



mmi protocol-冰冻切片切割

在进行激光显微切割前需要对组织进行切片并使用 mmi 膜片制片。冰冻切片的制作过程相对简单，且操作较快。制片过程请参考冰冻切片厂家的安全指南。

材料:

冰冻包埋剂 空的玻片盒
干冰 标本架
低温恒温箱和一次性刀片
mmi膜片 (PN: 50102, 50103)

可选:

多聚赖氨酸 (Poly-L-Lysine)
明胶 琼脂糖

注意:

为了防止融化，冰冻切片必须立即被固定，存放在低温恒温箱内，直至切片完成，或者立即放在-80°C或者干冰上。冰冻切片膜片必须一直放置在干冰上，防止下游实验目标分子降解（RNA、DNA和蛋白）。

方法

低温恒温器的准备

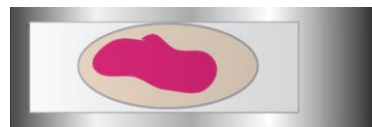
- 1、使用干净的试剂清洁低温恒温器；
- 2、插入新的无菌刀片；
- 3、对于新鲜冷冻的和包被的样品，使用一滴冷冻包埋剂，将样品固定在组织支撑器上——确保固定在正确的切割位置（样品的切面与刀片平行）；
- 4、等待20min，使包埋剂和样品降至低温恒温箱的温度；
- 5、将空载玻片盒置于低温恒温器中，使其平衡至低温恒温器温度(-20°C)。



注意：切片必须放置在mmi膜片平整的一侧。

冰冻切片的准备

- 1、切割5-10um厚的切片；
- 2、切割后使用刷子或牙签移动冷冻切片样品；
- 3、去除切片的皱褶
- 4、取一张MMI膜片（室温），朝下贴近被切下的样品，使切片贴在膜片上。用戴手套的手指轻轻擦拭组织部分的下侧，将热量传递给样品帮助粘连。
- 5、对膜片进行UV处理以消毒并增加粘附性（可选）：为了帮助样品粘附到膜片上，可以在UV光下照射膜片15-30分钟。最适合仪器为紫外线杀菌罩。紫外线会使膜稍微分解并使其发粘，增加粘性。照射时间不要超过30分钟，否则会损坏膜片。



使用膜片支撑板

将膜片凹陷一侧放置在支撑板（室温）上，帮助切片的解冻，并固定在膜片平整的一侧。

膜片包被以增加粘附性（可选）:

对于脂肪的、硬的、纤维的或含有软骨/骨骼的组织，建议对膜片进行包被（聚L-赖氨酸，琼脂糖或明胶）。

最常见的方法是用0.1%poly-L-Lysine涂覆mmi膜片，室温下孵育1小时或在37°C孵育30分钟。此外，也可使用0.1%明胶或者琼脂糖进行包被，操作方法相同。