

扫描电镜乙醇冷冻制断器

庄元忠 俞少勇
(浙江人民卫生实验院)

1980年上海生理所电镜室仿效日本EIKO厂生产的TF-I型冷冻制断装置,用钢精锅试制了以DMSO法为主的冷冻制断器^[1],促进了扫描电镜冷冻技术的普及提高。笔者在田中敬一教授乙醇冷冻制断法原理的基础上^[2],设计并加工制作了简易乙醇冷冻制断器(见图1a)。

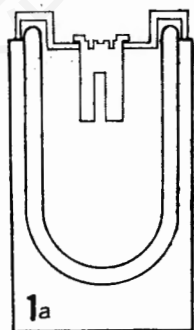


图1a 简易乙醇冷冻制断器纵断面侧视图简图

该装置结构简单,保温性好,操作方便,成功率高。现将加工制作和操作方法介绍如下:

一、加工制作冷冻制断装置

1. 样品台为直径65毫米,高135~150毫米的铜棒或铝棒,其底面中心钻一直径20毫米,深70毫米的圆孔,正面按图2b钻8—10个直径为6.3毫米的小圆孔,小孔深13毫米,正中挖一个能横放进2号胶囊的小槽(见图2)。

2. 样品台支架用3毫米厚的铝皮或2毫米厚的不锈钢皮,中间剪一直径为62毫米的圆孔,支架外径102毫米(比冷藏瓶内径稍小2—3毫米左右即可(见图3))。

3. 把样品台支架安放在冷藏瓶瓶口处,再把样品台放进支架圆孔中待用。

二、操作方法

1. 取材 按扫描电镜冷冻制断技术常规取材,样品切成 $1 \times 1 \times 5$ 毫米小块,以戊二

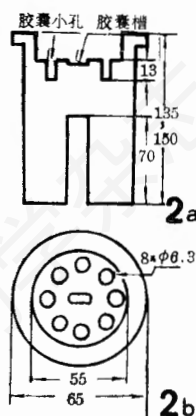


图2 样品台

a. 纵断面侧视图; b. 正面顶视图。

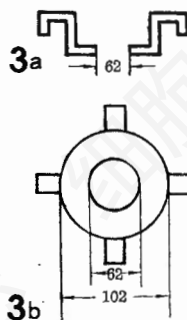


图3 样品台支架

a. 纵断面侧视图 b. 正面顶视图

醛钨酸双固定,一边脱水,一边进行以下操作:

(1) 从冷藏瓶上取下支架和样品台,瓶中倒入液氮至瓶胆 $1/2$ — $1/3$ 的高度,把样品台放入有液氮的瓶中预冷,待液氮不翻滚平静为止(见图4)。

(2) 取出样品台,装上支架,再把样品台放回支架圆孔内(见图5)。

(3) 在2号胶囊内装满乙醇。

2. 把脱水后的样品移入胶囊内,注意不要乙醇满出胶囊,用眼科镊子把胶囊夹入样品台小圆孔中,快速冷冻样品(图5,冷冻样品),

一次可以同时放入八只胶囊，约3—5分钟后迅速将固化的胶囊从小圆孔中夹出，横放在样品台中间小槽内，立即用冷却过的手术刀，对准胶囊中央位置，以小铁锤轻轻敲打手术刀背面(见图6)，胶囊即刻断裂成两块，把断裂的

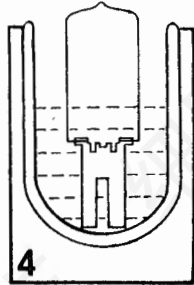


图4 预冷样品台

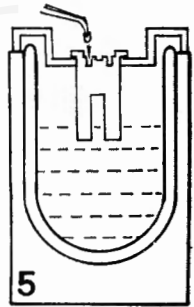


图5 冷冻样品

胶囊放回到100%乙醇中，快速退到磷酸缓冲液。正确掌握、控制样品冷冻的速度，是确定电镜观察效果好坏的关键，若冷冻时间不足，则样品断裂不好；冷冻过度，样品就容易破碎，一般情况下，待胶囊中的乙醇凝固变成灰白色

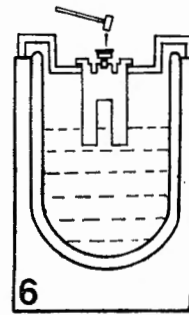


图6 割断样品

2—3分钟之后，割断比较合适，操作时动作越快越好，为了保持样品台的温度，做完一批样品后，只要把样品台重新浸入液氮中冷却即可继续使用，直到液氮用完为止。若能适当添加液氮，使样品台绝大部分始终浸在液氮中，冷却速度更快。

3. 2%丹宁酸组织导电法处理样品，再以液氮冷冻干燥后真空喷金^[3,4]。

参 考 文 献

- [1] 张铁锋等,1981,细胞生物学杂志,3(2):23—24。
- [2] 田中敬一,1979,讲演会参考文献集。石家庄。南京,481,日本产业株式会社精机输出部。
- [3] 庄元忠,1982,中华物理医学杂志,4(3):156—157。
- [4] 潘祥林等,1982,中华物理医学杂志,4(3):158—159。

车床加工本院仪药科维修组王裴珍,本院计划生育研究所张寅恭同志提供实验动物,特此致谢。

基础知识

浅谈植物液泡

向定蜀

(河南农学院)

植物细胞的一个显著特点，就是在它们分化成熟时，大都含有一或几个大型的液泡(vacuole)。众所周知，它是由液泡膜及其所包裹的细胞液组成的。液泡膜是典型的单位膜，90%以上的细胞液是水分，其中

溶有一些无机盐和有机分子。植物生理学家早就注意到液泡在植物生命活动中的重要作用。近十多年来，在亚显微与分子水平上的研究，特别是关于液泡动态的研究，使我们对它的认识更加深入了。这里仅就液