

ISSN 0341-5929

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

MEDIZIN

SERIE 7 · NUMMER 2 · 1987

FILM C 1624

**Interzelluläre Kommunikation
über Gap junctions**



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm., deutsch oder engl.), 16 mm, farbig, 113 m, 10½ min (24 B/s). Hergestellt 1985/86, veröffentlicht 1987.

Der Film ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt.

Aus der Abteilung Biophysik des Biologischen Instituts der Universität Stuttgart, Prof. Dr. D.F. HÜLSER, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. G. KERLEN; Kamera: C. GOEMANN, J. KAEDING; Schnitt: C. GOEMANN; Zeichentrickherstellung: Atlantik Film, Hamburg.

Zitierform:

HÜLSER, D.F., und INST. WISS. FILM: Interzelluläre Kommunikation über Gap junctions. Film C 1624 des IWF, Göttingen 1987. Publikation von D.F. HÜLSER, Publ. Wiss. Film., Sekt. Med., Ser. 7, Nr. 2/C 1624 (1987), 12 S.

Anschrift des Verfassers der Publikation:

Prof. Dr. D.F. HÜLSER, Biologisches Institut, Abteilung Biophysik, Universität Stuttgart, Ulmer Str. 227, D-7000 Stuttgart 60.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion MEDIZIN

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Sektion PSYCHOLOGIE · PÄDAGOGIK

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

NATURWISSENSCHAFTEN

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 werden.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen
Tel. (05 51) 20 22 04

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

DIETER F. HÜLSER, Stuttgart, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM,
Göttingen:

Film C 1624

Interzelluläre Kommunikation über Gap junctions

Verfasser der Publikation: DIETER F. HÜLSER

Mit 5 Abbildungen

Inhalt des Films:

Interzelluläre Kommunikation über Gap junctions. Gap junctions dienen der Informationsübertragung in Geweben und Organen tierischer Herkunft. Sie bestehen aus Ansammlungen feiner Kanälchen, die einen direkten Kontakt zwischen benachbarten Zellen herstellen und so eine schnelle Nachrichtenübermittlung zulassen.

Darstellung des Aufbaus einer Gap junction in Trick- und EM-Aufnahmen.

Nachweis der Kopplung von Zellen durch Injektion und Ausbreitung des Fluoreszenzfarbstoffs Lucifer yellow und durch Übertragung elektrischer Signale.

Summary of the Film:

Intercellular Communication Via Gap Junctions. Gap junctions provide a path for information transfer in animal tissues and organs. They are formed by assembled proteinaceous channels which establish a direct cell-to-cell contact and thus enable a rapid spreading of signals.

Presentation of structure and organization of a gap junction by trick- and electronmicroscopical pictures. Demonstration of intercellular coupling by injection and spreading of the fluorescent dye Lucifer yellow as well as by transfer of electrical signals.

Résumé du Film:

Communication intercellulaire par Gap junctions. Gap junctions servent au transfert d'informations dans les tissus et organes d'origine animale. Elles consistent en l'accumulation de fins petits canaux qui établissent un contact direct entre les cellules voisines et permettent ainsi une transmission rapide de signaux.

La structure d'une Gap junction est donnée par truquage photographique et par images de microscopie électronique.

Mise en évidence du couplage de cellules par injection et distribution du colorant fluorescent "Lucifer yellow" et par transmission de signaux électriques.

Allgemeine Vorbemerkungen

Zellen in tierischen Geweben oder Organen werden durch verschiedenartige interzelluläre Verbindungen mechanisch zusammengehalten: Desmosomen verankern die Zellen so miteinander, daß strukturelle und funktionelle Einheiten entstehen; Tight junctions verkleben die Membranen benachbarter Epithelzellen so dicht, daß keine Moleküle zwischen den Zellen hindurchschlüpfen können, und daß eine funktionelle Trennung der oberen (apikalen) und unteren (basolateralen) Zelloberflächen bewirkt wird; Gap junctions verbinden benachbarte Zellen nicht nur mechanisch, sondern auch metabolisch und elektrisch.

Diese Verknüpfung einzelner Zellen untereinander durch leitende Kanäle ist ein wichtiger Schritt während der Entwicklung hochdifferenzierter vielzelliger Organismen. Lange vor der Ausbildung des Nerven- oder Hormonsystems in einem Embryo können die Zellen schon miteinander über feine, proteinausgekleidete Kanäle kommunizieren (GRIEPP und REVEL [4]). Über diese direkte Zell-zu-Zell-Kopplung tauschen die Zellen aber auch Moleküle aus, die für ihr Wachstum benötigt werden.

Im Gegensatz zu den Desmosomen und Tight junctions werden die Gap junctions häufig auch in Zellkulturen ausgebildet, die nur in einer Ebene wachsen, nämlich auf dem Boden von Kulturgefäßen aus Glas oder Plastik. Diese Monolayer Kulturen erleichtern die Untersuchung der Eigenschaften von Gap junctions erheblich, da sie eine eingehende mikroskopische Kontrolle ermöglichen. So läßt sich die sog. metabolische Kooperation mit autoradiographischen Methoden besonders gut an Zellkulturen nachweisen, wo enzymdefekte Zellen nur in engem Kontakt mit Zellen überleben, die dieses Enzym produzieren können (SUBAK-SHARPE et al. [15]).

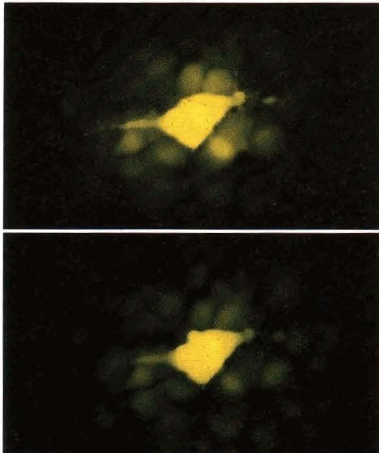


Abb. 1. Interzelluläre Ausbreitung des Fluoreszenzfarbstoffes Lucifer yellow in Brusttumorzellen der Marshall Ratte (BICR/ M1R-k). 30 s Puls mit 20 nA Gleichstrom. Oben 15 s, unten 75 s nach Beendigung der Injektion. Auflichtfluoreszenz-Aufnahmen

In vielen Fällen kennt man jedoch die Signale nicht, mit denen die Zellen untereinander in Kontakt stehen. Zum Nachweis der interzellulären Kommunikation behilft man sich daher mit der intrazellulären Injektion von Ionen oder Molekülen und der Beobachtung ihrer Ausbreitung in benachbarte Zellen. Durch Mikropipetten (Spitzendurchmesser $< 0,5 \mu\text{m}$) läßt sich der Fluoreszenzfarbstoff Lucifer yellow iontophoretisch in eine Zelle injizieren. Sind die Zellen über Gap-junction-Kanäle miteinander verbunden, dann diffundiert in der Regel auch dieses zellfremde Molekül von Zelle zu Zelle. In Abb. 1 ist diese Ausbreitung an einer Monolayer Kultur eines Mammakarzinoms der Marshall Ratte (BICR/MIR-k) dargestellt. Diese Kopplung (HÜLSER und WEBB [7]) läßt sich auch durch die Ausbreitung von aufgezwungenen Strompulsen nachweisen, wie dies in Abb. 2 gezeigt ist.

Allerdings gibt es auch Tumorzellen, die keine Gap junctions ausbilden, beispielsweise die menschlichen Cervixkarzinom-Zellen (HeLa), die einen elektrischen Puls nicht in benachbarte Zellen weiterleiten (Abb. 3). In diesen HeLa Zellen wird daher auch der Farbstoff in der injizierten Zelle zurückgehalten.

Elektronenmikroskopische und elektrophysiologische Untersuchungen haben schon seit längerem die Zuordnung zwischen Membranzmorphologie und funktionellen Membraneigenschaften gesichert (GILULA et al. [3]; HÜLSER und DEMSEY [6]). Mit Hilfe moderner Schnelleinfriermethoden ist erst kürzlich eine Unterscheidung zwischen aktiven (Abb. 4a) und nicht aktiven (Abb. 4b) Gap-junctions-Arealen möglich geworden (MÜLLER et al. [9]). Dies bleibt auf Dünnschnitten im Elektronenmikroskop unentdeckt (Abb. 5), da hierfür die Zellen stets fixiert werden, was zwangsläufig zu einer permanenten Schließung der Gap-junction-Poren führt.

Durch Röntgenstrukturanalysen sowie elektronenmikroskopische und elektrophysiologische Untersuchungen ist es gelungen, den einzelnen Gap-junction-Kanal näher zu charakterisieren. Entsprechende physikalische Parameter sind in Tabelle 1 aufgelistet. Biochemische Analysen haben zwar zu einer weitgehenden Aufklärung der Aminosäuresequenz des Gap-junction-Proteins geführt (PAUL [10]), haben aber noch keine endgültige Klarheit über die Größe der Kanalbausteine gebracht (16k-Protein: FINBOW et al. [2]; 21k-Protein und 26k-Protein: TRAUB et al. [16]; 27k-Protein: HENDERSON et al. [5]).

Tabelle 1: Zusammenfassung einiger Daten zum Gap-junction-Kanal.

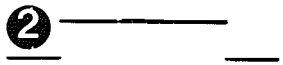
Innerer Kanaldurchmesser	1,5 nm	MAKOWSKI et al. ([8])
Äußerer Kanaldurchmesser	6,5 nm	MAKOWSKI et al. ([8])
Länge des Halbkanals	7 – 8 nm	MAKOWSKI et al. ([8])
Dicke der Membran	5 nm	SINGER und NICOLSON ([14])
Lücke (gap) zwischen den Zellen	3 nm	REVEL und KARNOVSKY ([11])
Leitfähigkeit des Zytoplasmas	$0,015 \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$	FRANK und HÜLSER (unveröffentlicht)
Leitfähigkeit des Halbkanals		
indirekte Berechnung	400 pS	diese Daten
indirekte Messung	100 pS	SHERIDAN et al. ([13])
direkte (patch clamp) Messung	340 pS	SCHWARZE und KOLB ([12]) PASCHKE (unveröffentlicht)
mit stabilen Unterzuständen bei	270 pS	
	210 pS	
	160 pS	



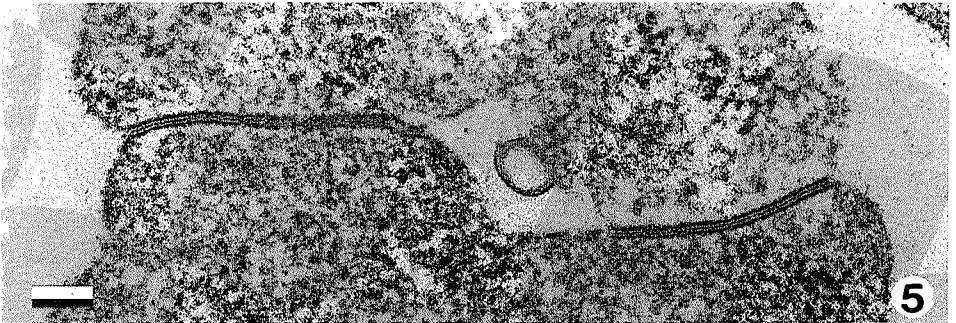
Antwort
in Zelle 2



Antwort
in Zelle 1



Strompuls
in Zelle 1



Das Fehlen von Gap junctions ist zwar manchmal bei Tumorzellen zu beobachten, es ist jedoch keine notwendige Voraussetzung für malignes Wachstum. So haben neueste Untersuchungen ergeben, daß Tumorzellen mit Gap junctions besonders leicht in normales Gewebe eindringen können, während Tumorzellen ohne Gap junctions daran gehindert werden (BRÄUNER und HÜLSER [1]). Die invasiven Tumorzellen koppeln sich dabei über Gap junctions an die Zellen des normalen Gewebes, in welchem sie sich wie Parasiten kräftig vermehren und es dabei zerstören.

Danksagung

Für die Mitarbeit bei der Herstellung des Films danke ich Frau BEATE REHKOPF, Dipl. Biol. THOMAS BRÄUNER und Dipl. Biol. FRANZ BRÜMMER.

Erläuterungen zum Film

Wortlaut des gesprochenen Kommentars

Zellen sind Bausteine von Geweben oder Organen. Wie werden zwischen ihnen Informationen weitergeleitet, die für die Koordination lebenswichtiger Funktionen sorgen?

Hier eine Kultur synchron schlagender Herzzellen. Ihre rhythmischen Kontraktionen werden durch einen Ionenstrom gesteuert, der sowohl über die Membranen als auch über Kanälchen direkt von Zelle zu Zelle fließt. Diese submikroskopisch kleinen Kanälchen ordnen sich meist zu charakteristischen Aggregationen in den Plasmamembranen an und werden Gap junctions genannt.

Plasmamembranen tierischer Zellen bestehen aus Lipiddoppelschichten, durchsetzt mit freibeweglichen Proteinen. Kanalbausteine gehören zu diesen Proteinen. Sie lagern sich unter geeigneten Bedingungen aneinander an und bilden so einen zunächst geschlossenen Gap-junction-Halbkanal, das Connexon. Dessen extrazelluläre Seite kann mit einem Connexon einer benachbarten Zelle eine stabile Verbindung eingehen, was beide Zellen punktuell bis auf 3 nm aneinanderbringt.

Nach und nach lagern sich weitere Connexone an und heften die beiden Zellen wie mit Druckknöpfen aneinander.

Abb. 2. Injektion eines 25 nA Strompulses (Dauer 30 ms, untere Spur) in eine Brusttumorzelle der Marshall Ratte (BICR/M1R-k) und die mit dem Membranpotential registrierte Antwort in derselben (mittleren Spur) und in einer benachbarten Zelle (obere Spur)

Abb. 3. Injektion eines 15 nA Strompulses (Dauer 30 ms, untere Spur) in eine menschliche Cervixkarzinomzelle (HeLa) und die mit dem Membranpotential registrierte Antwort in derselben Zelle (mittlere Spur). Benachbarte Zellen sind nicht angekoppelt (obere Spur)

Abb. 4. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Gap-junction-Arealen zwischen Brusttumorzellen der Marshall Ratte (BICR/M1R-k). Gefrierbruchpräparation.

a. fixiertes Zellmaterial, nicht-aktive Gap junction.

b. unfixiertes Zellmaterial, aktive Gap junction.

Maßstab: 100 nm

Abb. 5. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünnschnitts durch die Ausläufer zweier benachbarter Brusttumorzellen der Marshall Ratte (BICR/M1R-k), die mit einer Gap junction verbunden sind. Maßstab: 100 nm

Eine funktionsfähige Gap junction, hier von schräg oben gesehen, setzt sich aus bis zu mehreren tausend Connexonen zusammen.

Erst jetzt öffnen sich die Connexone und bilden Kanälchen, um Signale von einer Zelle zur anderen durchzulassen. Sie öffnen sich jedoch nicht alle gleichzeitig, sondern wechseln zwischen geschlossenen und verschiedenen weit geöffneten Zuständen. Dadurch kann nicht nur der Signalfluß variiert werden, sondern es ist auch aufgrund der unterschiedlichen Größe der durchtretenden Moleküle eine Übermittlung verschiedenster Nachrichten möglich.

Die maximale Öffnung eines Connexons hat einen Durchmesser von ca. 1,5 nm, was den Austausch von Partikeln mit einem Molekulargewicht bis zu 900 Dalton zuläßt.

Elektronenmikroskopisch ist die Öffnung der Connexone nicht zu erkennen, die Connexon-Anordnung läßt sich jedoch durch Brechen tiefgefrorener Zellen im Hochvakuum darstellen. Da die Lippiddoppelschicht wie eine Sollbruchstelle wirkt, verlaufen die Bruchflächen fast immer innerhalb der Zellmembranen, so daß die inneren Membranschichten freigelegt werden. Dabei bleiben die Connexone in der plasmatischen Schicht stecken, während die äußere Schicht durch die Löcher der herausgezogenen Proteine charakterisiert ist. Durch Schrägbedampfung mit Platin werden diese Strukturen als Erhebungen und Vertiefungen plastisch hervorgehoben. Zur Stabilisierung der Platinschicht wird von oben ein Kohlefilm aufgedampft. Im Anhydrid der Chromsäure werden die Zellreste abgelöst. Nur der Platin-Kohle-Abdruck bleibt bestehen und kann im Elektronenmikroskop abgebildet werden.

Diese Gap junction zeigt links den Abdruck einer plasmatischen Membranschicht mit den Löchern herauszogener Connexone einer angekoppelten Zelle. Solche interzellulären Verbindungen lassen sich nicht nur elektronenmikroskopisch, sondern auch elektrophysiologisch nachweisen. Dazu benötigt man Glasmikropipetten. Diese stellt man aus 1 mm dicken Glaskapillaren her, die in einer Glühwendel langsam erhitzt und ruckartig auseinandergezogen werden. Mit ihrer Hilfe lassen sich in Kulturen, wie hier in Brusttumorzellen der Marshall-Ratte, geöffnete Gap junctions nachweisen.

Im Phasenkontrast wird eine mit fluoreszierendem Farbstoff gefüllte Mikropipette in eine Zelle des Zellrasens eingestochen. Nach Umschalten auf UV-Licht ist nur noch die Mikropipette zu erkennen, aus der die Injektion des Farbstoffs in die angestochene Zelle durch Anlegen einer negativen Gleichspannung erfolgt. Auch nach Abschalten der Injektionsspannung und Herausziehen der Mikropipette breitet sich die Fluoreszenz weiter in die benachbarten Zellen aus. Der hier verwendete Farbstoff Lucifer yellow hat ein Molekulargewicht von 457 Dalton und kann daher rasch über die Gap-junction-Kanälchen in benachbarte Zellen diffundieren. Die Zellkerne fluoreszieren stets heller als das Cytoplasma. Die Überblendung zurück in den Phasenkontrast verdeutlicht dies und bringt die Anordnung der Zellen noch einmal in Erinnerung.

Das gleiche Experiment wird jetzt mit einer Kultur epithelioid wachsender HeLa Zellen durchgeführt. Diese Zellen entstammen einem menschlichen Gebärmutterhalskrebs. Wiederum wird für etwa 10 s in eine Zelle Lucifer yellow injiziert und die Mikropipette wieder zurückgezogen. Im Gegensatz zu den Brusttumorzellen breitet sich hier der Farbstoff auch nach längerer Beobachtungszeit nicht in andere Zellen aus. Das Fehlen der

direkten interzellulären Kommunikation belegen auch elektronenmikroskopische Untersuchungen, die keinen Hinweis auf Gap junctions zwischen HeLa Zellen ergaben. Die Überblendung in den Phasenkontrast zeigt nochmals den engen Kontakt dieser HeLa Zellen, der aber nicht notwendigerweise den Aufbau interzellulärer Kanälchen zur Folge hat.

Der Kopplungsgrad läßt sich quantitativ erfassen, indem den Zellen ein künstliches elektrisches Signal aufgezwungen wird. Dazu benutzt man elektrolytgefüllte Mikropipetten, sogenannte Mikroelektroden, die unter mikroskopischer Kontrolle eingestochen werden. Mechanisch oder elektrisch gesteuerte Mikromanipulatoren ermöglichen eine exakte Führung der Elektroden. Die stromführende ist hier bereits in einer Brusttumorzelle plaziert, zwei weitere werden in dieselbe und in eine benachbarte Zelle zur Membranpotentialmessung eingestochen.

Das Meßergebnis kann auf vielfältige Weise registriert werden. Beispielsweise mit einem Schreiber, wo die den Membranpotentialen überlagerten Antworten ebenso aufgezeichnet werden wie die injizierten Stromsignale. Signale von Millisekunden-Länge registriert man mit dem Oszilloskop. Die beiden oberen Spuren werden nach dem Anstecken der beteiligten Zellen proportional zum Membranpotential ausgelenkt.

Die untere Spur zeigt jetzt die injizierten rechteckigen Stromsignale, und die Antwort der beiden Zellen kann mit ihren Membranpotentialen abgelesen werden.

Experimente mit enzymdefekten und normalen Zellen haben ergeben, daß für das Zellwachstum notwendige Metabolite und Nukleotide über die Gap junctions ausgetauscht werden können. Ferner gibt es Hinweise, daß sowohl bei der embryonalen Entwicklung als auch bei der malignen Entartung von Zellen diese interzelluläre Kommunikation beteiligt ist. Welche Signale von Zelle zu Zelle auf diesem Wege weitergegeben werden, wissen wir nur für ganz wenige Systeme, beispielsweise für die zu Beginn gezeigten Herzzellen. Wie hier mit Lucifer yellow wird daher die Funktion der Gap junctions und der durch sie gesteuerte interzelluläre Signalfluß bisher noch überwiegend mit künstlich aufgezwungenen Signalen untersucht.

English Version of the Spoken Commentary

Cells are the components of tissues and organs. How do they exchange information which is required for the coordination of vital functions?

This is a culture of synchronously beating heart cells. Frequency and amplitude of their rhythmical contractions are regulated by an ionic current spreading directly from cell to cell via minute channels. These intercellular channels aggregate to characteristic plaques in the plasma membranes and are called gap junctions.

Plasma membranes of animal cells are lipid bilayers in which proteins form a fluid mosaic. Subunits of channels belong to these proteins. They may bind to each other and thus form a closed gap junction hemi-channel, the connexon. Its extracellular part binds to a connexon of an adjacent cell, resulting in a stable intercellular connection and a 3 nm gap between the lipid bilayers. More and more connexons are linked together and connect the cells in a press-fastener mode.

A functional gap junction – here in an oblique view – contains up to several thousand connexons.

Now the channels open and allow the passage of signals from one cell to another. However, they do not open simultaneously, but alternate independently between closed and different open-states. Thus, not only the flux of the signal can be varied, but also a selected transfer of information is made possible, as is indicated by the different size of the passing molecules.

The maximal bore size of a connexon is about 1.5 nm thus particles of a molecular weight of up to 900 dalton can be exchanged.

The inner hole of the connexons can not be seen under the electron microscope, their arrangement, however, becomes obvious after freeze fracturing of the cell under high vacuum. As the lipid bilayer has the effect of a preset breaking line, the fracture almost invariably occurs within the cell membranes and exposes the inner membrane leaflets. The connexons stick to the plasma face of the membrane, whereas the external face is characterized by pit lefts by the extracted connexons.

By shadowing with evaporated platinum these structures are displayed as a relief. This is stabilized by coating with a carbon film. In anhydride of chromic acid the cellular material is dissolved. Only the platinum carbon replica remains and can be portrayed in an electron microscope.

This picture of a replicated gap junction shows on its left the plasma face of a membrane with connexons and on its right an adjacent cell with its external membrane face and pits of the extracted connexons. Such intercellular junctions are not only demonstrated by electronmicroscopical but also by electrophysiological methods. Glass-micropipettes are used here. These are fabricated out of 1 mm glass-capillaries, which are slowly softened in a heating coil and quickly pulled apart.

In this culture of mammary tumor cells of the Marshall rat open gap junctions will be demonstrated. Under phase contrast a micropipette, filled with a fluorescent dye, is inserted into a cell of the monolayer. After switching to UV-illumination only the micropipette is visible. The injection of dye into the impaled cell is performed by a negative current pulse. After finishing the injection and withdrawing the micropipette the fluorescence still spreads into neighbouring cells. The dye used here is Lucifer yellow, which has a molecular weight of 457 and therefore rapidly diffuses via gap junctions into other cells of the monolayer. The nuclei always fluoresce brighter than the cytoplasm. This is elucidated by resuming the phase contrast illumination, which furthermore, reminds one of the arrangement of the cells.

The same experiment is now performed with a culture of epithelioid growing HeLa cells. These cells originate from a human cervix carcinoma. Again a cell is injected with Lucifer yellow for about 10 seconds and the micropipette withdrawn. In contrast to the mammary tumor cells the dye does not spread into other cells regardless of how long the situation is observed. The absence of a direct intercellular communication is verified by electronmicroscopical investigations, which showed the lack of gap junctions between HeLa cells. Resuming the phase contrast illumination reminds one of the close contact between these HeLa cells, which, however, must not necessarily be accompanied by the formation of intercellular connexons.

The degree of coupling can be measured quantitatively by injecting an artificial electrical signal into the cells. For this purpose an electrolyte-filled micropipette, a so-called micro-

electrode, is inserted under microscopical control. Mechanically or electrically controlled micromanipulators facilitate a precise steering of the electrodes. Here the one for the current injection is already placed in a cell of the mammary tumor, two others are inserted in the same and in an adjacent cell for measurements of the membrane potentials.

The result can be registered by different recording devices. For instance by a strip chart recorder, where the membrane potentials with the superimposed responses of the cells are registered as well as the injected current pulses. Pulses of milliseconds-duration are observed with an oscilloscope. The two upper traces are displaced proportionally to the membrane potentials of the impaled cells. The lower trace now gives a replica of the injected rectangular current pulses and the response of the two cells is shown together with their membrane potentials.

Experiments with normal and mutant cells revealed an intercellular exchange of metabolites and nucleotides via gap junctions. Furthermore, it has been found that not only for the embryonic development but also for the malignant degeneration of cells the direct intercellular communication is involved. The nature of the signals which are transferred from cell to cell is known only in a few systems, for instance in the heart cells which were presented at the start of this film. The function of gap junctions and their regulation of the intercellular signal transfer is, therefore, studied mainly with exogenously generated signals, as is shown here again for Lucifer yellow.

Literatur

- [1] BRÄUNER, T., und D.F. HÜLSER: Intercellular Communication and Invasiveness of Malignant Cells in a Threedimensional Culture System. *Eur. J. Cell Biol.* **42** (Suppl. 15), (1986), 44.
- [2] FINBOW, M.E., J. SHUTTLEWORTH, A.E. HAMILTON, and J.D. PITTS: Analysis of vertebrate gap junction protein. *EMBO J.* **2** (1983), 1479–1486.
- [3] GILULA, N.B., O.R. REEVES, and A. STEINBACH: Metabolic coupling, ionic coupling and cell contact. *Nature* (London) **235** (1972), 262–265.
- [4] GRIEPP, E.B., and J.-P. REVEL: Gap Junctions in Development. In: *Intercellular Communication*, p 1–32, ed.: W.C. DE MELLO, Plenum Press, New York 1977.
- [5] HENDERSON, D., H. EIBL, and K. WEBER: Structure and biochemistry of mouse hepatic gap junctions. *J. Mol. Biol.* **132** (1979), 193–218.
- [6] HÜLSER, D.F., and A. DEMSEY: Gap and Low-Resistance Junctions between Cells in Culture. *Z. Naturforsch.* **28c** (1973), 603–606.
- [7] HÜLSER, D.F., and D.J. WEBB: Relation between ionic coupling and morphology of established cells in culture. *Exp. Cell Res.* **80** (1973), 210–222.
- [8] MAKOWSKI, L., D.L.D. CASPAR, W.C. PHILLIPS, and D.A. GOODENOUGH: Gap Junction Structures. II. Analysis of the X-Ray Diffraction Data. *J. Cell Biol.* **74** (1977), 629–645.
- [9] MÜLLER, A., E.W. BLANZ, G. LAUB, and D.F. HÜLSER: Pattern analysis of gap junction plaques with open and closed pores. *Studia biophysica* **110** (1985), 185–192.
- [10] PAUL, D.L.: Molecular Cloning of cDNA for Rat Liver Gap Junction Protein. *J. Cell Biol.* **103** (1986), 123–134.

- [11] REVEL, J.-P., and M.J. KARNOVSKY: Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. *J. Cell Biol.* **33** (1967), c7.
- [12] SCHWARZE, W., and H.-A. KOLB: Voltage-dependent kinetics of an anionic channel of large unit conductance in macrophages and myotube membranes. *Pflügers Archiv* **402** (1984), 281–291.
- [13] SHERIDAN, J.D., M. HAMMER-WILSON, D. PREUS, and R.G. JOHNSON: Quantitative Analysis of Low-Resistance Junctions between Cultured Cells and Correlation with Gap-Junctional Areas. *J. Cell Biol.* **76** (1978), 532–544.
- [14] SINGER, S.J., and G. NICOLSON: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science (Wash. D.C.)* **175** (1972), 720–731.
- [15] SUBAK-SHARPE, J.H., R.R. BÜRK, and J.D. PITTS: Metabolic cooperation between biochemically marked cells in tissue culture. *J. Cell Sci.* **4** (1969), 353–367.
- [16] TRAUB, O., U. JANSSEN-TIMMEN, P.M. DRÜGE, R. DERMIETZEL, and K. WILLECKE: Immunological Properties of Gap Junction Protein from Mouse Liver. *J. Cell. Biochem.* **19** (1982), 27–44.

Abbildungsnachweis

Abb. 1–3: D.F. HÜLSER; Abb. 4: A. MÜLLER; Abb. 5: TH. BRÄUNER.