

透射电镜样本准备方法及要求

实验目的：观察细胞内部细胞器的结构及变化，如线粒体，内质网，自噬体等。

以下所有样本必须尽量新鲜，固定液或悬浮液都不得冷冻结冰！

1、动物组织样本

① 1-3min 内取样，取样组织 2mmX2mm 大小，尽量薄。如来不及修整组织大小可先于电镜固定液内固定半小时左右待组织变硬以后再修整组织进行后固定。超出此范围后组织会无法完全固定，后续实验无法完成，务必请重视此过程。

② 取材时尽量精确到需要观察的目的部位（如观察肾小球取肾皮质；观察胰岛取胰岛丰富的胰尾；皮肤，肠胃等在固定液中易打卷的组织可将组织粘在滤纸上进行固定）。

③ 取材时一定注意避免镊子挤压等机械损伤，刀片要锋利避免挫伤组织。

④ 组织取下后立即投入电镜固定液内室温固定 2h，再转移至 4℃ 保存，4℃ 冰袋运输，在保存和运输过程中**固定液切勿冷冻结冰。4℃ 时样本可保存 1 个月左右。**

2、植物组织样本

① 取材要求同动物组织样本。

② 组织投入固定液后需要进行真空抽气让组织沉底，如无条件抽气可用滤纸将组织塞进固定液内，组织不能漂浮在固定液表面。

3、细胞样本

贴壁细胞：实验目的重点观察细胞连接，将培养好的细胞弃培养基不经漂洗迅速加电镜固定液用细胞刮沿一个方向轻轻刮下细胞收集到离心管内（避免刮破细胞）。实验目的重点观察细胞器，对细胞形态形状无特殊要求，用胰酶消化，离心收集细胞要肉眼可见细胞沉淀芝麻至绿豆大小，弃固定液后加新的电镜固定液室温固定 2h，再转移至 4℃ 保存，4℃ 冰袋运输，在保存和运输过程中**固定液切勿冷冻结冰。**

悬浮细胞：离心收集细胞要肉眼可见细胞沉淀芝麻至绿豆大小，弃培养基后加电镜固定液室温固定 2h，再转移至 4℃ 保存，4℃ 冰袋运输，在保存和运输过程中**固定液切勿冷冻结冰。**

4、细菌样本

长于固体培养基的细菌：连带着培养基一起挑下细菌放于电镜固定液内室温固定 2h，再转移至 4℃ 保存，4℃ 冰袋运输，在保存和运输过程中**固定液切勿冻结冰**。

悬浮细菌孢子等：离心收集细菌要肉眼可见细菌沉淀芝麻至绿豆大小，弃培养基后加电镜固定液室温固定 2h，再转移至 4℃ 保存，4℃ 冰袋运输，在保存和运输过程中**固定液切勿冻结冰**。

5、病毒

破碎组织细胞，粗离心去除细胞碎片取上清，超速离心分离出病毒（病毒提取的过程需要客户自己完成）。用缓冲液（如 PBS）悬浮病毒，远距离-80℃ 冻存运输，近距离 4℃ 保存运输，尽快滴片做负染后及时电镜观察拍照。

6、外泌体囊泡等

客户自己完成外泌体囊泡等的提取收集，用缓冲液（如 PBS）或者试剂盒中的保存液悬浮，远距离-80℃ 冻存运输，近距离 4℃ 保存运输，尽快制片做负染后及时电镜观察拍照。（因此类样品极易降解，样品越新鲜越好，最好数小时内完成滴片负染，否则做出的效果很不理想甚至完全观察不到）

7、纳米材料等无机材料

直接准备粉剂或用缓冲液（如 PBS）悬浮，常温保存运输即可。做负染后电镜观察拍照。