



## 扫描电镜实验报告

### 一、实验器材及试剂

#### 1、实验器材

名称	厂家	型号
临界点干燥仪	Quorum	K850
离子溅射仪	HITACHI	MC1000
扫描电子显微镜	HITACHI	SU8100

#### 2、主要实验试剂

试剂名称	厂家	货号
电镜固定液	Servicebio	G1102
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	100092183
乙酸异戊酯	国药集团化学试剂有限公司	10003128
1X PBS PH 7.4 (无菌)	科兔生物	RG-CE-10
锇酸	Ted Pella Inc	18456

### 二、实验步骤

- 取材固定:** 新鲜组织确定取材部位, 尽量减小牵拉、挫伤与挤压等机械损伤, 于 1-3 min 内取样, 组织块面积不超过 3 mm<sup>2</sup>。用 PBS 轻轻漂洗, 将样本表面的血污、毛发等去除, 保护好需要扫描的面并做好标记 (如在对面进行剪角处理)。迅速投入电镜固定液, 室温固定 2 h, 再转移至 4°C 保存。
- 后固定:** 用 0.1 M 磷酸缓冲液 PB (pH 7.4) 配制的 1% 锇酸避光室温固定 2 h。0.1 M 磷酸缓冲液 PB (pH 7.4) 漂洗 3 次, 每次 15 min。
- 室温脱水:** 组织依次于 30%、50%、70%、80%、90%、95%、100%、100% 酒精中各处理 15 min, 再于乙酸异戊酯中处理 15 min。
- 干燥:** 丙酮: 812包埋剂=1:1, 37°C 2-4 h; 丙酮: 812包埋剂=1:2, 37°C 渗透过夜; 纯812包埋剂, 37°C 5-8 h。将纯812包埋剂倒入包埋板, 将样品插入包埋板后, 37°C 烤箱过夜。将样本放入临界点干燥仪内进行干燥。

（干燥的样品及无机材料不需要以上步骤）

- 5、**样本导电处理：**将样本紧贴于导电碳膜双面胶上，放入离子溅射仪样品台中，喷金约 30 s。
- 6、**图像采集：**扫描电子显微镜下观察，采集图像分析。

### 三、结果判读：

- 1、**样品整体状态：**样品在样品台上固定牢固，无脱落、漂浮或污染。观察面应充分暴露，位置端正。
- 2、**固定与干燥质量：**样品表面形态保存完好，无明显的塌陷、皱缩、开裂等干燥假象（干燥样品及无机材料除外）。细胞或组织表面结构（如微绒毛、纤毛等）清晰，形态自然。
- 3、**导电处理效果：**喷金均匀，样品表面导电性良好，成像时无明显的荷电效应（如图像局部发亮、漂移或异常条纹）。
- 4、**成像质量：**图像聚焦清晰，景深适当，对比度与亮度适中，能清晰展现样品表面的三维形貌与纹理细节。标尺准确无误。

### 四、注意事项：

- 1、**取材与固定：**取材务必迅速，动作轻柔，最大限度减少机械损伤。固定液需足量、新鲜，确保样品完全浸没并立即固定，以保存最原始的表面形态。
- 2、**脱水与置换：**梯度脱水需彻底，尤其在高浓度乙醇与乙酸异戊酯置换步骤，避免水分残留影响后续干燥效果，导致样品塌陷。
- 3、**临界点干燥：**此为关键步骤，需严格按照仪器操作规程进行，控制好温度、压力和排气速率，以消除表面张力对脆弱结构的损伤。
- 4、**样品粘附与导电处理：**样品必须牢固粘附于导电胶上，防止镜检时脱落。喷金时间需根据样品性质调整，确保形成均匀、连续且厚度适中的导电膜，过薄易荷电，过厚会掩盖细节。
- 5、**特殊样品处理：**对于本身已干燥的样品（如粉末、某些无机材料），可跳过固定、脱水、干燥等前处理步骤，直接进行粘附和喷金。操作时需注意样品特性，避免污染或结构改变。

仅供科研用途，不可用于临床诊断！

