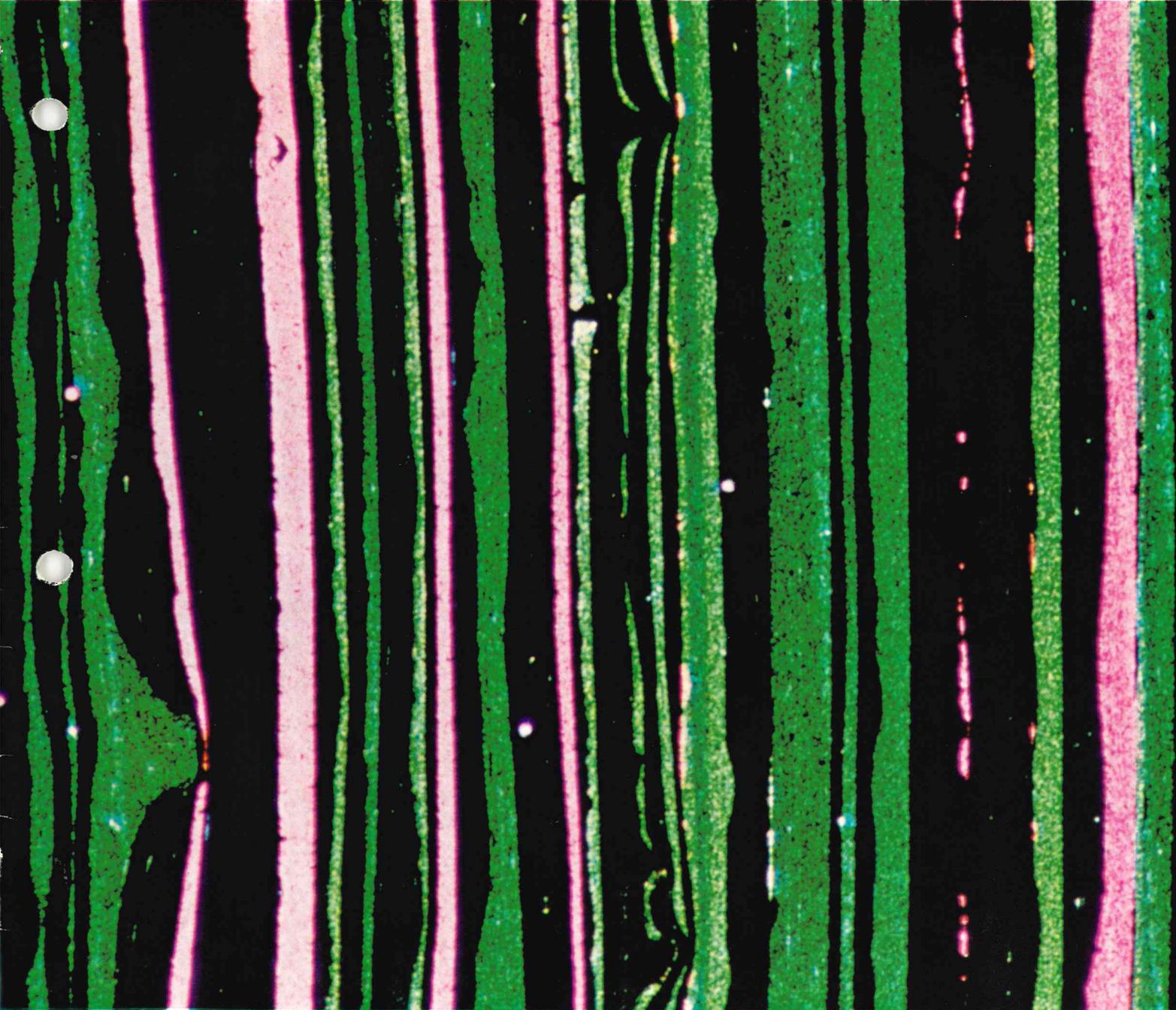




Mitteilungen

für Wissenschaft und Technik



Bd. V/Nr. 2

gegebene Farbglas OG 1 mit einer Kantenlage τ 45° bei 530 nm (vergl. Abb. 9) ist als Sperrfilter nicht so gut geeignet, da es im Bereich des Emissionsmaximums von FITC eine geringere Durchlässigkeit besitzt. Insgesamt gesehen, sind also für die FITC-Routinefluoreszenzmikroskopie und im Prinzip dann auch für andere Fluorochromierungen wie z. B. TBC Auramin ebenfalls Möglichkeiten gegeben, mittels einer Halogen-Glühlampe und geeigneten Filtern mit entsprechender asymmetrischer Durchlaßcharakteristik helle, kontrastreiche und vor allem klar zu interpretierende fluoreszenzmikroskopische Bilder zu erhalten.

Zum Abschluß sei das Ergebnis unserer Betrachtungen noch einmal in einer Übersichtstabelle zusammengefaßt.

Anschrift des Verfassers: Dr. Friedrich Walter, Ernst Leitz GmbH Wetzlar, Labor ANWENDUNG MIKRO.
Meinen Mitarbeitern danke ich für die Hilfe bei der Aufstellung der Lichtquellen- und Filterkurven.

Literatur:

- Cherry, W. B., M. Goldmann and T. R. Carski: Fluorescent Antibody Techniques in the Diagnosis of Communicable Diseases; US Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service Publication No. 729 (1960).
Corrodi, H. and J. Jonsson: The Formaldehyde Fluorescence Method for the Histochemical Demonstration of Biogene Monoamines. Journ. Histochem. and Cytochem. 15 (1967), 65.

- Eichler, J. und F. Walter: Ein Beitrag zur Fluoreszenzmikroskopie des Knochengewebes. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1967), 110.
Falck, B. N. A. Hillarp, G. Thieme and A. Torp: Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. Journ. Histochem. and Cytochem. 10 (1962), 348.
Grehn, J. und H. Kornmann: Kontrastfluoreszenz mit Opak-Illuminator. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 3 (1965), 108.
Hagemann, P. K. H.: Fluoreszenzfärbung von Tuberkelbakterien mit Auramin. Münchener Medizin. Wochenschr. 85 (1938), 1066.
Hansen, P. A.: Fluorescent Compounds used in Protein Tracing Absorption and Emission Data. Arbeitsbericht des Dept. of Microbiology, University of Maryland. Sept. 1964 (nicht im Handel erhältlich).
Young, M. R. and J. A. Armstrong: Fluorescence Microscopy with the Quartz-Jodine-Lamp. Nature 213 (1967), 649.
Kraft, W.: Die Technologie des Leitz-Fluoreszenzopak. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1969), 239.
Nairn, R. C.: Fluorescent Protein Tracing. E. & S. Livingstone Ltd.; Edinburgh and London. 1. Aufl. 1962; 3. Aufl. 1969.
Rygaard, J. and W. Olsen: Interference Filters for improved Immunofluorescence Microscopy. Acta path. microbiol. scand. 76 (1969), 146.
Ploem, J. S.: A new microscopic method for the visualisation of blue formaldehyde-induced catecholamine Fluorescence. Arch. int. Pharmacodyn. 182/2 (1969), 421.
Ploem, J. S.: Ein neuer Illuminator-Typ für die Auflicht-Fluoreszenzmikroskopie. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1969), 225.
Richards, O. W. and P. Waters: A New Interference Exiter Filter for Fluorescence Microscopy of Fluorescein-Tagged Substances. Stain Technology 42 (1967), 320.
Walter, F.: Über die Fluoreszenzmikroskopie mit markierten Proteinen. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 2 (1964), 207.
Walter, F.: Eine Auflicht-Fluoreszenz-Einrichtung für die Routinediagnose. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1968), 186.

	Beleuchtungsverfahren	Mikroskop	Lampenhaut	Lichtquelle/ Anregungsstrahlung	Filter
Routine-Diagnostik	Durchlicht-Dunkelfeld mit D 0.80/D 1.20	LABORLUX DIALUX	250, (100)	Hg 200 W/UV-Violett-Blau (Halogen 100 W/Blau)	Durchlicht-Dunkelfeld (Auramin-TBC, FITC-Tests): Breitbandfluoreszenz gemäß LEITZ-Liste 52-20b und PLOEM 1969, bzw. Spezialfilter für FITC
	Auflichtanregung mit Fluoreszenzilluminator nach Ploem	ORTHOLUX ORTHOPLAN	250, 100 500, 250, 100	Hg 200 W, Hg 100 W/UV-Violett-Blau-Grün (Halogen 100 W/Blau)	Auflichtanregung mit Fluoreszenzilluminator nach Ploem: Breitbandfluoreszenz gemäß PLOEM 1969 Schmalbandfluoreszenz (FITC) gemäß PLOEM 1969
Forschung	Durchlicht-Dunkelfeld mit D 0.80/D 1.20 und/oder Auflichtanregung mit Fluoreszenzilluminator nach Ploem	ORTHOLUX	250, 100	Hg 200 W /UV-Violett-Hg 100 W/ Blau-Grün (Halogen 100 W/Grün)	Breitbandfluoreszenz gemäß LEITZ-Liste 52-20b und PLOEM 1969 Schmalbandfluoreszenz gemäß PLOEM 1969
		ORTHOPLAN	500, 250, 100		
Fluorometrie	Auflichtanregung mit Fluoreszenzilluminator nach Ploem	ORTHOLUX-MPV ORTHOPLAN-MPV	250, 100	Xenon 150 W, Xenon 75 W/von UV bis Rot Hg 100 W/UV-Violett-Blau-Grün (Halogen 100 W/Grün)	Schmalbandfluoreszenz gemäß PLOEM 1969 oder Monochromator bzw. Interferenzverlauffilter

Ein neues FITC-Erregerfilter für die Routinefluoreszenz

Von Winfried Kraft, Wetzlar¹⁾

DK 535.822.5:535.371:535.345.6

Fluoresceinisothiocyanat (FITC) (5) ist heute in der Fluoreszenzmikroskopie, insbesondere der Immunfluoreszenz, der am häufigsten verwendete Fluoreszenzfarbstoff. Die Anwendung dieses Fluoreszenzfarbstoffs brachte bisher noch technische Probleme, denn wegen fehlender optimaler Exzitationsfilter mußte man entweder auf eine ausreichende Fluoreszenzintensität oder auf einen dunklen Hintergrund verzichten.

Auf Grund steigender technischer Anforderungen durch Verwendung neuer Fluoreszenzfarbstoffe (FITC, Tetramethylrhodamin, Rosamin B, Lissamin-Rhodamin B 200) reichen Farbgläser, d. h. in der Schmelze gefärbte Gläser, als Exzitationsfilter nicht mehr aus.

Bei diesen Fluorochromen liegt das Exzitations- und das Emissionsmaximum in der Wellenlängenskala zu dicht beisammen, als daß sie von normalen Farbglasexzitationsfiltern, die meist zwischen dem jeweiligen Exzitations- und Emissionsmaximum keine geeignete Kante aufweisen, getrennt werden könnten. Wir sehen schon hieraus, daß in der Fluoreszenzmikroskopie immer das Zusammenspiel von Lichtquelle, Fluorochrom und Filterkombination (Exzitations- und Sperrfilter) beachtet werden muß.

Durch die Verwendung von Interferenzfiltern in der Fluoreszenzmikroskopie ist dieses Problem, das bei Farbglasfiltern fast immer auftritt, erheblich geringer geworden, da es jetzt möglich ist, mit Hilfe eines speziell für FITC entwickelten Interferenzexzitationsfilters außerordentlich brillante, kontrastreiche FITC-Fluoreszenzen zu erzeugen.

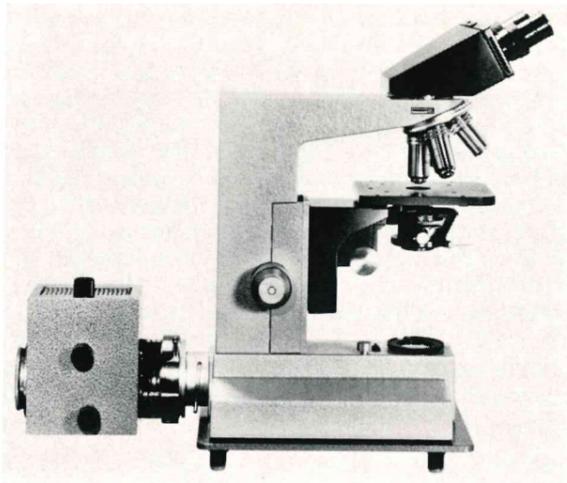
Bisher war eine anspruchsvolle Fluoreszenzmikroskopie lediglich mit den großen Forschungsmikroskopen ORTHOLUX und ORTHOPLAN in Verbindung mit dem LEITZ-Fluoreszenzopak nach Ploem

(1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13) bzw. LABORLUX mit Fluoreszenzeinrichtung möglich. Der LEITZ-Fluoreszenzopak mit dichromatischen Teilerspiegeln, in Verbindung mit einer Quecksilberhochdrucklampe HBO 100/HBO 200xB075/xB0150 und z. T. mit Interferenzfiltern als Exzitationsfilter, erzielt die qualitativ und quantitativ beste FITC-Fluoreszenz, die mit Objektiven hoher und höchster Aperturen derzeit erreichbar ist. Außerdem bietet er bei Verwendung dieser Objektive für alle anderen bekannten Fluoreszenzanwendungen die denkbar günstigsten Voraussetzungen bezüglich Fluoreszenzhelligkeit, spezifischer Fluoreszenz und Kontrast.

Jetzt kann man in der Routinediagnose auf einfachste Weise auch mit Laboratoriums-, Kurs- und Arbeitsmikroskopen eine brillante, intensitätsstarke und spezifische FITC-Fluoreszenz erzielen, sofern man einen Dunkelfeldkondensor und eine entsprechende Lampe adaptieren kann.

Als Exzitationslichtquelle für diese moderne FITC-Fluoreszenzmethode benötigt man nicht mehr unbedingt eine Quecksilber- oder Xenonhochdrucklampe. Einfache Glühwendellampen, an erster Stelle die Halogenglühlampe 12 V 100 W, mit geringen Intensitätsverlusten auch die in ihrer Abstrahlenergie etwas schwächere Glühlampe 12 V 60 W, ergeben bei den meisten Präparaten eine hervorragende Fluoreszenzqualität, da die Abstrahlenergie, insbesondere bei der Halogenglühlampe (Abb. 1), im Gegensatz zu früheren Erkenntnissen (11), im Wellenlängenbereich des Absorptionsmaximums von FITC — gleichzeitig Anregungsmaximum — vollkommen ausreichend ist (Abb. 2), d. h. im Wellenlängenbereich von 470 bis 500 nm ist das Energieverhältnis Halogenglühlampe 12 V 100 W — Quecksilberhochdrucklampe HBO 100 fast wie 1:1, da nur noch das fast kontinuierliche Untergrundspektrum der HBO 100 wirksam ist. Ganz anders liegen die Verhältnisse natürlich in anderen Wellenlängenbereichen, insbesondere bei den Hg-Linien, im violetten

¹⁾ Aus der Wiss. Abt., Entwicklungslabor Mikrophotometrie, der Ernst LEITZ GmbH.



und im ultravioletten Spektralbereich, wo die Halogenglühlampe keine nennenswerte bzw. gar keine Energie mehr besitzt. Ein weiterer Vorteil der Halogenglühlampe, bezogen auf den hier behandelten Anwendungsfall, ist der um den Faktor 10 niedrigere Preis gegenüber der HBO 100.

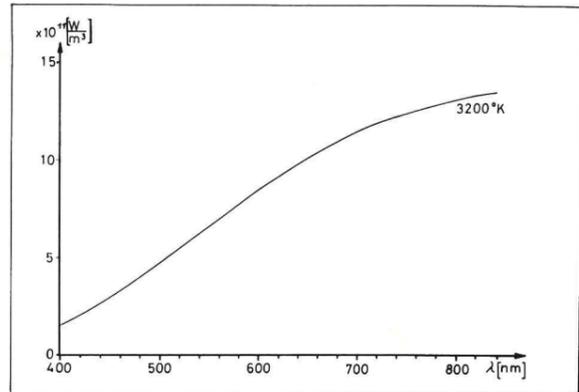
Die heute bekannten Fluoreszenzmikroskopierverfahren kann man entsprechend der Exzitationsart grob in drei Gruppen gliedern (Abb. 3):

- a) Auflichthellfeldexzitation
- b) Durchlichthellfeldexzitation
- c) Durchlichtdunkelfeldexzitation

Von diesen Verfahren werden jedoch fast nur noch die Verfahren a und c angewandt, da das Verfahren b erhebliche technische Probleme, z. B. Fluoreszenz der Sperrfilter und größere Hintergrundhelligkeit mit sich bringt.

Für die hier beschriebene FITC-Fluoreszenzmethode erscheint somit die Durchlichtdunkelfeldexzitation besonders geeignet, da zudem die Dunkelfeldkondensoren immer lichtstärker werden, größere Objektfelder optimal ausleuchten und hier das Problem der UV-Durchlässigkeit nicht vorhanden ist.

Abb. 1: Plancksche Strahlungsverteilung.



Die Verfahren, wie Phasenkontrastfluoreszenz, Fluoreszenz mittels zweier gekreuzter Polarisatoren und Fluoreszenz mit Polarisation überlagert, sollen hier nicht weiter behandelt werden.

Unsere Untersuchungen sowie die nebenstehenden Abbildungen (Abb. 4 und Abb. 4a) wurden mit folgendem Geräteaufbau durchgeführt: Neues LEITZ-DIALUX¹⁾ mit Halogenglühlampe 12 V 100 W, einem Wärmeschutzfilter 2 mm KG 1 und einem RotdämpfungsfILTER 4 mm BG 38 im Lampenhaus 100 Z, FITC-Erregerfilter KP 490, eingelegt in die Filteraufnahme des Staubschutzglases, einem Dunkelfeldkondensator D 1.20 sowie einem neu entwickelten Sperrfilter K 510 nm, welches dem FITC-Filter speziell zugeordnet wurde. Sperrfilter mit einer Kante oberhalb 520 nm sind nicht mehr zulässig, da man die Fluoreszenzfarbe damit verfälscht und das Emissionsmaximum bereits beschneidet. Für selektive Fluoreszenzbeobachtungen kann an Stelle des neuen Sperrfilters K 510 ein Interferenzbandfilter²⁾ AL 525 nm³⁾ verwendet werden.

Als Basis dieser Filterentwicklung dienten die von HANSEN (2, 3) (1964) veröffentlichten Exzitations- und Emissionsspektren verschiedener Fluorochrome. Fluoresceinisothiocyanat hat ein Absorptionsmaximum zwischen 490 und 495 nm sowie ein Fluoreszenzmaximum zwischen 520 und 525 nm (Abb. 5).

Auf Grund intensiver Messungen am Mikroskopphotometer MPV bei FITC-gefärbten Präparaten und durch die Erkenntnisse, die wir bei der Entwicklung unseres LEITZ-Fluoreszenzopak sammeln konnten, war es möglich, in Zusammenarbeit mit der Fa. Balzers¹⁾ ein speziell für die FITC-Fluoreszenz bestimmtes Interferenzkantenfilter vom Typ eines Kurzendpaßfilters zu entwickeln.

Das neue Filter (KP 490)²⁾, FILTRAFLEX-FITC³⁾ (Abb. 6), nach modernsten Rechenverfahren unter Einbeziehung von Computern geschaffen, besitzt Transmissionswerte auf der Erregerseite von $\tau = 50$

¹⁾ DIALUX-Laboratoriumsmikroskop. LEITZ-Druckschrift Nr. 512 bis 111.

²⁾ Jenaer Glaswerke Schott & Gen., Mainz.

³⁾ In Vorbereitung.

Abb. 2: Exzitations- und Emissionsspektrum von Fluoresceinisothiocyanat (FITC) (2). Die Emissionsenergie wurde zur besseren Darstellung energiegelich gezeichnet.

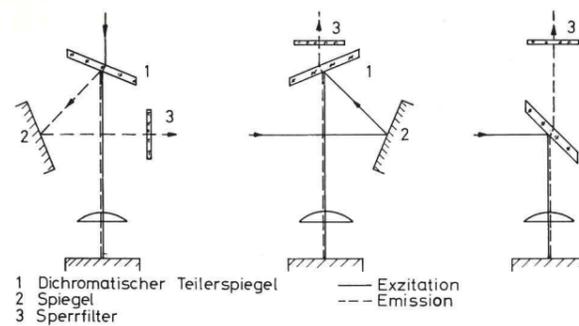
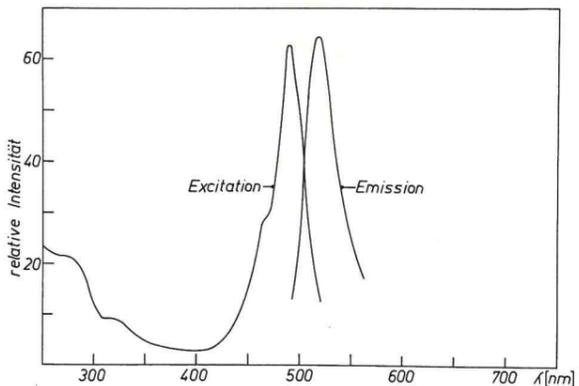


Abb. 3: Schematische Darstellung der wichtigsten Methoden zur Auflichthellfeldexzitation.

bis 80% zwischen 370 und 460 nm und erreicht schließlich mehr als 85%, beim vorliegenden Muster bis zu $\tau = 92\%$ im Wellenlängenbereich von 460 bis 495 nm. Die ungewöhnlich steile Kante wurde so gewählt, daß sie im optimalen Bereich zwischen Exzitations- und Emissionsmaximum des Fluorochroms FITC liegt. Oberhalb der Kante — die Zählrichtung geht vom ultravioletten zum roten Licht — sperrt das Filter bis maximal 10^{-5} bei 520 nm bis ca. 0,2%. Grüne oder rote Dunkelfeldbilder innerhalb und an den fluoreszierenden Objekten sind auf Grund der ausgezeichneten Sperreigenschaften dieses Filters von der sogenannten Kante aus im interessierenden längerwelligen Spektralbereich bis ca. 650 nm nicht vorhanden. Der in der Literatur u. a. von RYGAARD und OLSEN (1969) (10) beschriebene rote Farbkontrast, der als Ersatz für das Phasenkontrastverfahren in der Fluoreszenzmikroskopie vorgeschlagen wird, wird nicht angestrebt, da ein rotkontrastiertes Fluoreszenzbild in der Schwarzweißphotographie eine nachträgliche Aussage über fluoreszierende Strukturen sehr erschwert. Dies gilt um so mehr, da es noch keine Rotabsorptionsfilter mit einer geeigneten Kantenlage gibt, die den Rotanteil im Fluoreszenzbild, verursacht durch das Dunkelfeldbild, und ungewünschtes Streulicht absorbieren.

Für die quantitative Fluoreszenzmikroskopie wird jedoch die Auflichtfluoreszenz weiterhin als Methode der Wahl bestehen bleiben, da sie verschiedene Vorteile hat. Objektiv und Kondensator sind identisch und demzufolge genau zentriert und zu gleicher Zeit fokussiert. Dadurch wird die Reproduzierbarkeit der Fluoreszenzbedingungen in der Objektebene während der Bewegung des Präparates mit dem Mikroskopisch garantiert (RUCH, 1966; THAER, 1966). Ebenso müssen die besseren Ausblendmöglichkeiten einzelner Zellen und damit gleichzeitig vermiedene Ausbleichungen der benachbarten Objektpartien als großer Vorteil angesehen werden (PLOEM, 1969). Wir haben außer den sonstigen Eigenschaften, wie maximale Transmission auf der Exzitationsseite, extreme Kantensteilheit zwischen Exzitations- und

¹⁾ Deutsche Balzers GmbH, 6222 Geisenheim/Rhein Marienthaler Straße 3
²⁾ LEITZ-Bezeichnung
³⁾ Balzers-Bezeichnung

Emissionsmaximum und hervorragende Sperreigenschaften im Emissionsbereich, auch die Forderungen erfüllen können, die an ein Filter gestellt werden müssen, wenn dieses Filter an irgendeinem Ort im optischen Strahlengang des Mikroskops angeordnet werden soll. Die Einstellung einer exakten Köhlerbeleuchtung wird nicht, wie bei ähnlichen Filtertypen auf dem Markt, durch Mehrfachreflexionsbilder von Lichtquelle und/oder Leuchtfeldblende unmöglich gemacht, da es wegen der Leistungsfähigkeit des Filters überflüssig erschien, zur weiteren Qualitätsverbesserung zwei oder mehrere gleichartige Filter hintereinanderschalten. Werden z. B. zwei solcher Filter mit einem kleinen Luftspalt zu einer Einheit montiert, wie das bei auf dem Markt befindlichen ähnlichen Filtern der Fall ist, so kann ein Keil zwischen den beiden Filtern entstehen, der eine einwandfreie Abbildung der Leuchtfeldblende unmöglich macht.

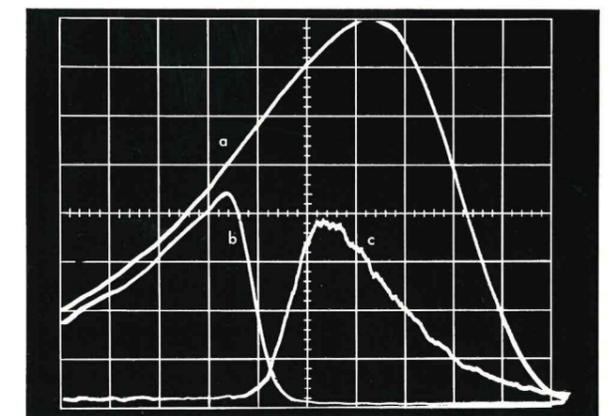
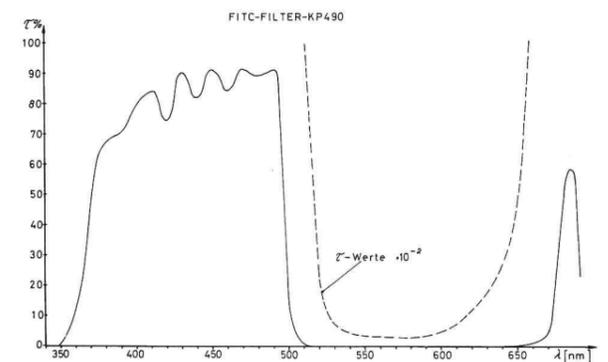


Abb. 5: a) Lampenspektrum der Halogenglühlampe 12 V 100 W b) Transmissionskurve des FITC-Filters KP 490 c) Emissionsspektrum von FITC (das Meßsignal der Emissionsenergie wurde elektronisch verstärkt). Diese Kurven wurden mit dem LEITZ-Mikrospektrographen und dem STORAGE-Speicheroszillographen Typ 564 dargestellt.

Abb. 6: Meßkurve der spektralen Charakteristik des FITC-Filters KP 490.



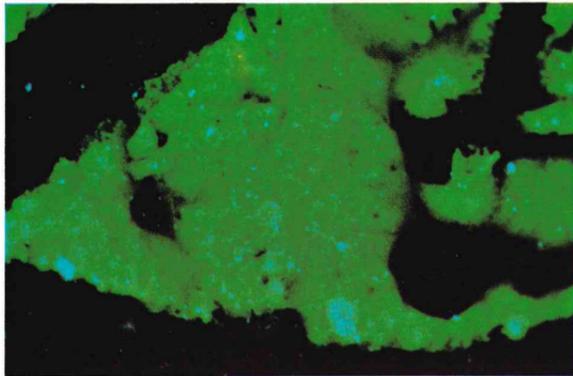


Abb. 4: Gewebezellen.
4 mm BG 38 + FITC-Filter KP 490 mit Interferenzselektionsfilter AL 525.

Vergleich der Fluoreszenzqualität bezüglich Kontrast, Brillanz, Hintergrund.

Dieses Filter KP 490 ist ganz besonders geeignet für die Anwendungsfälle, in denen die Objekte eine geringe bis mäßige Eigenfluoreszenz zeigen. Eine solche Eigenfluoreszenz, auch Autofluoreszenz genannt, wenn sie zusammen mit FITC-Fluoreszenz und einem Sperrfilter K 510 beobachtet wird, zeigt die gleiche Fluoreszenzfarbe wie die FITC-Fluoreszenz und ist somit nicht von dieser zu differenzieren. Hier kann als Abhilfe ein Sperrfilter, z. B. K 470, auf der Exzitationsseite angeordnet werden. Dadurch wird das Exzitationslicht unterhalb 470 abgeschnitten, was eine erhebliche Verminderung bzw. eine völlige Vermeidung der Autofluoreszenz bewirkt.

In einigen wenigen Fällen ist es jedoch nützlich, mit FITC gefärbte Präparate nach der Blaulichtexzitation nochmals mit UV-Licht anzuregen, um mit Hilfe der Autofluoreszenz den strukturellen Aufbau der Präparate festzustellen.

Abschließend kann gesagt werden, daß dieses FITC-

Anschrift des Verfassers: Ing. Winfried Kraft,
Wiss. Abt. d. Optischen Werke Ernst Leitz GmbH Wetzlar,
Labor Mikrophotometrie

Literatur:

- (1) **Eichler, J. und F. Walter:** Ein Beitrag zur Fluoreszenzmikroskopie des Knochengewebes. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1967), 4, 110—114.
- (2) **Hansen, P. A.:** Fluorescent Compounds used in protein. Absorption and Emission Date. Report University of Maryland (1964).
- (3) **Hansen, P. A.:** Spectral data of fluorescent tracers. Acta Histochemica Suppl. 7 (1967), 167—180.
- (4) **Kraft, W.:** Die Technologie des LEITZ-Fluoreszenzopak. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1969), 8, 239—242.
- (5) **Nairn, R. C.:** Fluorescent Protein Tracing. E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh and London 1964.
- (6) **Ploem, J. S.:** Die Möglichkeiten der Auflichtfluoreszenzmethode bei Untersuchungen von Zellen in Durchströmungskammern und Leightonröhren. 10. Symposium d. Gesellschaft f. Histochemie, Nijmegen 1965, Acta Histochem. Suppl. 7 (1967), 339—343.
- (7) **Ploem, J. S.:** The use of vertical illuminator with interchangeable dichroic mirrors for fluorescence microscopy with incident light. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie u. mikrosk. Techn. 68 (1967), 129—142.

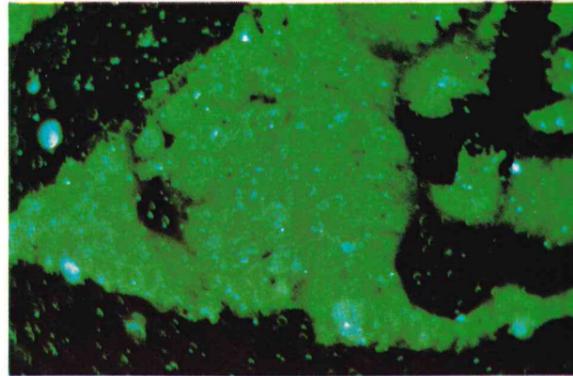


Abb. 4a: Gewebezellen.
4 mm BG 38 + FITC-Filter vom OPTISK-LABORATORIUM ATV mit Interferenzselektionsfilter AL 525.

Filter KP 490 neue Möglichkeiten eröffnet, so daß die theoretischen Optimalwerte der FITC-Fluoreszenz bezüglich Fluoreszenzintensität und Kontrast nahezu erreicht werden.

Die Anwendung dieses Filters bringt keine geräte-technischen Probleme mehr, da man jetzt mit allen Mikroskopen Fluoreszenzmikroskopie betreiben kann, sofern man eine Halogenglühlampe, einen Dunkelfeldkondensator und ein Sperrfilter adaptieren bzw. anordnen kann.

Die FITC-Fluoreszenz kann jetzt mit minimalem Aufwand und maximaler Fluoreszenzqualität auf einfachste Weise in allen Labors durchgeführt werden, da die hier beschriebene FITC-Filterkombination KP 490 + K 510 die beiden Spektralbereiche der Exzitation und der Emission streng voneinander trennt.

Ähnliche Filter werden von verschiedenen Herstellern bereits angeboten¹⁾.

¹⁾ American Optical USA, Richards and Waters 1967
Barr and Stroud, England 1968
Balzers AG., Liechtenstein
Deutsche Balzers GmbH

- (8) **Ploem, J. S.:** Fluorescentmicroscopie met opvallend licht gecombineerd met fascontrastmicroscopie met doorvallend licht. Hrg. Nederlandse Vereniging für Histochemie und Cytochemie, Leiden 1965.
- (9) **Ploem, J. S.:** Ein neuer ILLUMINATOR-TYP für die Auflicht-Fluoreszenzmikroskopie. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1969), 8, 225—238.
- (10) **Rygaard, J. und W. Olsen:** BRIEF REPORTS INTERFERENCE FILTERS FOR IMPROVED IMMUNOFLUORESCENCE MICROSCOPY. Acta path. microbiol. scand. 76 (1969), 146—148.
- (11) **Trapp, L.:** Über Lichtquellen und Filter für die Fluoreszenzmikroskopie und über die Auflichtfluoreszenzmethode bei Durchlichtpräparaten. Acta Histochemica Suppl. VII (1967), 327—338.
- (12) **Walter, F.:** Eine Auflicht-Fluoreszenz-Einrichtung für die Routinediagnose. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. 4 (1969), 6, 186—187.
- (13) **Walter, F. und J. Eichler:** A new fluorescence microscope technique applied for bone tissues. Vortrag anl. Tagung der „Royal Microscopical Society and Anatomical Society of Great Britain and Ireland“ in Sheffield (England), April 1968.
- (14) Farb- und Filterglas für Wissenschaft und Technik. Jenaer Glaswerk Schott & Gen., Mainz 365/1 d-1962.

Mikrotomtechnik im Industrielaboratorium

von Friedrich Walter, Wetzlar*)

DK 535.826.3:578.67:061.6

Einleitung

Das Mikrotom ist heutzutage gleich dem Mikroskop und der mikrophotographischen Apparatur ein Grundelement in der Ausrüstung mikroskopischer Forschungs- und Prüflaboratorien der Industrie. Ausgehend von den schon relativ alten Erfahrungen aus der Mikrotomtechnik der Textilfaser, wurde diese „industrielle“ Mikrotomie in den letzten 15 bis 20 Jahren zu ihrer heutigen Breite ausgebaut. Besonders belebend wirkte hierbei unter anderem die bis zum Tage noch in immer weiter fortschreitender Entwicklung befindliche Chemie der Kunststoffe. Es sind in erster Linie Fragen der Verarbeitung der Rohprodukte zu Gebrauchsartikeln verschiedenster Art und ihrer Bewahrung unter den Einflüssen der Benutzung, deren Zusammenhänge erkannt und kontrolliert werden müssen. So mußten zur Erfüllung der Anforderungen einer forschenden und prüfenden Technik für bestimmte mikroskopische Untersuchungsmethoden die Voraussetzungen geschaffen werden: das dünn-schichtige, durchstrahlbare mikroskopische Präparat oder die glatte, alle Strukturdetails in ihrer gegebenen Anordnung erhaltende und enthaltende Anschnittfläche für die Mikroskopie im Auflicht.

Dies alles, so einfach in ein paar Worten gesagt, beinhaltet Entwicklung, breit angelegte Erprobung, methodische Spezialisierung, Einengung derselben zum Routineverfahren.

Die industrielle Mikrotomie hat ihren Ursprung in der Präparationstechnik der biologischen Wissenschaften. Bei aller zu erwartenden weiteren Spezialisierungstendenz zeigt sie dies hier und da durch gewisse „atavistische Züge“: Der Gerätetyp — das Mikrotom — ist in seiner Grundkonzeption bis auf einige unwesentliche Abänderungen aus dem biologischen Sektor übernommen. Weiterhin kennt die

*) Aus dem Laboratorium für Angewandte Mikroskopie der Ernst Leitz GmbH Wetzlar.

Mikrotomie des Industrielaboratoriums neben halb-synthetischen und rein synthetischen Objekten ebenfalls noch Verarbeitungsprodukte von Stoffen natürlichen Ursprungs, wie z. B. Naturfasern oder Holz. Und nicht zuletzt zählt auch in weiterem Sinne der mikrotomtechnisch-präparative Teil der Untersuchungsmethoden in den Laboratorien der Nahrungsmittelindustrie zu diesem Gebiet.

Die Mikrotome

Die Objekte der industriellen Mikrotomie verlangen robuste und in ihrer Ausrüstung weitgehend variable Mikrotome. Es kommen daher in erster Linie schwere Schlittenmikrotomtypen zum Einsatz und daneben in besonderen Fällen Serienschnittmikrotome; z. B. für Textilfaserquerschnitte. Gefrier-mikrotome der speziellen Bauart, wie sie in der histologischen Mikrotomtechnik sehr verbreitet angewendet werden, sind heute fast ausschließlich durch die für Gefiertechnik umrüstbaren Schlittenmikrotome ersetzt. Nur in der Nahrungsmittelindustrie

Abb. 1 LEITZ-Grundschlittenmikrotom 1300, Gesamtansicht

