

## 常用包埋剂种类及性能

### 一. 环氧树脂(epoxy resin)

#### 1. 环氧树脂简介

环氧树脂是一类具有末端环氧基的甘油多聚酯。它的分子中有两种反应基团，即环氧基团(epoxide group)和氢氧基团(hydroxyl group)。其末端基团易与含有活性氢原子的化合物如胺类(如 DMP-30, DMAE, 乙二胺等, 又称催化剂或加速剂)反应, 使单体首尾相连接形成链状聚合物。此外, 在单体中的氢氧基团能与有机酸酐(如 MNA, DDSA, 九烷基琥珀酸酐, NSA 等, 又称硬化剂或固化剂)结合, 使单体分子形成横桥。所以, 环氧树脂以单体渗入细胞组织, 而这种单体在一定的温度条件下, 在硬化剂和加速剂作用下, 就形成一个非常耐溶剂和耐化学腐蚀的交链稳定的三维空间聚合体。为了改善聚合体(包埋块)的切割性能, 还会在环氧树脂包埋配方中加入增塑剂, 以调节包埋块的韧性。

环氧树脂包埋剂对细胞微细结构有较好的保存性能, 聚合后体积缩小较少, 而且在真空中能经受较长时间的轰击。但它的操作不太方便, 反差较弱。

环氧树脂的型号较多, 常用 Epon812, Spurr 树脂(ERL-4206)等。

#### 2. 最常用的两种环氧树脂

##### 2.1 Epon812 包埋剂

Epon812 是一种进口树脂, 它是一种长链的脂肪族环氧化合物, 是目前国际上普遍采用的一种优良包埋剂, 粘度为 150-210cP (在 25℃条件下)。该包埋剂的配制方法甚多, 但一般都按 1961 年 Luft 提出的配方进行。其配方如下:

A 液: Epon812	62ml
DDSA	100ml
B 液: Epon812	100ml
MNA	89ml

上述配方若改变 A 液和 B 液的比例则可调节聚合块硬度, A 液多则软, B 液多则硬。通常冬天使用 A:B=2:8(V/V); 夏天使用 A:B=1:9(V/V), 可视组织的硬度和气候不同选择其比例。配制时可先分别配制 A 液和 B 液, 然后将 A 液和 B 液按一定比例混合后, 再加入 1%-2% 的加速剂, 边加边搅拌, 使其充分混合。为了方便操作, 也有人将 Epon812, DDSA, MNA 三

种成分按一定比例直接混合使用。Epon812 的聚合温度为：37℃过夜，60℃，24-36h。

根据南方地区的气候条件，可用下列配方：

Epon812	51ml
DDSA	12ml
MNA	37ml
DMP-30	1.8-2ml

聚合条件：室温过夜，60℃，8-12h。

DDSA 是十二烷基琥珀酸酐（Dodecenylsuccinic anhydride）的简称。它是一种可得到软性包埋块的长链脂肪族分子。

MNA 是甲基内次甲基二甲酸酐（Methyl Nadic anhydride）的简称，又称六甲酸酐，它有两个链环，能获得较硬的包埋块。

DMP-30 是 2, 4, 6-三（二甲基氨基甲基）苯酚（2, 4, 6-Tris（dimethylaminomethyl）phenol）的简称。它能加速固化过程。

## 2.2 Spurr 树脂（ERL-4206 包埋剂）

这是 1969 年由 Spurr 推荐使用的包埋剂，所以也称 Spurr 树脂。它含有两个环氧基，是一种低粘度（25℃时，7-10cP）的环氧树脂。由于具有粘度低的特点，所以近年来一些实验室已开始使用它。其配方可按下表中各种成分的比例，即可获得不同性能的包埋块。其配方如下：

Spurr 树脂包埋剂配方					
成分（g）	标准硬度	硬	软	快速聚合配方	缓慢聚合配方
VCD	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
DER-736	6.0	4.0	7.0	6.0	6.0
NSA	26.0	26.0	26.0	26.0	26.0
DMAE	0.4	0.4	0.4	1.0	0.2
聚合时间 70℃（h）	8	8	8	3	16
混合时间（天）	3-4	3-4	3-4	2	7

VCD 是二氧化乙烯环己烯（vinylcyclohexene dioxide）的简称。它的分子小，粘度低，聚合块硬度大。

DER-736 是 diglycidyl ether of a polypropylene glycol 的简称。它属于脂肪族，

分子小，有低粘度性质，可调节包埋块的硬度。

NSA 是 nonenylsuccinic anhydride 的简称。它是一种特殊的硬化剂，应避免暴露在潮湿的大气中，以防环氧或酐链的水解作用。

DMAE 是 dimethylaminoethanol 的简称。它是催化剂，增加催化剂的比例，可以缩短聚合的时间。

Spurr 树脂最终硬度可用 DER-736 的量来调节。配制时，先把前三种成分混合后，最后才加入 DMAE，但从开始到混合完成，达到淡黄色状态需 3-7 天。此包埋剂在 70℃，一般 8 小时即可完全聚合，用陈旧的包埋剂时，则聚合时间会减少。因 Spurr 树脂嗜氧，聚合时不要加盖。包埋剂最好是用新鲜配制，但为了方便，可预先配制好保存在低温和防潮的环境中。

Spurr 树脂与 Epon812 树脂相比粘度低，操作方便，但毒性比 Epon812 树脂大，所以操作时要更加小心，此外，Spurr 树脂各成分间的分子量大小差异较大，在组织中的渗透速度不一，容易个别成分造成渗透不均，而导致局部聚合不完全，染色效果不佳。

## 二. 丙烯酸树脂 (acrylic resin)

### 1. 丙烯酸树脂简介

丙烯酸树脂无色透明的，由丙烯酸衍生物聚合而成。丙烯酸单体粘度低，可以在低温下渗透及聚合，因而能满足免疫和细胞化学技术低温操作的要求。其聚合方式有两种，热聚合和紫外线照射聚合。但它对脂类等成分的抽提比环氧树脂严重，为此它也需要在较低的温度下使用才可能减少抽提作用。此外，聚合前后丙烯酸树脂的体积变化较环氧树脂大（体积大约收缩 10%-20%），并且它在电子束的照射下稳定性比环氧树脂低，放热的聚合过程可引起组织细胞结构的损伤，致敏性也比环氧树脂强，使用时要小心防护。一般来说，除了免疫和细胞化学技术外，超微结构的研究并不推荐使用它。

在电镜中使用较多的丙烯酸树脂有伦敦白胶 (LR White) 和 Lowicryl 系列的树脂。

### 2. 最常用的丙烯酸树脂

#### 2.1 伦敦白胶 (LR White)

伦敦白胶含有 7 种不同的丙烯酸单体和 2 种增塑剂，引发剂是 BPO (dibenzoyl peroxide)，加速剂为 N, N-dimethyl paratoluidine，但具体的配方和成分没有报道。它的粘度低，渗透能力强，可用于较大的组织块或致密的组织，由于它有一定的亲水性，方便水性染料进入，染色效果佳，使用非常方便，通常买回来的是已经混合好的试剂，但由于

## 海德创业（北京）生物科技有限公司

---

地址：北京回龙观西大街 115 号龙冠大厦 410

网址：[http:// www.hedebio.com](http://www.hedebio.com)

电话：010-52571502

Email:hedebio@163.com

BPO 已经加入，必须一直保存在 4℃中，以防其自发聚合，即便这样，它的有效期仅为 12 个月。伦敦白胶可以微溶于水，因而可以采用部分脱水方案，但不能使用丙酮作为脱水剂。氧气会抑制聚合反应的进行，因而聚合时要在模块中注满包埋剂并盖紧盖子。此外，伦敦白胶不能在-15℃以下的温度使用。为了方便运输和储存，也有未加 BPO 的伦敦白胶（uncatalysed LR White）出售，这种试剂需要加入催化剂（9.9g 催化剂/500gLR White）充分搅拌并室温放置 24 小时以上才能使用。充分混合的包埋剂同样保存在 4℃中，一旦加入催化剂后，它的有效期便为 12 个月。

### 2.2 Lowicryl 系列包埋剂

Lowicryl 系列包埋剂是专为低温（-20℃以下）包埋设计的包埋剂。它有两种类型：一种是极性树脂，K4M（最低渗透温度为-30℃，最低聚合温度为-50℃）和 K11M（最低渗透温度为-60℃，最低聚合温度为-60℃）；另一种是非极性树脂，HM20（最低渗透温度为-50℃，最低聚合温度为-50℃）和 HM23（最低渗透温度为-80℃，最低聚合温度为-80℃）。极性树脂亲水，使样品保存在一个水性的环境中从而较少蛋白质变性，且染色的效果较好。而非极性树脂的切割性能比较好。两种树脂通常都在隔绝氧气的情况下低温紫外线照射聚合。

Lowicryl 系列包埋剂全部以试剂盒的形式出售，有详细的说明书提供参考。