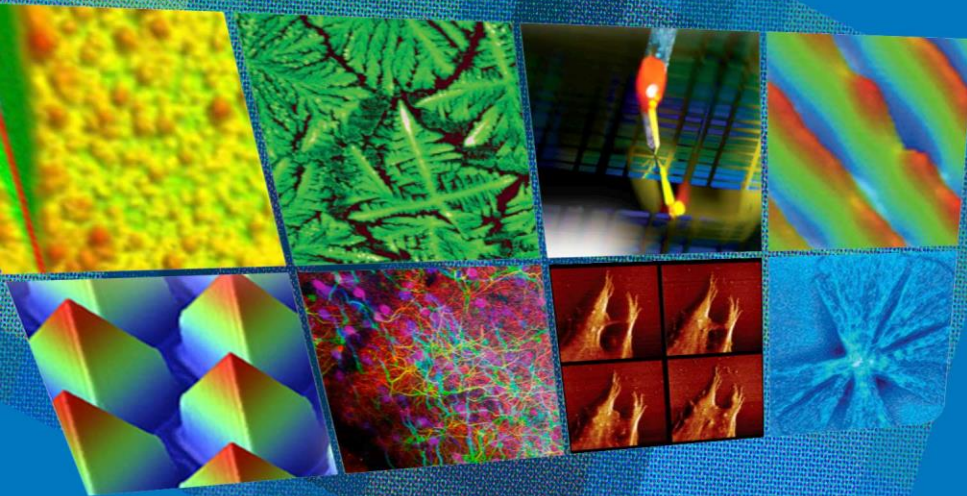
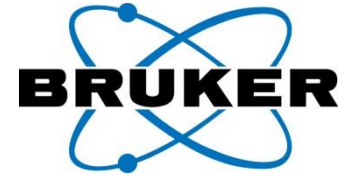


常见生物样品的制备



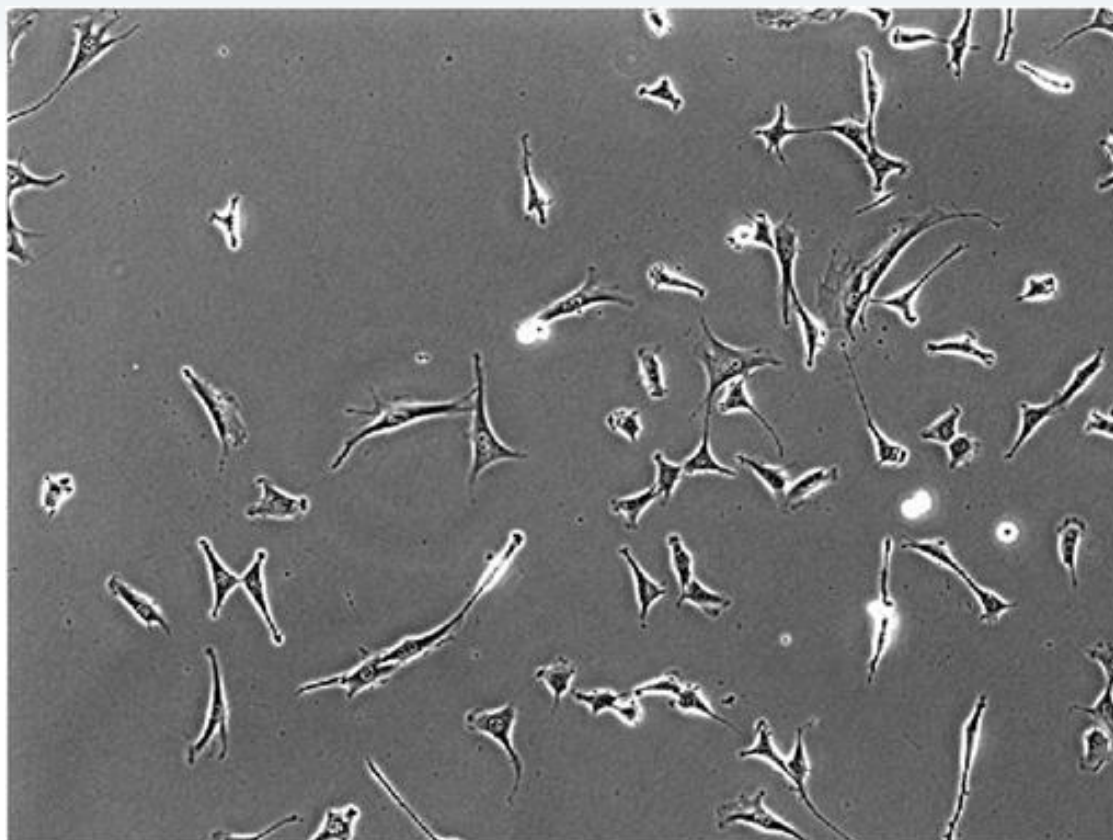
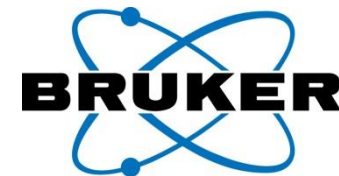
Atomic Force Microscopy
3D Optical Microscopy
Fluorescence Microscopy
Tribology
Stylus Profilometry
Nanoindentation

活细胞的成像 (细胞是困难的, 几十到几百 Kpa, 对于AFM而言, 很软)。

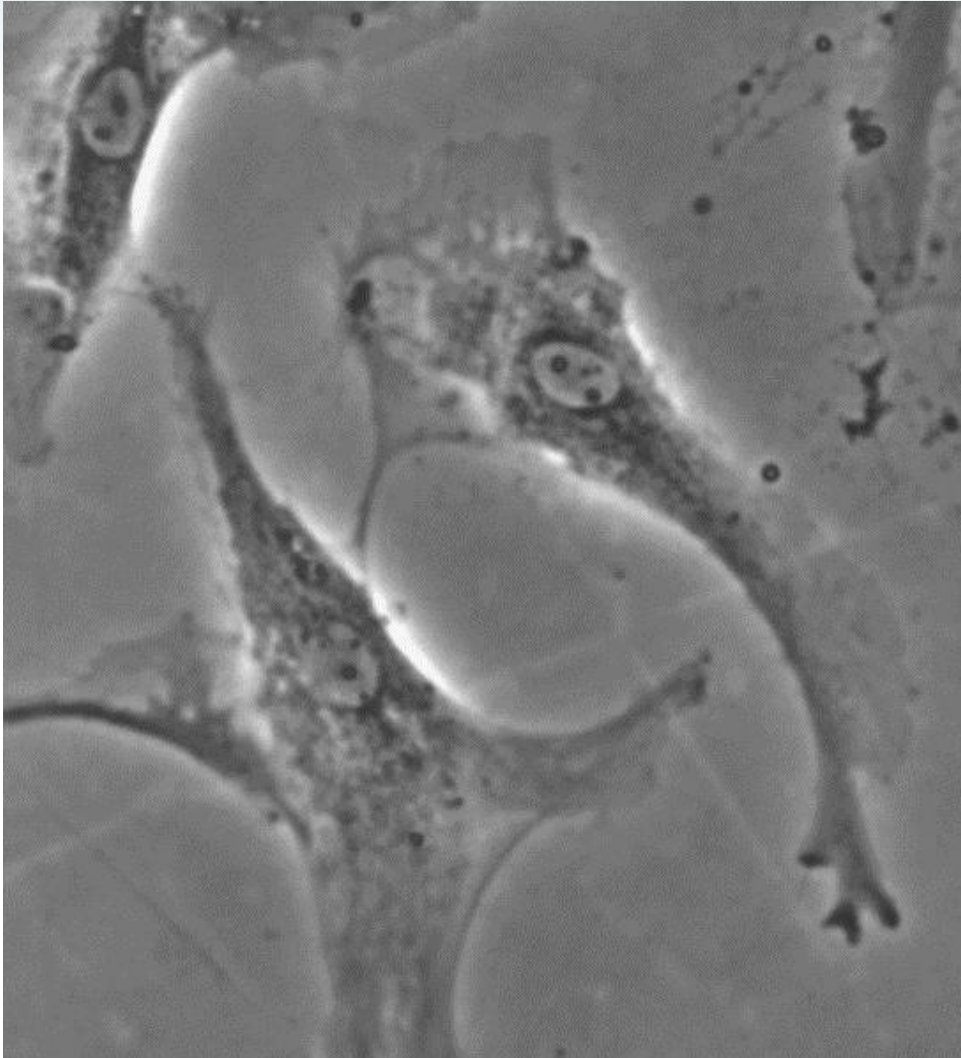


- 基本要求:
 1. 贴壁！必须贴壁。
 2. 注意控制溶液的pH值跟盐粒子浓度。关注二氧化碳。
 3. 5%的二氧化碳有时候不单单是为了pH跟粒子浓度, 对这种细胞, 只能动作快。
 4. 温度。
 5. 细胞形状, 高度 (相差Phase Contrast显微镜非常重要)。
 6. 细胞表面的特性, 表面特性, 黏附力。

如何寻找“好细胞”， Phase Contrast来帮忙



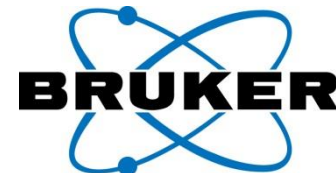
图片来自于：<http://www.nist.gov/itl/ssd/is/segmentation-based-measurements.cfm>



图片来自网络:

<http://mulla.pri.ee/Kelley's%20Textbook%20of%20Rheumatology,%208th%20ed./HTML/82.htm>

下针注意事项



下针之前:

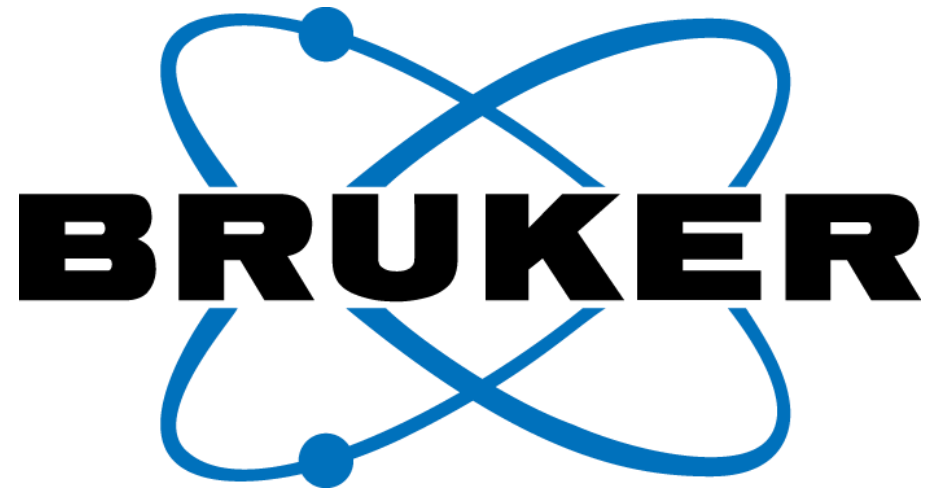
1. Engage Setpoint 跟setpoint。
2. 探针是否已经问题, 光电探测器窗口必须打开。探针是否有coating。
3. 培养液温度与外界环境温度的差异。
4. 探针是否已经完全进入溶液中, 进入后Sum值, Vertical Deflection的变化。
5. 进针过程中, Sum值, Vertical Deflection的变化。
6. 期望的Contact Area。
7. Engage Height的正确使用方法, 扫描速度。
8. Setpoint的值可能对成像造成的影响, 细胞膜的成像与骨架的成像。
9. 光学显微镜中看到细胞形态的在探针影响下的变化。
10. Gain值的调节, PeakForce的图像所能给予的信息。
11. 忍耐, 耐心, 抗压能力。
12. 如果使用QMN, 请注意Loading Rate影响。

固定方法：

1. 调节pH值, 改变细胞表面蛋白电性。
2. 尝试不同基底: 云母, 石英, 玻璃, 不同材质的培养皿。
3. 通过基底修饰: 硅烷化, 戊二醛。PLL (多聚赖氨酸), Collagen (胶原蛋白)。
4. Cell-Tec。
5. 等等。。。。。可以参考文献。

单价粒子Ni, 二价粒子mg, 氨基化APTES/APTES(3-氨基三乙氧基硅烷) + Glutaraldehyde

1. Ni 粒子: 简单, 易用, 2 – 5 mM浓度。对DNA固定稳定, 保存时间长。但是会引入DNA的非自然弯折, 对人体有害。计算DNA的Persistence Length时会极大缩短其值。
2. Mg粒子: 固定作用较弱, 10-20 mM浓度, 可以很好保存DNA的自然形状, 存在与大部分的生物实验缓冲液中。溶液中若有其他单价粒子, 容易影响其效果。不能很好地固定DNA, 潮湿环境中就会引起DNA团聚。样品保存时间不超过一天。
3. APTES: 能稳定长期的固定好DNA, 通过氨基基团固定DNA, 另外一端与基地通过共价键结合。非常稳定。实验步骤复杂, 处理不好容易引起DNA团聚。样品制备需要2-5小时。由于它能够自胶连, 所以操作需要在fume hood里面进行。
4. APTES+Glutaraldehyde。主要是为了保存连接到DNA上的带正电的蛋白。比如histone, 主要用于chromatin 研究。



www.bruker.com