

透射电镜实验报告

一、实验仪器及试剂

1. 实验仪器

名称	厂家	型号
超薄切片机	徕卡	UC-7
透射电镜	日本电子	JEM1400
数码相机记录图像	德国蒙斯特	morada G3

2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号	批号
Lead Citrate Trihydrate	TED PELLA INC	19312	180705-06
Eponate12 Resin	TED PELLA INC	18005	0012034643
DDSA	TED PELLA INC	18022	181009-01
NMA	TED PELLA INC	18032	191217-10
DMP30	TED PELLA INC	18042	190214-09
戊二醛	TED PELLA INC	18426	2200218
环氧丙烷	上海迈瑞尔化学技术有限公司	M25514	72677076
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	无	20220906
后固定剂	TED PELLA INC	18456	4008-190808-112119
乙级染色剂	Electron Microscopy Sciences	22400	200306-36

二、透射电镜实验步骤

一、固定：①取材 1mm³ 组织若干块(或将收集的细胞约 10⁷ 个)，立刻放到 2.5%戊二醛中，4℃固定 24 小时；

②把固定液倒掉入 PBS 缓冲液中浸泡 6h，0.1M 磷酸缓冲液 PB (PH7.4) 漂洗 3 次，每次 15min；

③入 1%锇酸后固定 2h，0.1M 磷酸缓冲液 PB (PH7.4) 漂洗 3 次，每次 15min；

二、室温脱水：30%乙醇 10min--50%乙醇 10min--70%乙醇醋酸铀 (包埋前染色) 3h 或者过夜--80%乙醇 10min--95%乙醇 15min--无水乙醇 I 50min--无水乙醇 II 50min--环氧丙烷 30min；

三、浸透：环氧丙烷与环氧树脂 1：1 浸透 2h，纯环氧树脂 3h；

四、包埋：①纯环氧树脂包埋后入 45℃烤箱 12h ②72℃烤箱 24h；

五、切片：①取出包埋块修块后进行超薄切片 (切片厚度 70nm，切片机型号 徕卡 UC-7) ②铜网捞片；

六、染色：电子染色 (铅染色)，超纯水冲洗干净，滤纸稍吸干，铜网切片放入铜网盒内室温干燥过夜；

七、拍照：用日本电子透射电镜进行图像采集。