



| | |
|--|-----------------|
| Instruction | I_PHIV_MIC_0007 |
| Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000 | A 12/05/14 |

| | | | |
|-------------------------------------|---|-----------------------------|----------------------|
| Objet | Guide d'utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000 | | |
| Destinataire (s) | MRI users | | |
| Responsables | RESP MRI PHIV | | |
| Historique des modifications | | | |
| <i>Auteur</i> | <i>Numéro de version</i> | <i>Date de modification</i> | <i>Modifications</i> |
| Lartaud Jublanc | A | 14/05/14 | Création |
| | | | |

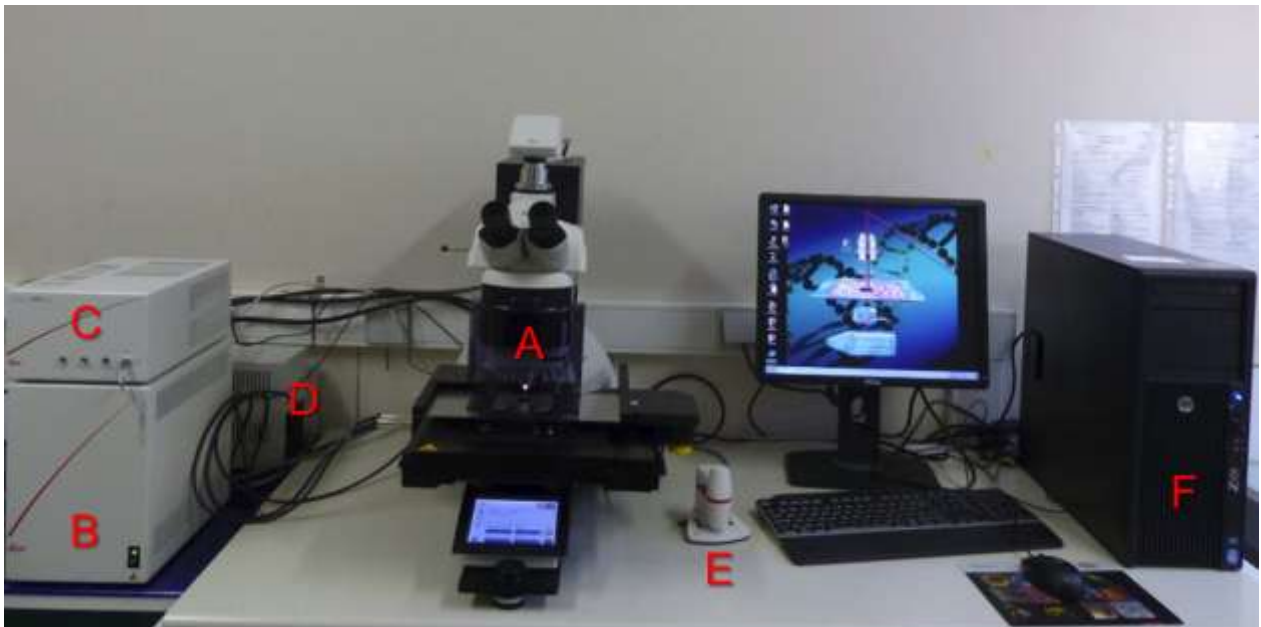
| | | |
|------------------|---------------------|--------------------|
| Rédacteur | Vérificateur | Approbateur |
| Lartaud Jublanc | | |



| | | |
|--|--|--|
| | | |
|--|--|--|

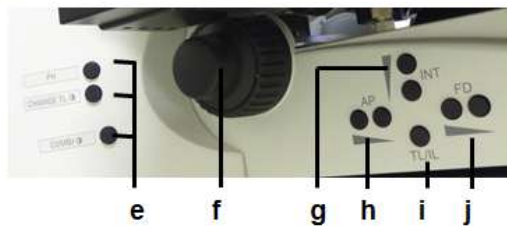
Sommaire

1. Description du système
2. Préliminaires sur la préparation des échantillons et le choix des supports
3. Procédure d'allumage
4. Mise en place sur la platine des échantillons et des réceptacles
5. Visualisation et dessins de ROI
6. Paramètres de coupe
7. Vérification
8. Sauvegardes des images et des configurations
9. Video



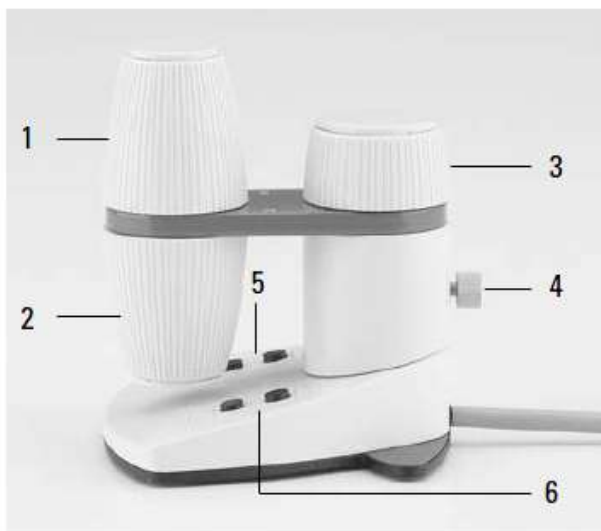
- A- Statif microscope
- B- Alimentation externe CTR6500 pour le microscope
- C- Alimentation externe du laser LMD7000
- D- Alimentation de la lampe pour la fluorescence
- E- Module de télécommande Smart Move (Axes x,y,z)
- F- Station informatique

1. Description du système



- a- Tige de sélection Oculaires / Caméra
- b- Capot de protection UV
- c- Tourelles des objectifs
- d- Platine motorisée
- e- Touches de fonctions réglables
- f- Bouton de mise au point
- g- Luminosité
- h- Diaphragme d'ouverture
- i- Commutation lumière transmise / fluo
- j- Diaphragme de champ
- k- caméra
- l- Laser
- m- Fibre optique lumière fluo
- n- Lampe halogène

SmartMove

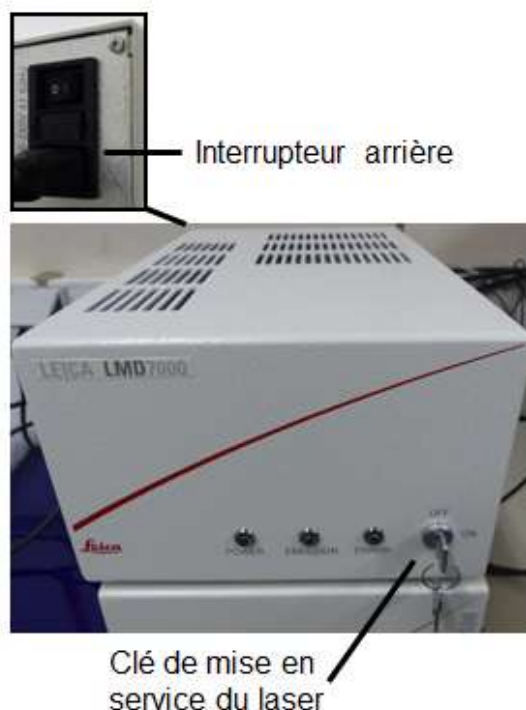


- 1 Déplacement en direction y
- 2 Déplacement en direction x
- 3 Réglage de la mise au point z
- 4 Réglage individuel de la hauteur du bouton
- 5 Changement d'objectifs
- 6 Mise au point rapide ou précise

Alimentation EL6000 pour la fluorescence

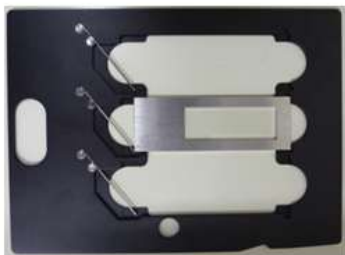


Alimentation laser LMD7000



Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000

Supports d'échantillon



Pour 3 lames



Pour 1 lame large
ou une boîte de Petri



Pour une lame Ibidi

Supports de réceptacles



Pour 4 tubes PCR



Pour barette 8 bouchons



Pour barette de tubes

2. Préliminaires sur la préparation des échantillons et le choix des supports

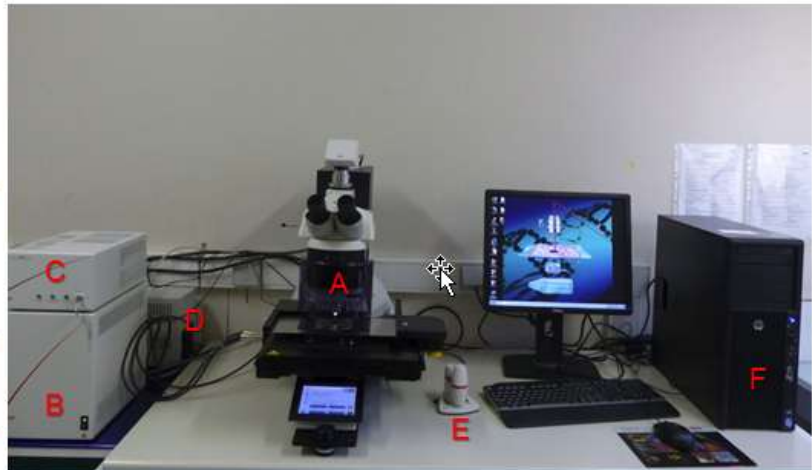
3. Procédure d'allumage

1 Lampe pour la fluo (D)

2 Dans l'ordre :
-Microscope (B)
-Laser (C) interrupteur à l'arrière
puis clé en façade
-Ordinateur (F)

3 Ouverture de session MRI

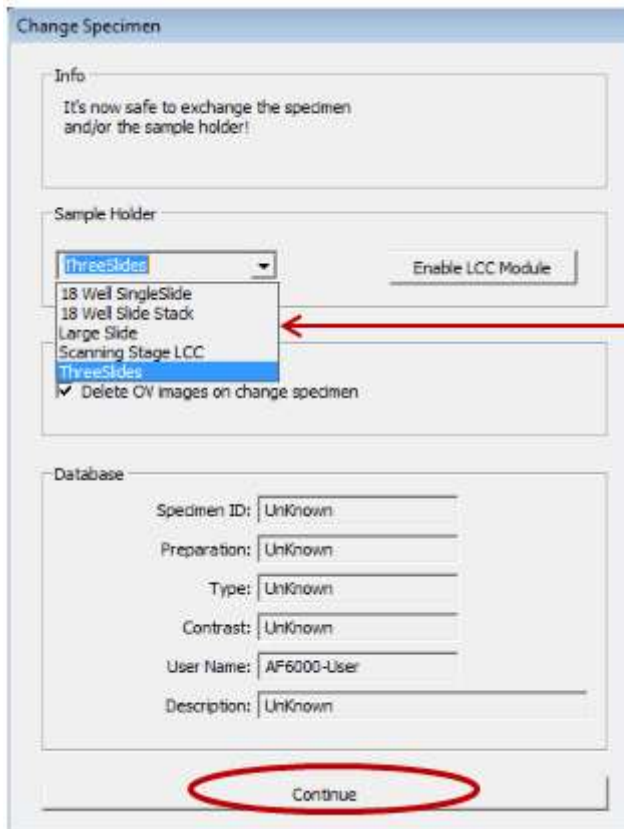
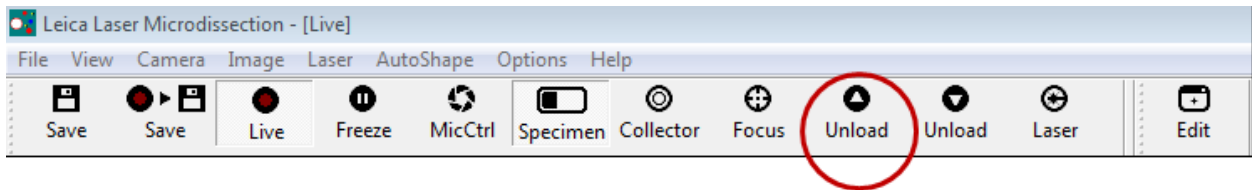
4 Ouverture du logiciel





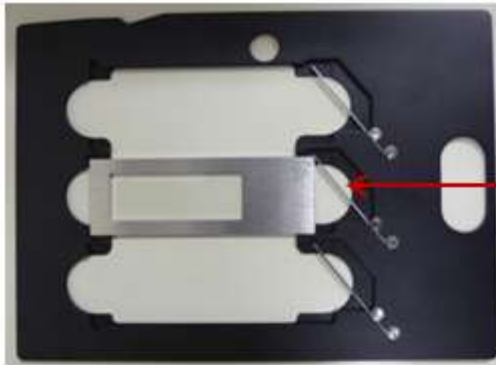
4. Mise en place sur la platine des échantillons et des réceptacles

Supports d'échantillons

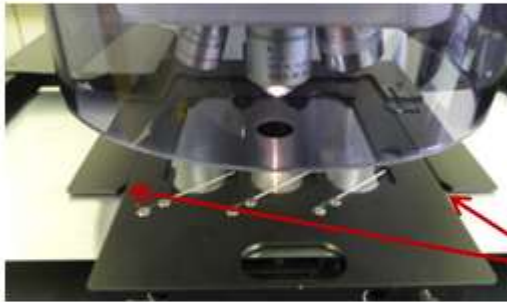


Choix du support

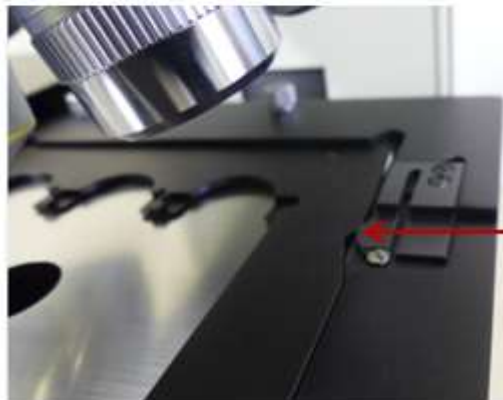
Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000



Lames à plat
maintenue par le ressort



Glisser le support sur les rails

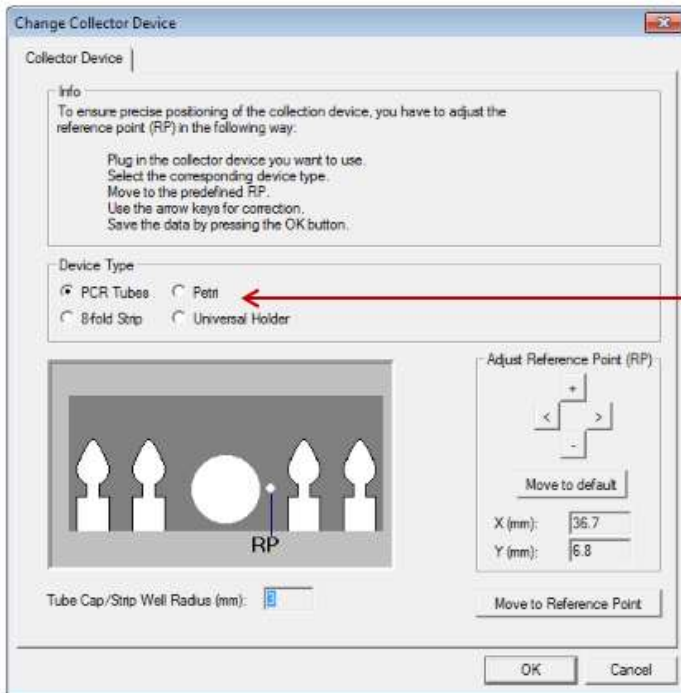


Jusqu'au clic du coin



Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000

Supports de réceptacles



Choix du support

Pour les tubes PCR



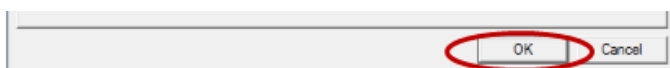
Coincer le capuchon fermement



Rabattre le tube et le coincer dessous



Mise en place du support



Centrage sur le Point de Référence (RP)

The screenshot shows the Leica Laser Microdissection software interface. The 'Unload' button in the top toolbar is circled in red. A dialog box titled 'Change Collector Device' is open, displaying instructions for adjusting the reference point (RP). The dialog box includes a 'Device Type' section with radio buttons for 'PCR Tubes', 'Point', 'Fold Strip', and 'Universal Holder'. Below this is a diagram of a collector device with a central 'RP' (Reference Point) marked. To the right of the diagram are 'Adjust Reference Point (RP)' controls, including a crosshair and numerical input fields for X (mm) and Y (mm). The X (mm) field shows 56.7 and the Y (mm) field shows 6.8. Below these fields are buttons for 'Move to default' and 'Move to Reference Point'. Two red arrows point to these controls: one to the 'Adjust Reference Point (RP)' controls and another to the 'Move to Reference Point' button. The text '2 Centrage du point' is next to the first arrow, and '1 Aller au point de référence' is next to the second arrow.

5. Visualisation et dessins de ROI

Microscope

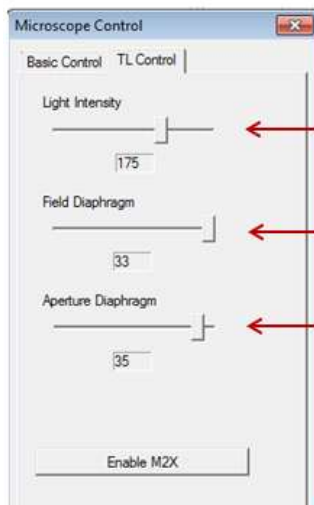
The screenshot shows the 'Leica Laser Microdissection - [Live]' software interface. The main menu includes File, View, Camera, Image, Laser, AutoShape, Options, and Help. The toolbar contains icons for Save, Live, Freeze, MicCtrl (circled in red), Specimen, Collector, Focus, Unload, Laser, and Edit.

The 'Microscope Control' window is open, showing the following controls and their corresponding French labels:

- Contrast Methods:**
 - TL-BF: Champ clair
 - FLUO: Fluo
 - TL-PH: Contraste de phase
 - TL-POL: Polarisée
- Magnification:**
 - Objectif: 1.25x, 5x, 10x, 20x, 40x, 63x, 150x
- Focus:**
 - Position en Z: -1185µm
- Light Intensity:**
 - Intensité lumineuse: 175
- Stage Control:**
 - Position en X,Y: Directional arrows for stage movement

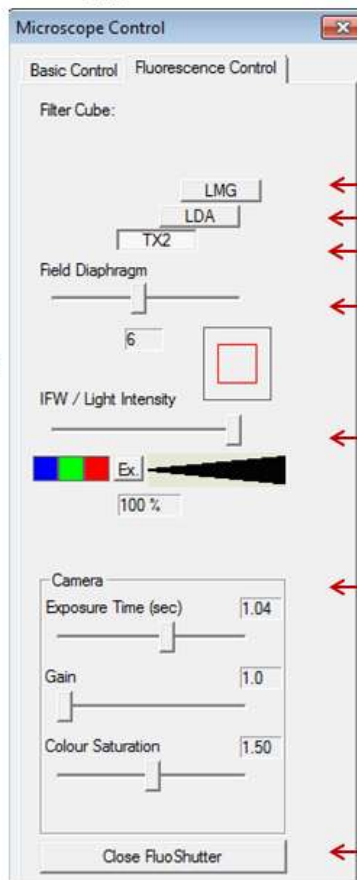
Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000

Lumière transmise



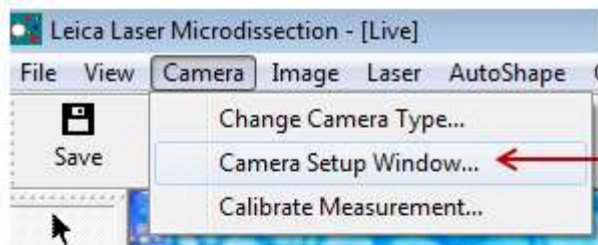
← Intensité lumineuse
← Diphragme de champ
← Diaphragme d'ouverture

Fluo

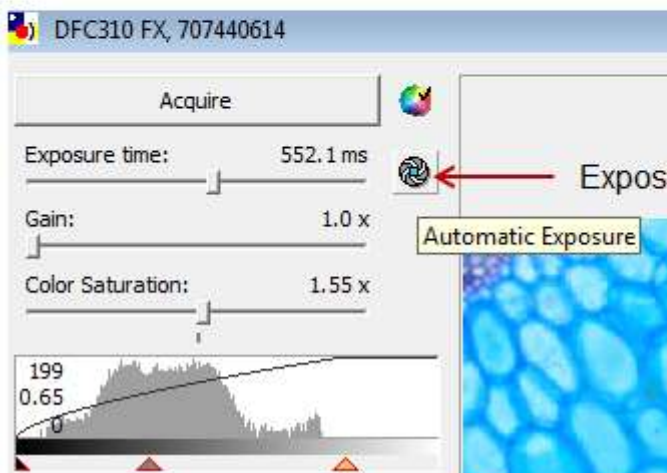


← Cubes Fluo
← GFP
← DAPI
← Texas Red
← Diphragme de champ
← Intensité lumineuse
← Réglages Caméra
← Shutter

Caméra



← Réglages de la caméra



← Exposition Automatique

Scan de vignette

Mémorisation de positions

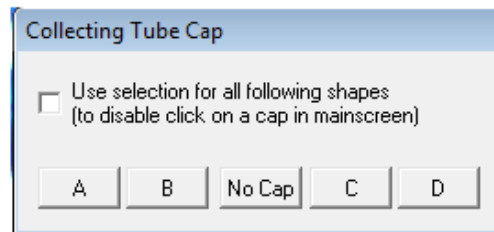
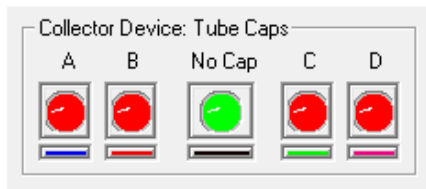
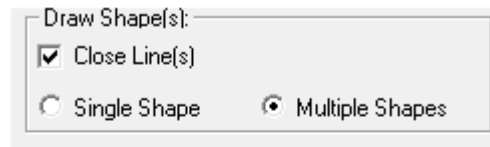
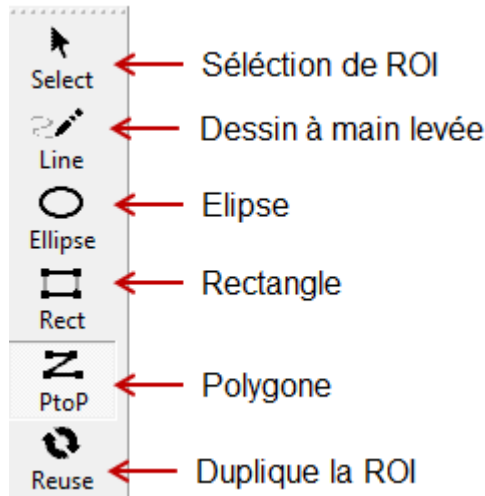
Scan rapide avec l'objectif 1.25

Repères de position de la visualisation modifiable

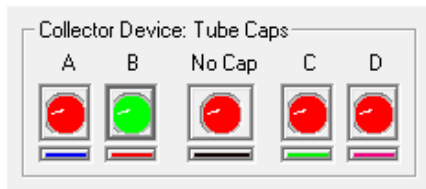
Zoom numérique de la visualisation

Capture l'image et ferme le shutter pour éviter le photo-blanchiment en fluo

Outils de dessin



No Cap sélectionné (en vert) → Choix du tube pour la sélection



B sélectionné (en vert) → Toutes les sélections sont affectées au tube B

ROI

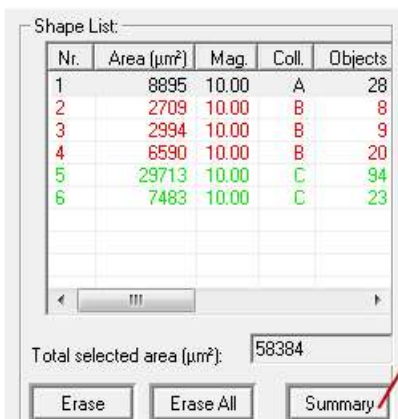


Tableau des sélections modifiable

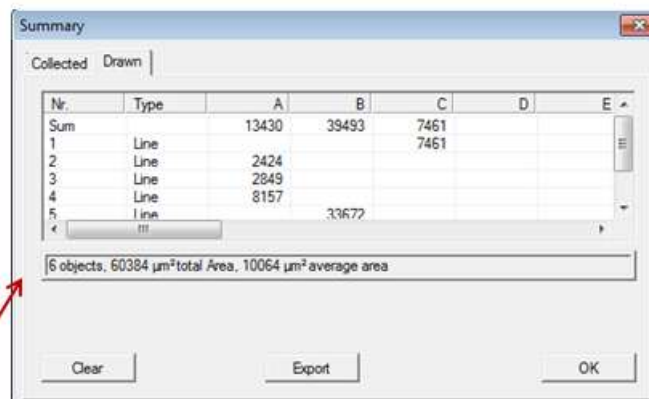


Tableau global et sommes des superficies

6. Paramètres de coupe

The screenshot shows the Leica Laser Microdissection software interface. The main window has a menu bar (File, View, Camera, Image, Laser, AutoShape, Options, Help) and a toolbar with icons for Save, Live, Freeze, MicCtrl, Specimen, Collector, Focus, Unload, Laser (circled in red), and Edit. The Laser Control dialog box is open, displaying various parameters for laser cutting. A sub-dialog box titled 'Cut Shape(s):' is also shown, with options for 'Draw + Cut', 'Draw + Scan', 'Move + Cut', and 'Laser Screw', along with 'Start Cut' and 'Stop Cut' buttons.

Leica Laser Microdissection - [Live]

File View Camera Image Laser AutoShape Options Help

Save Save Live Freeze MicCtrl Specimen Collector Focus Unload Unload Laser Edit

Laser Control

Revolver 2
Magnification 5x
Power
Less 50 More
Aperture
Less 27 More
Speed
Less 10 More
Specimen Balance
Less 17 More
Line Spacing for Draw + Scan
Less 5 More
Head Current
Less 100% More
Pulse Frequency
Less 120 More
Offset: 65
Calibrate
Auto Calibrate
Factory Settings
OK Cancel

Cut Shape(s):

Draw + Cut Draw + Scan
 Move + Cut Laser Screw
Start Cut Stop Cut

Découpe une ROI Désintègre une ROI

Puissance

Ouverture

Vitesse

Pulse de fin de coupe

Courant de tête laser

Fréquence des pulsations

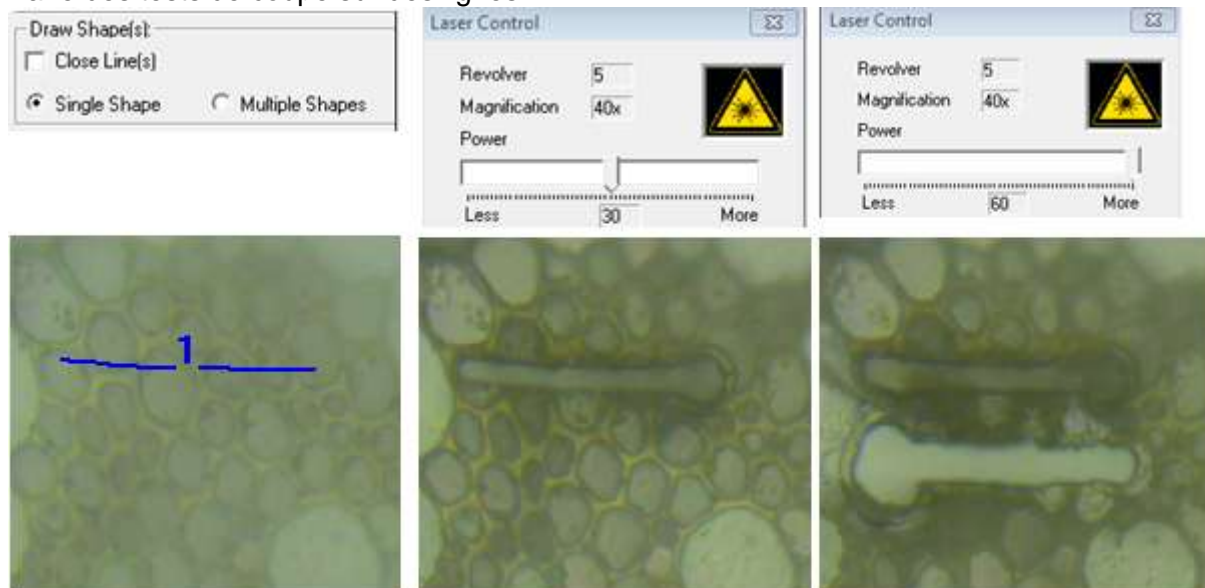
Calibration

Valeurs d'usine

Laser à main levée
Touche finale

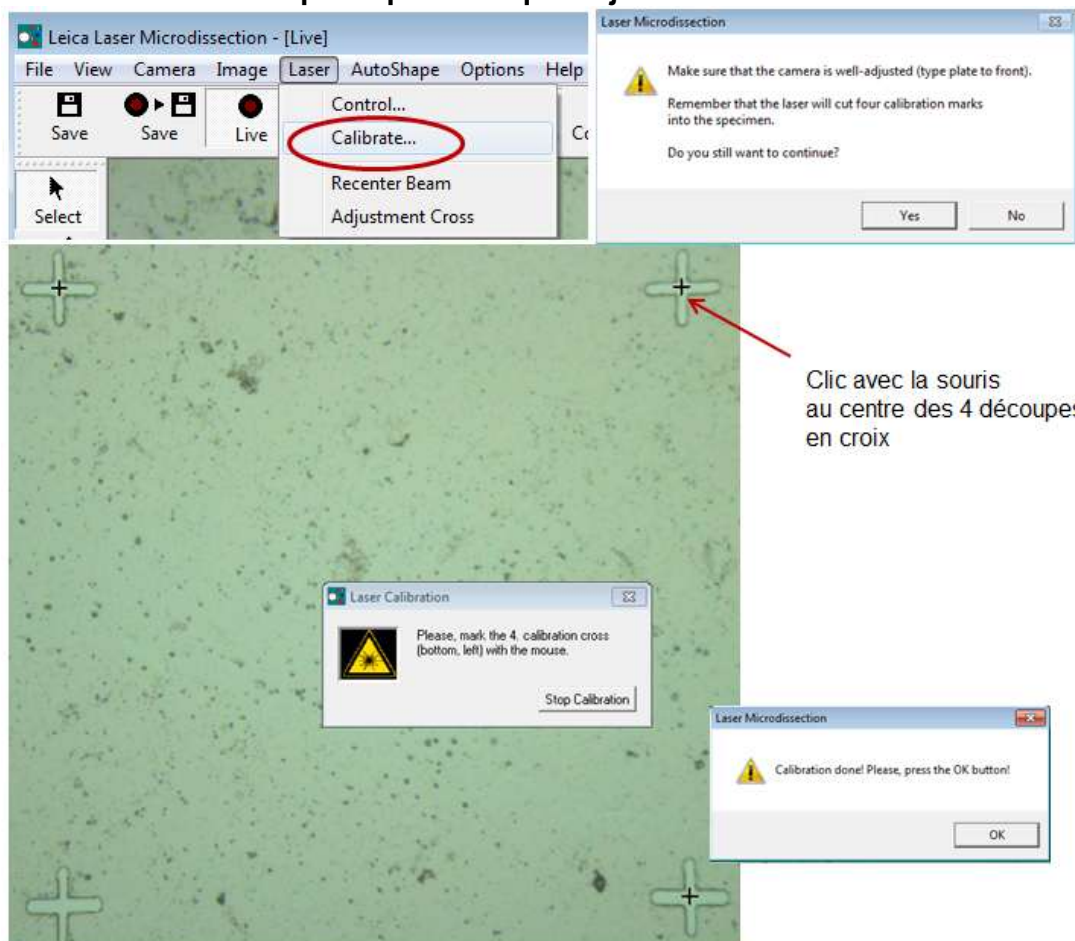
Découpe une ROI
en plusieurs passes
dans l'épaisseur

Faire des tests de coupe sur des lignes



Commencer par les valeurs d'usine
Ajuster en premier la puissance et la vitesse
Pour avoir une coupe franche, pas trop large
sans trop chauffer au voisinage de la coupe

Calibration du laser spécifique à chaque objectif

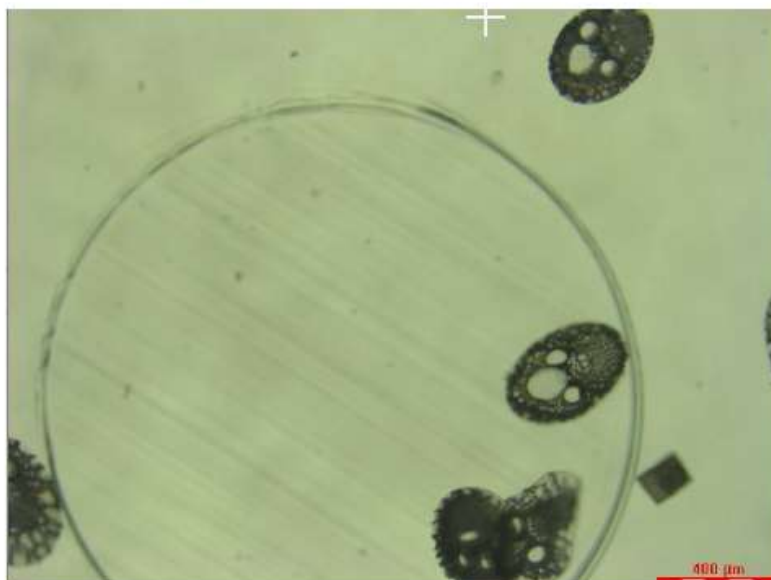
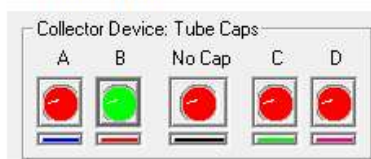


Clic avec la souris
au centre des 4 découpes
en croix

7. Vérification



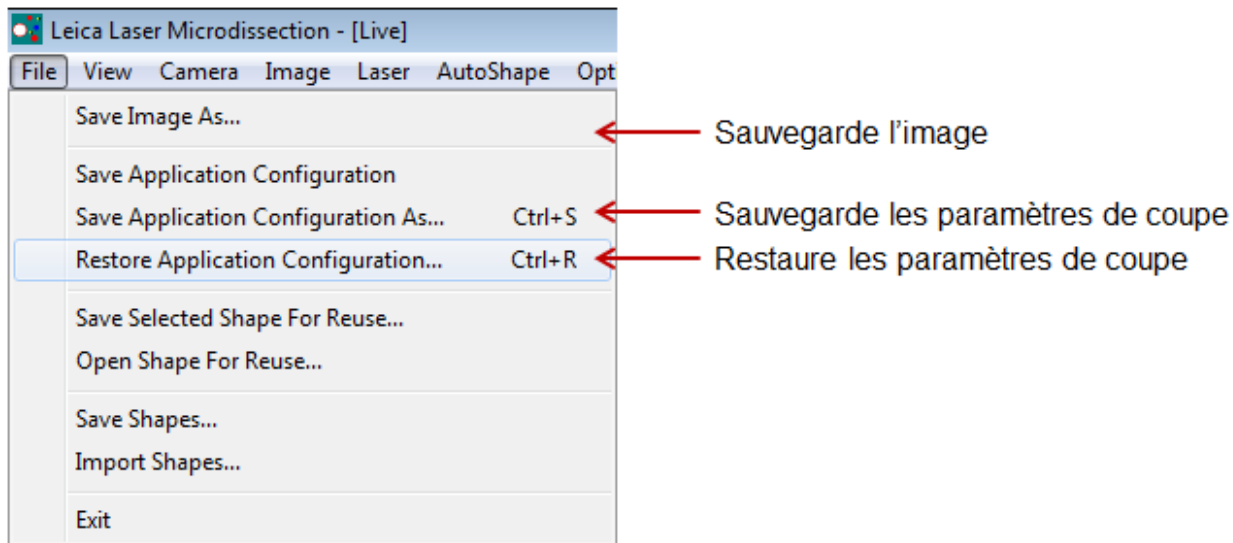
Choix du tube



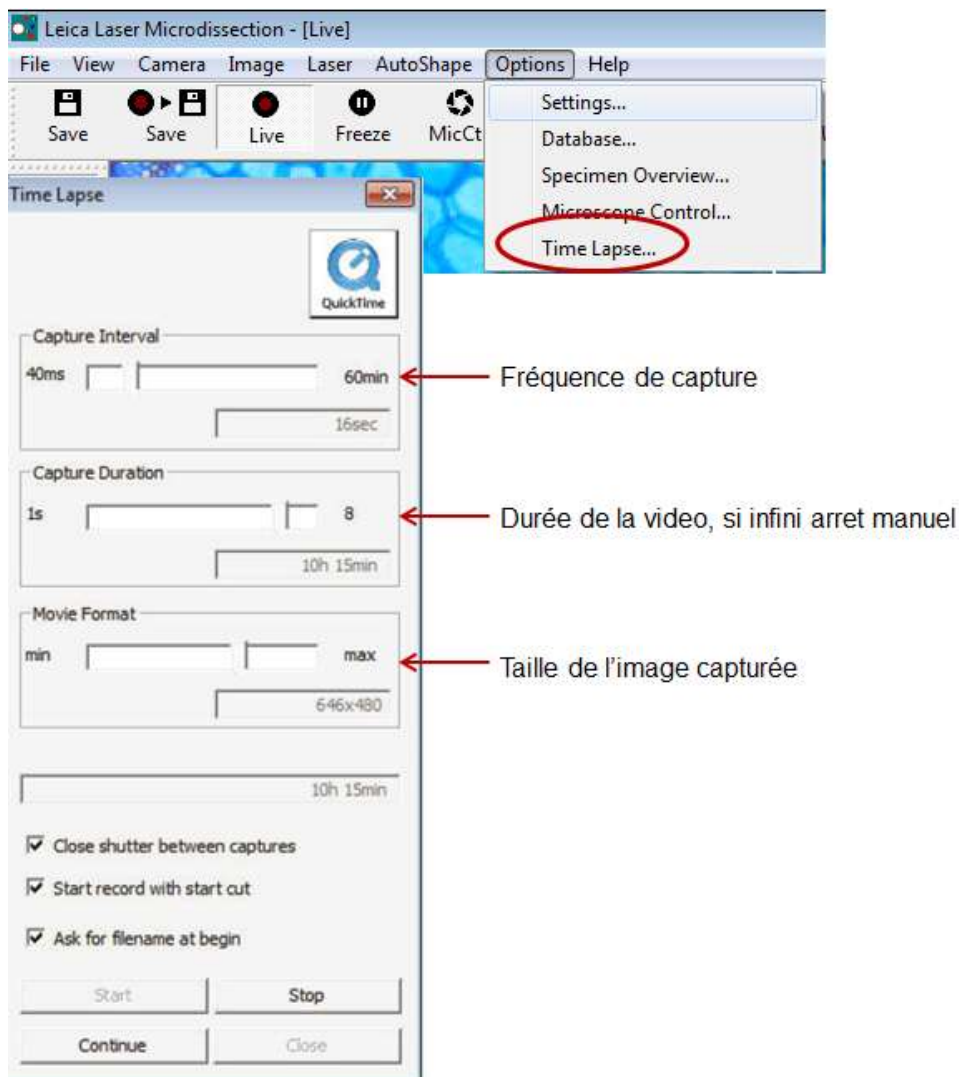
Retour aux lames



8. Sauvegardes des images et des configurations



9. Video





| | |
|--|-----------------|
| Instruction | I_PHIV_MIC_0007 |
| Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000 | A 12/05/14 |

Liens

[Sample Preparation For *Leica* Laser Microdissection](#)

[Videos de démonstration](#)

[Publications avec Leica LMD](#)

[Laser Microdissection: a Sample Preparation
Technique for Plant Micrometabolic Profiling](#)