1. 取材：

应尽可能快地采取新鲜的材料，防止组织发生死后变化。

2. 速冻：

为了较好地保存细胞内的酶活性或尽快制成切片标本的需   要，一般在取材后就要立刻对组织块进行速冻，使组织温度骤降，缩短降温的时间，减少冰晶的形成。

液氮速冻切片法是实验室最常用的速冻切片方法。具体做法是将组织块平放于软塑瓶盖或特制小盒内（直径约2cm），如组织块小可适量加OCT包埋剂浸没组织，然后将特制小盒缓缓平放入盛有液氮的小杯内，当盒底部接触液氮时即开始气化沸腾，此时小盒保持原位切勿浸入液氮中，大约10-20s组织即迅速冰结成块。在制成冻块后，即可置入恒冷箱切片机冰冻切片。若需要保存，应快速以铝箔或塑料薄膜封包，立即置入-80℃冰箱贮存备用。

3．固定：

1. 如若是速冻样本，将冻块取出置于样品托上，其上再添一层OCT胶速冻架（PE）上速冻连接。
2. 如不是速冻样本块，样品放入EP管中，OCT包埋胶，4℃冰箱预冷5-10min让OCT胶浸透组织。组织置于样品托上，其上再添一层OCT胶，以完全覆盖为宜，速冻架（PE）上30min。

4.切片：

恒温冰冻切片机为较理想的冰冻切片机，其基本结构是将切片机置于低温密闭室内，故切片时不受外界温度和环境影响，可连续切薄片至5-10μm。切片时，低温室内温度以-15℃～-20℃为宜，温度过低组织易破碎，抗卷板的位置及角度要适当，载玻片附贴组织切片，切勿上下移动。

固定样本需要梯度蔗糖脱水处理，先用20%的蔗糖四度过夜沉底，然后换30%蔗糖四度过夜沉底即可。