

6. Anlage

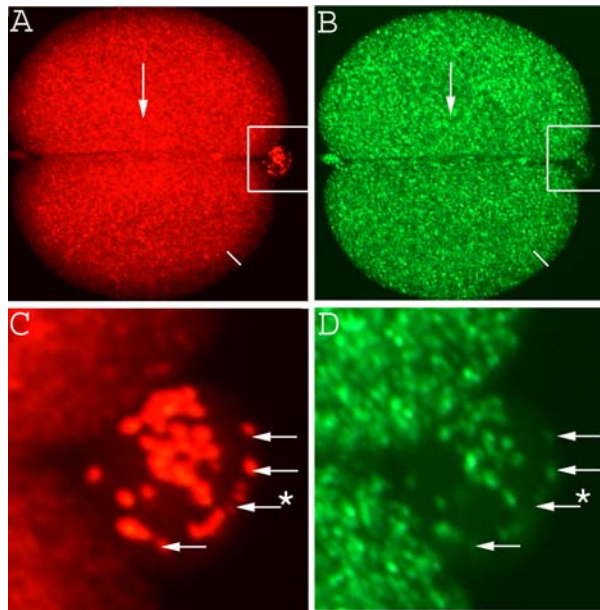


Abb.3: 2-Zellstadium in whole-mount-Präparation nach Entwicklung in vivo und Immunfluoreszenz-Doppelfärbung mit PG2- und MTC02-Antikörpern. Fluoreszenzaufnahmen mit Anregung für PG2- (520 nm, **A** und **C**) und MTC02-Inkubation (450 nm, **B** und **D**) bei schwacher (**A** und **B**) und starker Vergrößerung (**C** und **D**, Ausschnitt aus **A** und **B**). Die Blastomeren zeigen einen Randsaum mit verringerter Reaktionsintensität (Balken) und einen zentralen Bereich mit erhöhter Reaktionsintensität (Pfeil) mit dem PG2-Antikörper (**A**), während die Reaktion mit dem MTC02-Antikörper über die Blastomere gleichmäßig verteilt ist (**B**). Im

Polkörperchen (**C** und **D**) reagieren manche Mitochondrien mit dem MTC02-Antikörper schwächer (Pfeile) Vergrößerung: (**A**) und (**B**) x100, (**C**) und (**D**) x2400.

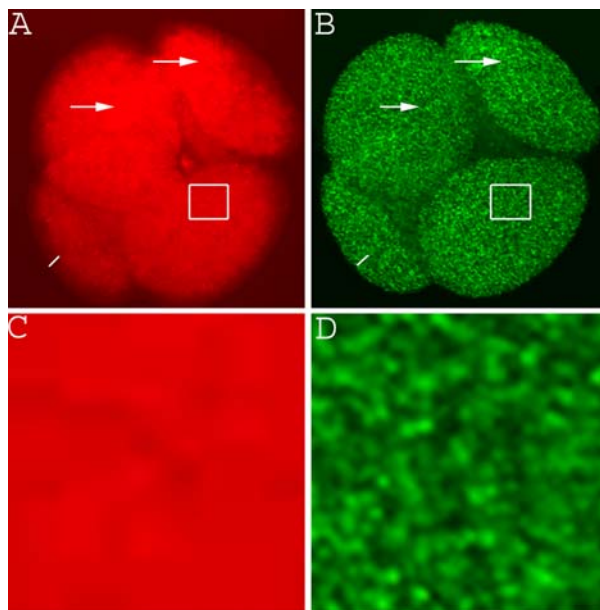


Abb. 4: 4-Zellstadium nach Entwicklung in vivo. (**A** und **C**) PG2- (**B** und **D**) MTC02-Inkubation bei schwacher (**A** und **B**) und starker Vergrößerung (**C** und **D**, Ausschnitt aus **A** und **B**). Die Blastomeren zeigen einen Randsaum verringerter PG2-Reaktionsintensität (Balken) und umschriebene Bereiche erhöhter PG2-Reaktionsintensität (Pfeile) (**A**), während die Reaktion mit dem MTC02-Antikörper über die Blastomere gleichmäßig verteilt ist (**B**). Das Reaktionsmuster des MTC02-Antikörpers ist granulär (**D**), während der PG2-Antikörper (**C**) diffus erscheint. Vergrößerung: (**A**) und (**B**) 100x, (**C**) und (**D**) 4800x

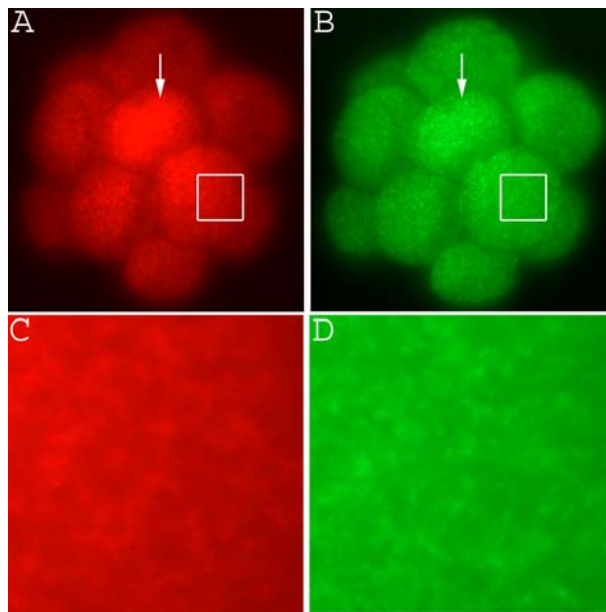


Abb. 5: 17-Zellstadium nach Entwicklung in vivo. (A und C) PG2- (B und D) MTC02-Inkubation bei schwacher (A und B) und starker Vergrößerung (C und D, Ausschnitt aus A und B). Der Embryo zeigt einen zentralen Bereich mit erhöhter Reaktionsintensität (Pfeile) mit dem PG2-Antikörper (A) und leicht erhöhter Reaktionsaktivität mit dem MTC02-Antikörper (B). Das Reaktionsmuster des MTC02-Antikörpers (D) und des PG2-Antikörpers (C) ist granulär. Vergrößerung: (A) und (B) x100, (C) und (D) x4300.

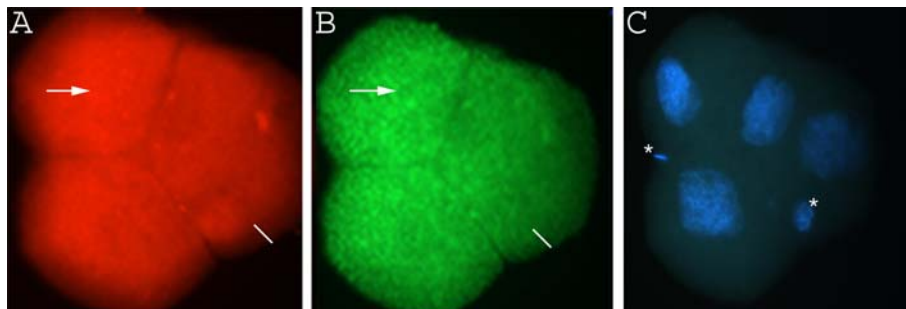


Abb. 6: 4-Zellstadium nach Entwicklung in vitro (24h p.c.). (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt einen Randsaum mit verringerter Reaktionsintensität (Balken) und eine Blastomere mit erhöhter Reaktionsintensität (Pfeil) mit dem PG2-Antikörper (A), während die Reaktion mit dem MTC02-Antikörper über den Embryo gleichmäßig verteilt ist (B). In der Dapi-Färbung sind die Polkörperchen (Sternchen) noch erkennbar (C). Vergrößerung: x100.

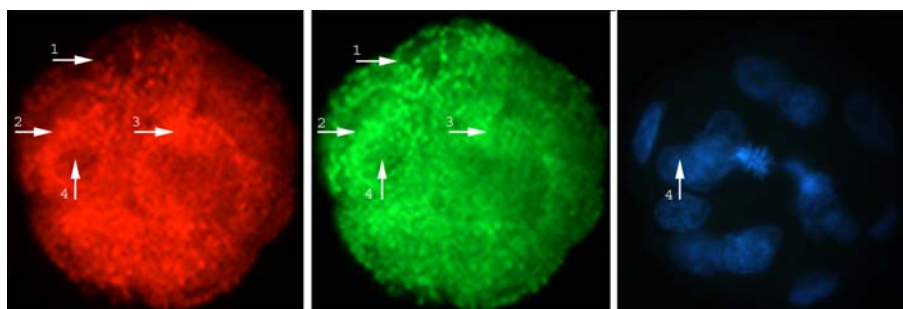


Abb. 7: 16-Zellstadium nach Entwicklung in vitro (24h p.c.). (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Pfeil 1 markiert Bereich schwächerer, Pfeil 2 gleichstarker, Pfeil 3 stärkerer PG2-Reaktionsintensität mit dem PG2-Antikörper (A) im Vergleich zur Reaktionsintensität mit dem (B) MTC02-Antikörper. Einige Bereiche verringerter Reaktionsintensität mit beiden Antikörpern können in der Dapi-Färbung Zellkernen zugeordnet werden (Pfeil 4). Vergrößerung: x100.

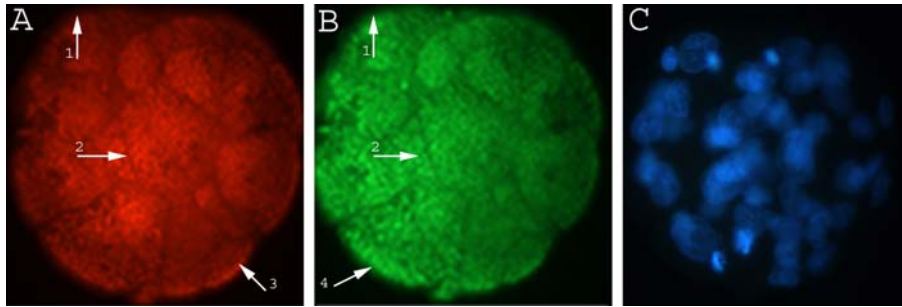


Abb. 8: Morula-Stadium nach Entwicklung in vitro (24h p.c.). (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Hoechst-Inkubation. Vertikaler Pfeil markiert schwächere, horizontaler Pfeil stärkere PG2 Reaktionsintensität (A) im Vergleich zur Reaktionsintensität mit dem MTC02-Antikörper (B). Die Dapi-Färbung zeigt in Größe und Form gleichmäßige Kerne (C). Vergrößerung: x100.

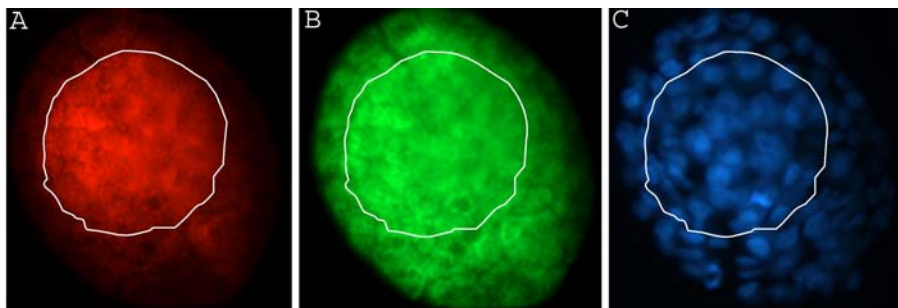


Abb. 9: Blastozyste nach Entwicklung in vitro (24h p.c.). (A) PG2-, (B) CoxIV-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Die Innere Zellmasse (markiert durch die weiße Umrisslinie) ist in der Dapi-Färbung (C) an einem Bereich mit größeren Zellkernen erkennbar und stellt sich in der PG2-Färbung (A) mit einer starken Reaktionsintensität dar. In der CoxIV-Inkubation (B) ist der Übergang von Innerer Zellmasse zu Trophoblast weniger scharf. Vergrößerung: x100.

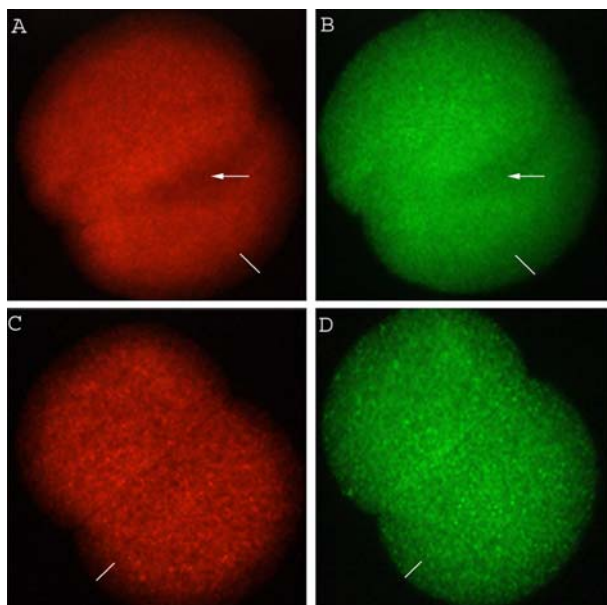


Abb. 10: 2-Zellstadium nach Entwicklung in vitro (19h p.c.). (A und C) PG2-, (B und D) MTC02-Inkubation; (A) und (B) Embryo I, (C) und (D) Embryo II. Die Embryonen zeigen einen Randsaum mit verringerter Reaktionsintensität (Balken) mit dem PG2-Antikörper (A), während die Reaktion mit dem MTC02-Antikörper über den Embryo gleichmäßig verteilt ist (B). Embryo I (A und B) zeigt mit beiden Antikörpern ein eher diffuses Reaktionsmuster, sowie an den Kontaktstellen der Blastomeren Bereiche verringerter Reaktionsintensität. Vergrößerung: x100.

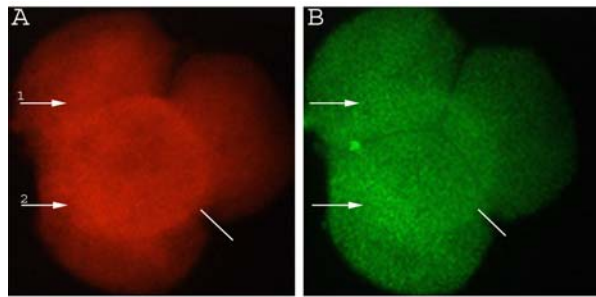


Abb. 11: 4-Zellstadium nach Entwicklung in vitro (19h p.c.). (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche höherer (Pfeil 1), und gleicher (Pfeil 2) PG2- (A) und MTC02- (B) Reaktionsintensität sowie einen Randsaum mit verringerter Reaktionsintensität (Balken) mit dem PG2-Antikörper. Vergrößerung: x100.

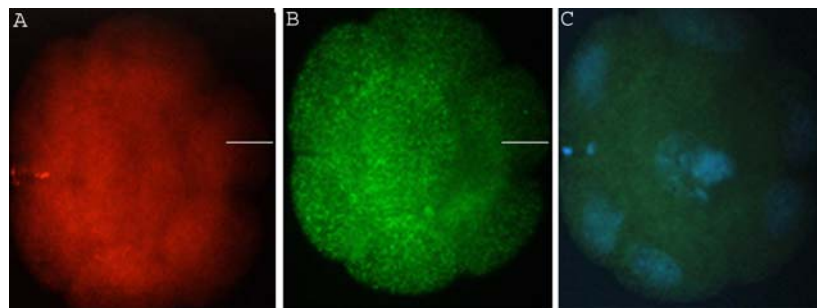


Abb. 12: 8-Zellstadium nach Entwicklung in vitro (19h p.c.). (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt einen Randsaum mit verringerter Reaktionsintensität (Balken) mit dem PG2-Antikörper. Vergrößerung: x100.

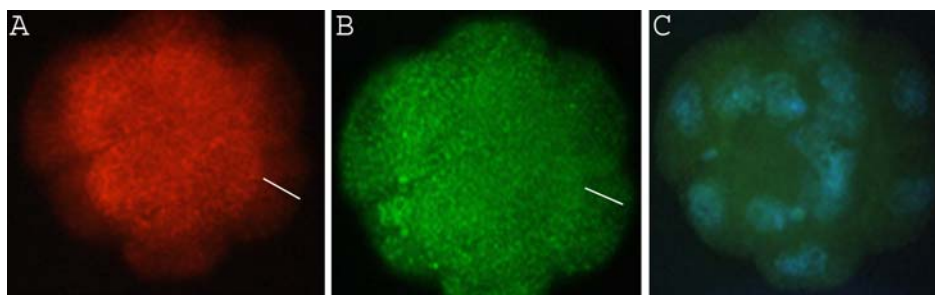


Abb. 13: 16-Zell-Stadium nach Entwicklung in vitro (19h p.c.). (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt einen Randsaum mit verringerter Reaktionsintensität (Balken) mit dem PG2-Antikörper. Vergrößerung: x100.

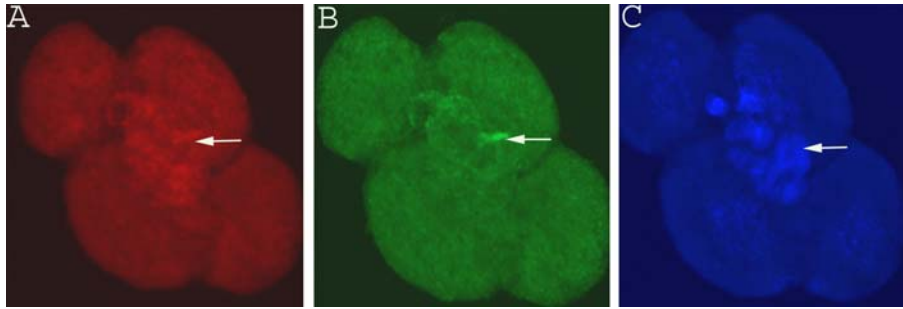


Abb. 14: 4-Zellstadium nach Kerntransfer mit Blastomeren. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Hoechst-Inkubation. Der Embryo zeigt mit dem PG2- (A) und dem MTC02- (B) Antikörper ein granuläres Reaktionsmuster bei allerdings stark erhöhter Belichtungszeit der Aufnahmen (A) u. (B) und in der Hoechst-Färbung (C) einen Bereich mit einer erhöhten Anzahl von für Blastomere ungewöhnlich kleinen Zellkernen (Pfeile). Vergrößerung: x100.

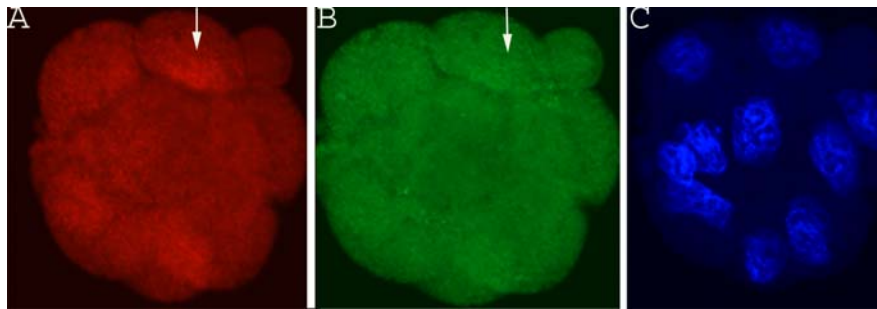


Abb. 15 16-Zellstadium nach Kerntransfer mit Blastomeren. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Hoechst-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche erhöhter Reaktionsintensität mit dem PG2-Antikörper (A) (Pfeile) und mit dem PG2- und dem MTC02- (B) Antikörper ein granuläres Reaktionsmuster. Vergrößerung: x100.

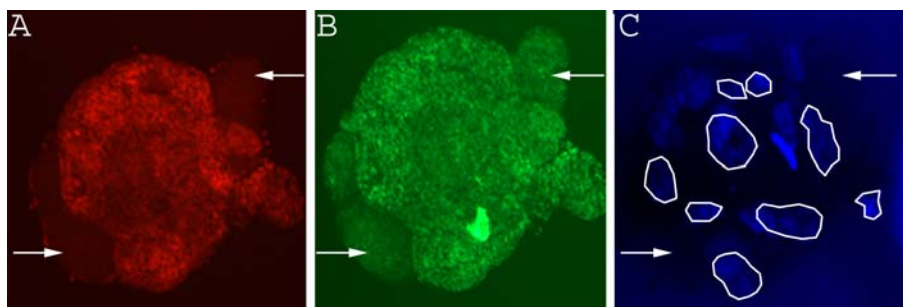


Abb. 16: Morula-Stadium nach Kerntransfer mit Blastomeren. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Hoechst-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche negativer PG2-Reaktionsintensität (A), die eine normale Reaktionsintensität mit dem MTC02-Antikörper (B) zeigen und in der Dapi-Färbung (C) keine Kerne aufweisen (Pfeile). In der Dapi-Färbung (C) erscheinen die Zellkerne in unterschiedlichen Größen (s. weiße Umrisslinien). Vergrößerung: 100x.

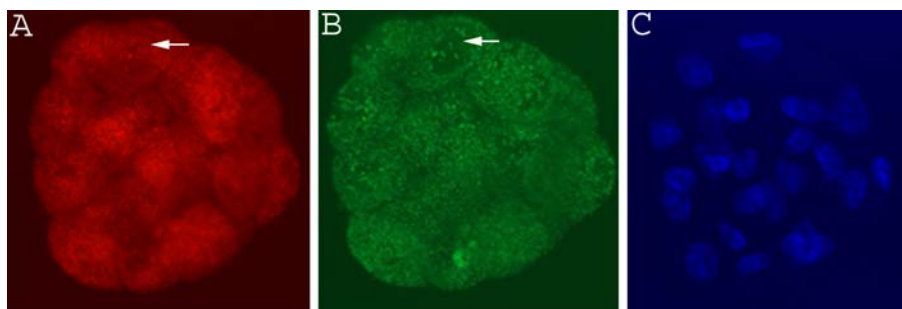


Abb. 17 : Morula-Stadium nach Kerntransfer mit Blastomeren. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Hoechst-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche, die eine negative Reaktionsintensität mit dem MTC02-Antikörper (B) aufweisen, während die Reaktion mit dem PG2-Antikörper (B) positiv ist (Pfeile). In vielen Fällen stimmen diese Bereiche mit der Ausdehnung von Zellkernen überein, die sich in der Hoechst-Färbung abzeichnen (C). Vergrößerung: x100.

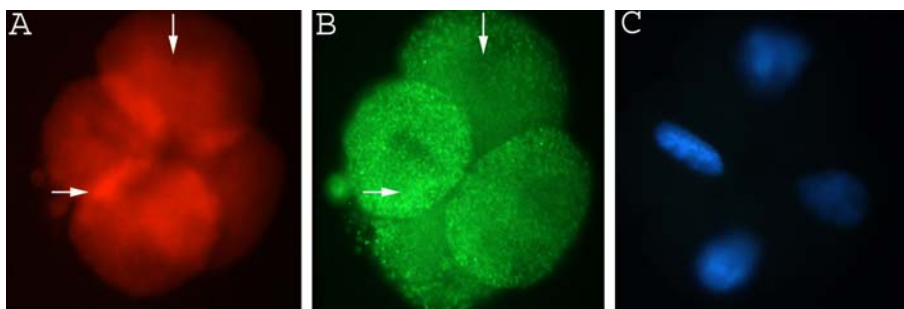


Abb. 18: 4-Zellstadium nach Kerntransfer mit fetalen Fibroblasten. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche stärkerer Reaktionsintensität mit beiden Antikörpern (horizontaler Pfeil) und unterschiedlicher Reaktionsintensität der Antikörper (vertikaler Pfeil). Vergrößerung: x100.

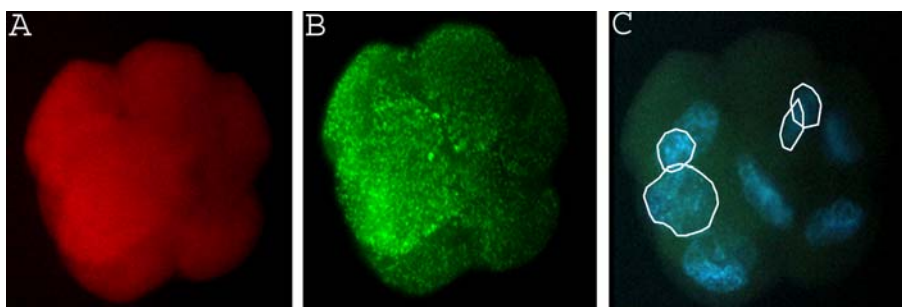


Abb. 19: 8-Zellstadium nach Kerntransfer mit fetalen Fibroblasten. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt in der Dapi-Färbung unterschiedliche Größen der Kerne (s. weiße Umrisslinien), mit dem PG2-Antikörper (A) ein diffuses Reaktionsmuster und mit dem MTC02-Antikörper (B) ein granuläres Reaktionsmuster. Vergrößerung: x100.

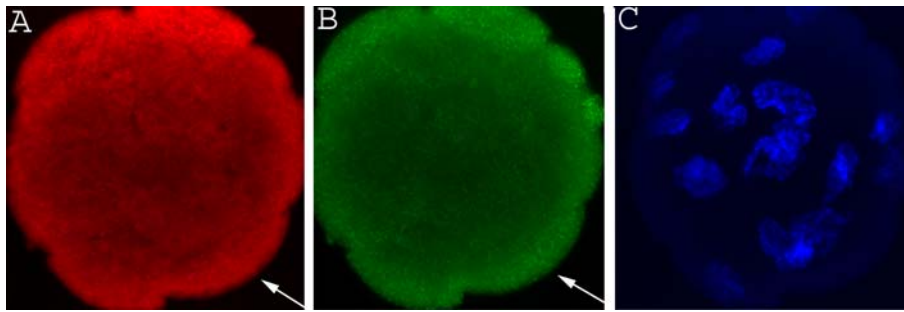


Abb. 20: 16-Zellstadium nach Kerntransfer mit fetalen Fibroblasten. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt einen Randsaum mit granulärem Reaktionsmuster (Pfeil) mit dem MTC02-Antikörper (B), während der PG2-Antikörper auch (A) in zentralen Bereichen eine starke Reaktion und durchweg ein weiter verbreitetes granuläres Reaktionsmuster zeigt. Vergrößerung: x100.

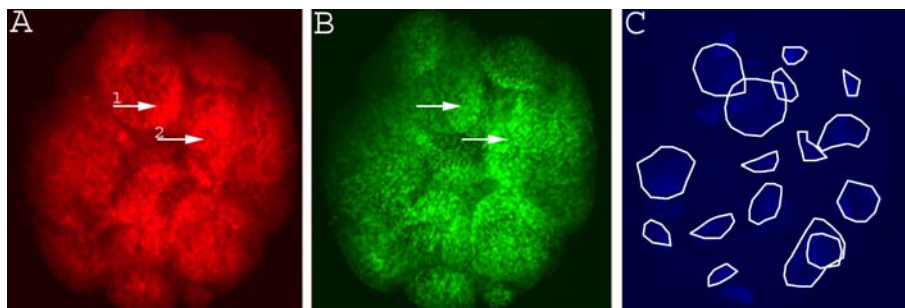


Abb.21: Morula-Stadium nach Kerntransfer mit fetalen Fibroblasten. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche erhöhter Reaktionsintensität mit dem PG2-Antikörper (A) (Pfeil1) und Bereiche gleicher Reaktionsintensität mit beiden Antikörpern (Pfeil 2), sowie in der Hoechst-Färbung (C) unterschiedliche Größen der Kerne (weiße Umrisslinien). Vergrößerung: x100.

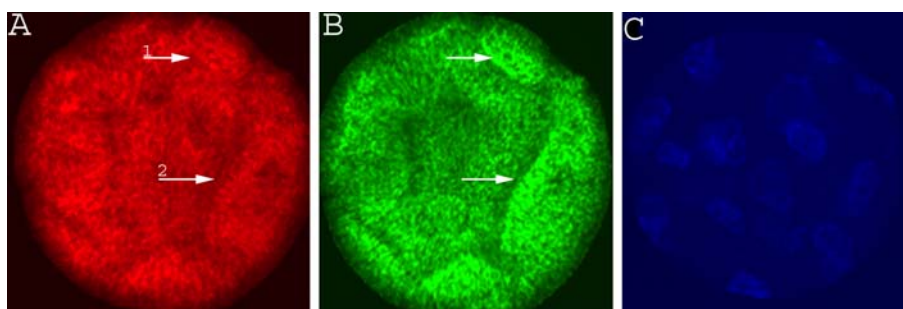


Abb. 22: Morula-Stadium nach Kerntransfer mit fetalen Fibroblasten. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Hoechst-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche unterschiedlicher Reaktionsintensitäten des PG2- (A) und MTC02- (B) Antikörpers (Pfeile). Vergrößerung: x100.

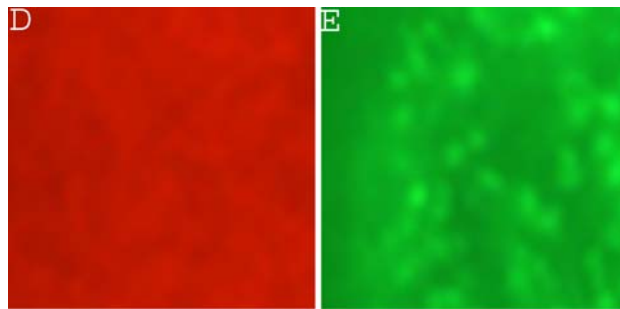
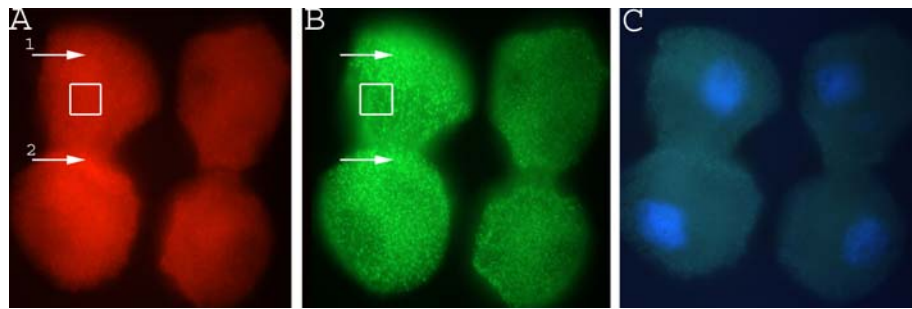


Abb. 23: 4-Zellstadium nach Kerntransfer mit Cumuluszellen. PG2- (A und D) und MTC02-Inkubation (B und E) bei schwacher (A und B) und starker Vergrößerung (D und E, Ausschnitt aus A und B), (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche erhöhter Reaktionsintensität mit dem MTC02-Antikörper (B) (Pfeil1) und Bereiche erhöhter Reaktionsintensität mit dem PG2-Antikörper (A) (Pfeil 2). Das Reaktionsmuster mit dem MTC02-Antikörper ist granulär und mit dem PG2-Antikörper diffus (D) und (E). Vergrößerung: (A) und (B) x100, (C) und (D) x8600.

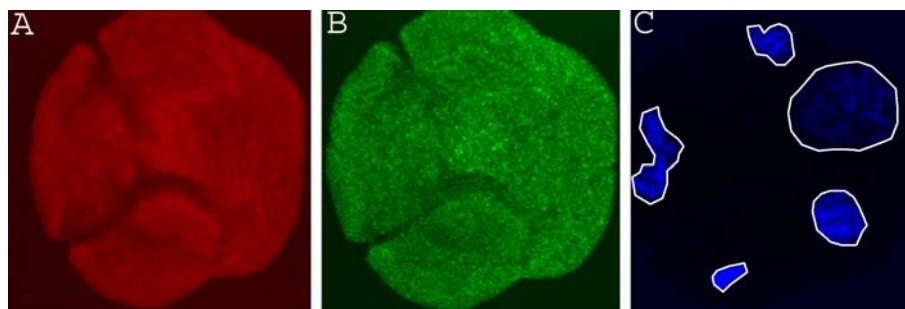


Abb. 24: 4-Zellstadium nach Kerntransfer mit Cumuluszellen. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Hoechst-Inkubation. Der Embryo zeigt in der Hoechst-Färbung unterschiedliche Größen der Kerne (weiße Umrisslinien). Das Reaktionsmuster mit dem PG2-Antikörper (A) zeigt sich diffus, mit dem MTC02-Antikörper (B) hingegen granulär.

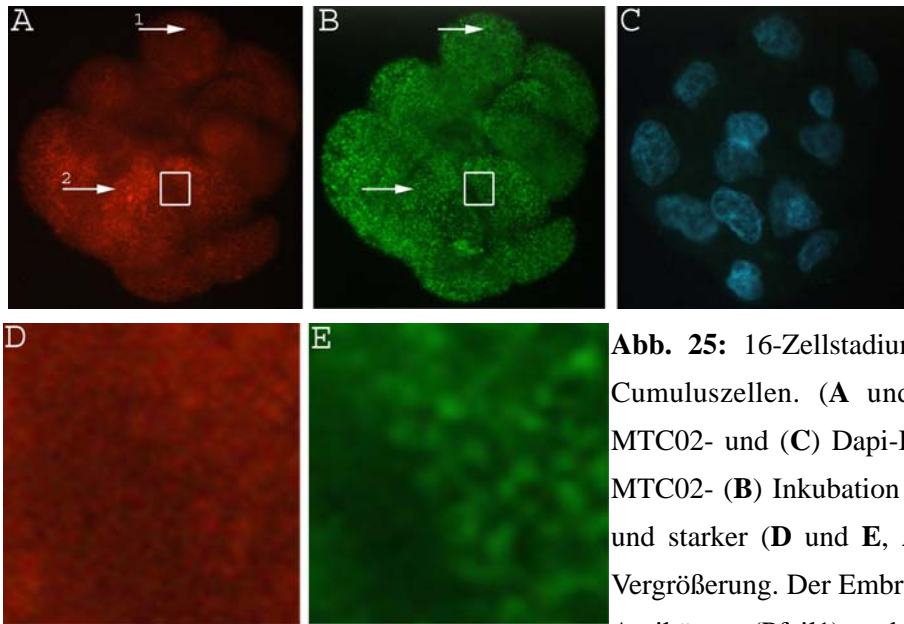


Abb. 25: 16-Zellstadium nach Kerntransfer mit Cumuluszellen. (A und D) PG2-, (B und E) MTC02- und (C) Dapi-Inkubation. PG2- (A) und MTC02- (B) Inkubation bei schwacher (A und B) und starker (D und E, Ausschnitt aus A und B) Vergrößerung. Der Embryo zeigt mit dem MTC02-Antikörper (Pfeil1) und mit dem PG2-Antikörper (Pfeil2) Bereiche stärkerer Reaktionsintensität. Das Reaktionsmuster mit beiden Antikörpern ist granulär (D und E). Vergrößerung: (A) und (B) x100, (C) und (D) x8500.

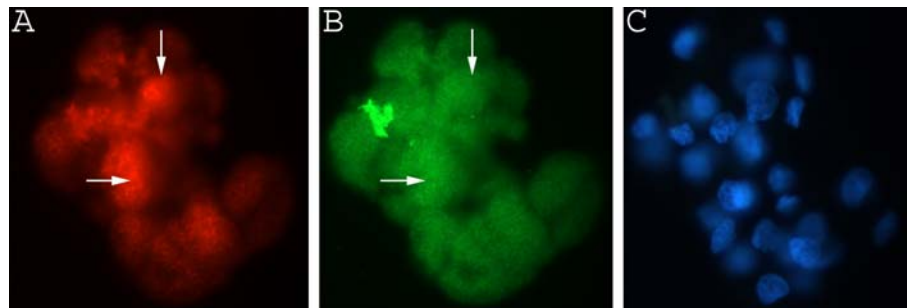


Abb. 26: Morula-Stadium nach Kerntransfer mit Cumuluszellen. (A) PG2-, (B) CoxIV-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche erhöhter Reaktionsintensität mit dem PG2-Antikörper (A) (Pfeile) und mit dem CoxIV-Antikörper (B) eine gleichmäßige Reaktionsintensität. Vergrößerung: x100.

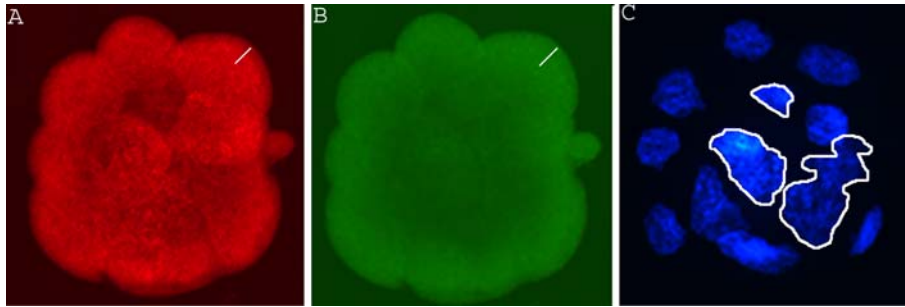


Abb. 27: Morula-Stadium parthenogenetischer Embryonen. (A) PG2-, (B) MTC02-, (C) Hoechst-Inkubation. Der Embryo zeigt mit dem MTC02-Antikörper (B) einen Randsaum mit granulärem Reaktionsmuster (Balken) bei diffusem Reaktionsmuster im Zentrum des Embryos, mit PG2-Antikörper (A) ein granuläres Reaktionsmuster im ganzen Embryo. In der Hoechst-Färbung zeigen sich unterschiedliche Kerngrößen (weiße Umrisslinien). Vergrößerung: x100.

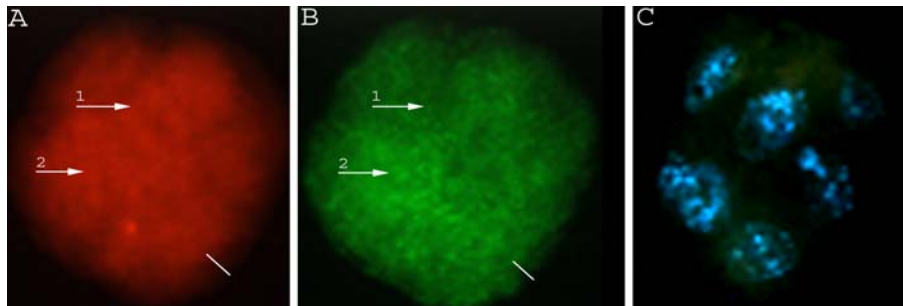


Abb. 28: 6-Zellstadium nach α -Amanitinbehandlung. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche erhöhter Reaktionsintensität mit dem PG2-Antikörper (A) (Pfeil1) und dem MTC02-Antikörper (B) (Pfeil2) und einen Randsaum schwächerer Reaktionsintensität mit dem PG2-Antikörper (Balken). Das Reaktionsmuster mit dem MTC02-Antikörper (B) ist granulär, während das des PG2-Antikörpers (A) grobgranulär bis diffus erscheint. Vergrößerung: x100.

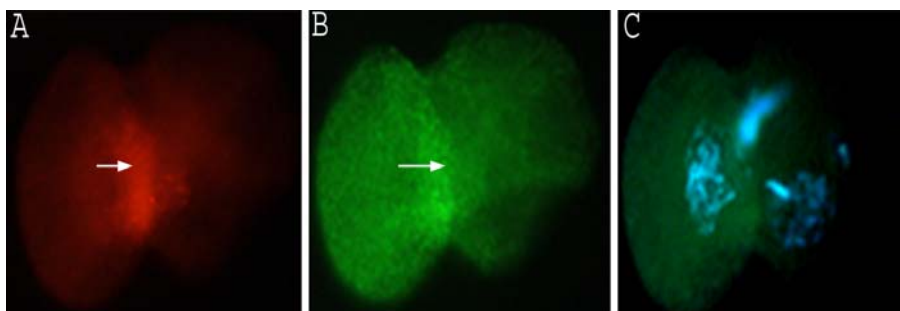


Abb. 29: 2-Zellstadium nach Actinomycin-D-Behandlung. (A) PG2-, (B) MTC02-Inkubation, (C) Dapi-Inkubation. Der Embryo zeigt Bereiche erhöhter Reaktionsintensität mit beiden Antikörpern (Pfeile). Das Reaktionsmuster mit dem MTC02-Antikörper (B) ist granulär, während das des PG2-Antikörpers (A) diffus erscheint. Vergrößerung: x100.