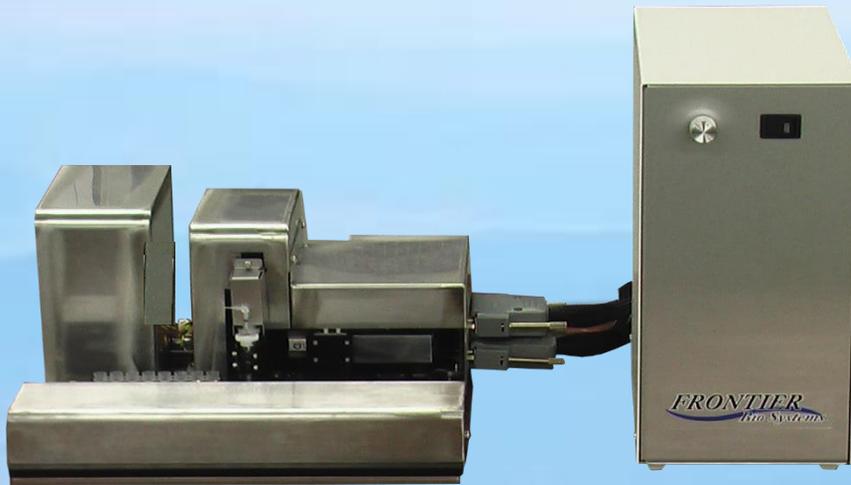


FBS-1000

生体試料微小切片採取装置取扱説明書



FBS-1000は病理切片を含む種々生体組織切片から極微小断片を自動的に採取するシステムです。倒立顕微鏡に搭載し、顕微鏡に取り付けられたカメラで標本画像を見ながら、採取部位を指定して自動的に採取・回収します。採取にはステンレス製の中空採取針を用います。直径0.1mmあるいは0.16mmの微小切片を0.1～1mmの間隔で24切片まで連続して採取することができます。採取された切片は遺伝子発現、たんぱく質発現などの分析に使用され、それらが場所によってどのように変化していくかを調べることができます。

目次

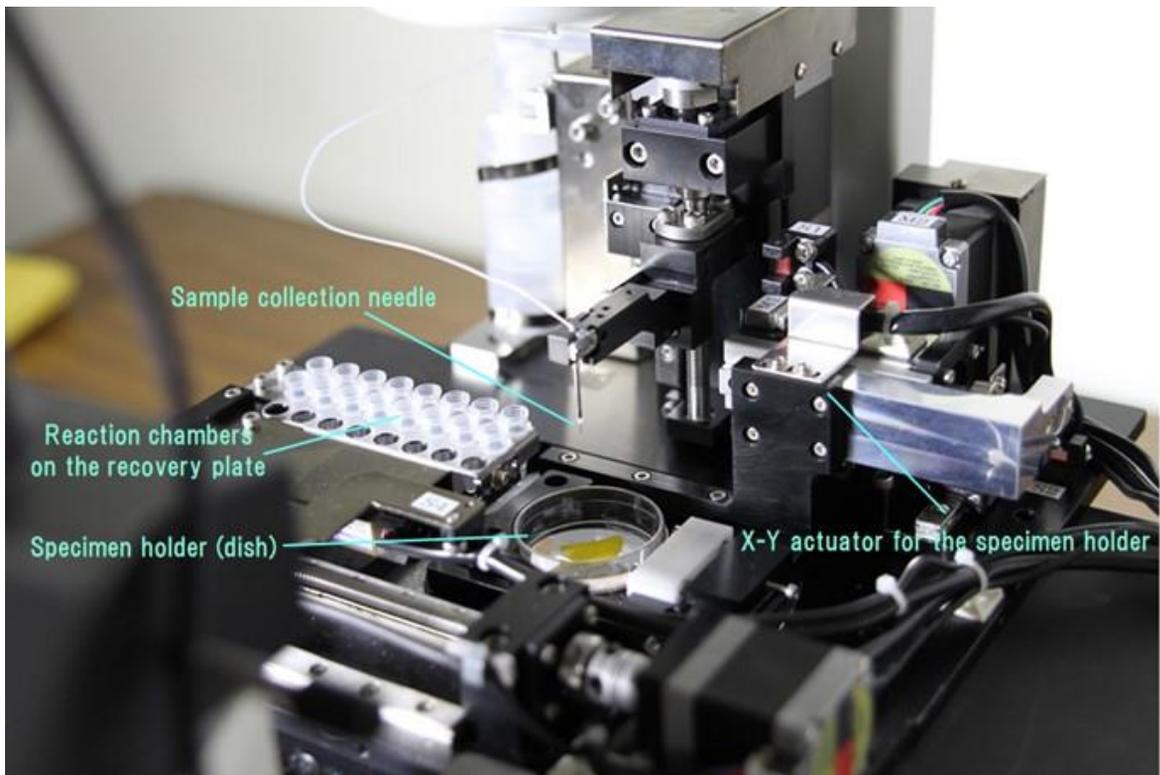
1. 仕様および装置の構成
 - 1.1 全体構成
 - 1.2 装置仕様
 - 1.3 付属品
2. 顕微鏡への装着方法と調整
3. 画像XY座標と標本台アクチュエータXY座標の変換キャリブレーション
4. 操作
5. 採取針
6. 保守・メンテナンス

1. 仕様および装置の構成

1.1 装置概要

装置は機構部、電源制御部、コンピュータ、顕微鏡カメラからなる。機構部は図1に示すように倒立顕微鏡に装着して用いる。機構部は採取針を装備したZ軸アクチュエータ、試料トレイを載置し、標本中の採取部位を採取針の直下に配置するために、標本を載置した試料台を駆動するX-Yアクチュエータ、採取した微小切片を回収する回収トレイ用X-Yアクチュエータからなる。これらは基板上に組み立てられており、採取針の位置が顕微鏡の中心に来るように倒立顕微鏡に固定される。

標本画像は5Mピクセルのカメラで撮影し、コンピュータに画像情報を転送する。この画像情報をもとに、採取位置を決定してコンピュータに採取位置として記憶する。採取指令に基づき、標本を載置した試料台が動き、順次、採取位置を採取針の直下に移動して採取、続いて個別反応容器、あるいはタイタープレートなどに順次回収する。一連の動作は自動的に行なう。



1.2 装置仕様

外径寸法： 機構部；220 mm X250 mm x 150 mm（横幅 X 奥行き X 高さ）

電源部：

重量： 機構部： 5.0Kg

電源部： 3.6Kg

コンピュータ：オプション（windows 10 で動作すればよい）

カメラ：5M ピクセル ピクセルサイズ 2 μ m

標本保持台； シャーレ 40 ϕ 対応

採取断片回収プレート；回収容器 24 本対応

採取針：ステンレス製内径 0.1 mmあるいは 0.18 mm

性能面での仕様

最大採取試料数； 24

1 微小切片当たりの採取時間； 約 10 秒

採取可能試料厚さ； 0.02mm~0.3mm

回収方法； バッファ液とともに回収 液量は約 2 マイクロリットル

採取針機構； Z 軸 ストローク 0~30 mm

最高速度 ***

位置分解能 0.01 mm

回転採取機構装備（回転時間可変）

標本載置台； X 軸 ストローク 0~20 mm

最高速度 0.8mm/s

分解能 0.02mm 以内

Y 軸 ストローク 0~20 mm

最高速度 0.8mm/s

分解能 0.02mm 以内

採取断片回収； X 軸 ストローク 20~60 mm

最高速度 5mm/s

分解能 0.1mm 以内

Y 軸 ストローク 20~60 mm

最高速度 5mm/s

分解能 0.1mm 以内

1.3 付属品

採取針 内径 0.1 mm 外径 0.3 mm ステンレス製 10 mm 1本 (+予備 5本)

採取針ホルダー 1本

工具 1式

(注：オプションとして内径 0.05 mm、0.16 mm、0.18 mm、0.3 mmなどの採取針があります)

1.4 ソフト表示の説明

顕微鏡画像ソフトを起動すると図 1-2 の画像が上部に現れる。矢印を押すと位置マーカをマウスで表示でき、任意のところに位置マーカを置くことができるようになる。位置マーカ作成については 4.6 で詳述する。カメラスイッチ、レンズ選択ボタンおよび表示倍率選別ボタンがある。view ボタンをクリックすると cross line ボタンが現れるので画像上に十字線を表示するとき用いる。

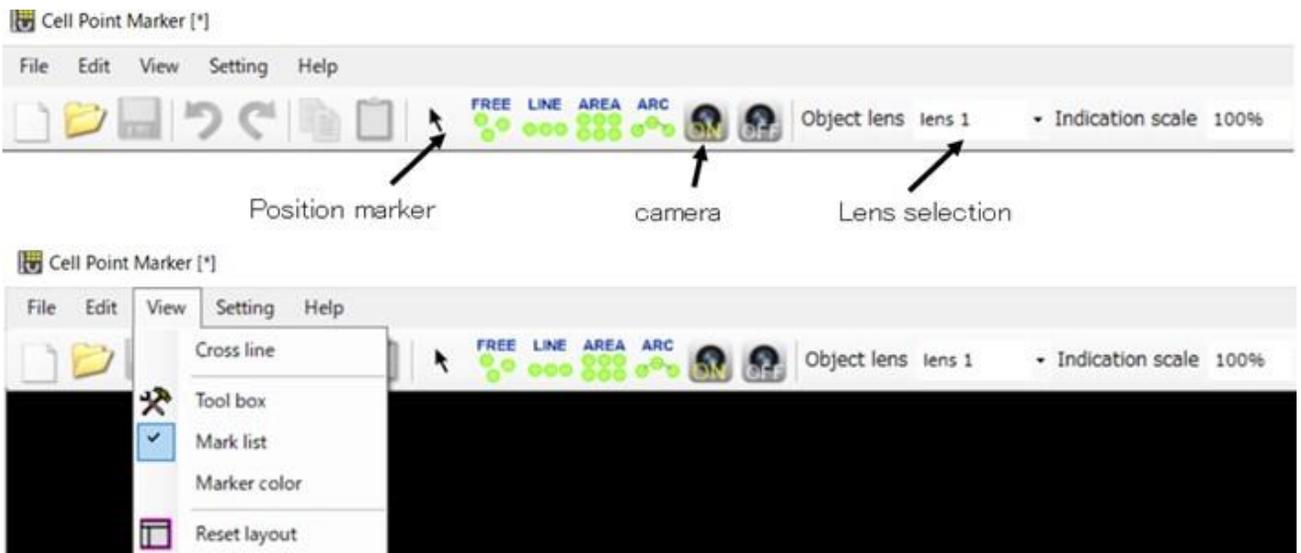
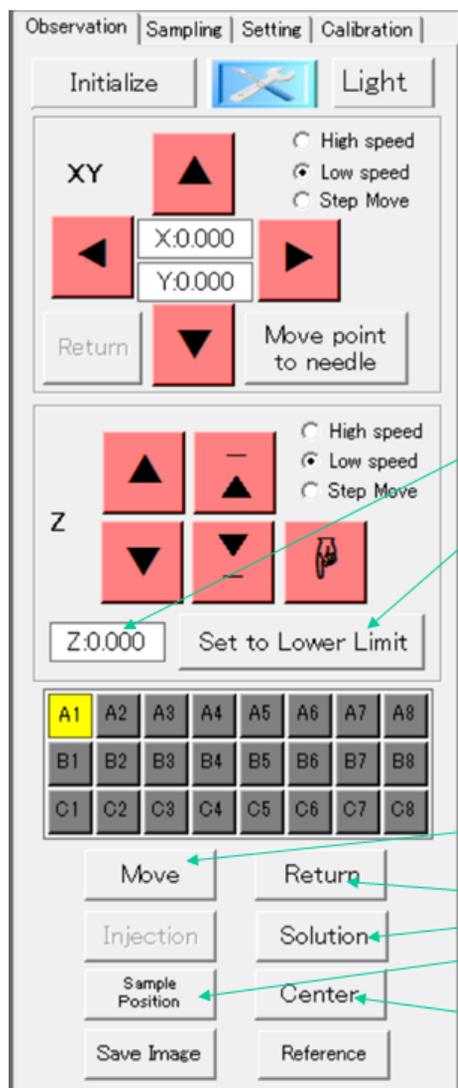


図 1-2

ソフトを起動するとコントローラも表示される。コントローラには“Observation”, “Sampling”, “Setting”, および“Calibration”のタブがある。起動時は“Observation”タブがひらかれている。図 1-3 はこのタブの説明である。装置の初期化、照明のオン、標本台の XY 方向の移動、採取針の Z 軸方向の移動と下降下限の設定、都度採取などを行うことができる。

“Sampling”, “Setting”, および“Calibration”タブについては 4.2~4.5 で説明する。



Initialize: initialization of the mechanical system
 Light: illumination ring light attached on the objective lens

XY: X and Y coordinate control of the specimen stage
 The moving speed can be changed from the setting tab.

Z: Z coordinate control of the sampling needle.
 The coordinate of the needle tip is displayed on the window/
 The moving speed can be changed from the setting tab.
 The lower limit of the sampling needle can be set by pushing the
 button at the value displayed on the window.
 The finger button is used to get and recover a micro-dissection from
 the marker position displayed on the specimen figure into the yellow
 marked recovery bottle..

The recovery bottles are displayed.
 The recovering is carried out from the yellow mark.

Move: move the recovering plate so as to put the yellow bottle to be
 under the sampling needle.
Return: return the recovering plate to the original position.
Solution: inject solution from the sampling needle.
Sample position: draw out the specimen tray so as to put the
 specimen holder on the tray easily.
Center: return the specimen tray to the original position (center
 position).

図 1 - 3

2. 顕微鏡への装着方法と調整

倒立顕微鏡の試料台固定ネジを利用して基盤を固定する。機構部基板は 2 重板になっており、下部の板を倒立顕微鏡に固定したのち上部板を下部板にネジで固定して止める。採取針が顕微鏡レンズの中心に来るように調整して固定する。機構部の試料台 XY アクチュエータの X 軸とカメラ水平軸は一致させる必要がある。シャーレに長さ基準など目印になるものを固定して X 軸方向に 3 mm動かす。移動に伴い Y 軸方向に目印がズレないようにカメラを回転させ調整し、固定する。

画像座標をアクチュエータ座標に変換する操作は次節で述べる。

3. 画像座標とアクチュエータ座標の調整 (observation タブのパネル)

- ① 電源をオンにし、ソフトを起動する。カメラタブおよびライトをオンにする。=>標本画像とコントロールパネルが現れる (図3-1)

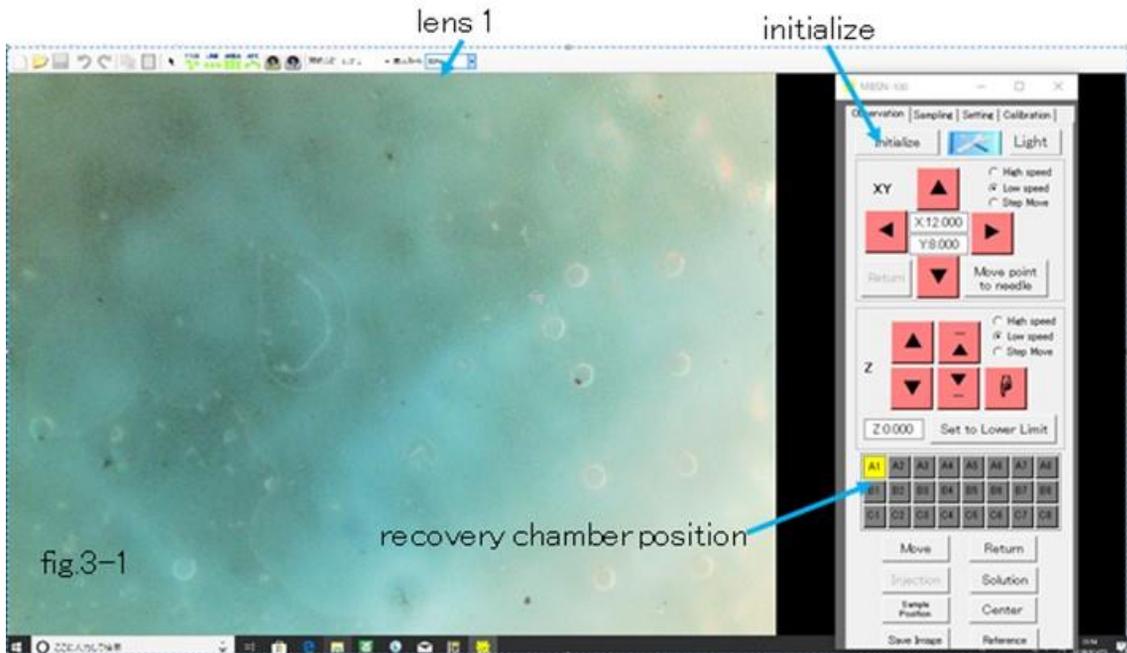


図3-1

- ② コントロールパネルの initialize ボタンを押す。=>機構部の初期化が行われる。
- ③ 対物レンズ1を選ぶ。表示スケールを40%に合わせる。
- ④ シャーレに目印となるものを載せて試料ホルダーに装着する。
- ⑤ 表示タブのセンタークロスラインをクリックして、十字ラインを表示する。目印となるものが長さマーカーなどの場合には長さメモリ軸がセンタークロスラインと平行になるように調整する (必ずしも必要ないが便利)。
- ⑥ 次いでXYアクチュエータを動かして目印となる点がセンタークロスライン上に来るようにする。(図3-2)

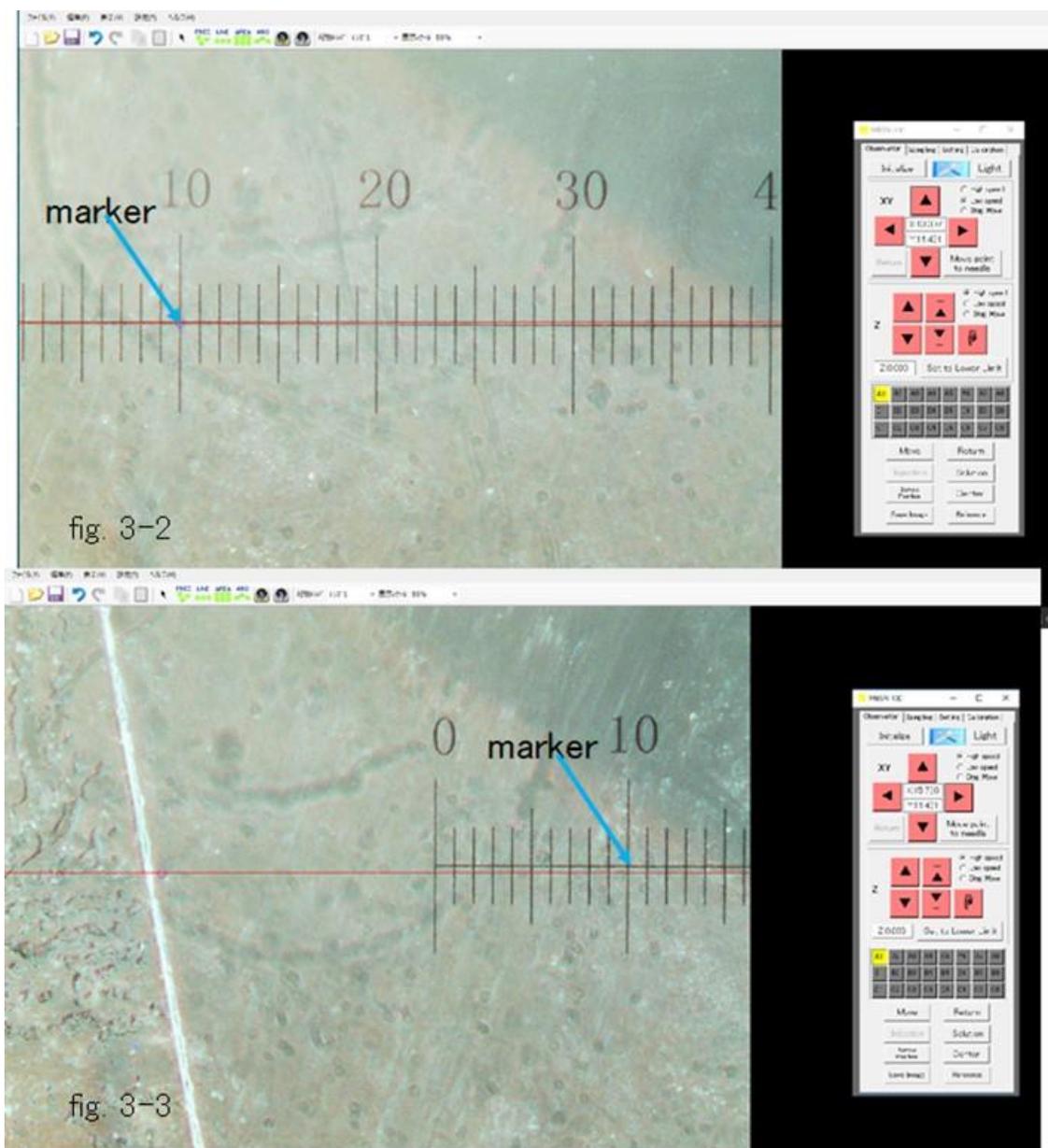


図 3-2、図 3-3

⑦ 標本台 XY アクチュエータを X 方向に動かし、目印を動かす。目印がセンタークロスライン上であれば、XY アクチュエータの XY 軸はカメラの XY 軸と一致している。図 3-3 のようにずれた場合にはカメラを回転させて、目印位置の移動がセンタークロスラインに平行になるようにする。

——次の操作で標本台アクチュエータの 1 ステップがカメラ画像の何ピクセルになるかを求めると共に、僅かな軸の回転ずれを補正する——

- ⑧ 十字コントロールパネル上部の calibration タブをクリック。
- ⑨ Translation matrix をクリック。補正対象がレンズ1であることを確認。
- ⑩ 画像タブの矢印をクリックし、ついで Free をクリックする。これでマーカを画像上に作成することができる。
- ⑪ 画像中で目印にできる特徴ある部位を画面上左上に配置する。(ここでは長さ標準の(50, 50)の位置を例として選んだ)
- ⑫ この点にマーカを持ってくる。これが第1マーカである。(図3-4)

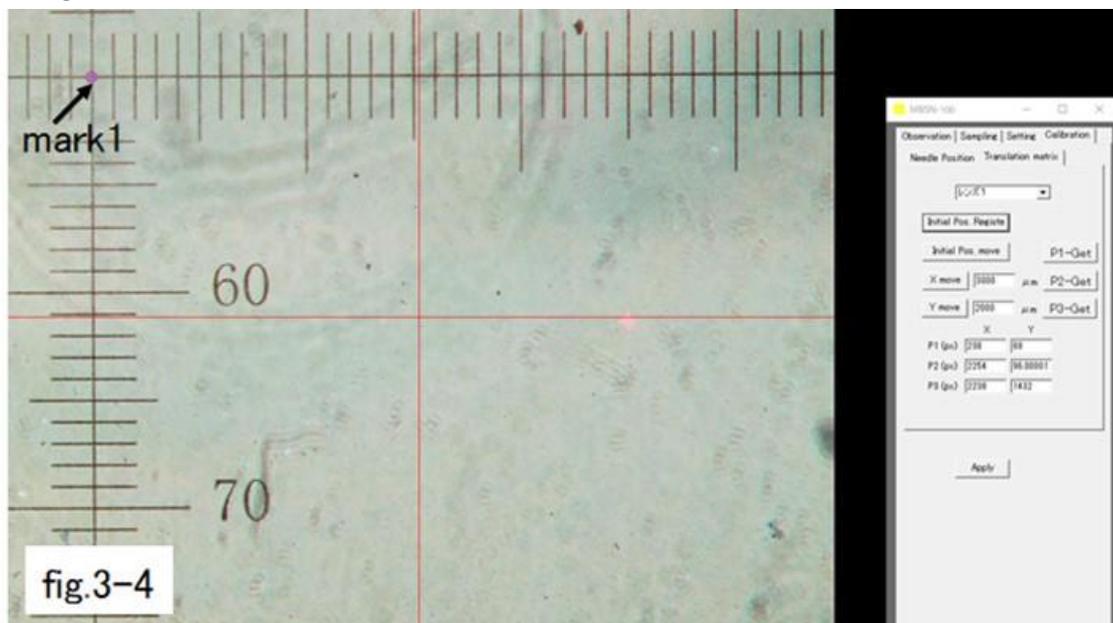


図 3 - 4

——次にこの点を右に 3 mm、下に 2 mm 移動して移動したときの画像上の点を第 2 マーカおよび第 3 マーカとして記録して補正を行う——

- ⑬ 第 1 マーカが初期位置である。初期位置ボタンを押して登録する。

——X 方向次いで Y 方向に動かして初期位置が画像上でどのように動くかを観察してアクチュエータ座標と画像座標の関係を求める。——

- ⑭ initial pos. move を押す。次いで Xmove に 3000 を入れ、Xmove を押す。
- ⑮ 移動した初期位置の画像をクリックして第 2 マーカを表示する。
- ⑯ Ymove に 2000 を入れて Ymove を押す。
- ⑰ 試料台が移動するので移動した初期位置をクリックして第 3 マーカを画像上に表示する。(図 3 - 5)

- ⑱ P1-get, P2-get, P3-get を順番に押して画像上のマーカー位置を登録する。
- ⑲ Apply ボタンを押す。
- ⑳ Observation タブに戻る。

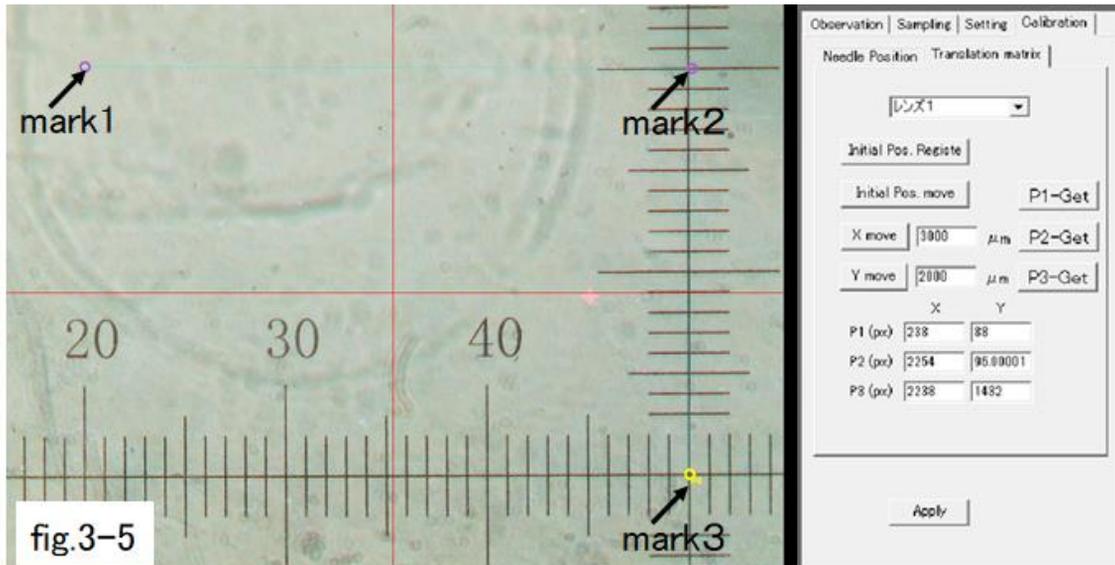


図 3-5

この画像座標の移動量とアクチュエータの移動した距離を基に座標変換マトリックスを作製してアクチュエータの移動量と画像上の移動量の変換および軸の詳細補正を行う。アクチュエータの移動は機械的なステップサイズを基にしており、長さ基準などの距離と完全に一致するものではない、(3 mmの移動で数ミクロンのずれが生じることがある) 補正マトリックスが作成されるので Apply を押してこの補正マトリックスを使用するように設定する。この補正はレンズが変わると変える必要があるので使用レンズごとに設定する。

4. 操作 (observation タブのパネル)

制御電源および CPU をオンにし、コントロールパネルのライトをオン、カメラをオンにする。次いで"initialize"ボタンを押して機構部の初期化を行う。

4.1 採取針の取り付け

図 4-1 はプーリー駆動回転採取針の 1 例である。取付け金具から針の先端まで 23 mm とする。これをアームに取り付け、上部は溶液吐出チューブに繋ぐ。

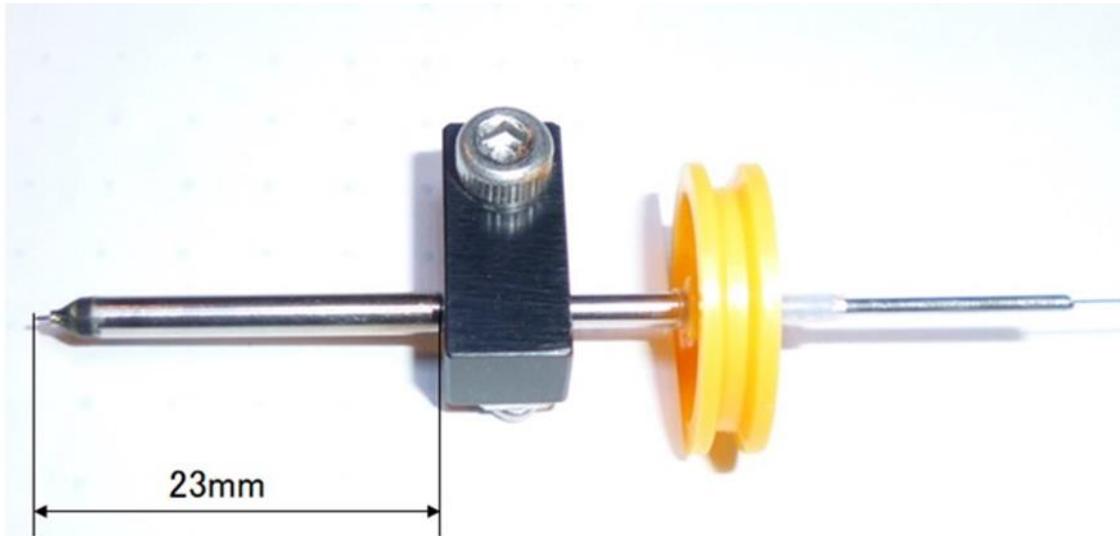
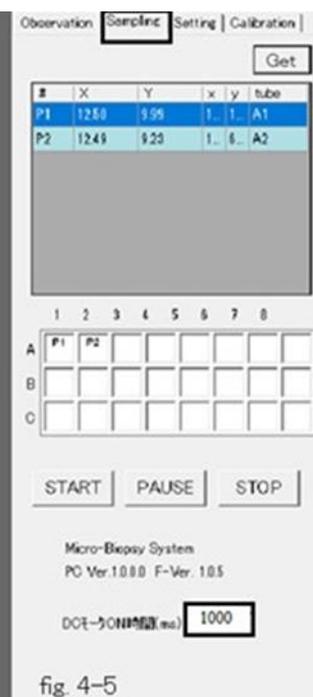


fig.4-1

4.2 採取針採取時の下限位置の設定および採取マーカ位置の決定

- ① 標本あるいは模擬試料をシャーレあるいはプレパラートに載せて標本保持台にセットする。"observation"タブの"sampling position"をクリックすると標本保持台が引き出されて標本台を入れやすくなる。"center"をクリックすると戻る。
- ② 顕微鏡の焦点を標本下部に合わせる。
- ③ シャーレあるいはプレパラートを取り除き、Z軸アクチュエータを操作して採取針を下げ、顕微鏡画像で先端形状がはっきり見える位置まで下げる。それよりも0.2mm下まで下げて、"set to lower limit"ボタンをクリックする。ここが降下下限である。この下限位置の座標を記憶して、"Setting"タブをクリック、次いでZ axis ボタンをクリックして、"lower limit"に数字を打ち込んでもよい。(図4-2) (採取針にはバネ機構が備わっているため0.2mm下げても採取針の先端を破損することはない。)
- ④ Lower limit を設定したら引き上げボタンを押して採取針を引き上げる。続いて引き下げボタンを押して採取針が設定した lower limit まで降りることを確認する。
- ⑤ 採取針の引く上げ、Lower limit まで引き下げを繰り返して、lower limit に来た時の採取針の先端 XY 座標がぶれないことを確認する。
- ⑥ 採取針画像の中心にマウスを合わせて右クリックして"ニードルマーカをここに移動"ボタンをクリックする。
- ⑥ ニードルマーカは左クリックすると移動可能な状態になるので採取針画像の中心に持ってくる。



4.3 採取断片回収時の採取針の下限位置設定

採取断片回収容器の配置はコントロールパネルに表示されているが、黄色部分が選択されている。デフォルトでA1が選択されている。(図3-1)

採取針を待機位置に置いた状態で、採取断片回収プレートを移動したときに、採取針先端が採取断片回収容器に触れないことを確認する。

- ① "move"ボタンを押し、採取断片回収容器 A1 を採取針の下に移動する。
- ② Z 軸アクチュエータを操作して、採取断片回収容器の底から 5 mmのところまで採取針を下げ、Z軸の数値を記録する。採取針を引き上げる。
- ③ Return タブをクリックして採取断片回収プレートを元に戻す。
- ④ "Setting"タブをクリックし、次いで"Tube"ボタンをクリックする。Lower Position に記録した数値を打ち込む。(図4-3)
- ⑤ Apply ボタンをクリックする。
- ⑥ Observation タブに戻る。

4.4 溶液吐出量の設定

吐出溶液量は吐出時間で決まる。

- ① コントロールパネル上部の"Setting"タブをクリック、次いで"Injection"ボタンを押す。(図4-4)
- ② "Enabled"にチェックが入っていることを確認
- ③ Time に 0.1 ~ 0.2 を入れる。
- ④ "Observation"タブを押し、"Solution"ボタンを押して吐出量を確認する。

4.5 採取針回転時間の設定（回転機構がある場合）

“Sampling”タブを開き、下方にある DC モーターオン時間欄に回転時間を ms 単位で入れる。通常の状態では 1000ms がよい。この場合、採取針は降下下限に到達してから 1000ms 回転した後、引き上げられ、待機位置に戻る。（図 4-5）

4.6 採取モードの設定と採取

採取方法には一点ずつ採取する都度採取と連続して複数採取する方法がある。

4.6.1 都度採取：“observation”タブを開いた状態で採取したいところにマーカーを置き、一つずつ採取する

- ① 上部タブで矢印をクリックし、次いで free をクリックする。マウスで位置マーカーを任意のところに置くことができるようになる。
- ② マウスを操作し、採取したい部位にマーカーを置き、都度採取ボタン（指マーク）をクリック。
- ③ マーカーがおかれた部位を採取して回収する。
採取断片を回収する容器の位置は順次ずれていくので、連続してひとつずつ採取回収できる。

4.6.2 ランダム採取：採取したいところを複数まず選び、次いで連続して回収する。“observation”あるいは“sampling”タブを開いた状態で操作できる。

- ① 上部タブで矢印をクリックし、次いで free をクリックし、位置マーカーを任意のところに置けるようにする。
- ② マウスを操作し、採取したい部位にマーカーを置いてゆく。取り消したい場合にはマーカーを左クリックして位置マーカーを黄色にしたのち、delete する。
- ③ 作製した位置マーカー（ピンク色）の位置をずらすときには位置マーカーを左クリックして黄色にしたのち、ずらしたい部位へドラッグする。
- ④ 上部の“sampling”タブをクリックする。
- ⑤ “get”ボタンをクリックして位置マーカーの座標を CPU に取り込む。
- ⑥ “start”ボタンを押す。
- ⑦ 自動的に採取回収が行われて、終了すると採取針および回収トレーは待機位置に戻る。

4.6.3. ライン採取： 指定したラインに沿って、指定した間隔で指定した個数だけ採取を行う。“observation”あるいは"sampling"タブを開いた状態で操作できる。

- ① 上部タブで矢印次いで line タブをクリックする。
- ② 採取をしたい line 状にマウスを合わせて左クリックをし、第 1 の位置マーカを表示する。
- ③ 第 1 のマーカを起点として望みのライン上に第 2 の位置マーカを表示する。
- ④ 採取ポイント数および採取間隔の指定ウィンドーが表示される。採取ポイントおよび間隔を打ち込む
- ⑤ OK ボタンを押す。
- ⑥ 採取位置をずらしたいときには、ずらしたい位置マーカを左クリックして黄色表示にしてから望みのところにドラッグする。
- ⑦ 以下、“sampling”タブを開き、“get”ボタンを押して座標を取り込み、“start”ボタンを押して採取・回収を行う。

4.6.4. マトリックス採取： 2 次元マトリックスに沿って採取を行う。“observation”あるいは"sampling"タブを開いた状態で操作できる。

- ① 上部タブで矢印ボタン、次いで area ボタンをクリックする。
- ② マウスを用いて第 1 位置マーカおよび第 2 位置マーカを決める。(図 4-6(a)) このラインおよびそれに直角なラインで決定されるマトリックスに沿って採取が行われる。
- ③ マトリックスの縦および横の間隔、採取部位の数を指定するウィンドーが現れるのでこれらを指定する。(図 4-6(b))
- ④ “sampling”タブを開いて“get”ボタンを押し、採取部位の座標を取り込み、採取をする(前述の line の場合と同じ)。

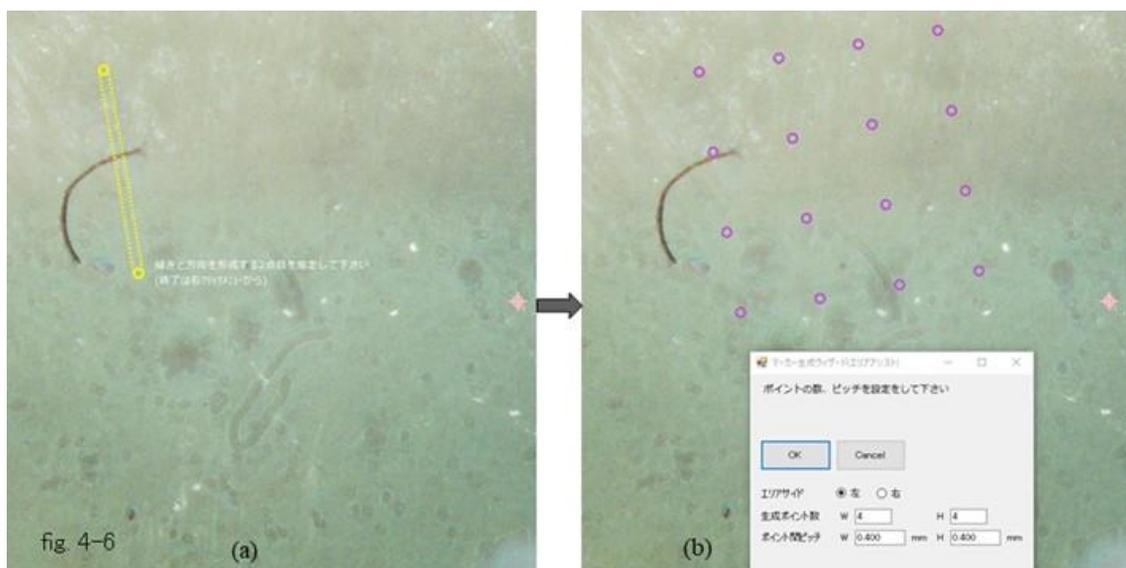


図 4-6

4.6.5. 円弧上を採取：円弧上を一定間隔で指定した個数だけ採取。 "observation"あるいは"sampling"タブを開いた状態で操作できる。

- ① 上部タブで矢印次いで arc タブをクリックする。
- ② マウスを用いて第 1 位置マーカールおよび第 2 位置マーカールを決める。
- ③ マウスを動かし、円弧の大きさを決める。
- ④ 採取部位の間隔および採取部位の数を決める。
- ⑤ 以下前述の line および area に同じ

5. 採取針の交換

採取針の種類：採取針には内径 0.1 mm 外径 0.35 mm 長さ 8 mm の基準採取針（採取針 1）および内径 0.18 mm 外径 0.39 mm 長さ 8 mm の中太採取針（採取針 2）がある。それぞれ異なる採取針ホルダーに保持されるので、それぞれに適合する採取針ホルダーを用いる。

- ① 採取針ホルダーを駆動アームから取り外す。
- ② 採取針を採取針ホルダーから抜くときにはピンバイスを用いて引き抜く。ピンセットなどを用いると滑って採取針の先端を傷めるので使用しない。
- ③ 採取針を採取針ホルダーに装着するときもピンバイスに挟んでホルダー先端から採取針を押し込み、止まるまで軽く押す。
- ④ 採取針ホルダーを取付け金具に取り付け、採取針先端から取付け金具までの長さが 23 mm であることを確認する。
- ⑤ 取付け金具を用いて採取針ホルダーを駆動アームに装着し、溶液吐出チューブをはめ込む。
- ⑥ "observation"タブの"solution"キーを押して溶液が吐出することを確認する。採取針 1 と採取針 2 では同じ吐出時間でも、吐出量が変化するので注意する。
- ⑦ 採取針を降下下限まで降下させ、採取針の中心位置に採取針マーカールを移動する。（移動はマーカールを左クリックしてドラッグする）

6. その他

本システムは無線ランを置用いて制御系とコンピュータを繋いでいる。間に遮蔽物が存在したり、ノイズが入りやすい環境下であったりする場合には動作不良となることがある。このような場合には有線接続を推奨する。

本システムは事故を防止するためにカバーが付けてある。必要以外の時には外さないで動作させることを推奨する。また、ネジなどの小物が機構部に落ち込むと動作不良の原因となるので注意してほしい。

採取針はステンレス製であるが、溶液によってはさびる可能性もあるので使用後は乾燥して保管することが望ましい。

採取対象の標本によっては目詰まりしてしまうことがある。このような場合には、採取針ホルダーと溶液チューブを繋いでいるコネクタをまず外す。付属の押し出し棒を採取針ホルダーに入れて採取針の先端まで通すようにして障害物を押し出す。

取扱説明書発行元

フロンティアバイオシステムズ株式会社

東京都八王子市絹ヶ丘 2-26-16

www.frontierbiosystems.com

e-mail: home@frontierbiosystems.com