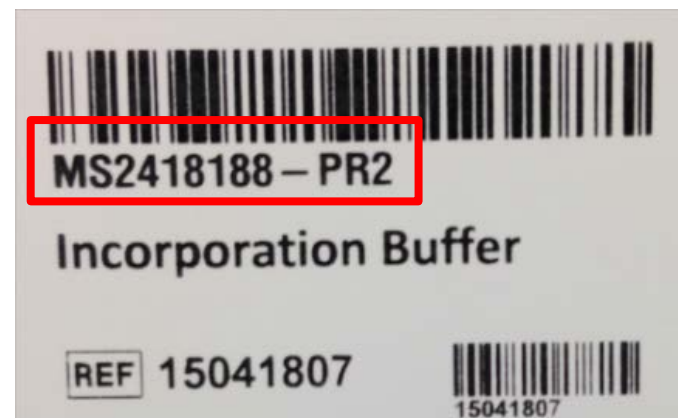
MS3016106-150V3

フローセル



A4V8M

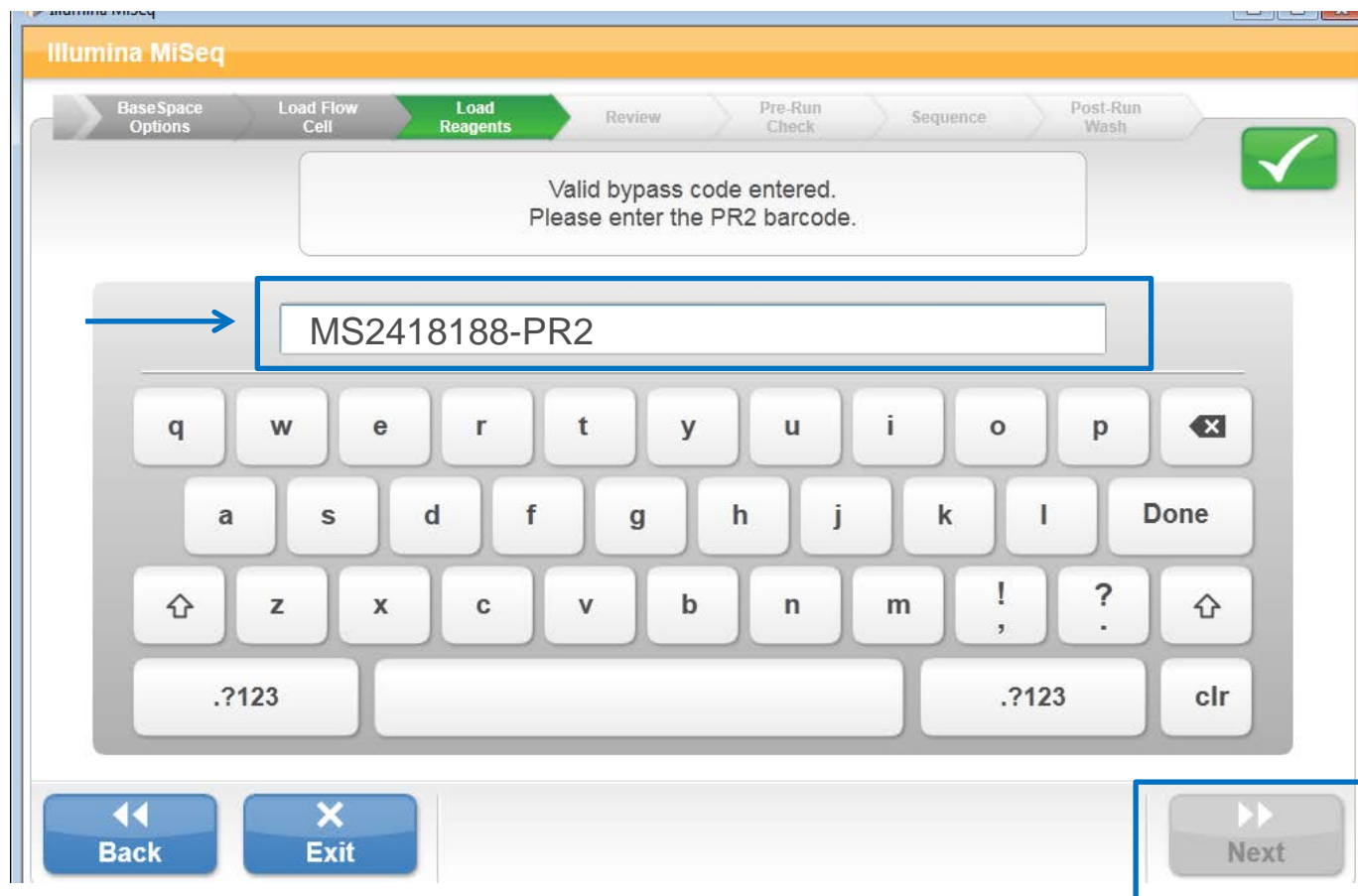
PR2試薬



MS2418188-PR2

# 試薬に記載されたバーコード番号を入力

- ▶ フローセル、試薬カートリッジ、PR2試薬のバーコード番号を入力



# ランのセットアップに進む

- ▶ [Next]がアクティブになるので、次の操作に進む。

Illumina MiSeq

BaseSpace Options Load Flow Cell **Load Reagents** Review Pre-Run Check Sequence Post-Run Wash

Please load the PR2 and waste bottles.

PR2 Bottle ID: MS2418188-PR2  
Flow Cell Barcode: 000000000-A099E

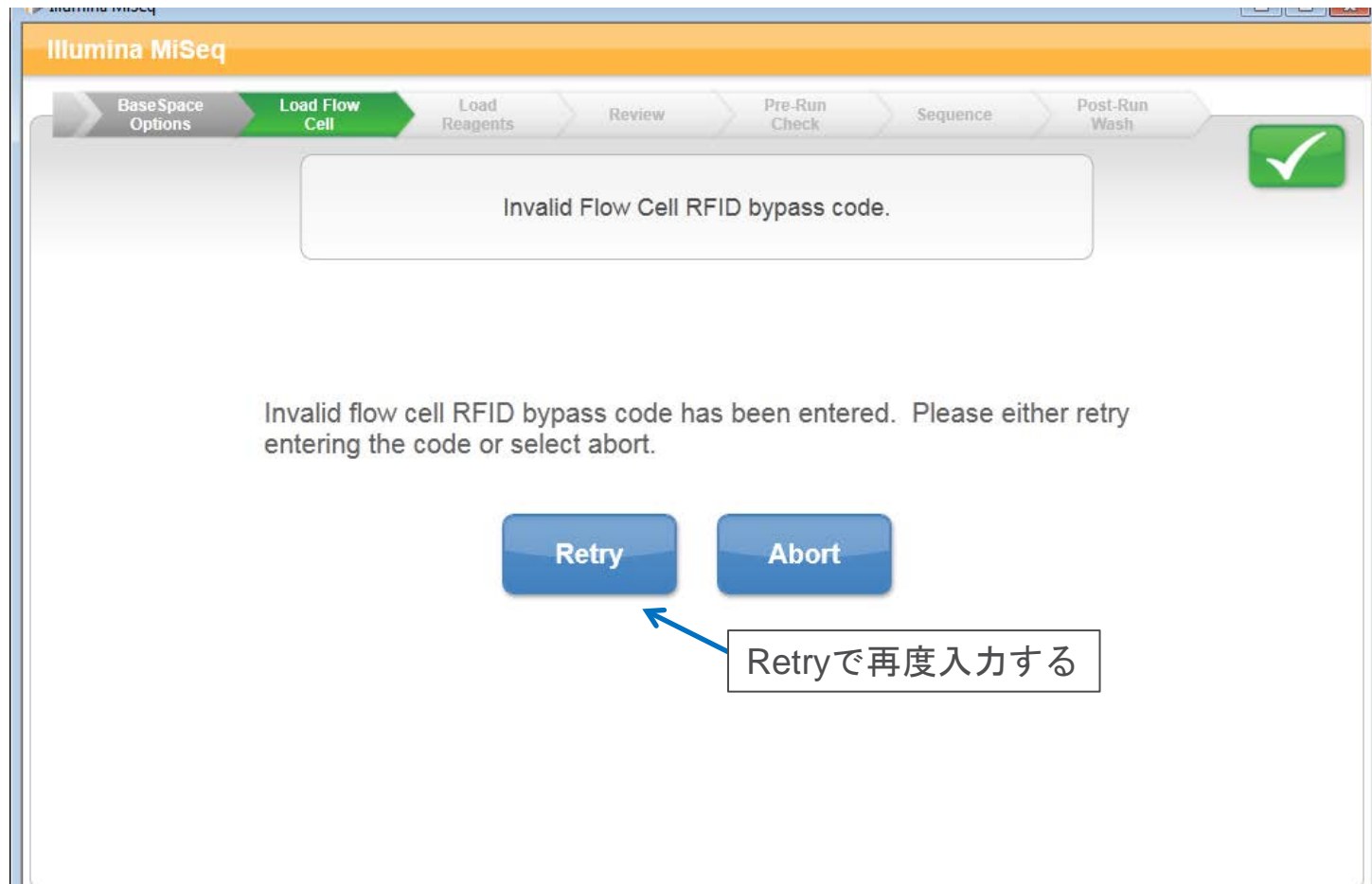
- ✓ PR2 bottle present
- ✓ PR2 RFID read
- ✓ Waste Bottle Present
- ✓ Waste Bottle Empty

Back Exit Next



# ご注意ください

- ▶ 無効なRFIDバイパスコードを入力すると、先に進むことができない。

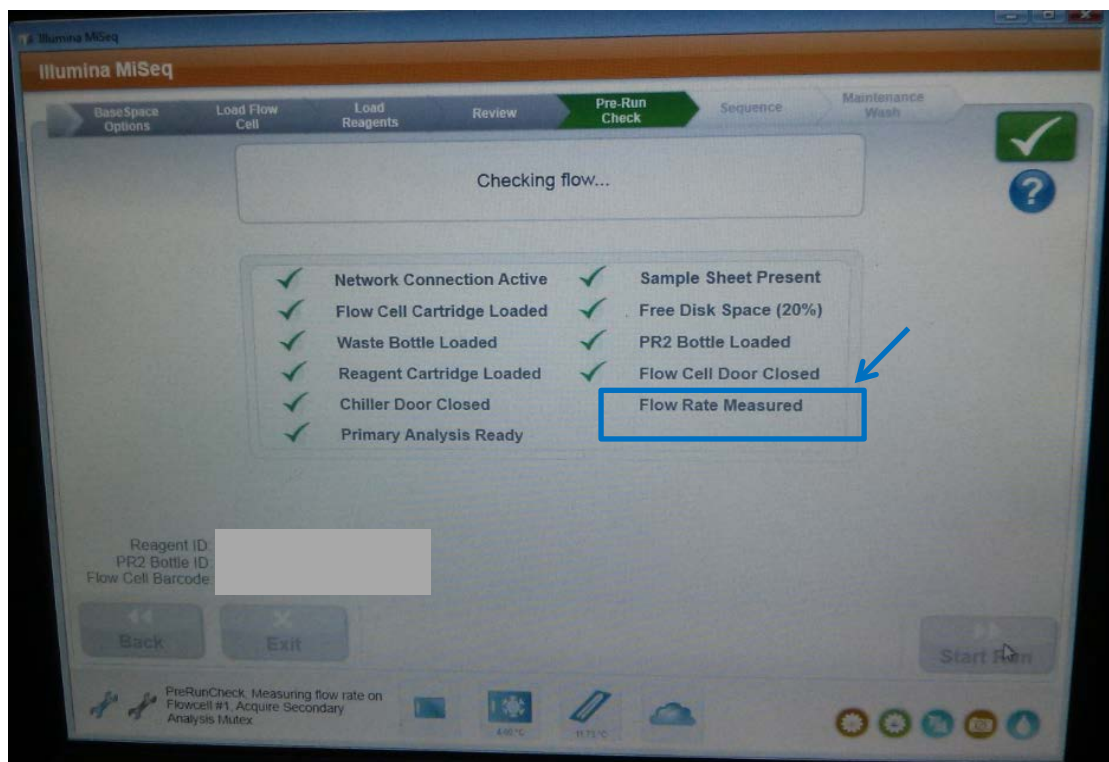


# 本日の内容

- ▶ MiSeqのラン前によくお問い合わせいただくトラブル
  - RFIDが読み込めない
  - プレランチェックが通らない
- ▶ MiSeqのラン開始後のエラー
  - ラン開始直後にエラーで中断
  - ラン開始後（1時間～1時間半）以降にエラーで中断

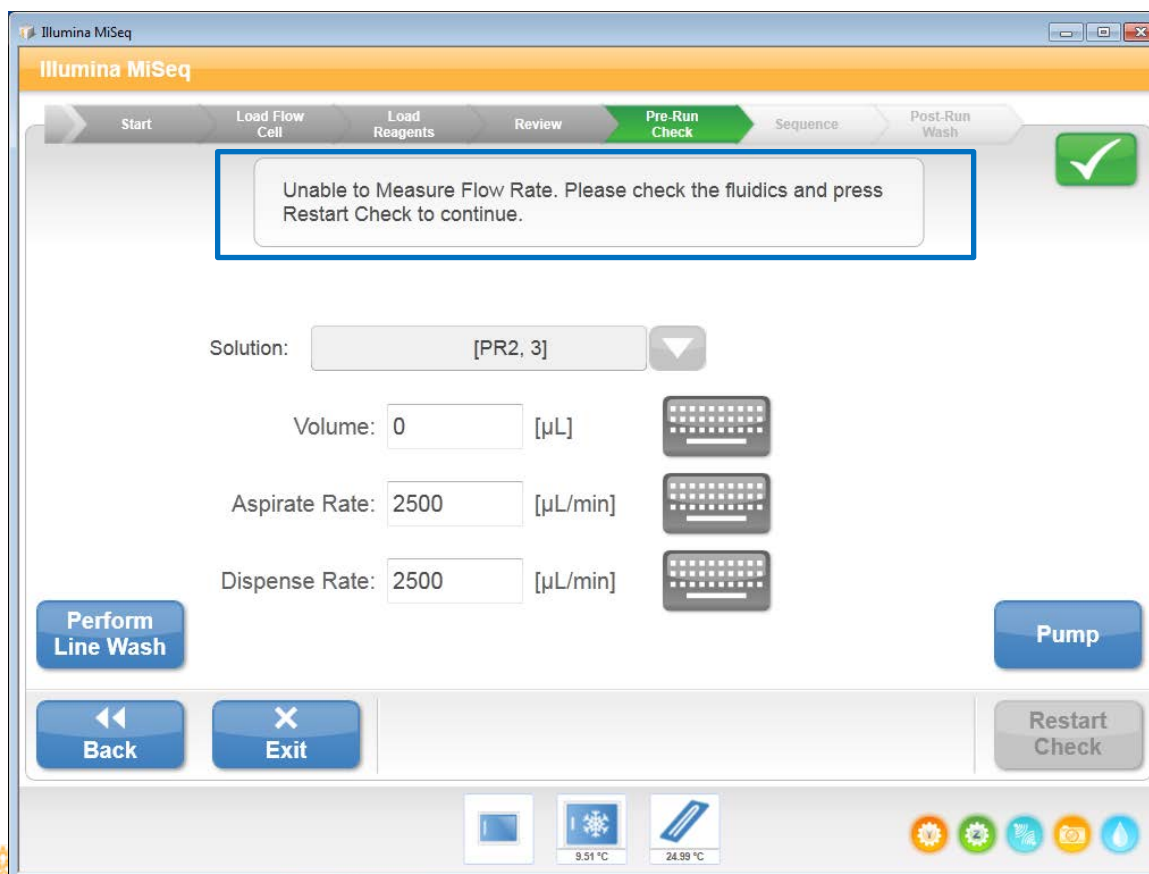
# ラン開始前のプレランチェックが通らない Flow Rate Measuredがパスしない

- ▶ 空気-PR2試薬-空気の順で流し、空気間のPR2試薬の液量をチェックする項目。
- ▶ PR2試薬の送液で流路の不具合を確認
  - エラーは、PR2試薬の送液不良やセンサーが空気を認識していないことが原因。



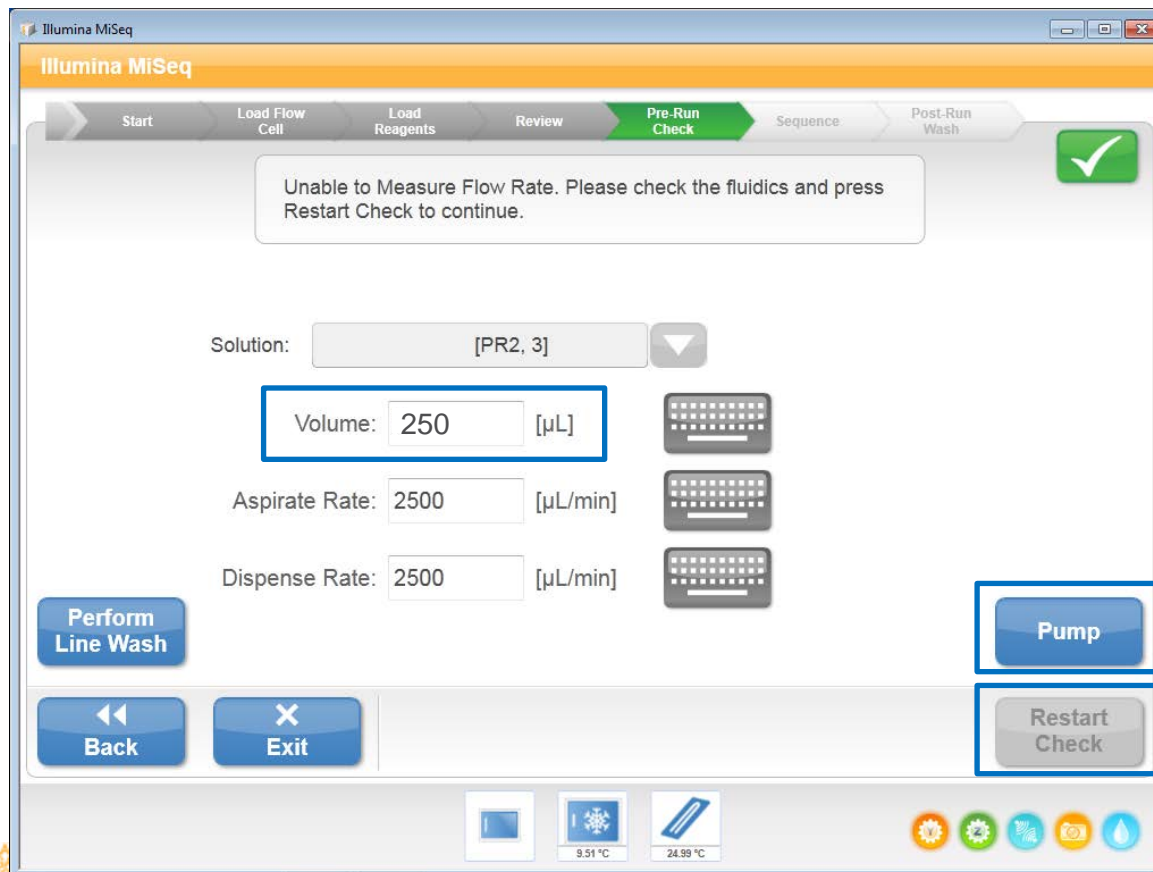
# ラン開始前のプレランチェックが通らない Flow Rate Measuredに関するエラーメッセージ

- ▶ “Unable to measure Flow Rate. Please check the fluidics and press Restart Check to continue.”
- ▶ Flow Rate Measuredをパスしなければ、ランに進むことができない。



# ラン開始前のプレランチェックが通らない まずは画面にしたがってpumpを行う

- ▶ PumpでPR2試薬を流した後に、再度Restart Checkでプレランチェックを実施。
- ▶ Volumeは、250uLまたは500uLで行う。



# ラン開始前のプレランチェックが通らない エラーの対処方法

- ▶ フローセルの設置方法、フローセルまたは装置の流路の不具合の可能性
  1. 装置の再起動を行う。（フローセルと試薬は装置内に放置）
  2. MCSにてランのセットアップ画面に進む。
  3. フローセル設置の画面で、フローセルを取り外す。（ガラス部分にヒビや、カケがないことを確認）
  4. フローセルの設置面をきれいにし、再度設置する。
  5. プレランチェックに進む。
- ▶ 再度同じエラーとなる場合は、装置またはフローセルの不具合の可能性
- ▶ テクニカルサポートまでお問い合わせください。
  - 別の新しいフローセルを使用し、ランのセットアップをお試しいただく場合がある。

# ラン開始前のプレランチェックが通らないエラーの原因となる可能性のあるもの

- ▶ フローセルの設置の仕方
  - 装置再起動後の、フローセル再設置で解消
- ▶ FCの流路のinlet、outlet側への泡の混入
  - PR2試薬のpumpにて解消
- ▶ 装置のフローセル設置面に試薬の析出物等があると、フローセルと装置の流路に隙間ができる
  - 析出物の除去、設置面の拭き取りにて解消
- ▶ 装置の流路に不具合
  - エラーが再現された場合は、流路チェックを実施
  - 試薬カートリッジのすべてのポジションの試薬の送液をチェックし、流路の問題を確認する



# 本日の内容

- ▶ MiSeqのラン前によくお問い合わせいただくトラブル
  - RFIDが読み込めない
  - プレランチェックが通らない
- ▶ MiSeqのラン開始後のエラー
  - ラン開始直後にエラーで中断
  - ラン開始後（1時間～1時間半）以降にエラーで中断



# ラン開始直後にエラーで中断

## “START”を押した直後にガリガリという音とエラー発生

- ▶ ランを開始するとシッパーが試薬カートリッジに下りるが、シッパーが試薬カートリッジのプラスチック部分にぶつくとエラーとなる。
- ▶ 表示されるエラー  
“Object reference not set to an instance” または、  
“The FPGA reported an Error while executing command ”SIPDOWN“”
- ▶ カートリッジが奥まで差し込まれていないために、シッパーがカートリッジにうまく降りないことが原因であることが多い。中断したランの再開はできない。

Type	Flow Cell	Time	Message
	-	2/22/2014 10:24:27 AM	The FPGA reported an error while executing command "SIPDOWN"; error message: "sip: down sensor error"
	-	2/22/2014 10:20:31 AM	The FPGA reported an error while executing command "SIPDOWN"; error message: "sip: down sensor error"

# シッパーエラーが発生 次の対応内容

- ▶ この時点で試薬は未使用のため、同じ試薬を使用して次のランが可能。
  1. ラン終了後、使用した試薬カートリッジの全てのポジションに穴が開いているかを確認。
  2. 次のランの準備を行うまでの間は、試薬カートリッジ・フローセル・PR2試薬は4°Cで保管する。
  3. ラン中断後にウォッシュを行う際は、別の使用済みフローセルとウォッシュカートリッジを使用。
    - ✓ ウォッシュ開始時に異音が再現するかを確認。
  4. ウォッシュ終了後に再度ランのセットアップを行い、ランを開始。
    - ✓ 試薬カートリッジは、奥までしっかり挿入すること。

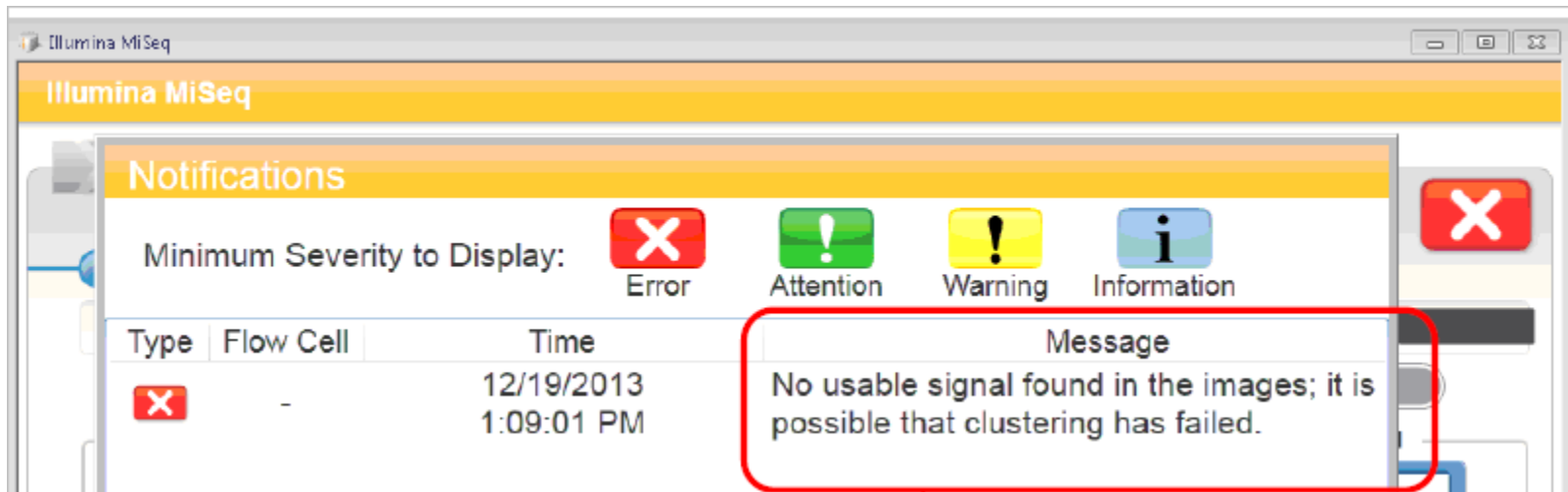
シッパーエラーが再現する場合には、シッパー動作の調整が必要となる。

# 本日の内容

- ▶ MiSeqのラン前によくお問い合わせいただくトラブル
  - RFIDが読み込めない
  - プレランチェックが通らない
- ▶ MiSeqのラン開始後のエラー
  - ラン開始直後にエラーで中断
  - ラン開始後（1時間～1時間半）以降にエラーで中断

# ラン開始後（1時間～1時間半）以降に中断 フォーカスエラーの場合

- ▶ ラン開始後は試薬が送液され、フローセル上にクラスター形成、一塩基伸長反応（SBS反応）を行う。
- ▶ MiSeqでは、フローセル上の蛍光シグナルを利用してオートフォーカスによりフォーカスを合わせる。フォーカスを合わせにくい状況になるとフォーカスアウトのメッセージとともにランが終了。





# 本日のまとめ

- ▶ ラン開始前や開始直後にエラーが発生した際に、すぐに解消できることがある。
  - RFIDが読み込めない
  - プレランチェックが通らない
  - ラン開始直後のシッパーエラー
  
- ▶ エラーが解消されない場合や、ご不明な点があればテクニカルサポートに連絡。
  - テクニカルサポート直通フリーダイヤル（0800-111-5011）  
※固定電話・携帯電話から無料、平日9時-17時受付
  - メールアドレス ([techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com))

# 参考資料

- ▶ フォーカスエラーが出た時の対応、流路チェックの方法

サポートウェビナー資料 [http://www.illumina.com/events/webinar\\_japan/support\\_webinar.ilmn](http://www.illumina.com/events/webinar_japan/support_webinar.ilmn)

2014/07/25

トラブルシューティング編

MiSeqでフォーカスエラーが出た！どうしたら良い？

illumina株式会社 テクニカル アプリケーション サイエンティスト  
小林孝史

[+詳細](#)



中級者向け  
装置運用

- ▶ MiSeq System User Guide

[http://support.illumina.com/downloads/miseq\\_system\\_user\\_guide\\_15027617.html](http://support.illumina.com/downloads/miseq_system_user_guide_15027617.html)

- ▶ Support Bulletin

<https://my.illumina.com/MyIllumina/Bulletins?technology=sequencing&workflow=instrumentation>