LEICA CM 3050S

冷 凍 切 片 機

中 文 操 作 手 冊

友 聯 光 學 有 限 公 司

地址:台北縣汐止市新台五路 1 段 81 號 4 樓之 3

TEL: (02) 2698 0508

FAX: (02) 2698 0389

E-mail : unionopt @ms11.hinet.net

http://www.unionoptical.com.tw/

Cryo Tissue

冷凍切片組織處理過程

Leica MICROSYSTEMS

處理 切割 → Argos (數位影像處理系統)

MB 100 200 400 500 (組織處理檯)

↓

固定 包埋 → O.C.T (冷凍包埋劑)

↓

冷凍 切片 → CM 1100 1850 1900 3050S 冷凍切片機

↓

染 色 → H&E, 多色次甲基藍染色法

↓

封 片

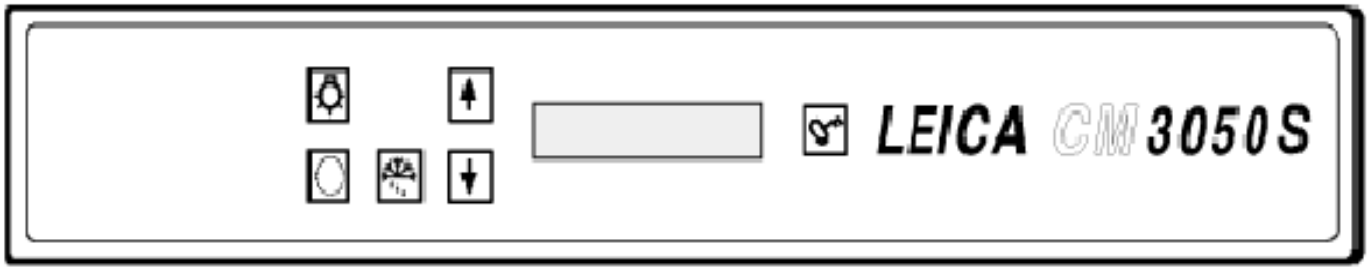
↓

顯微鏡觀察 → LEICA (各類型顯微鏡)

友聯

TEL：(02)27639031

LEICA CM 3050S 面板操作



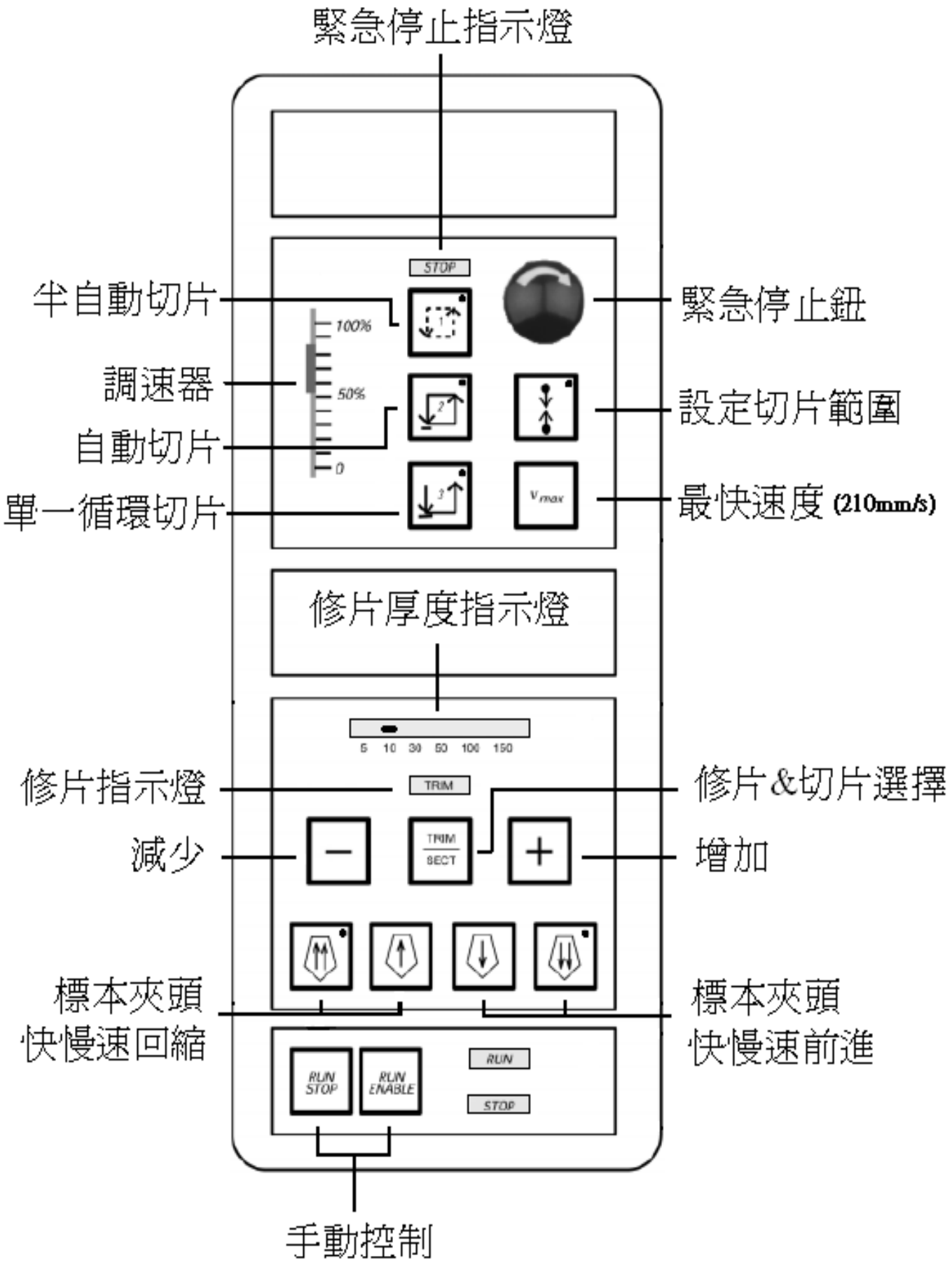
冷凍操作室照明燈。

程式選擇。

手動除霜開關。

上下鍵。

控制面板鎖鍵。
(按五秒鐘開鎖或上鎖面板)


緊急停止指示燈
STOP
半自動切片
緊急停止鈕
100%
調速器
50%
設定切片範圍
自動切片
0
單一循環切片
V_{max}
最快速度 (210mm/s)
修片厚度指示燈
5 10 30 50 100 150
修片指示燈
TRIM
修片&切片選擇
減少
TRIM
SECT
增加
標本夾頭
快慢速回縮
標本夾頭
快慢速前進
RUN
STOP
RUN
ENABLE
RUN
STOP
手動控制

1,設定標本夾頭溫度(-10℃~ -50℃)。

按 到 SET TEMP OT---°C 在按 調整溫度。

按 關閉標本夾頭壓縮機。

2,設定冷凍工作間溫度(0℃~ -40℃)。

按 到 SET TEMP CT---°C 在按 調整溫度。

按 關閉冷凍工作間壓縮機。

3,設定切片數量器(1~999 片)。

按 到 PRESET COUNTER dn--- 按 設定切片數量。

按 清除計數量。

4,設定標本夾頭快速冷凍裝置。

按 到 FAST OBJ FREEZIN ON 按 選擇 ON 或 OFF 。

5,設定時間。

按 到 TIME 10:23 按 調整時間。

6,設定自動除霜時間。

按 到 DEFR TIME 4:30 按 調整除霜時間。

7,設定除霜時間（6~12MIN）。

按 到 DEFROST PERIOD
CHAMBER: 08 MIN 按 調整除霜時間。

電源跳脫 CT. . . °C OT. . . °C
POWER FAILURE 按 清除。

冷凍狀況

CT-30°C OT-35°C
■■HOME *

1 2

1：冷凍工作間壓縮機。2: 標本夾頭壓縮機。

切片厚度 CT-30°C OT-35°C
μ010.0 按

調整厚度。

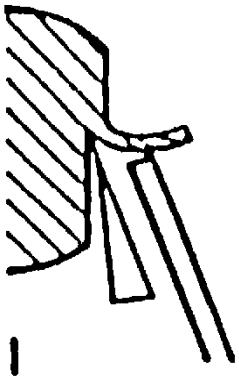
切片計片器 CT-30°C OT-35°C
Σn000 按

清除數量。

切片總厚度 CT-30°C OT-35°C
Σμ0000.0 按

清除。

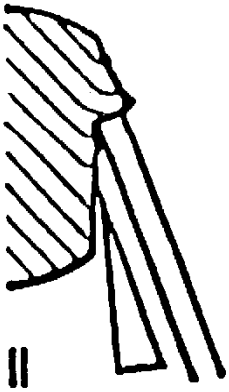
防捲片使用注意事項



I

防捲片在刀片後面

組織切片在防捲片前捲曲

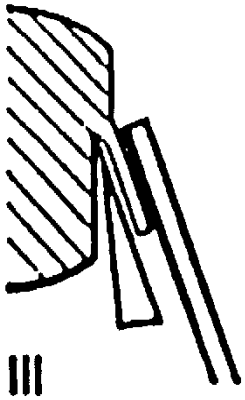


II

防捲片在刀片前面

則刀片切不到組織

(防捲片易撞壞)



III

防捲片和刀片在正確位置

CM3050S 開機步驟：

1,按 鍵(約五秒鐘)面板背光會亮起,開啓操控面板。

2,按 標本夾頭前進至頂端上低溫抗凍油(NO.407),防止標本夾頭後伸縮銅環結冰,影響同步馬達,造成切片厚薄不均。

3,按 鍵選擇 SET TEMP CT---°C 調整 設定(CT)

冷凍操作室溫度,降至工作溫度(參考溫度選擇表)。

4,待冷凍操作室(CT)溫度,降至工作溫度,按 鍵選擇

SET TEMP OT---°C 按 鍵,啓動標本夾頭壓縮機,

降至工作溫度(約比冷凍操作室低 1℃ ~ 2℃)。

5,將檢體放上組織標本台，然後添加適量的冷凍包埋劑,包埋型狀最好修成梯形或方形,較不易捲片。

6,將刀片或鋼刀放置刀座夾緊。

7,將凝固之組織標本台,放上標本夾頭鎖緊,後開始對刀。

8,先粗切刨除多餘之凸面使標本平整，再由細切取片。

9,切片時應避免玻璃門長時間處於開的狀態，如此會造成房內快速結霜。

CM3050S 關機步驟:

1,將 鍵選擇 SET TEMP OT---°C 按 鍵,關閉標本夾頭壓縮機 。

2,將 鍵選擇 SET TEMP CT---°C 調整 設定(CT)

冷凍操作室溫度,升至-5℃。

3,清潔冷凍操作室內部,保持乾淨。

4,按 鍵(約五秒鐘)面板背光會變暗,鎖住操控面板。

5,儀器的養護和注意事項請諮詢

友聯光學有限公司(02) 27639031

冷凍切片製作的步驟和注意事項:

一、操作步驟:

(1)、將適量 OCT 滴入鋁合金組織標本台上,再把取材好的新鮮組織放置在中心部分,放在冷凍切片機操作室裏的標本速凍臺上,移動已經凍好的組織壓平錘把組織壓平壓實(可不用),快速冷凍 3-5 分鐘後,把組織標本台裝到切片機上標本台夾頭並鎖緊。

(2)、利用電動馬達前進對刀，粗切修出整個切片平面。

(3)、放下防捲片，開始手動切片，切片厚度一般爲 5～6mm，切出完整片子後拉開防捲片,用小毛筆帶平切片並快速用載玻片貼附組織後立即放入(95ml 甲醇+5ml 冰醋酸)中固定，固定時間爲 10～20 秒。〔也有用純二甲苯或丙酮固定, (95ml 甲醇+5ml 冰醋酸)對組織脫水的作用〕。

(4)、水洗　(如果用二甲苯或丙酮,在此之前要先進 1 道 100%酒精,1 道 95%酒精)。

(5)、Hematoxylin (蘇木素) 1 分鐘。

(6)、水洗。

(7)、鹽酸酒精 1 秒鐘　(固色)。

(8)、水洗。

(9)、Eosin (伊紅) 2～5 秒鐘。

(10) 85% , 95%,100% 酒精脫水各數秒(快速脫水)，二甲苯(透明)，封片膠(封片)。

二、注意事項:

(1)根據所切的組織大小選擇合適型號的組織標本台,OCT 滴入要適量, 組織標本台和夾頭之間充分穩固是關鍵 之一。

(2)提前開機,切片機操作室溫度一般設置爲 -22℃至 -25℃，快速冷凍是冰凍切片的重要環節，快速冷凍能減少組織內的冰晶，最好的辦法是將已經凍到足夠溫度的組織壓平錘壓在組織上，那樣可有效的縮短組織冷凍的時間。

(3) 快速冷凍：冷凍切片的關鍵，因爲只有快速冷凍才能減少組織內的冰晶，傳統的辦法是將組織標本台放入液氮內冷凍。在液氮裏冷凍要注意不要凍過頭，只要看到 3/4 的組織已經凍住就可以了，待組織標本台拿出後剛好全部凍住，否則就會引起組織發脆，或組織標本台與組織分離。(LEICA 1900 ,3050S 機型, 爲雙壓縮機冷凍，冷凍能力較強，冷凍速度快，組織標本台夾頭處的冷凍能力可以達到 -60℃左右，不需要液氮來快速冷凍標本。)

(4) 液氮冷凍過的組織，特別是肝、腦、甲狀腺等很容易碎，和切片機沒關係。可以把切片機溫度設在 -12℃，腦組織放在冷凍切片機降溫半小時後再切，會好一點。

(5)有些組織容易凍過頭，切片時表現出發脆,切出碎片,可打開玻璃視窗等溫度上升點以後再切，也可用手在組織上稍稍加溫.（要控制好相應的溫度），如果用手摸，最好戴手套，或用玻片間的紙夾在手與組織之間，以防感染。

(6)脂肪組織是難切的標本之一,碰到類似組織時,冷凍的溫度要調低(-25℃以下), 快速冷凍的時間應適當延長,讓組織充分凍硬凍實,另外可調大切片的厚度(8-10mm)。

(7)固定：切片後用玻片展好片以後應立即放入甲醇中固定，不能等切片全部切完後再固定。固定液有很多，經實驗發現甲醇作用快，收縮小，染色較清晰，是冷凍切片較理想的固定液。

(8) 冷凍切片機的配置是鋼刀, 鋼刀一定要磨利，並且要磨直，否則切出的片子就不平整。

(9) 冷凍切片機的配置是用一次性刀片　（818　819），注意在玻片展（貼）片時玻片和毛刷的金屬柄儘量不要直接碰到刀片的韌口，以免對韌口造成損傷。在刀片換切點時，一定要同一切點一次全換過，不要只換一半，那樣由於刀片一半鋒利，一半鈍而造成切片出現扇型。

(10)儀器的養護和注意事項請諮詢友聯光學有限公司 (02) 27639031

LEICA CM 3050S 可能的問題，原因和解決方法

問題	原因	解決方法
切片機內壁結霜	--長期於不適合之場所操作(如冷氣房、開門或窗戶)	--消除場所不適合之原因或更換安裝位置
	--於低溫狀況時滑動窗是打開的狀況	--將滑動窗關妥
	--操作者呼氣進入切片機冷凍房內	--考慮罩上防霜罩
切片厚度不均勻	--標本冷度不足	--選擇較低溫度
	--切片刀或防捲片冷度不足	--等到切片刀及防捲片達到設定之溫度
切片時有碎裂	--標本溫度太低	--選擇較高溫度
切片時不平整	--有靜電	--消除靜電
	--標本冷度不足	--選擇較低溫度
	--標本表面太大	--適度修片或增加切片厚度
	--防捲片未調準	--重新調準防捲片
	--防捲片未對齊刀角	--正確對齊
	--間隙角度不正確	--設定正確間隙角度
	--切片刀已鈍或損壞	--改用不鈍的部份切或更換切片刀

問題	原因	解決方法
溫度正確，防捲片也對齊刀角仍然切片不平整	--切片刀或防捲片骯髒 --防捲片邊緣損壞 --切片刀已鈍	--清潔刀片及防捲片 --更換防捲片 --改用不鈍的部份切或更換切片刀
防捲片上之切片會捲	--防捲片未調準	--重新正確調整
切片時標本移動時,發出噪音	--防捲片突出太多越過刀口，刮到標本	--重新正確調整
Ondulated Sections	--刀片損壞 --防捲片，邊緣損壞	--改用未損壞部分切或更換刀片 --更換防捲片
切片時會震顫	--標本台上之標本冷度不足 --標本台未夾緊 --標本夾未夾緊 --刀片未夾緊 --切片厚度選擇太厚使標本脫離標本台 --標本非常硬	--重新冷凍標本台 --檢查標本台 --檢查標本夾 --檢查刀片夾 --重新冷凍標本至標本台 --若可能可增加切片厚度，減少標本表面

問題	原因	解決方法
切片時會震顫	--刀片寬窄不適當	--使用適當刀片 (寬刀片或窄刀片)
	--間隙角度不正確	--設定正確間隙角度
	--切片刀已鈍	--改用不鈍的部份切或更換刀片
防捲片及刀片上有凝結	--刷子，鑷子，清潔布或其它用於清潔之物品溫度太高	--用於清潔之物品必須預冷，平時放置於切片機冷凍房內
防捲片調整時損壞	--防捲片突出太多越過刀口	--更換防捲片時應遠離刀口 --拿防捲片或調整防捲片時，應非常小心
厚薄不均	--被切片的組織溫度不正確	--選擇正確溫度 等待到達正確溫度
	--切片刀型式不同	--使用正確刀型 (C 或 D 型) 或丟棄式刀片
	--切片刀後結冰	--移除所結之冰
	--旋轉把手速度不正確	--調整轉速
	--切片刀未夾緊	--檢查刀夾
	--標本座未正確夾緊	--檢查標本座夾

問題	原因	解決方法
厚薄不均	--包埋劑落到標本座至使冷凍時標本脫落	--包埋劑應放置於室溫之標本座上，再移入切片冷凍房再將標本置於其上以快速冷凍槌壓住、冷凍
	--切片刀已鈍	--使用不鈍的部份切或更換切片刀
	--間隙角度不正確	--設定正確間隙角度
	--標本太乾	--準備新標本
組織黏住防捲片	--防捲片不夠冷或調整不正確	--將防捲片冷卻或調整 --清除靜電
切片破裂	--溫度太低	--設定適當溫度
	--刀子鈍髒或結冰	--更換刀片
	--防捲片前緣受損	--更換防捲片
	--部份標本過硬	--如果允許，切薄片
	--刀面髒	--清潔

問題	原因	解決方法
標本頭前進不順	--切片機潮濕	--移出切片機並乾燥之
	--切片機故障	--請維修人員修理
標本座無法移出	--快速冷凍檯結霜	--以酒精清潔或加熱除濕
冷凍切片機不動作	--電源未接上	--檢查插頭
	--自動跳脫未回復	--檢查自動跳脫
無法自動切片	--腳踏板未接上	--檢查腳踏板接頭
	--自動跳脫未回復	--檢查自動跳脫
	--機件故障	--召維修人員修理
溫度不正常	--冷房漏水孔未堵住	--堵住漏水孔
	--壓縮機故障	--召維修人員修理
	--絕緣不良	--召維修人員修理

溫度選擇表（℃，零下）

組織	10-15	15-25	25-50
副腎	*	*	
骨髓		*	
腦	*		
膀胱		*	
乳房-肥胖的			*
乳房-稍肥胖的		*	
軟骨	*	*	
子宮頸		*	
脂肪			*
心臟及導管		*	
腸		*	
腎		*	
喉		*	
嘴唇	*	*	
肝臟		*	
肺臟		*	
淋巴		*	
肌肉		*	

組織	10-15	15-25	25-50
鼻子		*	
胰		*	
前列腺		*	
卵巢		*	
直腸		*	
皮(肥胖者)			*
皮(汲有肥胖者)		*	
脾臟	*	*	
睪丸	*	*	
甲狀腺		*	
舌頭		*	
子宮刮除術	*		

請注意：溫度選擇表，推薦之溫度是基於長期經驗而得供一般參考，任何組織可能需要個別的調整。