

细菌前处理方法

1、试剂和耗材

所有试剂，除特别申明外，均为分析纯，水为去离子水。

甲醛：浓度不小于 37.0%-40% (m/m)

冰醋酸：浓度不小于 99.5% (m/m)

无水乙醇：浓度不小于 99.5% (m/m)

丙三醇：浓度不小于 99% (m/m)

叔丁醇：浓度不小于 99% (m/m)

离心机、量筒、离心管、塑料吸管、样品槽、导电胶、样品台

FAA 固定液配制：

甲醛(37%—40%) 5ml； 冰醋酸 5ml； 50%酒精 90ml； 丙三醇 5ml。超声混匀。

2、样品前处理步骤：

2.1 取材：如果是细菌侵染植物组织，需将染菌部位的边缘剪下，按照植物样品前处理方法处理。

如果细菌被提取出来或在培养皿上离体培养的，那么挑取少量菌体至离心管中，加入固定液，过夜固定。

2.2 乙醇梯度脱水：50%乙醇（15min，1 次）→60%乙醇（15min，1 次）→70%乙醇（15min，1 次）→75%乙醇（15min，1 次）→85%乙醇（15min，1 次）→95%乙醇（15min，1 次）→100%乙醇（15min，2 次），每个步骤都得充分离心，将菌体离心至管底。

注意：梯度脱水过程中，管中液体倒出后，迅速加入下一梯度乙醇溶液，切不可一批全部倒完后，一个一个加溶液，这样很多样品就会变形。

2.3 干燥：加入叔丁醇，放至 4℃冰箱冷冻，30min 观察叔丁醇是否凝固，若为液体需要更换叔丁醇。叔丁醇全部固化后，放入冻干机中，冻干 12h。冻干的干净菌体呈粉末状，如果菌体粘在离心管壁上，或成块状，证明实验失败，需重新处理。

2.4 粘托：用牙签挑取菌体，粘在导电胶带上。用吹风机或洗耳球吹干净。

2.5 镀膜：离子溅射仪中喷镀 Pt。

2.6 上机观测。

参考文献:

谢家仪, 董光军, 刘振英. 扫描电镜的微生物样品制备方法. 电子显微学报. 2005.
24(4): 440-440