

LMD6000

オプションモジュール



LMD6000 S/W: Ver.6.1

オプションモジュール 取り扱い簡易マニュアル

1 . LCC モジュール.....	3
1 - 1 . ディッシュを本体にセットする	3
1 - 2 . 設定の保存	4
1 - 3 . 作業の終了	4
1 - 4 . 96 ウェルプレート用回収トレイの使用法	5
2 . AVC モジュールの使用法.....	6
2 - 1 . AVC-1 の使用法 (自動認識の設定)	6
2 - 1 - 1 . 設定画面を開く	6
2 - 1 - 2 . 条件設定	7
2 - 1 - 3 . 自動認識とカッティング	8
2 - 2 . AVC-2 の使用法 (AutoShape Control)	8
3 . Serial Section Cutting.....	9
3 - 1 . ポジションのキャリブレーション.....	9
3 - 2 . ドローイング、ドローラインの移動及びカッティング.....	11

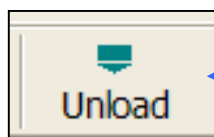
1 . LCC モジュールの使用法

LCCモジュールは、コンタミネーションフリーで培地から生細胞を単離するモジュールです。このモジュールでは、フォイル付スライドガラスではなく専用ディッシュ (Petri dish) を用います。LCCモジュールは、ソフトウェアドングル (別注品) で起動します。

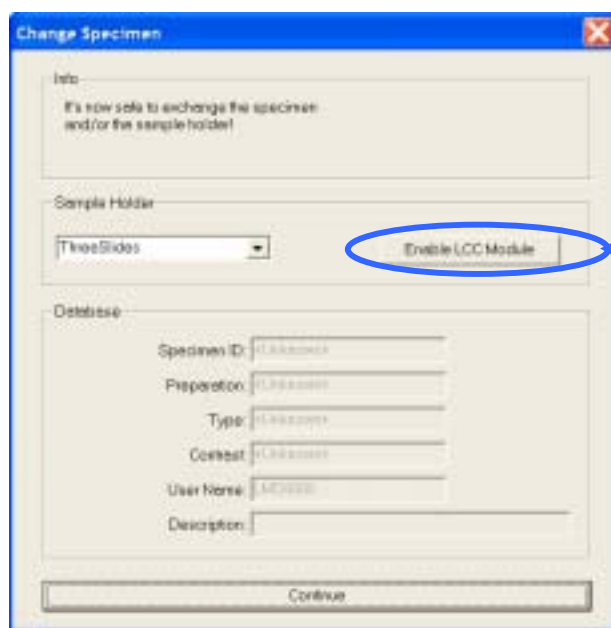
< 注意 > 水浸対物レンズ以外を使う場合は乾燥系レンズになるので培地を減らしてレンズが溶液に浸らないようにして下さい。PBS等でディッシュを洗い、1 mm程度の深さまでPBSを入れるのが良いでしょう。LCCモードでは、レンズの浸水を防ぐため、6.3倍、10倍、20倍、40倍の対物レンズを使用します。6.3倍以上の倍率の対物レンズは使用できません。

1 - 1 . ディッシュを本体にセットする

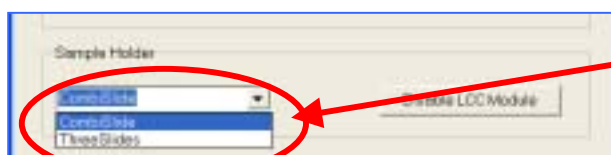
LCCを使用するには、Unloadでディッシュをセットする際に“ Change Specimen ” ダイアログの“ Sample Holder ” 欄で、“ Petri dish ” または “ Combi Slide ” を選んで下さい。これらをアクティブな状態にするには “ Enable LCC Module ” をクリックし、LCCモジュールが起動可能であることを確認します。



まず Unload をクリックし、Change Specimen ウィンドウを開きます。



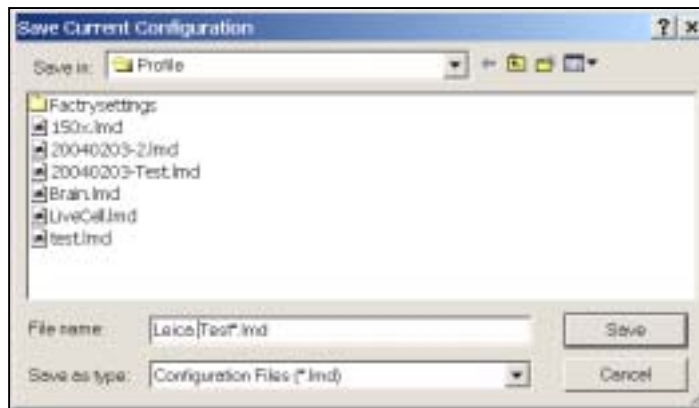
Enable LCC Module をクリックします。



Petri Dish または Combi Slide を選択します。

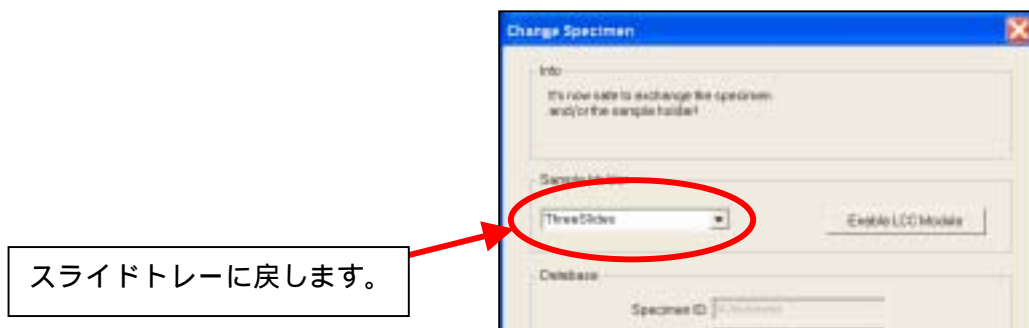
1 - 2 . 設定の保存

この操作以外の基本作業は標本使用時と同じです。
LCCモードでは顕微鏡操作時に対物レンズの倍率を変えると、必ずステージが低い位置に下がってディッシュとぶつからないようになります。
また、培養細胞用の設定条件を保存しておく非常に便利です。
ディッシュでの作業を行なうには、lccで保存したファイルを“Restore Application Configuration”から開いてください。



1 - 3 . 作業の終了

作業終了後、Unloadでディッシュを取り出します。Unloadでディッシュと取り出した後、Change Specimen画面でトレーを試料トレーに戻してください。（ステージの種類によって1枚用、3枚用があります。）
また、Disable LCC moduleをクリックして下さい。

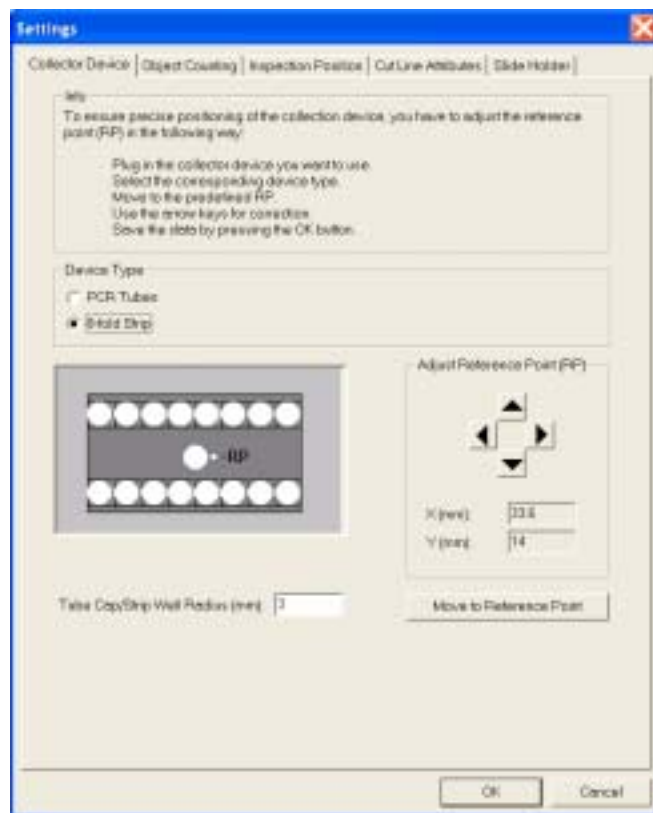


1 - 4 . 96ウェルプレート用回収トレイの使用法

LCCモードでは回収トレイにPCEチューブではなく、96ウェルプレートを使用できます。使用できるプレートは8連1列を取り外して使用できるタイプのウェルプレートに限られます。

メニューのOptions-Settingsを選択します。開いたCollector Deviceタブの中央のDevice TypeからPCRチューブと8連ウェルプレートを選択できます。

8連ウェルプレートを選択すると操作画面のCollector Device部分の表示が対応するトレイに変更されます。



< 注意事項 >

本体ステージがスキャンングステージではなくモーターステージの場合、8連ウェルプレートを選択する際にステージ本体のベースプレートをウェルプレートトレイ用のものに変更する必要があります。

2 . AVC モジュールの使用法

AVC：細胞自動認識モジュールは大量処理におけるドロ잉の手間を省くために、回収したい部分を自動でドロ잉するオプションソフトウェアです。

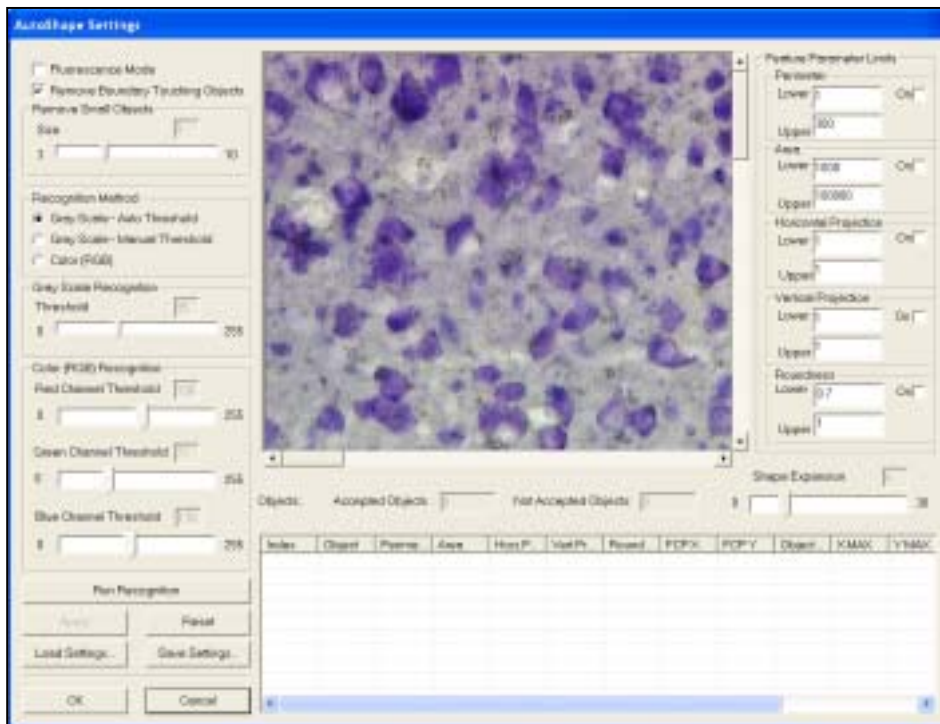
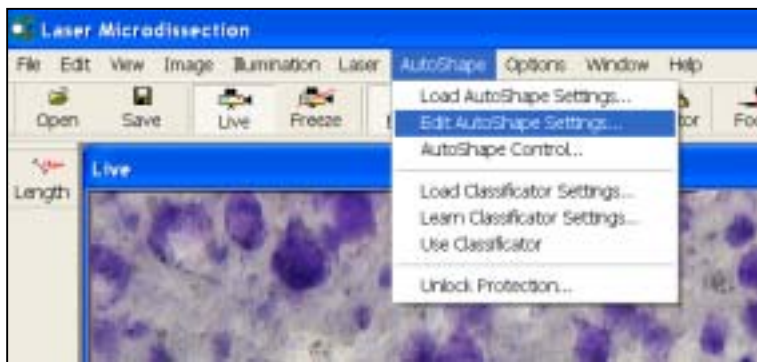
画像解析 2 値化の技術を応用し、グレースケールの濃淡で自動認識を実行します。

ソフトウェアは 2 つに分かれており、AVC-1では 1 画面ごとの自動認識を行ない、AVC-2では指定範囲の自動認識と自動カットをルーチンワークで行なうソフトウェアとなります。

2 - 1 . AVC-1の使用法 (自動認識の設定)

2 - 1 - 1 . 設定画面を開く

メニューの AutoShape を選択し、Edit AutoShape Settings を選択すると AutoShape Settings ウィンドウが開きます。



2 - 1 - 2 . 条件設定

この設定画面で主に設定するのは以下の3項目です。

- ・ 大きさ（ある一定以下の大きさの対象物を排除する）
- ・ グレースケール（ある一定の濃さよりも色の濃い対象物を認識する）
- ・ 対象物とカットラインの距離
（二値化した場所からカットライン幅を考慮したドロ잉を行なう）

大きさの設定

グレースケールの設定

Shape Exposure

二値化処理画像とカットラインの距離設定

Index	Object	Centre	Area	Hor.P.	Vert.Pr.	Round	FGC	FCP	FCR	FCB
1	OK	180.35, 2169	19	22	0.896176	640	26	301	643	46
2	OK	180.35, 2169	19	42	0.751978	277	38	309	287	79
3	OK	282.91, 4026	92	76	0.662613	490	46	310	621	114
4	OK	619.890, 523	37	33	0.895421	661	43	311	661	66
5	OK	255.94, 2576	60	63	0.402704	461	56	252	421	118
6	OK	172.30, 1884	80	42	0.752807	209	84	313	230	129
7	OK	446.20, 6118	74	124	0.307322	280	162	314	367	225
8	OK	239.95, 3788	44	87	0.578867	347	719	375	369	281
9	OK	182.62, 719	29	26	0.894603	231	129	317	233	153

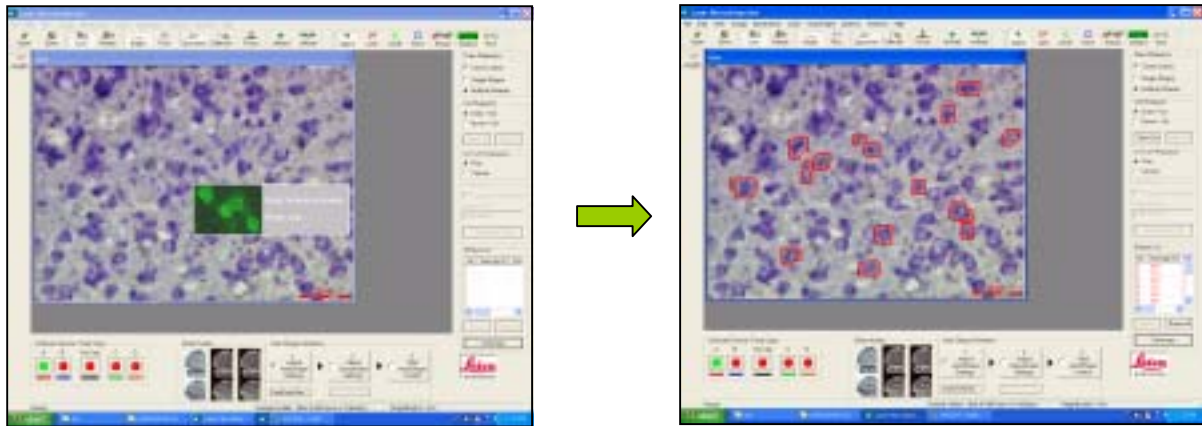
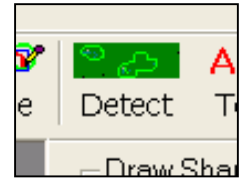
また、画面右上の各パラメーターを設定して、認識画像の絞込みを行なうこともできます。

周囲長、面積、縦の長さ、横の長さ、丸さのパラメーターで認識画像の絞込みを行なう。

2 - 1 - 3 . 自動認識とカッティング

LMD 操作画面で、Detect ボタンをクリックします。すると、先ほど設定した自動認識条件で自動的にドロ잉が実行されます。あとは Start Cut ボタンで認識した場所のカットを実行します。

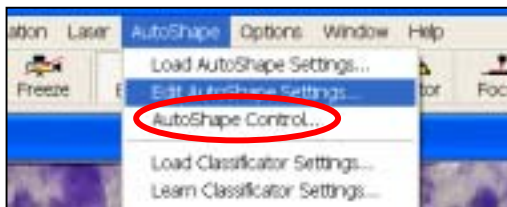
ドローラインの消去は通常のマルチカットと同様 Erase ボタンで消去します。



2 - 2 . AVC-2 の使用法 (AutoShape Control)

このオプションでは標本のある一定の範囲を指定し、その範囲内の細胞をまとめてカッティングすることが可能です。

AutoShape から AutoShape Control を選択するとコントロールパネルが表示されます。

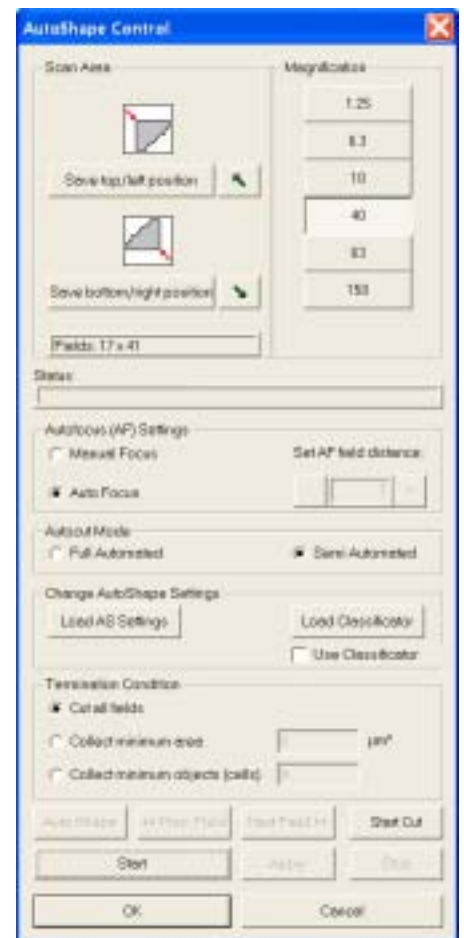


ここでは、AVC-1 と同じ方法で設定された画像認識パターンを用いて、自動でステージ制御を行ないます。

カッティングを行なう対物レンズを設定し、回収したい領域の左上と右下の範囲を決定します。範囲指定はステージを移動させ、左上、右下それぞれのポジションで Set ボタンをクリックし指定します。

次に、全ての範囲を自動でスキャンしカットする Full Auto モードと 1 画面づつ確認しながらカットする Semi Auto モードを指定します。

さらにカット終了条件を決めてから Start します。(指定範囲の全てをカットするか、一定面積をカットするか、回収個数を指定する) Start 指示により、指定された作業を終了まで一気に実行します。



3 . Serial Section Cutting

Serial Section Cutting (連続切片カッティング) は 2 枚の連続切片が別のファイルスライド上にサンプリングされている場合に、1 枚目の標本でドローイングを行なうと 2 枚目の標本の連続部分をカットするというモードです。2 枚の標本の染色が異なる場合に有効です。(例: 1 枚目は免疫染色で 2 枚目はトルイジンブルー、1 枚目は HE 染色で 2 枚目は未染色、など)

この機能は、2 枚以上の標本が同時にセットされなければなりません。従って、装置の仕様がスキャニングステージ仕様 (LMD6000 Proteome または LMD6000 Multi User) の場合のみ有効です。

3 - 1 . ポジションのキャリブレーション

Serial Section Cutting では、2 枚の連続切片で位置確認を行なうために座標のキャリブレーションが必要となります。1 枚目の切片で左上と右下のポイント 2 点を決定し、その場所に該当する左上、右下のポジションを 2 枚目の切片から指定します。

Live 画面上でマウスの右ボタンをクリックし、Serial Section Cutting を選択します。



Serial Section Cutting Dialog が開きます。



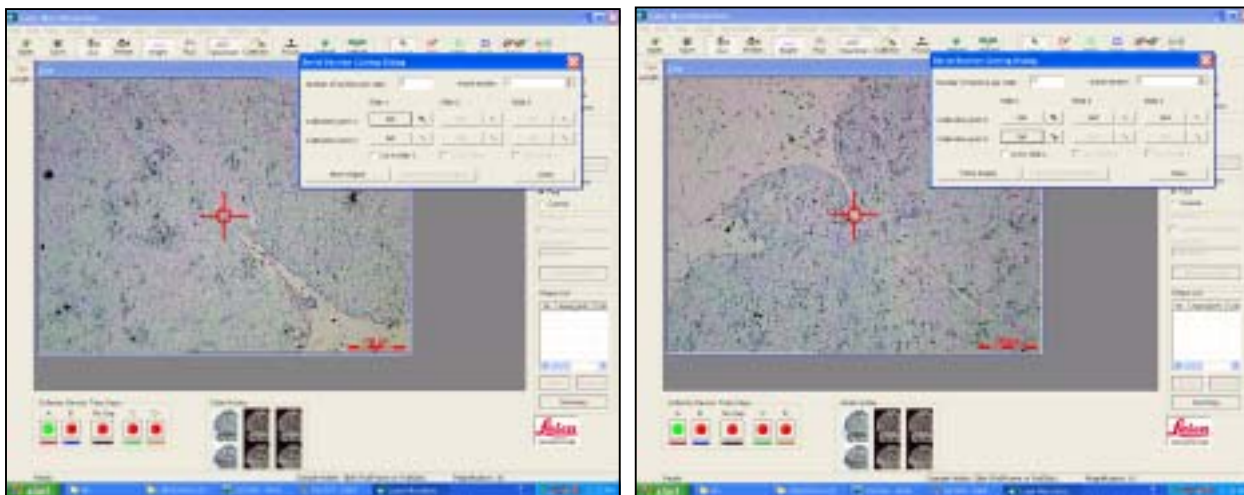
Number of sections per slide に一枚のファイルスライドに乗せている切片の枚数を入力します。

Actual section の部分には Number of sections per slide で入力した切片のうち、何枚目の切片で作業するかを選択します。

続いて1枚目の切片の左上及び右下のポジションを設定します。

まず一枚目の切片、左上のポジションにステージを移動し、Serial Section Cutting Dialog 内にある Slide 1 - Calibration point 1 の Set ボタンをクリックします。

続いて、右下のポジションにステージを移動し、Slide 1 - Calibration point 2 の Set ボタンをクリックします。

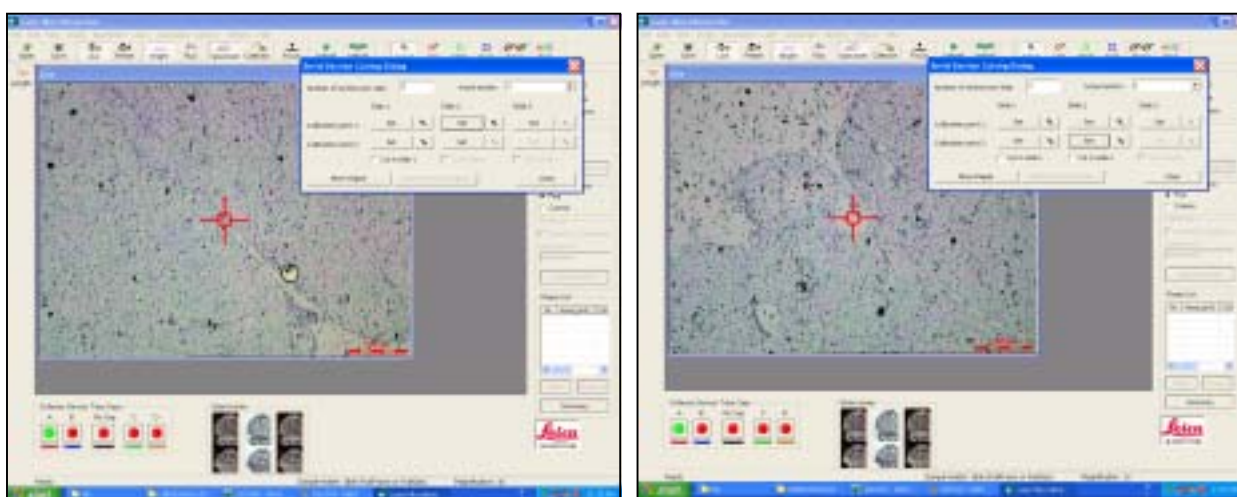


次に2枚目のスライドに移動し、1枚目の切片に該当する連続切片の場所を指定します。

2枚目の切片上で1枚目の左上ポジションに該当する場所にステージを移動させ、Slide 2- Calibration point 1 の Set ボタンをクリックします。

1枚目の切片と2枚目の切片が同じ場所に来ているかを確認するために、画面中央に表示されているマークを参照してください。

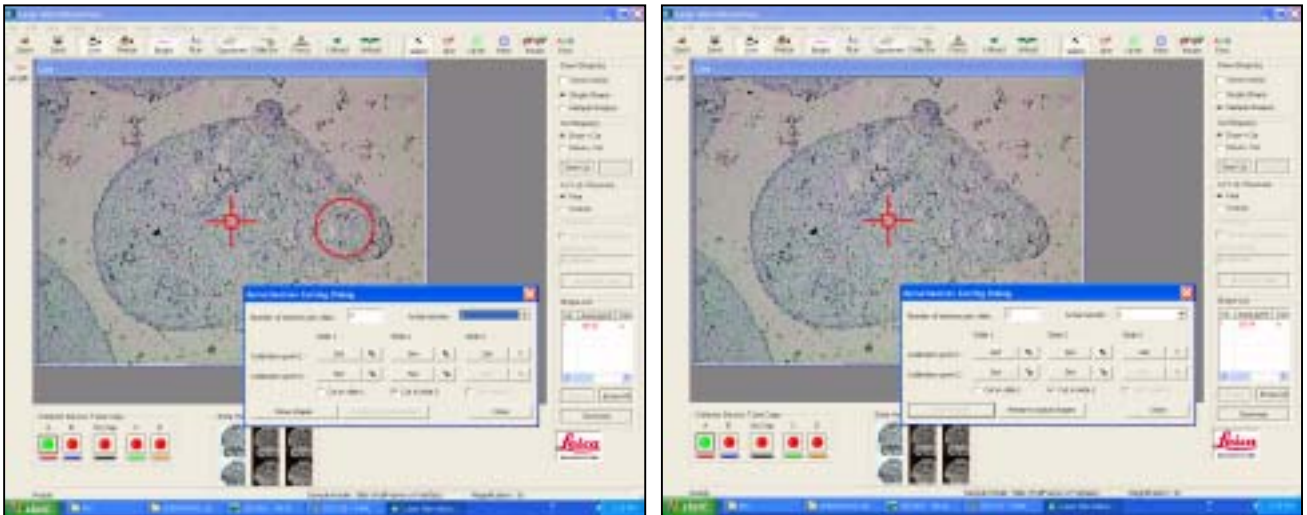
続いて、右下のポジションにステージを移動し、Slide 2- Calibration point 2 の Set ボタンをクリックします。



3 - 2 . ドローイング、ドローラインの移動及びカッティング

まず、1枚目のスライドで通常どおりドローイングを行ないます。このとき、実際のカットを行なうスライドについて、Serial Section Cutting Dialog 内の Cut in Slide というチェックボックスにチェックを入れておいてください。

ドローイング後、Move shapes ボタンをクリックするとドローラインが画面から消えます。この時点でドローラインは2枚目のスライドに移動しています。



2枚目のスライドに移動してください。

ドローラインが1枚目で描いた場所と該当する場所に移動しています。Start Cut でカット操作が開始されます。

