

动物组织透射电镜实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
超薄切片机	Leica	Leica UC7
钻石切片刀	Daitome	Ultra 45°
透射电子显微镜	HITACHI	HT7700
200 目方华膜铜网	中镜科仪	BZ11262a

2、主要实验试剂

试剂	厂家	货号
电镜固定液	biossci	BP0130
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	100092183
丙酮	国药集团化学试剂有限公司	10000418
812 包埋剂	SPI	02660-AB
锇酸	Ted Pella Inc	02602-AB
醋酸双氧铀	Ted Pella Inc	02624-AB

二、透射电镜制片步骤

- 取材固定：**新鲜组织确定取材部位，尽量减小牵拉、挫伤与挤压等机械损伤，1-3min 内取样，取样组织 1mm³ 大小。取材前可提前准备装有电镜固定液的培养皿，将小组织块离体取下后立即投入培养皿内，用手术刀在培养皿的固定液中进行切割成 1mm³ 的小组织块。再将切割好的小组织块转移至装有新的电镜固定液的 EP 管内继续固定，4°C 固定保存及运输。0.1M 磷酸缓冲液 PB (PH7.4) 漂洗 3 次，每次 10min。
- 后固定：**0.1M 磷酸缓冲液 PB (PH7.4) 配制的 1% 锇酸避光室温固定 2h。0.1M 磷酸缓冲液 PB (PH7.4) 漂洗 3 次，每次 15min。
- 室温脱水：**组织依次入 30%-50%-70%-80%-95%-100%-100% 酒精上行脱水每次 10min，100% 丙酮两次，每次 10min。
- 渗透包埋：**丙酮：812 包埋剂=1：1，37°C 2-4h，丙酮：812 包埋剂=1：2，37°C 渗透过夜，纯 812 包埋剂 37°C 5-8h。将纯 812 包埋剂倒入包埋板，将样品插入包埋板后 37°C 烤箱过夜。
- 聚合：**包埋板放于 60°C 烤箱聚合 48h，取出树脂块备用。
- 超薄切片：**树脂块于超薄切片机 70nm 超薄切片，200 目方华膜铜网捞片。

-
- 7、**染色：**铜网于 2%醋酸铀饱和酒精溶液避光染色 10min；超纯水清洗3次；枸橼酸铅溶液避二氧化碳染色 10min；超纯水清洗 3 次，滤纸稍吸干。铜网切片放入铜网盒内室温干燥过夜。
- 8、透射电子显微镜下观察

百奥斯生物长行病理