

國立陽明大學儀器資源中心

# LEICA CM 3050S

冷凍切片機

中文操作手冊

友聯光學有限公司

地址:台北市基隆路一段 186 號 9 樓之 4

TEL: (02) 2763 9031

FAX: (02) 2763 9102

E-mail : unionopt @ms11.hinet.net

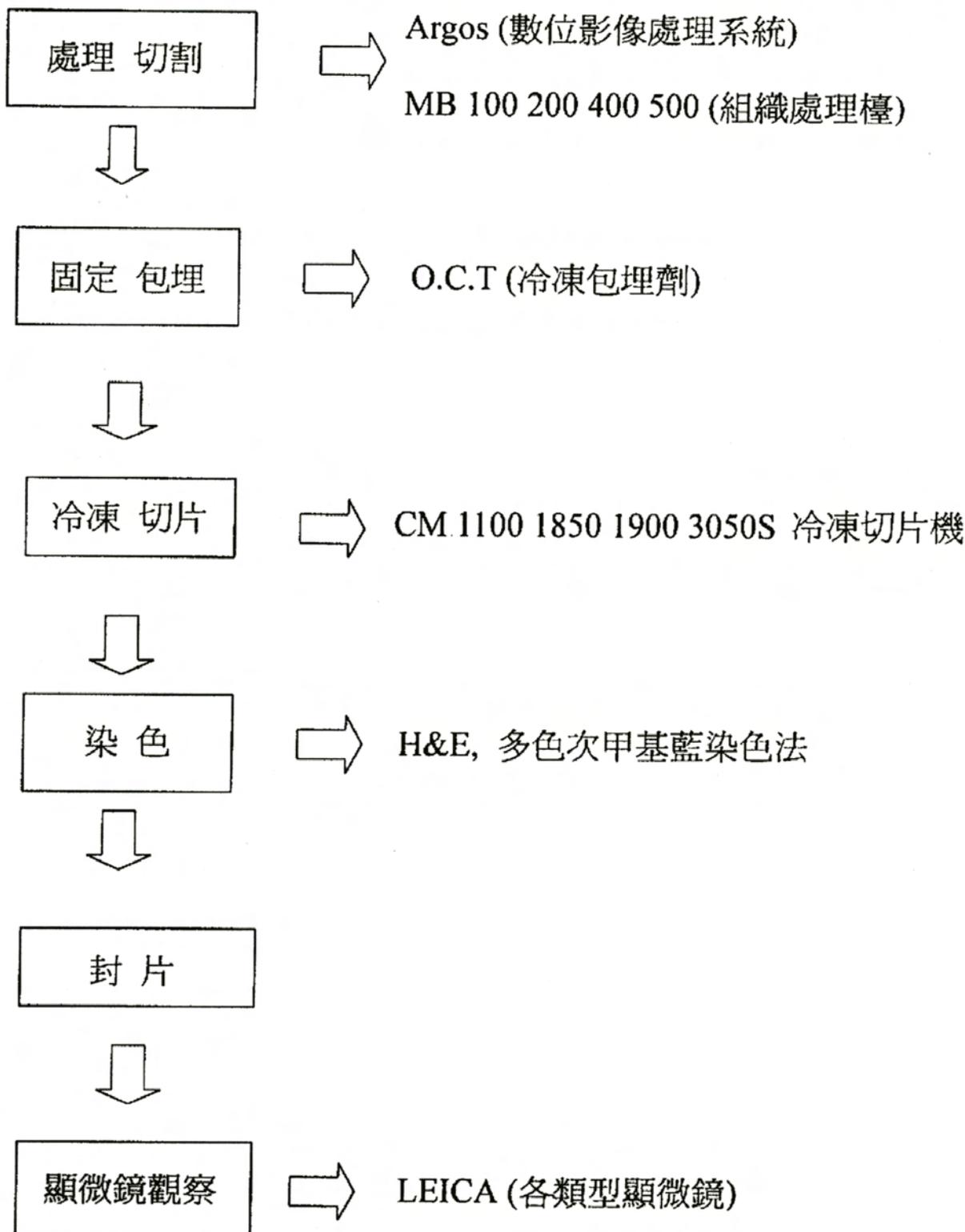
<http://www.unionoptical.com.tw/>

# Cryo Tissue

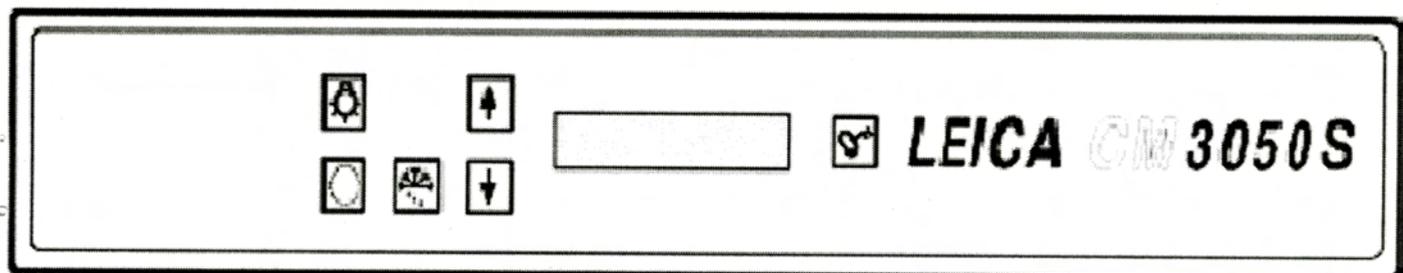
# Leica

MICROSYSTEMS

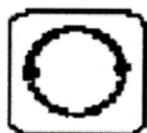
## 冷凍切片組織處理過程



# LEICA CM3050S 面板操作



冷凍操作室照明燈。



程式選擇。



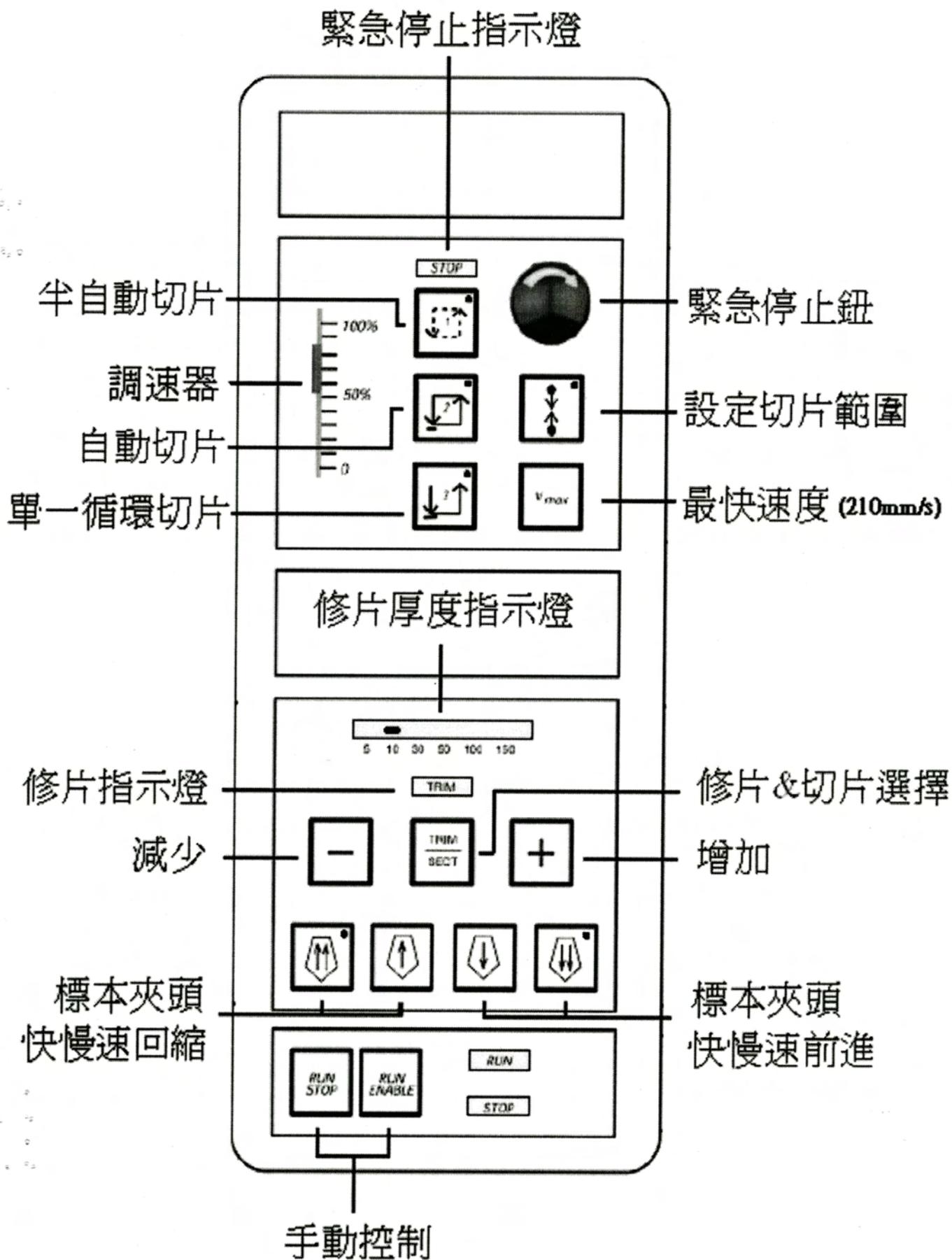
手動除霜開關。



上下鍵。



控制面板鎖鍵。  
(按五秒鐘開鎖或上鎖面板)



# 國立陽明大學儀器資源中心

1. 設定標本夾頭溫度(-10°C~-50°C)。

按  到 

S	E	T	T	E	M	P	O	T	-	-	-	°	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°C~-40°C)。

按  到 

S	E	T	T	E	M	P	C	T	-	-	-	°	C

 在按



調整溫度。

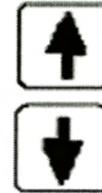
按  關閉冷凍工作間壓縮機。

3. 設定切片數量器(1~999片)。

按  到 

	P	R	E	S	E	T	C	O	U	N	T	E	R		
											d	n	-	-	-

 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 

F	A	S	T	O	B	J	F	R	E	E	Z	I	N
							O	N					

 按  選擇 ON 或 OFF。

5. 設定時間。

按  到 

T	I	M	E							1	0	:	2	3

 按



調整時間。

6. 設定自動除霜時間。

按  到 

D	E	F	R	T	I	M	E					4	:	3	0

 按



調整除霜時間。

## 7. 設定除霜時間 (6~12MIN)。

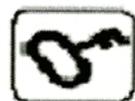
按  到

D	E	F	R	O	S	T	P	E	R	I	O	D		
C	H	A	M	B	E	R	:			0	8	M	I	N

按   調整除霜時間。

電源跳脫

C	T	.	.	°	C	O	T	.	.	°	C		
		P	O	W	E	R	F	A	I	L	U	R	E

按  清除。

## 冷凍狀況

C	T	-	3	0	°	C			O	T	-	3	5	°	C
■	■	H	O	M	E							*	*		

↑ ↑  
1 2

1: 冷凍工作間壓縮機。2: 標本夾頭壓縮機。

切片厚度

C	T	-	3	0	°	C			O	T	-	3	5	°	C
									μ	0	1	0	.	0	

按   調整厚度。

切片計片器

C	T	-	3	0	°	C			O	T	-	3	5	°	C
									Σ	n	0	0	0		

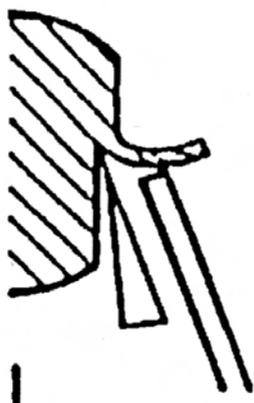
按  清除數量。

切片總厚度

C	T	-	3	0	°	C			O	T	-	3	5	°	C
									Σ	μ	0	0	0	.	0

按  清除。

防捲片使用注意事項



防捲片在刀片後面

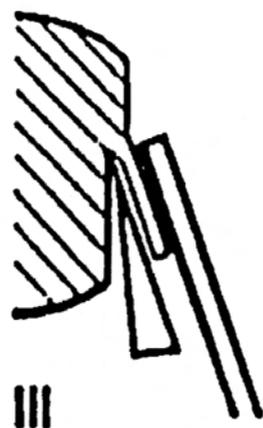
組織切片在防捲片前捲曲



防捲片在刀片前面

則刀片切不到組織

(防捲片易撞壞)



防捲片和刀片在正確位置

# 國立陽明大學儀器資源中心

## 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 

S	E	T	T	E	M	P	C	T	.	.	.	°	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 

S	E	T	T	E	M	P	O	T	.	.	.	°	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°C ~ 2°C)。
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. 先粗切切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 

S	E	T	T	E	M	P	O	T	.	.	.	°	C

 按  鍵, 關閉標本夾頭壓縮機。
2. 將  鍵選擇 

S	E	T	T	E	M	P	C	T	.	.	.	°	C

 調整  設定 (CT) 
- 冷凍操作室溫度, 升至-5°C。
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

# 國立陽明大學儀器資源中心

## 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,切片厚度一般為 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,固定時間為 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為 -22°C 至 -25°C,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,因為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,為雙壓縮機冷凍,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°C 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°C,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°C 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

# 國立陽明大學儀器資源中心

## 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	

# 國立陽明大學儀器資源中心

問題	原因	解決方法
溫度正確，防捲片也對	--切片刀或防捲片骯髒	--清潔刀片及防捲片
齊刀角仍然切片不平整	--防捲片邊緣損壞	--更換防捲片
	--切片刀已鈍	--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	--改用未損壞部分切或更換刀片
	--防捲片，邊緣損壞	--更換防捲片
切片時會震顫	--標本台上之標本冷度不足	--重新冷凍標本台
	--標本台未夾緊	--檢查標本台
	--標本夾未夾緊	--檢查標本夾
	--刀片未夾緊	--檢查刀片夾
	--切片厚度選擇太厚	--重新冷凍標本至標本台
	使標本脫離標本台	
	--標本非常硬	--若可能可增加切片厚度，減少標本表面

# 國立陽明大學儀器資源中心

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
	--旋轆把手速度不正確	--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

# 國立陽明大學儀器資源中心

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
--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

# 國立陽明大學儀器資源中心

---

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

---

# 國立陽明大學儀器資源中心

溫度選擇表 ( °C , 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		*	

# 國立陽明大學儀器資源中心

組織	10-15	15-25	25-50
鼻子		*	
胰		*	
前列腺		*	
卵巢		*	
直腸		*	
皮(肥胖者)			*
皮(沒有肥胖者)		*	
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。