

# 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 Semidünnschnitte 39
- 6.6 Messerarten 41

## **7. Objektträger 43**

## **8. Allgemeine Färbemethoden in der Histologie 47**

- 8.1 Generelle Zellfärbungen 47
  - 8.1.1 Hämalalaun-Eosin-Färbung 47
  - 8.1.2 Azanfärbung 48
  - 8.1.3 Bindegewebsfärbung nach Goldner 50
  - 8.1.4 Papanicolaou 52

## **9. Methoden der Neurohistologie 53**

- 9.1 Das Neuron 55
- 9.2 Stütz- und Nörgewebe (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 Fritsch 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> -Leucoagglutinin (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
<b>12.</b>	<b>Tracing mit fluoreszierenden Farbstoffen</b>	<b>107</b>
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
<b>13.</b>	<b>Druckapplikationen und <i>in vitro</i>-Ansätze</b>	<b>123</b>
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 *in vivo* 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**