

Arbeitsplan Tannennadeln

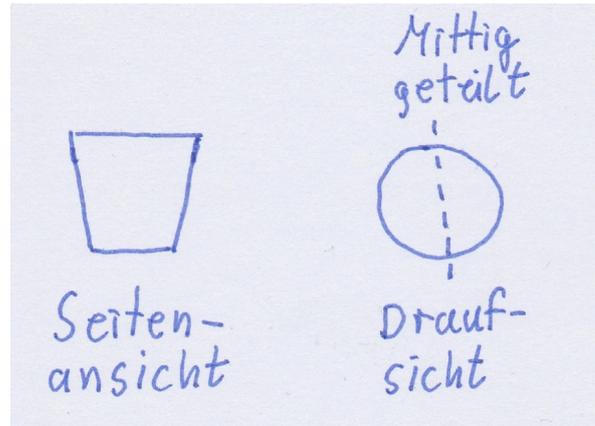
Wir wollen mit dem Handzylindermikrotom eine Tannennadel schneiden, färben und einbetten.

Vorbereitung:

Wir schneiden uns, mit dem Cuttermesser, aus Styrodur eine Einklemmhilfe für das Mikrotom.

Diese Einklemmhilfe sollte nur so groß sein, dass sie leicht in das Mikrotom eingeführt werden kann.

Der untere Teil ist dabei ein wenig schmaler als der obere Teil. Dadurch entsteht beim Festklemmen mit dem Mikrotom der Druck auf den oberen Teil. Die Einklemmhilfe ist in der Mitte zu teilen. In den beiden Hälften wird die Tannennadel im Mikrotom eingeklemmt. In Schnapdeckelgläsern befinden sich Tannennadeln (Trocken oder in Ethanol)



In einem Uhrglas geben wir ein wenig Xylol.

Wir schneiden mit dem Rasiermesser ca. 50 -100µm dicke Schnitte mit dem Mikrotom. Die Tannennadelschnitte klemmen in dem Styrodur fest und wir lassen diese Schnitte in das Uhrglas mit dem Xylol fallen.

Das Styrodur löst sich im Xylol auf und der Tannennadelschnitt bleibt übrig. Dieser Schnitt ist sehr klein und man benötigt eine 10er-Einschlaglupe um die Schnitte zu begutachten. Es sollte eine ausreichende Menge an Schnitten angefertigt werden (ca. 10 Stück)

Möglichkeit 1:

Dauerpräparat ohne Färbung

Man entnimmt aus dem Uhrglas (Xylol mit Schnitten) mit einem Schnittfänger und feinem Pinsel einen Tannennadelschnitt und platziert diesen auf einen Objektträger. Weiter gibt man mit einem Glasstab einen Tropfen Malinol auf den Schnitt und legt ein Deckglas auf (leicht andrücken).

Das Malinol braucht einige Tage um sich zu verfestigen, deshalb ist der Objektträger in einer Präparatmappe liegend zu lagern.
(in dem NWV-Mikro-Schrank und abholen am nächsten Montag)

Arbeitsplan Tannennadeln

Möglichkeit 2:

(**FCA**- Simultan-Färbung nach Etzold / **Fuchsin-Chrysoidin-Astrablau** mit Einbettung Malinol)

1. Aus dem Uhrglas mit dem Xylol und den Tannennadelschnitten ist das Xylol abzusaugen. **ACHTUNG**: Nicht die kleinen Schnitten mit absaugen. Nach dem Absaugen geben wir 96%-Ethanol in das Uhrglas und lassen es 5 Minuten einwirken.
2. Das 96%-Ethanol absaugen. **ACHTUNG**. Schnitte. Und 70%-Ethanol einbringen. Für 5 Minuten
3. Wechseln in 50%-Ethanol. Für 5 Minuten **ACHTUNG**. Schnitte
4. Wechseln in 30%-Ethanol. Für 5 Minuten **ACHTUNG**. Schnitte
5. Drei Mal wechseln mit destilliertem Wasser. Je für 3 Minuten. **ACHTUNG**. Schnitte
6. Wasser absaugen und den Farbstoff **FCA** aufbringen. Für 10 Minuten **ACHTUNG**. Schnitte
7. Drei Mal wechseln mit destilliertem Wasser. Bis keine Farbwolken mehr entstehen. **ACHTUNG**. Schnitte
8. Wasser absaugen und mit Löschpapier (Kaffee- oder Teefilter) Feuchtigkeit entfernen. **ACHTUNG**. Schnitte
9. Entwässern mit 100%-Isopropanol **ACHTUNG**. Schnitte
 1. Stufe Reichlich Isopropanol aufbringen und sofort wieder absaugen
 2. Stufe Isopropanol für 3 Minuten aufbringen
 3. Stufe Isopropanol für 5 Minuten aufbringen
10. Als Intermedium Xylol verwenden **ACHTUNG**. Schnitte
 1. Stufe Isopropanol absaugen und Xylol aufbringen. Wenn das Xylol milchig wird ist noch Wasser vorhanden. Arbeitspunkt 9 wiederholen
 2. Stufe Xylol für 5 Minuten aufbringen
11. Mit einem Pinsel und dem Schnittfänger je einen Schnitt auf einem Objektträger ablegen. Feuchtigkeit auf dem Objektträger mit Filterpapier entfernen.
12. Mit einem Glasstab einen Tropfen Malinol aufbringen und Deckglas auflegen.
13. Zum Trocknen des Malinol mehrere Tage flach lagern (Präparatmappe)