



透射电镜负染色实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
透射电子显微镜	JEOL	JEM-2100Plus
200 目膜铜网	中镜科仪	BZ11022B

2、主要实验试剂

试剂名称	厂家	货号
电镜固定液	Servicebio	G1102
磷酸氢二钠	国药集团化学试剂有限公司	10020318
磷酸二氢钠	国药集团化学试剂有限公司	200407190
PBS	科兔生物	RG-CE-10
醋酸双氧铀	EMS	22400

二、实验步骤

- 1、吸附：**吸取样品悬液 10–20 ul 滴在电镜载网上，吸附 10 min。吸走多余液滴，稍晾干。
- 2、染色：**吸取醋酸双氧铀染液 20 ul，滴到电镜载网上，静置 5 min。
- 3、干燥：**吸走多余染液，白炽灯下晾干。
- 4、图像采集：**透射电子显微镜下观察，采集图像分析。

三、结果判读：

- 1、颗粒分布与浓度：**样品颗粒应在支持膜上分散均匀，无大面积聚集或堆积。颗粒浓度适中，便于在电镜下找到单分散的个体进行观察和统计。
- 2、染色效果：**合格的负染色图像背景干净、均匀，呈现为无定形的浅色（电子透明）区域。样品颗粒本身因电子密度高而呈现为深色轮廓，结构细节（如衣壳、纤突等）与背景对比鲜明、边界清晰。
- 3、支持膜状态：**方华膜应完整、连续，无破裂、皱褶或污染。膜上无明显的染色剂结晶、沉淀或其他污染物干扰观察。



4、**成像质量：**图像聚焦准确，无明显的像散。亮度和对比度调节适当，能清晰展示颗粒的形态和表面结构，无过曝或过暗区域。

四、注意事项：

- 1、**样品准备：**样品悬液应尽可能纯净，避免高浓度盐分、去污剂或杂蛋白，以防在干燥过程中形成结晶或背景杂质。建议样品在染色前用适宜的缓冲液（如 PBS 或纯水）进行适当稀释或透析。
- 2、**吸附与清洗：**吸附后，若样品缓冲液盐分较高，可在染色前用一滴去离子水或低浓度挥发性缓冲液（如醋酸铵）在载网上短暂停留并吸走，进行快速漂洗，以减少盐结晶。
- 3、**染色控制：**醋酸双氧铀具有微弱放射性，操作时需佩戴手套，并在指定区域进行。染色时间需根据样品性质微调，时间过短可能导致对比度不足，过长则可能因染色过深而掩盖细节或形成沉淀。
- 4、**干燥过程：**吸走染液时动作需轻柔，避免滤纸直接接触支持膜中心区域损伤样品。确保载网在成像前完全干燥，否则在电镜高真空下会导致样品漂移或支持膜破裂。
- 5、**存储与观察：**制备好的负染色载网应存放于干燥器中，尽快上机观察，以防潮解。上机前，检查载网双面，确保将样品面朝向正确的方向放入样品杆。

仅供科研用途，不可用于临床诊断！