

Mowiol Eindecken für die Immunfluoreszenz

Mowiol 4-88 Best. Nr. 475904, 100 g
Fa. Calbiochem-Novabiochem, Bad Soden/Taunus

N-Propylgallate Best. Nr. P 3130, 100 g
Fa. Sigma

Glycerin p.a. etwa 87 % Best. Nr. 1.04094.1000, 1 l
Fa. Merck

Einbettmittel = Lösung 1:

20 g Mowiol werden über Nacht bei RT in 80 ml PBS (pH 7,3) gerührt (löst sich nicht ganz). Danach werden 40 ml Glycerin zugegeben und es wird erneut über Nacht bei RT gerührt. Die Lösung wird eine Stunde zentrifugiert (15.000 rpm) und der Überstand wird mit 2 mM NaN_3 versetzt (13 mg/100 ml). Aufbewahrung bei 4 °C.

Bleichschutz = Lösung 2

2,5 g Propylgallat werden in 50 ml PBS über Nacht bei RT gerührt (Gefäß in Alufolie wickeln). Man erhält eine milchig trübe Lösung. Diese mit 1 M NaOH auf pH 7,3 einstellen und nochmals 1-2 Stunden rühren. Dann 50 ml Glycerin zugeben und weiter rühren, bis die Lösung klar (leicht gelblich) ist (15-30 Minuten). Bei 4 °C aufbewahren, dunkle Flasche. Mit der Zeit bildet sich am Boden der Flasche ein Niederschlag.

Gebrauchslösung:

7,5 ml Lösung 1 + 2,5 ml Lösung 2
mischen
Im Dunkeln bei 4 °C bis zu 6 Monate haltbar.

Mowiol + Propylgallat (s. u.) mit ~ 20 µl / 1 Tropfen eindecken (Zellen auf Deckgläschen mit Zellseite nach unten auf Objektträger plazieren), Objektträger vorher mit EtOH reinigen, und bei Raumtemperatur ü. N. trocknen lassen. Zur Stabilisierung kann das Plättchen mit schnelltrocknendem Nagellack eingedeckelt werden.

Präparate im Dunkeln aufbewahren und innerhalb von max. 2 Wochen fotografieren und auswerten.