

INSTITUT FÜR FILM UND BILD IN WISSENSCHAFT UND UNTERRICHT  
HOCHSCHULFILM C 244/1938

Aus dem Institut für Kinematische Zellforschung  
Frankfurt a.M.

## **Die Entwicklung des Eies der weißen Maus**

Von

Prof. Dr. W. KUHL

und

Prof. Dr. H. FREKSA

(Mit 5 Abbildungen)

Aus dem Institut für Kinematische Zellforschung  
Frankfurt a.M.

## **Die Entwicklung des Eies der weißen Maus**

Von Prof. Dr. W. KUHL  
und Prof. Dr. H. FREKSA

(Mit 5 Abbildungen)

Die Entwicklungsvorgänge des Säugetiereies bis zum 5. Tag und der Keim mit schlagendem Herzen am 7. Tag der Entwicklung werden erstmalig in Mikro-Zeitrafferaufnahmen gezeigt. Die Ausstoßung und das Wandern des Richtungskörpers sowie die Befruchtung im engeren Sinne sind gut zu beobachten, ebenso das „Trophoblast“-Stadium und das Auskriechen des Trophoblast aus der gesprengten Zona pellucida. Zum Vergleich wird das lebende, ungefurchte Ei des Menschen gezeigt.

Der Film ist für den Hochschulunterricht bestimmt. Die Schmalfilmkopie (16 mm-Stummfilm) hat eine Länge von 95 m entsprechend 13 Minuten Vorfürhdauer bei einer Vorführgeschwindigkeit von 16 B/s.

### **I. Allgemeine Vorbemerkungen**

Die wenigen Versuche, Entwicklungsvorgänge am Säugetierei im Film darzustellen, sind bisher über die ersten Furchungsstadien nicht wesentlich hinausgekommen. Die Amerikaner LEWIS und GREGORY filmten die ersten Teilungen des Kanincheneies, HARTMANN gelangen ähnliche Aufnahmen beim Affenei. 1934 erschien der von G. FROMMOLT am ehemaligen Medizinisch-Kinematographischen Universitätsinstitut Berlin aufgenommene Film über Befruchtung und Furchung des Kanincheneies [1] [2]<sup>1)</sup>, an den unsere Bildstreifen anknüpfen. Während sich nach FROMMOLT die Eizelle des Kaninchens in der Kultur kaum über schätzungsweise 32 Zellen geteilt hat, gelang die Züchtung des Eies der weißen Maus unter verbesserten Bedingungen bis zum 5. Tag in vitro im Brutschrank.

<sup>1)</sup> Siehe Literaturverzeichnis am Ende des Textes.

In folgenden Punkten geht der Film über alle bisher im Laufbild gezeigten Entwicklungsvorgänge an Säugetierkeimen hinaus. Es wird erstmalig im Zeitrafferlaufbild gezeigt:

1. Die Ausstoßung des Richtungskörpers (es werden die Chromosome vor der Teilung sichtbar).
2. Das Wandern des Richtungskörpers auf der Eioberfläche.
3. Die Befruchtung im engeren Sinne, d.h. die Vereinigung des männlichen mit dem weiblichen Vorkern mit nachfolgender erster Teilung.
4. Das Trophoblaststadium und sein Verhalten.
5. Das Auskriechen des Trophoblasten aus der gesprengten Zona pellucida *in vitro*, also unabhängig vom mütterlichen Organismus.
6. Keim mit schlagendem Herzen am 7. Tag.

Zum Vergleich wird das lebende ungefurchte Ei des Menschen mit anhaftenden Granulosa-(= Follikel-)Zellen im Film gezeigt.

Da die ersten Entwicklungsvorgänge am Keim der Maus — wie überhaupt beim Säugetierei — relativ sehr langsam ablaufen, vor allem zwischen den einzelnen Teilungsschritten meist 10—12 Stunden liegen, die Teilungen ferner nicht synchron, sondern zeitlich nacheinander erfolgen, ist zur filmischen Darstellung der Vorgänge eine sehr starke Zeitraffung unerlässlich. Alle im Film gezeigten Vorgänge (außer den das Ei mit Spermatozoen, ferner den Herzschlag des Embryos am 7. und 8. Tage darstellenden Bildfolgen) laufen mit ungefähr 460-facher Geschwindigkeit ab<sup>1)</sup>.

Zur Vermeidung fehlerhafter Vorstellungen über die wirkliche Dauer der Vorgänge muß immer wieder an diese starke Raffung erinnert und den Hörern eingeprägt werden, daß das subjektiv die sich entwickelnden Eier im Mikroskop beobachtende menschliche Auge nur völlige Ruhe im Keim wahrnehmen kann. Alle in der nachstehenden Schilderung der Furchung sich auf Bewegung beziehenden Ausdrücke gelten sinngemäß nur für das Laufbild.

Die Mikroaufnahmen der Entwicklungsstadien des Eies der weißen Maus erstrecken sich wegen der hier anzuwendenden sehr starken Zeitraffung oft über lange Zeiträume (bis zu 3 Tagen). Es mußte daher der möglichst sterilen Arbeitsweise besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden, da bei

<sup>1)</sup> Bei einer Vorführfrequenz von 16 B/s.

der zur Aufnahme notwendigen Körpertemperatur selbst jede kleine Infektion des Untersuchungsmedium die Weiterentwicklung der Keime binnen kurzem verhindert und zur Verflüssigung und Schädigung des Medium führt. Die einzelnen Entwicklungsstadien wurden steril aus den Fimbrien oder aus dem Ovidukt gewonnen; ältere Keime wurden aus dem Uterus ausgespült. Es erfolgte dann eine Übertragung in Mäuse-Plasma; darauf wurde der Keim mit einem kleinen Tropfen Mäuse-Plasma in Meerschweinchenplasma weitergezüchtet, und zwar im hängenden geronnenen „Plasmotropfen“, dem kleine Stückchen Uterus- oder Oviduktgewebe der Maus beigegeben waren.

Nach den jeweiligen Erfordernissen des Versuchs wurde der Gerinnungsgrad des Meerschweinchenplasma durch Heparin (SCHERING-KAHLBAUM oder PROMONTA) geregelt. Auf Einzelheiten und die besonderen Schwierigkeiten der Anpassung der Gewebezüchtungs-Methoden an die Bedingungen der Filmaufnahmetechnik kann hier nicht näher eingegangen werden.

Zur Aufnahme wurde die E. LEITZsche Mikrozeitrafferkamera nach W. KUHLE verwandt. Das Mikroskop mußte in einen Heizschrank mit elektrischer Temperaturregelung eingebaut werden. Bei den Zeitrafferaufnahmen erfolgten 2,12 Aufnahmen pro Minute; dies ergibt eine 452,8-fache Geschwindigkeit der Vorgänge bei einer Vorführfrequenz von 16 Bildern je Sekunde. Zur besseren Vergleichbarkeit der Größenverhältnisse der einzelnen Entwicklungsstadien wurde möglichst immer die gleiche Objektiv-Okularzusammenstellung bei den Aufnahmen angewandt. Die Bildfolgen 1, 2, 4, 6—10 (in der Reihenfolge der nachstehenden Erläuterungen) wurden mit LEITZ Fluoritsystem 8- und Periplanokular 4-fach, die Bildfolgen 3, 5, 11 mit LEITZ Objektiv 6- und Periplanokular 4-fach, die beiden letzten, 12 und 13, mit LEITZ Objektiv 2-, bzw. 3- und Periplanokular 4-fach aufgenommen. Diese Angaben besagen natürlich nichts für die Beurteilung der Größe der jeweiligen Stadien im projizierten Laufbild.

## II. Erläuterungen zum Film

### *Ovarialei im Follikel<sup>1)</sup>*

Die kurze Bildfolge stellt einen aus dem Ovarium freipräparierten jungen „Follikel“ dar, d.h. die von bereits mehreren Schichten (der Ei-Ernährung dienenden) Follikel- oder Granulosazellen umgebene noch unreife Eizelle. Die angewandte starke Zeitraffung enthüllt die Bewegung im Innern der Granulosazellen. Infolge der Mehrschichtigkeit der Follikelzellen erscheint die Kontur der Eizelle nicht völlig scharf begrenzt. Ältere Follikel des Ovar der weißen Maus sind zu undurchsichtig für die Filmaufnahme.

<sup>1)</sup> Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

*Ei nach Follikelsprung mit Granulosazellen*

Das unbefruchtete Ei der weißen Maus zeigt — im Gegensatz zu späteren Stadien — noch deutlich die Begrenzung des Zellkernes, die Kernmembran. Sehr auffällig ist der im Innern des Kernes gelegene einzige große Nucleolus; er mißt 0,01 mm. Der Durchmesser des Eiplasma beträgt 0,07—0,08 mm. Ein weiterer Gegensatz des unbefruchteten Eies zum befruchteten liegt im Aussehen und Verhalten der Granula im Eiplasma. Die Aufnahme zeigt ein homogenes, nahezu hyalines Plasma, in dem nur wenige große — bei direkter Beobachtung grünlich leuchtende — Granula auffallen. Während die zahlreichen großen Granula im befruchteten Ei und in den Blastomeren während der Furchung infolge der starken Raffung eine lebhaftere — wohl für alle lebenden Eizellen und Entwicklungsstadien typische — Bewegung enthüllen, befinden sich im unbefruchteten Ei, trotz der gleichen Geschwindigkeit im Laufbild, die Granula nahezu in Ruhe.

Die Eizelle wird umgeben von einer völlig homogenen, durchsichtigen Hülle, der etwa 0,006 mm messenden Zona pellucida; dieser liegen außen noch einige Stunden nach dem Follikelsprung mehrere Lagen von Granulosazellen an, deren Bewegung ebenfalls durch die Zeitraffung dargestellt wird.

*Zum Vergleich das Ei des Menschen*

Erstmalig wird hier das dem sprungreifen Follikel des Ovar entnommene menschliche Ei im Laufbild gezeigt. Da die Granulosazellen das Ei in vielen Schichten umgeben, zum Teil noch radiär angeordnet sind, werden keine weiteren Einzelheiten über den Eibau erkennbar; weder Kernbegrenzung noch Nucleolen sind sichtbar. Das Plasma der menschlichen Eizelle erscheint dicht granuliert; auch hier zeigt die unreife, unbefruchtete Eizelle kaum Granulabewegung.

Die Granulosazellen jedoch weisen lebhaftere Bewegung der Granula auf; an Stellen der Lockerung des Verbandes zu Nachbarzellen wird durch die angewandte Raffung eine  $\pm$  starke Metabolie dieser Zellen aufgezeigt. Bei der letzten Einstellung (nur ein Teil der Eizelle ist rechts unten sichtbar, dafür der ganze Kranz von Follikelzellen in einem großen Sektor links oben) erkennt man in einer

großen Lücke zwischen den Granulosazellen einige Einzelzellen, die nach Art vieler explantierter Zellen lebhaft bewegliche Plasmafortsätze ausgestreckt haben.

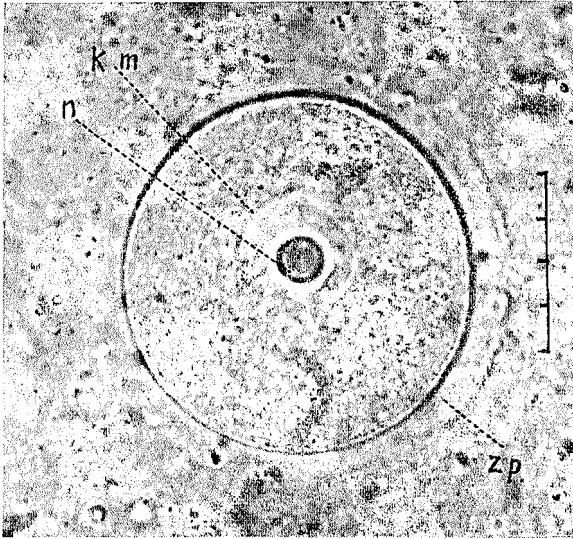


Abb. 1. Unreifes Ei der weißen Maus  
zp: Zona pellucida; km: Kernmembran; n: Nucleolus. 1 Teilstrich =  $\frac{1}{100}$  mm

### *Richtungskörperbildung*

Nach dem Sprung des reifen Follikels haften der unreifen, noch die diploide Chromosomenzahl aufweisenden Eizelle noch Follikelzellen in großer Zahl an, die sich im Verlauf mehrerer Stunden vom Ei lösen. Werden solche Eier in ein geeignetes Medium explantiert, so bilden sie nach 3—5 Stunden im allgemeinen den Richtungskörper aus und stoßen damit die Hälfte des Chromatins ab, wodurch sie nunmehr für den Eintritt der Befruchtung „reif“ werden. Unter normalen Bedingungen erfolgt die Ausstoßung des Richtungskörpers nur, wenn ein Samenfaden in das Ei eingedrungen ist. Offenkundig wirken hier die Vorgänge der Explantierung als auslösende Faktoren für die Eireifung.

Das Schicksal des vom unbefruchteten Ei abgeschnürten Richtungskörpers ist, wie sich aus 4 Explantationsversuchen übereinstimmend ergab, recht interessant: Der zuerst abgegebene große

Richtungskörper wird wieder vom Ei verschluckt<sup>1)</sup>. Einmal wurde übrigens nach der Wiederaufnahme des Richtungskörpers noch eine

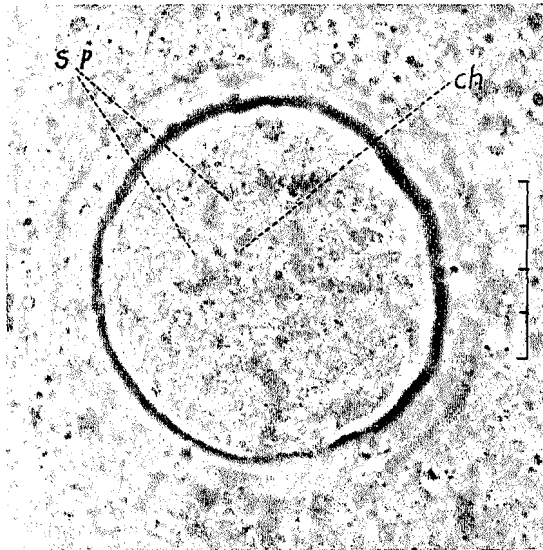


Abb. 2. Das gleiche unreife Ei der weißen Maus wie in Abb. 1  
sp: Spindelregion; ch: Chromosome der Richtungsspindel. 1 Teilstrich =  $\frac{1}{100}$  mm

parthenogenetische Teilung der unbefruchteten Eizelle zum Zweizellenstadium beobachtet.

Ungefähr  $\frac{1}{2}$  Stunde nach Aufnahmebeginn ist der Kern nicht mehr sichtbar, desgleichen der große Nucleolus; es ist möglich, daß er nur in eine andere Ebene getreten ist. 15 Minuten später setzt allmählich eine leichte Veränderung der Außenkontur der Eizelle ein, die glatte Kreisform weicht einer mehr unregelmäßigen Begrenzung. Zehn Stunden nach Beginn der Aufnahme hat die Eizelle das Maximum an Abweichung von der Kugelgestalt erreicht; 3—4 Stunden vorher wird die Spindelregion (im Bild oben!) sichtbar: die Granula im Eiplasma bewegen sich hier lebhafter. Während die Spindelfasern im Leben am Ei der Maus nicht zu erkennen sind, sieht man im Zeitrafferfilm jedoch deutlich die Chromosome in der Mitte der Spindelregion, die infolge der Raffung ihre Bewe-

<sup>1)</sup> Der Vorgang wurde auch im Film festgehalten; diese Bildfolge ist leider nicht mehr vorhanden.

gung aufzeigen. Erste Anzeichen der Abgabe des Richtungskörpers wurden 10,7 Stunden nach Beginn der Filmaufnahme sichtbar. Die Teilungsebene liegt in diesem Fall in der Ebene der Projektionswand, die Sonderungsrichtung senkrecht zur Bildebene, d.h. der Richtungskörper wird „auf den Beschauer zu“ vom Ei abgestoßen.

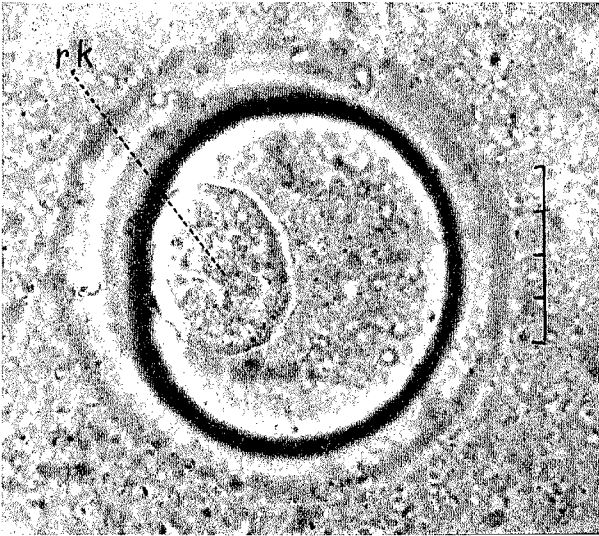


Abb. 3. Das gleiche Ei wie in Abb. 1 und 2  
Der Richtungskörper hat sich von der Eizelle abgeschnürt  
rk: Richtungskörper. 1 Teilstrich =  $\frac{1}{100}$   $\mu$ m

Die ganze Teilung dauert in Wirklichkeit 20 Minuten; die kleine Zelle des Richtungskörpers bewegt sich nunmehr im Laufbild allmählich nach der linken Seite. An der Austrittsstelle aus dem Ei zeigt der Richtungskörper eine gelappte Gestalt (im Bilde rechts), während die nach der Peripherie „drängende“ freie linke Seite eine glatte Kontur aufweist. Die Bewegung nach der Peripherie erfolgt etwa in 1 Stunde. Das Verhältnis der Volumina von Ei und Richtungskörper ist ungefähr 34 : 1.

### *Ei mit Spermatozoen*

Die kurze Bildfolge zeigt das nur noch mit einer geringen Anzahl von Granulosazellen umgebene Ei der weißen Maus, umschwärmt



von einigen Dutzend Spermatozoen. Einzelne Samentierchen haben bereits die Granulosazellen bzw. die schon freie Zona pellucida mit ihren Köpfen erreicht, deren für die Maus typische Sichelform manchmal sichtbar wird. Man erkennt in dieser mit normaler Frequenz (16 B/s) aufgenommenen Bildfolge die bohrenden Bewegungen der Samenfäden recht deutlich.

Ob die Spermatozoen infolge ihrer Bewegung mit zur Ablösung der Granulosa- oder Follikelzellen von der Zona pellucida beitragen, ist noch nicht mit Sicherheit zu sagen.

Wir haben mit dieser Bildfolge versucht, eine einigermaßen richtige Darstellung der Vorgänge am Ei kurz vor dem Eindringen eines Spermatozoon zu geben. Das Einbohren eines Samentierchens und die darauffolgenden wichtigen cytologischen Vorgänge — wie z. B. die Umbildung des Kopfes des Spermatozoon zum männlichen Vorkern, die Ausbildung der Nucleolen in diesem, oder das Verhalten des Zentralkörperchens (Zentriol, Zytocentrum), lassen sich aus folgenden Gründen im Film noch nicht lebenswahr darstellen. Es wurden zahlreiche Versuche unternommen, das Eindringen des Samenfadens und die obigen wichtigen Vorgänge an ein und derselben Eizelle im Film festzuhalten. Zur Erhaltung der Beweglichkeit der Spermatozoen ist naturgemäß ein flüssiges Medium notwendig, z. B. Ringerlösung, Tyrodelösung usw. (Vermeidung der Agglutinierung nicht einfach!). Nach dem Eindringen des Samenfadens ist Zeitraffung erforderlich, das Ei muß demnach wieder vollkommen ruhig liegen, was nur (aus Gründen der Lebenderhaltung und Weiterzucht) in relativ festem Medium der Fall ist (Meerschweinchenplasma, hängender, geronnener „Tropfen“). Da ein Umbetten der nur  $80\ \mu$  großen Eizelle nach der Befruchtung in das unbedingt notwendige Blutplasma aus technischen Gründen nicht angängig ist, widersprechen sich demnach die Bedingungen für die Filmaufnahme der beweglichen Spermatozoen und der ruhig liegenden Eizelle in vorläufig unlösbarer Weise.

Durch die für die Erhaltung der Beweglichkeit der Samenfäden notwendige anorganische Salzlösung (s. o.) wird das Ei bald in so hohem Maße geschädigt, daß eine normale Weiterentwicklung nicht mehr zu erwarten ist. Die Bildfolge wurde daher in neutraler Weise als „Ei mit Spermatozoen“ bezeichnet; für den Unterricht erfüllt sie ihren Zweck.

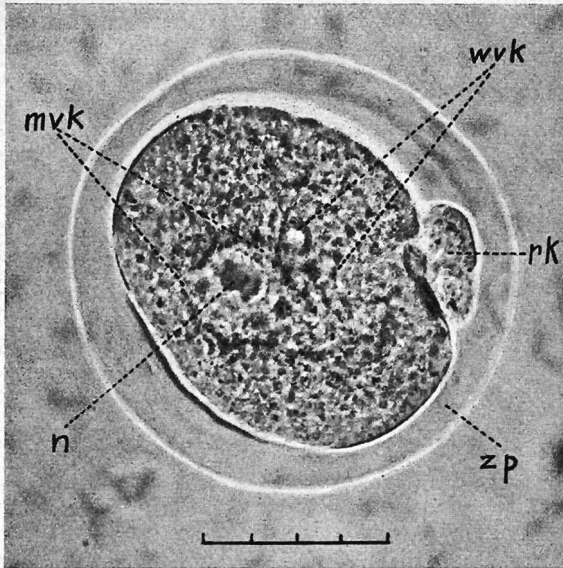


Abb. 4. Ei der weißen Maus nach der Richtungkörperbildung und Besamung  
mvk: männlicher Vorkern; wvk: weiblicher Vorkern; rk: Richtungkörper; zp: Zona pellucida;  
n: Nucleolen. 1 Teilstrich =  $\frac{1}{100}$  mm

Die Zahl der das Ei umschwärmenden Spermatozoen dürfte den wahren Verhältnissen vor der Besamung einigermaßen entsprechen.

### *Vorkernvereinigung und 1. Teilung*

Diese Bildfolge darf im Rahmen des gesamten Laufbildes über die Entwicklung des Eies der weißen Maus besonderes Interesse beanspruchen, da hier zum ersten Male der eigentliche Vorgang der Befruchtung, die Vereinigung des männlichen Vorkernes mit dem weiblichen und die darauffolgende erste Teilung der gleichen Eizelle mit 460facher Geschwindigkeit im Film vorgeführt wird.

Zu Beginn der Aufnahme zeigt die Eizelle innerhalb der dicken glasklaren Zona pellucida eine annähernd elliptische Gestalt. An der Berührungsstelle der Eioberfläche mit dem langgestreckten Richtungkörper bemerkt man eine kleine Einbuchtung des Eies. Links im Bilde hebt sich deutlich der aus dem Kopf des Spermatozoon hervorgegangene männliche Vorkern ab. Seine Begrenzung

ist nicht völlig scharf; im Innern sind anfangs vier große Nucleolen sichtbar. Der weibliche Vorkern liegt rechts vom männlichen, ihn nahezu berührend. Leider lagen beide Kerne nicht völlig in einer Ebene; der weibliche Vorkern wird nur durch seine drei oder vier großen Nucleolen in seiner Lage gekennzeichnet. Es ist beachtlich, daß der aus dem winzigen sichelförmigen Kopf des Samentierchens entstandene männliche Vorkern die gleichen großen Nucleolen auszubilden vermag wie der weibliche Vorkern und die bei den weiter unten zu schildernden Kernen der durch die Furchung entstandenen Blastomere.

Während die beiden Vorkerne durch innere, nicht wahrnehmbare Vorgänge sich zur baldigen Vereinigung vorbereiten, ändert der Richtungskörper ständig seine Form und Lage. Auch er zeigt im Innern seines (in der Abgrenzung nicht sichtbaren) Kernes sich lebhaft bewegende Nucleolen. Auch die Gestalt der Eizelle ändert sich; sie wird allmählich wieder kreisrund im optischen Schnitt und weist nur noch in der Gegend des unruhigen Richtungskörpers eine gelinde Abflachung auf.

Die Vereinigung der beiden Vorkerne erfolgt 100 Minuten nach Aufnahmebeginn. Sie erscheint im Laufbild bei der starken Zeitraffung (auf  $1/460$ !) aller Vorgänge im Zellinnern ruckartig; in Wirklichkeit dauert der Verschmelzungsvorgang etwa 5 Minuten.

Nach der Vorkernvereinigung bleibt im Zentrum des Eies eine granulafreie, bzw. granulaarme Zone bestehen, die einzige an der lebenden Eizelle sichtbare Andeutung der sich ausbildenden ersten Teilungsspindel. Nucleolen treten nach der Kernvereinigung nicht mehr auf.

Die nunmehr zur ersten Teilung bereite, befruchtete Eizelle rundet sich in den nächsten 2 Stunden weiterhin mehr und mehr ab. Der Richtungskörper behält seine lebhaften „Kriechbewegungen“ bei.

2 Stunden und 26 Minuten nach der Verschmelzung der Kerne zeigen sich die ersten Anzeichen der beginnenden Durchschnürung der Zelle in Form leichter Einsenkungen der Oberfläche; 30 Minuten später ist die erste Teilung beendet.

Bei der Durchschnürung der Eizelle der Maus erfolgen lebhaftere Gestaltveränderungen während der Entstehung der beiden ersten

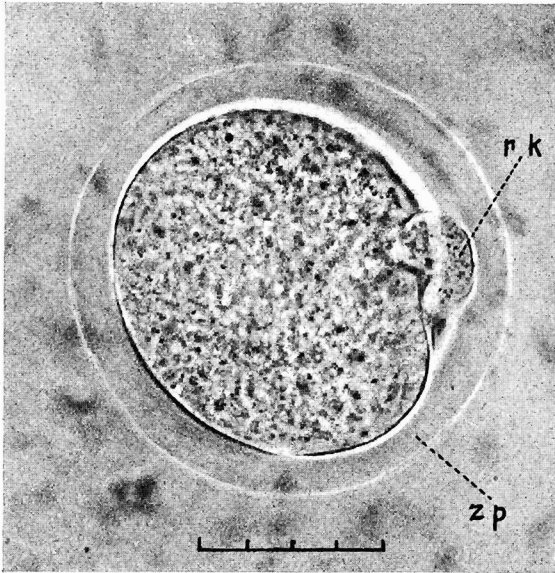


Abb. 5. Das gleiche befruchtete Ei der weißen Maus wie in Abb. 4 im Augenblick der Vereinigung von männlichem und weiblichem Vorkern  
rk: Richtungskörper; zp: Zona pellucida. 1 Teilstrich =  $\frac{1}{100}$  mm

Blastomere. Protoplasmawülste verschiedener Größe und Form bewirken eine unruhige und unregelmäßige Oberfläche<sup>1)</sup>.

Nach völliger Teilung der Zellen wird jedoch die für die meisten Zweizellenstadien typische, regelmäßige und abgerundete Zellform wiederhergestellt. Die Bildfolge bricht ab vor der Ausbildung der Ruhekerne, die Nucleolen treten noch nicht in Erscheinung.

### *1. Tag nach der Befruchtung:*

#### *Teilung vom 2- zum 4-Zellenstadium*

Beim zweiten Teilungsschritt nach der Befruchtung wird im Zeitrafferfilm zuerst die offenbar für die Entwicklung des Säugereies typische Erscheinung erkennbar, daß die Blastomere sich nicht gleichzeitig teilen, sondern kurz nacheinander.

Beide Blastomere zeigen in dieser Bildfolge das interessante Verhalten der im (in seiner Begrenzung nicht sichtbaren) Kern gelegenen Nucleolen, die bei der Maus in einer Anzahl von drei bis

<sup>1)</sup> Ähnliche „Protoplasma-Protuberanzen“ wurden auch bei der Furchung des Eies von *Parascaris equorum* (KÜHL) an den Blastomeren beobachtet.

fünf, etwa 0,005 mm messender rundlicher Gebilde nachweisbar sind. Die Lage der im Zeitrafferlaufbild sich lebhaft bewegenden Nucleolen zeigt etwa die Mitte des Kernraumes an. Die Nucleolen führen ihre Bewegungen mehr oder weniger „auf der Stelle“ aus; Einzelheiten der Bewegungen und Lageveränderungen wurden an Hand des Filmes ausgewertet [4]. Vorläufig läßt sich folgendes über das Verhalten der Nucleolen feststellen:

Die Anzahl der Nucleolen ändert sich nach und nach vor dem Beginn der Teilung, d. h. es „verschwinden“ allmählich die kleineren und mittelgroßen Nucleolen, bis schließlich nur noch ein großer Nucleolus sichtbar ist. Sobald dieser ebenfalls verschwunden ist, setzt die Durchschnürung des Blastomers ein. Diese Vorgänge wurden mittels der „Teilbild-Analyse“ (KÜHL) genau untersucht. Die einzelnen Nucleolen verschmelzen nach und nach miteinander, bis nur noch ein großer Nucleolus vorhanden ist [4]. Dieser löst sich dann im Kernraum auf. Leider ist, wie schon mitgeteilt, die Kernmembran am lebenden Ei nach der Befruchtung nicht mehr zu sehen, also kann auch ihre Auflösung nicht beobachtet werden. Die Teilungsspindel ist ebenfalls nicht zu sehen, jedoch zeigt das Zeitrafferlaufbild deutlich die Spindelgegend im Blastomer, gekennzeichnet durch eine homogene Zone und weniger dichte Granula-Anhäufung.

Unmittelbar nach dem Verschwinden des letzten, großen Nucleolus — man beachte im Laufbild zunächst das obere Blastomer — dreht sich die Zelle etwas im Sinne des Uhrzeigers (bei Auflichtprojektion), um sich dann unter lebhaften Gestaltänderungen durch-zuschnüren: Drei-Zellen-Stadium. Unterdessen ist auch im unteren Blastomer der letzte Nucleolus unsichtbar geworden; auch diese Zelle zeigt nunmehr die charakteristische Drehbewegung mit darauffolgender Teilung: Vier-Zellen-Stadium. Diese Drehungen der Blastomere in diesem Stadium wurden jedesmal beobachtet, auch sie können nur mit Hilfe des Zeitrafferfilmes nachgewiesen und dargestellt werden.

Der Richtungskörper (zu Beginn dieser Bildfolge rechts in der Furche zwischen den beiden ersten Blastomeren gelegen) wird während der Teilung der Blastomere stark verlagert. Nach Erreichung des kleblattförmigen Vierzellenstadium liegt er nahe der Mitte der vier Zellen.

Das hier dargestellte, im einzelnen noch näher zu untersuchende Verhalten der Nucleolen ergibt ein gutes Signal für die zu erwartende nächste Teilung eines Blastomers und für die Beurteilung der Lebensfähigkeit des *in vitro* gezüchteten Keimes, was eine große Annehmlichkeit bedeutet bei den großen zeitlichen Intervallen zwischen den einzelnen Teilungsschritten (10—12 Stunden!).

### *2. Tag: Teilung vom 4- zum 8-Zellenstadium*

Die Bildfolge beginnt mit einem Vierzellenstadium, dessen Blastomere nahezu in Tetraederform angeordnet sind. Sobald der Zeitpunkt zum nächsten Teilungsschritt erreicht ist (der dritte nach der Befruchtung), erfolgen auch weiterhin die Teilungen im Zeitrafferfilm nicht gleichzeitig, sondern in relativ kurzen Pausen nacheinander, in Wirklichkeit etwa im Zeitraum von einer halben Stunde.

Man erkennt im Laufbild die unter lebhaften Granulabewegungen im Plasma der Blastomere vonstatten gehenden Teilungen leicht, auch wenn die sich teilenden Zellen nicht am Rande des Keimes liegen. Ob Gesetzmäßigkeiten vorliegen in der Reihenfolge der in die Teilung tretenden Blastomere, ist noch an umfangreicherem Material festzustellen.

### *3. Tag: Abrundung des Keimes und weitere Teilungen*

Nach Erreichung des Acht-Zellen-Stadium tritt bei der Maus eine wahrscheinlich auch für die übrigen Säugerkeime typische Abrundung dieses Furchungsstadium in Erscheinung, die schließlich, wenn 16 Zellen vorliegen, zur völligen Verwischung der Blastomergrenzen führt. Die genaue Anzahl der Blastomere wurde jeweils nach Beendigung der Versuche (FREKSA) mit diesen Stadien am fixierten Keim durch Kernfärbung festgestellt. Auch die Blastomereinteilungen, die vom 8- zum 16-Zellen-Stadium führen, erfolgen nicht synchron, sondern nacheinander, wie bei den vorhergehenden Teilungen.

Fast völlig abgerundete Keime dieser Teilungsphasen zeigen mitunter als Ganzes eigenartige Drehbewegungen innerhalb der Zona

pellucida, der sie innen meist fast ganz anliegen, und zwar wechselnd rechts- und linksherum, mit nur kurzer Pause (kurz infolge der Zeitraffung!) zwischen den beiden Drehrichtungen. Wie diese Drehung sämtlicher Blastomere zustande kommt, ist noch nicht geklärt; das Phänomen wird weiter untersucht werden.

Die erstmalige Darstellung eines lebenden Säugetierkeimes während dieser eigenartigen Abrundungsvorgänge im Zeitrafferfilm ist deshalb von Bedeutung, weil die Keime auf diesem Furchungsstadium im Schrifttum meist als „Morula“ dargestellt werden, d. h. wie der Name sagt, zeigen die Blastomere eine abgekugelte Gestalt. Diese Abrundung der Einzelzellen ist bereits das Anzeichen einer Schädigung des Keimes (s. nachstehende Bildfolge).

#### 4. Tag: *Trophoblaststadium (Blastocyste)*

Am 4. Tag nach der Befruchtung wird ein äußerlich der Blastula gleichendes, in seinem inneren Bau jedoch recht verschiedenes Entwicklungsstadium erreicht, das als Trophoblast oder Blastocyste bezeichnet wird; es ist für die Säugetier-Entwicklung recht charakteristisch. Gekennzeichnet ist diese Entwicklungsstufe durch die Anwesenheit eines Hohlräumes im Inneren der Blastomerenkugel; die diesen Raum umschließende „epithelartige Zellschicht“ — „Blastoderm“ — ist überall gleichmäßig dick. Nur an einer Stelle liegt eine deutliche Verdickung: der „Embryonalknoten“; aus diesem allein geht der spätere Embryo hervor; auch das Entoderm legt sich in dieser Region in zunächst noch nicht völlig gekläarter Weise an. Das Trophoblaststadium reagiert auf äußere (osmotische, durch das Untersuchungsmedium bedingte) Störungen oder auch auf Grund innerer schwer analysierbarer Faktoren durch charakteristische Degenerations-Erscheinungen. Die normalerweise der Zona pellucida innen dicht anliegende „äußere Zell-Lage“ hebt sich unter allmählicher Abkuglung der einzelnen Blastomere ab; der Keim schrumpft infolge dieser Abrundungsvorgänge um etwa  $\frac{1}{5}$  seines Durchmessers. Die erste Bildfolge stellt diesen Vorgang dar, der unmittelbar nach der Explantation einsetzte und innerhalb eines Zeitraumes von 3 Stunden zu einem Stadium führte, das früher, wie bereits bei der vorhergehenden Bildfolge erwähnt wurde, öfter in den einschlägigen Arbeiten und in den Lehrbüchern als normal abgebildet und mit „Morula“ bezeichnet wurde. Die im

Laufbild gezeigten Abkugelungserscheinungen der Blastomere beim Säugetierkeim sind demnach immer das erste Anzeichen beginnender Entartung des Keimes.

Die nächste Bildfolge stellt das normale Verhalten des Trophoblasten der weißen Maus dar. Dieser Trophoblast ist der Schwesterkeim des vorher dargestellten degenerierenden Stadium; er wurde vor diesem aus dem gleichen Weibchen entnommen und gelangte auch vor ihm in den Brutschrank. Das normale Verhalten zeigt sich in einer starken Ausdehnung des ganzen Keimes; die Zona pellucida wird durch den erheblichen Binnendruck stark gedehnt und gespannt, wobei sie an Dicke verliert.

Bemerkenswert ist folgendes Verhalten des gesunden Trophoblasten, das auch an vielen anderen gleichaltrigen oder auch etwas jüngeren „Blastocysten“ durch Anwendung des Zeitrafferfilmes entdeckt werden konnte.

Im Zeitraffer-Laufbild zeigen diese Keime von Zeit zu Zeit Kontraktionen, auf die wieder eine langsame Dilatation erfolgt. Diese rhythmisch auftretenden  $\pm$  starken Größenschwankungen treten überhaupt erst infolge der Anwendung der starken Zeitraffung in Erscheinung; es ist darauf hinzuweisen, daß jede Ausdehnung und Zusammenziehung des Trophoblasten in Wirklichkeit  $\frac{1}{4}$  Stunde dauert.

Über die physiologische Bedeutung dieser rhythmischen Bewegungen für den Keim kann zur Zeit noch nichts Sicheres ausgesagt werden. Durch die hier dargestellte Gegenüberstellung von abnormem und normalem Aussehen und Verhalten des Trophoblasten wird der Begriff der „Morula“ beim Säugerkeim hoffentlich aus dem Schrifttum verschwinden.

#### *5. Tag: Auskriechen des Trophoblasten nach Sprengung der Zona pellucida*

Dieser nur sehr selten zu beobachtende Vorgang konnte an einem Trophoblaststadium gefilmt werden, das bereits vom 4-Zellen-Stadium ab in vitro gezüchtet worden war. Die Sprengung der Zona pellucida wurde unter dem Mikroskop beobachtet; der Keim kontrahierte sich nach dem Zerreißen der Hülle sehr schnell auf etwa ein Drittel seines vorherigen Durchmessers. Nach einigen



Stunden war die ursprüngliche Größe wiederhergestellt, und nun begann das Herausdrängen aus der Zona pellucida an der Stelle der vorher geschaffenen Öffnung. Man sieht im Laufbild das langsame Herausgleiten des in die Länge gestreckten Trophoblasten aus der Öffnung, die dabei allmählich erweitert wird. Etwa vier Zellen wölben sich halbkugelförmig aus der Öffnung vor. Die Öffnung ist gegen Ende der Bildfolge etwa 0,08 mm groß.

Diese Filmaufnahme beweist, daß der 5 Tage alte Keim ganz ohne Mitwirkung des mütterlichen Organismus sowohl die Eihülle zu sprengen, wie auch aus dieser auszukriechen vermag.

*7. Tag: Keim innerhalb der Embryonalhüllen mit schlagendem Herzen*

Der ungefähr am 5. Tag nach der Befruchtung nach aktiver Sprengung der Zona pellucida aus dieser Hülle ausgekrochene Embryo (im Trophoblaststadium) hat sich nunmehr in die Wandung des Uterus eingebettet. Die weiteren Entwicklungsvorgänge entziehen sich damit der direkten Beobachtung; die Embryonalhüllen werden schnell undurchsichtig. Die kurze Bildfolge zeigt immerhin (bei normaler Geschwindigkeit aufgenommen) das bereits lebhaft schlagende Herz. Einzelheiten sind am Embryo selbst nicht zu erkennen. Die Schlagfrequenz des embryonalen Herzens beträgt etwa 74 pro Minute.

*8. Tag: Keim mit Ursegmenten, von den Hüllen befreit*

Der von den Embryonalhüllen befreite 8 Tage alte Keim zeigt an der im Laufbild mit einem Pfeil bezeichneten Stelle am Vorderende das schlagende Herz noch deutlicher als in der vorhergehenden Bildfolge (etwa 89 Schläge pro Minute). Die Aufnahme erfolgte mit 16 B/s. Man beachte die gekrümmte Haltung des Embryo. Auf der Dorsalseite sind die Begrenzungen der Urwirbel (Ursegmente) deutlich als Doppelkonture erkennbar. Die Durchsichtigkeit des Keimes ist, wie zu erwarten, zu diesem Zeitpunkt bereits stark herabgesetzt. Zeitrafferaufnahmen, die in sehr großen Intervallen zu erfolgen hätten, um die weiteren Differenzierungen im Innern des Keimes in sichtbare Bewegung bildlich umzusetzen, sind daher nicht mehr möglich; auch läßt sich der in sehr schwieriger steriler

Präparation von den Hüllen befreite Keim (FREKSA) vorläufig wohl kaum in vitro für derartige Aufnahmen, von denen an sich sehr viel Aufschluß zu erwarten wäre, lange genug lebend erhalten.

### Literatur

1. FROMMOLT, G., Die Befruchtung und Furchung des Kanincheneies im Film. Zbl. f. Gynäkologie 58 (1934), S. 7.
2. FROMMOLT, G., Befruchtung, Furchung und erste Teilungen des Kanincheneies. Hochschulfilm C 23 des Instituts für Film und Bild, Göttingen. Berlin 1936.
3. KÜHL, W., u. H. FRIEDRICH-FREKSA, Richtungskörperbildung und Furchung des Eies sowie das Verhalten des Trophoblasten der weißen Maus (Film). Verh. Deutsch. Zool. Ges. 1936, S. 187.
4. KÜHL, W., Untersuchungen über die Cytodynamik der Furchung und Frühentwicklung des Eies der weißen Maus (Teilbild-Analyse eines Mikrozeitrafferfilmes). Abh. Senckenberg. Naturf. Ges. 456 (1941), S. 1.

Die Herstellung des Films erfolgte in den Jahren 1936/37  
durch Prof. Dr. W. KÜHL, Prof. Dr. H. FREKSA und GERTRUD KÜHL  
Institut für Kinematische Zellforschung, Frankfurt a. M.  
Für den Hochschulunterricht bearbeitet und veröffentlicht durch die  
Reichsanstalt für Film und Bild, Berlin 1938