

2018 年新进所人员 实验规范参考资料

科技支撑与 技术服务中心	服务电话	联系人	手机号码
主 任	6625	王 岳	13704504540
仪器室:	6803	杨 涛	13091867655
	6803	刘培欣	13946086915
	6803	司 微	15146001556
	6804	曹子茜	18445862906
	6804	宋海慧	18845634691
电镜室:	6770	王靖飞	13946056383
	6774	沈 楠	13904656958
	6774	孙振钊	13804535541
	6773	刘在斯	13904612989
	6771	王世达	13796074534
病理室:	6778	胡守萍	13936675957
	6775	肖 菲	15765563892

第一部分 电镜观察及样品制备

一、电镜基本知识

1. 电子显微镜与光学显微镜主要有以下几个方面的区别：

a 照明源不同。电镜所用的照明源是电子枪发出的电子流，而光镜的照明源是可见光（日光或灯光），由于电子流的波长远短于光波波长，故电镜的放大及分辨率显著地高于光镜。人眼的分辨本领约为 0.1 毫米，光学显微镜的分辨率约 200 纳米，而电子显微镜的分辨率可达到 0.1 纳米以下。

b 透镜不同。电镜中起放大作用的物镜是电磁透镜（能在中央部位产生磁场的环形电磁线圈），而光镜的物镜则是玻璃磨制而成的光学透镜。电镜中的电磁透镜共有三组，分别与光镜中聚光镜、物镜和目镜的功能相当。

c 成像原理不同。在电镜中，作用于被检样品的电子束经电磁透镜放大后达到荧光屏上成像或作用于感光胶片成像。其电子浓淡的差别产生的机理是，电子束作用于被检样品时，入射电子与物质的原子发生碰撞产生散射，由于样品的不同部位对电子有不同的散射度，故样品电子像以浓淡呈现。而光镜中样品的物像以亮度差呈现，它是由被检样品的不同结构吸引光线多少的不同所造成的。

d 所用标本制备方式不同。电镜观察所用组织细胞标本的制备程序较复杂，技术难度和费用都较高，在取材、固定、脱水和包埋等环节上需要特殊的试剂和操作，最后还需将包埋好的组织块放入超薄切片机切成 50~100nm 厚的超薄标本片。而光镜观察的标本则一般置于载玻片上，如普通组织切片标本、细胞涂片标本、组织压片标本和细胞滴片标本等。

2. 常见电镜类型及其用途

常见的电镜按照其结构和用途不同可以分为透射电镜和扫描电镜。透射电镜在生物领域常用于观察组织和细胞的超微结构、检测样品中病原体（特别是病毒）的存在等。扫描电镜则主要用观察组织或器官表面的超微结构，可以获得立体的表面超微结构图像。

3. 冷冻电子显微镜

冷冻电子显微镜技术是在 20 世纪 70 年代提出的，到了 20 世纪 90 年代，随着冷冻传输装置及 CDD 成像装置的出现，发展了冷冻电镜单颗粒技术。

目前我们讨论的冷冻电子显微镜基本上指的都是冷冻透射电子显微镜，是在常规透射电子显微镜上增加样品冷冻设备，如果按照技术的角度可以将冷冻电子显微镜分为冷冻透射电子显微镜、冷冻扫描电子显微镜及冷冻蚀刻电子显微镜)。

通过使用液氮迅速将样品冷冻，这样可以减少样品的形变，从而得到更真实的样品形貌。

4. 常用的电镜样品处理方法

如果想观察细胞或组织的超微结构、细胞器病变、检查病原体在细胞或组织中的分布，则需以组织或细胞为样本，制备超薄切片进行观察。

检测细胞或组织裂解液等样品中是否存在病原（病毒颗粒），可通过负染色技术进行电镜观察样品的制备。

对组织或器官等表面结构或病理损伤的观察，则可对样本表面进行干燥处理，利用扫描电镜进行观察。

二、透射电镜负染色样品要求

1. 目的清楚

送样之前应先对样品进行一定的生物学特性分析，有一定方向性。送样时对样品的特性要有具体说明，如怀疑是何种病毒，做过那些检测试验，培养特性等。

2. 负染色样品的处理

电镜观察负染色样品要求尽量多的病毒粒子和尽量少的杂质，一般样品可以采取以下方法达到这一目的：

无囊膜病毒收取时可反复冻融病毒培养物（3次），使细胞内的病毒释放出来，囊膜病毒只需要收集上清液，避免反复冻融→低速离心去细胞碎片，每分钟3000转离心10-20分钟，→取低速离心的上清2ml，每分钟12000转离心10-20分钟高速离心，富集病毒，送电镜室镜检。必要时可做密度梯度离心，纯化病毒进行电镜观察。

病毒细菌等病原样本检测通常使用磷钨酸染色液作为染色剂，蛋白类样本检测通常使用醋酸双氧铀作为染色剂。

另外，被检病毒悬液需要有一定的浓度，一般要求病毒粒子以 10^4 - 10^6 个/ml为好。

三、透射电镜超薄切片样品要求

制备超薄切片取决于许多环节，其中包括取材、固定、脱水（常用的脱水剂为丙酮，免疫样本制作时脱水剂一般选择乙醇）、浸透、包埋（包埋剂为 812 环氧树脂）、聚合、修块、半薄切片、超薄切片、电子染色（常用染色剂为醋酸双氧铀及柠檬酸铅）等骤。每个步骤相互关联，相互影响。所以，在制备过程中，有它的周期性，受时间限制很多，制一次样品一般需用一周左右的时间。操作者要具有严密的、高度的科学性，认真操作，才能制备出质量较高的超薄切片。

电镜生物样品许多来自活的生物体，顷刻间和微小变化对组织细胞超微结构细节影响很大。因此，电镜生物样品处理原则选取样品是十分重要的。

1. 培养细胞取材

生长在培养瓶中的细胞，先把瓶盖打开，然后用刮刀轻轻刮下瓶底、壁上的细胞，将含有细胞液的组织倒入离心管中，用普通离心机低速离心（2000 转/分）15 分钟，使细胞聚成团块，弃上清液，换上新鲜固定液固定。

2. 组织器官取材

一般是先将动物急性处死，解剖出所需器官，用锋利的解剖刀剪除一小块组织，放在预先冷却的戊二醛固定液中。组织要切割成 1mm^3 小块。最好低温中进行（0—4℃）。这样固定剂才能尽快渗透组织。保持组织的新鲜。

光学显微镜下组织人工损害不易看出，但电镜样品的人工损害则是非同小可的大问题。所以在快速取材的同时，必须作到取材器械锋利干净，切割组织应避免牵拉挤压。

3. 固定

固定能使蛋白质发生不可逆的，永久性的变性，凝聚成大块的沉淀。理想固定剂，不但完整的保存细胞结构细节，同时具有良好电子反差。目前用的是两种固定液（1-3%戊二醛固定液和 1%锇酸固定液）。

戊二醛固定是对组织的预固定，有助于细胞微细结构，特别是酶活性保存。预固定可放入冰箱中（4℃）保存（30 分钟到数天）。

第二部分 兽医病理学检验技术

尸体剖检是运用病理剖检学和其他有关学科的知识，通过检查尸体的各组织、器官的病理变化来诊断疾病或研究疾病发生、发展和结局的规律，直接为临床实践和科学实验服务。

第一节 尸体剖检的准备及注意事项

做好剖检前的准备工作和了解应注意的有关事项是十分重要的。剖检前，术者既要防止环境污染，造成病原的扩散，又要注意自身防御，预防本身的直接感染；既要注意剖检过程中所用器械的选择及准备，又要考虑到在操作过程中可能发生的种种意外的情况。只有在剖检前做好一切准备工作，才能保证剖检工作的顺利进行，达到预期的目的。一般来讲，在进行剖检前应注意做好如下工作。

1. 剖检的时间：

总体来说，已确定剖检的尸体，其剖检的时间愈早愈好。一般在动物死亡后的3~24h内进行为宜，不可过迟，否则会因动物死后发生的腐败和自溶而失去剖检的意义。另外，剖检的时间最好在白天，因为在灯光下剖检时，一些病变的颜色往往不易辨认，容易造成误诊。

2. 剖检的地点选择：

剖检时(特别是对患有传染性疾病的尸体)，为了便于消毒和防止病原扩散，一般在病理解剖室或室内进行为好。如果条件不许可，也可在室外进行。在室外剖检时，以选择距房宿、厩舍、畜群、道路和水源较远，地势较高而且较干燥的偏僻的地点为宜。在选择好即将进行剖检的场地一旁，常常先挖好两米左右的深坑(或就地利用枯井、土坑等)，坑内撒一层生石灰。在准备进行剖检的地面上，最好铺上旧席子、塑料布或其他代用品，以便在其上剖检，借以减少环境污染的机会，这样还有利于对尸体及周围被污染的环境进行消毒处理。

3. 尸体的运输：

尸体一般多是用车辆搬运至剖检场地。搬运尸体(特别是炭疽、开放性结核和鼻疽等传染病)时，在搬运前必须先用浸透消毒液的棉花或纱布团块将尸体的天然孔予以堵塞，并用较浓的消毒液喷洒体表各部，在确认足以防止病原扩散的情况下方可搬运。此后，对运送尸体的车辆和与尸体接触的绳索等用具均应严密消毒。

4. 剖检的器械和药品准备：

最常用的器械有：剥皮刀、脏器检查刀、脑刀、外科剪、肠剪、外科刀、镊

子、骨锯(板锯等)、斧头、骨凿、磨刀棒或磨石、探针、量尺、量杯、注射器、针头和天平等。如果没有上述剖检器械，也可用一般的刀、剪来代替。

5. 剖检人员自身防护准备:

剖检时，术者虽可根据具体情况而进行着装，但一般均须穿着工作服、戴工作帽、穿胶鞋或胶靴。有条件时还可在工作服外罩上胶皮或塑料围裙，穿着胶皮衣、戴胶皮手套等。尚不具备此条件时，则应在手臂上涂抹凡士林或其他油类，防止血水等直接浸染皮肤而造成感染。在剖检过程中若不慎将手指或身体的其他部位割伤或碰破时，应依情况而停止剖检，对伤口立即进行消毒并妥善包扎。如损伤较重时，不宜再继续进行剖检，而剩余的工作应由助手来完成。当血液或其他渗出物喷入眼内时，应用2%硼酸水洗眼或用清水立即冲洗干净。

6. 剖检后尸体的消毒及处理:

剖检完毕，应立即将尸体、垫料和被污染的土层等一起投入坑内，在其上撒布较厚层生石灰或喷洒较多的消毒液进行严格消毒，这在剖检传染病尸体时尤为重要。消毒后用土掩埋，坑表土层应高出地面0.5m，而且坑围地面也应严密消毒。此外，在严冬季节，特别是东北和西北等地，常因冻土层较厚而不易挖坑时则可用木柴浇上柴油或汽油等将尸体焚烧。

7. 剖检人员和器械的消毒:

剖检完毕，参加剖检人员的双手应先用肥皂洗涤，再用消毒液浸泡几分钟，清水冲洗。为了除去粪便和尸腐的臭味，常可先用0.2%高锰酸钾溶液浸洗数分钟，再用2%~3%草酸溶液洗涤，令皮肤退去棕褐色之后，再用清水冲洗干净即可。剖检所用的器械和穿戴的防护衣等均须消毒并洗净。在消毒前，应先将附着于器械或衣物上的脓汁和血液等用清水洗净，然后再浸入消毒液中充分消毒，最后再用清水洗净。胶皮手套洗净后，须立即擦干，撒上滑石粉以备再用。金属器械经消毒后要擦干或再涂薄层的凡士林，以免生锈。

8. 尸体剖检前的外部检查

外部检查就是在剖检之前对尸体外部形态所进行的观查。在做外部检查时常须把所见之变化和已掌握的临床资料有机地结合起来，进行认真的分析和思考。这对剖检时确定重点、方法和步骤均可提供重要的线索，有时还可作为判断病因的重要依据。外部检查除对畜别、品种、年龄、性别、毛色和体态特征等进行登记外，还须特别注意对尸体的营养状态、皮肤、可视黏膜和尸体变化等进行详细的检查。

第二节 病料的选取及固定

1. 病料选取:

- a) 病料的采取应在动物杀死后立即进行, 否则细胞发生死后变化, 如自溶或腐败现象, 而失去原有结构。
- b) 取材时严禁机械损伤, 凡用镊子夹过或用手压过的组织均不可使用。取材时应用镊子夹该组织周围的结缔组织, 然后用快剪刀或手术刀将组织切下。
- c) 消化管的取材, 应先将一段肠管取下, 从中破开使其成一片状, 再将其铺于硬纸上(被膜面贴靠硬纸), 用大头针将四边固定, 用生理盐水轻轻将食物及粘液洗掉, 然后投入固定液。胃和胃的移行部的处理与肠管相同。
- d) 较小的管状脏器如输精管、输卵管、输尿管、中动静脉以及神经、脊髓等, 应取 1~1.5cm 长的一段固定, 亦可固定后再分段脱水。淋巴结、松果体、脑垂体、神经节等体积不大的组织应整个固定。脑组织按脑回切为横断固定。取材的大小, 既要保证组织的完整, 又不可过大, 一般在 3~4mm 厚, 以免组织内部固定不佳。

2. 病料固定:

采取组织后, 应立即进行固定。固定是制片极为关键的一个步骤。制片质量的优劣, 除与材料的新鲜程度有关外, 还取决于最初的固定是否适当和完全。

2.1 固定的目的和意义 固定分物理和化学两种方法。化学方法固定就是用化学试剂配成固定液使组织固定, 其作用有以下几点:

- 组织固定后, 能使组织和细胞内的蛋白质、脂肪、糖类及酶等沉淀和凝固, 抑制自溶、腐败, 以保持其原有形态结构, 与生活时原状相似。
- 组织和细胞内物质通过固定剂的作用, 因蛋白质等凝固和沉淀的关系, 使组织内各种物质产生不同的折光率, 染色后利于显微镜观察组织结构, 使原来在生活情况下看不清楚的结构变得清晰易见。
- 某些固定剂兼有硬化组织的作用, 使柔软组织硬化而不易变形, 有利于切片操作。如甲醛、氯仿、酒精、丙酮等都有硬化作用。
- 有些固定剂具有媒染的作用, 如重铬酸钾、铬酸等。媒染使细胞易于着色。

2.2 固定的注意事项:

组织固定时, 应注意下列几个问题:

- 所取的组织材料必须越新鲜越好, 组织切取后须立即投入预先准备好的固定

液中进行固定，切勿耽误，最迟不得超过 1~2h。

- 材料大小以直径不超过 5mm 为宜，材料与固定液的比例以 1:8 为准。
- 固定液以临用前配制为好，配后放置过久会失效。Helley 氏液是氧化剂和还原剂混合而成，容易变性，在低温下固定为好。
- 固定时间应视固定液的性质及渗透力的强弱、组织块大小而定。固定时间一般不超过规定时间，以免组织过度硬化和收缩，不但切片困难，还影响染色。如 Carnoy 及 Susa 液硬化作用强，固定只需数小时；Bouin 液硬化作用较弱，固定时间长些亦无妨。
- 某些柔软的组织不易切成薄片，可先以大块组织固定，待组织稍硬化，再切成小块继续固定。
- 含有气泡的材料投入固定液后，不会下沉，故须将气体抽出，使材料下沉。最简易的抽气方法是把材料和固定液一并倒入 10ml 的注射器中，抽动几次，气泡被抽出，材料即会下沉。肺组织虽可缚以重物，使其下沉于固定液中，但在脱水透明时仍须进行抽气。
- 沉落在固定液瓶底的组织块，往往块的下部不易受到固定液的作用，可在瓶底放些棉花使组织落于棉花上。
- 厚度超过 0.5cm 以上的较大材料块，最好置于冰箱冷藏固定，冷冻固定的时间虽长些，但能收到良好的效果，特别是组织化学制片，更需要冷藏固定。
- 固定时，要防止材料发生变形，如神经、肠系膜等应先平铺于硬纸上，再投入固定液中。有的材料（如肠管）固定后，黏膜会外翻，因此，取材时材料可切得大一些，固定 2~3h 后，修除其外翻或不平整的部分，再投入固定液中继续固定。
- 含有粘液、污物或血液的材料（如消化管、气管），需用生理盐水洗净后，再行固定。
- 外面包有坚实被膜，而内部结构又极易松散的器官，如睾丸，固定时，应先将整个睾丸投入固定液，固定 2~3h 后，再将其对半切开、修成小块继续固定。
- 大型动物标本最好用注射固定法，即将固定液注入血管内，固定效果好。
- 材料投入固定液后，须时常摇晃瓶子，以防止材料粘贴在瓶底上而产生固定不均匀的现象。
- 容器外需贴上标签，用黑色铅笔或绘图黑墨水写明材料名称、固定液及日期等。

第三部分 大型仪器设备操作规范

试验人员独立操作的仪器设备必须严格遵守操作规程。珍惜、爱护仪器设备。

- 1、严格按操作规程使用仪器设备，养成良好的操作习惯。
- 2、这些仪器设备都是精密、贵重、先进的仪器，要保持仪器设备清洁，保护、爱护仪器设备。
- 3、必须先学会操作后，方可独立使用。
- 4、遇到任何问题，随时向仪器设备管理人员咨询和报告。
- 5、由于错误操作引起的仪器设备损失，要追究事故责任。

红外荧光扫描成像



产地： 美国 基因公司

型号： ODYSSEY

用途： Western 分析， In-Gel Western 分析， 蛋白质定量分析， 双色磷酸化分析， 考马司亮兰胶的扫描， 蛋白双向电泳， 双色 EMSA， 双色微孔板分析， BD PowerBlot Analysis， Northern Blot， Southern Blot

仪器的操作流程：

1. 在面板上打开仪器电源开关，再开启电脑，关机时相反。
2. 用软布或无尘纸蘸双蒸水将扫描平面的玻璃擦拭干净。
3. 将要扫描的胶或膜（需要正面朝下放置）放到扫描平面上，记下坐标，扣上舱盖。
4. 双击软件图标，输入用户名、密码，进入主菜单。
5. 点击 scan 快捷键，选择要扫描的区域、介质、通道及合适的灵敏度、分辨率，开始扫描。
6. 扫描结束后对扫描结果进行分析。
7. 依次进行图象裁切、定道、定分子量标准、背景扣除等操作。
8. 根据需要输出图形或数据报告表格。

注意事项：

1. 扫描时请勿加入过量液体，避免仪器内部线路板短路报废。
2. 实验结束后请将扫描面板清洁干净。

DNA 离心浓缩仪



产地： 日本东京理化公司

型号： CVE-200D

主要用途

主要用于 DNA 样品的浓缩干燥。（原理：通过真空泵，把被浓缩的样品中的溶剂抽出来。离心的作用是沉降作用和加速样品的分子运动，加快浓缩速度。该浓缩仪对挥发性溶剂效果比较好）

操作注意事项

*若被浓缩的样品中，溶剂是有毒或挥发性溶剂，一定要用冷阱和捕捉瓶回收溶剂。（避免有毒物质散发到空气中，危害人员身体健康。对于一些无毒、无污染、而且少量的挥发性溶剂，比如：乙醇，也可以不用冷阱回收，可以直接排放。）

*实验完毕后，必须关闭电源。

超声波破碎仪



产地：美国 Sonic

型号：VCX750/VCX150

操作流程：

- 1、放好样品（样品放入冰水混合液中），将探针插入样品液面以下 1cm，关闭箱门。
- 2、打开电源开关，调节振幅旋钮至需要振幅量。以百分比数值显示。满量程既 100% 为 750W。
- 3、全程时间设定：按“TIMER”键，输入数字，按“ENTER REVIEW”键确认。
- 4、周期时间设定：按“PULSE”键，输入数字，按“ENTER REVIEW”键确认设定破碎时间。再输入数字，按“ENTER REVIEW”键确认设定间隔时间。
- 5、按“START/STOP”键开始运行，运行的过程中要时常观察样品，保证样品管始终处于冰水混合液中。
- 6、随时可以按“START/STOP”键停止运行。
- 7、操作完毕，关闭电源开关。

注意事项

- *禁止超声波探针空载运行。（无法释放能量，会烧毁设备）
- *禁止振幅设置超过 40%（使用锥形探针时，功率调节超过 40%，因为探头截面很小，不能量完全释放，会烧毁探头换能器）。
- *禁止将液体溅到转换器内。（引起短路，导致电路烧毁）
- *禁止使用玻璃容器。（容易破碎，造成人身伤害）
- *探针必须插入液面以下 1cm。（保证足够的接触面积，保证能量的释放，若不足 1cm，容易烧毁换能器）
- *使用完毕后，必须关闭电源。

离心技术

离心机转子种类:

	水平转头	角度转头	垂直转头	区带转头	分析转头
分离前					
分离中					

离心时间计算:

$$T = \frac{K}{S} \left(\frac{\text{最高转速}}{\text{实际转速}} \right)^2$$

高速离心机



产地： 美国 BECKMAN

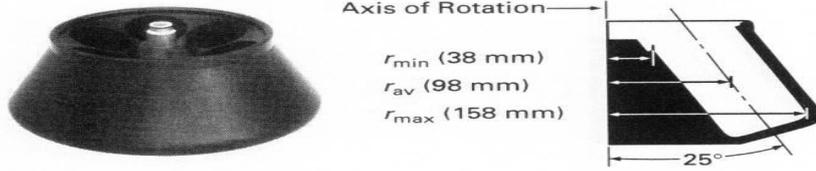
型号： Avanti J-26XPI

注意事项

- *离心样品必须配平
- *离心瓶(管)必须对称放入转子内
- *必须使用专用离心瓶，加样量为总容量的 80%（加样过满，会造成样品泄露。加样过少，没有液体传导压力和支撑离心瓶壁，会造成离心瓶变形，导致离心瓶报废。样品泄露就会造成转子不平衡，导致离心机轴弯曲变形、真空泵损坏，甚至导致离心机报废等严重事故。）
- *必须盖好转子盖并旋紧锁定螺丝
- *水平转子必须将吊篮（吊桶）全部挂上
- *严禁使用转子的极限速度，转速不超过最高转速的 90%（长期使用，转子已经疲劳老化）
- *运行后，离心机达到设定转速，并确认运行正常以后，方可离开
- *使用完毕后，将离心机盖敞开（保持转子室干燥，若转子室内不干燥，会损伤真空泵和部分机件生锈）
- *保持转子和转子室清洁干净
- *关闭电源（电源打开状态，压缩机处于工作状态，会减少压缩机的使用寿命，也浪费电能）
- *做好记录（该记录是对离心机运行情况的一个记载，对离心机的维修维护，有很重要的参考作用，希望大家认真做好记录工作，同时养成良好的操作习惯）

转子与离心管

JA-10 型角度转子

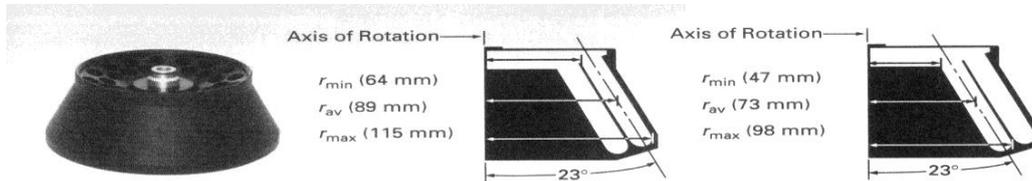


Fixed Angle Rotor, Aluminum

Major applications: Largest-volume fixed angle rotor for initial processing of tissue homogenates and other large particles.

Max rpm	Max g	k factor	Number of Tubes Volume/Size	Rotor Capacity
10,000	17,700	3,610	6 x 500 mL 2 1/4 x 6 1/2 in 69 x 160 mm	3000 mL

JA-20.1 型角度转子



Fixed Angle Rotor, Aluminum

Major applications: High-force, large-volume separation of particles with 100 S or larger sedimentation coefficients.

Max rpm	Max g	k factor	Number of Tubes Volume/Size	Rotor Capacity
20,000	51,500	371	32 x 15 mL 1/2 x 4 in 18 x 100 mm	480 mL
20,000	43,900	465		

JA-18 型角度转子

JA-18
Biosafety
10 x 100 mL
JA-18

Fixed-Angle Rotor, Aluminum
Major applications: High-force, large-volume. Pelleting bacteria, cell membranes, and subcellular organelles.

Max. RPM	Max. g	k Factor	Number of Tubes Volume/Size	Rotor Capacity
18 000 (16 000 rpm at 4°C and below)	47 900	566	10 x 100 mL 38 x 102 mm	1 L 1.5 x 4 in

JA-16.250 型角度转子

JLA-16.250
Biosafety
6 x 250 mL
JLA-16.250

Fixed-Angle Rotor, Aluminum
Major applications: General purpose, large-volume and multitube processing. Lightweight alternative to conventional 6 x 250 rotors; empty rotor weight is 10.3 kg (22.7 lb).

Max. RPM	Max. g	k Factor	Number of Tubes Volume/Size	Rotor Capacity
16 000*	38 420	1 060	6 x 250 mL 62 x 120 mm 2.5 x 5.5 in	1.5 L

For use in Avanti® J Series and J2 Series centrifuges.

JA-25.50 型角度转子

JA-25.50		8 x 50 mL	JA-25.50
-----------------	---	-----------	-----------------

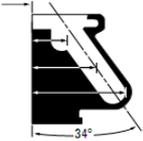


Axis of Rotation

r_{min} (38.5 mm)

r_{sv} (73.2 mm)

r_{max} (108 mm)



34°

Fixed-Angle Rotor, Aluminum

Major applications: Harvesting bacteria, processing tissue homogenates, subcellular particulates, routine pelleting such as precipitates and phase separations.

Max. RPM	Max. g	k Factor	Number of Tubes Volume/Size	Rotor Capacity
25 000	75 600	418	8 x 50 mL 29 x 104 mm 1.125 x 4 in	400 mL

For use in Avanti® J Series and J2 Series centrifuges.

JLA-8.1000 型角度转子

JLA-8.1000		6 x 1000 mL	JLA-8.1000
-------------------	---	-------------	-------------------



Axis of Rotation

20°

119 mm

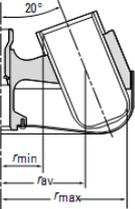
171 mm

222.8 mm

r_{min}

r_{sv}

r_{max}



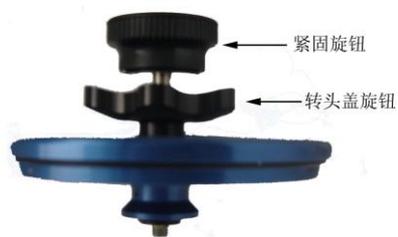
Fixed-Angle Rotor, Aluminum

Major applications: General purpose, large-volume processing, pelleting of bacteria, cell organelles, viruses, and precipitates. Empty rotor weight is 16.8 kg (37 lb).

Max. RPM	Max. g	k Factor	Number of Bottles Volume/Size	Rotor Capacity
8 000	15 900	2 470	6 x 1000 mL 95 x 191 mm 3.8 x 7.65 in.	6 L

For use in Avanti® J-20XP Series centrifuges.

转子 JA-16.250 和 JA-25.50 转子盖操作使用步骤



上样顺序：先旋紧转头盖旋钮，再旋紧紧锢旋钮

下样顺序：先旋开紧锢旋钮，再旋开转头盖旋钮

上样时必须将转头盖旋钮和紧锢旋钮全部旋紧

离心管使用中的注意事项



容 量： 1000ml 500ml 250ml 100ml 50ml 15ml

加样量： 800ml 370ml 200ml 80ml 40ml 12ml

*离心瓶（管）高压灭菌时间为 15 分钟以内。（高压灭菌处理会减少离心瓶的使用寿命。必须高压处理时，一定完全打开瓶盖，否则，会造成离心瓶永久变形而导致报废）

*加样量为离心瓶最大容量的 80%（加样过满，会造成样品泄露。加样过少，没有液体传导压力和支撑离心瓶壁，会造成离心瓶变形，导致离心瓶报废。样品泄露就会造成转子不平衡，导致离心机轴弯曲变形、真空泵损坏，甚至导致离心机报废等严重事故）

*必须旋紧旋盖，防止样品泄露（1000ml 和 500ml 离心管一定加盖衬盖，防止样品泄漏）

*禁止紫外处理，禁止使用有机溶剂处理（会导致离心瓶损坏）

离心瓶是很贵重的一种耗材，希望大家珍惜，尽量避免非正常的损失

流式细胞仪

根据流式细胞仪的使用功能及用途不同可分为：**分析型流式细胞仪**和**分选型流式细胞仪**两种类型

分析型流式细胞仪：



厂家：美国 beckman 公司
型号：FC500



厂家：美国 BD 公司
型号：C6plus

分选型流式细胞仪：



厂家：美国 beckman 公司
型号：Moflo XDP



厂家：美国 BD 公司
型号：Aria II

用途：流式细胞仪可以同时检测单个细胞的多种细胞参数。

1. **内部参数：**前向角光散射（FSC）显示细胞的大小，侧向角光散射（SSC）显示细胞质的颗粒性。从内部参数可了解细胞的大小、形态、细胞质的颗粒性、色素含量等。
2. **外部参数：**对细胞的某待测成分进行特异性荧光标记后进行检测，包括细胞增殖及细胞周期、细胞凋亡、细胞功能检测、基因转染、各种类型细胞的无菌分离纯化等。流式细胞仪能以每秒钟数十、数百、数千个细胞的速率进行检测，测定的细胞总数可达数千、数万，使得样本能在较短时间内得到全面和准确结果。

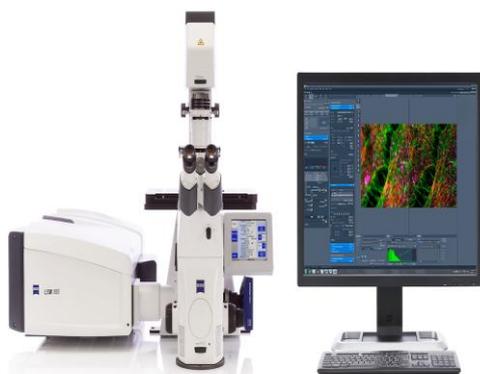
样品前期处理及注意事项

1. 样品需制成单细胞悬液方可检测。
2. 制备后的单细胞悬液其细胞密度需在 5×10^5 — 1×10^7 /mL 为宜。
3. 设置对照样品，采用与抗体来源同型匹配的无关对照和荧光抗体的本底对

照。若实验涉及多种染料的染色分析，还应准备相应染料的单染管，以用于补偿的调节。

4. 荧光抗体染色后充分洗涤，注意混匀和离心速度，减少重叠细胞和细胞碎片。
5. 新鲜组织样本取材时避免出现出血坏死组织，抗凝剂使用肝素钠，不宜采用肝素锂、EDTA、ACD。
6. 标本采集后要及时固定或低温保存，以免组织发生自溶，DNA 降解，而造成测试结果的误差。若为细胞凋亡的检测，样品应在 1 小时内进行上机。
7. 固定剂要采用对组织细胞穿透性强的浓度，70%的乙醇固定效果较好。
8. 单细胞悬液制备过程中，注意将待测细胞成分分离出来，减少其他成分的干扰，并注意不要损伤该群细胞。
9. 从组织中分离出的淋巴细胞或经处理后的常规培养细胞必须用 300 目的滤网过滤，避免堵塞仪器管道。
10. 在进行细胞分选时，样品收集管需加入培养基且体积在 1 mL 以上；单克隆分选时，96 孔板需加入至少 200 μ L 的培养基，以免细胞打入管壁或孔壁上，影响细胞活性。
11. 上机检测时，需根据染料的激发波长及发射波长选择合适的通道进行检测，以免获取错误的实验结果。

ZEISS LSM880 激光共聚焦扫描显微镜



产地：德国卡尔蔡司公司

型号：LSM 880

用途：激光扫描共聚焦显微镜（Laser Scanning Confocal Microscope, LSCM）是以激光为光源，以照明点和探测点共轭光路为探测系统，通过针孔的选择和光电倍增管的收集，对样品的自发荧光或被标记荧光进行共焦、实时扫描的一种光学显微镜。

配备激光器波长：405，458，488，514，543，633nm；倒置荧光显微镜（目镜：10X；物镜系列：5X，10X，20X，40X，油镜 63X）；明场及微分干涉相差成像；图像工作站等。主要功能有：

- 1、多标记固定标本和活体标本的高分辨率荧光图像采集，可同时采集荧光、明场和微分干涉图像（标本厚度可达 100 微米）。
- 2、活体或固定标本的光切片采集和三维重建（光切片最薄可达 0.2 微米）。
- 3、活细胞荧光信号动态变化的时间序列图像采集和分析。
- 4、快反应信号高时间分辨率线扫描图像采集和分析。
- 5、大图拼接和多点实验。
- 6、荧光共定位分析实验、光漂白恢复（FRAP）实验、荧光共振能量转移（FRET）实验等定量实验分析。

样品前处理：

- 1、载玻片、盖玻片、培养皿一定要选择质量好、光洁、无杂质的，且要清洗干净，以免产生荧光干扰。如使用培养皿，要使用激光共聚焦专用培养皿。
- 2、好的图像，须使用高数值孔径的物镜，工作距离短，必须使用玻璃底培养皿；或者盖玻片朝下、载玻片朝上，这就需要封片，封片剂要干净，无自发荧光。
- 3、贴壁细胞培养，需尽量避免培养液中的荧光标记物或荧光杂质沉积在玻片或皿底，这会使图像的背景不纯，严重时，无法成像。
- 4、荧光标记的发光效率，特异性，直接影响成像信噪比，清晰度。

- 5、组织切片样品，贴片要贴平，如有气泡、重叠，影响图像质量。
- 6、封片时，载玻片要放平，用力要均匀，以免片子倾斜，影响图像质量。
- 7、激光强度、PMT 电压、背景消除、扫描时间和速度等参数对图像质量的影响：
 - 7.1、激光：激光调大，图像整体亮度上升，信噪比变好，但是容易淬灭；
 - 7.2、PMT：PMT 电压上升，图像对比度上升，但是暗电流导致信噪比下降，图像粗糙；
 - 7.3、背景：背景消除越多，图像的背景越干净，但是对比度下降，需要调节其它参数来弥补。背景过分消除会导致图像失真。
 - 7.4、扫描时间和速度：时间长，速度慢，图像信噪比好，清晰度高。但是耗时，易淬灭。

注意事项：

- 1、正确记录荧光灯泡开启/关闭时间，荧光灯源开关后需等 30 分钟才能再次开启，不要半小时内反复开关。
- 2、488 氩离子激光器在使用之前需要预热，使用之后需要冷却至风扇停止才可以断电关闭。
- 3、使用预约系统上传数据时，需上传小于 50M 的文件。
- 4、如培养液不慎滴落于物镜上，须尽快以拭镜纸沾纯酒精轻轻擦拭干净。
- 5、使用油镜时加油不要过多，否则流下会损伤激光器。实验结束以后，要使用擦镜纸，沾湿无水乙醇擦拭物镜。
- 6、禁止戴手套操作。

ZEISS LSM800 超高分辨率活细胞显微镜



产地：德国卡尔蔡司公司

型号：LSM 800

用途：

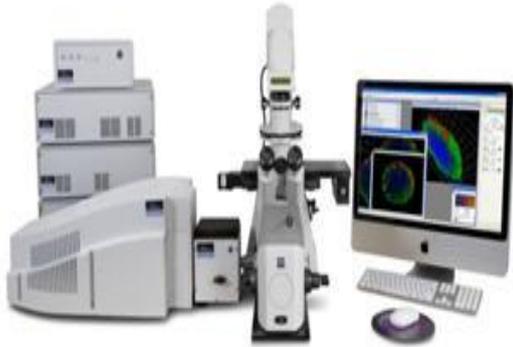
配备有激光器波长：405, 488, 561, 640nm；倒置荧光显微镜（目镜：10X；物镜系列：5X, 10X, 20X, 20XLD, 40X, 40XLD, 油镜 63X）；明场及微分干涉相差成像；Airyscan 超高分辨率检测器；活细胞工作站；自动聚焦设备；图像工作站。主要功能有：

- 1、多标记固定标本和活体标本的高分辨率荧光图像采集，可同时采集荧光、明场和微分干涉图像（标本厚度可达 100 微米）。
- 2、活细胞工作站，可精确控制温度、湿度、CO₂ 浓度，实现活细胞长时间培养观察。
- 3、活体或固定标本的光切片采集和三维重建（光切片最薄可达 0.2 微米）。
- 4、活细胞荧光信号动态变化的时间序列图像采集和分析。
- 5、快反应信号高时间分辨率线扫描图像采集和分析。
- 6、大图拼接和多点实验。
- 7、Airyscan 超高分辨率检测器，可以实现 120nmxy 轴和 350nmz 轴分辨率成像。
- 8、荧光共定位分析实验、光漂白恢复(FRAP)实验、荧光共振能量转移(FRET)实验等定量实验分析。

注意事项：

- 1、如培养液不慎滴落于物镜上，须尽快以拭镜纸沾纯酒精轻轻擦拭干净。
- 2、正确记录荧光灯泡开启/关闭时间，荧光灯源开关后需等 30 分钟才能再次开启，不要半小时内反复开关。
- 3、使用预约系统上传数据时，需上传小于 50M 的文件。
- 4、在使用活细胞工作站长时间实时检测细胞状态时，要滴加 37℃ 的油，要注意水瓶内蒸馏水的充足，同时空调温度不要高于 23℃。
- 5、使用油镜时加油不要过多，否则流下会损伤激光器。实验结束以后，要使用擦镜纸，沾湿无水乙醇擦拭物镜。
- 6、禁止戴手套操作。

3D 活细胞激光共聚焦成像分析系统



产地：美国 PerkinElmer 公司

型号：UltraVIEW VoX

用途：

配备激光器波长：405，440，488，514，561，640nm；主要用于长时间、快速的观测和记录细胞动力特性、细胞信号转导、囊泡运输、钙火花、蛋白表达分析、胞内离子信号传输、荧光共定位等应用。可进行多维实时图像采集功能，包括空间三维（xyz）、时间（t）、波长（w）、位置（p）。具有强大的软件分析功能，包括共定位分析、快速 3D 重构等功能

注意事项：

1. 使用前请仔细阅读仪器使用指南。
2. 不能用有机溶液清擦其它部件表面，特别是塑料零件，可用软布蘸少量中性洗涤剂清擦。
3. 使用油镜时加油不要过多，否则流下会损伤激光器。实验结束以后，要使用擦镜纸，沾湿无水乙醇擦拭物镜。
- 4、禁止戴手套操作。

高通量组织研磨仪



产地：德国 Qiagen

型号：TissueLyser II

用途：

TissueLyser 高通量组织研磨器可以提供植物样品、动物组织、细菌和酵母样本的低温条件下同步的、快速的、高产量的样品破碎制备，为进一步的核酸纯化、DNA/RNA 的提取过程提供了可靠的、优质的实验样本。

操作注意事项

- 1、仪器应放置于干燥通风的环境中使用。
- 2、样品对称分布于样品夹中，确保样品夹平衡。
- 3、关闭安全门前需确认夹具已完全固定，无松动现象。
- 4、设置振荡频率时不得超过最大量程 2000 次/min。
- 5、对样品进行冷冻时，应注意防止液氮溅出，造成冻伤。

超微量紫外分光光度计



产地：德国 Implen

型号：P330

用途：超微量紫外分光光度计能够以移液器点样的方式快速测量核酸、蛋白的浓度。每次测量所需要的样品量仅需 0.3ul - 1ul 即可，直接将样品点于点样板上。

操作步骤：

- 1、测量前，要将测量样品中度混匀。
- 2、打开机器，按照实验要求，选择对应的功能。
- 3、选择对应的盖子。
- 4、先测量“blank”，然后再测量样品。

操作注意事项

- 1、每次测量的核酸样品量应根据仪器建议的上样量，进行上样。
- 2、每次测量完样品后，用无尘纸擦净盖子内部和测量柱上残留的样品。
- 3、测量菌液 OD 值时，需要用比色杯。加注菌液时，菌液的液面高度不低于 2cm，以保证仪器内的光路可以透过样品。

AKTA 蛋白纯化系统



产地：美国通用电气公司

型号：AKTA explorer100

主要用途：

适用各种层析技术，专门分离和纯化各类生物分子，包括天然蛋白质，重组和融合蛋白质、肽、寡核酸、质粒、病毒、多糖、抗生素、生物碱等等。

操作注意事项：

1. 流速范围： 0.1–100mL/min; 压力范围： 0–10M Pa。
2. PH 计探头检测范围在 190–700nm, 如果样品的特征吸收谱线在此范围内即可纯化。
3. 所有的工作液和样品都需要经过 0.45 μ m 滤膜过滤，超声脱气，温度平衡（与仪器所处环境温度相同）。
4. 当系统运行液从含盐 buffer 切换到有机溶剂时，需先用水冲洗系统，再切换到有机溶剂。以免结晶堵塞管路。
5. PH 计探头需放置在保护液中，不能长期暴露于空气，以免干燥，影响监测结果。
6. 实验开始前，请先用水清洗泵及系统。
7. 连接柱子时，需要给系统一个流速，当有液体从上柱位阀流出时，再连接柱子，避免柱子内进气泡。
8. 在执行泵及系统的清洗命令时，系统的压力很高，不要手动暂停此过程，以免损伤机器。系统将自动执行全过程。
9. 实验结束后，先用水清洗泵及系统，将 PH 计探头拆除后，再用 20% 乙醇清洗泵及系统。
10. 观察泵头循环管路的试剂瓶中液体体积，如增多可能是泵漏了。此循环液需两周更换一次。