

# ECNU-NDT 联合实验室

文件类别及编号：（仪器）SOP-1.19

版次：01

冷冻切片机使用标准操作规程		修订年份：2012 年
修 订 人：葛杨锋	审 核 人：	批 准 人：
修订日期：2012.9	审核日期：	批准日期：
颁发部门：	分发部门：	生效日期：

## 冷冻切片机使用标准操作规程

1 目的：对动物组织切片处理

2 适用范围：ECNU-NDT 联合实验室生物组

3 责任人

4 仪器操作

4.1 仪器的操作系统主要由总开关、操纵面板 1、操纵面板 2、手轮和冷冻箱组成。总开关控制仪器的供电，仪器开机运行后，无特殊原因不要关闭总开关，若由于断电或其他原因关闭总电源后，则必须要对冷冻箱及其附件进行除菌和干燥处理后才能重新启动仪器。

4.2 操纵面板 1 主要控制冷冻箱照明、温度、除霜、时间设定等功能，并显示切片厚度、切片模式等信息。温度调节包括箱体温度(CT)和样品头温度(OT)，OT 温度设定可比 CT 略高。不同的组织选用不同的温度进行切片，过高或过低的温度均会影响切片的质量，表 1 中是一些常用组织的参考切片温度，具体采用的温度还需操作者在实践中进行摸索。除霜是冰冻切片机每天均需进行的操作，用于除去仪器运行过程中，箱体内部产生的霜。LeicaCM3050S 具有三种除霜模式：箱体自动除霜、箱体手动除霜和样品头手动除霜模式。箱体自动除霜每 24 小时自动进行一次，具体时间可以人为设定(最好设定在 00:00 左右)，除霜结束后仪器自动降温到设定值。自动除霜时程的默认设置是 8 分钟，如果仪器长时间使用后，除霜 8 分钟无法使箱体完全解冻，可以通过增加除霜时程来解决。箱体手动

除霜和样品头手动除霜模式可以通过选择手动除霜键来进行(一般不使用)。

4.3 操纵面板 2 主要控制电动切片、样品头升降、切片厚度和修片厚度。电动切片有三种模式：间歇模式、连续模式和单次模式。电动切片速度可以手动调节，电动切片的开启和中断可以手控或者通过脚踏板控制。样品头升降主要用来调节样品和刀片之间的距离，具有粗调和细调两种模式。

4.4 仪器使用后的操作。日常使用后需进行一些处理：将 OT 设为 0℃，CT 设为 -10℃，这样既可以延长压缩机的寿命又利于除霜过程的进行；取出刀片并进行除菌、干燥以备下次使用；清除箱体中的切片废弃物；取出未使用的组织样本另行保存；锁定手轮和控制面板 1。长时间不使用仪器可以将总开关关闭，但箱体和所有有关切片的附件均需进行除菌和干燥处理。

4.5 包埋剂的使用。包埋剂主要用于将组织与样品台固定在一起，并包被组织以利于展片。包埋剂可选用常见的生理盐水或 PBS 等缓冲液，近年来一种混合型包埋剂 OCT，使用的越来越广泛，OCT 包埋后，组织切片更加平整。OCT 是一种聚乙二醇和聚乙烯醇的水溶性混合物，可以直接用于组织包被，也可以对组织进行切片预处理后再切片。预处理方法：组织浸蔗糖后放入蔗糖与 OCT 1:1 体积比的混合液中，室温 2 小时；放入 OCT 中室温 4 小时(具体时间视组织大小而定)。

表1 冰冻切片机推荐切片温度（-℃）

10-15	15-25	25-50
肾上腺	骨髓	膀胱
软骨	脑	脂肪
脾脏	子宫颈	肾脏
睾丸	心、血管	肝脏
子宫	肠	肺
	淋巴	皮肤
	肌肉	舌
	胰腺	
	前列腺	
	卵巢	
	直肠	
	甲状腺	

5 仪器维护：

冰冻切片机的日常保养主要包括除菌、清洁、更换荧光灯管等工作。仪器的除菌有多种方法，一些文献中也介绍了一些除菌方法，如：熏蒸法：取甲醛、高锰酸钾、水相混合，进行氧化消毒；喷雾法：用过氧化氢喷雾；擦拭法：用戊二醛或乙醇擦拭物品表面[1]。但是用这些方法除菌后，需关闭仪器并将箱体和所有附件充分干燥后才能重新使用，这就对仪器的正常使用带来一定的影响。这里推荐一种方法，可以在-20℃时，即不关闭仪器的情况下进行消毒作业，从而不影响使用者的正常使用。

5.1 将温度设为-20℃或更高

5.2 从箱体中移走标本组织并妥善储存

5.3 小心将刀片从刀架上取下

5.4 将切片废弃物清出

5.5 Leica cryofect (50%-100%乙醇+0.1%-0.25%葡萄糖酸氯己定)喷洒在箱体和附件表面，持续约 15min

5.6 用纸巾擦干箱体和附件表面的液体

5.7 将温度重新设定为需要温度正常使用。

仪器的清洁主要包括仪器表面、玻璃窗、冷却系统的进风口和出风口以及仪器背板的散热口。清洁方式可以用乙醇或水进行擦拭。更换荧光灯管时，需先将玻璃窗取下，灯管安装在防眩罩后面，更换完灯管后再将玻璃窗装上，更换灯管时不需关闭仪器，但要尽量快速操作，以避免箱体结霜。

## 6 错误信息：

Leica CM3050S 具有自检功能，当仪器出现功能异常时会显示一些错误信息。

6.1 “POWERFAILURE”：仪器断电后重新启动即会显示此信息，几秒后会自动消失

6.2 “?”：样品头升降功能异常，检查样品头升降电缆插头是否正确连接

6.3 “#”：温度探头损坏或发生局部短路

6.4 “DRYMICROTOME”：仪器断电重新启动后可能出现此信息，若出现此信息不要马上开机，待箱体和附件均需充分干燥后才可重新开机。

## 7 常见问题、原因及解决方法：

制作高质量的组织切片，需要在长期的练习、实践中摸索经验，表 2 中总结

了在使用此仪器时出现的常见问题、产生原因及解决方法。

表2

问题	可能原因	解决方法
箱体结霜	切片机玻璃窗打开时间过长；向箱体内呼气过多	尽可能将玻璃窗关小；带口罩操作仪器
切片发粘	组织温度过高；刀片、防卷板温度过高切片融化	设定更低的温度；待整个箱体和附件均降到设定温度后再使用
切片开裂,不能正常展开	组织温度过低；静电作用；组织表面过大；防卷板位置不合适；刀片损坏；间隙角度不合适；刀片或防卷板过脏	调高温度；修整组织表面；增加切片厚度；调整防卷板位置；设定合适间隙角度(4-6度)；更换刀片或刀片位置；用干的刷子清洁刀片或防卷板
切片在防卷板上卷曲	防卷板与刀片边缘距离不合适	调整防卷板，使其向前突出
样品碰撞防卷板	防卷板与刀片边缘距离不合适	调整防卷板，使其向后缩进
切片有划痕	刀片有缺口；防卷板有缺口	更换刀片和防卷板或使用完好的刀片和防卷板区域
切片震颤或有杂音	组织未能与样品盘完全冻结；样品盘未完全固定；样品架未完全固定；刀片未完全固定；组织过硬且不均一	重新将组织与样品盘冻结；检查样品盘螺栓；检查样品架螺栓；检查刀片螺栓；增加切片厚度
切片厚度不均	温度设定不合适；刀片角度不合适；刀背面结冰；手轮转动速度不合适或者不均一；刀片未完全固定；样品盘未正确固定；间隙角度不合适	选择合适的温度；调整刀片角度；去除冰；调整切片速度；检查样品盘螺栓；检查刀片螺栓；设定合适间隙角度(4-6度)
组织粘在防卷板上	防卷板温度过高或位置不合适；脂肪组织粘在防卷板边缘；刀片生锈	待防卷板温度降低后再进行切片；用酒精清除脂肪；给刀片除锈
防卷板抬起后切片卷曲	防卷板温度过高；包埋剂包埋不均匀	待防卷板温度降低后再进行切片；包埋厚度要均一，形状要规则；使用毛笔辅助展片
切片无法粘在载玻片上	载玻片温度过低	待载玻片温度升高后再切片
切片不顺畅,卡刀	切片机箱体未完全干燥	关机后充分干燥箱体后再开机使用