



Instruction	I_PHIV_MIC_0007
<b>Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000</b>	A 12/05/14

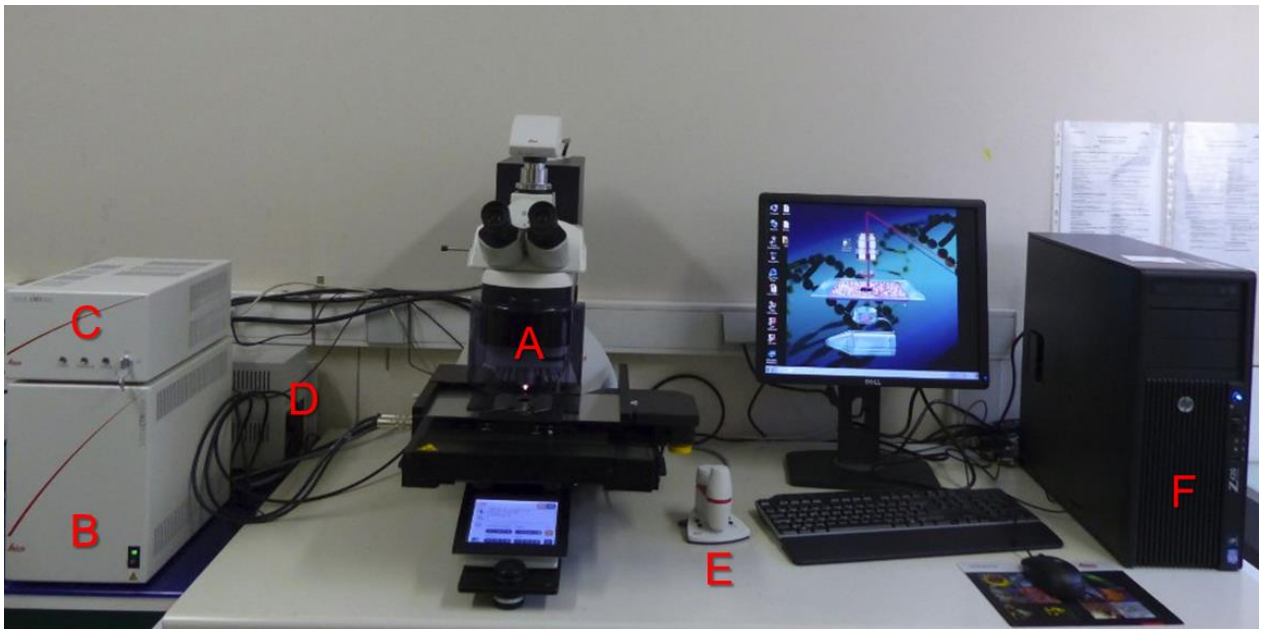
<b>Objet</b>	Guide d'utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000		
<b>Destinataire (s)</b>	MRI users		
<b>Responsables</b>	RESP MRI PHIV		
<b>Historique des modifications</b>			
<i>Auteur</i>	<i>Numéro de version</i>	<i>Date de modification</i>	<i>Modifications</i>
Lartaud Jublanc	A	14/05/14	Création

<b>Rédacteur</b>	<b>Vérificateur</b>	<b>Approbateur</b>
Lartaud Jublanc		

--	--	--

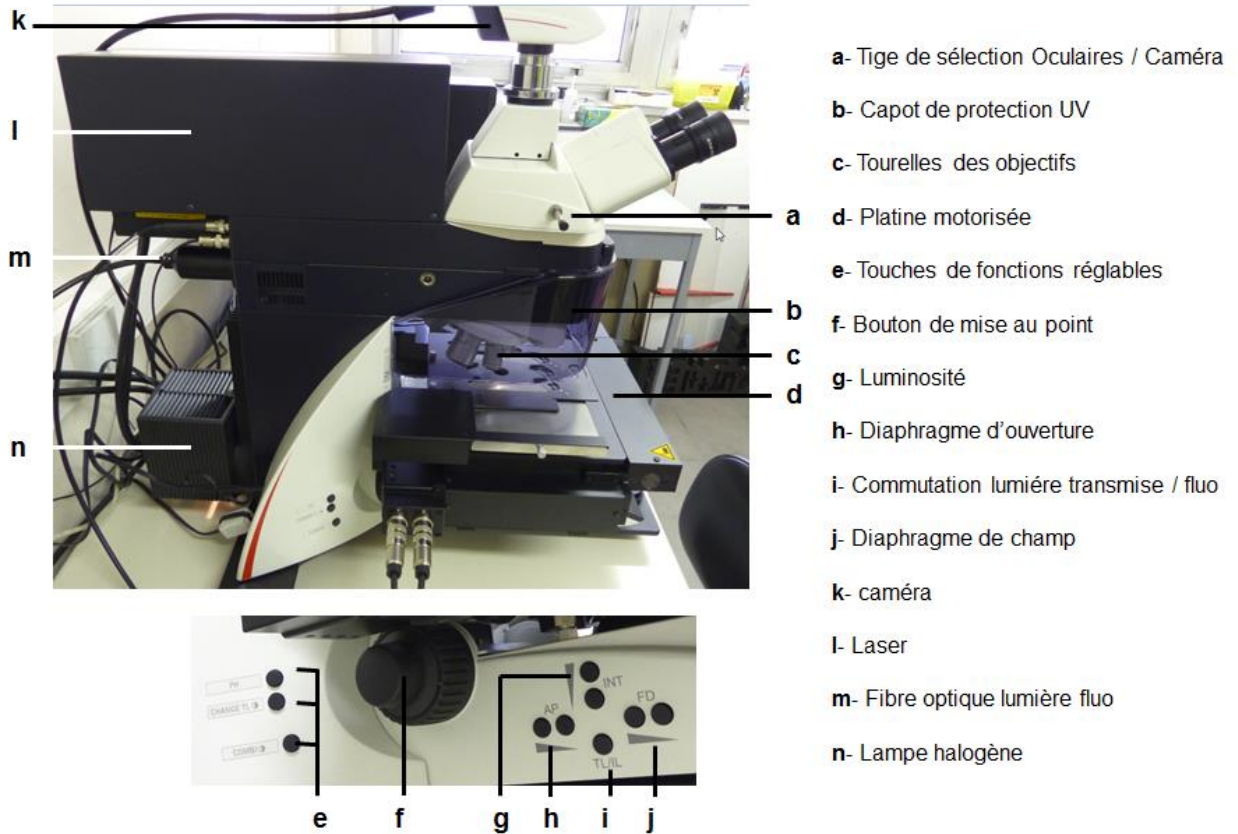
## Sommaire

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. Vidéo

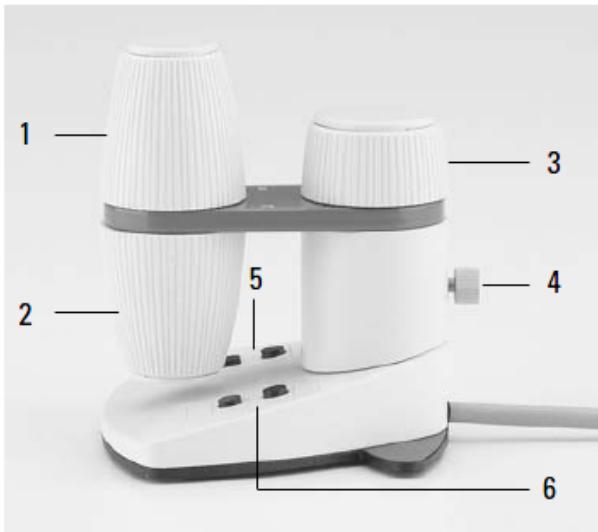


- A- Statif microscope
- B- Alimentation externe CTR6500 pour le microscope
- C- Alimentation externe du laser LMD7000
- D- Alimentation de la lampe pour la fluorescence
- E- Module de télécommande Smart Move (Axes x,y,z)
- F- Station informatique

## 1. Description du système



**SmartMove**

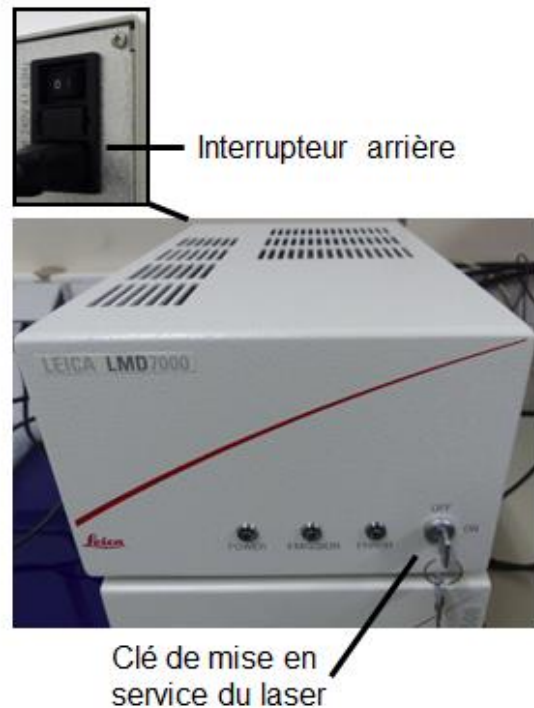


- 1 Déplacement en direction y
- 2 Déplacement en direction x
- 3 Réglage de la mise au point z
- 4 Réglage individuel de la hauteur du bouton
- 5 Changement d'objectifs
- 6 Mise au point rapide ou précise

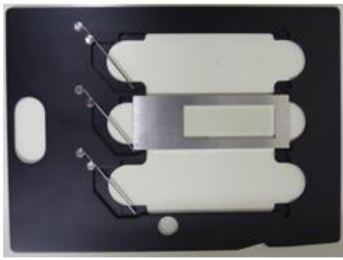
**Alimentation EL6000 pour la fluorescence**



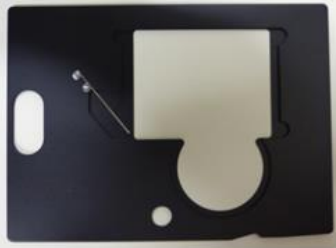
**Alimentation laser LMD7000**



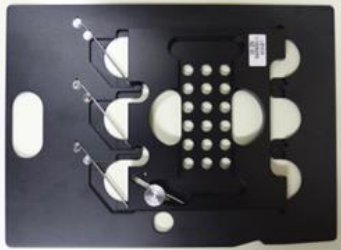
**Supports  
d'échantillon**



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

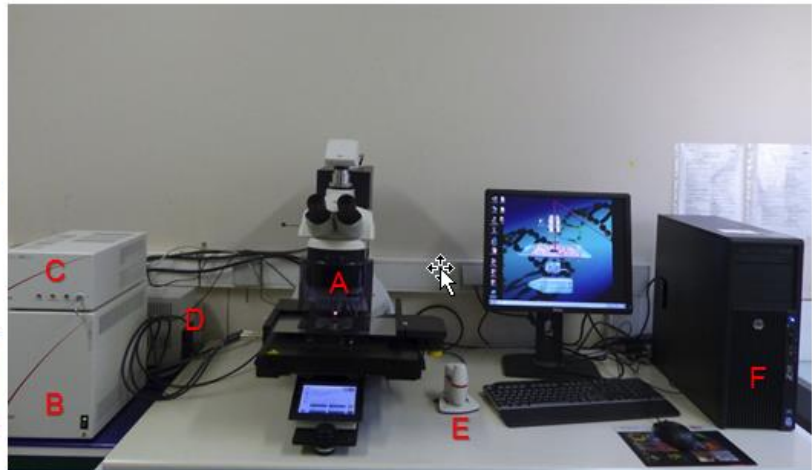


Pour barette de tubes

## 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 facade  
 -Ordinateur (F)
- 3 Ouverture de session MRI
- 4 Ouverture du logiciel

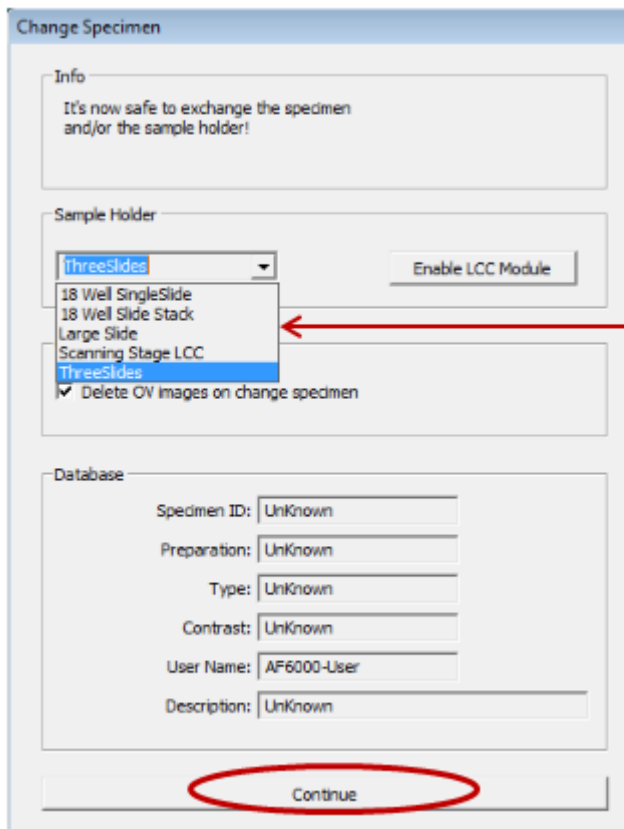
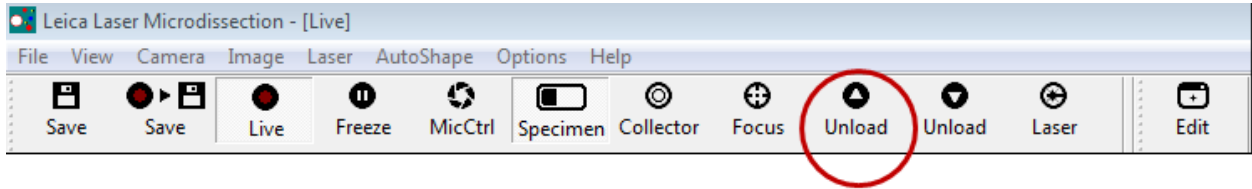




Instruction	I_PHIV_MIC_0007 A 12/05/14
Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000	

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

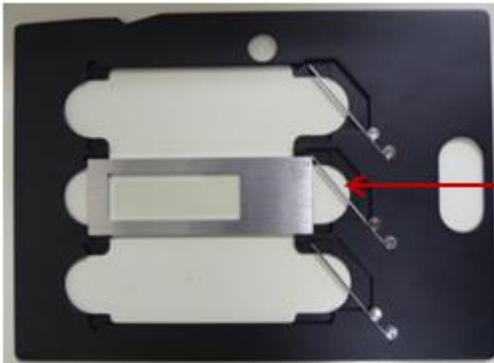
##### Supports d'échantillons



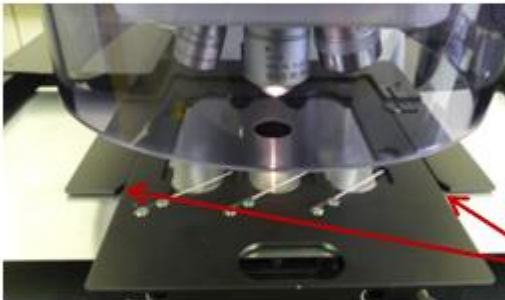
Choix du support



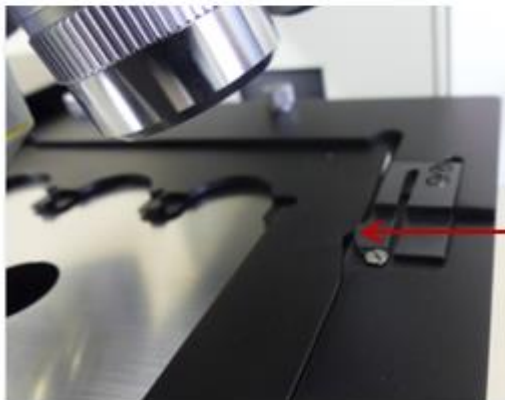
Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000



Lames à plat  
maintenue par le ressort



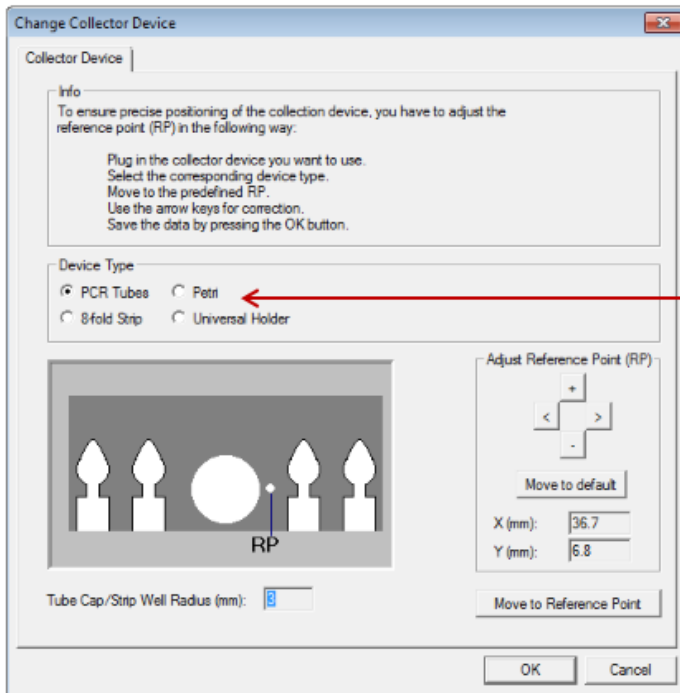
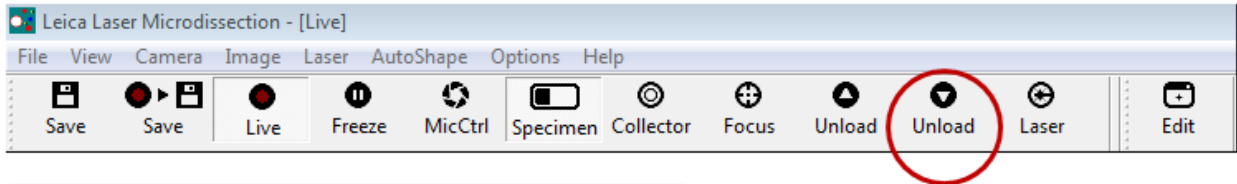
Glisser le support sur les rails



Jusqu'au clic du coin



## Supports de réceptacles



Choix du support

### Pour les tubes PCR



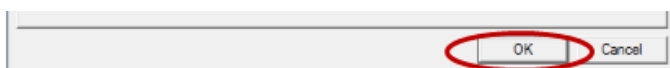
Coincer le capuchon fermement



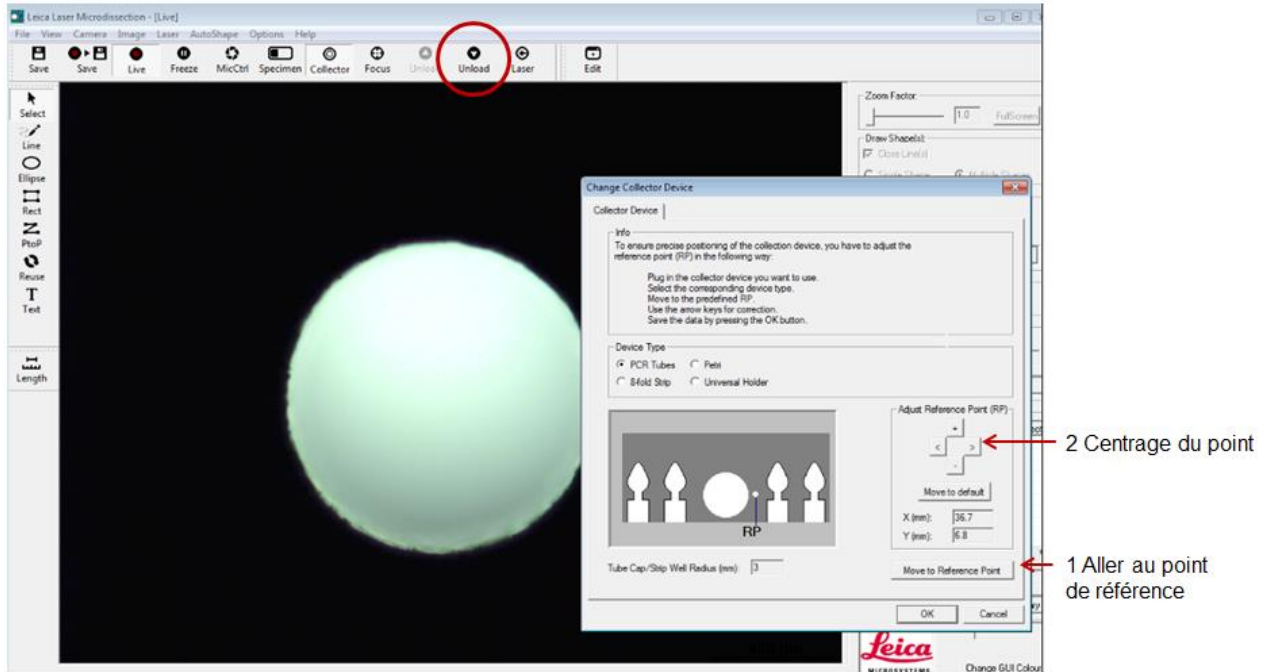
Rabattre le tube et le coincer dessous



Mise en place du support



## Centrage sur le Point de Référence (RP)



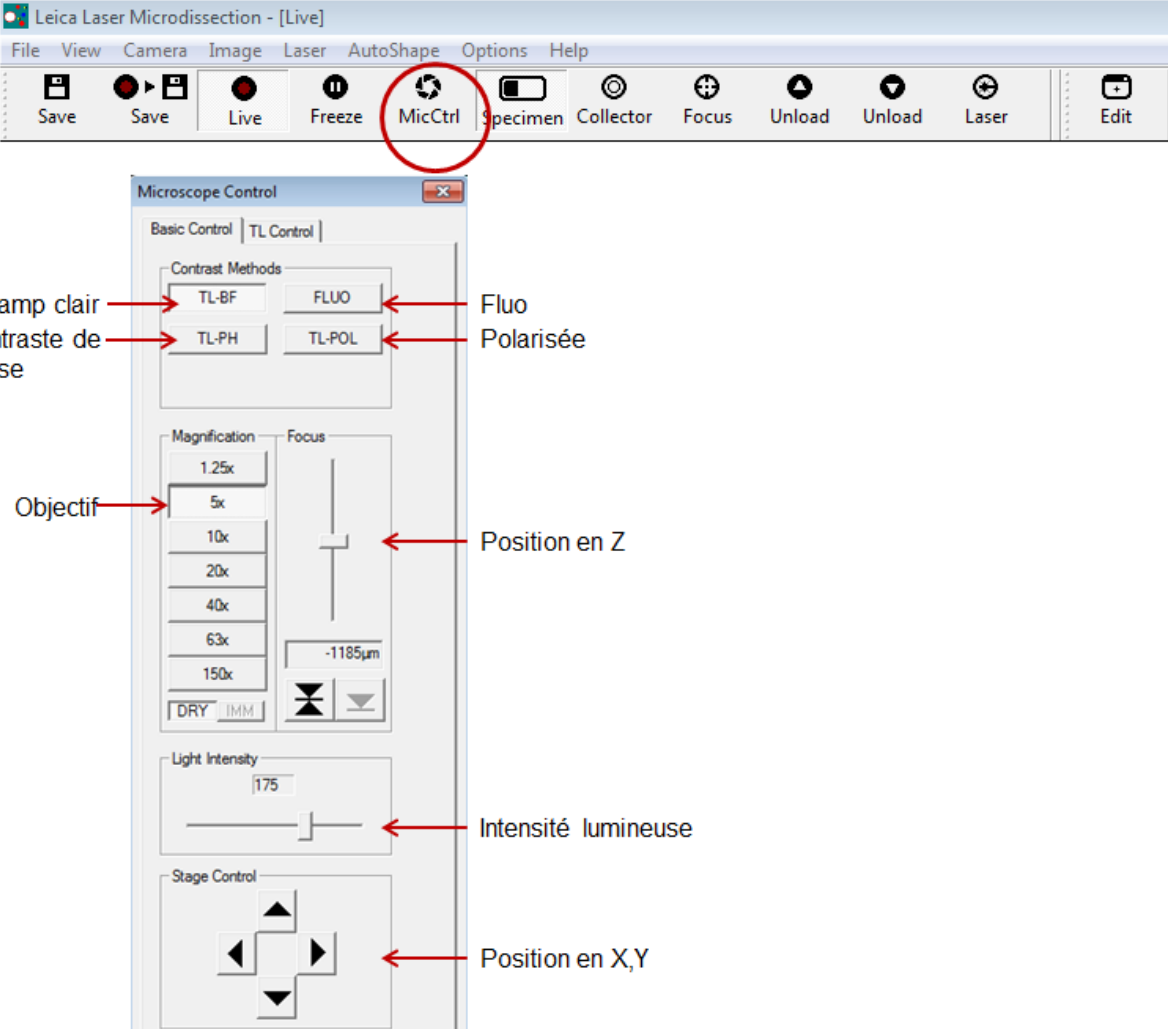
The screenshot displays the Leica Laser Microdissection software interface. The 'Unload' button in the top toolbar is circled in red. A dialog box titled 'Change Collector Device' is open, showing instructions for adjusting the reference point (RP). The dialog box includes a diagram of a collector device with a central 'RP' marker. Red arrows point to the 'Adjust Reference Point (RP)' controls and the 'Move to Reference Point' button.

2 Centrage du point

1 Aller au point de référence

## 5. Visualisation et dessins de ROI

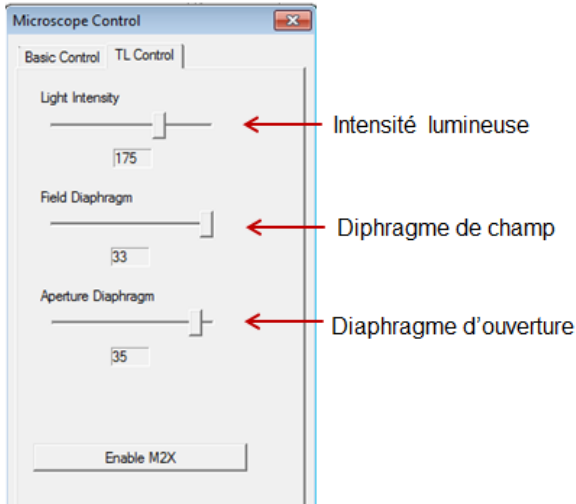
### Microscope



The screenshot shows the 'Leica Laser Microdissection - [Live]' software interface. The 'MicCtrl' button in the top toolbar is circled in red. Below it, the 'Microscope Control' window is shown with several sections and French annotations:

- Contrast Methods:**
  - TL-BF: Champ clair
  - FLUO: Fluo
  - TL-PH: Contraste de phase
  - TL-POL: Polarisée
- Magnification:**
  - Objectif: 5x (selected)
- Focus:**
  - Position en Z: -1185µm
- Light Intensity:**
  - Intensité lumineuse: 175
- Stage Control:**
  - Position en X,Y: (indicated by directional arrows)

**Lumière transmise**

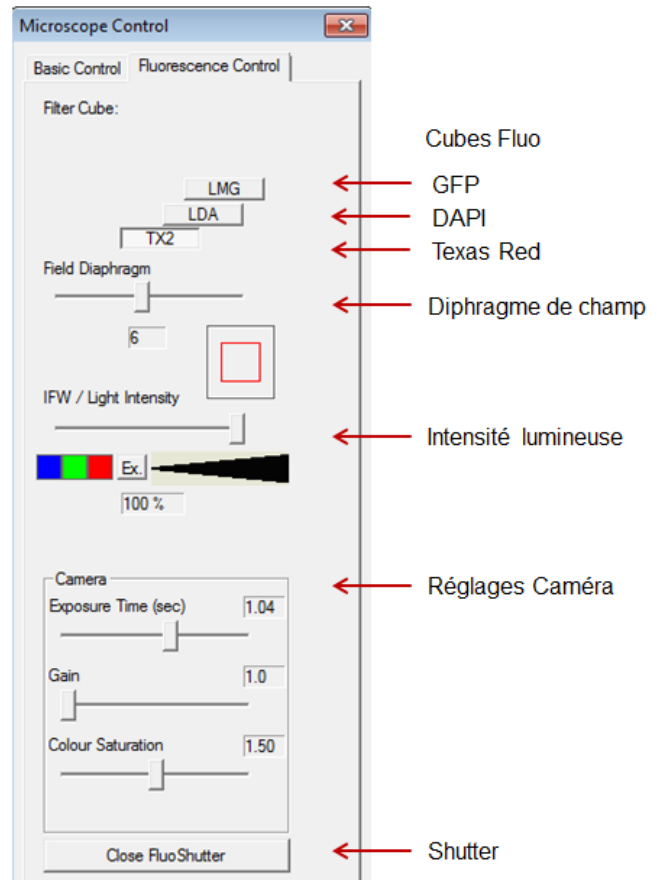


← Intensité lumineuse

← Diphragme de champ

← Diaphragme d'ouverture

**Fluo**



← Cubes Fluo

← GFP

← DAPI

← Texas Red

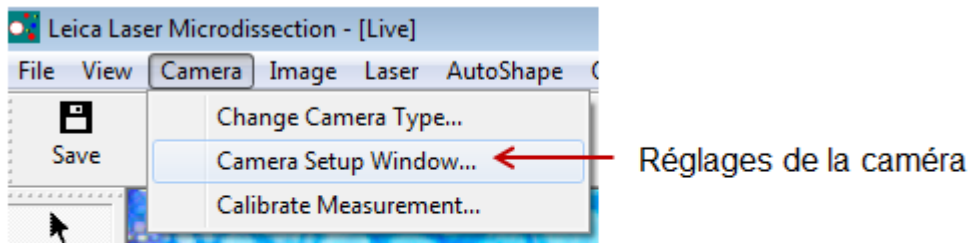
← Diphragme de champ

← Intensité lumineuse

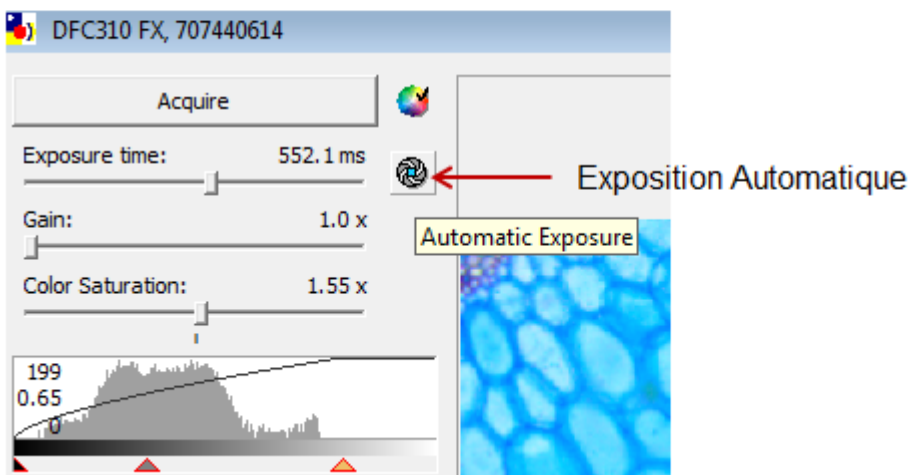
← Réglages Caméra

← Shutter

**Caméra**

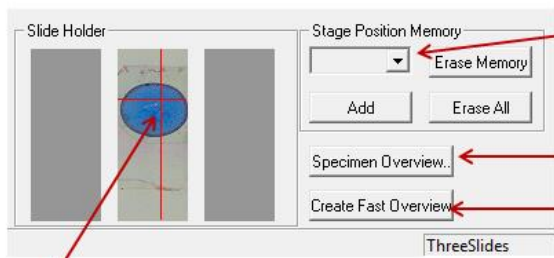


← Réglages de la caméra



← Exposition Automatique

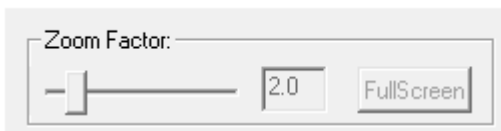
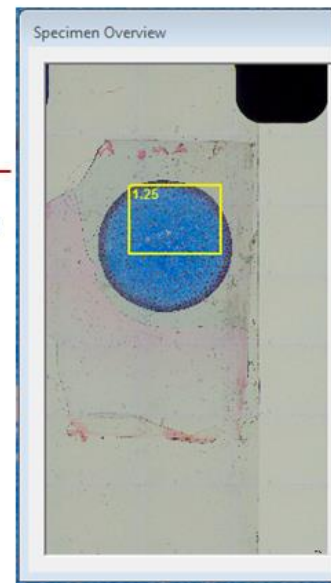
### Scan de vignette



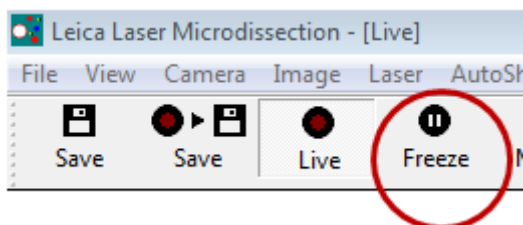
Repères de position de la visualisation modifiable

Mémorisation de positions

Scan rapide avec l'objectif 1.25

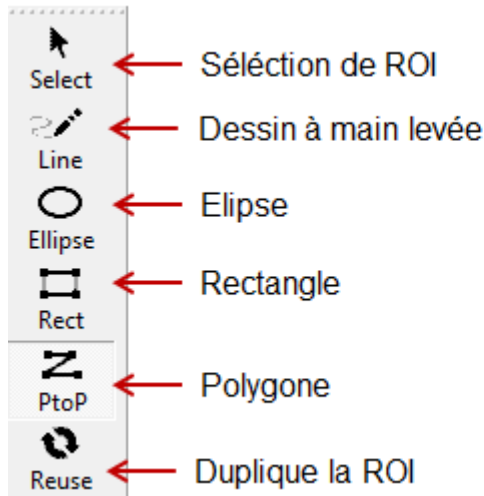


Zoom numérique de la visualisation



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

**Outils de dessin**



- Select ← Sélection de ROI
- Line ← Dessin à main levée
- Ellipse ← Ellipse
- Rect ← Rectangle
- PtoP ← Polygone
- Reuse ← Duplique la ROI

Draw Shape(s):

Close Line(s)

Single Shape     Multiple Shapes

Collector Device: Tube Caps

A	B	No Cap	C	D

Collecting Tube Cap

Use selection for all following shapes  
(to disable click on a cap in mainscreen)

A	B	No Cap	C	D
---	---	--------	---	---

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

Collector Device: Tube Caps

A	B	No Cap	C	D

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

**ROI**

Shape List:

Nr.	Area (µm²)	Mag.	Coll.	Objects
1	8895	10.00	A	28
2	2709	10.00	B	8
3	2994	10.00	B	9
4	6590	10.00	B	20
5	29713	10.00	C	94
6	7483	10.00	C	23

Total selected area (µm²): 58384

Erase    Erase All    Summary

Tableau des sélections modifiable

Summary

Collected    Drawn

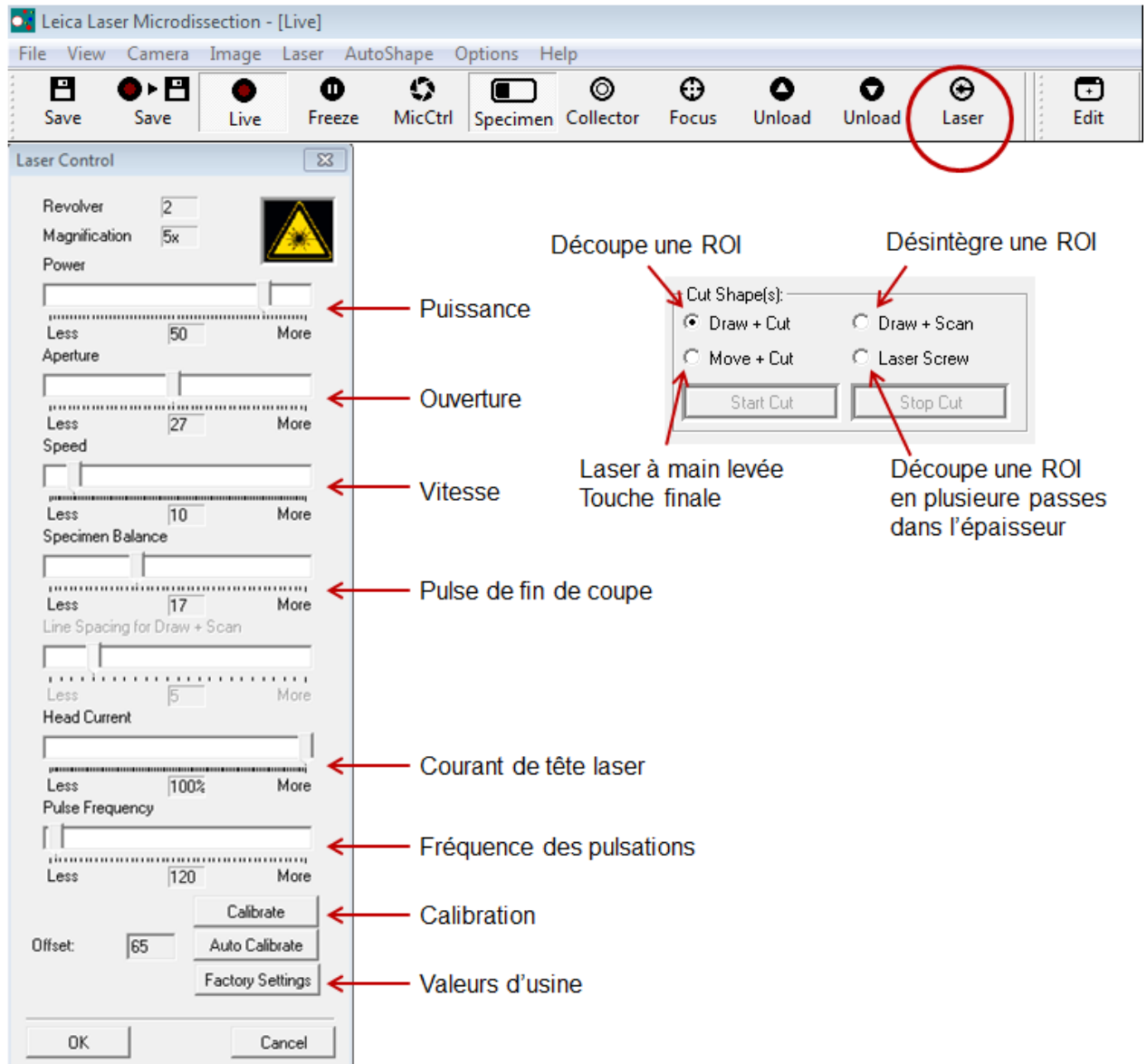
Nr.	Type	A	B	C	D	E
Sum		13430	39493	7461		
1	Line			7461		
2	Line	2424				
3	Line	2849				
4	Line	8157				
5	Line		33672			
6	Line					

6 objects, 60384 µm² total Area, 10064 µm² average area

Clear    Export    OK

Tableau global et sommes des superficies

## 6. Paramètres de coupe



The screenshot shows the 'Leica Laser Microdissection - [Live]' software window. The 'Laser' button in the top toolbar is circled in red. The 'Laser Control' panel on the left contains various sliders and buttons for adjusting laser parameters. To the right, a sub-panel titled 'Cut Shape(s):' offers different cutting modes: 'Draw + Cut' (selected), 'Draw + Scan', 'Move + Cut', and 'Laser Screw'. Below these are 'Start Cut' and 'Stop Cut' buttons.

**Labels for Laser Control panel:**

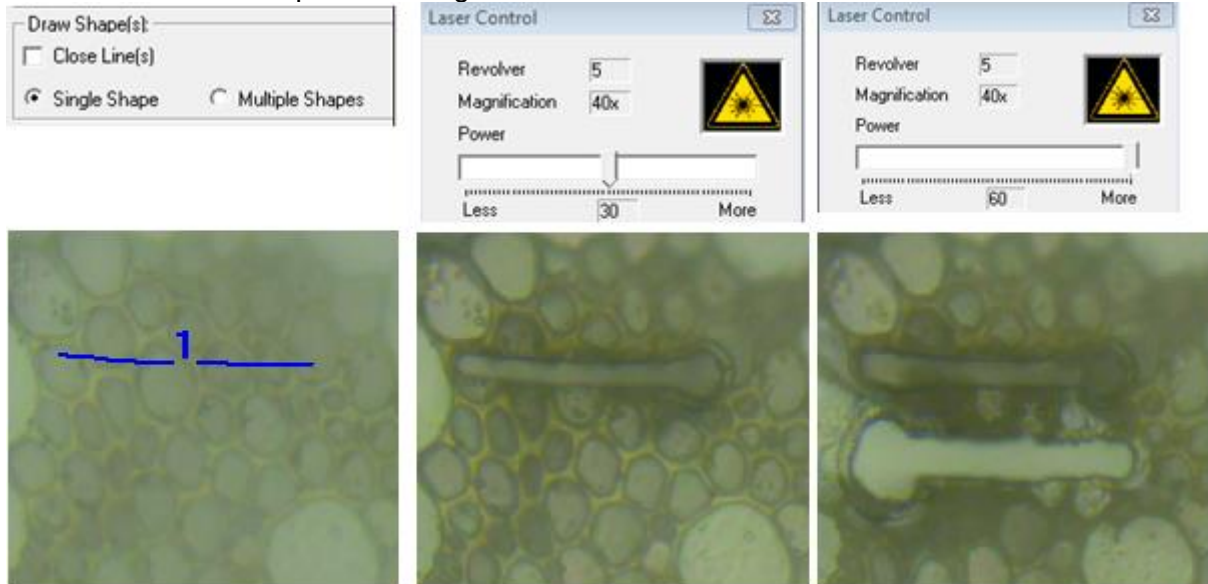
- Puissance (Power)
- Ouverture (Aperture)
- Vitesse (Speed)
- Pulse de fin de coupe (Specimen Balance)
- Courant de tête laser (Head Current)
- Fréquence des pulsations (Pulse Frequency)
- Calibration (Calibrate)
- Valeurs d'usine (Factory Settings)

**Labels for Cut Shape(s) sub-panel:**

- Découpe une ROI (Cut Shape(s))
- Désintègre une ROI (Disintegrate ROI)
- Laser à main levée / Touche finale (Laser hand-held / Final touch)
- Découpe une ROI en plusieurs passes dans l'épaisseur (Cut ROI in multiple passes in thickness)

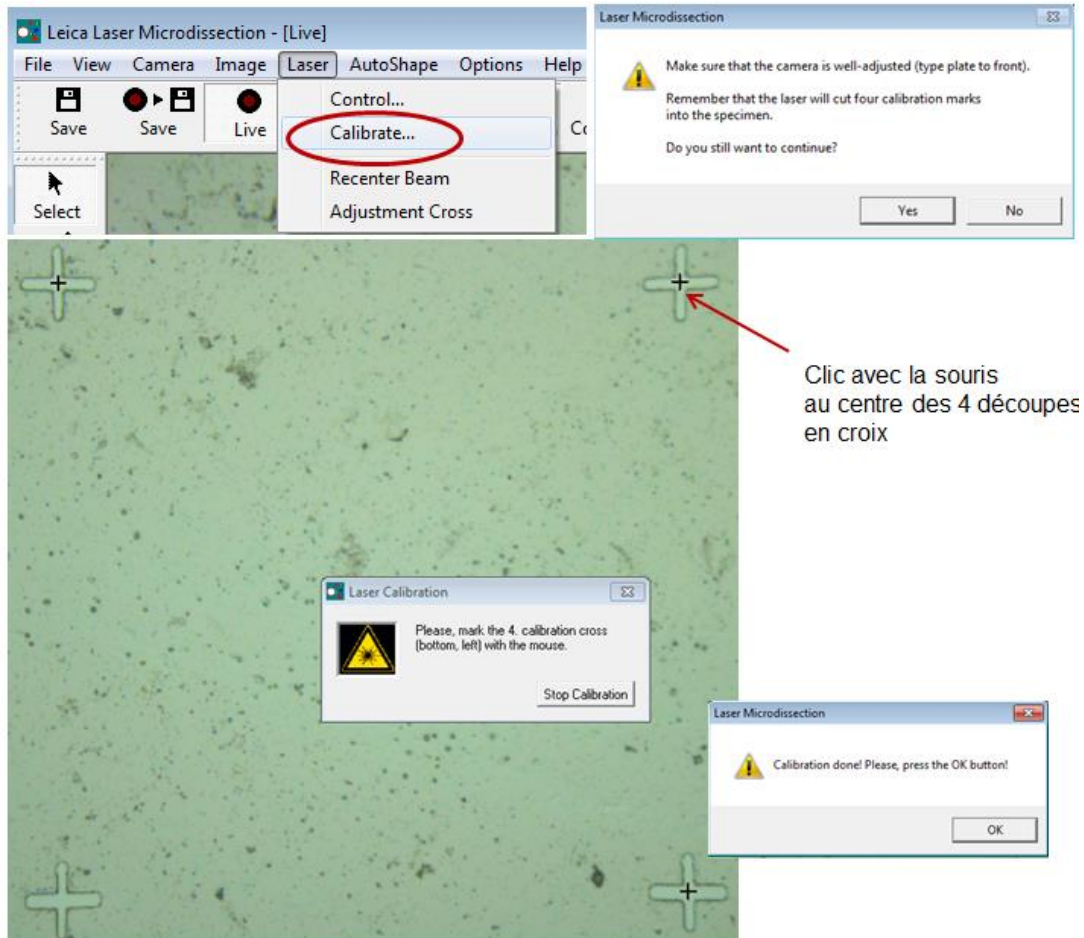


Faire des tests de coupe sur des lignes



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

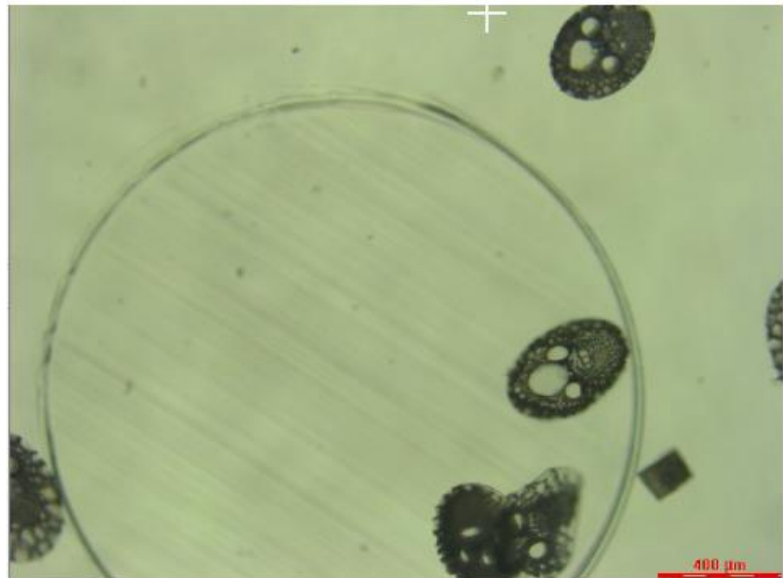
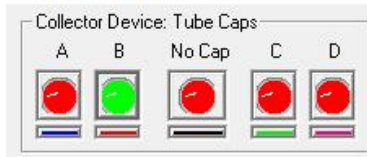
**Calibration du laser spécifique à chaque objectif**



## 7. Vérification



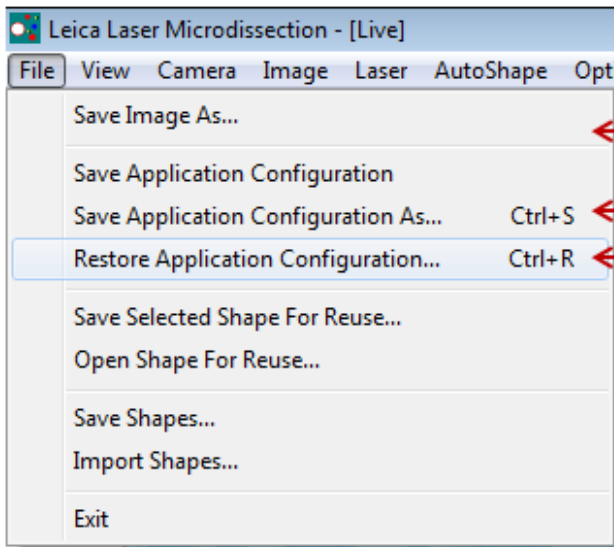
### Choix du tube



### Retour aux lames



## 8. Sauvegardes des images et des configurations

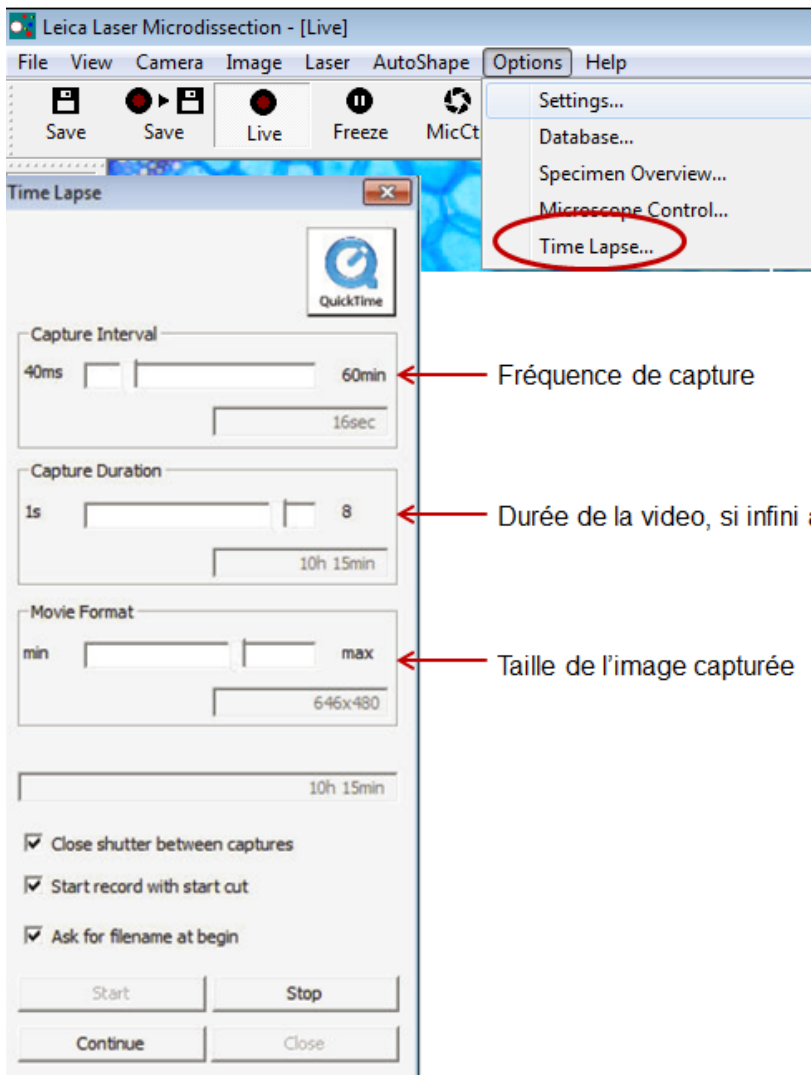


← Sauvegarde l'image

← Sauvegarde les paramètres de coupe

← Restaure les paramètres de coupe

## 9. Video



← Fréquence de capture

← Durée de la video, si infini arret manuel

← Taille de l'image capturée



Instruction	I_PHIV_MIC_0007
<b>Utilisation du microdissecteur Leica LMD 7000</b>	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](#)