動物組織学実験:ミクロトームの基本操作(パラフィンブロックの薄切法) (部位稼働部等の確認、安全対策、注意事項)

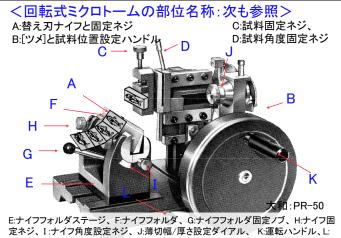
必ず図を参照しながら、下記を確認する。チェックマークを入れる.

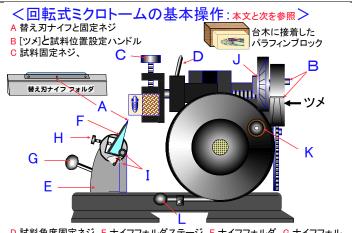
はじめに:□1)ミクロトームはミクロン単位でパラフィンを薄切する精密機械である。よって、 パワープレーは厳禁。□2)極めてシャープなナイフを使用するため安全対策講習を受講していな い者の使用は厳禁。□3)操作担当者以外の者が「横から手を出し手助け」等を行うことは危険で ある。操作を行っている担当者の側には不用意に近接しないこと。操作担当者が機器部位の操作の 全て行うこと。□4) 椅子などに不具合がないことを確認しておこなうこと。

ミクロトームの構造:部位と働き・仕組み>

下記の項目を実物の機器部位で確認し、その構造・役割・仕組みを理解し、チェックマー クを付記する (コメントを記入する)。

- □A 替え刃ナイフと固定ネジ、□B [ツメ]と試料位置設定ハンドル、□C 試料固定ネジ、
- □D 試料角度固定ネジ、□E ナイフフォルダステージ、□F ナイフフォルダ、
- □G ナイフフォルダ固定ノブ、□H ナイフ固定ネジ、 □I ナイフ角度設定ネジ、
- □J 薄切厚さ設定ダイアル、□K 運転ハンドル、□L ハンドル固定ノブ、
- □その他:_





D 試料角度固定ネジ、E ナイフフォルダステージ、F ナイフフォルダ、G ナイフフォル ダ固定ノブ、H ナイフ固定ネジ、」ナイフ角度設定ネジ、J 薄切幅/厚さ設定ダイアル K 運転ハンドル、L ハンドル固定ノブ

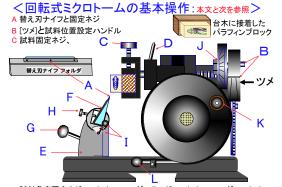
<2. 必読必須:安全対策1:ナイフの取り扱い>

- □1) ナイフの刃(替え刃)を取り付けた状態(むき出し)で機器を放置してはいけない。
- □2) ナイフの刃(替え刃)が付いている状態で、試料/ブロックに触れるや交換などを行ってはいけ ない(行う時はナイフの替え刃を必ず取り外すこと)。
- □3) ナイフフォルダは、刃の有無に関わらずテーブルに放置してはならない(必ずナイフボックス に入れる)。
- □4) 替え刃の交換はミクロトームにフォルダが設置された状態で行う(常に定位置で行う)。

<3. ミクロトームの基本操作法:前の模式図を参照する>

- □1) ミクロトームに替え刃が付いていないことを確認する(A: 替え刃ナイフと固定ネジ)。
- □2) [ツメ]を外し、試料ステージをスタートポジションに戻す(B: [ツメ]と試料位置設定ハンド ル)。
- □3) 試料ブロックの台木を固定する(C:試料固定ネジ)。
- □4) ブロックの切り出し面を考慮し、角度ネジを固定する(D: 試料角度固定ネジ)。

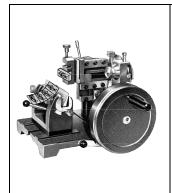
- □5) ナイフステージにナイフフォルダを取り付け、関連するネジで軽く締める。替え刃が既に装着済の時は替え刃を外し、替え刃保存ボックスに入れる。(E: ナイフフォルダステージ)。
- □6) ナイフフォルダの先端部分にパラフィンが付着していないことを確認する(付いてるときは 紙で拭き取る)
- □7) ステージを移動し試料ブロックの前で固定する(F: ナイフフォルダ、G: ナイフフォルダ固定 ノブ)。 刃角度は12度に設定予定。
- □8) 替え刃をセットする(H: ナイフ固定ネジ)。
- □9) 刃角度を12度にセットし関連ネジで固定する(I:ナイフ角度設定ネジ)。右ナイフ固定ねじ 部を12度に合わせ、角度固定ねじを締め、ナイフ固 定ねじを右左/右左の繰り返しで固定する。 <<u>□転式ミクロトームの基本操作:★文と次を参照</u>>
- \square 10) 荒切りのため幅を10 μ mにセットする(J:薄切厚さ設定ダイアル)。
- □11) [ツメ]を外しBの位置設定ハンドルを回し、注意深く試料面をナイフに接近させる。 [ツメ]を戻す。
- □12) 以上の操作を再確認する。固定具は必ず再度締め、緩みの無い状態にセットする。
- □13) 作業スペースを確保し必要物品を配置する(筆、 紙、ナイフボックス)
- □14) 薄切開始 (K:運転ハンドル)。

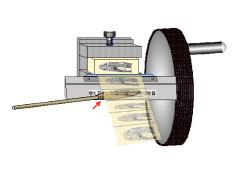


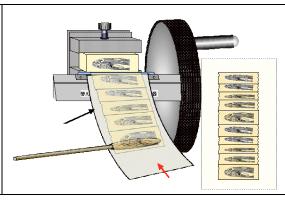
D 試料角度固定ネジ、E ナイフフォルダステージ、F ナイフフォルダ、G ナイフフォルダ 図定ノブ、H ナイフ固定ネジ、1 ナイフ角度設定ネジ、J 薄切幅/厚さ設定ダイアル、K 運転ハンドル、L ハンドル固定ノブ

<4. 薄切操作 1>

- \Box 1) 面出し: $10\,\mu$ mの切り幅で試料を荒切りして「面出し」、 $4\sim6\,\mu$ mにセットし、数枚、捨て切り。
- □2) 本切り:ハンドル回転でリボンが数枚切り出し、そのリボンの端を筆の上に乗せる。
- □3) 試料ブロックが刃先にヒットし「本切りリボン」が切れ出したら、筆を軽く持ち上げ、リボンを金属フォルダから少し浮かせながら切る。必要に応じ、スピードに合わせてリボンを移動させる。
- □4)10枚程度切片リボンができたら、リボンの下に紙を入れ、リボンを回収する(模式図参照)。







<5. 補足: パラフィンリボン作成のコツ>

- □1) ハンドル回転でリボンが数枚切り出せたら、リボンの端を筆の上に乗せてから、本切りに移る。つまり、
- □2) 試料ブロックが刃先にヒットし、リボンが切れ出したら、筆を軽く持ち上げ、リボンを金属フォルダから少し浮かせながら切る。必要に応じ、スピードに合わせてリボンを移動させる。

<6. 薄切操作 2: パラフィンリボンの回収>

□ 1) リボンを長く作ることが目的ではない。リボンが伸びたら適度に紙に回収し、番号を記しておく。

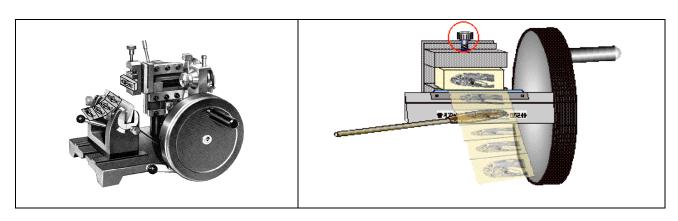
<7. 薄切操作のトラブルシューティング>

<頻度の高い事象>

- □1) 試料面に白濁部分(パラフィンが未浸透部)があると切れない。パラフィン浸透に戻る。
- □2) 上図の固定部分(赤丸)の締めが弱い。確認する。
- □3) リボンの縦割れ:替え刃のウラにパラフィンが付着している。又は刃こぼれしている。→替え刃を取り外し掃除する。替え刃の固定位置を移動、必要に応じ交換する。
- □4)シワシワになる:息を吹きかけながら進展速度に合わせて筆でリボンを動かす。

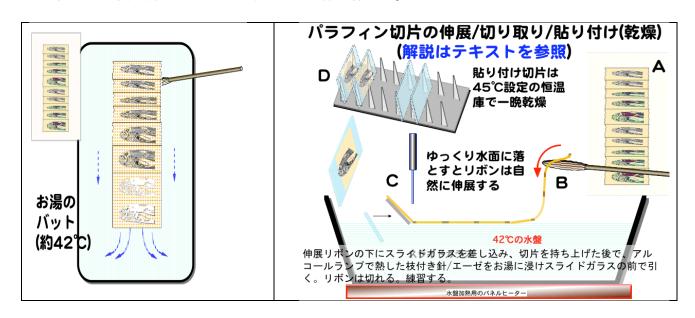
<8. 薄切伸展のコツ:加湿器と息かけ法>

- □1) パラフィンは静電気を生じないが、金属刃で生体試料は薄切する瞬間に静電気が生じる。この静電気がシワシワの原因である。
- □2)よって、静電気除去のため専門の加湿器を用いるが、無いときには「息をハーと吹きかける」。
- □3) 1枚づつ「息を吹きかける」、筆を上手に使う。



⟨パラフィンリボン/連続切片の伸展と貼り付け:お湯の温度は 42℃くらい>

- □1) 筆などで静かにリボンを水面に下げる。リボン先端がお湯に接するとリボンは自然に伸展する(はず)
- □2) その速度に合わせリボンを下げると全体が伸びる。



ミクロトーム操作には段階的・連続的に操作工程の確認が不可欠である。首尾よく進めるには経験 も必要。