

ISSN 0341-5929

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

MEDIZIN

SERIE 5 · NUMMER 4 · 1980

FILM C 1253

Präparation einer einzelnen Skelettmuskelzelle



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm., deutsch), 16 mm, farbig, 66 m, 6 min (24 B/s). Hergestellt 1975, veröffentlicht 1977.

Der Film ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt.

Veröffentlichung aus dem Physiologischen Institut der Technischen Universität München, Prof. Dr. R. RUDEL, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K.-H. HÖFLING; Kamera: C. LUDWIG, C. GOEMANN; Schnitt: C. GOEMANN.

Zitierform:

RUDEL, R., und INST. WISS. FILM: Präparation einer einzelnen Skelettmuskelzelle. Film C 1253 des IWF, Göttingen 1977. Publikation von R. RUDEL, Publ. Wiss. Film., Sekt. Med., Ser. 5, Nr. 4/C 1253 (1980), 8 S.

Anschrift des Verfassers der Publikation:

Prof. Dr. R. RUDEL, Universität Ulm, Abt. für Allgemeine Physiologie, Oberer Eselsberg, D-7900 Ulm.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion PSYCHOLOGIE · PÄDAGOGIK

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

Sektion MEDIZIN

NATURWISSENSCHAFTEN

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Herausgeber: H.-K. GALLE · Schriftleitung: E. BETZ, I. SIMON

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN sind die schriftliche Ergänzung zu den Filmen des Instituts für den Wissenschaftlichen Film und der Encyclopaedia Cinematographica. Sie enthalten jeweils eine Einführung in das im Film behandelte Thema und die Begleitumstände des Films sowie eine genaue Beschreibung des Filminhalts. Film und Publikation zusammen stellen die wissenschaftliche Veröffentlichung dar.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN werden in deutscher, englischer oder französischer Sprache herausgegeben. Sie erscheinen als Einzelhefte, die in den fachlichen Sektionen zu Serien zusammengefaßt und im Abonnement bezogen werden können. Jede Serie besteht aus mehreren Lieferungen.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen
Tel. (0551) 21034

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

REINHARDT RÜDEL, München, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM,
Göttingen:

Film C 1253

Präparation einer einzelnen Skelettmuskelzelle

Verfasser der Publikation: REINHARDT RÜDEL

Mit 2 Abbildungen

Inhalt des Films:

Präparation einer einzelnen Skelettmuskelzelle. In einer speziell für diesen Zweck gebauten Präparierkammer wird aus dem Semitendinosus-Muskel eines Frosches eine einzelne Muskelfaser herauspräpariert. Die wichtigsten Teilschritte dieses Vorganges sind: Abtrennen von ca. 2/3 der Faserzahl mit der Schere. Auflockerung des Bindegewebes im verbleibenden Drittel. Zerlegung des Restpräparats in kleine Teilbündel. Auswählen eines Bündels für die Feinpräparation. Abpräparation der letzten zu verwerfenden Faser von der übrigbleibenden Einzelfaser. Die fertig präparierte Faser wird zum Abschluß auf normale Zuckungsfähigkeit getestet.

Summary of the Film:

Dissection of an Isolated Skeletal Muscle Fibre. A single fibre from a frog semiteninosus muscle is dissected in a special dissection dish. The main stages of this procedure are as follows: about 2/3 of the fibres are cut off by using fine scissors, the connective tissue in the remaining part of the preparation is made loose by stretching and pulling, the preparation is subdivided in small fibre bundles, one bundle is chosen for final dissection, and the single fibre is isolated from its last fellow fibres. Finally, the isolated fibre is tested for all-or-nothing twitches.

Résumé du Film:

Préparation d'une cellule de muscle strié isolée. Dans une enceinte à préparation conçue spécialement dans ce but, une cellule musculaire isolée est préparée à partir de muscle semitendineux de grenouille. Les étapes les plus importantes de cette préparation sont les suivantes: découpage d'environ les deux tiers du nombre de fibres avec des ciseaux. Dissociation du tissu conjonctif dans le tiers restant. Fragmentation du reste de la préparation en petits faisceaux. Sélection d'un faisceau pour une préparation microscopique. Préparation des dernières fibres devant être jetées à partir de la fibre restante. La fibre préparée une fois prête est testée enfin quant à ses capacités normales de contraction.

Allgemeine Vorbemerkungen

Für das Studium von Aufbau und Funktionsweise der Skelettmuskulatur ist es in vielen Fällen wichtig, daß man statt eines ganzen Muskels eine einzelne Muskelfaser zum Versuchsobjekt wählt. Dies gilt insbesondere für genaue Messungen der Kraftentwicklung, wenn Bindegewebeinflüsse und Sehnennachgiebigkeit so klein wie möglich gehalten werden sollen und für Untersuchungen mit dem Lichtmikroskop, wenn die Streifenabstände möglichst genau bestimmt werden sollen.

Das einfachste Versuchstier zur Untersuchung der Wirbeltiermuskulatur ist seit alters her der Frosch; von Froschmuskeln wurden auch die ersten Einzelfasern isoliert. Nach A. F. HUXLEY [3] waren die ersten Präparatoren BROWN & SICHEL [1], allerdings waren deren Präparate leicht verletzt, so daß sie keine Alles-oder-Nichts-Antworten abgaben, sondern nur lokale Antworten. Die ersten konsistenten Ergebnisse mit lange die Präparation überlebenden Semitendinosus-Einzelfasern wurden von RAMSEY & STREET [4] berichtet. Am gleichen Präparat machte später A. F. HUXLEY mit seinen Schülern die berühmten Studien über die Länge des A-Bandes, die zur Theorie der gleitenden Filamente führten (siehe HUXLEY [2]). Später führte A. F. HUXLEY an diesem Präparat - mit extrem kurzen Sehnen - die mechanischen Studien durch, die die Voraussetzungen für die Theorie der Querbrückenbewegung lieferten (siehe [2]). Inzwischen wurden von vielen Forschern unzählige Einzelfasern präpariert, vom M. semitendinosus, aber auch von anderen Muskeln des Frosches (iliofibularis, tibialis anterior, flexor digiti quinti) und von Muskeln anderer Amphibien (*Xenopus laevis*, *Bufo americanus*) und Nicht-Vertebraten (Flußkrebs, Krabbe, Käfer usw.).

Ich selbst habe die Einzelfaserpräparation im Jahre 1968 in Professor HUXLEYS Labor von S. R. TAYLOR gelernt. Zur Präparation wurde dort eine kreisrunde Plexiglaskammer von 1 1/2 Zoll Durchmesser und 1/4 Zoll Höhe verwendet, deren Bodenscheibe auswechselbar war. Präpariert wurde mit feinen Pinzetten und mit Messern, deren Schneiden aus Rasierklingsplitttern gefertigt waren; (inzwischen werden Rasierklings nach einem neuen Verfahren hergestellt, so daß sie nicht mehr leicht brechbar sind). Beim Durchtrennen der Bindegewebsfäden schnitt man mit dem Messer in den weichen Plexiglasboden, wodurch die Verletzungsgefahr der Faser besonders klein war. Allerdings wurden die Messer schnell stumpf und die Plexiglasböden schartig. Das Herstellen neuer Messer und das Polieren der Plexiglasböden war eine zeitraubende Angelegenheit.

Die im Film gezeigte Präparierkammer (Abb. 1) und die dafür entwickelte Präpariertechnik geht auf L. L. COSTANTIN zurück. Die Kammer ist aus Plexiglas mit einem Hartglasboden; geschnitten wird mit Injektionskanülen. Damit entfallen Messerproduktion und Bodenpolitur. Ein weiterer Vorteil dieser Kammer liegt in den beiden Haken, zwischen denen der exzidierte Muskel aufgespannt wird. Sie sind verschieblich und drehbar. Dadurch kann während der Präparation jede Stelle des Muskels so ins Dunkelfeld gebracht werden, wie es für einen Rechtshänder am günstigsten ist: links liegen die unmittelbar wegzupräparierenden Fasern (für den

Griff mit der in der linken Hand gehaltenen Pinzette), rechts die unverletzten Fasern, die in späteren Arbeitsgängen wegpräpariert werden müssen, bis auf die eine übrigbleibende Faser (mit der in der rechten Hand gehaltenen Injektionskanüle, die wie ein Messer eingesetzt wird¹).

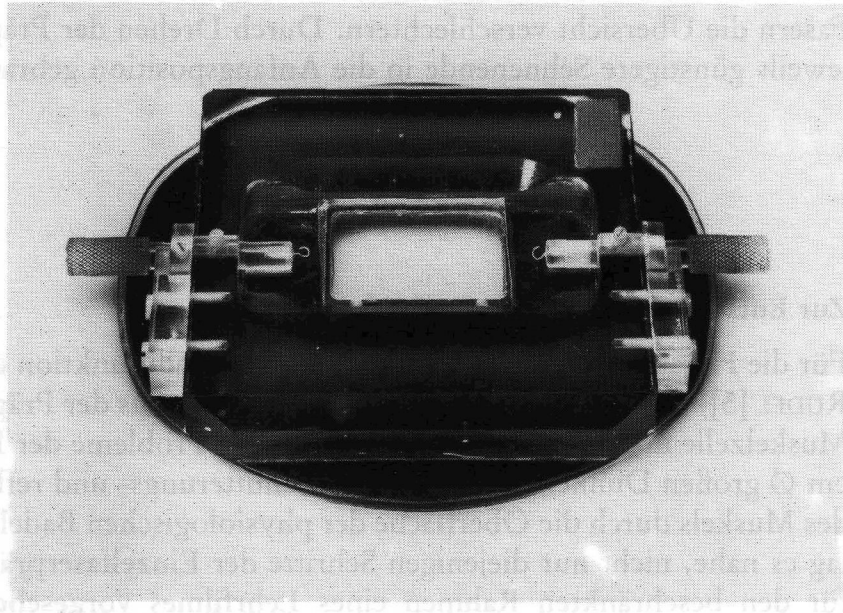


Abb. 1. Plexiglaspräparierkammer nach L. L. COSTANTIN

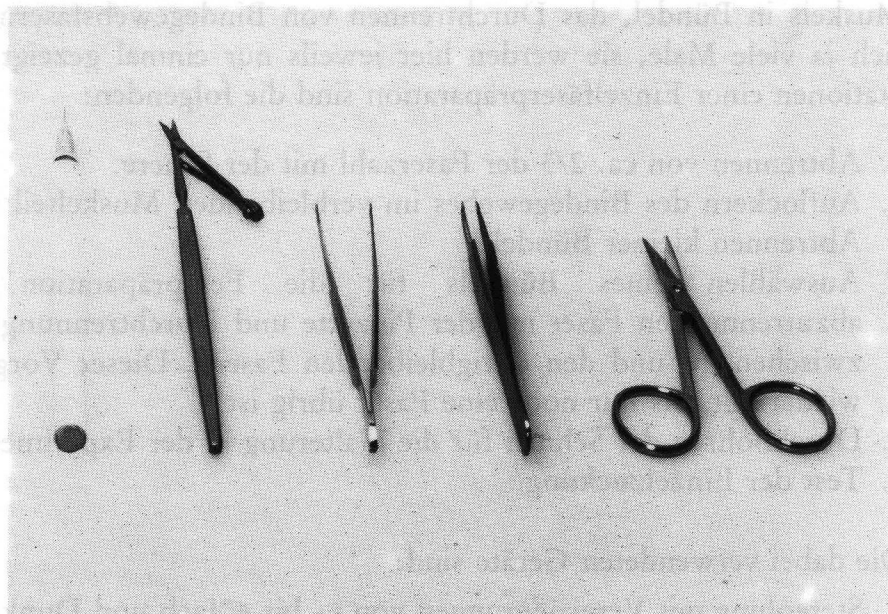


Abb. 2. Präparierwerkzeuge. Von links nach rechts: Tuberkulin-spritze mit Injektionsnadel; Federschere nach Noyes; Anatomische Pinzette; Uhrmacherpinzette; Gerade Schere

¹ Im Film sind die Aufnahmen durch das Mikroskop seitenverkehrt wiedergegeben!

Das Prinzip der Präparation ist, in wiederholten Arbeitsgängen die Größe des Präparates durch Abtrennen von Faserbündeln bzw. von einzelnen Fasern so lange zu verringern, bis schließlich nur noch eine einzelne Faser übrig bleibt. Jeder Arbeitsgang beginnt möglichst an dem dem Präparator zugewendeten Sehnenende und endet am anderen Sehnenende, so daß keine verletzten oder halb abpräparierten Fasern die Übersicht verschlechtern. Durch Drehen der Präparierkammer wird das jeweils günstigere Sehnenende in die Anfangsposition gebracht.

Zur Entstehung des Films

Für die Herstellung eines Films über Aufbau und Funktion des Skelettmuskels (vgl. RÜDEL [5]) war die Aufnahme einiger Sequenzen aus der Präparation einer einzelnen Muskelzelle nötig. Nachdem die technischen Probleme der Erzeugung eines etwa 2 cm Ø großen Dunkelfeldes und der erschütterungs- und reflexfreien Filmaufnahme des Muskels durch die Oberfläche der physiologischen Badelösung bewältigt waren, lag es nahe, nicht nur diejenigen Schritte der Einzelfaserpräparation zu filmen, die für den beschränkten Rahmen eines Lehrfilmes vorgesehen waren, sondern die ganze Präparation. Freilich zeigt auch der hier vorliegende Film nicht den gesamten Isoliervorgang, er würde sonst 30–45 Minuten dauern, die Zeit, die ein geschickter Präparator für die Isolierung braucht. Viele Vorgänge, wie das Aufteilen des Muskels in Bündel, das Durchtrennen von Bindegewebsfasern usw. wiederholen sich ja viele Male, sie werden hier jeweils nur einmal gezeigt. Die wesentlichen Stationen einer Einzelfaserpräparation sind die folgenden:

1. Abtrennen von ca. 2/3 der Faserzahl mit der Schere.
2. Auflockern des Bindegewebes im verbleibenden Muskelteil mit der Nadel und Abtrennen kleiner Bündel.
3. Auswählen eines Bündels für die Feinpräparation. Ergreifen einer abzutrennenden Faser mit der Pinzette und Durchtrennung des Bindegewebes zwischen ihr und den übrigbleibenden Fasern. Dieser Vorgang wird so lange wiederholt, bis nur noch eine Faser übrig ist.
4. Durchbohren der Sehnen für die Halterung in der Experimentierkammer.
5. Test der Einzelzuckung.

Die dabei verwendeten Geräte sind:

1. Stereolupe mit Vergrößerungen von 6- bis 40fach und Dunkelfeldbeleuchtung.
2. Präparierkammer (Abb. 1).
3. Gerade Schere und Iridektomieschere nach NOYES (Abb. 2).
4. Feine anatomische Pinzette und Uhrmacherpinzette (Abb. 2).
5. Tuberkulinspritze mit Präpariernadel (Abb. 2).
6. Reizelektrodenpaar mit Rechteckimpulsgenerator.

Erläuterungen zum Film

Wortlaut des gesprochenen Kommentars

Der dem Oberschenkel eines Frosches entstammende Muskel ist der Semitendinosus. Aus ihm soll eine einzelne Muskelzelle herauspräpariert werden. Der Muskel hat zwei Köpfe; einer von ihnen wird mit der Federschere abgetrennt und verworfen. Hier der den Muskel versorgende Nerv. Der verbleibende Kopf besitzt weit über 1000 Zellen, die parallel zueinander von Sehne zu Sehne verlaufen. Um eine isolierte Zelle zu erhalten, werden alle übrigen wegpräpariert. Dies geschieht nicht auf einmal, sondern in immer kleiner werdenden Portionen.

An der Eintrittsstelle des motorischen Nerven ist das Bindegewebe zwischen den Muskelzellen am dichtesten; daher wird dieser Bereich als erste Portion abgetrennt.

Für diese erste Dezimierung läßt sich noch die Federschere verwenden, die weiteren Arbeitsgänge werden dann mit einer spitzen Injektionskanüle, die wie ein scharfes Messer verwendet wird, durchgeführt.

Der verbliebene Muskelteil ist inzwischen durch mehrere Abtrennvorgänge schon recht klein geworden und soll nun in Bündel von 10 bis 20 Zellen aufgespalten werden.

Dazu wird der Muskel vorsichtig mit einer Pinzette auseinandergezogen. Danach läßt sich das Bindegewebe mit der Nadel gut auflockern. An den motorischen Endplatten, die etwa in der Fasermittte liegen, ist das Bindegewebe meistens am dichtesten.

Die Fasern, die beim Auseinanderziehen des Muskels mit der Pinzette angefaßt werden, sind dadurch natürlich beschädigt. Sie werden mit der Nadel abgetrennt, möglichst so, daß alle übrigen Zellen intakt bleiben.

Ganz bis zur Sehne muß sauber freipräpariert werden, da man sonst schnell die Übersicht verliert.

Aus dem nun aufgelockerten Präparat werden alle Teilbündel entfernt bis auf eines, welches dem Augenschein nach möglichst nur unbeschädigte Zellen enthält.

Man erkennt deutlich, wie sich die Zellen kontrahieren, wenn sie von der Pinzette erfaßt werden. Kontraktionen, die während der Präparation auftreten, deuten auf irreversible Schädigung der betreffenden Zellen hin. In diesem Falle ist die Schädigung bedeutungslos, da es sich um ein abzutrennendes Bündel handelt. Wichtig ist nur, im Auge zu behalten, daß die für die endgültige Präparation ausgewählte Zelle nicht durch Berührung mit der Nadel beschädigt wird.

Vom letzten Bündel wird vorsichtig eine Zelle nach der anderen abgetrennt, bis eine einzige übrig bleibt. Hier wird das Abtrennen der letzten Zelle gezeigt. Jetzt ist es besonders schwierig, die verbleibende Zelle niemals mit der Nadel zu berühren. Man erkennt, wie die Berührung mit der Nadel die abzutrennende Zelle zur Kontraktion bringt.

Auch hierbei ist die Präparation in Fasermittte, in der Endplattenregion, am schwierigsten, weil dort das Bindegewebe besonders fest ist.

Med. 5/4 – C 1253

Die Präparation ist nun beendet. Das Ergebnis: eine Einzelzelle, die von Sehne zu Sehne etwa 1/10 mm dick und 15 mm lang ist.

Die Kontraktionsfähigkeit wird mit Hilfe zweier Reizelektroden geprüft.

Da sich die Zelle regelrecht kontrahiert hat, kann sie für Versuchszwecke verwendet werden. Damit sie in einer Experimentierkammer an feinen Haken befestigt werden kann, werden beide Sehnenenden durchbohrt und der Rest der Sehne abgetrennt.

In der Experimentierkammer können durch elektrischen Reiz ausgelöste Kontraktionen beobachtet werden.

Im Mikroskop erkennt man die Querstreifung der Zelle, die Skelettmuskeln den Namen „quergestreifte Muskulatur“ gegeben hat.

Literatur

- [1] BROWN, D. E. S., and F. J. M. SICHEL: The myogram of the isolated skeletal muscle cell. *Science* 72 (1930), 17–18.
- [2] HUXLEY, A. F.: Muscular Contraction. *J. Physiol.* 243 (1974), 1–43.
- [3] HUXLEY, A. F.: Looking back on muscle. In: *The Pursuit of Nature*, Cambridge 1977, pp. 23–64.
- [4] RAMSEY, R. W., and S. F. STREET: The alpha excitability of the local and propagated mechanical response in isolated single muscle fibers of the frog. *J. Cell Comp. Physiol.* 15 (1940), 11–34.

Filmveröffentlichung

- [5] RÜDEL, R., und INST. WISS. FILM: Aufbau und Funktion des Skelettmuskels. Film C 1245 des IWF, Göttingen 1977. Publikation von R. RÜDEL, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Med.*, Ser. 4, Nr. 1/C 1245 (1977), 16 S.

Abbildungsnachweis

Abb. 1 u. 2: R. RÜDEL.