

植物组织样本的前处理

一、匀浆介质

一般采用 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.4 磷酸盐缓冲液(PBS), 客户可根据样本及测定指标的情况自行设定浓度, 目的是保持样本的等渗环境。

二、组织匀浆的制备

- 1、取组织块 (0.2g~0.5g) 最少可到 5~10mg 在冰冷的 PBS 中漂洗, 滤纸拭干, 准确称重, 放入 5ml 的匀浆管中。
- 2、按重量(mg):体积(ml)=1:4 的比例加入 4 倍体积的匀浆介质于匀浆管中, 冰水浴条件下, 用眼科小剪尽快剪碎组织块。
- 3、匀浆的方式: 手工 Elfin 匀浆, 机器匀浆。

手工匀浆: 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 Elfin 匀浆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, 制成 20%的匀浆液。

机器匀浆: 用 GD200 组织捣碎机 10000~15000 转/分 上下研磨制成 20% 组织匀浆, 也可用内切式组织匀浆机制备 (匀浆时间 10 秒/次, 间隙 30 秒, 连续 3~5 次, 在冰水中进行, 可适当延长匀浆时间),

镜检观察: 取少量组织匀浆作涂片 (直接涂片、染色均可以), 显微镜下观察细胞是否破碎, 若没有则可延长匀浆时间。

- 4、将制备好的 20%匀浆液用普通离心机或低温低速离心机 4000 转/分左右, 离心 10~15 分钟, 取上清液进行测定。

三、样本保存:

植物组织样本暂时不测定, 可立即低温冻存, 温度越低越好, 中间如不反复冻融, -20℃以下可保存三个月, -70℃以下可保存六个月。

制备好的匀浆液建议不要冻存, 最好当天进行测定, 如放置时间过长相关酶活会有所下降, 部分指标 4℃可存放 3~5 天 (如 SOD 要存放 2~3 天, MDA 可存放 3~5, 总蛋白测定可存 5~7 天等)