

Maria Mulisch, Ulrich Welsch (Hrsg.)

Romeis Mikroskopische Technik

19. Auflage

Mit Beiträgen von

Dr. Erna Aescht, Simone Büchl-Zimmermann, Dr. Annegret Bäuerle,
Dr. Rolf T. Borlinghaus, Dr. Anja Burmester, Dr. Christine Desel,
Dr. Dennis Eggert, Dr. Christoph Hamers, Dr. Guido Jach,
Dr. Manfred Kässens, Prof. Dr. Josef Makovitzky, Dr. habil. Maria Mulisch,
Dr. Barbara Nixdorf-Bergweiler, Prof. Dr. Matthias Ochs, Detlef Pütz,
Dr. Rudolph Reimer, Bernd Riedelsheimer, Dr. Ulrich Sauer,
Dr. Heinz Streble, Dr. Frank van den Boom, Dr. Rainer Wegerhoff,
Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ulrich Welsch

Inhaltsverzeichnis

1	Mikroskopische Verfahren	1	2.4.3	3D-GSDIM	57
1.1	Lichtmikroskopie	2	2.5	STED – Stimulierte Emissions-Depletion	57
	<i>Rainer Wegerhoff</i>			<i>Rolf T. Borlinghaus</i>	
	Einleitung	2	2.5.1	Stimulierte Emission	57
1.1.1	Die Geschichte des Mikroskops	2	2.5.2	Rastermikroskopie	57
1.1.2	Einführung in die Physik des Lichtes	3	2.5.3	Toroide Fokusformen	58
1.1.3	Die Hauptkomponenten des Mikroskops	5	2.5.4	Die Überschreitung der Auflösungsgrenze	58
1.1.4	Wie entsteht die Vergrößerung	7	2.5.5	Lebendzell-STED-Mikroskopie	58
1.1.5	Die Objektive	8	2.5.6	3D-STED	59
1.1.6	Kondensoren für die Durchlichtmikroskopie	10	2.5.7	Präparationshinweise	60
1.1.7	Grundsätzliche Einstellungen für die Mikroskopie	10	2.6	Literatur	61
1.1.8	Die Köhlersche Beleuchtung	11	3	Probengewinnung zur mikroskopischen Untersuchung und Präparation	63
1.1.9	Kontrastmethoden	12		<i>Maria Mulisch</i>	
1.1.10	Relieferzeugende Kontrastmethoden	15	3.1	Abstrichpräparate	64
1.1.11	Stereomikroskopie	18	3.2	Ausstrichpräparate	64
1.1.12	Fluoreszenzmikroskopie	19	3.2.1	Ausstriche von Zellsuspensionen	64
1.1.13	Slide-Scanning-Mikroskopie	22	3.2.2	Organausstriche	66
1.1.14	Konfokale Mikroskopie	22	3.3	Tupf- oder Abklatschpräparate	66
1.1.15	Multiphotonenmikroskopie	24	3.4	Isolationspräparate (Zupfpräparate)	66
1.1.16	TIRF	24	3.5	Isolation von Zellen	66
1.1.17	Luminiszenzmikroskopie	25	3.5.1	Entnahme von adhärennten Zellen aus Zellkulturen	66
1.1.18	<i>Light-sheet</i> -Fluoreszenzmikroskopie	25	3.5.2	Anreicherung von Suspensionszellen	66
1.2	Elektronenmikroskopie	25	3.5.3	Zellsuspensionen von Epithelien	67
	<i>Manfred Kässens</i>		3.5.4	Herstellung von zellwandlosen Pflanzenzellen (Protoplasten)	67
1.2.1	Einleitung	25	3.5.5	Mazerationsmethoden von Zellverbänden	68
1.2.2	Transmissionselektronenmikroskopie	27	3.6	Isolation von Gewebeteilen	68
1.2.3	Elektronentomografie	32	3.6.1	Biopsie	69
1.2.4	EFTEM	33	3.6.2	Native Schnitte	69
1.2.5	REM und ESEM	34	3.7	Isolation von Zellkompartimenten und Organellen	71
	<i>Rudolph Reimer</i>		3.8	Trennen und Sortieren von Zellen	71
1.2.6	Präparation für ESEM	40	3.8.1	Durchflusscytometrie	71
	<i>Rudolph Reimer</i>		3.8.2	Zelltrennung mit Hilfe paramagnetischer Kügelchen (<i>beads</i>)	72
1.2.7	Rastersondenmikroskopie	41	3.9	Lasermikrodissektion	72
				<i>Ulrich Sauer</i>	
2	Hochauflösende Mikroskopie	43	3.10	Literatur	76
	<i>Christoph Hamers, Frank van den Boom, Rudolph Reimer, Dennis Eggert</i>		4	Mikroskopische Untersuchungen von Lebendmaterial	77
2.1	Einleitung	44		<i>Barbara Nixdorf-Bergweiler</i>	
2.1.1	Super-Resolution-Mikroskopie	44	4.1	Arbeiten mit Lebendmaterial	78
2.2	Strukturierte Beleuchtung – SIM	45	4.1.1	Voraussetzungen für das Arbeiten mit Lebendpräparaten	78
2.3	Stochastische optische Rekonstruktions- mikroskopie (STORM)	47	4.1.2	Präparationsbeispiele für die Herstellung von Lebendpräparaten	78
2.3.1	Das STORM-Prinzip	48	4.2	Durchführung von physiologischen Versuchen und Vitalfärbung	80
2.3.2	Farbstoffe für STORM	49	4.2.1	Einteilungen der Vitalfärbung	80
2.3.3	Mehrfarben-STORM	51			
2.3.4	3D-STORM	52			
2.3.5	Lebendzell-STORM	52			
2.3.6	Direkte stochastische optische Rekonstruktions- mikroskopie (dSTORM)	54			
2.4	GSDIM: Depletion des Grundzustandes	55			
2.4.1	Fluoreszenzzustände	55			
2.4.2	Verarmung des Grundzustandes	56			

4.2.2	Eigenschaften von Vitalfarbstoffen	80	6.4.4	Schneidetechnik am Mikrotom	118
4.2.3	Vitalfarbstoffe für die Untersuchung in der Hellfeldmikroskopie	81	6.5	Leitfaden zur Beurteilung der Präparation	119
4.2.4	Nachweis reaktiver Sauerstoffspezies (ROS)	84	6.5.1	Probleme und Artefakte bei der Schnittpräparation und ihre Abhilfe	119
4.3	Literatur	85	6.5.2	Beurteilung von Artefakten im Präparat	119
4.4	Nachweisquellen und informative Links	85	6.6	Literatur	120
5	Fixierungen für Licht- und Elektronenmikroskopie	87	7	Präparation für die TEM	121
	<i>Maria Mulisch</i>			<i>Maria Mulisch</i>	
5.1	Theorie der Fixierung	88	7.1	Schnittpräparation	122
5.1.1	Strukturerhaltung	88	7.1.1	Fixierung	122
5.1.2	Nachweise	88	7.1.2	Waschen	122
5.2	Fixierungsverfahren	88	7.1.3	Entwässern und Einbetten	122
5.2.1	Physikalische Fixierung	88	7.1.4	Ultramikrotomie	128
5.2.2	Chemische Fixierung	89	7.2	Kontrastierungstechniken für die Transmissions- elektronenmikroskopie (TEM)	136
5.2.3	Fixierungsbedingungen und Anforderungen an die Präparate	93	7.2.1	Einführung	136
5.2.4	Praxis der Fixierung für die Lichtmikroskopie	94	7.2.2	Negativkontrastierung	136
5.2.5	Praxis der Fixierung für die Elektronen- mikroskopie	95	7.2.3	Bedampfung	138
5.2.6	Beispielhafte Anleitungen	96	7.2.4	Positive Kontrastierungen	139
5.2.7	Aufbewahrung von fixiertem Material	97	7.3	Literatur	144
5.2.8	Fixierungs- und Einbettautomaten	98	7.3.1	Zusammenfassende Literatur	144
5.3	Literatur	98	7.3.2	Einzelpublikationen	144
6	Schnittpräparation für die Lichtmikroskopie	99	8	Präparation für die konventionelle Rasterelektronenmikroskopie (REM)	145
	<i>Bernd Friedelsheimer, Simone Büchl-Zimmermann, Ulrich Welsch</i>			<i>Maria Mulisch</i>	
6.1	Einbettung	100	8.1	Präparate für die REM	146
6.1.1	Allgemeines	100	8.2	Präparationsschritte	146
6.1.2	Auswaschen des Fixierungsmittels aus den Präparaten	100	8.2.1	Reinigung	146
6.1.3	Entwässern der Präparate	100	8.2.2	Stabilisierung	147
6.1.4	Einbringen der Präparate in ein Intermedium (Zwischenflüssigkeit)	102	8.2.3	Freilegen interner Strukturen	147
6.1.5	Durchtränken der Präparate mit dem Einbettmittel	103	8.2.4	Abdruckverfahren	148
6.1.6	Ausgießen (in Blöcke gießen) der Präparate im Einbettmittel	103	8.2.5	Trocknung	148
6.1.7	Aushärten der Blöcke:	104	8.2.6	Befestigen der Präparate	149
6.2	Einbettzubehör	105	8.2.7	Sputtern	149
6.2.1	Zubehör für die Einbettung von Hand	105	8.2.8	Techniken für stark zerklüftete Objekte oder hohe Auflösung	150
6.2.2	Einbettautomaten	105	8.2.9	Aufbewahrung der Präparate	151
6.2.3	Paraffinspender/Ausgießstation	105	8.3	Artefakte	151
6.3	Einbettprotokolle	106	8.4	Literatur	151
6.3.1	Paraffineinbettung	106	9	Kryotechniken	153
6.3.2	Kunststoffeinbettung	109		<i>Rudolph Reimer</i>	
6.3.3	Celloidineinbettung	111	9.1	Einleitung	154
6.3.4	Einbettung in Celloidin-Paraffin	113	9.2	Kryopräparation für die Lichtmikroskopie	155
6.3.5	Agareinbettung	113	9.2.1	Kryostatschnitte	156
6.4	Mikrotome und Mikrotomie	114	9.2.2	Einfrieren der Proben	156
6.4.1	Mikrotomtypen	115	9.3	Kryopräparation für die Elektronen- mikroskopie	158
6.4.2	Messerarten und deren Anwendungsgebiete	116	9.3.1	PLT	159
6.4.3	Stellung des Mikrotommessers beim Schneiden am Schlitten- und Rotationsmikrotom	117	9.3.2	Einfrieren der Proben	159
			9.3.3	Gefriersubstitution	163
			9.3.4	Gefrierbruch und Gefrierätzung	165
			9.3.5	Gefrierschnitte	165
			9.4	Kryo-Elektronenmikroskopie	169
			9.5	Literatur	170

10	Färbungen	171	11	Fluoreszenzfärbungen	283
	<i>Bernd Riedelsheimer, Simone Büchl-Zimmermann</i>		11.1	Einführung	284
10.1	Allgemeines zur Färbung	172		<i>Maria Mulisch</i>	
10.2	Farbstoffe	172	11.2	Fluorochrome	284
10.2.1	Der sichtbare Anteil des Spektrums, Farben und Licht siehe Kapitel 1.1.2	172		<i>Maria Mulisch</i>	
10.2.2	Klassifizierung von Farbstoffen	172	11.2.1	Primärfluoreszenz (Autofluoreszenz)	285
10.2.3	Wichtige Farbstoffe	173	11.2.2	Sekundärfluoreszenz (Fluorochromierung)	287
10.2.4	Ladung der Farbstoffe	173	11.2.3	Mehrfach-Fluorochromierung	287
10.2.5	Färbevokabular	175	11.2.4	Anleitungen für einfache Fluoreszenzfärbungen ..	287
10.2.6	Färbetheorien	176	11.2.5	Probleme bei der Fluoreszenzmikroskopie	291
10.3	Herstellen der Farblösungen	177	11.3	Live-Cell Imaging	292
10.4	Färbezubehör	177		<i>Barbara Nixdorf-Bergweiler</i>	
10.4.1	Färbeküvetten	177	11.3.1	Probleme beim Live-Cell Imaging	292
10.4.2	Färbebänke, Tropfflaschen und sonstiges Zubehör	178	11.3.2	Fluorochrome zum Live-Cell Imaging	293
10.4.3	Färbeautomaten	178	11.4	Literatur	297
10.5	Behandlung der Schnitte vor und nach dem Färben	179	12	Präparationstechniken und Färbungen von speziellen Geweben	299
10.5.1	Schnittmontage und Trocknung	179		<i>Ulrich Welsch, Bernd Riedelsheimer, Simone Büchl-Zimmermann</i>	
10.5.2	Beschichtungsmöglichkeiten der Objektträger ..	180	12.1	Präparation spezieller Gewebe	300
10.5.3	Behandlung der Schnitte unmittelbar vor der Anfärbung	181	12.1.1	Paraffineinbettung von großen Objekten	300
10.5.4	Behandlung der Schnitte nach der Färbung	182	12.1.2	Bearbeitung (Fixierung, Einbettung und z.T. Färbung) spezieller Organe	300
10.6	Färbemethoden	186	12.2	Präparation von Hartgewebe für die Histologie ..	309
10.6.1	Kernfarbstoffe und Kernfärbungen	186	12.2.1	Allgemeines	309
10.6.2	Cytoplasmfarbstoffe und Cytoplasma- färbungen	193	12.2.2	Präparationsmöglichkeiten	310
10.6.3	Fluoreszenzfarbstoffe	195	12.2.3	Fixierung von Hartgewebe	310
10.6.4	Pigmente	195	12.2.4	Entkalkung	311
10.6.5	Basophilie	198	12.2.5	Kunststoffeinbettung	313
10.6.6	Metachromasie	199	12.2.6	Schliffherstellung ohne Vorbehandlung	314
10.6.7	Übersichtsfärbungen	201	12.2.7	Mazeration von Skeletteilen	315
10.6.8	Schnellfärbungen	202	12.3	Literatur	315
10.6.9	Bindegewebefärbungen	203	13	Neuronale Tracer und ihre Anwendungen (Neuronales Tracing)	317
10.6.10	Stoffnachweise	214		<i>Barbara Nixdorf-Bergweiler</i>	
10.6.11	Nachweis von DNA (Desoxyribonucleinsäure) ..	229	13.1	Retrograde und anterograde Tracer	318
10.6.12	Darstellung von Bakterien, Pilzen, und Protozoen im histologischen Schnitt	231	13.1.1	Retrograde Tracer	318
10.6.13	Darstellung von Blutzellen im histologischen Schnitt	236	13.1.2	Anterograde Tracer	320
10.6.14	Darstellung des Nervengewebes	237	13.1.3	Tracer, die sowohl anterograd als auch retrograd laufen	320
10.6.15	Färbungen an Kunststoffschnitten	255	13.1.4	Lösen, Haltbarkeit und Lagerung der Tracersubstanzen	320
10.6.16	Stückfärbung	257	13.1.5	Auswahl des Tracers für ein Experiment	320
10.6.17	Medizinische Cytodiagnostik	257	13.2	Allgemeiner Ablauf eines Versuchs	320
10.7	Artefakte	268	13.3	Techniken zur Tracer-Applikation	320
10.8	Herstellen mikroskopischer Injektions- und Korrosionspräparate	268	13.3.1	Kristalline Anwendung	320
10.8.1	Injektionspräparate	269	13.3.2	Druckapplikation	321
10.8.2	Korrosionspräparate	271	13.3.3	Iontophoretische Injektion	322
10.9	Einsatz der Polarisationsmikroskopie für die medizinische Diagnostik	273	13.4	Perfusionskammer für <i>in vitro</i> -Farbstoff- applikationen	324
	<i>Josef Makovitzky</i>		13.5	Farbstoffapplikationen in der Interface-Kammer ..	326
10.9.1	Grundlagen der Polarisationsmikroskopie	274	13.6	Anwendungsbeispiele für Tracer-Applikationen ..	328
10.9.2	Topo-optische Reaktionen	274	13.6.1	Fluoro Ruby® (FR)	328
10.10	Literatur	279	13.6.2	Biotinylierte Dextranamine (BDA)	332
10.10.1	Literatur zu Kapitel 10.9	281	13.6.3	Choleratoxin B (CTB)	334

13.6.4	<i>Phaseolus vulgaris</i> Leucoagglutinin (PHA-L)	335	16.5	Ausgewählte Färbvorschriften	384
13.6.5	Biocytin, Neurobiotin	336	16.6	Hämatoxylinlösungen	384
13.6.6	Carbocyanine (Lucifer Yellow, DiI, DiO, DiA)	340	16.7	Einschlussmittel für Dauerpräparate	389
13.7	Literatur	341	16.7.1	Wasserlösliche Einschlussmedien	390
14	Spezielle Präparationsmethoden für tierische Organsysteme und Gewebe	343	16.7.2	Wasserunlösliche Einschlussmittel	390
	<i>Annegret Bäuerle, Heinz Strebler</i>		16.8	Literatur	391
14.1	Einführung	344	17	Cytogenetik	393
14.2	Totalpräparation des Zentralnervensystems (ZNS) von Knochenfischen (Teleostei)	344		<i>Ulrich Welsch</i>	
14.3	Herstellung chitinhaltiger Präparate – Bleich- und Mazerationsmethode	344	17.1	Allgemeines	394
14.4	Totalpräparate kleiner zoologischer Objekte	347	17.2	Chromosomenspreitung	394
14.5	Darstellung von Knorpel und Knochen kleiner Wirbeltiere	348	17.3	Chromosomenfärbungen	395
14.6	Literatur	349	17.3.1	Färbung mit Milchsäure-Orcein	395
15	Präparationstechniken und Färbungen von Protozoen und Wirbellosen für die Lichtmikroskopie	351	17.3.2	Q-Bänderung mit Quinacrin	395
	<i>Erna Aeschl</i>		17.3.3	Q-Bänderung mit Hoechst 33258	396
15.1	Einführung	352	17.3.4	Distamycin A/DAPI- (DA/DAPI)-Färbung	396
15.2	Besonderheiten der Untersuchung	354	17.3.5	C-Bänderung mit Giemsa-Färbung	397
15.2.1	Bedeutung der Lebendbeobachtung	354	17.3.6	G-Bänderung mit Giemsa-Färbung	397
15.2.2	Herabsetzen der Beweglichkeit von Mikroorganismen	354	17.4	Fluorochromierung	397
15.2.3	Vital- und Supravitalfärbungen	354	17.5	Histonnachweis	397
15.2.4	Betäubung	355	17.5.1	Fast Green FCF für Histone	398
15.2.5	Vorfixierung („Räucherungsmethoden“)	355	17.5.2	Dansylchlorid	398
15.2.6	Fixieren	358	17.6	Extraktionsmethoden für Nucleinsäuren	398
15.2.7	Vorbehandlung von Weich- und Hartschubstanzen	360	17.6.1	Säureextraktion	398
15.2.8	Bemerkungen zu den Organismengruppen	361	17.6.2	Enzymatische Extraktion	399
15.3	Literatur	371	17.7	Literatur	399
15.3.1	Originalartikel	371	18	Enzymhistochemie	401
15.3.2	Zusammenfassende Literatur	371		<i>Ulrich Welsch</i>	
16	Präparationstechniken und Färbungen von Pflanzengewebe für die Lichtmikroskopie	373	18.1	Allgemeines	402
	<i>Anja Burmester</i>		18.1.1	Gewebevorbehandlung	402
16.1	Einführung	374	18.2	Ausgewählte Methoden von Enzymnachweisen	404
16.2	Mikroskopische Technik = Mikrotechnik	374	18.2.1	Phosphatasen	404
16.2.1	Vorbereitung des Untersuchungsmaterials	374	18.2.2	Carboxylesterhydrolasen	408
16.2.2	Wahl des Präparates	374	18.2.3	Oxidasen, Peroxidasen	410
16.2.3	Fixierung	379	18.2.4	Dehydrogenasen	411
16.2.4	Fixierflüssigkeiten	379	18.2.5	Transferasen	413
16.3	Weiterverarbeitung des fixierten Materials	380	18.2.6	Lyasen	414
16.3.1	Konservierung	380	18.3	Literatur	414
16.3.2	Mazeration	380	19	Immunlokalisation	417
16.4	Herstellen von lichtmikroskopischen Präparaten	381		<i>Maria Mulisch</i>	
16.4.1	Basismaterialien zur Herstellung mikroskopischer Präparate	381	19.1	Einführung	418
16.4.2	Schnitttechnik	381	19.1.1	Grundlagen	418
16.4.3	Weiterverarbeitung des Schnittes zu einem lichtmikroskopischen Präparat	382	19.1.2	Aufbau und Eigenschaften von Antikörpern	418
			19.2	Herkunft, Auswahl, Überprüfung und Reinigung von Antikörpern	419
			19.2.1	Herstellung von Antikörpern	419
			19.2.2	Reinigung von Antikörpern	422
			19.2.3	Antikörperkonzentrationen	423
			19.2.4	Lagerung von Antikörpern	423
			19.3	Nachweismethoden und Detektion	423
			19.3.1	Direkte und indirekte Immunmarkierung	423
			19.3.2	Auswahl der Antikörper	424
			19.3.3	Indirekte Immunmarkierung über Protein A	424
			19.3.4	Die (Strept-)Avidin-Biotin-(ABC-)Technik	425
			19.3.5	Lokalisation mehrerer Antigene	425

19.3.6	Detektion	426	21	Tissue-Printing	475
19.4	Anforderungen an die Präparate	431		<i>Maria Mulisch</i>	
19.4.1	<i>Whole mount</i> -Immunmarkierung und <i>preembedding</i> -Verfahren	431	21.1	Einführung	476
19.4.2	Markierung an Schnitten	431	21.2	Generelle Methodik des Tissue-Printing	476
19.4.3	Durchführung der Immunmarkierung	432	21.3	Tissue-Prints von zartem Gewebe mit Hilfe von Kryostatschnitten	477
19.5	Kontrollen und Problembehandlung	435	21.4	Nachweise an Tissue-Prints	478
19.5.1	Positiv- und Negativkontrollen	435	21.4.1	Western-Tissue-Print	478
19.5.2	Antigendemaskierung	435	21.4.2	Northern-Tissue-Print	480
19.6	Lokalisation von Molekülen mit Hilfe Antikörper- ähnlicher Nachweissysteme	437	21.4.3	Lokalisation von Enzymaktivität am Tissue- Print	481
19.7	Ausgewählte Anleitungen	437	21.5	Literatur	482
19.7.1	Affinitätsreinigung von Antikörpern	438	21.5.1	Originalartikel	482
19.7.2	Antigendemaskierung	438	21.5.2	Zusammenfassende Literatur	482
19.7.3	Antigendemaskierung für die Immunelektronen- mikroskopie	440	22	Reporterproteine	483
19.7.4	Immunhistologische Markierungen	440		<i>Guido Jach</i>	
19.7.5	Immunmarkierungen für die Elektronen- mikroskopie	441	22.1	Einleitung	484
19.7.6	Immunmarkierungen für Licht- und Elektronen- mikroskopie	442	22.1.1	Enzymatische und lichterzeugende Reporter	484
19.7.7	Silberverstärkung	442	22.1.2	Chemilumineszenz oder Fluoreszenz?	486
19.8	Literatur	443	22.1.3	Zur Geschichte der FP	486
19.8.1	Originalartikel	443	22.1.4	Grundlegendes zu fluoreszierenden Proteinen ...	486
19.8.2	Zusammenfassende Literatur	443	22.2	Fluoreszierende Reporter in der Anwendung	489
20	<i>in situ</i>-Hybridisierung	445	22.2.1	Konstruktion geeigneter Expressionsvektoren ...	489
	<i>Christine Desel</i>		22.2.2	Transiente und stabile Genexpression	490
20.1	Einleitung	446	22.2.3	Analyse durch Fluoreszenzmikroskopie	491
20.1.1	Prinzip	446	22.3	Literatur	494
20.1.2	DNA:DNA- <i>in situ</i> -Hybridisierung	447	23	Qualitative und Quantitative Analyse in der Mikroskopie	495
20.1.3	RNA:RNA- <i>in situ</i> -Hybridisierung	449		<i>Detlef Pütz, Christoph Hamers</i>	
20.2	Sonden	449	23.1	Einleitung	496
20.2.1	DNA-Sonden	450	23.2	Erstellung mikroskopischer Bilder	496
20.2.2	RNA-Sonden	451	23.2.1	Digitale Kameras	496
20.2.3	Sonden für Bakterien- oder Virussequenzen	452	23.2.2	Bilddarstellung bei digitalen Schwarz-Weiß- oder Farbkameras	497
20.3	Markierung der Sonden	452	23.2.3	Das Nyquist-Theorem	499
20.4	Anforderungen an die Präparate	452	23.2.4	Verwendung des adäquaten Kameraadapters ...	499
20.5	Präparation von Chromosomen und Zellkernen ...	453	23.2.5	Kalibrierung	500
20.6	Vorbehandlung der Präparate	453	23.2.6	Bildformate und Komprimierung	500
20.7	Denaturierung der Nucleinsäuren	454	23.3	Bildanalyse	500
20.8	Hybridisierung	454	23.3.1	Konventionelle Verfahren zur Bildanalyse	500
20.8.1	Spezifität der Hybridisierung	454	23.3.2	Digitale Analyse	501
20.8.2	Stringenz	454	23.4	Automatisierte Experimentdurchführung mit motorisierten Mikroskopen	504
20.8.3	Verminderung von unspezifischer Hintergrund- markierung	454	23.4.1	Motorische Komponenten	504
20.8.4	Hybridisierungskinetik	455	23.4.2	Mehrdimensionale Mikroskopie	505
20.8.5	Kontrollen	455	23.4.3	Lebendzellmikroskopie	505
20.9	Laborausstattung und Reagenzien	455	23.5	Ausgewählte Verfahren in der modernen Fluoreszenzmikroskopie	506
20.9.1	Ausstattung	456	23.5.1	Quantifizierung von Fluoreszenzsignalen	506
20.9.2	Reagenzienqualität und -Handhabung	456	23.5.2	Co-Lokalisation	507
20.10	Arbeitsvorschriften	456	23.5.3	Untersuchung der Proteindynamik in lebenden Zellen mit Hilfe fluoreszierender Proteine	508
20.10.1	Vorbereitungen	457	23.5.4	FRET	510
20.11	Probleme und Fehlerquellen	470	23.5.5	Quantitative und qualitative Analyse des Fluoreszenzspektrums	511
20.12	Literatur	472			
20.13	Internetforen	473			
20.14	Bücher	473			

23.5.6	Quantitative Analyse von Ionenkonzentrationen / Ratio Imaging	513	25.10.1	GHS (Global Harmonisiertes System) oder CLP (Classification, Labelling, Packaging)	528
23.6	Bezugs- und Informationsquellen für Software und Analysemodule	514	25.10.2	Kennzeichnung von Gefahrstoffen	530
23.7	Literatur	514	25.10.3	Aufbewahrung, Umgang und Transport von Gefahrstoffen	532
24	Morphometrie in der Mikroskopie: stereologische Methoden	515	25.10.4	Aufnahmewege von Gefahrstoffen	534
	<i>Matthias Ochs</i>		25.10.5	Freisetzung von Gefahrstoffen	534
24.1	Einführung	516	25.10.6	Gefahrstoffverzeichnis	534
24.1.1	Warum Morphometrie?	516	25.10.7	Sicherheitsdatenblätter	535
24.1.2	Stereologie	516	25.10.8	Betriebsanweisung	535
24.2	Voraussetzungen	518	25.10.9	Unterweisung	535
24.3	Methoden	519	25.11	Umgang mit Laborabfällen	535
24.3.1	Bestimmung des Referenzraumes	519	25.12	Umgang mit Mikrotommessern	535
24.3.2	Probenauswahl (Sampling)	520	25.13	Brandschutz	535
24.3.3	Ausgewählte Messungen	520	25.14	Infos zum Arbeitsschutz und GHS/CLP	537
24.4	Literatur	523	25.15	Literatur	537
25	Arbeitsschutz und Sicherheit im Labor	525	Anhang 1	539	
	<i>Bernd Riedelsheimer</i>		<i>Ulrich Welsch, Maria Mulisch</i>		
25.1	Einführung	526	Tabellen	540	
25.2	Gefährdungsbeurteilung	526	Beispielhafte Programme für die Fixierung und Einbettung für die TEM im Einbettautomaten	567	
25.3	Allgemeine Grundregeln	526	Anhang 2	571	
25.4	Sicherheitstechnische Laborausstattung	527	<i>Maria Mulisch</i>		
25.5	Notfalleinrichtungen	527	Aktuelle Bücher zu mikroskopischen Techniken	572	
25.6	Persönliche Schutzausrüstung	527	Anhang 3	575	
25.7	Hautschutz/Hautschutzplan	528	Liste der Anleitungen	576	
25.8	Umgang mit Untersuchungsmaterial	528	Index	583	
25.9	Desinfektion	528			
25.10	Gefahrstoffe	528			