

# SamplingMate 取り扱い説明書

## 生体試料微小切片採取装置



SamplingMate は病理切片を含む種々生体組織切片から極微小断片を簡便に採取するシステムです。倒立顕微鏡に搭載し、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

- A. 簡単セットアップ
  - A.1 つまみ表示の説明
  - A.2 顕微鏡への装着とセットアップ手順
  - A.3 微小切片採取の準備
  - A.4 簡単採取手順
  - A.5 採取針の研磨
- 1. 装置の仕様および構成
  - 1.1 全体構成と操作の概要
  - 1.2 装置の仕様
  - 1.3 付属品
  - 1.4 オプション
- 2. 顕微鏡への装着と調整
  - 2.1 顕微鏡への装着
  - 2.2 採取針の採取針ホルダーへの装着
  - 2.3 採取針ホルダーの駆動アームへの装着と採取針先端位置の調整
  - 2.4 採取針回転時間の調整
  - 2.5 溶液吐出量の調整
  - 2.6 連続採取時の採取間隔の調整
  - 2.7 微小切片回収時の採取針降下位置の調節
  - 2.8 採取針洗浄プロセス
  - 2.9 回収トレイ位置のリセット
  - 2.10 システムリセット
  - 2.11 カメラの水平軸とX軸を合わせる
  - 2.12 カメラ画像の位置マーカースケール調整
- 3. 採取操作
  - 3.1 都度採取
  - 3.2 連続採取
  - 3.3 トラブルシューティング

## A. 簡単セットアップ

### A.1 つまみ表示の説明

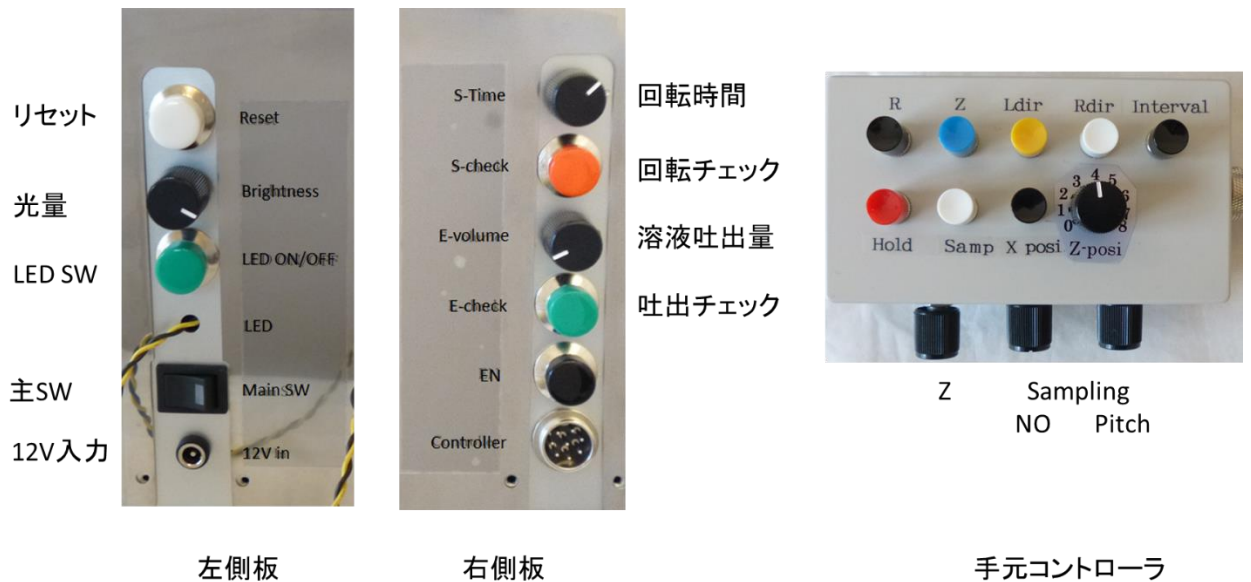


図 A 側面パネルおよび手元コントローラ

#### A.1.1 本体左側板

**Reset:** イニシャライズを始めます。トラブルがあった時にはこれを押しと良い。

**Brightness:** 対物レンズに装着した LED リングライトの光量を調節

**LED ON/OFF:** LED リングライトのスイッチ

**Main SW:** 主電源スイッチ

#### A.1.2 本体右側板

**S-Time:** 採取針のスピンの回転時間の調節

**S-check:** スピン回転を ON とし、回転時間をチェック

**E-volume:** 溶液吐出量調節

**E-check:** 溶液吐出量のチェック

**EN:** 未使用

**Controller:** 手元コントローラケーブルコネクタ

#### A.1.3 手元コントローラ上部

**Hold :** 一回目の押しで採取針はスタンバイ位置まで下りる。二回目の押しで元の上部待機位置に戻る。

**Samp:** 採取針は先端が標本に触れるまで降下し、触れると更に Zposi ダイヤルで指定した量だけ更に降下する。降下が終了すると採取針はスピン回転する。スピン回転が停止した後、少し吸引、上部待機位置ま

で戻る。回収トレイが移動して、回収チューブを採取針の真下に移動する。続いて採取針は回収位置 (Z ダイヤルで調節可能) まで降下し、溶液とともに採取した微小断片を回収チューブ内に吐出する。採取針は上昇する。

続いて回収トレイが移動し、クリーニングパッドを採取針の真下に移動する。採取針が降下し、クリーニング用の綿に入り込み、溶液吐出、スピンドル回転を行ってクリーニングを行う。

その後、上部待機位置に戻る。回収トレイは待機位置に戻る。続いて 2 回目に **Samp** を押すと同じ動作を繰り返すが、回収トレイの移動量は 1 チューブ分だけ多く移動し、新しいチューブに回収される。

**X posi**: 標本台移動の方向 X 軸に沿って電動微動移動に用いる。Ldir あるいは Rdir を押すと電源が入り、標本台の位置が少しずれることがある。これを補正するために X posi を押す。約 5 $\mu$  ずつ移動する。

**Z posi**: 採取針が降下したときに、試料に触れると停止するが、そこからどれくらい押し込み降下するかを指定する。1 メモリは約 60 $\mu$ m に相当する。

**R**: 回収トレイの初期化を行う。最初のチューブ位置から回収を行いたいときに押す。

**Z**: 回収時の採取針降下位置の調整を行う。Z ボタンを押し、手元コントロールの側面にある Z つまみを回して降下位置を調整する。右に回すと採取針はより大きく下がる。暫くすると自動的に終了し、採取針は待機位置に戻る。Z ボタンを再度押すと速やかに回収時の位置調整は終了する。

**Ldir**: 連続採取時の標本台移動方向を指定する。初期位置を起点に、画像上で左方向に標本台を移動する。ボタンを押すと右方向に移動したのち、左方向に移動する。これはボールネジの遊びによる誤差を排除するため。位置がズレるので Xposition ボタンを押して修正する。

**Rdir**: 連続位採取時に、初期位置を起点に、画像上で右方向に標本台を移動するときに押す。ボタンを押すと左方向に移動したのち、右方向に移動する。これはボールネジの遊びによる誤差を排除するため。位置がズレるので Xposition ボタンを押して修正する。

**Interval**: 連続採取時の間隔をチェック。続いて Ldir あるいは Rdir を押すと標本台は画像上で左方向および右方向にそれぞれ移動する。移動間隔は **Sampling Pitch** つまみで選ぶことができる。

#### A.1.4 手元コントローラ側部

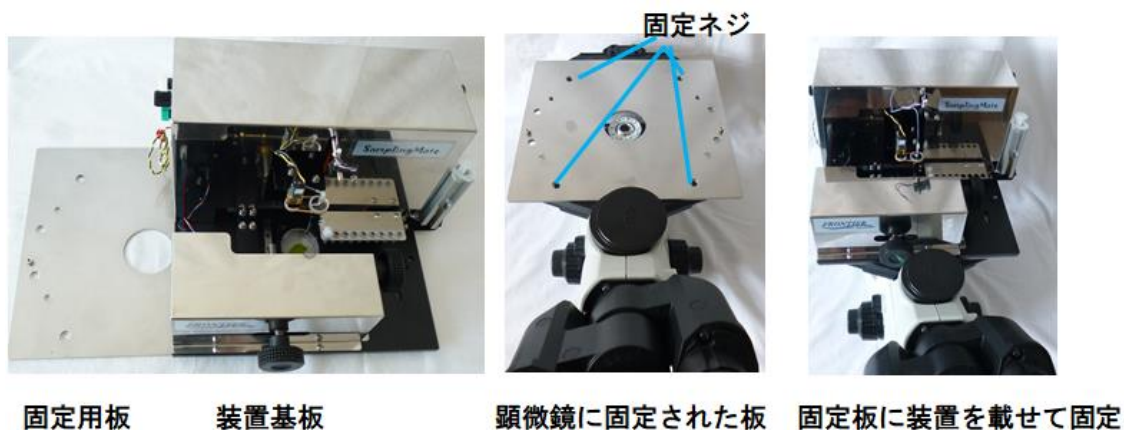
Z: 採取断片回収時の採取針降下位置の調整

Sampling NO: 連続採取時の採取回数の選択

Sampling Pitch: 連続採取時の採取間隔の選択 ( 0.05 mm、0.1 mm、0.15 mm、  
2 mm、2.5 mm 3 mm、4 mm、5 mm)

#### A.2 顕微鏡へ装置を装着する手順

- 1) LED リングライトを対物レンズにかぶせる。装置基板は図の様に 2 重になっている。下板をオリンパス顕微鏡 CKX53 の試料台に載せてねじ止めする。針の中心とレンズ中心が一致するように設計されている。上板と装置本体をこれにかぶせてねじ止めする。



顕微鏡が異なるときには下板を細工して同様の手続きを行う。電源コードおよび手元コントローラとの接続ケーブルを接続する。LED リングライトからの端子を本体に繋ぐ。

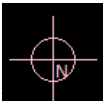

(図 6 参照)

- 2) 顕微鏡カメラ (オプション) を顕微鏡の右側接眼レンズに取り付ける。  
(手持ちの顕微鏡カメラを利用できます。)
- 3) 画像ソフトを CPU にインストールし (コピーするだけ)、ソフトを起動すると下記画面が出る。中央付近の ON ボタンを押し顕微鏡画像を観察できるようにする。



画像の倍率は右端の indication scale で調整できる。 また、画面には

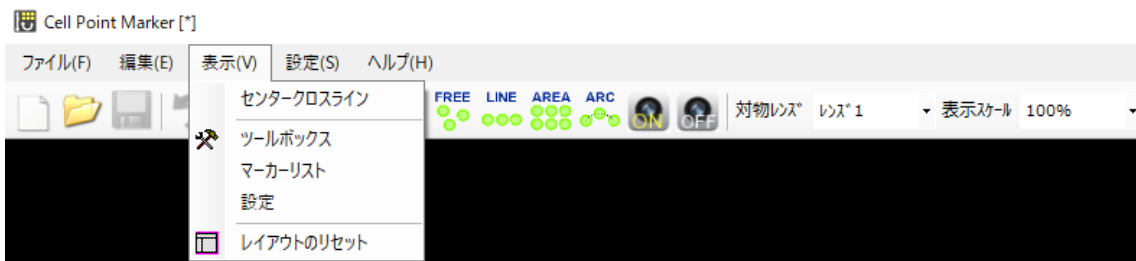


位置マーカーが表示される。マウスでクリックすると鎖線表示となり、マウスで動かせるようになるので採取針の下りてくる位置に移動して採取時の目印とする。

- 4) 装置本体の電源スイッチを ON にする。=>イニシャライズが始まる。  
(一連の動作を終了するとモーターへの通電は終了し、採取針駆動アーム、回収トレイ、標本駆動台などは手動で移動できるようになる。)
- 5) LED リングライトのスイッチを ON にし、光量調節つまみを回して光量を調節する。
- 6) 顕微鏡対物レンズの上下位置を調節して焦点を載置台に載せたシャーレに貼り付けたシリコンゴムに合わせる。
- 7) Hold ボタンを押す。針が降下して顕微鏡画像で観測できる。
- 8) 吐出溶液補助タンク (5 ml 注射器) に吐出液を入れる。補助タンクは溶液吐出タンクと連通管で繋がっている。注射器の 7ml メモリのところに穴が開いている。溶液を 4 ml メモリまで入れる。穴を指で塞いでシリンジを少し押し下げ連通管に入っている空気を除く。塞いでいる指を離すと補助タンクと溶液吐出タンクの水位は同じになる。

### A3 微小切片採取の準備

- 1) 一旦シャーレを取り除き、手元コントローラの Hold ボタンを押し、採取針を下げる。針先が見えるのでそこに位置マーカを持ってくる。  
Hold ボタンを再度押しして採取針の位置を待機位置に戻す。  
(出荷時に採取針の位置はシャーレに標本を載せたときに採取できる位置になっている) (図 11 a)~c)を参照)
- 2) シャーレに標本(植物の葉など)を載せる。
  - ①回収トレイを手動で左に移動する。(操作の邪魔になるので移動する)
  - ②標本載置台を固定しているネジを緩め、右に引き出す。
- 3) シャーレをピンセットでつまみ、標本載置台に装着する。手でしっかり押し込み、シャーレ底面が底板(あるいは埋め込まれた石英板)にしっかり平行に触れることを確認する。
- 4) 標本載置台を左に移動し、元の位置に戻してねじ止めする。シャーレあるいはスライドガラスが底の石英板に触れていることを確認する。
- 5) 手元コントローラの R ボタンを押し、回収トレイを元の位置に戻す。(忘れて採取針を降下させると装置を壊すことがある)
- 6) ソフト画面上の表示タブを開き、センタークロスラインをクリックして十字線を表示する。



- 7) カメラの水平軸と標本台 X 軸を合わせる: 標本の目立つ一点に注目し、X 軸駆動ノブおよび Y 軸ノブを回して注目点が十字線の水平軸上に来るようにする。X 軸駆動ノブを使って標本台を X 方向に移動させる。  
カメラを回転させて注目点が十字線の水平軸に平行に移動するように調整する。軸が一致したらカメラが回転しない様に顕微鏡接眼レンズ筒にあるネジで固定する。



CMOS カメラの固定

- 8) 採取針ユニットをアーム先端に挿入して、針位置記憶リングがアームに触れるまで押し込む。ネジでしっかり止める。

**SamplingMate** センシング機能付き装置では採取針位置調整は不用です。採取針が降下すると針先端が試料に触れたことを検知して針の降下は停止する。停止位置から **Z-posi** ダイアルで指定した量だけ押し下げたところまで針は下がり試料を切断します。(1メモリ約 60 $\mu$ m)

- 9) プーリーベルトをプーリーにかける。(出荷時に設定済み)
- 10) 溶液吐出チューブを採取針ユニット主軸に繋ぐ。(出荷時に設定済み)

- 11) **S-check** ボタンを押して採取針のスピン回転を確認する。  
スピン回転は往復運動をするが、通常は 1/4 回転位が良い。

- 12) **E-check** ボタンを押して溶液吐出量を確認する。(事前に吐出溶液を入れておく)

溶液は外部溶液ホルダーに溶液を入れると連通管になっているので自動的に吐出部溶液ホルダーに溶液が満たされる。連結チューブの途中に空気が入っていると溶液は吐出部溶液ホルダーには入っていかないのでシリンジで溶液を押して溶液とともに空気を押し出す。

- 13) 回収トレイに 8 連チューブを載せる。穴は 9 個開いており、最初の穴にはチューブにガーゼあるいは脱脂綿を詰めたものを載せる。これは採取針洗浄用を使用する。最初は 8 連チューブでなく白い紙を回収トレイに載せて採取回収機能を確認することを勧める。(出荷時には白い紙が張り付けである。回収時の採取針位置は白い紙の上になるように設定してある。8 連チューブを用いるときには **Z** 位置調整でチューブ内まで下げて使用する)

- 14) 採取テスト：テスト試料をシャーレに置き、**Sampling** ボタンを押して微小切片の採取回収を行う。回転量は 1/4 回転くらいとし、**Zposi** ダイアルは 2～3 が良い (川本フィルムを使用する時)。試料を直接採取するときにはダイアルメモリ 0 でも良い場合がある。切断できないときには採取針の押し込み量を大きくする (ダイアルメモリを大)。

- 15) 採取準備完了

#### A.4 簡単採取手順

##### A.4.1 都度採取 (一回採取)

- 1) シャーレに標本を載せて載置台に装着する。  
回収トレイに 8 連チューブを載せる。  
最初の回収が最初のチャンバーになるように R ボタンを押す。  
Z ボタンを押し、回収時に採取針がどこまで下りるかを確認する。  
採取針が下りる位置は Z ボタンが押された後に手元コントローラ側面の Z ダイアルを回して調整できる。右回転すると下りる位置が深くなる。
- 2) 採取したい部位が位置マーカーのところに来るように標本載置台を手動で移動する
- 3) 採取回数が 1 回であることを確認する。  
採取位置がズレているときには 4) および 5) を行う。
- 4) Ldir を押す。(電源が入りこれにより位置がズレることがある)
- 5) Xposi ボタンを押し、載置台を微動移動する(移動方向が逆の時には Rdir を押し、Xposi ボタンを押す。顕微鏡画像の針マーカー位置に採取対象部位がきたことを確認する。
- 6) Samp ボタンを押す。(採取・回収がスタートする)

#### A.4.2 連続採取 (X 軸に沿っての採取となります)

- 1) シャーレに標本を載せて載置台に装着する。  
連続採取したい部位が並んだ方向が X 軸方向と一致するようにシャーレを回転する  
回収トレイに 8 連チューブを載せる。  
最初の回収が最初のチャンバーになるように R ボタンを押す。
- 2) 連続採取したい起点となる位置に標本を手動で移動する
- 3) 採取間隔および回数を手元コントローラ側面のつまみで選ぶ
- 4) 採取間隔・位置を確認したいときには(省略可)
  - ①手元コントローラの Interval ボタンを押す。
  - ②移動方向：Ldir (標本が画像上で左移動) Rdir(標本が画像上で右移動)ボタンで選択する。
  - ③所定の間隔で移動していく(電源および機械部分の遊びによるズレは採取時の操作で補正する)
- 5) 連続採取
  - ①移動方向を Ldir (あるいは Rdir) を押して決定  
ボタンを押すと電源が入るので標本載置台が微妙に動くことがある。この場合には Xposi ボタンで補正する (②)
  - ②最初の採取位置が手動設定からずれているときには Xposi ボタンを押して補正(約 5 $\mu$  ずつ移動)ズレ補正の移動方向が異なるときには一旦 Rdir ボタンを押して位置補正。次いで再度 Ldir ボタン



を押して後に **EnIn** ボタンで位置補正を行う。(最後の方向ボタンは連続採取したい方向にする)

③**Samp** ボタンを押す。採取回収が自動的に行われる。

#### 注意事項

1) 採取針の回転は 1/4 回転位で OK だが、切断しにくい標本の場合には 1-2 回転させると大抵の試料は切断採取できる。回転を多くすると刃先の痛みが速くなるので注意。

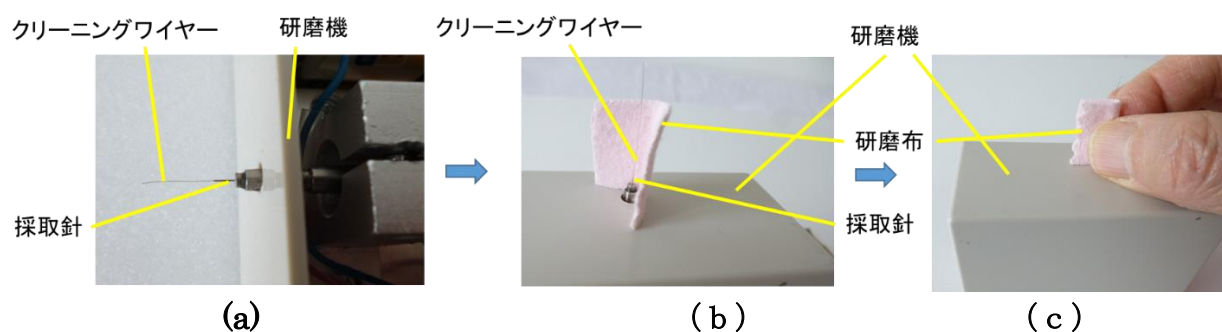
2) 採取を始めるときには、回収トレイの上にフラットな白い紙を敷き、この紙の上に回収することを勧める。すなわち、回収トレイ上には洗浄部分の穴位置も含めて白い紙を小さな両面テープで脱着可能につける。紙上に微小断片を吐出回収して採取できていることを確認するとよい。

#### A.5 採取針の研磨

採取針の先端が痛むと、採取ミス、回収ミスの原因となる。採取針の先端が鋭すぎると変形など痛みやすく、目詰まりの原因となる。一方、先端がなまってくると標本の切断に支障が出てくる。先端の刃の幅は 7~8 $\mu\text{m}$  までなら切断機能は問題ない。(押し込み量を少し増やす必要がある場合があるが)

以下、研磨の手訓を示す。

- 1) 先端研磨は研磨機に採取針を押し込む。(a)
- 2) クリーニングワイヤーを採取針の中に押し込み 5-10 mm 位先端から覗くようにする。(a)
- 3) 研磨布を介して採取針先端を指で挟む。(クリーニングワイヤーを曲げない様に気を付ける。曲がると採取針の先端がラッパ状になる)(c)
- 4) スイッチを ON にして採取針を回転させ、研磨布で採取針を挟んだ状態で 60 秒くらい研磨する。(採取針が上向き形がやり易い)
- 5) ハンディー顕微鏡で先端形状を確認する。内径 120 $\mu\text{m}$  なので先端幅がおおよそ 8 ミクロン以下になっていることを確認する。



# 1. 装置の仕様および構成

## 1.1 全体構成と操作の概要

### 1) 装置の全体構成

装置の外観を図1 および図2に示した。装置は機構部および電源制御部からなるが、電源制御部は装置に組み込まれており、手元コントローラにより採取操作をおこなう。

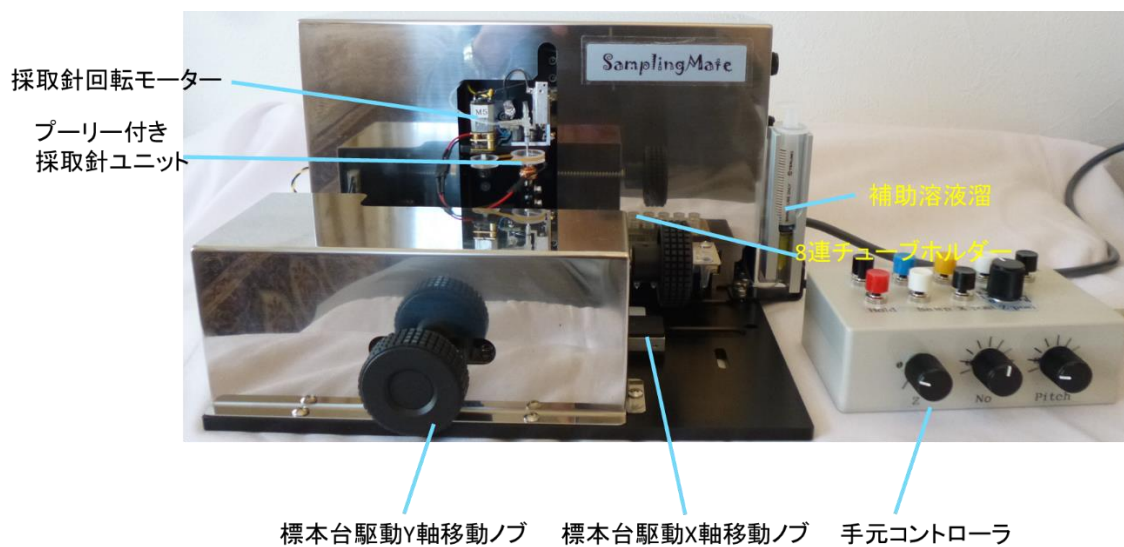


図1 a 装置外観図



図1 b 装置外観側面と手元コントローラ

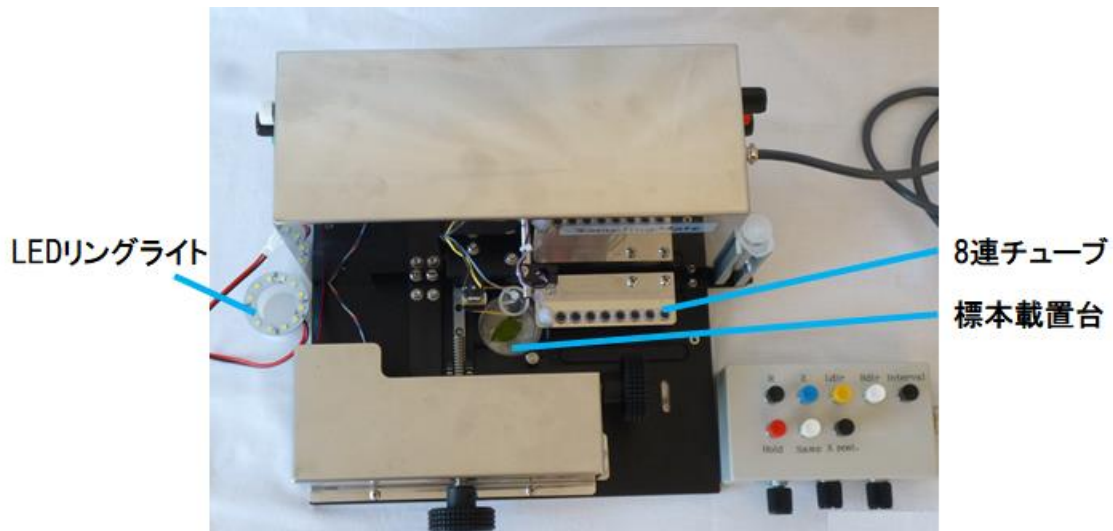


図2 上部から見た図

装置カバーを外した状態が図3および4である。機構部は底基板と衝立基板を骨格として構成されている。採取針を上下駆動する採取針駆動機構および溶液吐出駆動機構は衝立基板に固定され、採取断片回収トレイ（8連チューブ）駆動機構および標本台駆動機構は底基板に固定されている。

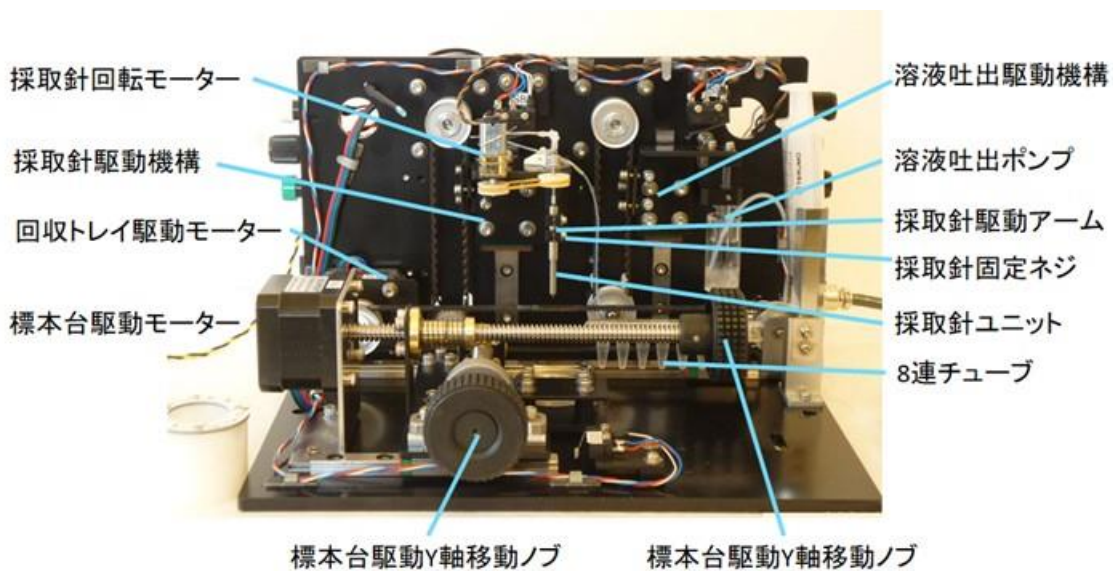


図3 カバーを外した装置の図

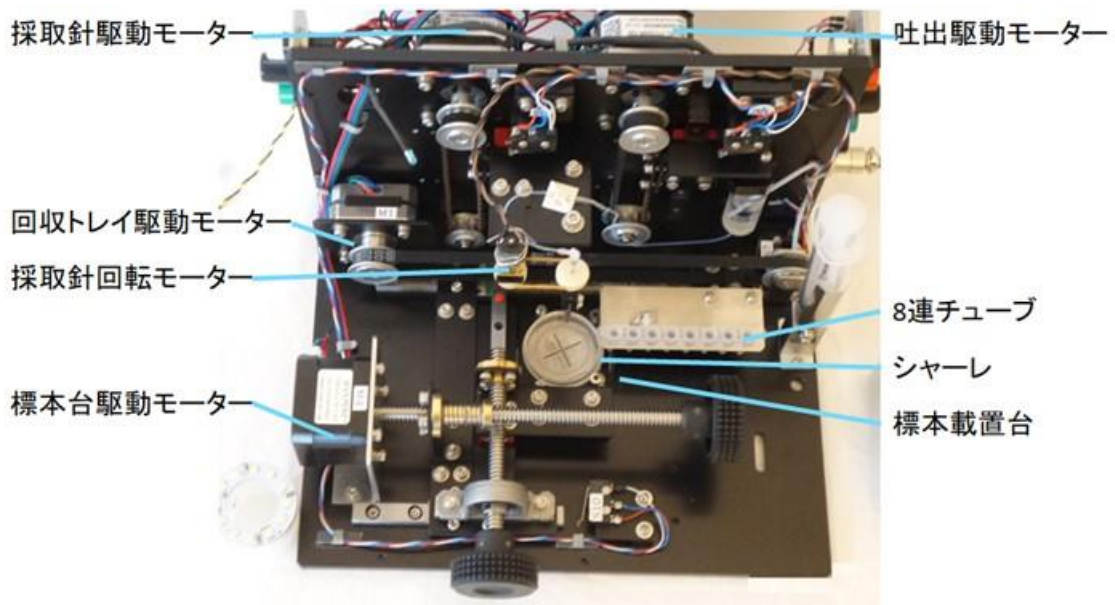


図4 カバーを外して上部から見た図

採取装置は倒立顕微鏡の試料台に載せる形で装着して使用する。装着に先立ち、図5に示すようにLEDリングライトを顕微鏡対物レンズにかぶせる。次に採取装置の底基板を顕微鏡の試料台に載せて固定する。底基板の厚さは5mmであり、標本載置台がおかれる窓には2mmの石英板が貼ってある。この上を標本が置かれたシャーレは動く。このため、対物レンズのワーキングディスタンスは4mm以上必要。

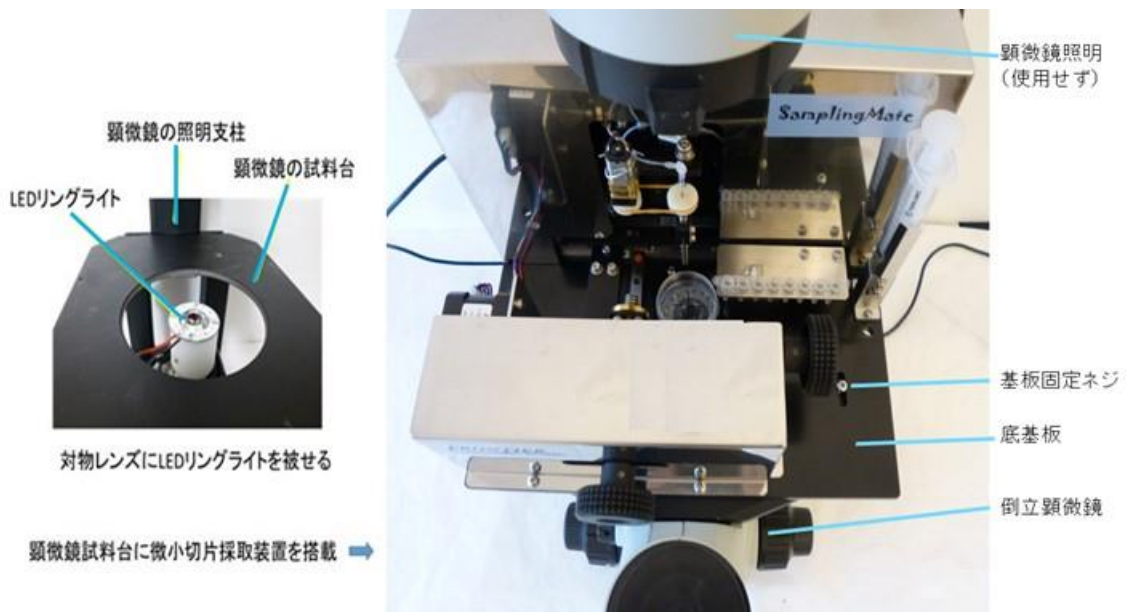


図5 採取装置を顕微鏡の試料台に載せて固定



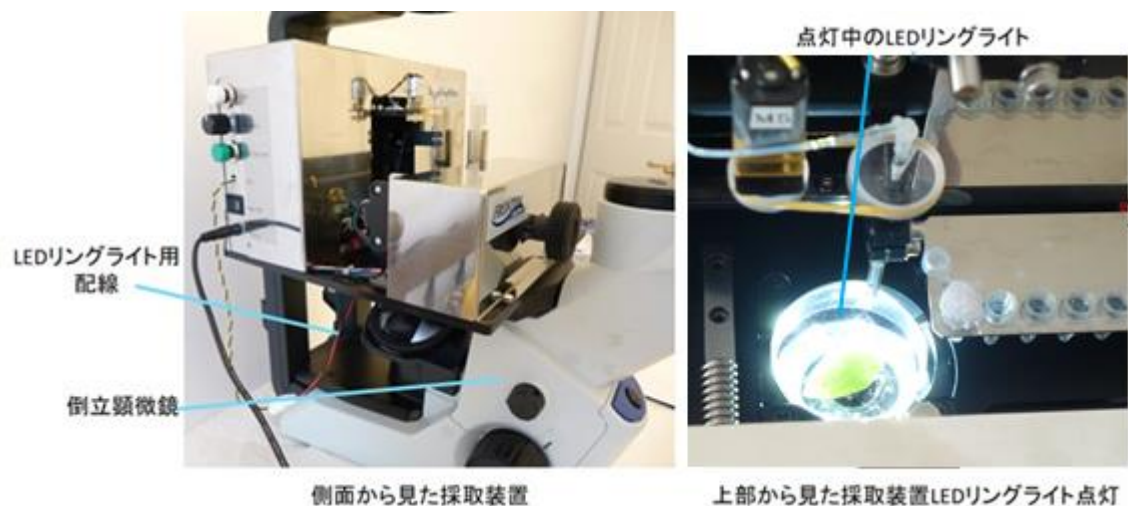


図6 倒立顕微鏡に搭載した微小断片採取装置

装置構成を図3～4に示した。機構部の主な構成はZ軸（垂直方向）移動する採取針駆動機構、溶液を吐出するためのポンプを駆動する溶液吐出駆動機構、採取断片を回収する8連チューブを搭載可能な回収トレイ駆動機構、および標本載置台を駆動する標本台駆動機構からなる。

採取針駆動機構のアーム部分に採取針ユニットを装着して使用する（図3）。採取針ユニットは採取針を保持する採取針ホルダー、衝撃を和らげるばね機構、回転を支えるホルダーカバーなどからなっている。採取針ユニットはプーリーを介してモーターとつながっており、必要に応じて微小断片採取時に採取針を自転させることができる。採取針ホルダーは中空状であり、溶液吐出機構から送られてくる溶液が通過可能である。採取断片を回収するときに採取針先端から溶液は採取微小断片とともに回収チューブへと吐出される。



## 2) 操作の概要

### (1) 操作手順

- a) 電源投入：初期化が始まる。
- b) 顕微鏡画像ソフトを立ち上げ、位置マーカを表示。
- c) 採取針ホルダーをアームに固定している位置を調整。
- d) 採取針位置を顕微鏡画像で確認し、マーカをその中心に置く。
- e) スピン回転用プーリーベルトおよび溶液吐出用のチューブと採取針ユニットの結合を確認。
- f) spin ボタン、溶液吐出ボタンを順次押してスピン回転及び溶液吐出を確認。(吐出溶液は外部の補助溶液溜から補充できる。)
- g) 標本のセットと採取部位の移動
- h) 微小断片採取・回収

(連続採取の時には、採取回数、間隔を設定したのち)

- i) 左移動 (L ボタン) あるいは右移動 (R ボタン) を押し、(ランプが点く)、Xposi ボタンを押して採取位置をニードルマーカのところに移動、続いて Samp ボタンを押して、連続採取回収。

### (2) 操作の詳細

(準備) 吐出溶液量などを確認するために白い紙を回収トレイの上に両面テープで軽く止める。手元コントローラをコネクタで本体に繋ぐ。手元コントローラの側面にある Z つまみの指示方向は●に合っていることを確認 (回収時に採取針が上記白い紙の上まで下りてくる設定)

**a) 電源投入:** 4つの駆動部がリミッターまで移動したのちに待機位置に移動する。Z 軸駆動系がリミッターまで上昇して一定距離下がり停止、回収トレイ駆動系がリミッターまで右移動し、一定距離左移動して停止、吐出駆動部がリミッターまで上昇して一定距離下がり停止。標本保持台がリミッターまで右移動し、リミッターまで移動したのち左に一定距離移動して停止。

(注意: 何らかの理由でリミッターが ON の状態になったままの状態だと誤動作の原因となる。)

**b) 顕微鏡画像ソフトを立ち上げ:** 画像表示ソフト CellPointmarker.exe をダブルクリックしてソフトを起動する。画像ソフトを立ち上げると図 7 のような画面が表示される。上部に 7b に示したように種々コマンドがあるが、ここでは、表示、ON および表示スケールを使う。

表示をクリックすると 7b 図の様にいくつかの命令が表示される。設定をクリックすると右側にマーカの色と線幅の設定画面が出るので Yellow とし、線幅は 5 を打ち込む。マウスの右クリックを押すと図 7c が表示されるのでマーカ

をここに移動するとクリックする。マウスの矢印の位置にマーカが表示される。マーカをクリックするとマーカは破線表示となり、マウスで動かすことができる。

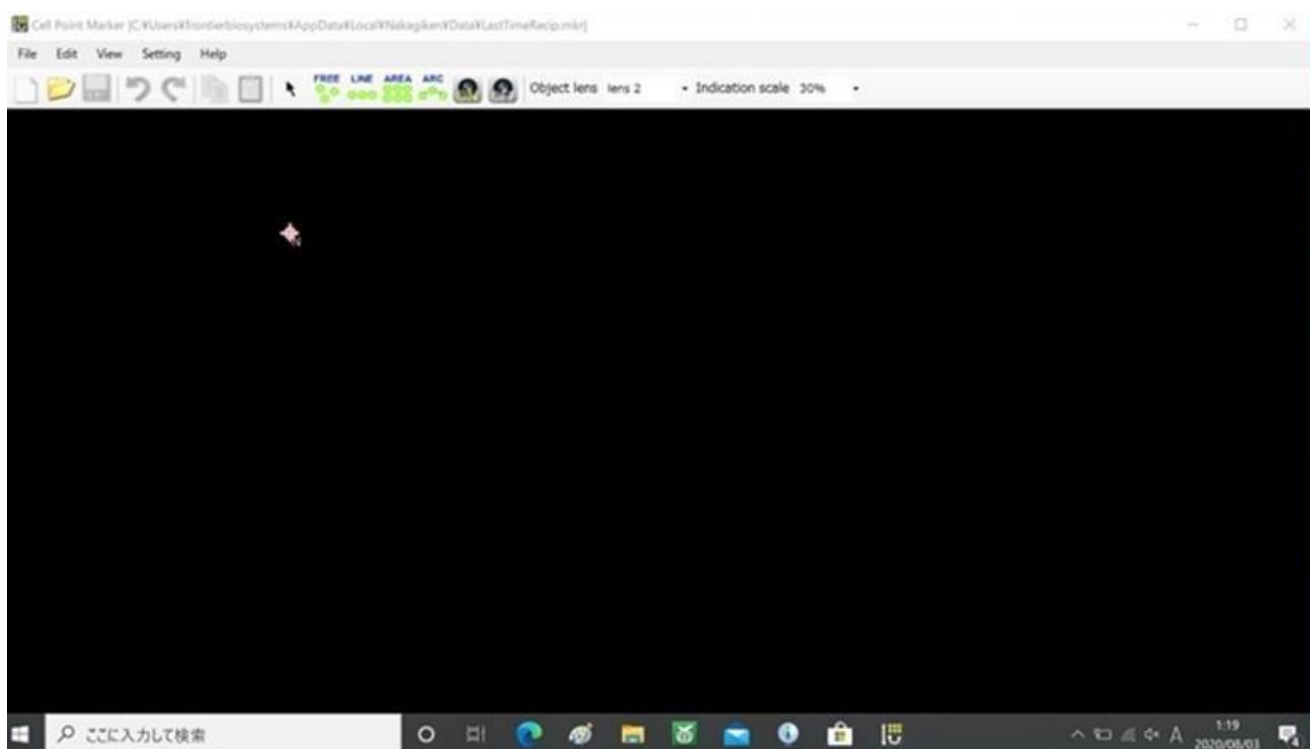


図 7a 画像ソフト起動時の画面



図 7b 画像ソフトのコマンド



図 7c 右クリックで現れるコマンド

ON タブをクリックすると顕微鏡画像が現れる。(コンピュータに付属しているカメラ画像が現れることがあるのでコンピュータのデバイスマネージャーを開き、顕微鏡カメラ以外のカメラを off にしておく)

c) 採取針ホルダーをアームに固定：

採取針ホルダーの針位置記憶リングがアームに触れるまで採取針ホルダーを押し込み、ネジで固定する。センサー電極をつなぎ、プーリーを少し持ち上げるとランプが点くことを確認する。針が試料に触れると点灯する。



図 8a 手元コントローラ



図 8b 採取針ユニット

採取針の先端がスリットから 1～1.5 mm程度になるように調整してあります。

**d) 採取針位置を顕微鏡画像で確認し、マーカーをその中心に配置：**

Hold ボタンを押して採取針ユニットを降下させ採取針の画像を確認する。(図 9) 採取針の形状を確認したら、その中心に位置マーカーを持ってくる。(クリックしてドラッグする)) ここに採取したい標本の部位を持ってきて採取を行う。Hold ボタンを再度押してアームの位置を待機位置に戻す。

(Samp ボタンを押すと採取針ホルダーはスタンバイ位置からさらに押し下げられます。採取針はバネが採取針ホルダーとの間にあるので、標本を打ち抜いた後、シャーレあるいはスライドガラスの表面で止まる。)

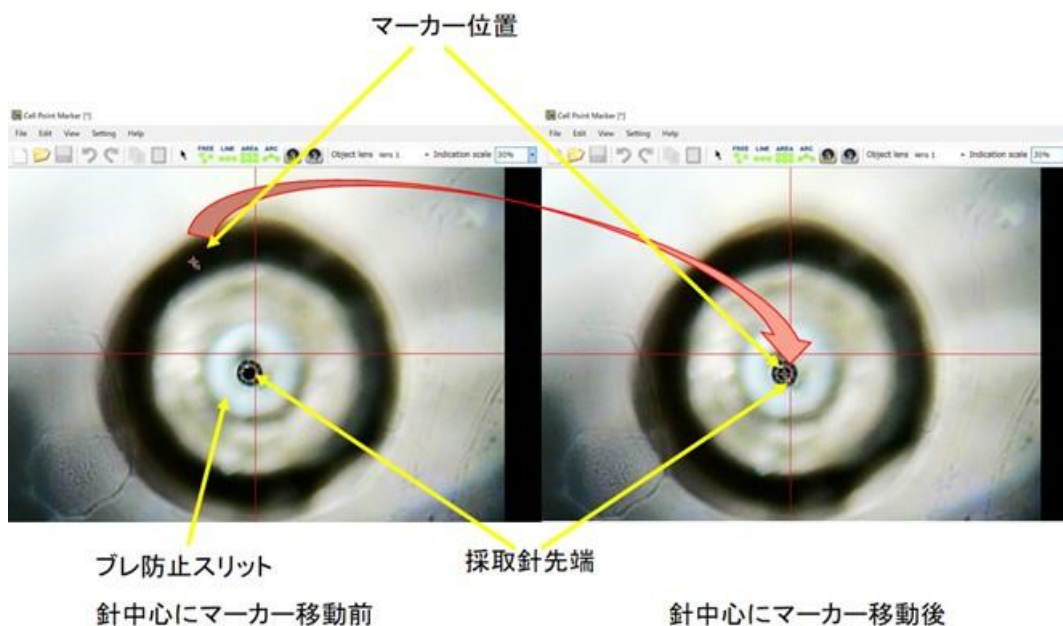


図 9 採取針先端の顕微鏡図

- e) スピン回転用プーリーベルトおよび溶液吐出用のチューブと採取針ホルダーの回転軸の結合を確認。

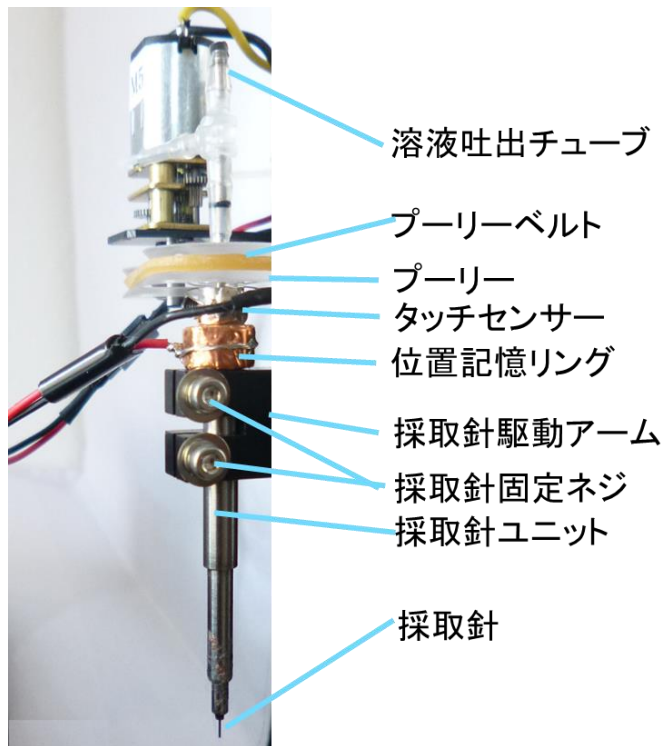


図 10 プーリーベルトと溶液吐出用チューブの取り付け

f) **S-check** ボタン、**E-check** ボタンを順次押してスピン回転量及び溶液吐出量を確認：プーリーベルトは緩めにしてある。spin 回転時間調整つまみ(S-Time)および溶液吐出量調整つまみ (E-volume) は左下が最小。つまみマークを左上くらいに置くことが推奨される。溶液は最初に置いた白い紙の上に吐出されるので溶液量を確認することができる。溶液量があまり少ないと実際の試料採取・吐出の時に採取した断片が回収されないことがある。5-10 $\mu$ l 位が適量である。

g) 標本をシャーレに載せる：

- ① 標本をシャーレに置きセロテープなどで固定する。標本がスライス切片の様に薄い場合には川本フィルムに取り置いた薄片試料を、0.05 mmのシリコンゴムシートを敷いたスライドガラスあるいはシャーレの上に載せる。
- ② 手順を図 11 に示した。回収トレイは邪魔になるので手動で左に移動する。標本載置台を固定しているネジを緩めて右側に引き出し、シャーレあるいはスライドガラスを装着する。スライドガラスはシャーレホルダーの下から差



し込めるようになっている。下側についているプラスチック突起で挟む形でスライドガラスを載置台の下に保持する。



図 11 標本の載置手順

③ 載置台を左に移動し所定の位置に戻してネジを締める。次いで R ボタンを押して回収トレイを元の位置に戻す。

図 11d は LED リングライトを点灯させた状態。

顕微鏡観察しながら、標本駆動ノブを用いて採取部位をマーカー位置まで移動する。

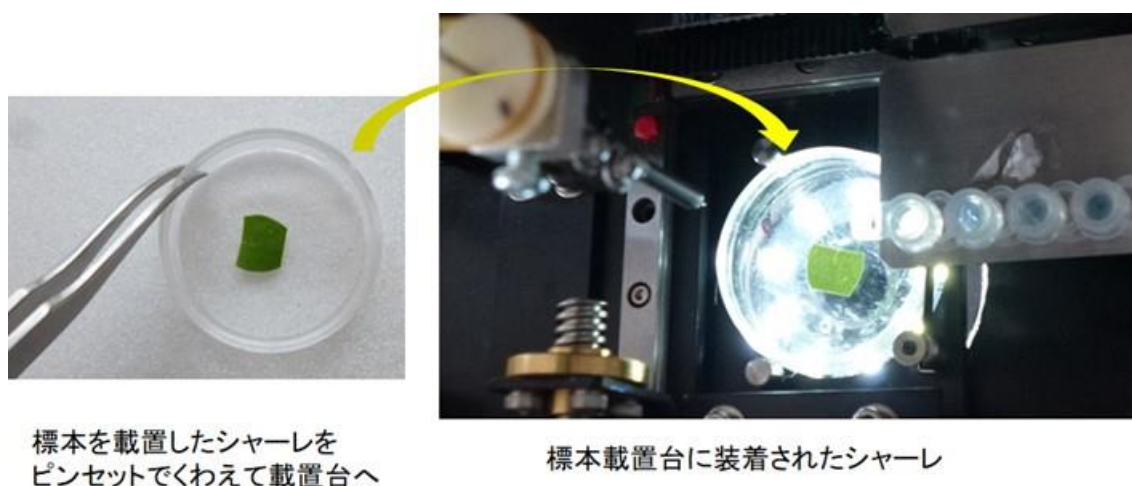


図 11d 標本をシャーレに入れて標本載置台に装着した図

初期には白いシートが微小断片回収トレイ上に置かれている。8 連チューブに微小断片を回収するときには標本を載置台に載せた後で回収トレイに 8 連チューブをセットする。

**h) 微小断片採取・回収：**電源を入れると標本台の位置がズレることがある。この場合、次の手順で採取をする。

① Ldir あるいは Rdir ボタンを押し、採取部位がマーカー位置からズレてないか確認する。

- ② Xposi ボタンを押し、採取したい部位をマーカーの位置に持ってくる。
- ③ Samp ボタンを押し、微小断片の採取回収をする。



図 12 標本から微小断片採取

採取した微小断片は 8 連チューブなどに回収されるが、平らな白色あるいは透明シート上に回収して採取した微小断片を顕微鏡などで確認することもできる。

採取時には Hold ボタンを押したときに下がるスタンバイ位置よりも約 0.2~0.5 mm 下まで採取針ホルダーは下がり、採取針が標本を回転切断する。回転終了後には少し吸引して微小断片を採取針内に確保するので殆どの標本を切断回収することができる。

#### i) 連続採取：

- ① 連続採取したい部位を X 軸（標本載置台の移動方向）と平行になるようにシャーレを回転する。
- ② 連続採取する起点となる部位をマーカー位置に標本載置台を駆動するノブを使って手動で持ってくる。
- ③ 手元コントローラの側面にある Sampling NO および Sampling Pitch つまみを回して採取回数と採取間隔を設定する。Sampling NO は最初の 2 つは 1 回採取、以後一回ずつ増加する。Sampling Pitch は 0.05 mm、0.1 mm、0.15 mm、0.2 mm、0.25 mm、0.3 mm、0.4 mm、0.5 mm の順で採取間隔を変えることができる。
- ④ 左移動（L ボタン）あるいは右移動（R ボタン）を押す（命令が確認さ

れるとランプが点く)。

- ⑤ 採取したい位置がズレたときには Xposi ボタンを押して最初の採取部位をマーカー位置に合わせる。
- ⑥ Samp ボタンを押し、連続採取回収する。

連続採取に先立って、採取間隔をチェックしたいときには以下の手順をおこなう。

- ① 手元コントローラの Interval ボタンを押す。
- ② 採取方向を Ldir あるいは Rdir ボタンを押して決定する。
- ③ 一定間隔で標本載置台が移動するので、目的のライン上を移動することを確認します。移動後、標本載置台は元に戻る。

## 1.2 装置の仕様

本体外径寸法：250 mm X230 mm X160 mm (横幅 X 奥行き X 高さ)

本体重量 : 4.8kg

手元コントローラあり

標本載置台：40φシャーレ対応、回転可能

採取断片回収トレイ：8連チューブ対応、自動移動機能

採取針：内径 0.12 mm ステンレス製

採取針駆動機構 (Z 軸移動)：ストローク 52 mm (調節代 2 mm)

XY 方向の位置ブレは約 10 μm

採取時回転機能付き、垂直方向ばね機構あり

(採取時の Z 軸方向位置調整が容易)

連続採取：8 サンプルまで、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5、mm 間隔で可能

連続採取時の採取時間は約 10 秒/採取

連続採取時の位置精度約：15 μm

採取断片の回収方法：溶液吐出による自動回収 液量は 2-10 μl

## 1.3 付属品 (図 13)

手元コントローラおよびケーブル (1 式)

画像モニターソフト CD (1 個)、

採取針ユニット (0.12 mm 用 1 個) (装置に装着済み)

12V2A 電源 (1 個)

簡易顕微鏡 (採取針先端確認用) (1 個)

シャーレ保持ピンセット (1 個)

LED リングライト (1 個)、

- 採取針（内径 0.12 mm）（5 本）
- クリーニングワイヤー（5 本）
- ピンバイス（1 個）
- ドライバーセット（1 式）
- 六角レンチ（1 セット）
- 採取針研磨機（1 個）
- 研磨布（小片 2 個）
- 採取針研磨機用電源（3 V）（1 個）



図 13 付属部品

#### 1.4 オプション

- 1) 顕微鏡カメラおよびアダプター
- 2) コンピュータ
- 3) レーザー

## 2. 顕微鏡への装着と調整

本装置は顕微鏡の試料台に載せる形で装着することを前提にしている。固定式の標準試料台に代わって XY ステージが顕微鏡に取り付けられているときには、対物レンズのワーキングディスタンスの関係で、XY ステージを取り外す必要がある場合がある。本装置はオリンパス倒立顕微鏡 CKX53 の試料台にねじ止めて装着することを想定して作られている。他の顕微鏡を用いる場合には基板にネジ穴加工したり、あるいは試料台に細工をしたりする必要がある場合がある。

### 2.1 顕微鏡への装着（図 5）

- 1) LED リングライトを対物レンズにかぶせる。
- 2) 顕微鏡の試料台に装置を載せて、ねじで固定する。試料台の上方 6 mm のところに標本は置かれることになる。
- 3) LED リングライトを電源コードとつなぐ。
- 4) 電源を入れると駆動系の初期化が始まる。
- 5) LED リングライトのスイッチを入れる。つまみを回して光量を調節する。
- 6) 顕微鏡カメラをオンにし、顕微鏡画像を確認する。(付属のソフトを使うときにはあらかじめインストールしておく。デスクトップにコピーを作るだけ。)(図 7)
- 7) 装置を顕微鏡に搭載した状態では採取針は顕微鏡画像の中央近傍に見える。
- 8) シャーレに仮標本を置き、標本載置台にセットする。
- 9) 標本内で目印になる点を見つけ、標本駆動機構の X 軸ノブを手動で動かし、目印になる点がどのように動くかを観察する。
- 10) 画像上で像の移動方向が X 軸と平行になるようにカメラを回転し、画像の水平軸と X 軸とを一致させる。
- 13) 顕微鏡接眼レンズ筒についているネジを用いてカメラが回転しないように固定する。

## 2.2 採取針の採取針ホルダーへの装着



採取針装着前



採取針挿入

図 14 採取針を採取針ユニットに装着

採取針を扱うときにはピンセットあるいはピンバイスを使う。採取針を採取針ホルダーに押し込む装着時にはピンセットが良い。引き抜くときにはピンバイスを使う。ピンセットを使うとピンセットが滑った時に針の先端を潰すこと



がある。また、ピンバイスを用いて針を押し込むときには針を曲げない様に注意する。

- 1) 採取針をピンセットあるいは指でつまむ。
- 2) 採取針ホルダーの先端から採取針を中へしっかり差し込む。(中空回転主軸に際混み固定する形で保持される)
- 3) プーリー側のシャフトを指で押さえて、採取針が止まるまでピンセットで挟んで押し込む。
- 4) 採取針ホルダーを指でつまみ、採取針をピンセットでつまみ軽く押しせばね機構が機能することを確認する。
- 5) 採取針を抜くときにはピンバイスで針先を銜え、まっすぐに抜き取る。  
(注意:ピンバイスを締めるときに針に力がかかると曲がることがある。曲がると使用できない。)

### 2.3 採取針ホルダーの駆動アームへの装着

センシング機能付き装置では採取針の先端位置の調整は不用。採取針ユニットを針位置記憶リングがアームに触れるまで押し込みネジで固定する。次いで、センサー電極をつなぐ。センサー電極を繋ぐとランプが消える。プーリーを少し持ち上げるとランプが点くことを確認する。

採取針が試料に触れ、採取針主軸が押されて針位置調整兼タッチセンサーが持ち上がるとランプが点灯する。

プーリーにゴムベルトを取り付け、次いで上端部に L 字あるいは T 字コネクターの付いた溶液チューブを取り付け、溶液吐出部と繋げる。

### 2.4 採取針回転時間の調整

右側面パネルにある S-check ボタンを押すと採取針が採取針の中心を軸として正回転続いて逆回転をする。S-Time つまみを回して回転時間を調整する。

### 2.5 溶液吐出量の調整

溶液供給系の概念図を図 16 に示した。

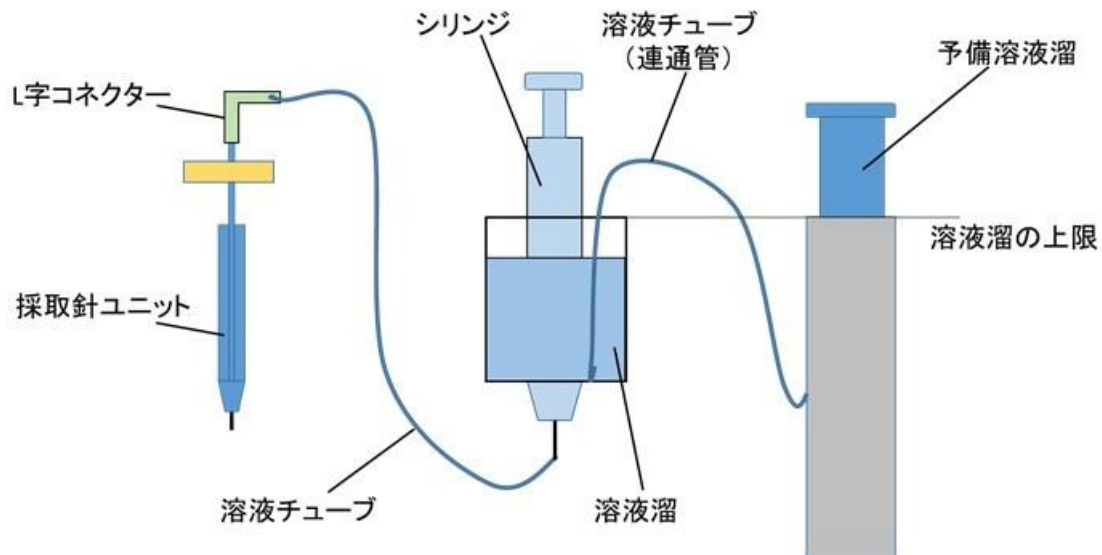


図 16 溶液の供給系模式図

最初は溶液溜には溶液は入っていない。次の手順で溶液を補給する。

- 1) 補助溶液溜に溶液を入れる。溶液溜に溶液がない場合には 4ml メモリまで溶液を入れる。
- 2) 補助溶液溜の 5ml 近傍には小さな穴が開いている。押し出しシャフトをはめ込み、穴を手で塞いでシャフトを押すと溶液が溶液溜に押し出される。1ml 程度押し出したところで塞いでいた手を穴から離す。溶液溜と補助溶液溜を結ぶ連通管には空気が入っているのでこれを押し出すことができれば、連通管の原理で溶液レベルが溶液溜と補助溶液溜で同じになる。
- 3) 連通管中の空気が抜けている場合には溶液を補助溶液溜に足すだけで十分である。

押し出しシャフトで補助溶液溜から溶液を溶液溜に押し出しすぎると溶液溜から溶液があふれてトラブルのもとになるので注意を要する。

本体右側面にある **E-check** ボタンを押すと溶液が吐出シリンジに供給される。

微小断片採取回収プロセスでは回収時に溶液が採取針先端から吐出される。これにより採取した断片を採取針から回収チャンバー中あるいはプレート上に押し出し回収する。

装置右側面にある **E-check** ボタンおよび **E-volume** つまみを用いて溶液吐出量のチェックと吐出量の調整を行う。溶液の吐出は電動モーターでスライダーに固定されたシリンジを駆動して溶液を押すことにより行われる。側面にある **E-volume** つまみを回して、シリンジを押し下げる量を調整することで吐出量を調節する。

溶液溜の水位は LED リングライトを明るくし、採取針を待機位置にすると直接見ることができる。(図 17)

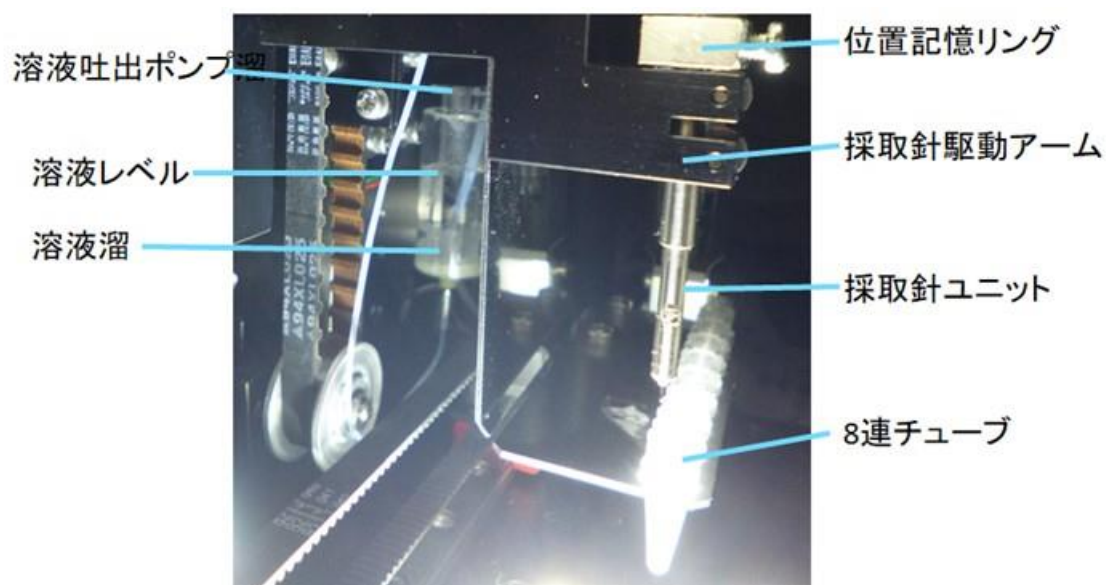


図 17 LED リングライトを明るくすると溶液溜が見える

## 2.6 連続採取時の採取間隔の調整

連続採取は X 軸に沿って標本載置台を一定間隔で移動することにより行われる。Interval ボタンを押すことで採取位置がどのように変化するかを採取に先立ち確認することができる。

手元コントローラの手前側にある No は連続採取回数を指定するつまみである。採取に先立ち、つまみをメモリに合わせる。最初のメモリに合わせるとレーザー照射（オプション）が行われ、採取回収回数は 1 回である。（現在レーザーは見絶族）2 番目以降はレーザーが OFF の状態で採取回数が 1, 2, 3…の順に回数が多くなり、8 回までの連続採取が可能となる。Pitch は連続採取時の間隔を指定するつまみで、メモリは左下から 0.05 mm、0.1、0.15、0.2 mm、0.25 mm、0.3 mm、0.4 mm、0.5 mm となる。

手元コントローラ上部にある Interval ボタンを押すと指定した間隔で指定した回数だけ標本載置台が移動し、移動状況を確認することができる。

## 2.7 微小断片回収時の採取針降下位置の調節

採取した微小断片を回収する場合に、8 連のチューブに回収したり、平面状のプラスチックシート状に回収したりすることができる。両者では採取した微小断片を回収するときの採取針の最適降下位置が異なる。

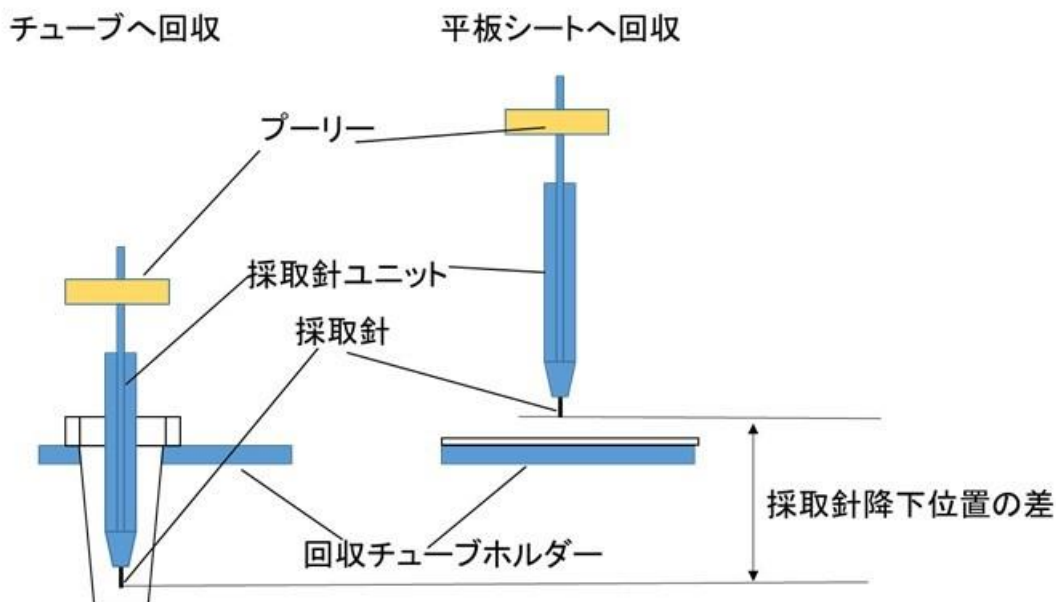


図 18 微小断片回収時の採取針ユニットの位置

このために採取針の降下位置を以下の手順で調節する。

- 1) Z ボタンを押す。(採取針が降下する)
- 2) 手元コントローラ前面にある Z つまみを回す。(採取針の先端位置が変化する)

つまみを一定時間回さないと調整終了になり待機位置に戻る。Z ボタンを再度押しても元に戻る。

## 2.8 採取針洗浄プロセス

回収トレイには穴が 9 個開いている。一番左の採取針よりの穴には洗浄パッドを入れ、残りの 8 個が 8 連チューブ用である。チューブに綿を詰め、洗浄用パッドとして用いる。微小切片回収後、採取針は一旦上昇する。回収トレイが移動し、洗浄パッドが採取針の真下に来る。採取針は降下し、洗浄パッドに突き刺さる状態になり、回転するとともに溶液が吐出され先端が洗浄される。

連続採取の時にはパッドは洗浄ごとに一定間隔で移動するので新たなパッド表面に採取針は突き刺さり洗浄が行われる。

## 2.9 回収ボトルの回収位置のリセット

8 連チューブ対応の回収システムなので 8 個の回収チューブに順次採取断片を回収する。8 個の回収チューブは回収のたびに順次採取針の下へ移動する。採取回収操作ごとに異なる回収チューブに回収される。このために回収トレイはチューブの間隔分だけ移動距離がシフトする。これを元に戻したい(リセットしたい)ときには手元コントローラ上面の R ボタンを押す。これにより回収は最初のチューブ位置へ回収される状態にリセットされる。

## 2.10 システムリセット

装置全体をリセットしたいとき（動作が少しおかしいときなど）は装置左側面にある Reset ボタンを押す。システムの初期化がスタートする。

## 2.11 カメラの水平軸と X 軸を合わせる

微小断片連続採取では X 軸に沿って標本台は移動し、採取が行われる。このため顕微鏡画像の水平軸と標本台が移動する X 軸を一致させておく必要がある。

- 1) 付属ソフトを用いて標本画像を PC 上に表示する。
- 2) 表示タブをクリックし、センタークロスラインを表示する。(図 1 6)
- 3) 標本画像の目印になる部位を、Y 軸駆動ノブを操作して、水平ライン上に持ってくる。
- 4) X 軸駆動ノブを回して標本台を X 軸に沿って移動する。
- 5) 目印部位がセンタークロスラインの水平軸に沿って移動する様にカメラを回転する。
- 6) 回転したら、顕微鏡接眼レンズ筒についているネジを回してカメラが動かない様に固定する。

## 2.12 カメラ画像の位置マーカースケールの調整

顕微鏡の対物レンズは通常 X 1 あるいは X 2 で用います。拡大するときには表示スケールを大きくする。下部にマウスの位置の座標が pix および mm 単位で出ている。画像上の pix で表示した距離と実際の距離を合わせるには設定タブをクリックし、ピクセル分解能をクリックする。下記表示が現れるので pix 当たりの距離を打ち込む。レンズの倍率により数値は異なってくるが 4 種類のレンズに対応できる。

ピクセル分解能設定

対物レンズ1	<input type="text" value="0.001400"/>	mm/pix
対物レンズ2	<input type="text" value="1.000000"/>	mm/pix
対物レンズ3	<input type="text" value="1.000000"/>	mm/pix
対物レンズ4	<input type="text" value="0.007300"/>	mm/pix

シャーレに顕微鏡用のスケール（ネットで簡単に入手可能）を載せ、1 mmあるいは 2 mmの距離が画像上で何 pix になっているかを確認して数値を打ち込む。

## 3. 採取操作

標本から微小断片を採取する手順を以下に示す。事前に採取針ホルダーの位置調整はしてある前提で説明する。

### 3.1 標本の準備

標本をプラスチックシャーレあるいはシリコンゴムシートを張ったス



ライドグラス上に置く。動かない様にテープで固定するか、あるいは川本フィルムに接着したのちにシャーレあるいはスライドグラス上に置く。厚さが 10-20 $\mu$  のスライス標本の場合には川本フィルムの使用を推奨。

- 1) 標本をシャーレに置き、周辺をテープなどで固定する。
- 2) 載置台を固定しているネジを緩め、右側に引き出す。操作の邪魔になるので回収トレイは左端に移動しておく。
- 3) シャーレをピンセットでくわえ、標本載置台に載せ、しっかりと手で押え込む。
- 4) 標本載置台を左に移動し、元に戻してネジを締めて固定する。
- 5) 顕微鏡の焦点を標本上部に合わせる。
- 6) 標本台駆動 X 軸ノブおよび Y 軸駆動ノブを回して採取したい部位を針位置マーカーのところまで移動する。(電源が入っていないので自由に動く)

これで採取の準備は完了。次に一箇所ずつ採取する場合と連続して数か所を採取する場合について説明する。

### 3.1 都度採取

- 1) 手元コントローラの **Ldir** ボタンを押す。電源が入り、標本載置台が少しずれる。(採取回数が 1 であることを確認する)
- 2) **Xposition** ボタンを押す、採取したい部位をマーカー位置まで移動する。
- 3) **Samp** ボタンを押す。ランプが点灯する。  
以下、自動的に次の動作が起こります。
  - ① 採取針が降下して標本を打ち抜いた状態で採取針が往復回転する。
  - ② 終了すると、採取断片の滑落防止のための吸引が起こる。
  - ③ 採取針が上部待機位置に戻る。
  - ④ 微小断片回収トレイが移動し、回収チューブが採取針の真下に来る。
  - ⑤ 採取針が回収時の降下位置まで降下する。
  - ⑥ 溶液が吐出され、採取微小断片が回収チューブに回収される。
  - ⑦ 採取針が上部待機位置までもどる。
  - ⑧ 微小断片回収トレイが移動し、洗浄パッドが採取針の真下に来る。
  - ⑨ 採取針が降下し、溶液吐出、スピン回転による針洗浄が行われる。
  - ⑩ 採取針が待機位置まで上昇する。
  - ⑪ 回収トレイが待機位置に戻る。

別の位置を採取する場合には採取したい部位を手動で採取針のマーカー位置に持ってきて **Ldir** ボタン、**Xposition** ボタンを押して位置調整したのち **Samp** ボタンを押す。微小断片が採取され、これは次の回収チューブに回収される。

## 3.2 連続採取

連続採取の場合、まず、採取間隔と採取回数を Pitch ボタンおよび NO ボタンで選ぶ。間隔は右回りで、0.05 mm、0.1 mm、0.15 mm、0.2 mm、0.25 mm、0.3 mm、0.4 mm、0.5 mm 野順に増加する。繰り返し採取の数はやはり右回りで増加するが最初と 2 番目が 1 回採取で以降一つずつ増加する。最初の位置はレーザー照射ボタン（レーザーはオプション）兼用になっている。

### 3.2.1 採取間隔の確認（スキップしても良い）

手元コントローラの Interval ボタンを押す。続いて Ldir あるいは Rdir ボタンを押す、方向を指定する。所定の間隔だけ移動するので採取位置を確認できる。移動には標本駆動機構用のモーターを使用するが、電源が入るとモーターが少し動き、標本位置がズレることがある。この補正は採取時に行うことができる。

### 3.2.2 連続採取操作

- 1) 採取間隔を Pitch つまみで、回数を No つまみで選ぶ。
- 2) 右方向に標本台を移動する場合に手元コントローラの Rdir ボタンを、左方向に移動する場合には手元コントローラの Ldir ボタンを押す。
- 3) ランプが点灯する。
- 4) Xposition ボタンを押して採取したい部位が採取針マーカークの位置に来るように位置修正をする。
- 5) Samp ボタンを押す。
- 6) 以下、都度採取と同じようなプロセスで採取回収が順次行われる。

## 3.3 トラブルシューティング

標本の種類により採取回収がうまくいかない場合が時々ある。以下、起こり易い事例を示す。

1) 採取針の目詰まり：採取ホルダー上部の L 字コネクターを取り外し、クリーニングワイヤーを押し込む。採取針ホルダーを貫通し、採取針の先端からワイヤーが出てくるようにする。ワイヤーを相対的に回転しながら入れると入りやすい。目詰まりの元となっていた微小断片が押し出されるので取り除く。

クリーニングワイヤーを引き上げる。L 字コネクターを取り付け、右側板にある E-check ボタンを押して溶液吐出を確認する。

採取針先端が痛んだ時に起こり易い。対策として付属の研磨個で先端を磨く。

2) 装置動作の不具合：外部からのノイズ信号などで動作不良を起こすことがまれにある。この時はリセットボタンを押して元の状態に回復する。

3) 採取断片の回収ミス：標本を打ち抜き採取はしているが、微小断片回収が確認されないことがある。このトラブルの多くは、採取針に原因がある。採取

針の先端がなまってくると微小断片の一部が採取針に癒着してしまうことがある。この結果、溶液吐出時に癒着部分以外から溶液が吐出され、微小断片は周囲に飛ばされたり、針の外側に付着したりする事故が起こる。対策として採取針先端を磨くあるいは新しいものと交換するなどがある。

通常の使い方の場合、数十～百回くらい繰り返して採取針は使うことができる。

(採取針は採取針ユニットに取り付けた状態で別売りシャープニングツールで先端を磨くことができる。これにより劣化した先端部の機能を回復できる)

4) 装置カバーの外し方: 装置採取針機構部を覆っているカバーはネジを外し、上に引き上げることで外すことができる。

問い合わせ先

フロンティアバイオシステムズ (株)

e-mail: [home@frontierbiosystems.com](mailto:home@frontierbiosystems.com)

<tel:042-635-4323>