

一种重包埋方法的应用*

周美云

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

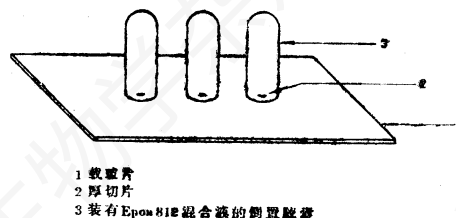
目前普遍使用的简单定向方法,是先在包埋时使样品定向,以后再将聚合好的包埋块切一张大面积的1—2微米的厚切片,经光学显微镜检查找出所需要的部位,做好标记,然后对照厚切片修整样品再作超薄切片。

Grimley^[1]曾报道一种简单的重包埋方法,将包埋的组织块简单地切成一张1—8微米的厚片,贴在盖玻片上染色后,在光学显微镜下找出需要进行电镜观察的部位,标上记号,然后将这张厚切片重包埋、修块和超薄切片。这种方法在一定程度上可以解决某些样品的精确定向问题。

有些生物样品较大,本身定向有一定困难,而需要观察的部位又是其中极小的一部分,用上述方法就很难得到满意的结果。例如家兔的早期胚胎,直径约2毫米,胚胎的壁由一层滋养层细胞组成的,将来形成胚胎的内细胞团则位于胚胎的一端,附着在滋养层细胞的内壁上,其直径不过25微米。要想同时观察滋养层与内细胞团及其相互关系,如采用上述方法,那就要很大的工作量而并不一定能得到满意的观察对象。为了解决这一实际问题,我们摸索了一种重包埋法。具体步骤如下:

固定整个胚胎,按常规方法脱水和浸透,Epon812包埋,在温箱聚合时只需24小时。将这初步聚合的组织块,不经任何修切,在超薄切片机上用干刀,连续切成每片8—10微米的厚片,按次序连续贴在事前滴上重蒸馏水的载玻片上,切好的厚片放在水滴上,加温展平、吸干。这样,直至一个包埋块内样品全部切完。然后在光学显微镜下,选择包含有需要观察部位的厚切片,做上记号,再把装有Epon

812混合液的胶囊倒置于选中的切片上面(见图),连同载玻片放入65℃温箱,聚合24小时。



从载玻片上取下重包埋的聚合块,可用快速冷却法,或煮沸法^[2]。我们采用加热法,即将载有倒置胶囊聚合块的载玻片放在铜片台上用酒精灯加热数分钟,轻轻摇动聚合块,就可取下。搁置数天后即可切片。

需注意的是重包埋时所使用的Epon812混合液比例必须和初步聚合时使用的相一致,否则会给切片造成困难,另外,切厚切片必须连续完整,中间不能损坏,否则如把含有所需材料的部位丢失,就会造成整个包埋块的报废。至于每张连续切片的厚度可根据需要选择。

我们应用这一方法,成功地观察了家兔胚胎滋养层细胞和内细胞团细胞^[3]。

参 考 文 献

- [1] Grimley, P.M., 1965, Selection for electron microscopy of specific areas in large epoxy tissue sections. Stain Tech. 40:259.
- [2] 洪涛等 1973, 电子显微镜观察病毒感染细胞包埋技术的改进. 微生物学报 Vol. 13 No. 1, 40—49
- [3] 曾弥白、吴筱兰、周美云, 1979, 天花粉蛋白对胚胎影响的超显微观察, 实验生物学报 12 (3)

* 本工作得到了曾弥白教授的热情鼓励和指导, 特此感谢。