

组织匀浆方法

1、取组织块 (0.2g~1g) 最少可到 2~5mg, 在冰冷的生理盐水中漂洗, 除去血液, 滤纸干,

重, 放入 5 或 10ml 的小烧杯内

2、用移液管量取预冷的匀浆介质 (pH7.4, 0.01mol/L Tris-

HCL, 0.0001MOL/LEDTA-2Na, 0.01mol/L 蔗糖 0.8%的氯化钠溶液) 或者用 0.86%冷生理盐水, 匀浆介质或生理盐水的体积总量应该是组织块重量的 9 倍, 用移液管或移液器取总量的 2/3

的匀浆介质或生理盐水于烧杯中, 用眼科小剪尽

快剪碎组织块 (天然时操作要在冰水浴中进行, 将盛有组织的小烧杯放入冰水中)。

3、匀浆的方式有多种: 手工匀浆、机器匀浆、超声匀浆、反复冻融。

手工匀浆:

将剪碎的组织倒入玻璃匀浆管中, 再将剩余的 1/3 匀浆介质或生理盐水冲洗残留在烧杯中

的碎组织块, 一起倒入匀浆管中进行匀浆, 左手持匀浆管将下端插入盛有冰水混合物的器皿中, 右手将捣杆垂直插入套管中, 上下转动研磨数十次 (6~8 分钟), 充分研碎, 使组织匀浆化。

机器匀浆:

用 GD200 组织研磨机 6m/s 研磨制成 10% 组织匀浆, 也可用内切式组织匀浆机制备 (Elfin 均质仪) 匀浆时间 20 秒/次, 间隙 10 秒, 连续 3-5 次。

超声粉碎:

用超声波细胞破碎仪 进行破碎, 可用以振幅 12.7mm 超声处理 30 秒使细胞破碎

反复冻融：

培养或者分离的细胞可以用以上的方法匀浆，也可以反复冻溶 3 次左右（即让细胞加适量的低渗液或者双蒸水放低温冰箱中结冰，溶解，再结冰，再溶解，反复 3 次左右），但有部分酶活力会受影响。取少量组织匀浆做涂片（直接涂片、染色均可），显微镜下观察细胞是否磨破，若没有破则可以延长匀浆时间或增加冻融次数。

4、将制备好的 10% 匀浆用普通离心机或低温低速离心机 3000r/min 左右离心 10~15 分钟，若检测 AP 酶，则只需要 1000 转/分，离心 5 分钟，将离心好的匀浆留下上清弃下面沉淀。根据你的实验需要，取适量上清液进行各种测定。

本实验方案采用 GD200 多样品组织匀浆机