

ISSN 0073-8417

# PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

**BIOLOGIE**

SERIE 17 · NUMMER 13 · 1985

FILM D 1542

**Embryonalentwicklung des Nematoden  
Caenorhabditis elegans**



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

*Angaben zum Film:*

Tonfilm (Komm., deutsch oder engl.), 16 mm, farbig, 130 m, 12 min (24 B/s). Hergestellt 1982, veröffentlicht 1984.

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

Aus dem Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Molekulare Biologie, Göttingen, Dr. E. SCHIERENBERG. Bearbeitet und veröffentlicht durch das Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. D. HAARHAUS; Kamera: E. SCHIERENBERG, E. POLOCZEK, G. MATZDORF; Schnitt: E. POLOCZEK.

*Zitierform:*

SCHIERENBERG, E.: Embryonalentwicklung des Nematoden *Caenorhabditis elegans*. Film D 1542 des IWF, Göttingen 1984. Publikation von E. SCHIERENBERG, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 17, Nr. 13/D 1542 (1985), 21 S.

*Anschrift des Verfassers der Publikation:*

Dr. E. SCHIERENBERG, Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Molekulare Biologie, Hermann-Rein-Str. 3, D-3400 Göttingen.

---

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion PSYCHOLOGIE · PÄDAGOGIK

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

Sektion MEDIZIN

NATURWISSENSCHAFTEN

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Herausgeber: H.-K. GALLE · Redaktion: 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. (05 51) 20 22 02

## FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

EINHARD SCHIERENBERG, Göttingen:

Film D 1542

### Embryonalentwicklung des Nematoden *Caenorhabditis elegans*

Verfasser der Publikation: EINHARD SCHIERENBERG

Mit 11 Abbildungen

#### *Inhalt des Films:*

**Embryonalentwicklung des Nematoden *Caenorhabditis elegans*.** Ein großer Teil der Körperhöhle des freilebenden Nematoden *Caenorhabditis elegans* wird durch Oocyten und befruchtete Eier eingenommen. In etwa 12 Stunden entwickelt sich das befruchtete Ei zu einem Wurm. Die transparente Eihülle und die Fähigkeit zu normaler Entwicklung außerhalb der Mutter, ermöglichen eine detaillierte mikroskopische Beobachtung der zellulären Entwicklung. Die nach der Befruchtung an entgegengesetzten Polen der Eizelle liegenden Vorkerne wandern aufeinander zu, verschmelzen und bilden die Zygote. Eine Serie von asymmetrischen Teilungen führt zur Bildung von 5 „Ursomazellen“ und einer „Urkeimzelle“. Neben den typischen, synchronen Teilungsrhythmen innerhalb der einzelnen Zell-Linien, werden charakteristische Zell- und Kernwanderungen während der Embryogenese gezeigt. Am Beispiel der Darmvorläuferzellen wird die Entstehung eines Organs beschrieben.

Farbige Computer-Rekonstruktionen erleichtern das Verständnis der zellulären Topographie und dokumentieren die frühe Symmetriebildung innerhalb einzelner Zell-Linien.

Nach der ersten Hälfte der embryonalen Entwicklung sind fast sämtliche Zellen vorhanden. In der zweiten Hälfte streckt sich der Zellhaufen, erste Muskelkontraktionen treten auf, allmählich entsteht ein Wurm. Wenn er schlüpft ist er etwa 4 x so lang wie die Längsachse der Eihülle.

#### *Summary of the Film:*

**Embryonic Development of the Nematode *Caenorhabditis elegans*.** A major part of the body cavity of the free-living nematode *Caenorhabditis elegans* is occupied by oocytes and fertilized eggs. Within about 12 hours the fertilized egg develops into a worm. The transparent eggshell and the ability to develop normal outside the mother allow detailed microscopic observation of cellular development. After fertilization both pronuclei are positioned at opposite poles of the uncleaved egg. They migrate towards each other, fuse and form the zygote. A series of asymmetric divisions results in the formation of 5 "somatic founder cells" and one "primordial germ cell". In addition to the typical synchronous cell divisions within individual cell lines characteristic cell and nuclear migrations during embryogenesis are shown. Taking the primordial gut cells as an example, formation of an organ is described.

Colored computer reconstructions aid a better understanding of cellular topography and document early formation of symmetry within individual cell lines.

After the first half of embryonic development nearly all cells are present. During the second half the ball of cells stretches, first muscle contractions occur, gradually a worm is formed. When it hatches, it is about 4x as long as the long axis of the egg shell.

*Résumé du Film:*

**Le développement embryonnaire du nématode *Caenorhabditis elegans*.** Une grande partie de la cavité primaire du corps des nématodes libres *Caenorhabditis elegans* est occupée par des ovocytes et des oeufs fécondés. L'oeuf fécondé se développe en vers en environ 12 heures. La coque transparente de l'oeuf et le fait que l'oeuf puisse se développer normalement en dehors de la cavité maternelle facilitent les observations détaillées au microscope. Les deux pronuclei se trouvant après la fécondation aux pôles opposés, migrent l'un vers l'autre fusionnent et forment le zygote. Une série de segmentations asymétriques donne naissance à 5 "cellules initiales somatiques" et une „cellule initiale génitale“.

On montre des divisions synchrones typique dans le lignage cellulaire et des migrations cellulaires et nucléaires caractéristiques pendant l'embryogenèse. La formation d'un organe est démontrée en prenant les cellules de l'intestin primitif comme exemple.

Des schémas d'ordinateur en couleur reconstruisant ce développement facilitent la compréhension de la topographie des cellules et documentent le fait que la symétrie apparaît très tôt dans le linage cellulaire. Presque toutes les cellules sont déjà formées dès la première moitié du développement embryonnaire. Pendant la deuxième moitié du développement la boule de cellules s'étire, les premières contractions musculaires apparaissent, le vers se forme progressivement. A l'éclosion il est 4 fois plus long que l'axe longitudinal de la coque d'oeuf.

## Allgemeine Vorbemerkungen

### Hintergrund-Information

*Caenorhabditis elegans* ist der auf zellulärer Ebene am besten untersuchte vielzellige Organismus (Abb. 1). Die Entstehung sämtlicher Zellen vom befruchteten Ei bis zum Erwachsenen ist vollständig analysiert und das Schicksal jeder einzelnen Zelle im Organismus bestimmt worden (SULSTON u. HORVITZ [17], DEPPE et al. [5], SULSTON et al. [18]). Die Entwicklung ist von Individuum zu Individuum invariant.

Innerhalb eines halben Tages entwickelt sich das befruchtete Ei zu einem fertigen Wurm mit 558 Zellen. Nach dem Schlüpfen durchläuft das Tier 4 Juvenilstadien und ist dann als Erwachsener selbst in der Lage Nachkommen zu produzieren (Abb. 2). Die Embryogenese kann in zwei Abschnitte unterteilt werden: die Proliferationsphase, in der fast sämtliche Zellen gebildet werden und eine anschließende Morphogenese, während der sich der Embryo zu einem Wurm formt (Abb. 3). Für eine detailliertere Orientierung können 12 charakteristische Stadien definiert werden, die fließend ineinander übergehen (Abb. 4).

Nematoden sind klassische Objekte der Entwicklungsbiologie. THEODOR BOVERI ([1]) beschrieb schon 1887 die frühe Trennung von Keimbahn und Soma während der Embryonalentwicklung des Pferdespulwurms *Parascaris equorum* (früher: *Ascaris megalocephala*). Dort durchlaufen alle Zellen außer den Keimbahnzellen eine „Chromatindiminution“. Während der ersten oder zweiten Teilung der somatischen Zellen bleiben Teile der Chromosomen in der Gegend der Metaphasenplatte zurück und degenerieren später. Das führt dazu, daß nur die Keimbahn das komplette Erbmaterial behält. Der

sonderbare Vorgang der Chromatindiminution, der vereinzelt auch an anderen Stellen im Tierreich auftritt, scheint aber auch bei Nematoden eher eine Ausnahme darzustellen. Bei *C. elegans* tritt sie nicht auf (SULSTON u. BRENNER [16], EMMONS et al. [6]). Trotzdem gleicht das frühe Zellteilungs-Schema von *Ascaris* dem von *C. elegans* (Abb. 5) und dem der anderen bisher untersuchten rhabditiden Nematoden.

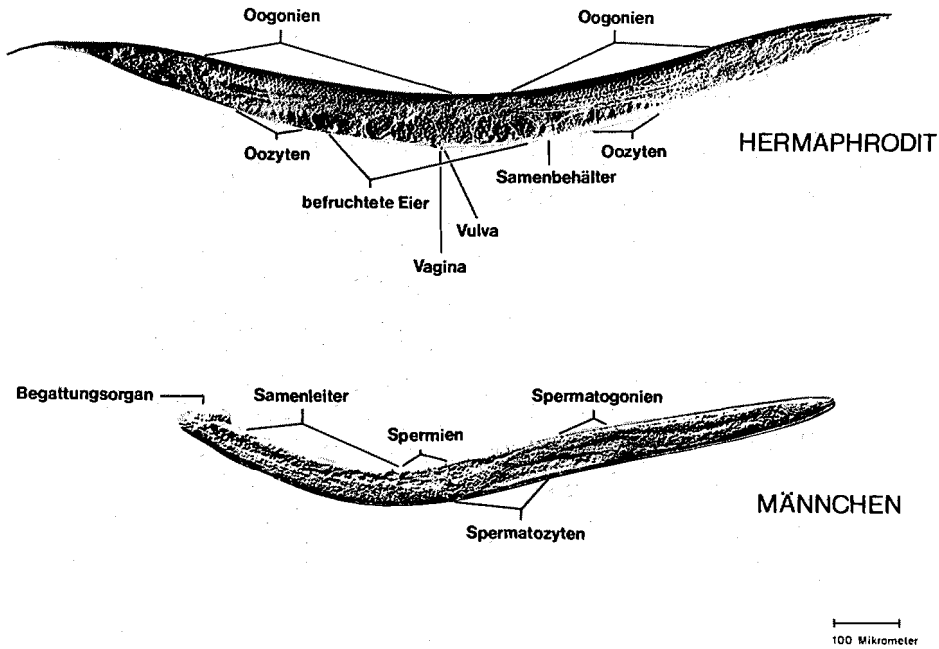


Abb. 1. Hermaphrodit und Männchen von *Caenorhabditis elegans*

Die frühen asymmetrischen Teilungen der Keimbahnzelle führen jeweils zu einer größeren Ursomazelle und einer kleineren neuen Keimbahnzelle (Abb. 6). Neben der unterschiedlichen Größe gibt es weitere Charakteristika der Keimbahnzelle, die sie von Anfang an von den somatischen Zellen unterscheidet: so zeigt sie eine deutlich schmäler geformte Centriolar-Region gegen Ende der Mitose als ihre somatische Schwester. Dies ist besonders deutlich sichtbar im 2-Zellstadium (Abb. 7a). Außerdem finden sich ausschließlich in der Keimbahnzelle fleckenartige, granulafreie Strukturen (auch „Keimplasma“ oder „Nuages“ genannt), die licht- und elektronenmikroskopisch sichtbar sind (Abb. 7b; KRIEG et al. [8], WOLF et al. [19]). STROME und WOOD ([14], [15]) machten mit Hilfe von fluoreszenz-markierten Antikörpern Keimbahn-spezifische Granula sichtbar, die möglicherweise mit den im Mikroskop erkennbaren Strukturen identisch sind. Jede der insgesamt 5 entstehenden Ursomazellen produziert eine feste Zahl von Zellen mit invariablem Schicksal (Abb. 5). Die Urkeimzelle  $P_4$  produziert während der postembryonalen Entwicklung eine große Zahl von Zellen, die sich in zeitlicher Aufeinanderfolge teils in

Spermien und teils in Eier differenzieren. Hin und wieder treten spontan durch Verlust eines X-Chromosoms („non-disjunction“) Männchen auf (HODGKIN et al. [7]), die mit

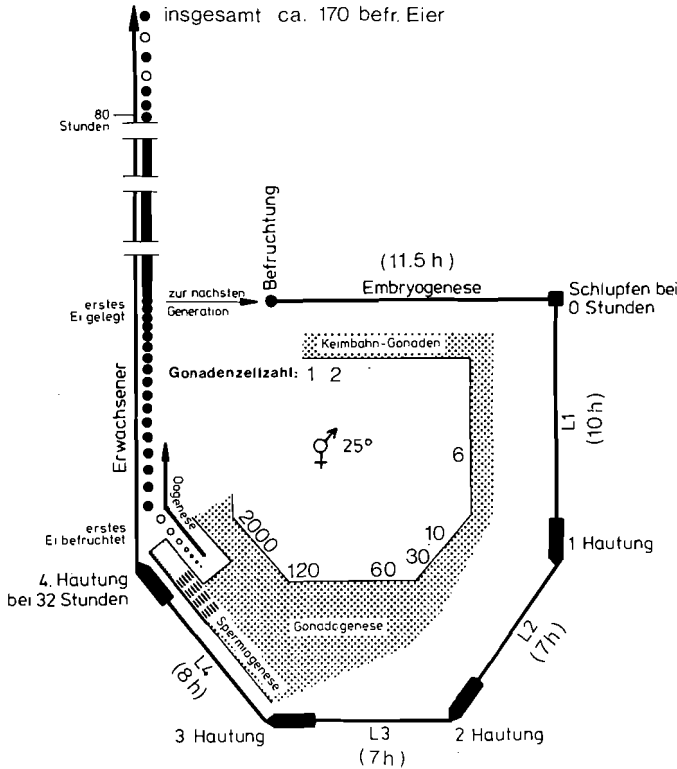


Abb. 2. Der Lebenszyklus von *C. elegans*. Der Weg vom befruchteten Ei über die Embryonalentwicklung, die 4 Juvenilstadien und das Adultenstadium zur nächsten Generation. Weiße Kreise = unbefruchtete Eier

Hermaphroditen gekreuzt werden können. Durch genetische Analyse (BRENNER [3]) wurden bisher über 400 Gene auf 6 Komplementationsgruppen (Chromosomen) lokalisiert.

Die Analyse der Zellstammbäume hat eine Reihe neuer, zum Teil überraschender Erkenntnisse gebracht. Einige Beispiele sollen hier kurz erläutert werden.

### Keimblätter und Zellschicksal

Die von klassischen Nematodenforschern (BOVERI [2], MÜLLER [10], ZUR STRASSEN [13]) postulierte Zuordnung von Zellstammbaum und Zellschicksal wurde als grobe Regel im wesentlichen bestätigt. Im Detail gibt es allerdings eine große Zahl von Abweichungen. Mehrfach entstehen bei der letzten Teilung einer Zelle zwei unterschiedliche Töchter, von denen sich die eine in eine Nervenzelle, die andere in eine Muskelzelle differenziert (Abb. 8). Ordnet man die einzelnen Zell-Linien bestimmten Keimblättern zu, so

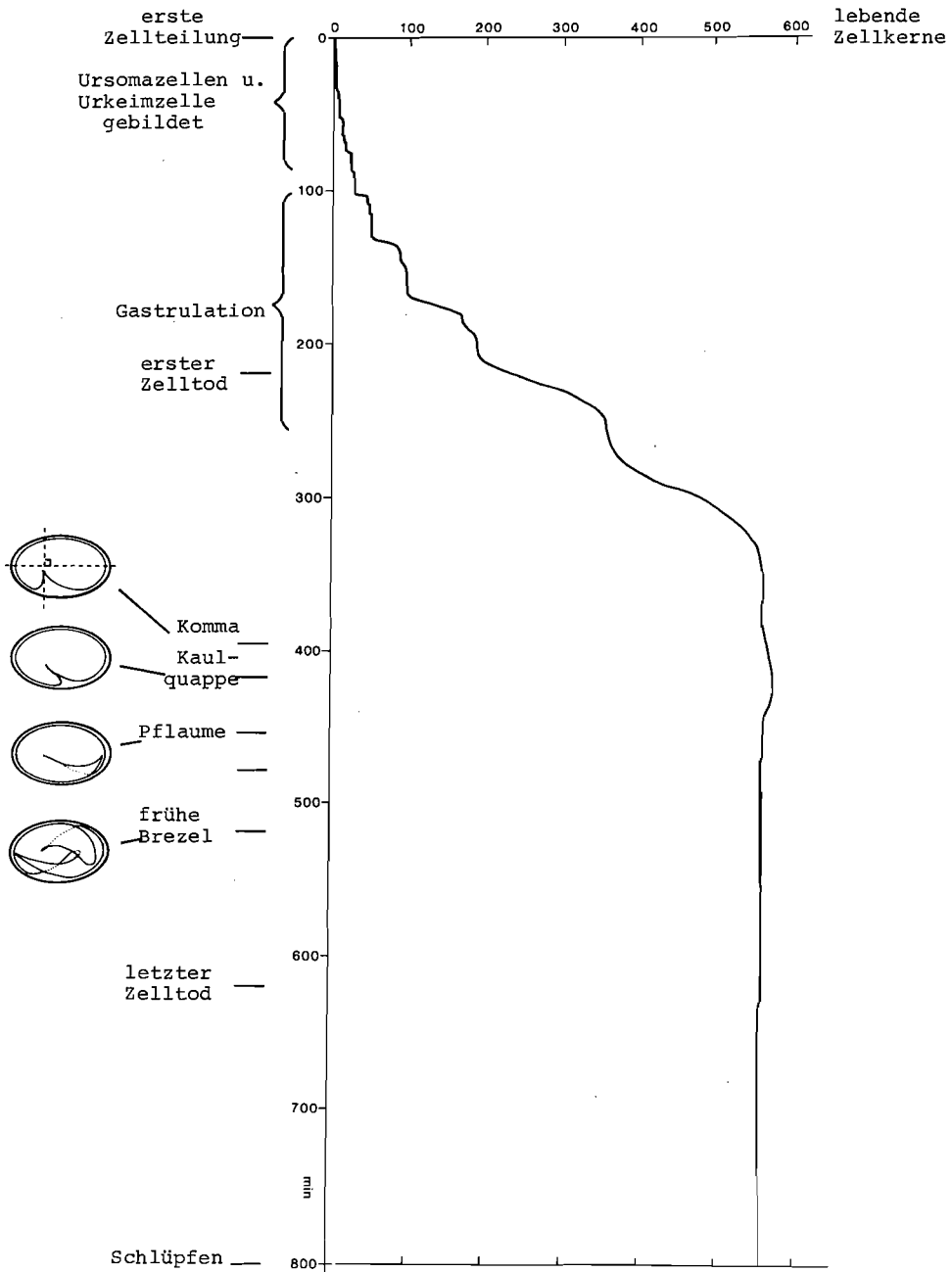


Abb. 3. Schlüsselereignisse und Zunahme der Zahl von Zellkernen in Abhängigkeit von der Entwicklungszeit. Die Befruchtung erfolgt bei etwa - 45 min

bedeutet das, daß Nervenzellen aus embryonalem Mesoderm und Muskelzellen aus embryonalem Ektoderm entstehen können. Ein besonders bizarres Beispiel liefert die AB-Zell-Linie, die mehr als zwei Drittel aller Zellen zum frisch geschlüpften Tier beisteuert (Abb. 5). Sie liefert eine einzige Zelle für das Körpermuskelsystem. Die übrigen 80

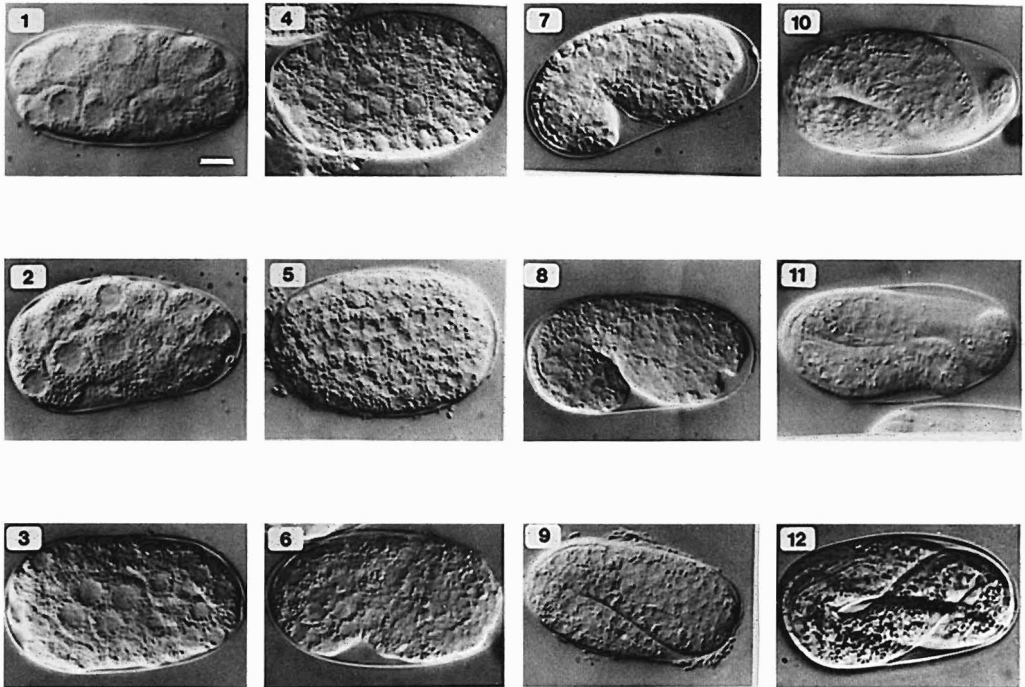


Abb. 4. Die Entwicklung von *C. elegans* in 12 Bildern

- |   |                             |
|---|-----------------------------|
| 1. Praegastrulastadium (2 E-Zellen posterior-ventral) | 7. „Komma“-Stadium          |
| 2. 2 E-Stadium (2 E-Zellen eingewandert)              | 8. „Kaulquappen“-Stadium    |
| 3. 4 E-Stadium  | 9. „Pflaumen“-Stadium       |
| 4. 8 E-Stadium  | 10. „Schlingen“-Stadium     |
| 5. 16 E-Stadium                                       | 11. Frühes „Brezel“-Stadium |
| 6. „Bohnen“-Stadium                                   | 12. Spätes „Brezel“-Stadium |

(Strich = 10  $\mu\text{m}$ ; anterior ist rechts, ventral ist unten)

(Zur besseren Verdeutlichung der übereinanderliegenden, gegenläufigen Abschnitte des Wurms wurde bei 7,12 die Kondensor-Blende ganz geschlossen, dadurch größere Tiefenschärfe aber Verlust des Nomarski-Effekts)

Körpermuskelzellen kommen von 3 verschiedenen Zell-Linien (MS, C, D), wie Abb. 9 zeigt. Die Computer-Rekonstruktion des 102-Zellstadiums deutet dies auch bereits an. Auf ultrastruktureller Ebene lassen sich keine Unterschiede zwischen den Muskelzellen unterschiedlicher Herkunft erkennen. Es sind nur zwei Fälle gefunden worden, wo eine



Vorläuferzelle vollständig und ausschließlich ein Gewebe bildet: die Ursomazelle E bildet den Darm (Abb. 10) und aus der Urkeimzelle  $P_4$  entstehen sämtliche Keimzellen. Die Regel allerdings ist, daß Stammbaumgrenze und funktionelle Grenze nicht identisch sind.

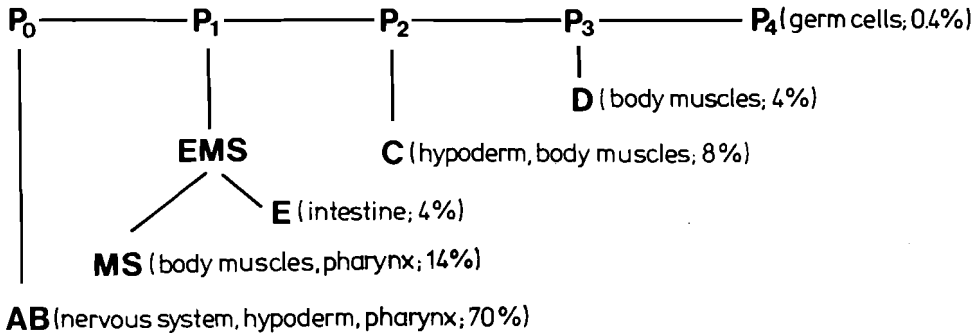


Abb. 5. Schematische Darstellung des frühen embryonalen Zellstammbaums von *C. elegans*. Die horizontale Linie verbindet die 5 Generationen der Keimbahnzellen ( $P_0$ – $P_4$ ).  $P_0$  ist die Zygote,  $P_4$  ist die Urkeimzelle. Die frühen asymmetrischen Teilungen der Keimbahnzelle führen zur Bildung von 5 Ursomazellen: AB, MS, E, C, D. Die Strukturen zu denen die Nachkommen der Ursomazellen vorwiegend (AB, MS, C) oder ausschließlich (E, D) beitragen, sind in Klammern angegeben. Dahinter findet sich der Prozentsatz jeder Zell-Linie an der Gesamtzellzahl beim Schlüpfen

### Mosaikentwicklung und Regulation

Eine Reihe verschiedener Experimente wie Laserstrahl-induzierte Zellablation oder Isolierung einzelner Zellen (SULSTON et al. [18], LAUFER et al. [9]) legen den Schluß nahe, daß die Embryonalentwicklung von *C. elegans* im wesentlichen zellautonom vor sich geht. Allerdings wurden während der späten Embryonalentwicklung zwei Beispiele für begrenzte Regulation gefunden. Hierbei konkurrieren zwei Zellen, die benachbart an der ventralen Mittellinie liegen und dazu gleiche Positionen in der linken und rechten Hälfte des Stammbaumes einnehmen, offensichtlich um ein primäres Schicksal. Wird die eine von ihnen eliminiert, übernimmt die Nachbarzelle ihren Entwicklungsgang. Wird die andere Zelle abgetötet, entwickelt sich die Nachbarzelle unbeeinflusst davon (SULSTON et al. [18]). Somit zeigt sich, daß auch bei Nematoden, die allgemein als klarstes Beispiel für Mosaikentwicklung gelten, Ausnahmen von der Regel existieren.

### Symmetriebildung

Der fertige Wurm zeigt einen hohen Grad an bilateraler Symmetrie. Eine einfache Strategie zur Erzielung solcher Strukturen ist die Symmetriebildung innerhalb einzelner Zell-Linien. Ein gutes Beispiel dafür sind die zum Körpermuskelsystem beitragenden Ursomazellen MS, C und D. Die erste Teilung dieser Zellen beinhaltet eine links-rechts Entscheidung, obwohl die Teilungsrichtung anterior-posterior (bei D schräg) ist. Die Nachkommen der anterioren Zelle bilden Strukturen auf der linken Seite, die Nachkommen der posterioren Zelle bilden gleichartige Strukturen (mit einigen Ausnahmen) auf der rechten Seite des sich entwickelnden Embryos (SULSTON et al. [18], SCHIERENBERG et

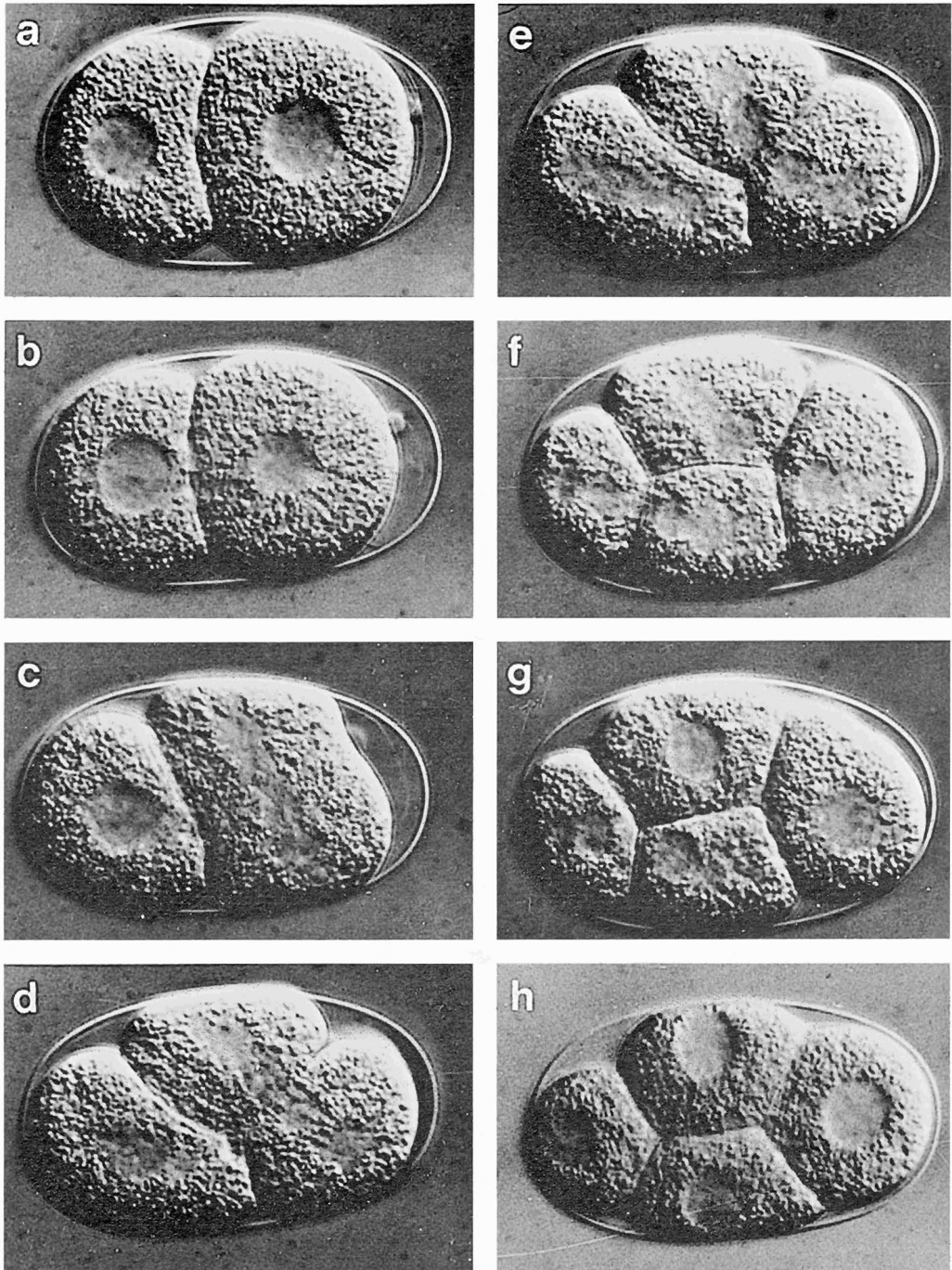


Abb. 6

al. [11]). Die schrittweise sich stärker ausprägende Symmetrie wird auch in den Computer-Rekonstruktionen des Films sichtbar. In der AB-Zell-Linie bilden Zellgruppen häufig bilateral symmetrische Strukturen (nicht immer perfekt), die im Stammbaum keine entsprechend symmetrischen Strukturen zueinander einnehmen (Abb. 8). Neben der bilateralen 2fach-Symmetrie finden sich im fertigen Wurm auch 3-, 4- und 6fache Symmetrien (SULSTON et al. [18]). Im Stammbaum spiegeln sich solche Symmetrien allerdings nicht wieder. Diese Tatsache und die im wesentlichen von Zellnachbarn und exakter Position unabhängige Differenzierung der Zellen läßt den Schluß zu, daß die Symmetriebildung im *C. elegans* Embryo nicht auf einen globalen Einfluß (wie z.B. ein morphogenetisches Feld) zurückzuführen ist, sondern vielmehr das Endresultat einer großen Zahl von Entscheidungen auf der Ebene einzelner Zellen oder kleiner Zellgruppen ist.

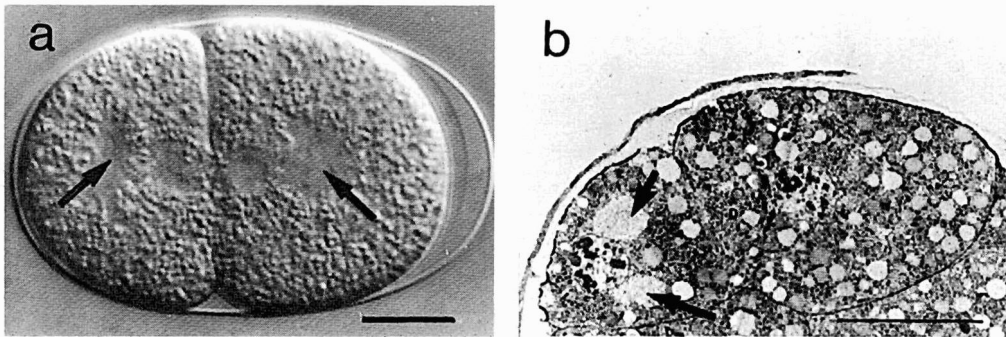


Abb. 7. Keimbahn-spezifische subzelluläre Strukturen.

- a) scheibenförmige Centriolar-Region in  $P_1$  (linker Pfeil) und ballförmige Centriolar-Region in AB (rechter Pfeil) am Ende der Teilung von  $P_0$ . Differential-Interferenz-Kontrast. Strich: 10  $\mu\text{m}$ ; anterior ist rechts
- b) Detail eines elektronenmikroskopischen Schnittes durch ein 24-Zell-Stadium.  
 $P_4$  = links, D = rechts. Keimbahn-spezifische Strukturen angelagert an den Zellkern von  $P_4$  (Pfeile). Strich: 5  $\mu\text{m}$ ; anterior ist unten

Abb. 6. Die Zellteilung von AB und  $P_1$

- a) Späte Interphase. Die Zellen haben sich abgerundet, die Kerne sind angeschwollen. Breiter Spalt zwischen dem vorderen Pol von AB und der Eischale
- b) Kern der AB-Zelle unscharf (Zusammenbruch der Kernmembran), Spindelbildung beginnt an zwei gegenüberliegenden Polen der Kernregion.
- c) Frühe Anaphase der Mitose in der AB-Zelle  
Die Zellmembran beginnt sich an einer Stelle einzubuchten. Frühe Prophase in  $P_1$
- d) Späte Anaphase bei AB. Die neue Zellmembran wächst von außen nach innen ABp (posteriore AB-Zelle) repräsentiert den Rücken des zukünftigen Tieres. ABa (anteriore AB-Zelle) ist nach vorne gerutscht und hat den Raum des früheren Spaltes eingenommen
- e)  $P_1$  in Anaphase. EMS repräsentiert die Bauchseite des zukünftigen Tieres
- f) Rautenstadium. Scheibenförmige Spindelregion in  $P_2$ . Zellen runden sich gegeneinander ab
- g) AB wieder in Interphase.  $P_2$  und EMS in Telophase
- h) 4-Zellstadium in der Interphase. Abrundung der AB-Zellen wieder verschwunden  
Strich = 10  $\mu\text{m}$ ; anterior ist rechts, ventral ist unten

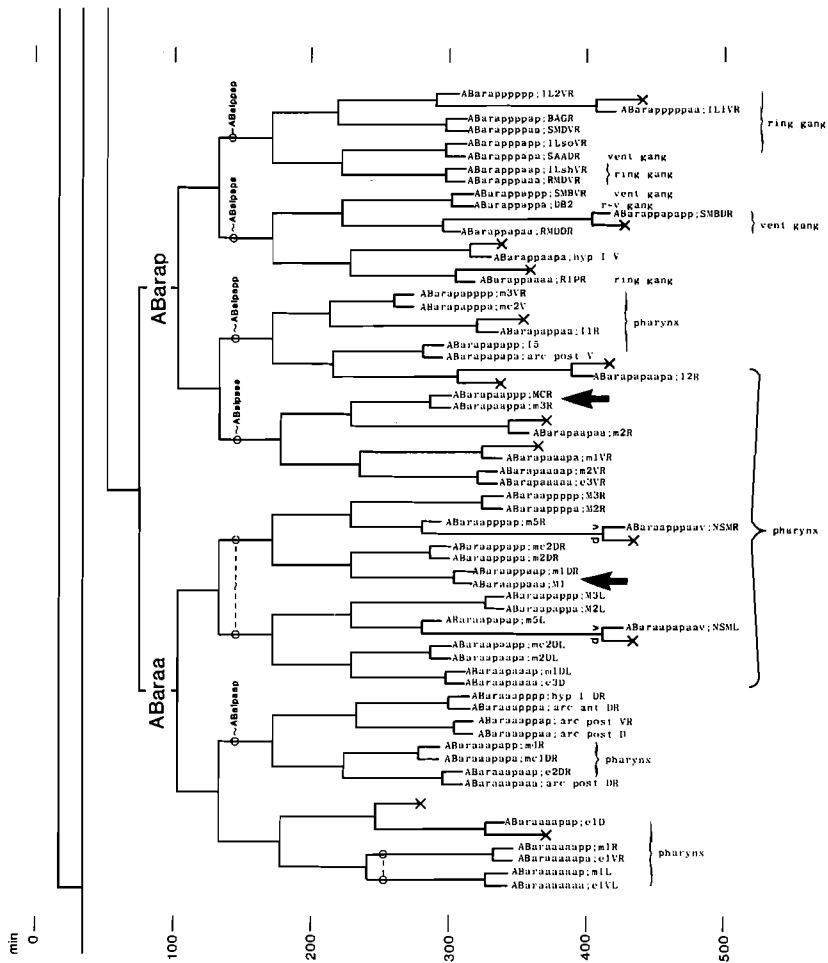


Abb. 8. Ausschnitt aus AB-Zellstammbaum. Mit jeder Teilung erhalten die Töchter zum Namen der Mutter einen zusätzlichen kleinen Buchstaben, der die relative Position zu ihrer Schwesterzelle direkt nach der Teilung angibt. Die Zelle ABarap ist z.B. eine Ururenkelin von AB. Sie selbst lag nach der Teilung posterior von ihrer Schwester, ihre Mutter anterior, ihre Großmutter rechts und ihre Urgroßmutter anterior. Teilungsrichtungen abweichend von (vorwiegend) anterior-posterior sind abgekörtzt auf den Stammbäumen vermerkt. Kreuze bedeuten Zelltod. Hinter ihrem Stammbaumnamen erhält jede differenzierte Zelle eine Kurzbezeichnung, die sich auf ihre Funktion bezieht, z.B. NSMR (Neurosekretorisches Motoneuron). Mit Hilfe von Klammern werden Zellgruppen bestimmten Strukturen zugeordnet, z.B. vent gang (ventrales Ganglion). O~AB... oder O---O bedeutet, daß die betreffenden Stammbaumzweige zueinander bilateral-symmetrische Strukturen bilden. Hier wird deutlich, daß in der AB-Zell-Linie oft keine direkte Korrelation zwischen Stammbaumpositionen und Symmetrieverhältnissen besteht. Die beiden Pfeile deuten auf Zellgeschwister, von denen die eine eine Nerven-, die andere eine Muskelzelle ist

### Programmierter Zelltod

Ein Aspekt der Embryonalentwicklung, der im Film nicht angesprochen wird, ist der des programmierten Zelltods. Während einer Zeitspanne von knapp 7 Stunden sterben im Embryo von *C. elegans* als invariabler Bestandteil des Stammbaums exakt 113 Zellen (Abb. 2 und 8). Interpretiert wird dieses Phänomen mit der häufigen Wiederverwendung ein- und desselben Programms zur Herstellung bestimmter Teilstücke des Zellstammbaums (SULSTON et al. [18]). Offensichtlich wurde während der Evolution der Stammbaum nach einem „Baukastensystem“ zusammengesetzt.

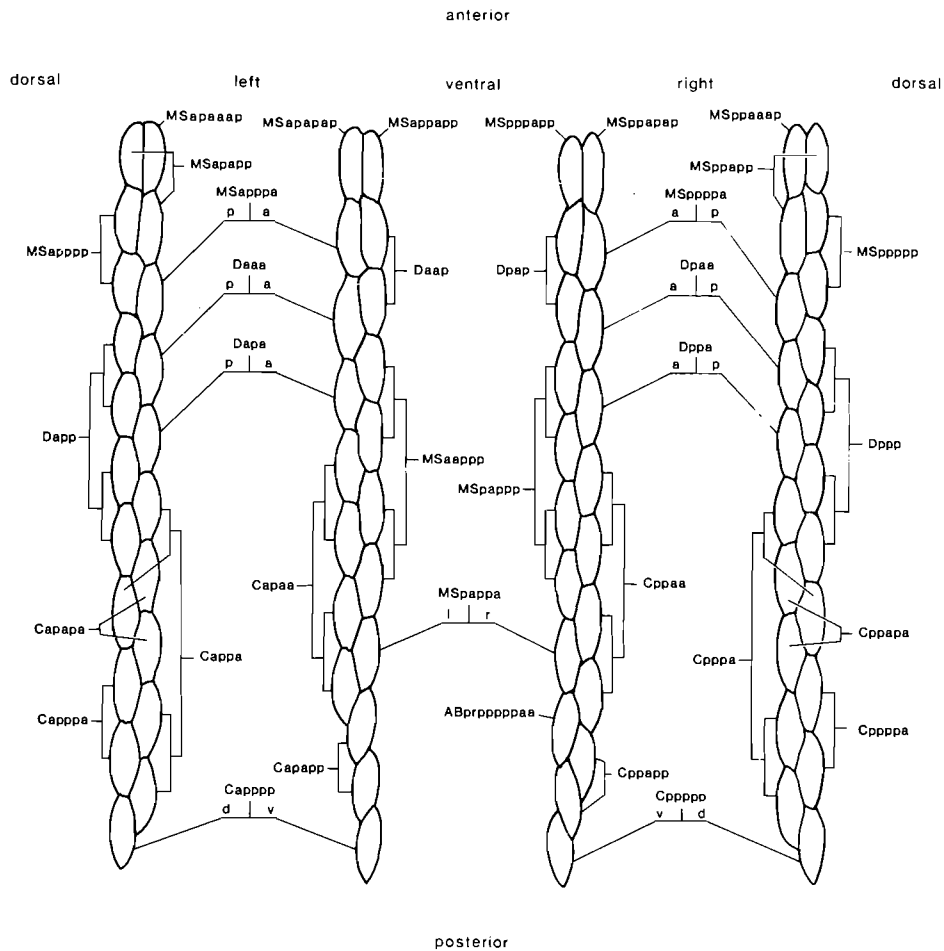


Abb. 9. Arrangement der Muskelzellen in 4 Quadranten etwa 7 Stunden nach der Befruchtung. Es handelt sich hier um eine schematische zweidimensionale Darstellung, so als wäre der Embryo am Rücken aufgeschnitten und nach beiden Seiten aufgeklappt. Der invariablen Verteilung der Zellen von 4 verschiedenen Linien (AB, MS, C, D) liegt kein erkennbares Prinzip zugrunde. Die Regel der frühen Trennung von linken und rechten Strukturen (s. Text) hat eine Ausnahme (MSpappa)

Vermutlich war es weniger aufwendig anschließend überflüssige Zellen zu eliminieren, als für jeden Zweig des Stammbaums individuelle Programme bereitzustellen. Der programmierte Zelltod ist aber kein notwendiger Teil des Programms zur Herstellung eines lebensfähigen Tieres. Kürzlich wurde eine Mutante isoliert, bei der sämtliche Zellen überlebten. Dennoch entwickelte und reproduzierte sich diese ohne sichtbaren Defekt. Dies widerspricht dennoch keineswegs der Vorstellung, daß programmierter Zelltod nicht doch einen evolutionären Vorteil bedeutet.

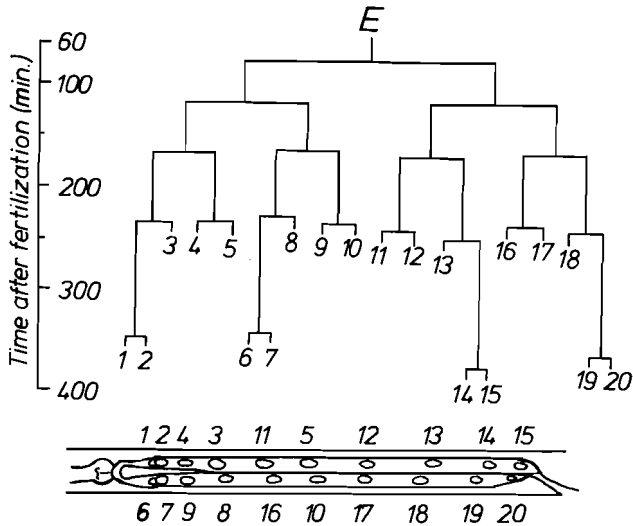


Abb. 10. Der komplette embryonale Stammbaum der E-Zell-Linie. Die 20 Zellen bilden den Darm des schlüpfenden Tieres. Die schematische Darstellung der Zellpositionen im Darm verdeutlicht, daß keine vollständige Übereinstimmung zwischen Stellung im Zellstammbaum und Anordnung im Organ besteht. Anterior ist links

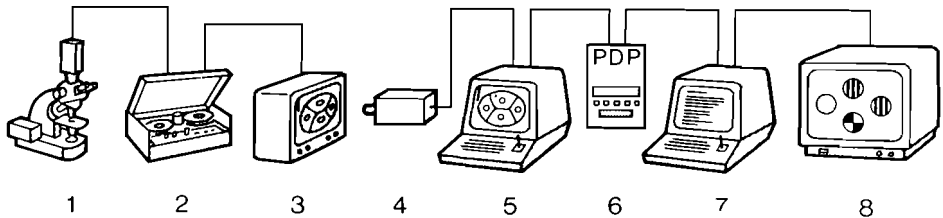


Abb. 11. Vom lebenden Embryo zur Computer-Rekonstruktion. Der sich entwickelnde Embryo unter dem Mikroskop (1) wird auf Videoband aufgenommen (2) und kann über einen TV-Monitor wiedergegeben werden (3). Eine Videokamera (4) überträgt das TV-Bild auf ein Computer-Terminal (5). Von dort werden Durchmesser und Koordinaten der Kerne in den Computer eingegeben und auf Magnetplatte gespeichert (6). Verschiedene Wiedergabe-Programme (7) ermöglichen eine Rekonstruktion auf einem Farbmonitor (8)

### **Zur Entstehung des Films**

Sämtliche Aufnahmen sind vom Video-Bildschirm abgefilmt. Die einzelnen Teile des Films (außer Computer-Rekonstruktionen) zeigen verschiedene Individuen, deren Entwicklung unter dem Mikroskop zunächst in Realzeit auf Videoband aufgenommen wurde.

### **Zur Präparations- und Mikroskopiertechnik**

Eier-tragende Hermaphroditen (Länge: ca. 1,3 mm) werden mit einem Skalpell in einem Tropfen Leitungswasser geöffnet. Aus den freigesetzten Eiern (Länge: ca. 50  $\mu\text{m}$ ) werden unter dem Stereomikroskop geeignete Stadien ausgewählt. Diese werden in einer ausgezogenen Pasteur-Pipette auf einen Objektträger gebracht. Über die mit Flüssigkeit bedeckten Eier wird ein Deckglas gelegt und dieses mit Vaseline an allen Seiten versiegelt. Die Entwicklung wird bei 100x Objektivvergrößerung mit Differential-Interferenz-Kontrast beobachtet.

### **Zur Entstehung der Computer-Rekonstruktionen:**

Die farbigen Computer-Rekonstruktionen zeigen die Größe und Position sämtlicher Zellkerne im Ei an. Das Programm erlaubt die Drehung einer Rekonstruktion um jeden beliebigen Winkel, Streckung, Stauchung und Spiegelung. Die Markierung der einzelnen Kerne kann im Rahmen der vorhandenen Farben und vorprogrammierten Muster frei gewählt werden. Abb. 11 zeigt schematisch den Weg vom lebenden Ei bis zur fertigen Rekonstruktion.

## Erläuterungen zum Film

### Wortlaut des gesprochenen Kommentars

(Zeitraffung 1:1)

Der frei in der Erde lebende Nematode *Caenorhabditis elegans* ist ein selbstbefruchtender Hermaphrodit.

Seine geringe Zellzahl, einfache Kulturhaltung im Labor, gute Eignung für genetische Untersuchungen und die Möglichkeit die Embryonalentwicklung außerhalb der Mutter durch die transparente Eihülle beobachten zu können, machen ihn zu einem günstigen entwicklungsbiologischen Modellorganismus.

Durch fast ununterbrochene Pumpbewegungen des Pharynx schleust *Caenorhabditis* Bakterien als Nahrung in das hier weit aufgeblähte Darmlumen.

Ein großer Teil der Körperhöhle wird durch Oocyten und befruchtete Eier verschiedenster Entwicklungsstadien eingenommen, die etwa vom 50-Zellstadium an abgelegt werden.

An der Grenze zwischen den ovalen sich teilenden Eiern und den kastenförmigen Oocyten läßt sich hier der Samenbehälter mit Spermien erkennen.

(Zeitraffung 1:30)

Dieses ca. 50 µm große Ei ist vor etwa 45 Minuten befruchtet worden. Die beiden Vorkerne sind an entgegengesetzten Polen sichtbar und wandern aufeinander zu. Gleichzeitig erfolgt eine temporäre Einschnürung. Beide Kerne wandern ins Zentrum, drehen sich um 90° und verschmelzen miteinander.

Daraufhin erfolgt die erste Teilung in die größere Ursomazelle AB, aus der im wesentlichen Hypodermis- und Nervenzellen hervorgehen und die kleinere Keimbahnzelle P<sub>1</sub>. Während des Zellzyklus schwellen die Kerne an. Nach etwa 10 Minuten teilt sich die AB-Zelle in zwei AB-Zellen, kurz darauf auch P<sub>1</sub> in eine größere EMS und in eine kleinere neue Keimbahnzelle P<sub>2</sub>.

Zu diesem Zeitpunkt sind die Hauptachsen des Embryos bereits eindeutig zu bestimmen. In diesem Fall ist rechts im Bild anterior und oben dorsal.

Bald verdoppeln sich die beiden AB-Zellen. EMS teilt sich in eine vordere MS-Zelle, aus der hauptsächlich Muskelzellen hervorgehen und eine hintere E-Zelle, die Darmvorläuferzelle.

P<sub>2</sub> teilt sich in eine dorsale C-Zelle, – Vorläufer für Muskel- und Hypodermis-Zellen – und P<sub>3</sub>, die neue Keimbahnzelle.

In der nächsten halben Stunde teilen sich sämtliche bis dahin entstandenen Zellen, zunächst AB, dann MS, dann E gefolgt von C.

Gleichzeitig mit der Teilung von P<sub>3</sub> in eine Muskelvorläuferzelle D und die Urkeimzelle P<sub>4</sub> teilen sich die bisher entstandenen 8 AB-Zellen nochmals.

Mit der Einwanderung der beiden E-Zellen, aus denen sich später der Darm bildet, beginnt die Gastrulation.

Die Urkeimzelle P<sub>4</sub> verlagert sich bis zum 28-Zellstadium von posterior nach ventral. Im 28-Zellstadium berührt P<sub>4</sub> die MS-Zellgruppe und schließt den Blastoporus bis auf eine kleine Öffnung.



Die Computer-Rekonstruktion eines solchen 28-Zellstadiums zeigt die Zellkerne als bunte Kugeln: AB blau und blau-weiß gemustert, MS gelb, E braun, C rot, D grün und die Urkeimzelle  $P_4$  violett. Nach der Drehung erscheint der Embryo in der Ventralansicht, in der auch die folgenden Entwicklungsschritte gezeigt werden.

Als Beispiel soll die Entwicklung der Darmvorläuferzelle E verfolgt werden. In diesem Modell sind bereits 2 Zellkerne – braun – vorhanden.

(Zeitraffung 1:1)

Hier ein 4 E-Zellstadium. Insgesamt sind etwa 80 Zellen vorhanden: Ein 8 E-Zellstadium mit insgesamt 200 Zellen, ein 16 E-Zellstadium mit insgesamt ca. 400 Zellen.

Durch eine erneute Teilung von 4 dieser 16 E-Zellen sind sämtliche Darmzellen des schlüpfenden Tieres vorhanden.

Weitere Computerrekonstruktionen früher Entwicklungsstadien zeigen im Gegensatz zum mikroskopischen Bild sämtliche Zellkerne auf einen Blick. Hier die Ventralansicht eines 44-Zellstadiums kurz nach der synchronen Teilung der blauen und blau-weißen AB-Zellen.

Mit der Teilung von gelben MS, braunen E- und grünen D-Zellen ist nach 15 Minuten das 51-Zellstadium erreicht.

Als nächste verdoppeln sich wieder die blauen und blau-weißen AB und dann die roten C-Zellen, so daß nach einer Viertelstunde das 87-Zellstadium entstanden ist.

Die einzige embryonale Teilung der violetten Urkeimzelle  $P_4$ , gefolgt von Teilungen gelber MS, brauner E und grüner D-Zellen, führt kurz danach zum 102-Zellstadium.

Innerhalb einzelner Zell-Linien deutet sich hier bereits die Bildung typischer bilateraler Strukturen an.

(Zeitraffung 1:90)

In der Zeitraffung werden die dynamischen Vorgänge von Zellbewegung und Zellwanderung an der ventralen Oberfläche besonders deutlich.

Nach der Teilung der Urkeimzelle  $P_4$  und der beiden D-Zellen wandern diese nach dem 102-Zellstadium ein und folgen damit den E-Zellen. Etwas später schließen sich die mehr anterior gelegenen MS-Zellen an.

Von der linken und rechten Seite schieben sich AB-Zellen bauchwärts. Es entsteht eine Rinne, die durch das Zusammentreffen von linken und rechten AB-Zellen – im Bild oben und unten – geschlossen wird.

Auch der größte Teil der AB-Zellen wird ins Ei-Innere verlagert und trägt zur Bildung von Nervensystem und Pharynx bei.

Etwa 6 Stunden nach der Befruchtung beginnt mit der ventralen Einbuchtung zum sogenannten Bohnenstadium die Morphogenese.

Ein weiteres Beispiel für morphogenetische Zell- und Kernbewegung zeigt der Blick auf die dorsalen C-Zellen.

Die zunächst in zwei parallelen Reihen angeordneten Hypodermis-Zellen verzahnen sich ineinander. Das durch die alternierende Wanderung der Zellkerne entstandene Muster ist kennzeichnend für den Beginn der Morphogenese.

In der zweiten Hälfte der Embryonalentwicklung finden nur noch wenige Zellteilungen statt. Aus dem eiförmigen Embryo formt sich ein Wurm:

Hier das Bohnenstadium in Seitenansicht mit der ventralen Einbuchtung im hinteren Teil.

Durch fortschreitende Vertiefung und Herumbiegen des Schwanzteils bildet sich das Kaulquappen-Stadium. In der posterioren Hälfte erkennt man das krückstockförmig gebogene Darmprimordium.

(Zeitraffung 1:1)

Jetzt zeigt der Embryo erste Muskelkontraktionen.

Eine weitere Streckung führt zum Pflaumenstadium.

Im Schlingenstadium dreht sich der nun deutlich wurmförmige Embryo auch um die Längsachse.

Das Brezelstadium zeigt das schon fast fertige Tier.

12 Stunden nach der Befruchtung schlüpft der Wurm aus dem Ei.

In wenigen Tagen durchläuft er 4 Juvenilstadien und ist dann als erwachsenes Tier selbst in der Lage Eier zu produzieren.

### English Version of the Spoken Commentary

The free-living nematode *Caenorhabditis elegans* is a self-fertilizing hermaphrodite.

It is a favourable organism for developmental biology because it has a small number of cells, is easy to culture, is well-suited for genetic analysis, and its protective egg shell is transparent, which makes it possible to observe embryonic development outside the mother.

The nearly permanent pumping of the pharynx transports bacteria into the gut lumen, here wide open.

The major part of the body cavity is occupied by oocytes and fertilized eggs of various developmental stages. The eggs are laid from about the 50-cell stage onwards.

At the border between the oval-shaped cleaving eggs and the box-shaped oocytes the spermatheca with sperm is visible.

This approximately 50  $\mu\text{m}$  long egg has been fertilized about 45 minutes ago. Both pronuclei are visible at opposite poles and they begin to migrate towards each other. Simultaneously a temporary pseudocleavage occurs. Both pronuclei migrate into the center, rotate through an angle of  $90^\circ$  and fuse to form the zygote.

Immediately afterwards, the first cleavage divides the egg into a larger somatic founder cell AB and a smaller germ line cell  $P_1$ .

During the cell cycle, the nuclei swell. After about 10 minutes, AB divides into 2 AB cells.

Shortly afterwards  $P_1$  also cleaves into a larger EMS cell and a new germ line cell  $P_2$ .

At this time the main axes of the embryo are easily identified. Here anterior is at the right and dorsal is at the top.

Soon both AB cells divide. EMS cleaves into an anterior MS cell, mainly producing muscle cells and a posterior E cell, the founder cell for the gut.

$P_2$  divides into a dorsal C cell, precursor for muscle and hypodermis cells, and a new germ line cell  $P_3$ .

Within the next half hour all existing cells divide, first AB, then MS, then E followed by C.

Finally, concurrently with the doubling of the eight AB cells,  $P_3$  divides into a muscle precursor cell D and the primordial germ cell  $P_4$ .

Gastrulation starts with the immigration of the two E-cells, the precursors for the gut. The primordial germ cell  $P_4$  has moved from posterior to ventral when the 28-cell stage is reached.

In the 28-cell stage  $P_4$  makes contact with the MS cells and closes the blastopore except for a small opening.

Computer reconstruction of such a 28-cell stage displays cells nuclei as colored spheres: AB (blue and blue-white pattern), MS (yellow), E (brown), C (red), D (green) and the primordial germ cell  $P_4$  (purple). After rotation the embryo is shown from a ventral view. The following developmental stages are also shown from ventral.

Development of the gut precursor cells E will be followed as an example. In this reconstruction two E-cell nuclei (brown) exist.

Here we see a 4 E-cell stage, a total of about 80 cells, an 8 E-cell stage, a total of about 200 cells and a 16 E-cell stage, a total of about 400 cells.

One the further division of 4 of the 16 E-cells leads to the 20 E-cells of the animal when it hatches.

Further computer reconstructions of early developmental stages show all cell nuclei at one glance, in contrast to the microscopical picture. Here we see the ventral view of a 44-cell stage shortly after the synchronous division of the blue and blue/white marked AB cells.

15 minutes later, after the division of the yellow MS, brown E and green D cells, the 51-cell stage has been reached.

Next the blue and blue/white AB cells will double again, followed by the red C cells, leading to the 87-cell stage after a further 15 minutes.

The only embryonic division of the purple primordial germ cell  $P_4$  is followed by divisions of the yellow MS, brown E and green D cells resulting in the 102-cell stage. The typical bilateral symmetry within individual cell lines is visible now.

The dynamic process of cellular migration and rearrangement becomes particularly obvious through time lapse observation of the ventral surface. After the division of the primordial germ cell  $P_4$  and the 2 D cells, both cell groups follow the E cells into the interior of the embryo. Somewhat later the more anteriorly positioned MS cells do the same. From the left and right side, AB cells move towards ventral. A furrow is formed which is closed by the meeting of left and right AB cells, shown top and bottom in this shot.

The majority of the AB cells is also eventually translocated into the interior of the embryo, where they contribute to the nervous system and the pharynx.

About 6 hours after fertilization the morphogenesis phase starts with a ventral indentation forming the so-called 'lima-bean stage'.

Another example for morphogenetic cell and nuclear migration is that of the dorsal C-cells. At first they form two parallel rows of hypodermis cells which then interdigitate. The additional alternate migration of nuclei to the left and right, respectively, leads to a single row of cells in which the excentrically located nuclei form a pattern characteristic of early morphogenesis.

During the second half of embryogenesis only few cell divisions occur. A worm is formed out of the egg-shaped embryo.

Here we see the lima bean stage in a lateral view with the typical ventral indentation in the posterior half.

The indentation increases and the tail part bends, leading to the tadpole stage. In the posterior half the gut primordium is visible, resembling a hooked stick.

Now the embryo shows its first muscle contractions.

Further stretching of the body leads to the plum stage.

In the loop stage the worm-shaped embryo rotates also around its long axis.

The pretzel stage shows the almost completely developed animal.

About 12 hours after fertilization the worm hatches. Within a few days it passes through 4 larval stages before reaching adulthood, when it is able to produce eggs by itself.

### Literatur

- [ 1 ] BOVERI, T.: Über Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eies von *Ascaris megaloccephala*. *Anat. Anz.* 2 (1887), 688–693.
- [ 2 ] BOVERI, T.: Die Entwicklung von *Ascaris megaloccephala* mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. In: Festschrift für C. von KUPFFER, Jena 1899, 383–430.
- [ 3 ] BRENNER, S.: The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 77 (1974), 71–94.
- [ 4 ] CASSADA, R., E. ISNENGI, M. CULOTTI and G. von EHRENSTEIN: Genetic analysis of temperature-sensitive embryogenesis mutants in *Caenorhabditis elegans*. *Devel. Biol.* 84 (1981), 193–205.
- [ 5 ] DEPPE, U., E. SCHIERENBERG, T. COLE, C. KRIEG, D. SCHMITT, B. YODER, und G. von EHRENSTEIN: Cell lineages of the embryo of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75 (1978), 376–380.
- [ 6 ] EMMONS, S.W., M.R. KLASS, and D. HIRSH: Analysis of the constancy of DNA sequences during development and evolution of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979), 1333–1337.
- [ 7 ] HODGKIN, J., H.R. HORVITZ, und S. BRENNER: Nondisjunction mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 91 (1979), 67–94.
- [ 8 ] KRIEG, C., T. COLE, U. DEPPE, E. SCHIERENBERG, D. SCHMITT, B. YODER, und G. von EHRENSTEIN: The cellular anatomy of embryos of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.* 65 (1978), 193–215.
- [ 9 ] LAUFER, J.S., P. BAZZICALUPO, and W.B. WOOD: Segregation of developmental potential in early embryos of *Caenorhabditis elegans*. *Cell* 19 (1980), 569–577.
- [ 10 ] MÜLLER, H.: Beitrag zur Embryonalentwicklung von *Ascaris megaloccephala*. *Zoologica* 41 (1903), 1–27.
- [ 11 ] SCHIERENBERG, E., C. CARLSON, and W. SIDIO: Cellular development of a nematode: 3-D computer reconstruction of living embryos. *Wilhelm Roux's Arch.* 194 (1984), 61–68.
- [ 12 ] SCHIERENBERG, E., and C. CASSADA: Cell division patterns and cell diversification in the nematode *Caenorhabditis elegans*. In: C.S. Potten (ed.) *Stem cells. Their identification and characterisation*. Churchill Livingstone, Edinburgh (1983), 67–88.
- [ 13 ] STRASSEN, O.: Zur Embryonalentwicklung des *Ascaris megaloccephala*, *Arch. Entw. Mech.* 3 (1896), 27–105, 133–190.

- [14] STROME, S., and W.B. WOOD: Immunofluorescence visualization of germline-specific cytoplasmic granules in embryos, larvae, and adults of *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79** (1982), 1558–1562.
- [15] STROME, S., and W.B. WOOD: Generation of asymmetry and segregation of germ-line granules in early *C. elegans* embryos. *Cell* **35** (1983), 15–25.
- [16] SULSTON, J.E., and S. BRENNER: The DNA of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77** (1974), 95–104.
- [17] SULSTON, J.E., H.R. HORVITZ: Post-embryonic cell lineages of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.* **56** (1977), 110–156.
- [18] SULSTON, J.E., E. SCHIERENBERG, J. WHITE, and N. THOMSON: The embryonic cell lineages of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.* **100** (1983), 64–119.
- [19] WOLF, N., J. PRIESS and D. HIRSH: Segregation of germline granules in early embryos of *Caenorhabditis elegans*: an electron microscopic analysis. *J. Embryol exp. Morph.* **73** (1983), 297–306.

#### **Abbildungsnachweis**

Abb. 1, 4, 6 u. 10: SCHIERENBERG; Abb. 2: nach CASSADA et al. ([4]); Abb. 3, 8 u. 9: Nach SULSTON et al. ([18]); Abb. 5 u. 11: Aus SCHIERENBERG et al. ([11]); Abb. 7: Aus SCHIERENBERG u. CASSADA ([12]).