

ISSN 0073-8417

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

BIOLOGIE

SERIE 16 · NUMMER 7 · 1983

FILM D 1455

**Mitochondrien – Bewegung,
Teilung und Fusion**



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm. deutsch), 16 mm. schwarzweiß. 41 m, 4 min (24 B/s). Hergestellt 1976, veröffentlicht 1982.

Der Film wurde aus vorhandenem Material zusammengestellt und ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt.

Veröffentlichung aus dem Fachbereich Biologie der Universität Frankfurt, Arbeitsgruppe Kinematische Zellforschung, Prof. Dr. J. BEREITER-HAHN, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. T. HARD. Kamera: Prof. Dr. J. BEREITER-HAHN; Schnitt: B. MILTHALER (IWF).

Zitierform:

BEREITER-HAHN, J., und INST. WISS. FILM: Mitochondrien – Bewegung, Teilung und Fusion. Film D 1455 des IWF, Göttingen 1982. Publikation von J. BEREITER-HAHN, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 16, Nr. 7/D 1455 (1983), 10 S.

Anschrift des Verfassers der Publikation:

Prof. Dr. J. BEREITER-HAHN, Fachbereich Biologie der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, D-6000 Frankfurt a.M.

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

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. (05 51) 202202

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

JÜRGEN BEREITER-HAHN, Frankfurt, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM, Göttingen:

Film D 1455

Mitochondrien – Bewegung, Teilung und Fusion

Verfasser der Publikation: JÜRGEN BEREITER-HAHN

Mit 6 Abbildungen

Inhalt des Films:

Mitochondrien – Bewegung, Teilung und Fusion. An Endothelzellen aus den Herzen des Krallenfrosches *Xenopus laevis* Daudin werden unter geringer Zeitraffung (1–2 B/s) im Phasenkontrast die Bewegungsaktivität sowie Fusionen und Teilungen von Mitochondrien veranschaulicht. Die Zellen liegen sehr flach auf dem Deckglas ausgebreitet, so daß die Mitochondrien leicht erkennbar sind.

Einer Fusion von Mitochondrien geht häufig ein mehrfaches Berühren und voneinander Zurückziehen voraus. Die Verschmelzung kann entweder zwischen zwei Enden von Mitochondrien oder zwischen einem Ende und einer Seite erfolgen. Auch Teilungen über die Ausbildung von Hantelformen verlaufen meist nicht in einem Zug, sondern durch wechselweises Dünnerwerden und Anschwellen im Bereich der Teilungsfurche. Teilungen und Verschmelzungen können an einem Mitochondrium mehrfach hintereinander an verschiedenen Stellen eines Mitochondrium beobachtet werden. Es handelt sich um relativ häufige Ereignisse. Bei den hier gezeigten Zellen ist jedes Mitochondrium durchschnittlich von 1–3 Teilungs- und Fusionsereignissen pro Stunde betroffen.

Summary of the Film:

Mitochondria – Motion, Division and Fusion. In endothelium cells derived from tadpole hearts of the clawed toad *Xenopus laevis* motility, fusion and division of mitochondria is followed by phase contrast-cinemicrography (1–2 f/s).

The cells are spread extremely flat on the supporting slide, which means that the mitochondria are easily recognized.

Fusion of mitochondria is frequently preceded by multiple touching and withdrawal. Fusion can take place either between two ends of the mitochondria or between an end and a side. Division through dumb-bell stages does not proceed in a single step but by means of alternate thinning and swelling the vicinity of the division furrow. Division and fusion can be seen several times consecutively on one mitochondrion at various places. This is a relatively frequent event. In the cells shown here each mitochondrion averages from 1 to 3 divisions and fusions phenomena per hour.

Résumé du Film:

Mitochondries – Mouvement, division et fusion. Des mouvements ainsi que des fusions et des divisions de mitochondries survenant dans des cellules endothéliales de cœur de grenouilles à griffes (*Xenopus laevis* Daudin) sont présentés dans le contraste de phases avec un faible ralenti (1–2 images/s). Les cellules sont étendues très à plat sur le couvre-objet, si bien que les mitochondries sont facilement reconnaissables.

Une fusion de mitochondries est fréquemment précédée de plusieurs atouchements et mouvements de retrait. La fusion peut s'effectuer soit entre deux extrémités de mitochondries, soit entre une extrémité et un côté. Les divisions qui passent par la formation d'haltères, ne se déroulent pas non plus en une seule fois, mais par une alternance de rétrécissement et de gonflement au niveau de sillon de division. Plusieurs divisions et fusions peuvent être observées successivement et en différents points d'une mitochondrie. Il s'agit là de phénomènes relativement fréquents. Dans les cellules montrées ici, chaque mitochondrie subit en moyenne 1 à 3 processus de division et de fusion en une heure.

Allgemeine Vorbemerkungen

In Gewebekulturzellen ist mit dem Phasenkontrast-Mikroskop die Bewegung von Mitochondrien – besonders in der Pheripherie der Zellen – gut zu verfolgen. Mikrozeitrafferaufnahmen solcher Zellen erweisen Teilungen und Fusionen von Mitochondrien als recht häufiges Ereignis, wobei sich während kurzer Zeitspannen (bis zu einigen Stunden) die Häufigkeiten von Teilungen und Fusionen nicht signifikant voneinander unterscheiden, also keine Nettovermehrung vorliegt. Langfristig gesehen müssen jedoch die Teilungen überwiegen, da nur so bei noch teilungsaktiven Zellen die gleichmäßige Versorgung der Tochterzellen mit Mitochondrien sichergestellt ist. In welchem Abschnitt des Zellzyklus Teilungen von Mitochondrien überwiegen, ist nicht generell anzugeben. Untersuchungen an menschlichen Fibroblasten deuten auf ein kontinuierliches Wachstum der Mitochondrienpopulation während der gesamten Interphase hin (SCHNEDL [11]). Bei den hier verwendeten Endothelzellen ist mit 1–3 Teilungs- und Fusionsereignissen pro Mitochondrium und Stunde zu rechnen.

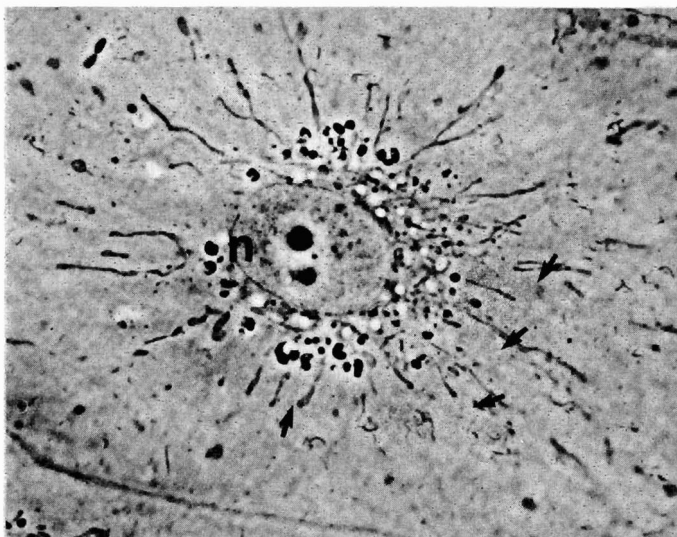


Abb. 1. Primäre Endothelzelle aus dem Herzen einer Kaulquappe von *Xenopus laevis* in Kultur. In der unmittelbaren Umgebung des Zellkernes (n) zahlreiche Vakuolen (hell) und Cytosomen (schwarz), einige Mitochondrien sind durch Pfeile gekennzeichnet

Ablauf von Fusionen und Teilungen

a) Fusion

Fusionen von Mitochondrien können aus zwei verschiedenen Positionen heraus erfolgen, entweder treffen die Organellen mit ihren Spitzen (schmalen) Enden aufeinander und verschmelzen mit diesen, oder das eine Mitochondrium berührt mit einem spitzen Ende die Seite eines anderen, und die Verschmelzung erfolgt seitlich (Abb. 2); immer ist bei einem der Mitochondrien ein spitzes Ende beteiligt. Bei lichtmikroskopischer Beobachtung mit hoher Objektivauflösung ist der Verschmelzungsvorgang oft nicht sicher zu beurteilen, da häufig Mitochondrien sehr eng aneinander liegen und aneinander vorbeigleiten können, so daß kein Spalt zwischen ihnen auflösbar ist. Es muß auch durchaus nicht die erste Berührung zu einer Verschmelzung führen, sondern es können „mehrere Versuche unternommen werden“ bis wirklich eine Verschmelzung stattfindet. Diese ist elektronenmikroskopisch einwandfrei nachzuweisen, lichtmikroskopisch kann sie dann als gesichert gelten, wenn das Verschmelzungsprodukt als Ganzes seine Form und intrazelluläre Position verändert (s. Abb. 2, 27.9 s, Abb. 3).

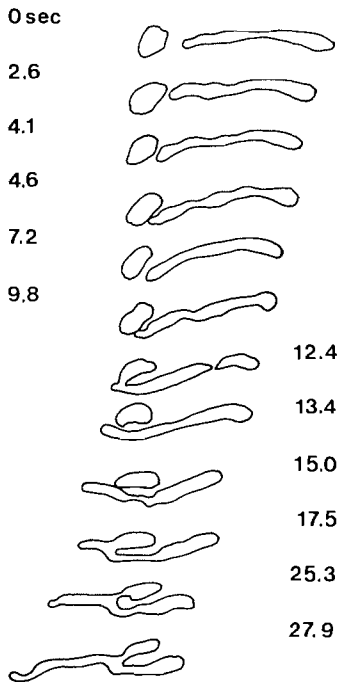


Abb. 2. Verschmelzung zweier Mitochondrien; Teilbildzeichnungen aus einem Mikrozeitrafferfilm. Die Zahlen geben die Sekunden an, die seit Beginn der dargestellten Sequenz vergangen sind. Sehr enge Berührungen erfolgen bei 4,6; 9,8 und 12,4 s, die endgültige Verschmelzung findet jedoch erst zwischen 15,0 und 17,5 s statt. Der Verschmelzungsvorgang ist erfolgt während einer Lokomotion des langen Mitochondrium

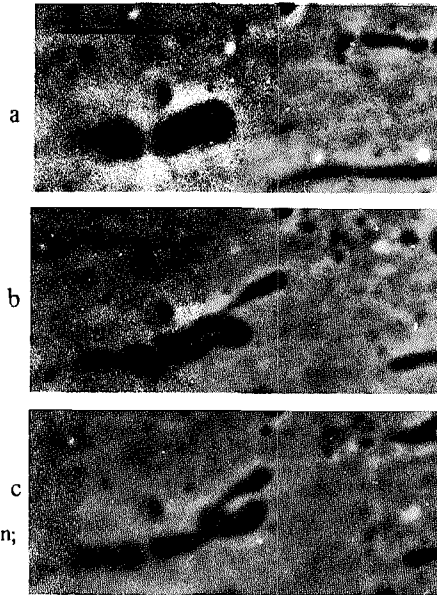


Abb. 3. a-c: Photoserie zur Fusion zweier Mitochondrien; a: 0 min, b: 2 min später, c: 3 min nach a. Maßstab: 5µm

Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen findet zunächst eine Verschmelzung der Außenmembran statt, erst kurz darauf vereinigen sich auch die Innenmembranen.

b) Teilung

Teilung von Mitochondrien kann aus einem Streckungsvorgang resultieren, wobei sich die Enden des Mitochondriums in entgegengesetzte Richtung bewegen. Etwa in der Mitte wird das Organell zunehmend dünner und „reißt“ dann durch. Sehr häufig ist die, in der Literatur (Übersicht siehe KUROIWA [8]) auch allgemein als Teilungsvorstadium angesehene Hantelform (Abb. 4). Die Bildung von Hantelformen kann zu Teilungen führen, eine Umbildung zu anderen Formen ist jedoch möglich; häufig sind die Teilungen inaequal (Abb. 5). Auch Teilungen laufen meist nicht zügig ab, sondern die prospektive

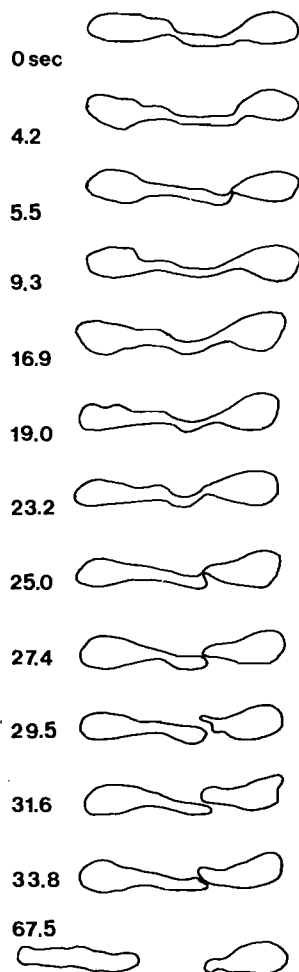


Abb. 4. Teilung eines Mitochondrium; Teilbildzeichnungen aus einem Mikrozeitrafferfilm. Das Mitochondrium weist die für Teilungen oft typische Hantelform auf. Die zukünftige Teilungsstelle wird bei 5,5 s deutlich erkennbar, verschwindet jedoch im weiteren Verlauf und wird erst wieder bei 25,3 s erkennbar, vor dem voneinander Wegwandern berühren sich die beiden Schwestermitochondrien nochmals bei 33,8 s

Teilungsstelle wird abwechselnd dünner und dicker. Über das Mitochondrium laufen peristaltische Bewegungen, in deren Verlauf die Durchschnürung erfolgt. Solch ein Vorgang ist in Abb. 4 veranschaulicht.

Inwieweit an der Durchschnürung der Mitochondrien auch eine Unterteilung des mitochondrialen Innenraumes durch zwei aneinanderliegende Cristae beteiligt ist, kann nicht nachgeprüft werden, da nie mit Sicherheit vorherzusagen ist: „Dieses Mitochondrium wird sich in Kürze teilen“.

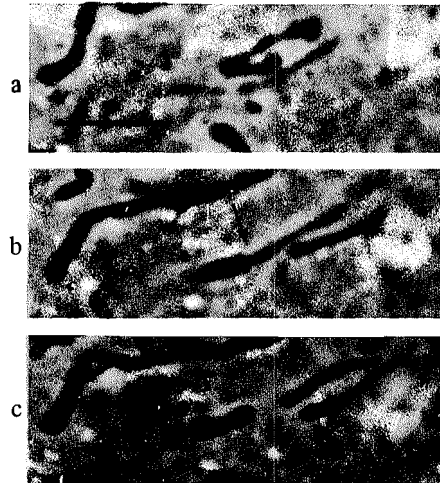


Abb. 5. a–c: Teilung zweier Mitochondrien. b: 2 min, c: 3 min nach a. Der Pfeil in b kennzeichnet die Teilungsstelle. Maßstab: 5 μ m

Physiologische Voraussetzungen von Fusion und Teilung

In Gewebekulturzellen, wie sie im Film gezeigt werden, scheinen Fusion und Teilung von Mitochondrien nicht primär mit der Stoffwechselsituation zusammenzuhängen. Ihre Häufigkeit wird lediglich durch die Häufigkeit der Kontaktmöglichkeit bestimmt. Sie ist eine Funktion der Lokomotionsaktivität. Dies bedeutet, daß Atmungshemmstoffe, wie Antimycin und Cyanid, die signifikant intrazelluläre Bewegung von Mitochondrien hemmen (BEREITER-HAHN u. MORAWE [2]; BEREITER-HAHN u. VÖTH [3]), auch zum Erliegen von Fusionen und Teilungen der Mitochondrien führen. Entkoppler (z.B. FCCP und Pentachlorophenol) steigern geringfügig sowohl die Teilungs- als auch die Verschmelzungsrate.

Die z.B. unter Einfluß von Coenzym A, 2-Mercaptopropionylglycin oder dem Proteinsynthesehemmer Cycloheximid (10^{-5} – $5 \cdot 10^{-4}$ M) beobachtete Verlängerung der Mitochondrien beruht vorwiegend auf Streckung der Organelle und nicht auf Verschmelzungsvorgängen. Derzeit ist also keine direkte Abhängigkeit dieser Vorgänge vom Energiestoffwechsel aufzeigbar, jedoch dürften hormonelle Faktoren und der Zellzyklus von entscheidender Bedeutung sein: Zyklusabhängige Veränderungen der Aggregationsform von Mitochondrien wurden z.B. für *Chlorella* (ATKINSON et al. [1]), *Chlamydomonas* (GROBE u. ARNOLD [6]) und für Flagellaten (GAFFAL u. KREUTZER [4], GAFFAL u. SCHNEIDER [5]) beschrieben. Hier treten wie bei Hefen Stadien

auf (HOFFMANN u. AVERS [7]), in denen die Zellen nur ein einziges, weitverzweigtes, korbähnliches Mitochondrium enthalten. Auch an Gewebekulturzellen können Mitochondrienetze beobachtet werden, in die praktisch alle Mitochondrien einer Zelle vereinigt sind (Abb. 6). Die physiologische Bedeutung der Verschmelzungs- und Teilungsvorgänge dürfte in der Ermöglichung einer hohen Rekombination mitochondrialer DNA liegen. Nach KUROIWA ([8]) führt bei Plasmodien jede Teilung zu einer Aufteilung der DNA zwischen den Schwestermitochondrien.

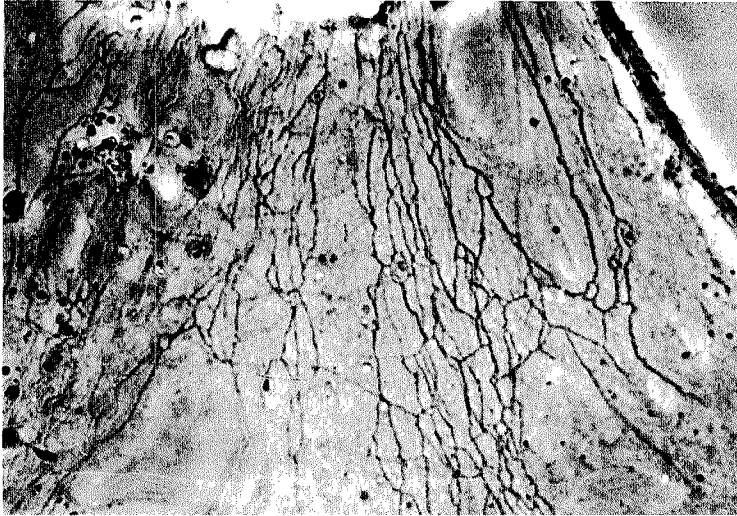


Abb. 6. Peripherie einer XTH-Zelle mit stark quervernetztem Chondriom. Lichtmikroskopisch entsteht der Eindruck eines einzigen vielfach verzweigten Mitochondrium

Material und Methoden

Herzen von Kaulquappen des Krallenfrosches *Xenopus laevis* Daudin, Stadium 50–52 (NIEUWKOOP u. FABER [9]) wurden steril entnommen. Ein durchsichtiger Dialyseschlauch gewährleistet dauernden Kontakt des Explantates mit dem Deckglas einer Rose-Kammer (ROSE et al. [10]), die mit Amphibien-Kulturmedium nach WOLFF & QUIMBY (Gibco, Glasgow) gefüllt ist. Durch Auswandern von-Explantat bilden die Endothelzellen zusammenhängende Rasen auf dem Deckglas.

Die Aufnahmen erfolgten bei Zimmertemperatur (25–26°C), entweder in den geschlossenen Rose-Kammern oder nach Entfernen eines Deckglases und des Dialyseschlauchstreifens, um frisches Medium und Hemmstoffe ungehindert an die Zellen gelangen zu lassen. Die Filmaufnahmen erfolgten mit einer Askania-Z-Kamera auf Kodak-Plus-X-Pan-Film (35 mm) mit einer Frequenz von 120 B/min.

Mikroskop: Umgekehrtes Mikroskop Diavert (E. Leitz, Wetzlar) mit Phasenkontrast-Objektiv 63x, n.A. 1.4, Planapochromat (C. Zeiß, Oberkochen), 10x, Kondensator mit langer Schnittweite VIIZ (C. Zeiß, Oberkochen).

Dank

Die Arbeit wurde durch Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Erläuterungen zum Film

Wortlaut des gesprochenen Kommentars

In Gewebekulturzellen aus Kaulquappenherzen liegen die Organelle besonders dicht um die Kerne.

Im Phasenkontrast erscheinen die Mitochondrien als graue, meist längliche Gebilde, die ihre Form verändern können und etwa $0,5 \mu\text{m}$ dick sind. In diesem Ausschnitt aus der Zellperipherie liegt der Zellkern rechts unten außerhalb des Bildfeldes.

Durch 12fache Zeitraffung wird die hohe Eigenbeweglichkeit der Mitochondrien sehr deutlich. Der Pfeil zeigt die Stelle der Teilung an.

Nochmals eine Mitochondrienteilung. – Die Mitochondrien teilen sich und verschmelzen, während sie sich bewegen.

Der Pfeil zeigt eine weitere Teilung an. – In Gewebekulturzellen sind Teilungen und Verschmelzungen keine seltenen Ereignisse.

Diese Einstellung zeigt die Fusion zweier Mitochondrien. Während bestimmter Entwicklungsstadien, z.B. bei der Gametenbildung, können sogar alle Mitochondrien einer Zelle fusionieren und ein zusammenhängendes Netzwerk bilden.

Als Organelle *sui generis* enthalten Mitochondrien DNA. Tierische Mitochondrien verfügen über die genetische Information von etwa 5% ihrer Proteine. Verschmelzungen und Teilungen der Mitochondrien sind genetisch bedeutsam, da sie die Rekombination mitochondrialer DNA fördern.

Ein weiteres Beispiel für die Fusion zweier Mitochondrien. –

Ein Mitochondrium kann sich kurz nacheinander mehrmals teilen, und die Teilstücke können wiederum fusionieren.

Hier teilt sich ein Mitochondrium. Das obere Teilstück verschmilzt mit einem Nachbarmitochondrium und anschließend mit einem weiteren Mitochondrium rechts oben. Dann teilt es sich wieder.

Literatur

- [1] ATKINSON, A.W., P.C.L. JOHN, and B.E.S. GUNNING: The growth and division of the single mitochondrion and other organelles during the cell cycle of *Chlorella*, studied by quantitative stereology and three dimensional reconstruction. *Protoplasma* **81** (1974), 77–109.
- [2] BEREITER-HAHN, J., und G. MORAWE: Stoffwechselabhängige mitochondriale Bewegungen in epithelialen Kaulquappenherzzellen in Gewebekulturen. *Cytobiologie* **6** (1972), 447–467.
- [3] BEREITER-HAHN, J., and M. VÖTH: Metabolic control of shape and structure of mitochondria in situ. *Biol. of the Cell* **47** (1983).
- [4] GAFFAL, K.P., and D. KREUTZER: The mitochondria of *Polytoma papillatum* at two different stages of the vegetative cell cycle. *Protoplasma* **91** (1977), 167–177.
- [5] GAFFAL, K.P., and G.J. SCHNEIDER: The changes in ultrastructure during fertilization of the colourless flagellate *Polytoma papillatum* with special reference to the configural changes of their mitochondria. *Cytobiologie* **18** (1978), 161–173.
- [6] GROBE, B., and C.G. ARNOLD: Evidence of a large, ramified mitochondrion in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Protoplasma* **86** (1975), 291–294.
- [7] HOFFMANN, H.-P., and C.J. AVERS: Mitochondrion of yeast: Ultrastructural evidence for one giant, branched organelle per cell. *Science* **181** (1973), 749–751.

Biol. 16/7 - D 1455

- [8] KUROIWA, T.: Mitochondrial Nuclei. *Int. Review Cytol.* **75** (1982), 1-59.
- [9] NIEUWKOOP, P.D., and J. FABER: Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). North Holland Publ., Amsterdam (1956).
- [10] ROSE, G.G., C.M. POMERAT, T.O. SHINDLER, and J.B. TRUNNELL: A celophane-strip technique for culturing tissue in multipurpose culture chambers. *J. Biophys. Biochem Cytol.* **4** (1958), 761-764.
- [11] SCHNEDL, W.: Changes of mitochondria during the cell cycle. *Cytobiol.* **8** (1974), 403-411.

Abbildungsnachweis

Abb. 1-6: J. BEREITER-HAHN.