

Mikroskopische Anatomie

WiSe 2011/12

Dozenten:

Dr. Wilko Ahlrichs, Dr. Mona Hoppenrath, Dr. Alexander Kieneke

Technische Assistenz:

Heike Oetting, Renate Kort und Maren Preuß

TeilnehmerInnen:

Gruppe 01

Gruppe 03

Gruppe 02

Gruppe 04

1. Woche		
Montag		
Mo 31.10.11	9.30 – 17.00	Treffen ab 9.30 am DZMB Schwerpunkt: Mikrofauna kennenlernen
	Praktikum	Proben sammeln an Nassauhafen und am Südstrand
		Proben aufbereiten, Organismen extrahieren, bestimmen, dokumentieren, vorfixieren:
Dienstag		
Di. 01.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkt: Probenaufarbeitung. Organismen für die weiteren Präparationen gewinnen.
	Seminar	Tagesplan
	Praktikum	Gezielt bestimmte Arten herausuchen, betäuben, fixieren (Dauer:1h), und puffern für LM, CLSM, TEM und REM
Mittwoch		
Mi. 02.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkt: Nachfixieren und Entwässern
	Seminar	Kurze Einführung in den Präparationsverlauf für LM, REM, TEM und CLSM.
	Praktikum	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nachfixierung für REM/TEM mit OsO₄ starten (Dauer 1h) 2. Überblick über folgenden die Präparationsabläufe 3. Nachfixierung mit OsO₄ stoppen (alle Gruppen gemeinsam) 4. Araldit für alle Gruppen ansetzen (alle Gruppen gemeinsam) 5. Entwässerung der REM-, TEM-, LM-Proben (alle Gruppen parallel) 5.1 Präparate für LM entwässern <ul style="list-style-type: none"> - in Glycerin/Wassergemisch überführen - anschließend über Nacht abdampfen lassen 5.2 Präparate für TEM entwässern <ul style="list-style-type: none"> - in aufsteigender Acetonreihe entwässern - anschließend in Araldit A/Acetongemisch überführen - über Nacht Aceton abdampfen lassen 5.3 Präparate für REM

		<ul style="list-style-type: none"> - in aufsteigender Alkoholreihe entwässern (1) anschließend Kritisch-Punkt-Trocknen (2) mit HDMS trocknen (optional) <p>5.4 Präparate für CLSM</p> <ul style="list-style-type: none"> - Stoppen der Fixierung - Überführen der Tiere in den Waschpuffer / Aufbewahrungspuffer sowie - Vorbereiten der Färbelösungen mit Phalloidin (Muskulatur) und Propidiumiodid (Kerne)
--	--	--

Donnerstag		
Do. 03.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkte: Einbetten und Trocknen
	Seminar	Tagesplan
	Praktikum	<p>1. Einbetten der TEM Präparate (alle Gruppen gemeinsam)</p> <p>1.1 Araldit B ansetzen</p> <p>1.2 Latex - Förmchen mit Araldit B vortropfen</p> <p>1.3 Abgedampfte Präparate aus Araldit A in Araldit B überführen</p> <p>2. REM Präparate Kritisch-Punkt trocknen</p> <p>2.1 Vorstellen der Kritisch-Punkt-Trocknung und Sputtern. (<i>Renate Kort</i>) im REM Vorbereitungsraum</p> <p>2.2 Präparate Kritisch-Punkt-Trocknen (TA REM)</p> <p>3. Eindeckeln der CLSM Präparate</p> <p>3.1 Überführen der Tiere in den Permeabilisierungspuffer (ca. 3 h vor der Färbung)</p> <p>3.2 Überführen der Tiere in Färbelösungen für f-Actin</p> <p>3.3 Stoppen der Färbung nach ca. 3 Stunden</p> <p>3.4 Kontrolle der Färbung der CLSM Präparate am FLM (Die schlechten Präparate verwerfen.)</p> <p>3.5 Anfertigung von Präparaten (gruppenweise) für die Fluoreszenzmikroskopie (Einbettung in Citifluor).</p>

Freitag		
Fri. 04.11.11	09.00 – 17.00	frei

2. Woche		
Montag		
Mo. 07.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkt: 1. Mikroskopie am CLSM Protisten für Präparation vorbereiten.
	Praktikum	Einführung in die Bedienung des CLSM
		Gruppe 01: Mikroskopie am CLSM; Herstellen von Datensätzen
		Gruppe 02: Mikroskopie am CLSM; Herstellen von Datensätzen
	Parallel	Einführung in die Präparation von Protisten
		Gruppe 01: Präparation Protisten
		Gruppe 02: Präparation Protisten

Dienstag		
Di. 08.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkt: Trimmen & Schneiden
		Gruppe 01 & Gruppe 02: REM Präparate aufblocken

		Aufblocken: Getrocknete Präparate auf Stubs überführen Sputtern: Aufgeblockte Präparate mit Gold/Platinschicht überziehen
	Praktikum	Gruppe 01: Trimmen, Schneiden & Befilmen
		Gruppe 01: Trimmen, Schneiden & Befilmen

Mittwoch		
Mi. 09.11.11	09.00 – 17.00	Am DZMB in Wilhelmshaven
	Praktikum	Präparation von Protisten

Donnerstag			
Do. 10.11.11	09.00 – 13.00	Schwerpunkt: REM & TEM	
	Seminar	VL Einführung in die Elektronenmikroskopie	
Vormittags	Praktikum	Gruppe 01	TEM
Vormittags	s	Gruppe 02	TEM
Nachmittags		Gruppe 01	REM
Nachmittags		Gruppe 02	REM

Freitag		
Fr. 11.11.11	09.00 – 13.00	Schwerpunkt Lichtmikroskopie
	Seminar	1.VL Einführung in die Lichtmikroskopie
		2. Üb Dauerpräparate für die LM
		3. Üb Praktische Einführung in die Lichtmikroskopie

3. Woche

Montag		
Mo. 14.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkt: Morphologie und Ultrastruktur von Zellen, Geweben und Organismen
	Seminar	Besprechung der mikroskopischen Fotos: Ultrastruktur von Zellorganellen, Zelltypen und Geweben.
	Praktikum	Auswertung Bilder REM, TEM, LM Zeichnung eines Querschnitts von TEM/LM Bild Beginn mit der Erstellung des Methoden – Posters;

Dienstag		
Di. 15.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkt: Morphologie und Ultrastruktur von Zellen, Geweben und Organismen II
	Seminar	Wiederholung Postergestaltung in Powerpoint
	Praktikum	Auswertung Bilder REM, TEM, LM Zeichnung eines Querschnitts von TEM/LM Bild Beginn mit der Erstellung des Methoden – Posters;

Mittwoch		
Mi. 16.11.11	09.00 – 17.00	Schwerpunkt 3D Rekonstruktion von CLSM - Daten
	Seminar	Tagesplan
	Praktikum	Auswertung der CLSM Daten mit Amira I

Donnerstag		
Do. 17.11.11	09.00 – 13.00	Schwerpunkt 3D Rekonstruktion von CLSM - Daten
	Seminar	Tagesplan
	Praktikum	Auswertung der CLSM Daten mit Amira I

--	--	--

Freitag		
Fr. 18.11.10		frei

Datum	Zeit	
Termine nach Absprache	9.00 – 12.00	Präsentation des Posterentwurfs. Anschließend Kritik und Korrektur

- I. Block: Vorlesungen zur Einführung
Parallel zu den Einführungen in die Methoden der Mikroskopie
- II. Block: Einführung in die Methoden der Mikroskopie
Beginn: Mi. 31.10.2011; Ende: Fr. 18.11.2010
- III. Block: Projekte und Poster
Beginn: Mo. 02.11.2011 Ende Fr. 16.12.2011
- IV. Block: Protokoll in Form einer wissenschaftlichen Veröffentlichung
bis Ende der Vorlesungszeit.

Leistungsnachweis: 1. Poster und Kurzpräsentation
 2. Protokoll des Projektes in Form einer wissenschaftlichen Publikation.

I. Block

Datum	09.00 – 17.00	Vorlesungen
Termine nach Absprache		01. Vorstellen der Organismengruppen (Wilko)
		02. Mikrofauna und Methoden
		03. Einführung in Ultrastruktur von Zelle und Gewebe von Protisten und Metazoen
		04. Einführung in die Lichtmikroskopie (LM)
		05. Einführung in die konfokale Laser Scannig Mikroskopie (CLSM) und Fluoreszenzmikroskopie (FLM)
		06. Einführung in die Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie (REM / TEM)
		07. Fotodokumentation und wissenschaftliches Zeichnen
		08. Fototafeln und Poster in MS Powerpoint /Adobe Indesign
		09. Einführung in die digitale 3D Rekonstruktion