

# 透射电镜动物组织、细胞样品制备

## 注意事项：

1. 样品需提前按透射电镜制样标准收集，并使用 2.5%戊二醛充分固定；
2. 样品中若含有高硬度物质、磁性物质（如铁钴镍）需及时告知制样老师；
3. 任何时候请勿将样品处于干燥状态，换液需充分吸净残余液体，吸一个加一个，从换第一个样品开始计时；
4. 戊二醛、醋酸铀、锇酸务必在通风橱操作，废液放入专用废液瓶，特别是锇酸为剧毒挥发试剂，需在老师指导下使用，使用时务必小心，加完后样品统一放在通风橱中
5. 废弃吸管丢通风橱两侧或制样室垃圾袋，请勿丢弃在废液缸中，制样结束后清理好台面、废弃垃圾后离开

## 制样步骤

1. 用 1ml 0.1M PBS 漂洗 3 遍，每遍 10min；
2. 加入 50-100ul（没过样品）的 1%锇酸固定 1h（脑、肝、骨等致密样品需延至 1.5h）；
3. 用 1ml dd 水漂洗 3 遍，每遍 10min；
4. 用 100ul 2%醋酸铀固定/染色 1 遍 30min；
5. 依次加入 1ml 50%、70%、90%乙醇，各 1 遍每遍 15min，100%乙醇 1 遍每遍 20min，100%丙酮 2 遍每遍 20min；
6. 加入 300-500ul 包埋剂+丙酮混合液（1:1）放入干燥箱；  
组织样品 2h 后进行下一步；  
细胞样品及部分组织样品做到此步骤无需往下，当天包埋（具体情况请咨询带制样老师）
7. 组织样品加入 300-500ul 包埋剂+丙酮混合液（3:1）放入干燥箱过夜，第二天上午包埋  
注：1:1 废弃液丢专门废液管中，请勿随意丢弃

## 包埋及切片

加入纯包埋剂渗透，有方向样品（如肌肉、神经、肠等）需摆放至正确位置待样品固化后，需及时联系电镜中心老师进行超薄切片、染色、联系上机