

Sampling Junior 取り扱い説明書

生体試料微小切片採取装置



Sampling Junior は凍結切片を含む様々な生体組織切片から微小切片を簡便に採取するシステムです。付属のデジタル顕微鏡または固定顕微鏡に搭載し、顕微鏡画像を見ながら、採取部位を採取針が下りてくる位置に手で移動し、ボタン一つで自動的に採取・回収します。

目次

1. 簡易セットアップと微小切片採取
 - 1.1 顕微鏡への装着
 - 1.2 リフトウェアの立ち上げと採取装置の固定
 - 1.3 装置動作確認の手順
 - 1.4 採取装置動作の確認
 - 1.5 微小切片回収時の採取針の位置調整
 - 1.6 試料のセットアップ
 - 1.7 微小切片採取
2. 装置の仕様および構成
 - 2.1 全体構成と操作の概要
 - 2.2 装置の仕様
 - 2.3 付属品
 - 2.4 オプション

1 簡単セットアップ

1. 1 顕微鏡への装着

採取装置を箱から出し、アームを支えているパッキング材を取り除く。デジタル顕微鏡を箱から取り出す。デジタル顕微鏡の上に採取装置をガイドに沿って載せる。

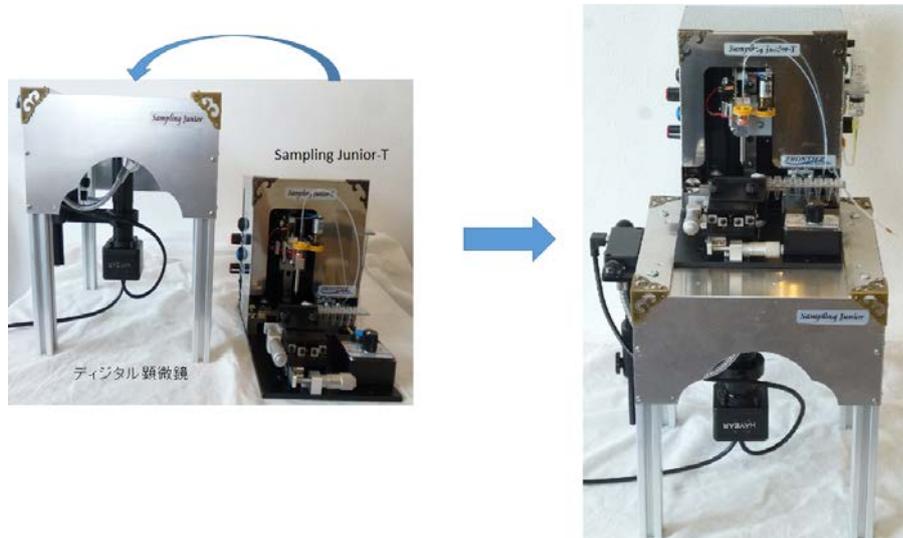


図1. 採取装置をデジタル顕微鏡の上に載せる。

1. 2 ソフトウェアの立ち上げと採取装置の固定

1) 顕微鏡用ソフトおよび採取画像モニター用ソフトをインストールする。採取画像モニターソフト Cell Point Marker はプログラムをコピーするだけ。コンピュータ付属のカメラがあるときには off にしておく。

2) デジタル顕微鏡の USB をコンピュータに繋ぐ。デジタル顕微鏡の照明を ON にする。

3) Cell Point Marker プログラムを立ち上げると図2のタブが現れる。ON タブをクリックする。画像が見えてくる。(コンピュータ付属のカメラソフトを使うこともできます。1. 8 注意事項の1)カメラソフトの使用を参照)



図2 Cell Point Marker の上部にあるタブ

4) 石英窓に貼り付けた X 文字が見えることを確認し、カメラレンズを回して焦点を合わせる。X の中心が画像の中心近くに来るように採取装置を動かす。

マウスを X の中心に合わせて、右クリックすると図 3 の表示が現れる。Move here needle marker をクリックすると図 4 の様に位置マーカーが X の中心に移動する。

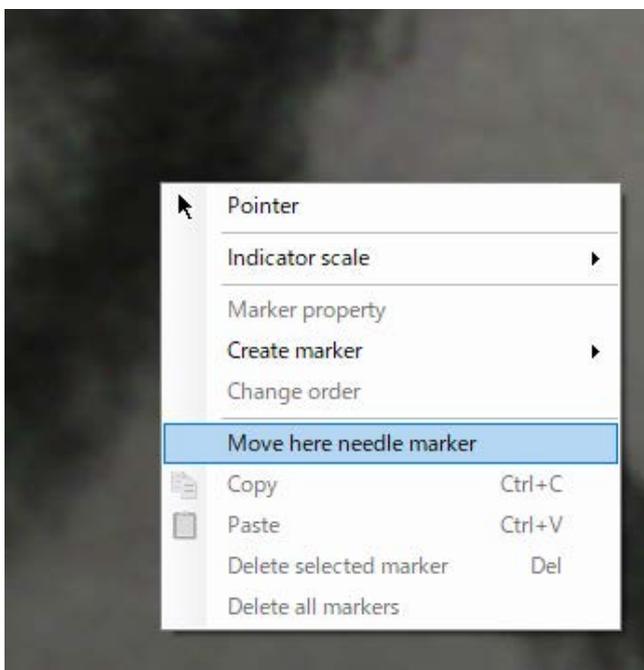


図 3 右クリックで現れる表示



図 4 マーカーを X の中心に置く

- 5) 試料を動かす XY テーブルの左右にネジ穴があるので M3 のネジで採取装置を固定する。
- 6) 貼り付けた紙を除去する。
- 7) 顕微鏡の分解能 10μ ピッチの標準スケールを観察したときの画像を図 5 に示した。

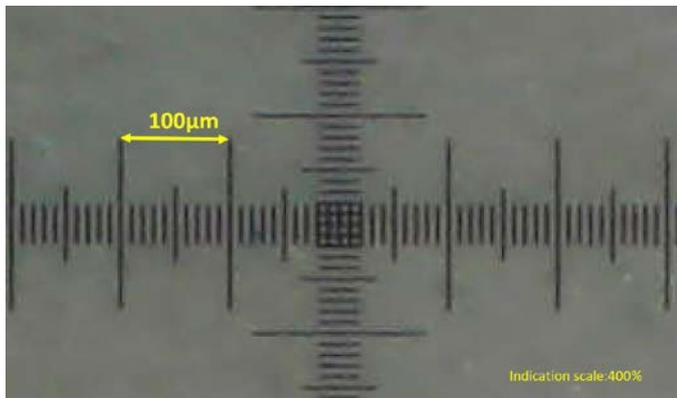


図5 標準スケールの画像

1. 3 装置動作確認の準備

- 1) 吐出溶液を注射器に入れ、4ml 位置にある穴を指で塞ぎながら、シャフトを押して溶液を吐出部に押し込む。図6は溶液補充系の概念図である。補充溶液ダムの底から補充溶液は供給され、あふれると上の出口から空気の泡などと一緒に出てくる。

吐出部の構成

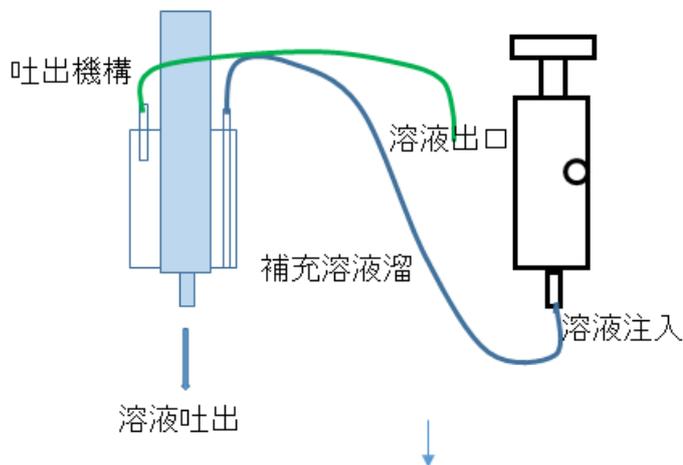


図6 溶液吐出部へ溶液を供給する機構

- 2) 排出部から溶液があふれてくるので押すのをやめ、塞いでいる指を離す。
(シャフトの下端は穴の上部にあることを確認する)
- 3) 洗浄用チューブにパッドを詰めて回収トレイの先頭に置く。
- 4) 8連チューブを載せる。



図7 洗浄用に綿を詰めたチューブと試料回収用8連チューブ

5) 空のシャーレを試料ホルダーに装着する。ホルダーの穴にシャーレが収まるときにはシャーレを底が石英板に密着す量に置き、ネジで軽く固定する。シャーレが大きくてホルダーの穴に入らない時にはホルダーを外してシャーレの上からかぶせ、軽くねじ止めして試料ホルダーを元に戻す。ネジを緩めてシャーレが石英版に密着することを確認してネジを軽く締める。(図8)



図8 シャーレの上から試料ホルダーを被せてねじで固定する

1. 4 採取装置動作の確認

- 1) 電源をつなぎ、SWをONにする。=>イニシャライズが始まる。
- 2) XYステージ右の採取コントローラにあるサンプリングダイヤルがStanbay位置にあることを確認してスタートボタンを押す。=>採取針がスタンバイ位置(試料面の0.1mm上部)まで下りる。



図9 採取コントローラ

- 3) レンズを回して採取針の先端画像を確認する。
 - 4) 採取針の中心にマーカを持ってくる。(右クリックで move marker here をクリック)
 - 5) スタートボタンを再度押す。==>採取針は待機位置に戻る。
1. 5 微小切片回収時の採取針の位置調整
- 微小切片をシート上や底の浅いチューブに回収したいことがある。このために回収するときの採取針の位置を調節できるようにしてある。Zposi ダイヤルの緑矢印位置はシート上に回収する時、赤い矢印はチューブに回収するときの目安位置。
- 1) 右側面の Zcheck ボタンを押す。採取針が降下する。
 - 2) Zposi ダイヤルを回して採取針の下限位置を調節する。
 - 3) 再度 Zcheck ボタンを押し、終了する。(少し時間が経てばボタンを押さなくても元に戻る)
1. 6 試料のセットアップ
- 1) シャーレが小さく、上からシャーレホルダーに入れられるときには上から落とし込み、ネジで軽く固定する
 - 2) シャーレが大きく、上から落とし込めない時には
 - (1) シャーレホルダーを固定しているネジを外してシャーレホルダーを外す。
 - (2) シャーレの上からシャーレホルダーを被せてねじで固定して元に戻す。
 - (3) ねじを緩めてシャーレが石英窓に接触することを確認してネジを締める。

===以上で準備完了===

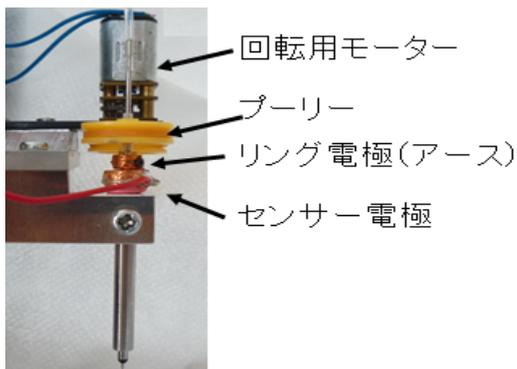
1. 7 微小切片採取

- 1) 採取ダイヤルを stanby 位置から 2 – 3 メモリ位置にする。(メモリ 0 は採取針は停止した位置、メモリ 1 以降は約 0.1 mm ずつ下押しする量が増える。採取針が少しなまったり、厚い標本を切断したりするときにはメモリの数値を大きくする))
- 2) XY ステージのつまみを回して採取したい部位をマーカー位置に持ってくる
- 3) 採取ボタンを押す。=>
 - (1) 採取針が降下し、試料に触れると停止するが、メモリで指定した量だけ更に押し下げて停止する
 - (2) 採取針が指定した量だけ回転する (標準は 1/4 回転)
 - (3) 採取針は上昇し、8 連チューブに溶液とともに回収する
 - (4) 採取針は洗浄パッド位置に移動し、針先端をパッドに押し付けつつ回転を溶液吐出をして先端を洗浄する。
 - (5) 待機位置に戻る。
- 4) 続けて採取する場合には 2) および 3) を繰り返す。
- 5) 最初のチューブに回収したいときには左側面にある Return ボタンを押す。

1. 8 その他の注意事項

- 1) カメラソフトを使用する場合
 - (1) コンピュータ付属のカメラの動作を off にする。
 - (2) カメラソフトを起動すると画像が見えてくる。
 - (3) 採取針降下位置にマウスを移動し、マウスの左クリックをすると四角いマーカーが現れるので採取針位置マーカーとして利用する。
- 2) 採取針位置センサーの接触不良によるトラブル。

本システムでは採取針が降下するときに接触センサーが動作 ON 野状態になる。これは採取針ユニットのアーム上部のモニター電極と採取針軸パイプに取り付けられたリング状の電極の間の導通をモニターしている。



リング電極は採取針ユニットの回転主軸にネジで固定されている。接触不良の時にはこの回転主軸を少し持ち上げ、2つのネジを緩めてリングをセンサー電極に接触させる。この位置でネジを締めて固定する

通常これらはばねで接触するように押し付けられているが、押し付けが不十分であると動作不良を起こす。ばねが強すぎると採取針が標本を押し付ける力が強すぎて採取針が早く摩耗するので接触不良が出ない程度に軽く押し付けるのが良い。接触不良があると以下の症状が現れる。

(1) 右ランプが点くあるいは点滅する

(2) 採取針の降下を伴う動作ボタンを押してもうまく動作しない。
これは採取針が標本に達したと判断して効果をストップするため。

3) 採取ができない：多くの場合、採取針の先端がなまっている。

対策：採取針を交換するか、研磨装置で先端を磨く。

1. 9

2. 装置の仕様および構成

2.1 全体構成と操作の概要

2.2 装置の仕様

2.3 付属品

2.4 オプション

2. 装置の構成と仕様

本システムはオプションのデジタル顕微鏡或いは市販の倒立顕微鏡に装着して使用する構成となっている。まず、採取システムの説明を行い、次いでデジタル顕微鏡の説明を行う。

2.1 全体構成と操作の概要

2.1.1 装置の構成：本装置の構成の概念図を図 2-1 に示した。上下に移動する採取針ユニット駆動系、X軸方向に回収プレートを移動する駆動系、溶液吐出を行うソレノイドを用いた溶液吐出系とこれらを制御する回路系からなる。

採取時の動作の概要を図 2-2 に示した。

(1) 採取ボタンが押されると、採取針ユニットを取り付けたアームが降下する。

(2) 採取針の先端が試料に触れると、一旦、降下が停止するが続いて指定した量だけ更にアームは降下する。採取針ユニットにはコイルバネが配置されているので採取針はばねで標本に押し付けられる形となる。

(3) 降下が停止すると小型モーターが回転し、採取針が往復回転し、標本を切断して中空の針先に保持する。

(4) アームが上昇し、回収トレイが採取針の下に移動する。

(5) アームが降下し、針先が回収チューブ内まで入る。次いで溶液が吐出され、採取断片とともにチューブ内に回収される。

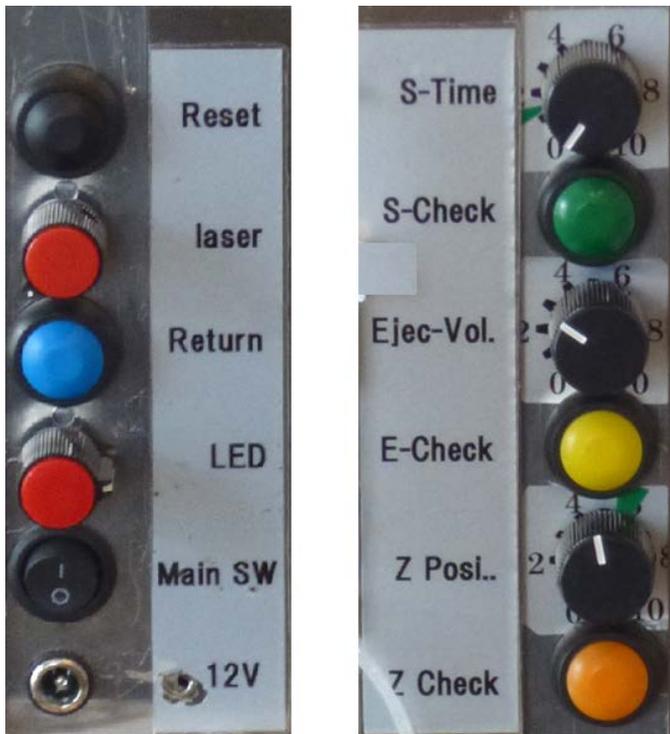
(6) アームが上昇し、洗浄チューブが採取針の下に移動する。

(7) アームが降下し、採取針の先端が洗浄チューブに付けられた洗浄用綿の中に入り、往復回転と溶液吐出により先端を洗浄する。

(8) アームが上昇し、採取針は待機位置に戻り、回収トレイも待機位置に戻る。

採取針の回転量、吐出溶液量、微小切片回収時の採取針の位置などは側面パネルのつまみを用いて調整可能である。

図 2-3 に左右の側板パネルを示した。



左側板

右側板

図 2-3 左右側板のコントロール

パネル

各ボタンの機能は以下の通りである。

左側板

- (1) Reset : 装置をリセットする。
- (2) laser : オプションのレーザー出力コントロール (通常使用せず)
- (3) Return : 微小切片回収トレーをリセット
- (4) LED : 標本照射用のリング LED 発光量コントロール
- (5) Main SW : 全体の電源スイッチ
- (6) 12V : 12V 入力で3A 以上を推奨

右側板

(1) S-Time : 採取針のスピン回転時間コントロール。青→表示は 1/4 回転位置

- (2) S-Check : スピン回転を行う
- (3) Ejec-Vol : 溶液吐出量をコントロール。
- (4) E-Check : 吐出操作を行う。吐出量のチェックに用いる。
- (5) Z-Posi : 微小切片回収時の採取針位置のコントロール
- (6) Z-Check : 微小切片回収時の採取針位置調整をスタート

微小切片採取は採取針のスピン回転および採取針を標本に押し付ける力に依存する。採取針は採取時に標本を往復回転して切断するが、1/4 回転程度が良い。回転時間が長すぎたり、回転ブレがあったりすると採取針を傷めるので注意する必要がある。採取針を標本に押し付ける力は採取針が標本に触れた位置からアームをどれ

だけ下げるか（押し込み量）により決まる。押し込み量は図9の採取コントローラのサンプリングダイヤルで調整できる。人メモリ約 50μ ずつ押し込み量が増加する。通常ダイヤルメモリ2～3で用いる。