

Inhalt

Danksagung	11
1.	Einführung 13
2.	Das Mikroskop 15
2.1	Optische Einrichtungen (Linsensysteme) 16
2.1.1	Okulare 16
2.1.2	Zeichenokulare 16
2.1.3	Objektive 17
2.1.4	Numerische Apertur und Auflösungsvermögen 18
2.2	Mikroskopische Verfahren 18
2.2.1	Fluoreszenzmikroskopie 18
2.2.2	Phasenkontrastverfahren 20
2.2.3	Interferenzphasenkontrast 20
2.3	Einstellung der Beleuchtung 21
2.4	Literatur 22
3.	Fixierung von Gewebe 23
3.1	Die Fixierung 23
3.2	Fixierlösungen 25
3.3	Ethanol- oder Acetonfixierung 26
3.4	Fixiermethoden 27
3.4.1	Immersionsfixierung 27
3.4.2	Perfusionsfixierung 27
4.	Entwässern und Wässern von Präparaten 29
5.	Puffersysteme 31
6.	Schnittechniken 33
6.1	Vibratomschnitte 33
6.1.1	Agar-Agar-Einbettung 34
6.2	Gefrierschnitte 34
6.3	Kryostatschnitte 35
6.4	Paraffinschnitte 36
6.5	Kunststoffschnitte 38

6.5.1	Kunststoffeinbettung für immunhistologische Präparate	38
6.5.2	Kunststoffeinbettung für Semidünnsschnitte	39
6.6	Messerarten	41
7.	Objektträger	43
8.	Allgemeine Färbemethoden in der Histologie	47
8.1	Generelle Zellfärbungen	47
8.1.1	Hämalaun-Eosin-Färbung	47
8.1.2	Azanfärbung	48
8.1.3	Bindegewebsfärbung nach Goldner	50
8.1.4	Papanicolau	52
9.	Methoden der Neurohistologie	53
9.1	Das Neuron	55
9.2	Stütz- und Nährgewebe (Glia)	59
9.3	Informationsübertragung	60
9.3.1	Elektrische Prozesse	60
9.3.2	Funktionelle Morphologie des Axons	61
9.3.3	Interaktionen zwischen Zellen	62
9.4	Literatur	63
10.	Allgemeine Färbemethoden in der Neurohistologie	65
10.1	Nisslfärbungen	65
10.1.1	Nisslfärbung mit Kresylviolett	65
10.1.2	Nisslfärbung mit Thionin/Toluidinblau	67
10.2	Färbung von Neuriten	67
10.2.1	Luxolblaufärbungen	68
10.2.2	Klüver-Barrera-Färbung	69
10.3	Silberimprägnationen	70
10.3.1	Modifizierte Bielschowsky-Färbung für die Zellkörper- und Faserfärbung	71
10.3.2	Gallyas-Silberimprägnation	72
10.3.3	Neurofibrillenfärbung nach Bodian	74
10.3.4	Fink-Heimer-Färbung	74
10.3.5	Silber/Gold/Osmium-Imprägnation (nach Fritzsch und Zakon)	76
10.3.6	Golgi-Färbungen	78
10.4	Acetylcholinesterase-(AChE-)Färbung	80
10.5	Literatur	81
11.	Tracing mit lichtstabilen Farbstoffen	83
11.1	Meerrettich-Peroxidase-(HRP-)Methode	84

11.2	<i>Phaseolus vulgaris</i> -Leukoagglutinin (PHA-L)	87
11.3	Biotinyliertes Dextranamin (BDA)	88
11.3.1	DAB-Reaktion mit dem ABC-Kit	90
11.3.2	Nickel-Kobalt-Intensivierung	91
11.3.3	Glucose-Oxidase-Technik	93
11.3.4	Iontophoretische Applikation	93
11.4	Choleratoxin Untereinheit B (CtB)	93
11.5	Biocytin, Neurobiotin®	96
11.5.1	Applikationsarten	98
11.5.2	Histologische Aufarbeitung der Präparate	99
11.6	Kobalt-Markierung	100
11.6.1	Kobalt[II]-Lysin-Färbung	101
11.6.2	Kobalt[III]-Lysin-Färbung	102
11.6.3	Intensivierung der Kobalt-Lysin-Färbung	103
11.6.4	Iontophoretische Applikation	105
11.7	Literatur	105
12.	Tracing mit fluoreszierenden Farbstoffen	107
12.1	Fluoreszenzgekoppelte Dextranamine	108
12.1.1	Anwendung	109
12.1.2	Iontophoretische Applikation	110
12.1.3	Mehrfachapplikationen	110
12.1.4	Auswertung	111
12.2	FluoroGold	111
12.2.1	Iontophoretische Applikation	112
12.2.2	Mehrfachapplikationen	113
12.3	Fluoreszenzgekoppelte Beads	113
12.4	Farbstoffe der Carbocyanin-Familie	114
12.4.1	Einsatz am fixierten Gewebe	115
12.4.2	Auswertung	116
12.5	Lucifer Yellow	116
12.5.1	Injektion in lebendes Gewebe	117
12.6	Konversion in lichtstabile Produkte	117
12.6.1	Photokonversion	117
12.6.2	Photokonversion von Lucifer Yellow	119
12.6.3	Konversion mittels Antikörper (für FDA)	119
12.7	DAPI	121
12.8	Literatur	121
13.	Druckapplikationen und <i>in vitro</i>-Ansätze	123
13.1	Druckapplikationen	123
13.2	<i>In vitro</i> -Ansätze für die Tracer	124
13.3	Literatur	127

14.	Immunhistochemische Methoden	129
14.1	Direkte und indirekte Nachweismethoden	130
14.1.1	Direkte Methode	130
14.1.2	Indirekte Methode	130
14.1.3	Immunfluoreszenz	131
14.1.4	Unkonjugierte Antikörper-Enzym-Brücken-Methode	131
14.1.5	Konjugierte Antigen-Methode	132
14.1.5.1	Biotin-(Strept-)Avidin-Methode	132
14.1.6	Immunogold-Markierung	133
14.1.7	Sensitivität der Nachweisreaktionen	133
14.1.8	Mögliche Fehlerquellen der Nachweisreaktionen	134
14.2	Abläufe der Immunreaktionen	135
14.2.1	APAAP-Methode	135
14.2.2	PAP-Methode	136
14.2.3	Färbung mit dem ABC-Kit (Avidin-Biotin-Methode)	138
14.2.4	Direkte Immunfluoreszenz	139
14.3	Alternative Substratlösungen	140
14.3.1	AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazol)	140
14.3.2	4-Chlor-1-Naphthol	141
14.3.3	Hanker-Yates-Reagenz	141
14.4	Antigendemaskierung	141
14.4.1	Enzymatische Antigendemaskierung	142
14.4.2	Hitzeinduzierte Antigendemaskierung	142
14.4.2.1	Kochen im Schnellkochtopf	143
14.5	Literatur	143
15.	Peptidbindungsstudien	145
15.1	Autoradiographie	146
15.1.1	Herstellung der Radioliganden	146
15.1.2	Radioligandenstudie	147
15.2	Peptidbindung mit Fluoreszenz	148
15.2.1	Applikation <i>in vivo</i>	148
15.2.2	Rezeptormarkierung an fixiertem Material	149
15.3	Literatur	150
16.	c-fos-Markierung	151
16.1	Literatur	152
17.	NADPH-Diaphorase-Darstellung	153
17.1	Literatur	155
18.	In situ-Hybridisierung	157
18.1	Literatur	162

- 19. Computergestützte Auswertung 163**
 - 19.1 Zelldarstellung und 3D-Imaging 163
 - 19.2 Zellzählung und Zellmorphometrie 167
 - 19.3 Ionen-Imaging 167
 - 19.4 Anforderungen 168
- 20. Liste der Hersteller und Händler 171**

Index 179

Tafelteil