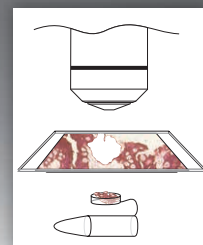
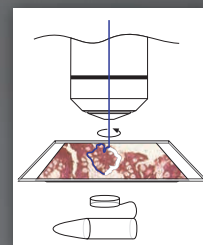
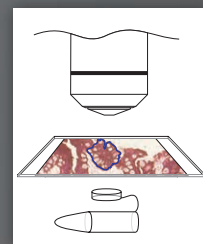


ライカ LMD6 ライカ LMD7

レーザー マイクロダイセクション システム

完璧なダイセクションへ



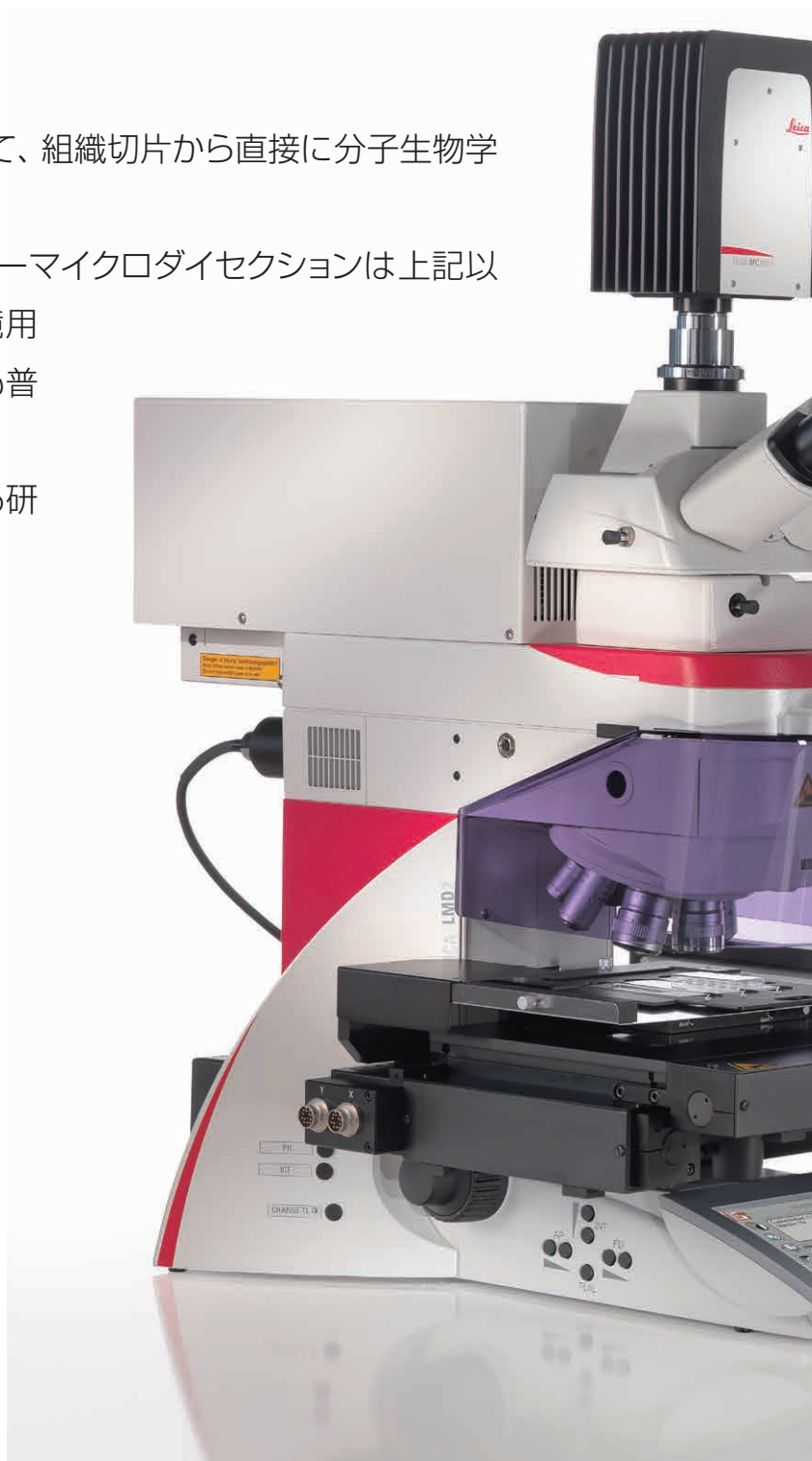
ライカ レーザーマイクロダイセクション システム

レーザーマイクロダイセクション (LMD) は精密な試料作成技術の一つです。多くの研究分野において、出発材料の特性が明確であることがダウンストリーム実験のための基本的な要求条件です。ゲノミクス、トランスクリプトミクス、マイクロアレイ、次世代シーケンシング、バイオチップ、プロテオミクスなどの分野では、この高精度技術を用いて有意義な分析が行われています。

ライカ LMD システムは UVレーザーを用いて、組織切片から直接に分子生物学用試料を作成します。

革新的な方法と装置の開発により、レーザーマイクロダイセクションは上記以外にも生細胞研究、環境研究、電子顕微鏡用のカバーガラスのエッチングなどの用途にも普及しています。

現在では従来にも増して、インパクトのある研究のために LMD が利用されています。



最高のソリューション

ライカ マイクロシステムズの提供する極めて精密かつ選択性の高いレーザーマイクロダイセクションは多様な用途に利用できます。ライカの最高の LMD システムが次のような用途に利用されています。

- ＞ コンタミネーションフリーでの細胞および細胞群の迅速かつ精細な回収
- ＞ ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、メタボロミクス、生細胞アプリケーションのための高性能ダイセクション
- ＞ 生細胞やその他の試料へのレーザー操作
- ＞ 顕微鏡観察用試料 および 試料ホルダーのマーク & トラック

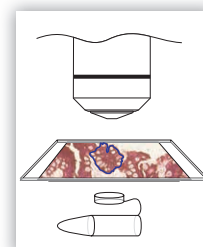
最適な回収方法

ライカ LMD6 および LMD7 は極めて穏やかな条件で試料の操作、カッティング、回収が行える下記のレーザー技術を使用しています。

- ＞ 光学系による最高精度のレーザービームの走査 (特許取得済み*)
- ＞ ペンスクリーンを用いて生体試料をリアルタイムで直接カッティング
- ＞ 落下方式によるサンプル回収 (特許取得済み**)
- ＞ LMD 専用対物レンズ採用
- ＞ 微細な調節可能なレーザー設定
- ＞ フル電動制御ハイエンド ライカ DM6 B 研究用正立顕微鏡
- ＞ ユーザーフレンドリーな操作性

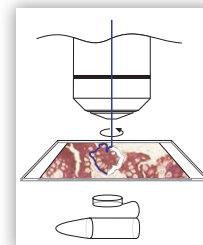
* 特許 EP 1276586、US 7035004、JP 3996773

** 特許 DE 10057292、EP 1207392、JP 3641454

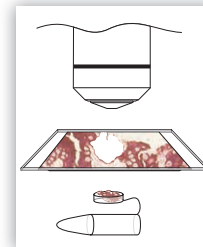


ライカ LMD の工程
(上から下へ)

手順 1: 必要な部分の領域を定めます。



手順 2: 光学系を操作し、カットラインに沿ってレーザービームを移動します。



手順 3: カッティングされた領域は落下方式で回収されます。



完璧なダイセクション

不均質な試料から必要な領域のみを識別、非接触かつコンタミネーションフリーでサンプルを回収。ライカ LMD6 および LMD7 システムを用いればこれが可能になります。このシステムはフル電動制御のハイエンド正立研究用顕微鏡 ライカ DM6 B と UVレーザーが高度に融合しています。

異なるレーザーを用いた 2 種のシステム

ライカは自由に構成できるレーザーマイクロダイセクションシステム 2 種を提供しています。ライカ LMD6 (下図左) と ライカ LMD7 (下図右) です。いずれもハイエンドの正立研究用顕微鏡 (ライカ DM6 B) をベースとしています。このフル電動制御の研究用顕微鏡の高度な機能に加えて、ライカ LMD システムはコンタミネーションフリーの非接触法で試料を分離・回収することができます。

両システムの違いはレーザーの出力と柔軟性にあります。いずれのシステムでも、レーザーの設定は用途に完全にマッチするように調節することができます。

- ＞ LMD6 は標準的なレーザーマイクロダイセクションに最適で、たとえば軟組織から単一細胞あるいは腫瘍を確実に分離することができます。
- ＞ LMD7 は高出力のレーザーを備え、かつレーザーパルス周波数およびレーザーヘッドの出力を調整する機能を持ち、骨、歯、木、植物組織などの硬質組織あるいは極小領域の染色体のダイセクションを可能にします。

レーザーの比較

	LMD6	LMD7
波長	355 nm	349 nm
パルス周波数	80 Hz	10 ~ 5,000 Hz
パルス幅	< 4 ns	< 4 ns
最大パルスエネルギー	70 μ J	120 μ J



レーザーマイクロダイセクションの利点

ライカ レザーマイクロダイセクション

シンプルかつ直観的でユーザーフレンドリーな操作性と、
高速かつ高精細な試料カッティング

> 光学系によるレーザービームの走査*：

- 高速、精密かつ信頼性の高いレーザーカッティング
- 試料を固定した状態でリアルタイムにカッティング
- タイムラプス動画による便利なデータ記録

> 重力落下方式による試料の回収：

- 簡便、ダメージフリー、非接触、コンタミネーションフリー
- 標準的な消耗品へ回収可能
- 試料およびアプリケーションの多様性
- 無制限の回収量

> 調節可能な高出力レーザー：

- 様々な試料や用途に柔軟に対応
- レーザーの出力、絞り、速度、周波数（ライカ LMD7 のみ）、焦点の調節が可能

> 蛍光機能を内蔵：

- LMD 専用に設計された蛍光フィルターキューブ
- 明視野観察下・蛍光観察下で試料のカッティングが可能

> 正立顕微鏡：

- フル電動制御のハイエンド ライカ DM6 B 研究顕微鏡の利点をすべて活用
- 重力以外の力を使わず安全・スマートに対象領域を回収
- LED とハロゲンランプのいずれの照明も選択可能

> LMD 専用に設計された対物レンズ：

- 可能な限りの高レーザー出力を保証
- LMD 専用対物レンズ群：5x、6.3x、10x、20x、40x、63x、150x
- スライドを迅速に一望できる 1.25x レンズ
- 追加アプリケーション向け対物レンズ（LMD の用途以外：たとえば FISH（蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション）用 100x 油浸レンズ）

> 使いやすいソフトウェア

- 簡単かつ時間短縮可能なワークフローによるシステム機能
- 自動パターン認識（AVC）、画像の自動取得（LIF Database）用オプションモジュール

> 使用可能な ライカ カメラの選択

- 用途に適したカメラを選択可能
- カメラ 2 台まで設置可能（例：蛍光用と明視野用）



* 特許 EP 1276586、US 7035004、JP 3996773

** 特許 DE 10018255、JP 4236844

消耗品

ライカ マイクロシステムズは、レーザーマイクロダイセクションの種々の用途に適合する消耗品として、フォイル付きスライド、フォイル付きフレーム、ibidi®スライド、培養ディッシュを提供しています。自家蛍光のないスライドが必要、DIC（微分干渉コントラスト）で試料観察したい、細胞培養に適したフォイル面が必要—いずれの場合に対しても ライカ マイクロシステムズは目的に応じた最善のソリューションを提供します。

ダイセクション用推奨品目

- > フォイル付きスライド (PEN)
フォイル付きスライド (PPS)
- > フォイル付きフレーム (PEN、PPS、PET、POL)
蛍光用フォイル付きフレーム
- > フォイル付きカバーガラス (PEN)
- > DIRE CTOR™ スライド
- > フォイル付きディッシュ (PEN)
- > フォイル付き ibidi®スライド (18ウェル、PEN 他)*
- > メンブレンリング (PEN)*
- > 一般的なスライドガラス (ドロー+スキャン; アブレーション)
もサポートしています。
- > メンブレンはすべて高い紫外線吸収率を持ちます。

回収デバイス群

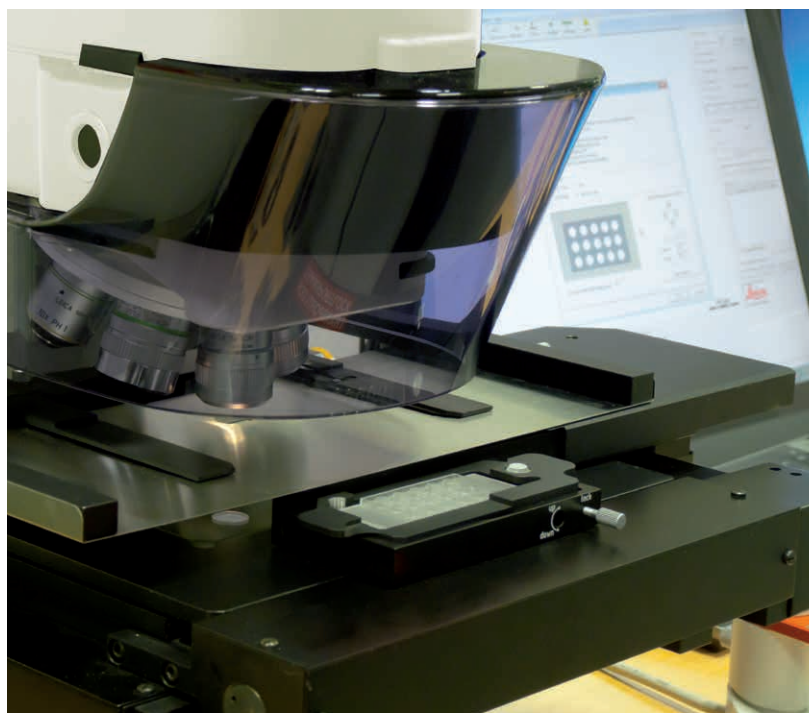
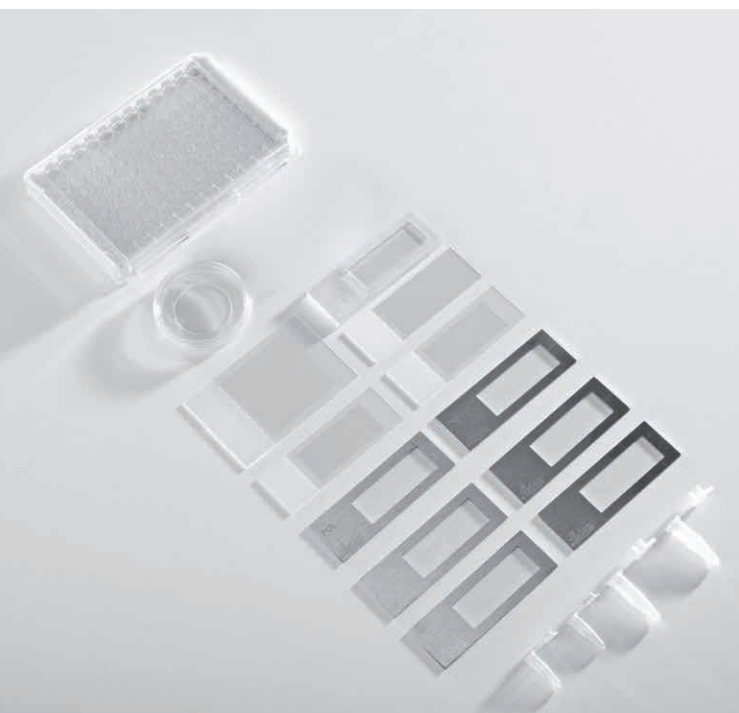
電動およびスキャニングステージ用：

- > 標準 PCR チューブキャップ (0.2ml)
- > 標準 PCR チューブキャップ (0.5ml)
- > 8連ストリップウェル
- > 培養ディッシュ (フォイル付きまたはフォイル無し)

スキャニングステージ専用：

- > 8連ストリップキャップ (8連ストリップウェルおよび 96ウェルプレートに対応)
- > ibidi®スライド
- > マルチウェルスライド (最大寸法 76×26mm)

* スタックダイセクションおよび回収に適します。



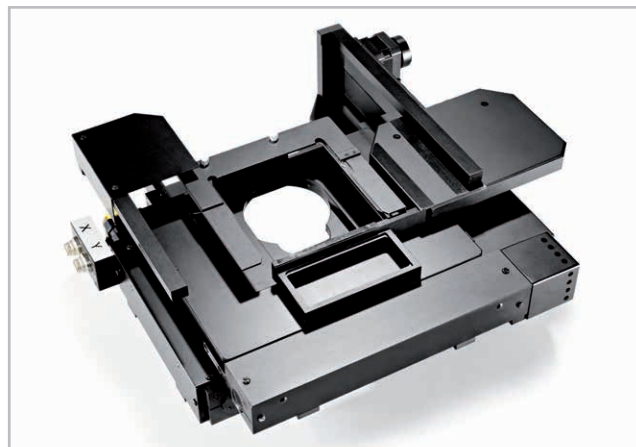
LMDシステム用ステージ* およびホルダー



電動ステージ

> スライド 1 枚および 培養ディッシュ用

* 特許 DE 10018251、US 6907798、JP 4146642



スキャニングステージ

> 各種試料ホルダー および 回収デバイスに対応

> 高速・高精度

ホルダー



スライド
(25×76 mm)
1枚用ホルダー
11532732



大型スライド
(50×76 mm) 用
ホルダー
11505214



PE N フォイル底
ディッシュ用
ホルダー
11505257



スライド
(25×76 mm)
3枚用ホルダー
11505226

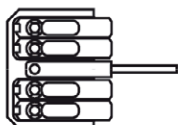


大型スライド
(50×76 mm)
および
PE N フォイル底
ディッシュ用ホルダー
11505227

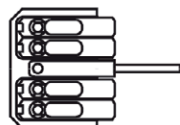


18 ウェル ibidi®
スライドおよび
スライドスタック用
ホルダー
11505255

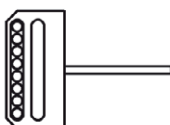
コレクター



チューブキャップ用
レバー付き
コレクター**
(4×0.2 ml
PCR チューブ)
11505131



チューブキャップ用
レバー付き
コレクター**
(4×0.5 ml
PCR チューブ)
11505130



8連ウェルストリップ
チューブ用
コレクター
(大容量)
11505258



チューブキャップ用
コレクター
(4×0.2 ml
PCR チューブ)
11505229



チューブキャップ用
コレクター
(4×0.5 ml
PCR チューブ)
11505228



8連ストリップチューブ、
8連ストリップキャップ、
スライド
(マルチウェルスライド、
ibidi® など)、
チャンバースライド用
ユニバーサル
コレクター
11505276

** 特許 DE 10057292、EP 1207392、JP 3641454

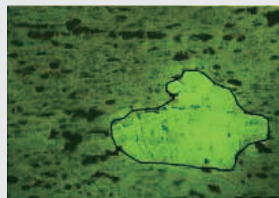
ユニークな蛍光観察下での同時カッティング

蛍光イメージングとレーザーマイクロダイセクションを同時に実行できることがますます重要になっています。ライカ独自の特許取得済みのフィルターターレットシステム*を用いた蛍光観察下でのカッティングは、ライカ LMD システムの優れた特徴の一つです。蛍光免疫染色で標識した組織切片、あるいは蛍光タンパク質を発現した生細胞を観察しカッティングしたいときなど、ライカ LMD6、LMD7 ならば標準的な手順で処理できます。さらにフル電動制御の蛍光フィルターターレットによりブリーチング効果が最小限に抑えられ、作業が速く進められるだけでなく、必要に応じて実験条件の正確な再現が可能です。

実例

師部組織と石細胞（植物）

領域選択

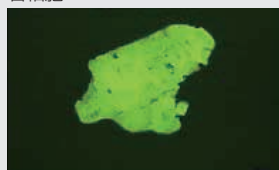


カッティング



チューブ A 内の回収領域

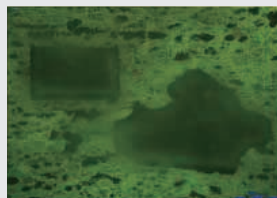
石細胞



領域選択



カッティング



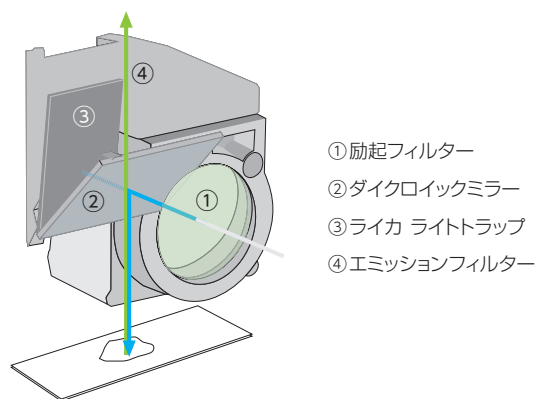
チューブ B 内の回収領域

他の師部組織



LMD 蛍光フィルターシステム

ライカ LMD 専用蛍光フィルターシステムは絶えず拡大しています。この LMD フィルターシステムは ET シリーズに用いられているもので、スパッタリング処理されており、励起・吸収スペクトルのエッジは極めてシャープです。



新たに開発された下記の LMD 用蛍光フィルターシステムでは、蛍光下でのユニークな同時カッティングが可能です。

- > ライカ LMD-BGR
- > ライカ LMD-Alexa594
- > ライカ LMD-GFP band pass
- > ライカ LMD-CFP
- > ライカ LMD-GFP long pass
- > ライカ LMD-GFP/Cy3
- > ライカ LMD-Cy3
- > ライカ LMD-YFP
- > ライカ LMD-DAPI
- > ライカ LMD-Cy5

* 特許 EP 1719998、US 7485878

レーザーマイクロダイセクション専用対物レンズ

ライカ マイクロシステムズは ライカ LMD システム専用の一群の乾燥光学系対物レンズを提供しています。これらの LMD 専用対物レンズ（ライカ SmartCut シリーズ、5×～150×）の特徴は、UV 透過率を可能な限り高めたことと、優れたイメージング性能です。

対物レンズ	倍率	NA	WD (mm)	BF、POL	FL	DIC、PH	LMD	CI	SOV
HCX PL FLUOTAR **	1.25x	0.04	3.7	+	+	—	—	—	+++
PLAN **	4x	0.1	26.2	+	+	—	+	++	+++
UVI	5x	0.12	11.7	+	+	—	+++	++	++
HI PLAN	6.3x	0.13	12.8	+	+	—	+++	++	++
HCX PL FLUOTAR	10x	0.3	11.0	+	+	+	+++	+	++
UVI	10x	0.25	2.9	+	+	+	+++	—	+
HCX PL FLUOTAR	20x	0.4	6.9	+	+	+	+++	+++	+
HCX PL FLUOTAR	40x	0.6	3.3-1.9	+	+	+	+++	—	—
HCX PL FLUOTAR	63x	0.7	2.6-1.8	+	+	+	+++	—	—
HCX PL FLUOTAR	150x	0.9	0.25	+	+	+	+++	—	—

Mag.; 倍率、NA; 開口数、WD; 作動距離、BF; 明視野、POL; 偏光、FL; 蛍光、DIC; 微分干渉コントラスト、PH; 位相コントラスト、LMD; レーザーマイクロダイセクション、CI; キャップ内観察、SOV; 試料オーバービュー
 += 適 — = 不適 ++ = 専用 +++ = 最適

** シリーズ外の推奨製品

その他の対物レンズ

ライカ DM6 B には LMD 用対物レンズだけでなく、特定の用途（たとえば FISH）に合わせて他の ライカ対物レンズを用いることもできます。上の表で 1.25x 対物レンズは迅速な試料オーバービューに適しており、4x 対物レンズはキャップ内の観察に適しています。

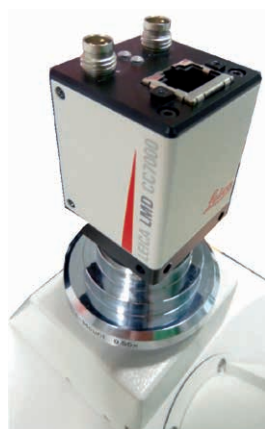


カメラの選択

透過光、蛍光、またはその両方—ライカ LMD システムとソフトウェアは、様々な条件に対応する各種デジタルカメラをサポートしています。

お奨めは LMD 専用の新しい ライカ LMD CC7000 デジタルカラーカメラです。この ライカ LMD CC7000 (#11501478) は極めてコンパクトな GigE カメラで、120 万画素 CCD を搭載しています。ライカ LMD システム専用の新しい ライカ LMD CC7000 のスピードを体感してください。

デジタルカラーカメラ ライカ LMD CC 7000



ライカ顕微鏡用カメラ各種が利用できます。



左：1 台のカメラを装着した ライカ LMD6：
超高速デジタルライブ画像用 ライカ LMD CC7000

右：2 台のカメラを装着した ライカ LMD7：
超高速デジタルライブ画像用 ライカ DFC7000 T と
高度な蛍光観察用 ライカ DFC365 FX。

任意のカメラ 2 台を組み合わせることもでき、
各種用途に対応できる多機能ツールが実現します。

ライカ LMD6 に 2 台のカメラを装着するには
別のセットアップ方法が必要です。



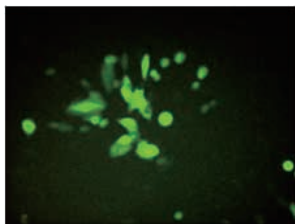
生細胞カッティング用アクセサリ

ライカ LMD システムはどのような生細胞関連用途にも最適です。メンブレンリングを用いた「サンドウィッチ法」あるいは ibidi® スライドの滅菌マイクロチャンバー*を利用すれば、無菌条件下での生細胞のカッティングが容易にできます。LMD システムには恒温チャンバーと温度制御装置を装備することも可能です。タイムラプス動画機能とプリズムによるレーザービーム走査との組み合わせは、レーザー操作実験に最適です。細胞または細胞集団の回収は落下方式で行われ、重力以外の力を加えたり特別の操作をしたりする必要がなく、培地に直接回収して直ちに再培養を行うことも、あるいは容器に回収してダウンストリーム分析に用いることもできます。

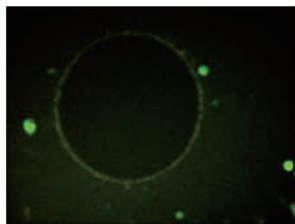
応用例：蛍光標識した形質転換細胞

ヒトサイトメガロウイルスに感染したヒト線維芽細胞 (HCMV-GFP 融合タンパク質)

(Courtesy of Margarete Digel and Dr. Christian Sinzger, Institute of Medical Virology, UKT University of Tübingen, Germany)



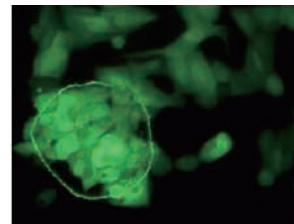
マイクロダイセクション前



マイクロダイセクション後



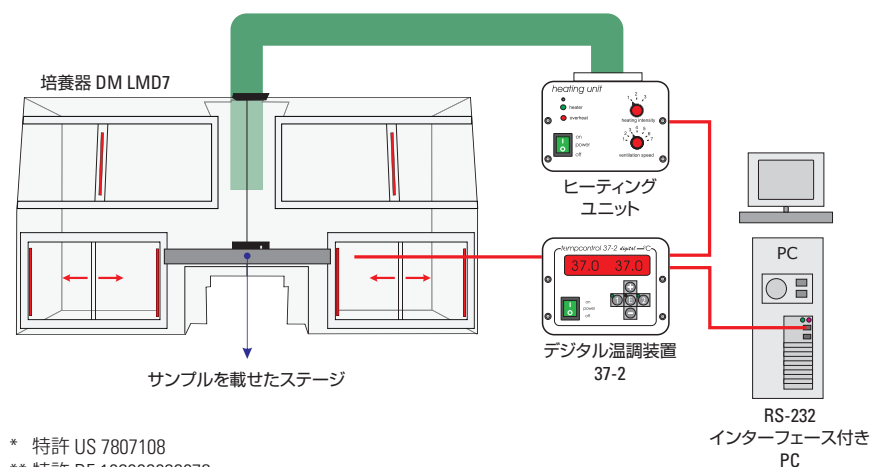
回収された領域



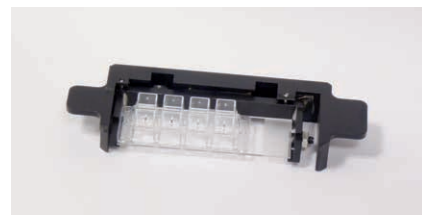
再培養 4日目

従来法では感染細胞の選別と希釈系列の作成に2ヶ月を要します。

ライカ LMD 恒温チャンバーと環境制御



生細胞関連用途の各種スライドを装着したユニバーサルホルダー (特許取得済み **)



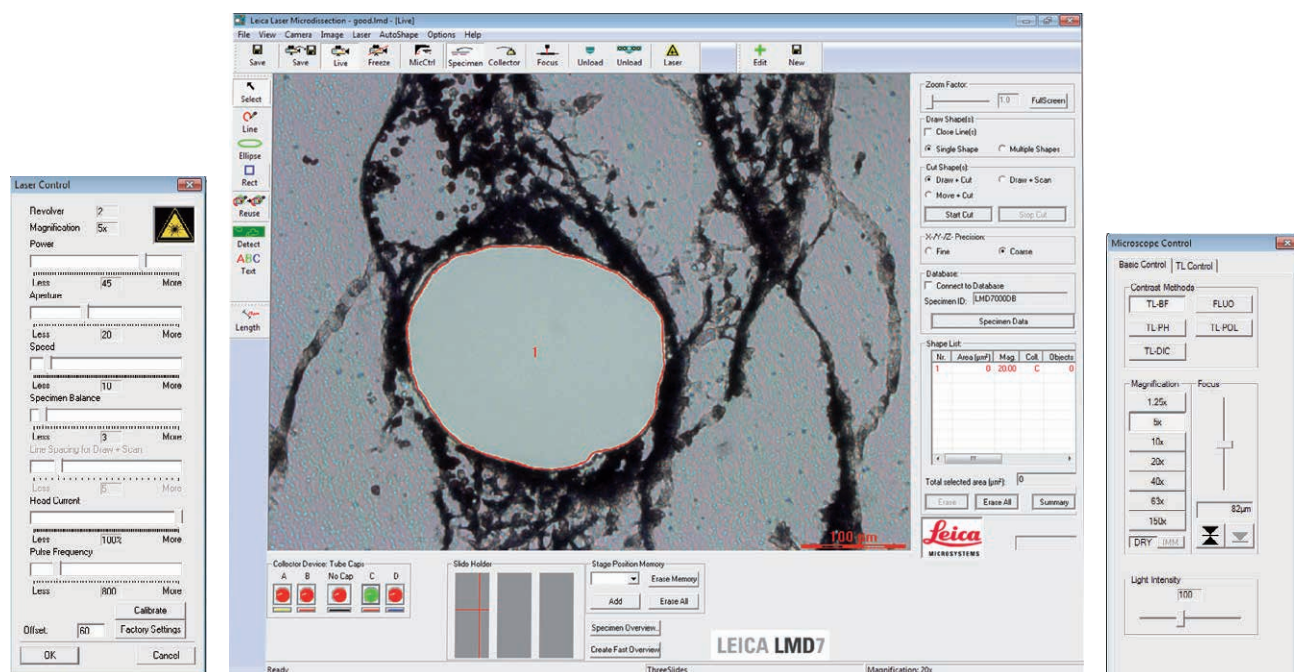
* 特許 US 7807108

** 特許 DE 102009029078

使いやすいソフトウェア

ライカ LMD ソフトウェアは、レーザーマイクロダイセクションまたはレーザー操作を完全に行うために必要な機能を提供します。すべてのレーザー条件を完全に制御できるため、形状や大きさに関わらず試料に適合した調節が可能です。

種々のドローイングツールとカッティングモードにより実験が改善できます。直観的なユーザーインターフェースと高速のシステムにより、全自動の蛍光、DIC、PH、POL などの実験が容易になります。



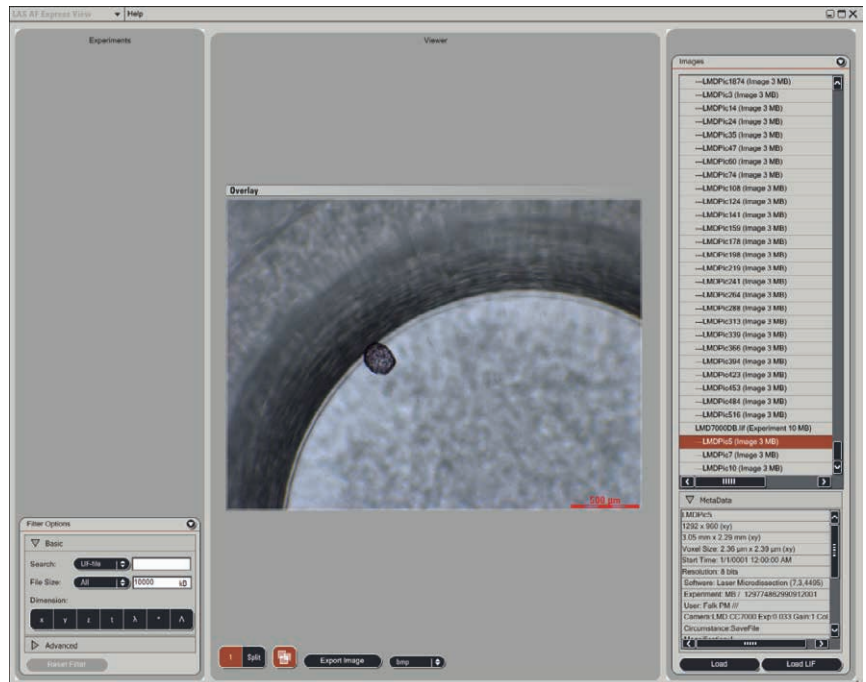
下記のような多くの特徴が LMD の基本ソフトウェアに既に組み込まれています。

- > 照明法の選択、カメラ制御、試料およびコレクターホルダーを含む顕微鏡の完全制御
- > 多様な種類の試料に対応できるレーザー設定の完全制御
- > ナビゲーションのための試料オーバービュー像
- > タイムラプス動画機能。レーザー照射中もステージ位置は固定されています。
- > 大きさ・形状の異なる試料のダイセクションと回収、そのための種々のカッティングモードとドローイングツールを完備
- > 注釈および長さ測定ツール
- > 画像取得機能
- > 実験を迅速容易に開始できるアプリケーション設定の保存と復帰

ソフトウェア モジュール

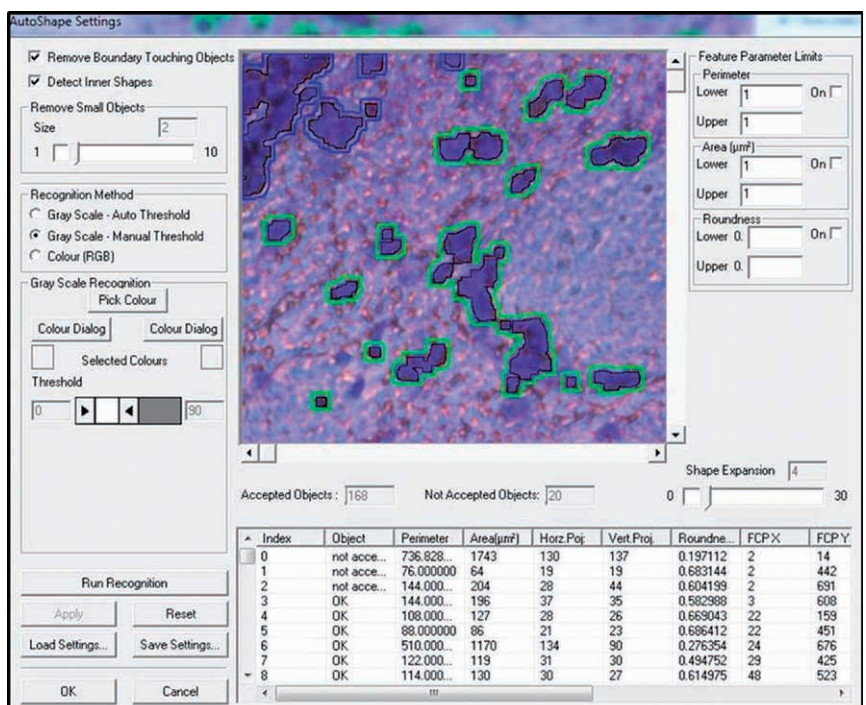
すべての情報を保存：
ライカ LMD データベース

- ＞ カッティング前後およびキャップ内観察後に画像を自動保存
- ＞ すべての実験パラメータへの完全なアクセス
- ＞ データベースの LIF ファイル形式をライカ LAS AF (Leica Applications Suite, Advanced Fluorescence) と共有し画像へのアクセスと処理が可能
- ＞ 汎用画像ファイル形式 (jpg, tif など) でエクスポートが可能



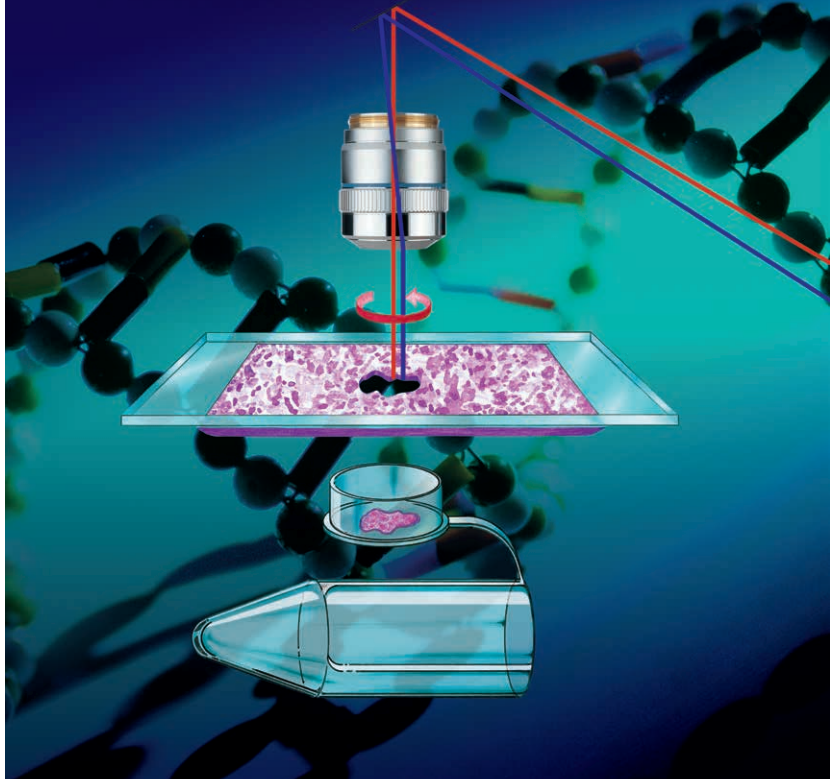
LMD アプリケーションの高速化：
AVC (Auto Visual Control、細胞自動認識*) によるパターン認識

- ＞ カットラインの自動標識により時間のかかる手動選択を回避
- ＞ 自動パターン認識のためのソリューションを内蔵
- ＞ 使いやすいインターフェース
- ＞ どのような試料にも対応可能 (透過光 / 蛍光)
- ＞ 各種の設定を保存・復帰できるオプション
- ＞ 視野を変更しても最高のパフォーマンスが得られるインテリジェントなオートフォーカス



概要

ライカ LMD システムで
最大のインパクトを。



ライカレーザー マイクロディセクション システムの 主な利用分野

- > がん研究
- > 病理学
- > 分子生物学研究
- > 神経科学研究
- > 発生学研究
- > 植物学
- > 科学捜査
- > 生理学研究
- > 臨床医学
- > 薬学研究
- > … ほとんどすべての分野へ

ライカレーザー マイクロディセクション システムの 主な用途

- > 生細胞のクローニング、再培養
- > 生細胞、組織、胚のアブレーションや損傷のタイムラプス動画による観察
- > 血栓形成の誘発
- > 樹脂包埋前の TEM 試料の選別
- > CLEM 法用カバーガラスのエッチング
- > NanoSIMS のサポート
- > … お客様独自のアプリケーションも

10 年以上の経験がもたらす 利点

- > 実績ある ライカ LMD システムの第3世代
- > ワークフローベースの使いやすく強力なソフトウェア
- > 大規模かつ急成長中の学術文献のライブラリ
- > 知識と経験の豊富な ライカのサポート担当技術者

www.Leica-microsystems.com



ライカ マイクロシステムズ株式会社

本社 〒169-0075 東京都新宿区高田馬場1-29-9
大阪セールスオフィス 〒531-0072 大阪府大阪市北区豊崎5-4-9 商業第2ビル10F
名古屋セールスオフィス 〒460-0008 愛知県名古屋市中区栄2-3-31 CK22キリン広小路ビル5F
福岡セールスオフィス 〒812-0025 福岡県福岡市博多区店屋町8-30 博多フコク生命ビル12F
仙台デスク 〒981-3133 宮城県仙台市泉区中央1丁目7-1 地下鉄泉中央駅ビル4F
バックマン・コールター株式会社 仙台オフィス内

Tel.03-6758-5640 Fax.03-5155-4336
Tel.06-6374-9771 Fax.06-6374-9772
Tel.052-222-3939 Fax.052-222-3784
Tel.092-282-9771 Fax.092-282-9772
Tel.022-375-4290 Fax.03-5155-4336

● <http://www.leica-microsystems.co.jp> E-mail: lmc@leica-microsystems.co.jp