



Doctoral Thesis

Gefriersubstitution ein Weg zur Verbesserung der morphologischen und zytochemischen Untersuchung biologischer Proben im Elektronenmikroskop

Author(s):

Humbel, Bruno Martin

Publication Date:

1984

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000343070> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 7609

GEFRIERSUBSTITUTION - EIN WEG ZUR VERBESSERUNG DER
MORPHOLOGISCHEN UND ZYTOCHEMISCHEN UNTERSUCHUNG BIOLOGISCHER
PROBEN IM ELEKTRONENMIKROSKOP

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

Bruno Martin Humbel
dipl. Natw. ETH
geboren am 6. August 1956
von Birmenstorf und Baden (AG)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. H. Moor, Referent
Dr. M. Müller, Korreferent

1984

ZUSAMMENFASSUNG

Die in der konventionellen Präparation biologischer Proben für die Dünnschnittechnik notwendigen Schritte der Fixation und der Entwässerung beeinflussen den Informationsgehalt elektronenmikroskopischer Ergebnisse ungünstig. Dimensionale Veränderungen, Verlust von biologischen Aktivitäten (Enzymreaktionen, Immunreaktivitäten), sowie Verlust der diffusiblen Ionen sind die Folge.

In dieser Arbeit wurde mit Hilfe der Gefriersubstitution versucht, die Probleme genauer darzustellen. Verschiedene Lösungsmittel wurden auf ihre Fähigkeit, Eis bei tiefen Temperaturen aufzulösen, untersucht.

In Kombination mit Tieftemperatureinbettungsmedien konnten durch die Gefriersubstitution reine Lipide, mit aus der Gefrierbruchtechnik bekannten Strukturhaltung, im Dünnschnitt dargestellt werden. Zudem wurde die Herstellung von Dünnschnitten gänzlich unfixierter und unkontrastierter Proben ermöglicht, die sich für immunologische Untersuchungen eignen.

SUMMARY

The fixation and dehydration procedures required for conventional ultra thin sectioning of biological material can cause serious damage to the specimen. Change of dimensions, loss of biological or immunological activity (enzyme reactions, antibody binding), as well as loss of diffusible ions are some of the consequences.

I report here my attempts at a qualitative evaluation of these effects, comparing conventional embedding techniques by freeze substitution. Various solvents were tested for their ability to dissolve and replace ice at low temperatures. Using low temperature embedding media, structural features of pure lipids as seen in freeze fracture electron microscopy, were preserved in thin sections. In addition, sectioning of entirely unfixed and uncontrasted specimens was achieved by this technique. Thin sections obtained in this way have been used successfully for antibody labelling experiments.