

*Einbetten biologischer Objekte in
Polyethylenglycol für Hand- oder
Mikrotomschnitte*

© Dr. R. Wagner 2010

Einbetten biologischer Objekte in Polyethylenglycol für Hand- oder Mikrotomschnitte

- Was ist Polyethylenglycol (PEG)?
- Vorbehandlung
- Handschnitte
- Mikrotomschnitte
- Weiterbehandlung der Schnitte
- Beispiele
- Literatur

Was ist Polyethylenglycol (PEG)?

- Formel $\text{H} \left[\text{O} \text{---} \text{CH}_2 \text{---} \text{CH}_2 \right]_n \text{O} \text{---} \text{H}$ n=1: Ethylenglycol
- Molmassen von 300 - 35000
- PEG 1500 hat Molmasse 1500
- Niedere Polymere flüssig, höhere fest, wachsartig

Was ist Polyethylenglycol (PEG)?

- Vollständig wasserlöslich
- Leicht hygroskopisch
- Schmelzpunkt PEG 1500: 44 – 48 °C
- Ungiftig, daher verwendung in Salben und als Lebensmittelzusatz

Vorbereitung

- Kormophyten in AFE fixieren, dann mit Wasser auswaschen
- Flechten und Moose nur trocknen
- Material in einer Petrischale in eine 20% ige, wässrige Lösung von PEG 1500 für 24 h einlegen



Vorbereitung

- Bei schwer benetzbarem Material (viele Flechtenarten) Zusatz von 1 Tropfen Netzmittel (Spüli)
- Material auf einen Objekträger legen und vollständig eintrocknen lassen (24 h)
- Anschließend ist das Objekt mit PEG imprägniert



Schneiden

- A) Direkt auf dem Objekträger mit der Rasierklinge
- B) Mit dem Handzylindermikrotom
- C) Mit dem Mikrotom

Handschnitte

A) Direkt auf dem Objekträger mit der Rasierklinge

→ Rasierklinge halbieren

→ Dann unter dem Stemi dünne Scheiben abschneiden

→ Fingerkuppe des linken Zeigefingers als Führung
benutzen

Handschnitte

B) Mit dem Handzylindermikrotom

★ Da PEG wasserlöslich ist:

Einbetten in ein trockenes Medium wie

Holundermark, **keine Möhrrübe** oder

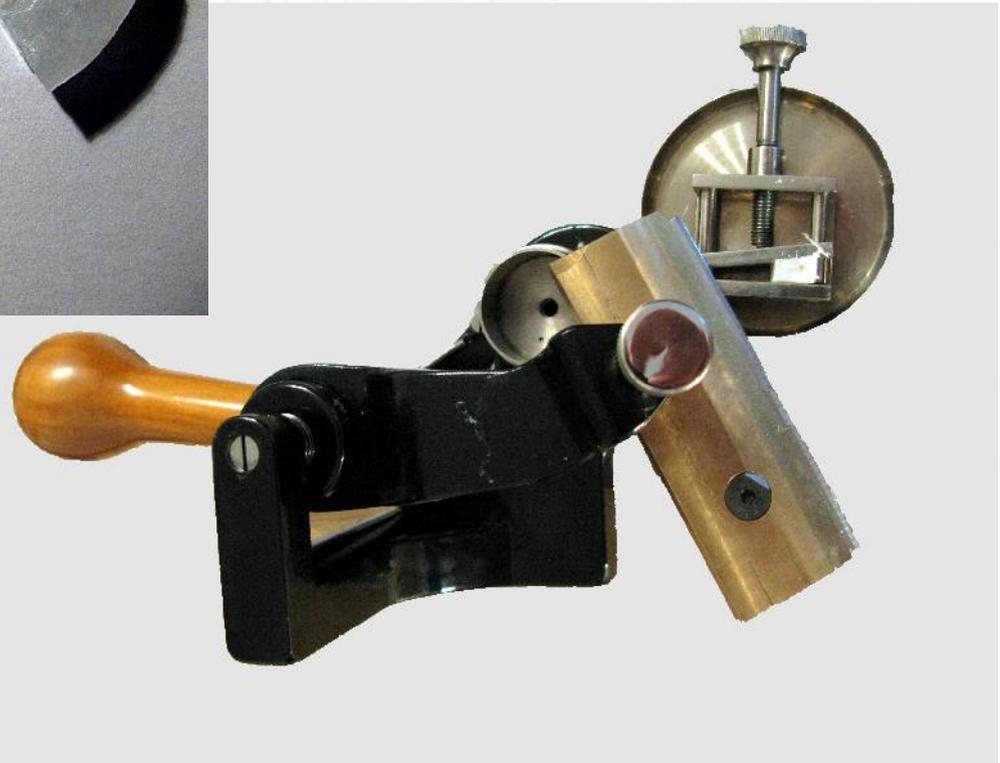
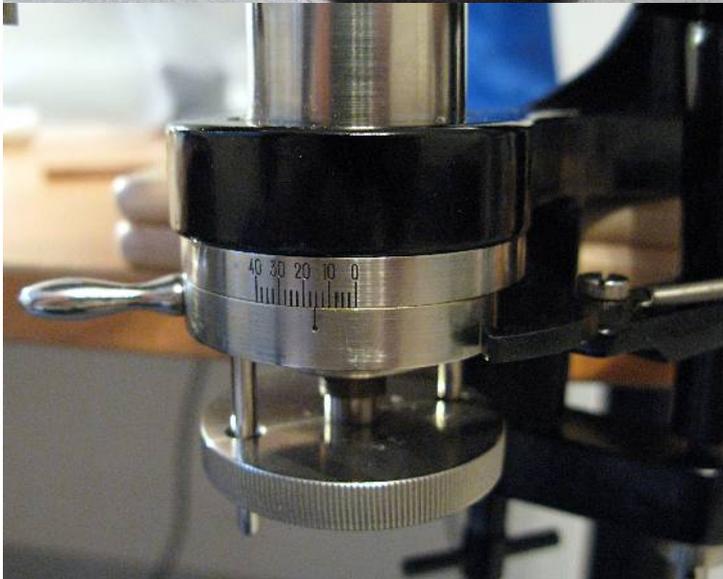
ähnliches

Mikrotomschnitte

C) Mit dem Schlitten- oder Rotationsmikrotom

- Eingießen in Blöcke
- 7,5 g PEG 1500 und 2 Tropfen Glycerin
- Bei 50°C schmelzen, dann zu Blöcken vergießen
- Normal schneiden

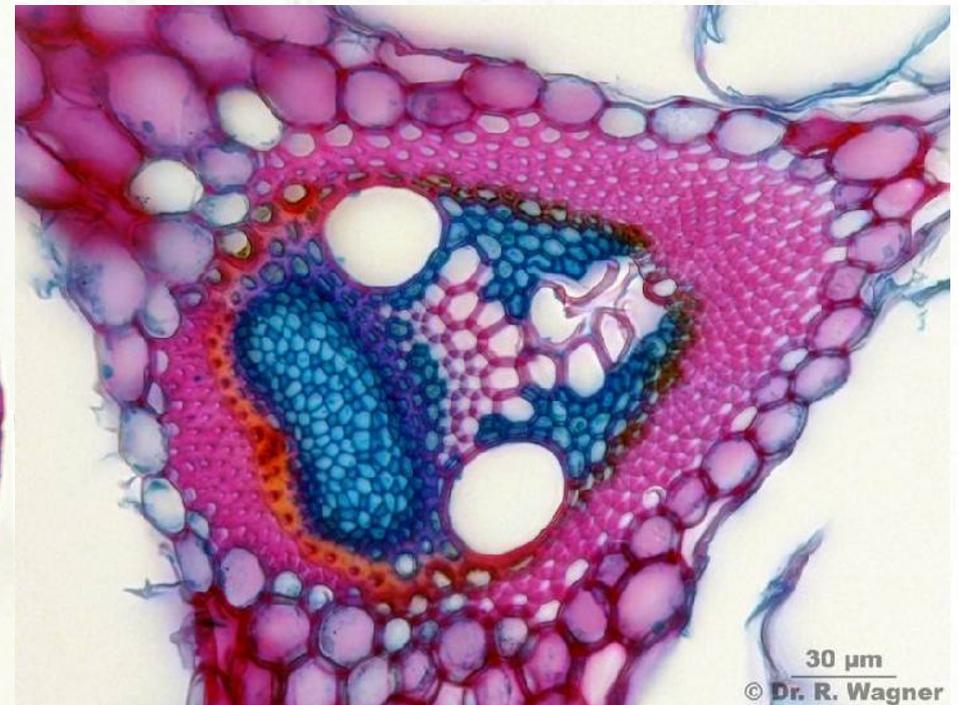
Mikrotomschnitte



Weiterbehandlung der Schnitte

- Die Schnitte in eine ca. 10% ige, wässrige Lösung von PEG 1500 einlegen
- Dadurch erfolgt ein langsames, schonendes Auflösen des PEG in Wasser
- In reinem Wasser erfolgt das Lösen des PEG zu schnell und die Schnitte reißen
- Anschließend beliebige Verarbeitung wie
 - ➔ Färben
 - ➔ Anfertigung von Dauerpräparaten
 - ➔ Direkte mikroskopische Untersuchung

Beispielbilder



Binse (Juncus) quer, Etzold

Beispielbilder



Usnea



Alectoria



Cladonia

Querschnitte durch Strauchflechten

Literatur

- Bruno P. Kremer; Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie
 - Halle W (1959): Die Verwendung von wasserlöslichen Polywachsen als Einbettungsmittel in der histochemischen und histologischen Technik. Mikrokosmos Band 48, Seite 275
 - Türler S (1972): Ein ideales Einbettungsmittel? Erfolge und Schwierigkeiten mit Polyäthylenglykol. Mikrokosmos Band 61, Seite 91
 - Theiler R (1973): Polyäthylenglykol als Hilfsmittel beim Gefrierschneiden. Mikrokosmos Band 62, Seite 59
- Jentzen A (1988): Erfahrungen mit Histowachs. Mikrokosmos Band 77, Seite 57

Literatur

- Pareto A (1989): Rasches Einbettungsverfahren für krautige Pflanzenteile in Polyäthylenglykol. Mikrokosmos Band 78, Seite 255
- Pareto A (1989): Polyethylenglykol als besonders gut geeignetes Einbettungsmedium für trockene Samenschalen von Leguminosen. Mikrokosmos Band 78, Seite 337
- Gruber M (1989): Einbettung von Pflanzenteilen in Polyethylenglykol. Herstellung von perfekten Dünnschnitten mit dem Handmikrotom. Mikrokosmos Band 78, Seite 12