维普资讯 http://www.cqvip.com

电镜样品取材实验带教的体会

Experience in instructing students to sample by electron microscopy in experimental teaching

陶忠芬，可金星，肖桃元，黄文琪，王 莉 （第三军医大学高原医学系中心实验室，重庆 400038）

[关键词] 电镜；取材；教学
[中图分类号] Q-336；G642.4 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2005)02-0117-01

电镜技术是现代医学超微结构研究的重要手段，取材的好坏关系到整个实验的成败[1]。为研究生开设取材实验课，目的是让学员明确其重要性，掌握取材的要领。

1 拟计划，准备器材

实验前要有周全的实验设计，明确实验目的，正确选择分组和时相点，制定出实验流程，合理安排取材时机，备足实验器械和试剂。取材用的器械必须清洁、预冷。实验动物尽量维持正常生理状态，避免受到刺激或因条件的变化（如严寒或酷暑）而造成实验的失真。实验组、实验对照组和正常对照组的动物须在相同条件下取材，在时间上尽量同步，采用相同的固定剂，取材的部位相同，以增加实验的可比性和可靠性[2]。

2 强调取材的基本要求

透射电镜样品取材要求尽量活体取材，如人体穿刺活检、外科手术标本、动物活体解剖等。取材的要求概括为五个字：快、小、冷、准、狠。①快：为了能观察到尽量接近生理生活状态时的生物组织或细胞的结构，取材越快越好[2]。样品必须在离体后1 min内浸入固定液中以免时间过长，出现组织自溶。如需多部位取材，最好灌注固定，多人配合。②小：固定液的穿透能力有限，一般组织块大小不超过1 mm×1 mm×1 mm，但需做定向包埋的组织如肠道、血管、皮肤、肌肉等应修成1 mm×1 mm×2 mm长条，并根据观察要求确定其长轴与血管、肌肉的长轴平行或垂直。气管、肠道、血管应剖开，用生理盐水或0.1 mol/L PBS冲洗干净后再固定。③冷：为了降低自溶酶的活性，应尽量在低温下取材，所用容器和器械应预冷，取好的标本放在4℃冰箱保存。如果在高温天气取材最好在空调下进行，而且在修块时，将冰块放在蜡板下保持低温。④准：取材的部位一定要准确，如肾、脑、癌变部位等，根据研究目的和欲观察的部位准确切取组织。⑤狠：处死动物时要干净利落。取材用的器械应锋利，取材时动作简洁但要轻柔，切取组织时禁用剪刀，避免挤压、牵拉，防止组织结构的人工损伤性变化。

3 学员动手操作，强化意识

让学员准备好实验器械和试剂，取一只小鼠，根据实验要求取出典型部位的标本，如肝（实质性器官）、肺（密封青霉素小瓶抽气）、小肠（剖开冲洗，修成长条状）。在学员操作过程中，应指导学员按正规操作取材，强调取材的要求，针对学员易犯的错误认真分析产生错误的原因，予以纠正。经过正反两方面的对比分析强调取材的注意事项。

4 讨论

针对平时工作中有些研究生取材常出现的问题，与学员一起展开讨论，分析原因，强调取材的注意事项及对策，总结经验教训。①取材的组织块太大，这是比较常见的失误，结果是组织固定不好，不能良好保存超微结构。组织块应在固定液中尽快修小，体积一般不超过1 mm×1 mm×1 mm。②取材时间过长，样品固定不及时，引起自溶。要求操作迅速，尽量在1 min内将标本浸入固定液。③部位不准确或对切片方向不明确，如需要观察肾小球却取到肾髓质部位，观察癌变部位却取到周围组织或坏死组织，肌肉组织块修成与肌丝方向不垂直的长条等，造成实验失败。要求取材者要有一定的形态学实验基础，或事先有光镜切片对照；需要定位的在取材时作出某些标记。④标本受挤压、牵拉，造成人工假象。取材一定要用锋利的刀片，避免牵拉、挤压损伤，修好块后移标本时避免用镊子用力夹取，应用牙签轻轻挑起。⑤标本漂在固定液上，固定不好，如肺、脂肪组织等。解决办法就是密封抽气或用纱布条压于其上，使组织沉底，全部浸泡在固定液中。⑥未按要求自配固定液或用其它非标准固定液（如用手术室浸泡器械的戊二醛），固定效果不佳。应到电镜室取电镜专用戊二醛（用0.2 mol/L磷酸缓冲液配制，浓度为2.5%、pH值7.2～7.4），固定液不宜放置过久，颜色变黄或pH改变则不能用。不了解电镜取材或者特殊部位的取材应向专业人员询问，遵守严格的操作规程。电镜技术的特殊性对取材、固定、包埋、切片等一系列程序提出了严格要求[3]。取材需要送样者亲自操作，如果做不好，后续步骤将是徒劳。通过取材实验课的教学，将电镜技术理论知识应用于实际操作中，激发学员学习电镜技术的兴趣，提高了他们的动手操作能力，严格按取材的五点要求操作，掌握取材的方法，为今后的医疗诊断、科研工作打下坚实的基础。

[参考文献]

[1] 洪 涛．生物医学超微结构与电镜显微镜技术[M]．北京：科学出版社，1984.111-112.
[2] 杨勇骥．实用生物医学电子显微镜技术[M]．上海：第二军医大学出版社，2003.75-76.
[3] 李伯勤，张圣明．医学超微结构基础[M]．济南：山东科学技术出版社，2003.271-272.

[收稿日期] 2004-11-11 [修回日期] 2004-12-22
（编辑：蒋登金）