

PL ISSN 0324 - 833X

**POLSKIE  
TOWARZYSTWO  
ANATOMICZNE**

**TOM 7 - NR 1  
1980 (1-52)**

# **Postępy Biologii Komórki**

**PWN - WARSZAWA**

<http://rcin.org.pl>

Kwartalnik  
Polskiego Towarzystwa Anatomicznego  
wydawany z pomocą finansową  
Polskiej Akademii Nauk

Redaguje Kolegium

Jerzy KAWIAK, Wincenty KILARSKI, Jan MICHEJDA, Maria OLSZEWSKA

Komitet Redakcyjny

Jadwiga ACKERMAN, Leszek CIECIURA, Antoni HORST, Jerzy KAWIAK,  
Wincenty KILARSKI, Jan MICHEJDA, Maria OLSZEWSKA,  
Stanisław ZAWISTOWSKI

Adres Redakcji

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego,  
ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa

---

Państwowe Wydawnictwo Naukowe — Oddział we Wrocławiu

Nakład 577 + 113 egz. Ark. wyd. 4. Ark. druk. 3,25. Papier druk. sat. III kl. 80 g, 70 × 100 cm.  
Oddano do składania w listopadzie 1979 r. Podpisano do druku w lutym 1980 r. Druk ukoń-  
czono w lutym 1980 r. Zam. 1162/79. Cena zł 20.—

Wrocławska Drukarnia Naukowa, Wrocław, ul. Lelewela 4

AKTYWNOŚĆ NUKLEOLITYCZNA PLAZMOLEMY KOMÓREK  
SSAKÓW

## NUCLEOLYTIC ACTIVITY OF THE MAMMALIAN CELLS PLASMA MEMBRANES

Teresa SAWICKA

Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

*Streszczenie.* Plazmolema wyizolowana z komórek wątroby szczura hydrolizuje drożdżowe RNA. W reakcji kilkustopniowej hydrolizy uczestniczą cztery enzymy: endonukleaza, 3'-nukleotydaza, fosfodwuesteraza I i 5'-nukleotydaza. Aktywność rybonukleolityczną wykazano w plazmolemie komórek HeLa, plazmolemie komórek raka Ehrlicha u myszy oraz w plazmolemie retikulocytów królika. Fosfodwuesteraza I, pochodząca z plazmolemy różnych tkanek u ssaków, posiada aktywność hydrolytyczną skierowaną zarówno przeciwko wiązaniom mono-, jak i dwuestrowym. Sugeruje się, że aktywność fosfodwuesterazowa i pyrofosfatazowa pochodzą od jednego białka enzymatycznego. 5'-nukleotydaza, występująca powszechnie w plazmolemie komórek ssaków, jest traktowana jako marker. Biologiczne znaczenie powierzchniowych enzymów nukleolitycznych nie jest jeszcze wyjaśnione.

*Summary.* Isolated rat liver plasma membrane has been shown to reveal the capacity to degrade yeast RNA. In the process of degradation the activity of four enzymes: endonuclease, 3'-nucleotidase, phosphodiesterase I and 5'-nucleotidase is involved. The occurrence of ribonuclease on the surface of HeLa cell, Ehrlich Ascites cells and rabbit reticulocytes was showed. Phosphodiesterase I isolated from the plasma membrane of different kinds of tissues reveals hydrolytic activity against mono- and di- esters bounds. It was suggested that the activities of both phosphodiesterase and pyrophosphatase derived from one enzyme. The common appearance of 5'-nucleotidase in the plasma membranes is considered as the marker of this cellular structure. The biological significance of surface nucleolytic enzymes is so far unclear.

## I. WSTĘP

Powszechnie wiadomo, że błony komórkowe (plazmolema) nie stanowią wyłącznie biernej bariery, oddzielającej wewnątrz komórki od otaczającego ją środowiska. Plazmolema uczestniczy aktywnie w takich pro-

cesach, jak przyleganie komórkowe (cell adhesion) [4, 42, 53] i podział komórki [5, 7]. Sugeruje się, że w procesie regulacji podziałów komórkowych uczestniczą powierzchniowe enzymy hydrolityczne z grupy proteaz [5].

Mechanizm przylegania komórkowego nie jest do dziś w pełni wyjaśniony, jakkolwiek w ostatnich latach sformułowano kilka hipotez dotyczących zależności tego zjawiska od składników plazmolemy [40, 46, 52, 55, 76, 83, 85].

Mayhew sugerował [40], że łączenie się w komplementarne pary zasad jednoniciowego RNA, występującego na powierzchni sąsiadujących komórek, może być powodem specyficznego rozpoznawania się i przylegania komórek. Roseman [52, 53] oraz Roth i White [56] sformułowali hipotezę, że rozpoznawanie się komórek, w wyniku którego zachodzi specyficzne przyleganie, zależy od oddziaływania między powierzchniowymi glikozylotransferazami i resztami glikozyłowymi na powierzchni komórki sąsiedniej. Obie hipotezy nie zostały jednakże dotychczas w sposób dostateczny udokumentowane doświadczalnie.

Zmiany struktury i właściwości plazmolemy po zakażeniu wirusem karcinogennym komórki hodowanej *in vitro* znajdują się współcześnie w centrum uwagi wielu biologów. Zmiany powierzchni komórki, spowodowane transformacją wirusową [85], obejmują takie zjawiska, jak wzmożenie transportu aktywnego związków przez plazmolemę, zmiany strukturalne glikoproteidów i glikolipidów powierzchniowych, zmniejszenie się ilości wielkocząsteczkowych glikoproteidów powierzchniowych i zmiany zdolności do aglutynacji komórek pod wpływem lektyn roślinnych. Ponadto zmiany na powierzchni komórek nowotworowych, polegające na odsłonięciu miejsc receptorowych, dla takich lektyn roślinnych, jak np. konkanawalina A, towarzyszą zjawisku utraty zdolności komórek do zahamowania kontaktowego [7].

Badania nad plazmolemą dotyczą również ustalenia jej składu enzymatycznego. Stwierdzono, że w plazmolemie występują liczne enzymy hydrolityczne. Funkcja biologiczna hydrolaz plazmolemy polega prawdopodobnie na umożliwianiu przenikania przez błony związków, takich jak nukleotydy, polinukleotydy i fosforany cukrowe, po ich uprzedniej defosforylacji [32]. Na przykład według Yanarell i Aronsona [86] całkowita degradacja pozakomórkowego RNA, w przypadku komórek wątroby szczura, może przebiegać na skutek zespołowego działania enzymów endonukleazy, 3'-nukleotydazy, 5'-nukleotydazy i fosfodwuesterazy, które występują w plazmolemie tych komórek. Podobnie powierzchniowa pyrofosfataza nukleotydomowa, hydrolizująca nukleozydodwufosfo cukry, oraz fosfohydrolaza (alkaliczna fosfataza), hydrolizująca fosforany heksoz, powodują odszczepienie grupy fosforanowej tych związków i umożli-

wiają w ten sposób metabolizowanie produktów hydrolizy przez komórkę [76].

Właściwości enzymów powierzchniowych niektórych komórek ssaków często są zbliżone do właściwości analogicznych enzymów występujących w surowicy. Ostatnio sugeruje się nawet, że aktywności niektórych enzymów powierzchniowych komórek hodowanych *in vitro*, takich jak np. rybonukleazy [21], pochodzą z surowicy.

Rozważając sens biologiczny występowania enzymów nukleolitycznych w plazmolemie ssaków, należy mieć na uwadze możliwość ich działania jako systemu uniemożliwiającego wydostawanie się własnego kwasu nukleinowego poza komórkę lub chroniącego komórkę przed obcym RNA.

## II. HYDROLIZA POZAKOMÓRKOWEGO RNA

Hydroliza pozakomórkowego RNA przebiega prawdopodobnie stopniowo, przy udziale szeregu kolejno działających enzymów. Zamieszczony schemat, zaproponowany przez Yanarell i Aronsona [86], przedstawia hipotetyczny układ enzymatyczny degradujący RNA, złożony z enzymów nukleolitycznych występujących w plazmolemie komórek wątroby szczura.

Rozkład cząsteczki RNA rozpoczyna endonukleaza, która uwalnia fragmenty oligonukleotydy z wolną grupą fosforanową przy węglu 3' i z wolną grupą wodorotlenową przy węglu 5'.

Następnie grupa fosforanowa przy węglu 3' ulega odszczepieniu pod wpływem 3'-nukleotydyazy.

Oligonukleotydy z wolną grupą wodorotlenową przy węglu 3' są atakowane przez fosfodwuesterazę I, w wyniku czego odszczepiane są 5'-mononukleotydy.

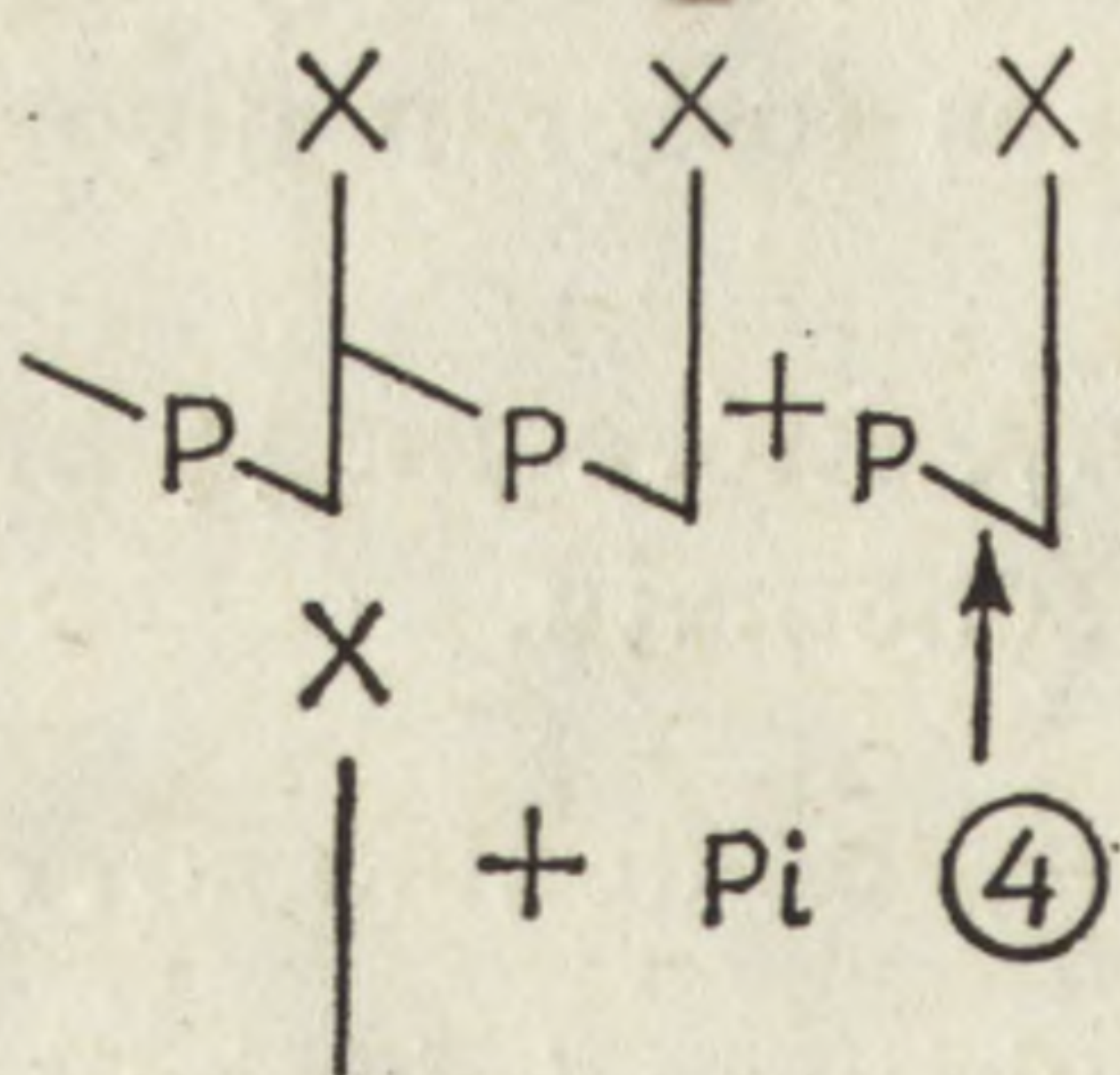
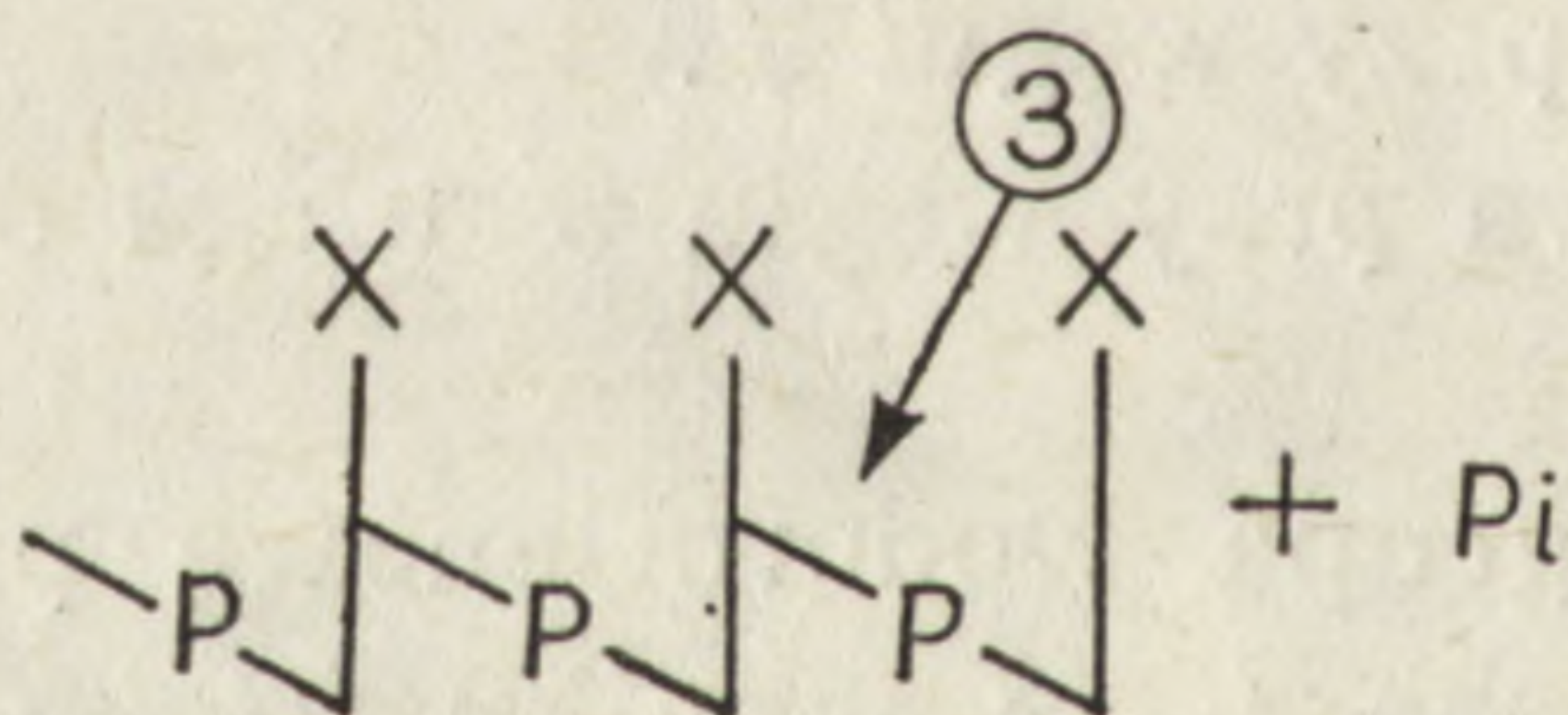
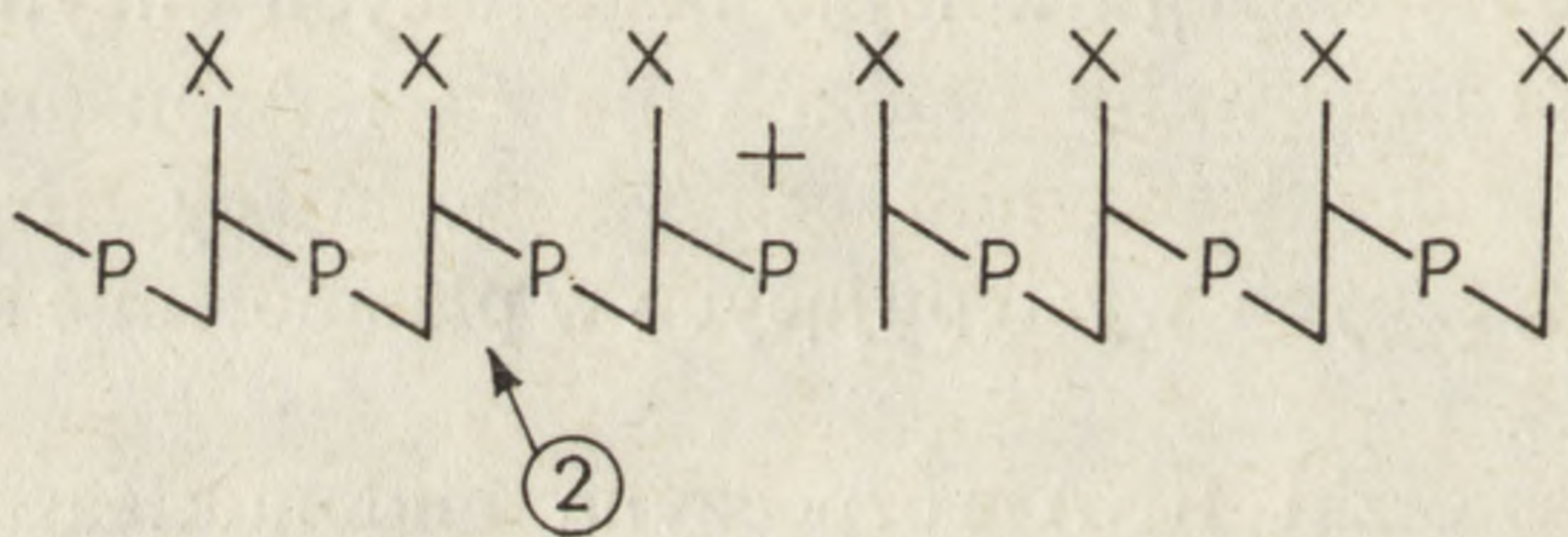
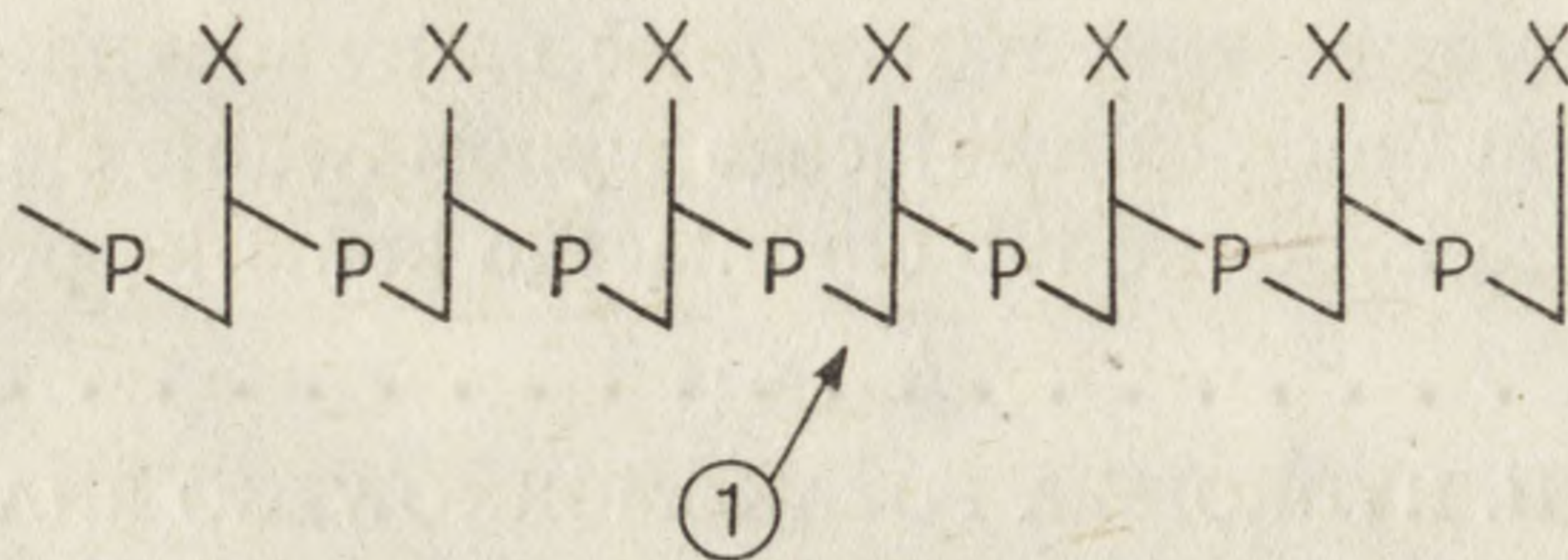
Z kolei odszczepiane są grupy fosforanowe przy węglu 5' pod wpływem 5'-nukleotydyazy, powstaje wówczas fosforan nieorganiczny i odpowiednie nukleozydy.

Omówione zostaną kolejno enzymy, które mogą brać udział w hydrolizie RNA według przedstawionego schematu.

### 1. RYBONUKLEAZA (Y) (RNA → OLIGONUKLEOTYDY)

Obszerne dane literaturowe o strukturze i funkcji rybonukleaz dotyczą głównie form rozpuszczalnych enzymu. Szczególnie dokładnie poznana jest rybonukleaza trzustkowa — RN-aza I [66]. Stosunkowo skąpa i czasem kontrowersyjna jest literatura dotycząca właściwości rybonukleaz związanych z błonami komórkowymi. Można tutaj także wspomnieć, że w organellach komórkowych tkanek zwierzęcych wykazano obecność enzymów nukleolitycznych [12, 24–26, 35, 78].

W badaniach nad występowaniem i aktywnością rybonukleaz w plazmolemie oznaczano albo stopień degradacji i utraty biologicznej aktywności RNA znajdującego się na zewnątrz całej nienaruszonej komórki, albo oznaczano aktywność rybonukleazy w wyizolowanej, określonej frakcji błon. Ocena wyników uzyskiwanych drugim sposobem powinna być z reguły ostrożna ze względu na możliwość adsorbowania przez błony enzymu rozpuszczalnego. Natomiast w doświadczeniach,



w których stosowano całe komórki pochodzące z hodowli in vitro, istnieje możliwość adsorbowania się na błonie komórkowej rybonukleazy z surowicy.

Aktywność rybonukleolityczną związaną z powierzchnią komórek HeLa wykazali w 1961 r. Norman i Veomet [47] inkubując całe komórki,

będące w fazie wzrostu eksponencjalnego, z radioaktywnym  $^{32}\text{P}$ -RNA i oznaczając następnie produkty hydrolizy. Autorzy określali również procent utraty infekcyjności RNA wirusa mozaiki tytoniowej po inkubacji z nienaruszonymi komórkami.

Stonehill i Huppert [61] wykazali, że frakcja błon komórkowych, uzyskana z komórek raka Krebsa u myszy techniką różnicowego wirowania homogenatów, zawierała aktywną endonukleazę. Aktywność enzymu oznaczano dwoma metodami: metodą badania ilości produktów rozpuszczalnych w kwasie uwalnianych przez enzym z RNA drożdżowego oraz metodą określania procentu inaktywacji danego preparatu RNA wirusowego. Porównywano wyniki uzyskane tymi metodami dla endonukleazy z błon komórek nowotworowych i rybonukleazy trzustkowej. Autorzy stwierdzili, że działanie hydrolityczne endonukleazy na RNA drożdżowe było 25-krotnie mniej efektywne niż rybonukleazy trzustkowej przy równocennej ilości obu enzymów w metodzie drugiej. Autorzy tłumaczyli te różnice specyficznością działania enzymu i przyjęli, że rybonukleaza z błon tnie RNA tylko w kilku miejscach, podczas gdy rybonukleaza trzustkowa rozkłada cząsteczkę RNA w wielu miejscach i uwalnia z RNA wiele małych fragmentów oligonukleotydowych.

Nukleazy, występujące w błonach komórkowych ssaków, badano również z punktu widzenia obrony komórki przed infekcją wirusową [72]. De Clerq i wsp. [13] wykazali, że polirybonukleotydy indukują wytwarzanie interferonu w komórkach ssaków hodowanych *in vitro*. Marcus i wsp. [39] zaobserwowali, że interferon indukuje aktywność alkalicznej rybonukleazy występującej w błonach fibroblastów zarodków mysich. Autorzy wyrazili przypuszczenie, że być może zjawisko to jest podstawą mechanizmu antyinfekcyjnego działania interferonu w komórkach ssaków. Z badań Maennera i Brandera [41] wynika jednak, że aktywność RN-azowa jest indukowana przez interferon w plazmolemie tylko niektórych rodzajów ssaków. Autorzy ci stwierdzili bowiem, że interferon nie indukuje aktywności RN-azowej w błonach komórkowych nerki mały. Brown i wsp. [8] oraz Sen i wsp. [73] stwierdzili, że endonukleaza z wyciągu komórek raka Ehrlicha, u myszy poddanych uprzednio działaniu interferonu, hydrolizuje mRNA w obecności dwuniciowego RNA szybciej w porównaniu z wyciągiem z komórek, których nie poddawano działaniu interferonu. Ostatnio Ratner i wsp. [57] wyizolowali z komórek raka Ehrlicha dwa niskocząsteczkowe związki, które w czasie inkubacji z ATP i dwuniciowym RNA indukowały tworzenie się termostabilnego produktu, który z kolei był aktywatorem endonukleazy.

Omówione dane doświadczalne, dotyczące rybonukleaz jako składników błon komórkowych, komórek hodowanych *in vitro* są kontrowersyjne w świetle wyników badań ostatnio opublikowanych przez Fullera

i Marcusa [21]. Autorzy badali aktywność rybonukleazy powierzchniowej komórek linii Vero z nerki szarej małpy (GMK = gray monkey kidney). Aktywność skierowaną przeciwko jednoniciowemu RNA oznaczano stopniem utraty infekcyjności RNA z wirusa Sindbis, a aktywność hydrolytyczną skierowaną przeciwko dwuniciowemu RNA oznaczano metodą określania wydajności polinukleotydów (poli I: poli C) jako czynnika indukującego wytwarzanie interferonu przez komórkę. Wyniki przeprowadzonych równocześnie doświadczeń kontrolnych wskazywały, że aktywność rybonukleazowa związana z błoną komórkową pochodzi z surowicy dodawanej do pożywki, w której hodowano komórki. Stwierdzono, że surowica cielęca, która wykazuje aktywność nukleazową, inaktywowała w niektórych przypadkach nawet w 50% dodawany preparat RNA z wirusa Sindbis. Obliczono, że około 5% aktywności rybonukleazowej obecnej w surowicy adsorbuje się na powierzchni komórek (GMK) rosnących w hodowli jednowarstwowej. Komórki rosnące w pożywce nie zawierającej surowicy oraz komórki przemyte około 10 razy wykazywały słabą aktywność rybonukleazową, około sto razy niższą od nie przemywanych.

W wielu pracach dotyczących zmian aktywności rybonukleolitycznej jako metabolicznej reakcji komórki na bodźce, takie jak np. infekcja wirusowa [41] lub działanie interferonu [62], oznaczano aktywność enzymu w ekstraktach z całych komórek. Trudno jest przeto ocenić udział w tym procesie rybonukleaz powierzchniowych. To samo odnosi się do badań nad aktywnością rybonukleaz w różnych fazach cyklu komórkowego, w ekstraktach z jąder komórkowych synchronizowanej hodowli komórek myszy [43], w lizosomach *Tetrachymena pyriformis* [73], w ekstraktach z całych komórek zsynchronizowanej hodowli komórek roślinnych [61] oraz w sonifikatach limfocytów ludzkich stymulowanych do podziału phytohemaglutyniną [24]. Wiadomo, że inne enzymy występujące w błonach komórkowych ssaków, jak np. alkaliczna fosfataza [38] lub glikozylotransferazy [59], zmieniają swoją aktywność w zależności od fazy cyklu komórkowego w hodowli synchronizowanej.

Badania nad rybonukleazami powierzchniowymi objęły również błony komórkowe retikulocytów. Wreschner i wsp. [84] wyizolowali inhibitor biosyntezy białka z błon komórkowych retikulocytów królika po zadziałaniu na oczyszczoną frakcję błon Trytonem X-100. Inhibitor oczyszczono 120-krotnie, uzyskując preparat jednorodny elektroforetycznie. Jego ciężar cząsteczkowy mieścił się w zakresie wartości 5 000–8 000 daltonów. Oczyszczony inhibitor wykazywał aktywność endonukleolityczną i rozkładał rybosomalne RNA o stałej sedymentacji w 28S. Ze względu na jego lokalizację w błonie, enzym nazwano rybonukleazą M (membrane).



Charakterystykę reakcji enzymatycznych katalizowanych przez rybonukleazy powierzchniowe przeprowadzono posługując się enzymem pochodzącym z błon komórkowych wątroby szczura, uzyskiwanych techniką różnicowego wirowania homogenatów tkankowych [19, 20, 37, 50]. Prospero i wsp. [50] ocenili udział rybonukleaz powierzchniowych w odniesieniu do aktywności rybonukleazowej całej komórki na 20 do 30%, przy czym aktywności enzymu badano w tym samym pH (8,7) i przy takim samym stężeniu jonów magnezu. Norris i wsp. [48] ocenili udział alkalicznej rybonukleazy w plazmolemie komórek wątroby szczura na 50% aktywności rybonukleolitycznej całej komórki. Autorzy ci nie stwierdzali przy tym różnic w poziomie aktywności enzymu w plazmolemie komórek pochodzących z wątroby normalnej i nowotworowej.

Według Emmelota i wsp. [19] aktywność rybonukleolityczna plazmolemy komórek wątroby szczura wykazuje dwa optima aktywności, a mianowicie: jedno w pH = 8,9 i drugie w pH = 7,6. Aktywność mierzona w pH bardziej alkalicznym, po działaniu na błony dezoksycholaniem, dodatkowo wzrastała, przy równoczesnym obniżaniu się aktywności w pH = 7,6. Uzyskane wyniki sugerowały, zdaniem autorów, możliwość występowania w błonach złożonego układu rybonukleaz, składającego się z kilku różnych enzymów degradujących RNA.

Yanarell i Aronson [86] wykazali, że produktami hydrolizy RNA, degradowanego przez rybonukleazę błon komórkowych wątroby szczura, są oligonukleotydy, co wskazywało na endonukleolityczny mechanizm działania enzymu. Autorzy stwierdzili, że około 25% aktywności endonukleolitycznej można oddzielić od błon stosując do wymywania 0,15 M NaCl. EDTA nie hamowało aktywności enzymu.

Gaward i wsp. [26] wykazali występowanie na powierzchni hepatocytów szczura aktywności alkalicznej i kwaśnej rybonukleazy. Enzym był wrażliwy w pH zasadowym na białkowy inhibitor wyizolowany z cytoplazmy hepatocytów.

Według reakcji przedstawionych na schemacie, endonukleaza błon komórkowych wątroby szczura, powodująca powstawanie oligonukleotydowych fragmentów, dostarcza substraty dla 3'-nukleotydyazy.

## 2. 3'-NUKLEOTYDAZA (E.C.3.1.3.6.)

Dane literaturowe dotyczące 3'-nukleotydyazy powierzchniowej są stosunkowo nieliczne [11, 23, 86]. Enzym ten jest szeroko rozpowszechniony w świecie roślinnym [11]. Według schematu hydrolizy poza komórkowego RNA, zaproponowanego przez Yanarell i Aronsona [86], 3'-nukleotydaza występująca w błonach komórkowych wątroby szczura katalizuje hydrolizę grup fosforanowych przy węglu 3'-oligonukleotydów. Stwierdzono [23, 86], że optimum pH dla 3'-nukleotydyazy z błon komór-

kowych wątroby szczura leży w granicach wartości od 8,9 do 9,5. Inhibitorami enzymu są jony cynku oraz EDTA.

### 3. FOSFODWUESTERAZA I (E.C.3.1.4.1).

Fosfodwuesteraza I jest 5'-egzonukleazą, która uwalnia nukleozydo-5'-fosforany z RNA, wymagając do swej aktywności wolnej grupy wodorotlenowej przy węglu 3'.

Ogólne dane dotyczące enzymu pochodzącego z różnych tkanek zostały szczegółowo omówione w artykule przeglądowym [67]. Występowanie fosfodwuesterazy I w błonach komórkowych wątroby szczura wykazano zarówno metodami cytochemicznymi [65], jak też metodą biochemiczną oznaczania aktywności enzymu w błonach komórkowych wyizolowanych techniką wirowania [6, 16, 19, 48, 50, 86]. Jako substrat stosowano bis-p-nitrofenylo-fosforan lub RNA. Prospero i wsp. [50] obliczyli, że aktywność fosfodwuesterazy I uwolnionej Trytonem X-100 z błon komórkowych wątroby szczura wynosi około 65 do 90% całkowitej aktywności enzymu w komórce. Autorzy ci ustalili, że optimum aktywności enzymu przypada w zakresie wartości pH między 8,5 a 8,9, w obecności jonów magnezu. Wykazano, że fosfodwuesterazę I można uwolnić z błon komórkowych rozpuszczalnikami organicznymi, enzymami proteolitycznymi lub detergentami, takimi jak np. dezoksyholan [7, 16]. Badania Bishoffa i wsp. [7] oraz Evansa i wsp. [16] wykazały, że enzym ten jest glikoproteidem o ciężarze cząsteczkowym około 130 000 daltonów. Yanarell i Aronson [86] stwierdzili, że spośród przebadanych dwuwartościowych jonów metali:  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$ , najbardziej efektywnym aktywatorem fosfodwuesterazy I z błon komórkowych wątroby szczura są jony cynku. Autorzy badali hydrolizę RNA katalizowaną przez enzymy związane z błonami w obecności lub przy braku EDTA w mieszaninie inkubacyjnej. Obecność EDTA w stężeniu 5 mM hamowała w 90% hydrolizę RNA, co wskazywało, że tylko 10% produktów rozpuszczalnych w kwasach jest uwalnianych z RNA na drodze innej reakcji enzymatycznej niż fosfodwuesterazowa. Ektoenzymy, których centra aktywne znajdują się na zewnętrznej stronie błony komórkowej, często charakteryzują się zbliżonymi właściwościami [53]. Fosfodwuesteraza I pochodząca z plazmolemy komórek wątroby [75], nerek [54] i limfocytów [1], a prawdopodobnie i innych tkanek, wykazuje aktywność pyrofosfatazy nukleotydowej. Oba enzymy, obok aktywności skierowanej przeciw substratom specyficznym dla nich, charakteryzuje zdolność do hydrolizy wiązań dwuestrowych w syntetycznym substracie tymidyno-5'-monofosforanie p-nitrofenolu [11]. Bliższa charakterystyka właściwości pyrofosfatazy nukleotydowej jest opisana w punkcie III niniejszego artykułu.

## 4. 5'-NUKLEOTYDAZA (E.C.3.1.3.5.)

5'-nukleotydaza jest enzymem szeroko rozpowszechnionym zarówno w świecie zwierzęcym, jak i roślinnym [12, 34]. Enzym katalizuje hydrolizę 5'-mononukleotydów, odszczepiając grupę fosforanową przy węglu 5'. Występowanie 5'-nukleotydazy w plazmolemie ssaków jest gruntownie udokumentowane doświadczalnie [2, 3, 10, 15, 18, 19, 22, 27, 33, 48, 49, 50, 86]. Ze względu na to, że enzym jest ściśle związany z plazmolemą oraz z uwagi na wysoki poziom jego aktywności w porównaniu z innymi ektoenzymami, 5'-nukleotydaza jest powszechnie przyjętym enzymem odniesienia plazmoemy we frakcjach subkomórkowych, co jednak może budzić pewne niepewności. Aktywność enzymu stwierdzono biochemicznie w wyizolowanej plazmolemie [2, 3, 15, 18, 19, 22, 23, 48, 50, 86] oraz na powierzchni całych komórek posługując się metodami: biochemiczną [49] oraz histochemiczną [14, 45].

Badania nad rozmieszczeniem wewnątrzkomórkowym 5'-nukleotydazy w wątrobie szczura wskazują, że ponad połowa ogólnej aktywności enzymu jest zlokalizowana w siateczce śródplazmatycznej ziarnistej [82]. We frakcji lizosomowej Pletsch i Coffey [51] wykazali 80% ogólnej aktywności 5'-nukleotydazy oznaczanej w homogenatach z wątroby szczura.

Evans i Gourd [10] wyizolowali i oczyścili 5'-nukleotydazę z błon komórkowych wątroby myszy, uzyskując preparat jednorodny elektroforetycznie i stwierdzili, że enzym jest glikoproteidem o ciężarze cząsteczkowym 130 000–150 000 daltonów. Enzym ten jest zbudowany z dwu identycznych glikoproteidowych podjednostek o ciężarze cząsteczkowym 70 000–75 000 daltonów. Ustalono następnie, że 5'-nukleotydaza z błon komórkowych wątroby myszy charakteryzuje się dwoma optymalnymi wartościami aktywności: w pH = 7,4 i 10,0 w obecności jonów magnezu. Silnym inhibitorem 5'-nukleotydazy jest ATP. Newby i wsp. [49] stwierdzili, że pozakomórkowe ATP w stężeniu 100 razy niższym od wewnątrzkomórkowego hamowało całkowicie aktywność powierzchniowej 5'-nukleotydazy komórek tłuszczowych szczura.

Przeciwciała,  $\delta$  globuliny, skierowane przeciw komórkom tłuszczowym szczura hamowały aktywność 5'-nukleotydazy powierzchniowej, co stanowiło również dowód na to, że centra aktywne enzymu znajdują się na zewnętrznej stronie powierzchni komórek. Autorzy sugerowali, że fizjologiczna rola enzymu może polegać m. in. na współuczestniczeniu w regulacji przepływu krwi, ponieważ uwalniana z AMP adenozyne, podczas hydrolizy katalizowanej przez 5'-nukleotydazę, posiada właściwość rozszerzania naczyń krwionośnych. Przebadano warunki doświadczalne w jakich 5'-nukleotydaza powierzchniowa komórek ssaków może być uwalniana z błon komórkowych, przechodząc w formę rozpuszczalną [18, 29, 81]. Stwierdzono, że enzym może być uwalniany z błon w formie

kompleksu fosfolipidowego [80, 81] jak również w formie wolnej [18]. Prace dotyczące rozpuszczalnej formy 5'-nukleotydyazy u ssaków dostarczyły wiele ogólnych danych odnośnie do właściwości enzymu [34, 79]. Sugeruje się, że rozpuszczalna forma 5-nukleotydyazy, występująca w lizosomach komórek wątroby szczura, różni się od enzymu związanego z plazmolemą [51]. Świadczą o tym doświadczenia, w których preparat enzymatyczny, uzyskany po zadziałaniu Trytonem X-100 na frakcję lizosomalną, poddawano chromatografii na kolumnach z Sephadexu G-200. Podczas chromatografii uzyskiwano dwa szczyty wykazujące aktywność 5'-nukleotydyazy. Stwierdzono, że pierwszy szczyt był identyczny chromatograficznie z 5'-nukleotydażą wyizolowaną z plazmolemy i błon lizosomalnych. Drugi szczyt zawierał enzym różniący się od 5'-nukleotydyazy związanej z błonami niższym ciężarem cząsteczkowym i co za tym idzie — innej lokalizacji podczas elektroforezy w żelu poliakrylamidowym.

Duża zawartość enzymów, takich jak 5'-nukleotydyaza i fosfodwuesteraza I w solach żółci wydzielanych przez ssaki [31], nasunęła przypuszczenie, że wydzielaniu soli żółci przez hepatocyty ssaków towarzyszy rozpuszczanie częściowe składników błon komórkowych [9, 30]. Przeprowadzono doświadczenia z erytrocytami i limfocytami, które poddano oddziaływaniu soli żółci i stwierdzono, że przechodzeniu do niej 5'-nukleotydyazy i fosfodwuesterazy nie towarzyszyła liza komórek [9, 30].

5'-nukleotydyaza jest enzymem kończącym stopniową hydrolizę pozakomórkowego RNA w hipotetycznym schemacie Yanarell i Aronsona [86]. W wyniku hydrolitycznego działania 5'-nukleotydyazy powstają nukleozydy, które mogą przenikać do wnętrza komórki i włączać się w jej metabolizm.

### III. PYROFOSFATAZA NUKLEOTYDOWA (E.C.3.6.9.1.)

Pyrofosfataza nukleotydydowa występuje powszechnie u roślin [36], bakterii [75] i zwierząt [1, 16, 17, 70] zarówno w formie rozpuszczalnej [71], jak też związanej ze strukturami komórkowymi [1, 6, 16, 17, 70]. Enzym ten hydrolizuje również wiązania dwuestrowe w tymidyno-5'-p-nitrofenylo-fosforanie oraz odcina 7-metyloguanozynę znajdującą się na końcu 5'-eukariotycznego mRNA [87].

W dzikim szczepie *E. coli* pyrofosfataza nukleotydydowa występuje w formie rozpuszczalnej w przestrzeni periplazmatycznej [75]. Podczas oczyszczania nie udało się, jak dotychczas, oddzielić aktywności pyrofosfatazowej od aktywności 5'-nukleotydyazy. Natomiast u *S. typhimurium* LT-2 pyrofosfataza nukleotydydowa występuje w formie związanej

z błoną cytoplazmatyczną [28] i nie wykazuje aktywności 5'-nukleotydazowej po wyizolowaniu.

Badania nad lokalizacją pyrofosfatazy nukleotydowej w plazmolemie komórek ssaków przeprowadzono posługując się różnymi technikami eksperymentalnymi [1, 16, 17, 58]. Moneron i wsp. [45] zastosowali metodę cytochemiczną, polegającą na wytrącaniu fosforanów ołowiu po zewnętrznej stronie powierzchni komórki (tymocyty cielęcia) podczas reakcji katalizowanej przez powierzchniową pyrofosfatazę nukleotydową. Osad soli ołowiu był widoczny na zdjęciach wykonanych mikroskopem elektronowym.

Touster i wsp. [76] wyizolowali i oczyścili plazmolemę komórek wątroby szczura techniką wirowania w gradiencie gęstości sacharozy, a następnie pod wpływem działania dezoksyholanu uzyskali preparat pyrofosfatazy nukleotydowej w formie rozpuszczalnej. Autorzy stwierdzili, że enzym poza aktywnością hydrolityczną skierowaną przeciwko NAD wykazał zdolność do hydrolizowania substratów, stosowanych do oznaczania aktywności fosfodwuesterazy I, takich jak tymidyno-5'-p-nitrofenyl oraz bis-p-nitrofenylo-fosforan. Podczas chromatografii na Sephadexie G-200 nie udało się rozdzielić aktywności hydrolitycznej skierowanej przeciwko wiązaniom mono- i dwuestrowym, co sugerowało, że aktywność pyrofosfatazy nukleotydowej i fosfodwuesterazy I pochodzi od jednego białka enzymatycznego. Obserwacja ta została potwierdzona przez innych autorów [1, 16, 17]. Evans [17] scharakteryzował pyrofosfatazę nukleotydową wyizolowaną z hepatocytów szczura jako sjałoglikoproteid o ciężarze cząsteczkowym około 130 000 daltonów. Evans posłużył się metodą znakowania białek powierzchniowych jodem radioaktywnym w obecności laktoperoksydazy, a następnie elektroforezą na żelu poliakrylamidowym. Stosując tę samą metodę podobne wyniki uzyskano dla enzymu wyizolowanego z plazmolemy limfocytów mysich [1].

Pyrofosfataza nukleotydowa występuje nie tylko w plazmolemie ssaków, ale również w plazmolemie komórek innych zwierząt. I tak, np. Sanford i wsp. [58] wykazali występowanie pyrofosfatazy nukleotydowej w oczyszczanej (techniką wirowania w gradientach) plazmolemie komórek wątroby zarodków kurczęcia. Enzym katalizował hydrolizę nukleozydo- dwu- i trójfosforanów adenozyiny, cytydiny, urydiny i gwaniny. Tak szerokie spektrum substratowe dla enzymu nasunęło przypuszczenie o możliwości występowania kilku pyrofosfataz nukleotydowych, specyficznych dla określonego nukleotydu. Zagadnienie to było przedmiotem szeregu dalszych prac [70, 71]. Wzmoczone zainteresowanie powierzchniową pyrofosfatazą nukleotydową komórek ssaków, jakie można zaobserwować w ostatnich latach, wiąże się z tym, że enzym współzawodniczy o substrat z glikozylotransferazami [1, 17, 68-70]. Ka-

talizując hydrolizę nukleozydodwufosfocukrów w doświadczeniach, w których bada się włączanie radioaktywnych heksoz do glikoproteidowych akceptorów powierzchniowych, pyrofosfataza nukleotydomowa utrudnia właściwą ocenę przebiegu tych reakcji [1, 17, 70]. Ponadto, sugerowano możliwą rolę pyrofosfatazy powierzchniowej w procesach przylegania komórkowego na podstawie doświadczeń, w których zaobserwowano, że transformacja wirusowa, chemiczna i spontaniczna komórek zarodków chomika hodowanych *in vitro* powoduje hamowanie aktywności enzymu plazmolemy [64]. Okazało się jednak, że komórki embrionalne nie każdego rodzaju ssaków, po transformacji wirusowej tracą aktywność powierzchniowej pyrofosfatazy nukleotydomowej [70].

Fizjologiczne znaczenie pyrofosfatazy nukleotydomowej występującej w plazmolemie komórek ssaków nie jest dostatecznie wyjaśnione. Sugerowano, że enzym umożliwia transport aktywny przez błony takich związków, jak nukleotydy i nukleozydodwufosfocukry, hydrolizując je do prostych związków [17]. Można również przypuszczać, że pyrofosfataza nukleotydomowa współuczestniczy w regulacji biosyntezy glikoproteidów powierzchniowych.

W podsumowaniu można stwierdzić ogólnie, że enzymy nukleolityczne będące składnikami błon komórkowych ssaków są w większości glikoproteidami, ich ciężar cząsteczkowy wynosi od 100 000 do 130 000 daltonów, przy czym łańcuchy glikoproteidowe enzymów i centra aktywne są umiejscowione na zewnętrznej stronie powierzchni komórki. Wyjątek stanowi niedawno odkryta w błonie retikulocytów królika rybonukleaza M, która ma niski ciężar cząsteczkowy, w granicach 5 000–8 000 daltonów, i nie jest glikoproteidem.

Jakkolwiek fizjologiczne znaczenie powierzchniowych enzymów nukleolitycznych nie jest jasne, wydaje się prawdopodobne, że ze względu na swoje umiejscowienie enzymy te zabezpieczają metaboliczną i fizjologiczną równowagę komórki. Dalsze badania dotyczące składu enzymatycznego plazmolemy być może pozwolą na szersze zrozumienie roli, jaką odgrywa w procesach życiowych komórki.

#### LITERATURA

- [1] ABNEY E. R., EVANS W. H., PARKHOUSE R. M. E., Location of nucleotide pyrophosphatase and alkaline phosphodiesterase activities on the lymphocyte surface membrane, *Biochem. J.*, **159**: 293–299, 1976.
- [2] ALLAN D., CRUMPTON M. J., Preparation and characterization of the plasma membrane of pig lymphocytes, *Biochem. J.*, **120**: 133–138, 1970.
- [3] — Isolation and composition of human thymocyte plasma membrane, *Biochem. Biophys. Acta*, **274**: 22–27, 1972.

- [4] BOSMANN H. B., Cell surface enzymes: Effects on mitotic activity and cell adhesion, *Int. Rev. Cytol.*, **50**: 1-23, 1972.
- [5] BOSMANN H. B., GUTHEIL R. E., Jr., CASE K. R., Loss of a critical neutral protease in ageing WI - 38 cells, *Nature*, **261**: 499-501, 1976.
- [6] BISHOFF T. A., TRAN - THI K., DECKER K. F., Nucleotide pyrophosphatase of rat liver. A comparative study of the enzyme solubilized and purified from plasma membrane of endoplasmic reticulum, *Eur. J. Biochem.*, **51**: 353-361, 1975.
- [7] BÜRGER M. M., NOONAN K. D., Restoration of normal growth by covering of agglutinin sites on tumor cell surface, *Nature*, **228**: 512-515, 1970.
- [8] BROWN G. E., LEBLEU B., KUWAKITA M., SHAILA S., SEN G. C., LENGIEL P., Increased endonuclease activity in an extract from mouse Ehrlich Ascites tumor cells which had been treated with a partially purified interferon preparation: dependence on double — stranded RNA, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **69**: 114-121, 1976.
- [9] COLEMAN R., HOLSWORTH G., The release of membrane components prior to haemolysis during extraction of intact erythrocytes with bile salts, *Biochem. Biophys. Acta.*, **426**: 776-780, 1976.
- [10] DE PIERRE J. W., KARNOWSKI M. J., Ecto - enzymes of the guinea pig polymorphonuclear leukocyte, *J. Biol. Chem.*, **249**: 7111-7120, 1974.
- [11] DRUMMOND G. I. YAMEMOTO M., Nucleoside Phosphomonoesterases, *The Enzymes* 4, red. P. D. Boyer, 337-352, 1971.
- [12] DE LAMIRANDE G., BOILEAU S., MORAIS R., Distribution of the nucleases of the microsomal fraction of rat liver between ribosomes and endoplasmic membranes, *Can. J. Biochem.*, **44**: 273-279, 1966.
- [13] DE CLERQ A., ŻMUDZKA B., SHUGAR D., Antiviral activity of polinucleotides: role of the 2' -hydroxyl and a pyrimidine 5 - methyl. *FEBS Letters*, **24**: 137-140, 1972.
- [14] DAI DUI BAN, KAWIAK J., 5 - Nucleotidase of L 1210 cells. Cytochemical and kinetic studies. *Folia Histochem. Cytochem.*, **17**: 30-35, 1979.
- [15] DEMUS H., Subcellular fractionation of human lymphocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, **291**: 93-106, 1973.
- [16] EVANS W. H., HOOD D. O., GOURD J. W., Purification and properties of a mouse liver plasma membrane glycoprotein hydrolysing nucleotide pyrophosphate and phosphodiester bounds, *Biochem. J.*, **135**: 819-826, 1973.
- [17] EVANS W. H., Nucleotide pyrophosphatase a sialoglycoprotein located on the hepatocyte surface, *Nature*, **250**: 391-394, 1974.
- [18] EVANS W. H., GOURD J. W., Properties of a 5' - nucleotidase purified from mouse liver plasma membranes. *Biochem. J.*, **133**: 189-199, 1973.
- [19] EMMELLOT P., BOS C. J., BENEDETTI E. L., RUMKE P. H., Study on plasma membranes. I. Chemical composition and enzyme content of plasma membranes, *Biochem. Biophys. Acta*, **90**: 126-145, 1964.
- [20] ERECIŃSKA M., SIERAKOWSKA H., SHUGAR D., Intracellular localization of phosphodiesterase I and II in rat liver, *Eur. J. Biochem.*, **11**: 465-471, 1969.
- [21] FULLER F. J., MARCUS P. I., Cell surface - associated ribonuclease activities, *J. Cell Physiol.*, **98**: 1-2, 1979.
- [22] FERBER E., RESCH K., WALLACH F., IM W., Isolation and characterisation of lymphocyte plasma membranes, *Biochim. Biophys. Acta*, **266**: 494-504, 1972.
- [23] FRANKLIN J. E., TRAMS E. S., Metabolism of coenzyme A and related

- nucleotides by liver plasma membranes, *Biochim. Biophys. Acta*, **230**: 105–116, 1971.
- [24] GREEN R. C., Changes in acid ribonuclease and other acid hydrolases during lymphocyte stimulation, *Exp. Cell Res.* **110**: 215–223, 1977.
- [25] GAVARD D., DE LAMIRANDE G., Purification and some properties of a ribonuclease from rat liver ribosomal fraction. *Biochim. Biophys. Acta*, **277**: 284–289, 1972.
- [26] GAVARD D., GAGON C., DE LAMIRANDE G., Ribonuclease and phosphodiesterase activities in rat hepatocyte plasma membranes, *Biochem. Biophys. Acta*, **374**: 207–219, 1974.
- [27] GURD J. W., EVANS W. H., Distribution of liver plasma membrane 5'-nucleotidase as indicated by its reaction with anti-plasma membrane serum. *Arch. Biochem. Biophys.*, **164**: 305–311, 1974.
- [28] GLASER L., MELO A., POUL R., Uridine diphosphate sugar hydrolase. Purification of enzyme and protein inhibitor. *J. Biol. Chem.*, **242**: 1944–1954, 1967.
- [29] HAYMEN M. J., CRUMPTON M. J., Isolation of glycoproteins from pig lymphocyte. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **47**: 923–930, 1972.
- [30] HOLDWORTH G., COLEMAN R., Plasma membrane components can be removed from isolated lymphocytes by the bile salts glycocholate and taurocholate without cell lysis, *Biochem. J.*, **158**: 493–495, 1976.
- [31] — Enzyme profiles of mammalian bile. *Biochim. Biophys. Acta*, **389**: 47–50, 1975.
- [32] HUGHES R. C., Membrane glycoproteins and cell surface reactions. *Membrane Glycoproteins*. Butterworth and Co. Publishers LTD, 285–308. 1976.
- [33] HEPPEL L. A., 5'-Nucleotidase. *The Enzymes*, 2nd ed., **5**: 49–51, 1961.
- [34] ITOCH R., USAMI C., NISHINO C. T., TSUSHIMA K., Kinetic properties of cytosol 5'-nucleotidase from chicken liver, *Biochem. Biophys. Acta*, **526**: 154–162, 1978.
- [35] KUMAGAI H., IGARASHI K., TANAKA H., NAKAO H., HIROSE S., A microsomal exoribonuclease from rat liver, *Biochem. Biophys. Acta*, **566**: 192–199, 1979.
- [36] KOLE R., SIERAKOWOKA H., SHUGAR D., Novel activity of potato nucleotide pyrophosphatase, *Biochim. Biophys. Acta*, **438**: 540–550, 1976.
- [37] LANSING A. I., BELKHODE M. L., LYNH W. E., LIEBERMAN I., Enzymes of plasma membranes of liver, *J. Biol. Chem.*, **242**: 1772–1775, 1967.
- [38] LUCID S. W., GRIFFIN M. J., Cell cycle variations in HeLa 65 plasma membranes alkaline phosphatase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **74**: 113–118, 1977.
- [39] MARCUS P. I., TERRY T. M., LEVINE S., Interferon action. Membrane bound alkaline ribonuclease activity in chick embryo cells manifesting interferon-mediated interference, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **72**: 182–186, 1975.
- [40] MAYHEW E., Interaction of polynucleotides with cultured mammalian cells. III. Initial binding of cell surface. *Exp. Cell Res.*, **86**: 87–94, 1974.
- [41] MAENNER H., BRANDER G., Interferon action may not be effected by induction of a cellular ribonuclease, *Nature*, **260**: 637–638, 1976.
- [42] MASLOW D. E., In vitro analysis of surface specificity in embryonic cells. *The Cell Surface in Animal Embryogenesis and Development*, red. Poste G., Nicolson, North - Holland Pub. Co., 697–734, 1976.
- [43] MÜLLER W. E. G., SCHRODER H. C., ARENDES J., STEFFEN R., ZAHN R. K.,



- DOSE M., Alteration of activities of ribonucleases and polyadenylate polymerase in synchronized mouse L cells, *Eur. J. Biochem.*, **76**: 531-540, 1977.
- [44] MÜLLER W. E. G., FALKE D., ZAHN R. K., ARENDES J., Alteration of polyadenylate nuclease activities in Herpes Simplex virus infected cells, *Virology*, **87**: 89-95, 1978.
- [45] MONERON A., Ultrastructural study of membrane-bound enzymes in thymocytes, *J. Histochem. Cytochem.*, **22**: 1128-1134, 1974.
- [46] MOYA F., SILBERT D. F., GLASER L., The relation of temperature and lipid composition to cell adhesion, *Biochim. Biophys. Acta*, **550**: 485-499, 1979.
- [47] NORMAN A., VEOMETT R. C., Ribonuclease activity of the HeLa cell surface, *Virology*, **14**: 497-499, 1961.
- [48] NORRIS K. A., URGE M. L. E., HINTON R. H., Phosphodiesterase and ribonuclease activities of the plasma membrane of rat liver and hepatoma, *Biochem. J.*, **122**: 53P, 1971.
- [49] NEWBY A. C., LUIZIO J. P., HALES C. N., The properties of extracellular location of 5'-nucleotidase of the rat fat-cell plasma membrane, *Biochem. J.*, **149**: 625-633, 1975.
- [50] PROSPERO T. D., BURGE M. L. E., NORRIS K. A., HINTON R. H., REID E., Alkaline ribonuclease and phosphodiesterase activity in rat liver plasma membranes, *Biochem. J.*, **132**: 449-458, 1973.
- [51] PLETSCH Q. A., COFFEY J. W., Studies on 5'-nucleotidase of rat liver, *Biochim. Biophys. Acta*, **276**: 192-205, 1972.
- [52] ROSEMAN S., The synthesis of complex carbohydrates by multiglycosyltransferase system and their potential function in intercellular adhesion, *Chem. Physiol. Lipids*, **5**: 270-297, 1970.
- [53] — Complex carbohydrates and intercellular adhesion, [in] *The Cell Surface in Development*, red. Moscona A. A., 255-271, 1974.
- [54] RIMER B. L., WIDNELL C. C., The demonstration of a specific 5'-nucleotidase activity in rat tissues, *Arch. Biochem. Biophys.*, **171**: 343-347, 1975.
- [55] RAZZEL W. E., KHORANA H. G., Studies on polynucleotides. Enzymic degradation. Some properties and mode of action of spleen phosphodiesterase, *J. Biol. Chem.*, **236**: 3031-3036, 1961.
- [56] ROTH S. A., WHITE D., Intercellular contact and cell-surface glycosyltransferase activity, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **69**: 485-489, 1972.
- [57] RATNER L., WIEGANT R. C., FAREELL P. J., SEN G. C., CANRER B., LANGIEL P., Interferon, double-stranded RNA and RNA degradation. Fractionation of the endonuclease INT system into macromolecular components: role of a small molecule in nuclease activation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **81**: 947-954, 1978.
- [58] SANFORD J. B., ROSENBERG M. D., Nucleotide phosphohydrolase activities of the plasma membranes of embryonic chick liver cells, *Biochim. Biophys. Acta*, **288**: 333-346, 1972.
- [59] SELA B., LIS H., SACHS L., Enzymic hydrolysis of uridine diphosphate  $\alpha$ -N-acetyl-D-galactosamine and uridine diphosphate  $\alpha$ -N-acetyl-D-glucosamine by normal cells, and blocks in this hydrolysis in transformed cells and their revertants, *J. Biol. Chem.*, **247**: 7585-7590, 1972.
- [60] SHUR B. D., ROTH S., Cell surface glycosyltransferases. *Biochim. Biophys. Acta*, **415**: 415-512, 1975.
- [61] STONEHILL E., HUPPERT J., Ribonucleases activity associated with mammalian cell walls, *Biochim. Biophys. Acta*, **155**: 353-369, 1968.

- [62] SAWAI Y., SUGANO N., TSUKADA K., Ribonuclease H activity in cultured plant cells, *Biochim. Biophys. Acta*, **518**: 181-185.
- [63] SHAILA S., LEBLEU B., BROWN G. E., SEN G. C., LENGYEL P., Characteristic of extracts from interferon-treated HeLa cells: presence of a protein kinase and endoribonuclease activated by double stranded RNA and of an inhibitor of mRNA methylation, *J. Gen. Virol.*, **37**: 535-546, 1977.
- [64] SELA B., SACHS L., Block in nucleotide phosphodiesterase and alkaline phosphatase activity in transformed mammalian cells, *FEBS - Letters*, **30**: 100-104, 1973.
- [65] SIERAKOWSKA H., SZEMPLIŃSKA H., SHUGAR D., Intracellular localization of phosphodiesterase by a cytochemical method, *Acta Biochem. Polon.*, **10**: 399-411, 1963.
- [66] SIERAKOWSKA H., SHUGAR D., Mammalian nucleolytic enzymes, *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, Academic Press, New York, **20**: 59-130, 1977.
- [67] — Phosphodiesterase activity against nucleoside-3'-phosphate esters and some 5'-*a*-substituted analogues and an improved ribonuclease substrate, *a*-naphthyl-5'-*a*-methyl-uridine-3'-phosphate, *Acta Biochem. Polon.*, **18**: 143-152, 1971.
- [68] SAWICKA T., PIASEK A., Heteropolisacharydy zwierzęcych błon komórkowych, *Post. Biochem.*, **17**: 275-289, 1971.
- [69] SAWICKA T., Glycosyltransferases of human plasma, *FEBS - Letters*, **16**: 346-348, 1971.
- [70] SAWICKA T., GRZELAK - PUCZYŃSKA I., SAWICKI W., BAGDASARIAN M., Cell surface nucleotide pyrophosphatase and sugar phosphate phosphohydrolase activity: Interspecies and cell type variations, *Proceedings of the Vth International Symp. on Glycoconjugates*, Kiel, FRG, G. Thieme, Stuttgart, 244-245, 1979.
- [71] SPIK G., SIX P., BOUQUELET S., SWICKA T., MONTREUIL J., Degradation of nucleoside diphosphate sugars by human and rat serum, *Properties of the serum nucleotide pyrophosphatases*, *Glycoconjugate Research*, Fourth International Symposium on Glycoconjugates, Acad. Press, New York, **2**: 933-936, 1979.
- [72] SMITH H., Host and tissues specificities in virus infection of animals, *Cell Surface Reviews*, North Holland Publishing Co., **2**: 1-46, 1977.
- [73] SEN G. C., LEBLEU B. L., BROWN G. E., KAWAKITA M., SLATTERY E., LENGIEL P., Interferon, double-stranded RNA and mRNA degradation, *Nature*, **264**: 370-372, 1976.
- [74] TARNOWKA M. A., YUYAMA S., Heat shock dependent fluctuation of RNase activity during the cell cycle of synchronized *Tetrahymena*, *J. Cell. Physiol.*, **95**: 85-94, 1978.
- [75] TAYLOR N. S., BEACHAM J. R., Synthesis and localization of *E. coli* UDP-glucose hydrolase, 5'-nucleotidase and demonstration of a cytoplasmic inhibitor this enzyme in *S. typhimurium*, *Biochim. Biophys. Acta*, **411**: 216-221, 1975.
- [76] TOUSTER O., ARONSON N. N., DULANEY J. T., HENDRIKSON H., Isolation of rat liver plasma membrane. Use of nucleotide pyrophosphatase and phosphodiesterase I as marker enzymes, *J. Cell Biol.*, **47**: 604-618, 1970.
- [77] THIERRY J. P., Adherence cellulaire et histogenese: un sujet fort controversé, *Biochimie*, **61**: VII-XII 1979.
- [78] VON BLITTERSWIK W. J., EMMELLOT P., FELTKAMP C. A., Studies on

- plasma membranes: XIX Isolation and characterization of plasma membrane fraction from calf thymocytes, *Biochim. Biophys. Acta*, **298**: 577-592, 1973.
- [79] VAN DEN BERGHE G., POTTELSBERGHE C., HERS H., A kinetic study of the soluble 5' - nucleotidase of rat liver, *Biochem. J.*, **162**: 611-616, 1977.
- [80] WIDNELL C. C., The specific association of 5' - nucleotidase with sphingomyelin, *Fed. Proc.*, **33**: 1254, 1974.
- [81] — Purification of rat liver 5' - nucleotidase as a complex with sphingomyelin, *Methods in Enzymology*, **32**: 368-374, 1975.
- [82] WIDNELL CH., Cytochemical localization of 5' - nucleotidase in subcellular fractions isolated from rat liver, *J. Cell Biol.*, **52**: 542-558, 1972.
- [83] WEIGEL P. H., SCHMELL E., LEE Y. Y., ROSEMAN S., Specific adhesion of rat hepatocytes to  $\alpha$  - galactosides linked to polyacrylamid gels, *J. Biol. Chem.*, **252**: 330-333, 1978.
- [84] WRESCHNER D., MELLOUL D., HERZBERG M., Interaction between membrane function and protein synthesis in reticulocytes, *Eur. J. Biochem.*, **89**: 341-352, 1978.
- [85] YAMADA K. M., Cell surface marker for malignancy, *Nature*, **273**: 335-337, 1978.
- [86] YANARELL A., ARONSON N. N. Jr., Localization of an RNA - degrading system of enzymes on the rat liver plasma membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **311**: 192-204, 1973.
- [87] ZAN - KOWALCZEWSKA M., BRETNER M., SIERAKOWSKA H., SZCZĘSNA E., FILIPOWICZ W., SCHATKIN A. J., Removal of 5' - terminal M7G from eucariotic mRNAs by potato nucleotide pyrophosphatase and its effect on translation, *Nucleic Acid Res.*, **4**: 3065-3081, 1977.

*Otrzymano: 26 czerwca 1979.*

*Przyjęto: 15 października 1979.*

*Adres autorki: ul. Rakowiecka 36, 02 - 532 Warszawa.*



ORGANIZACJA ODMIENNYCH NIŻ AKTYNO-MIOZYNOWE  
SYSTEMÓW KURCZLIWYCH WYSTĘPUJĄCYCH W KOMÓRKACH  
PIERWOTNIACZYCH

ORGANISATION OF NON ACTO - MYOSIN CONTRACTILE SYSTEMS  
IN PROTOZOAN CELLS

Barbara TOLŁOCZKO

Pracownia Fizjologii Ruchów Komórkowych, Zakład Biologii Komórki, Instytut  
Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, Warszawa

*Streszczenie.* U podstaw niektórych zjawisk ruchowych pierwotniaków leżą procesy skurczowe, których mechanizmy różnią się znacznie od mechanizmów znanych z komórek *Metazoa*. Do tego typu zjawisk należą skurcze nóżek *Peritricha* oraz skurcze ciała niektórych *Heterotricha*. Zachodzą one dzięki zmianom w makromolekularnej konformacji filamentów w mionemie. W skurczu ciała *Heterotricha* współdziała też drugi system — mikrotubularne włókna kinetodesmalne, w których zmiany przestrzenne generowane są przez ślizganie się elementów tych włókien względem siebie. Tego samego typu zjawisko występuje też w aksostylach wiciowców z grupy *Pyrsonymphidae*.

*Summary.* The contractile processes which mechanisms are different than in *Metazoan* cells are often the basis of some motile phenomena in *Protozoa*. Contraction of *Peritricha* stalks and body of some *Heterotricha* belong to this group of phenomena. They are due to the changes of macromolecular conformation of myonemal filaments. The microtubular system (kinetodesmal fibres) cooperates also in body contraction of *Heterotricha*. The sliding of microtubules is the basis of motility of this system. The same type of phenomenon has been also observed in axostyles of *Flagellata* from *Pyrsonymphidae* group.

W świecie pierwotniaków podłoże ultrastrukturalne i mechanizmy molekularne zjawisk ruchowych są w porównaniu z organizmami roślinnymi i zwierzęcymi wielokrotnie bardziej zróżnicowane.

Sleigh i Pitelka [59], na podstawie stopnia podobieństwa zjawisk skurczowych występujących u pierwotniaków do tego samego typu zjawisk w innego rodzaju komórkach, wyróżnili trzy zasadnicze ich grupy:

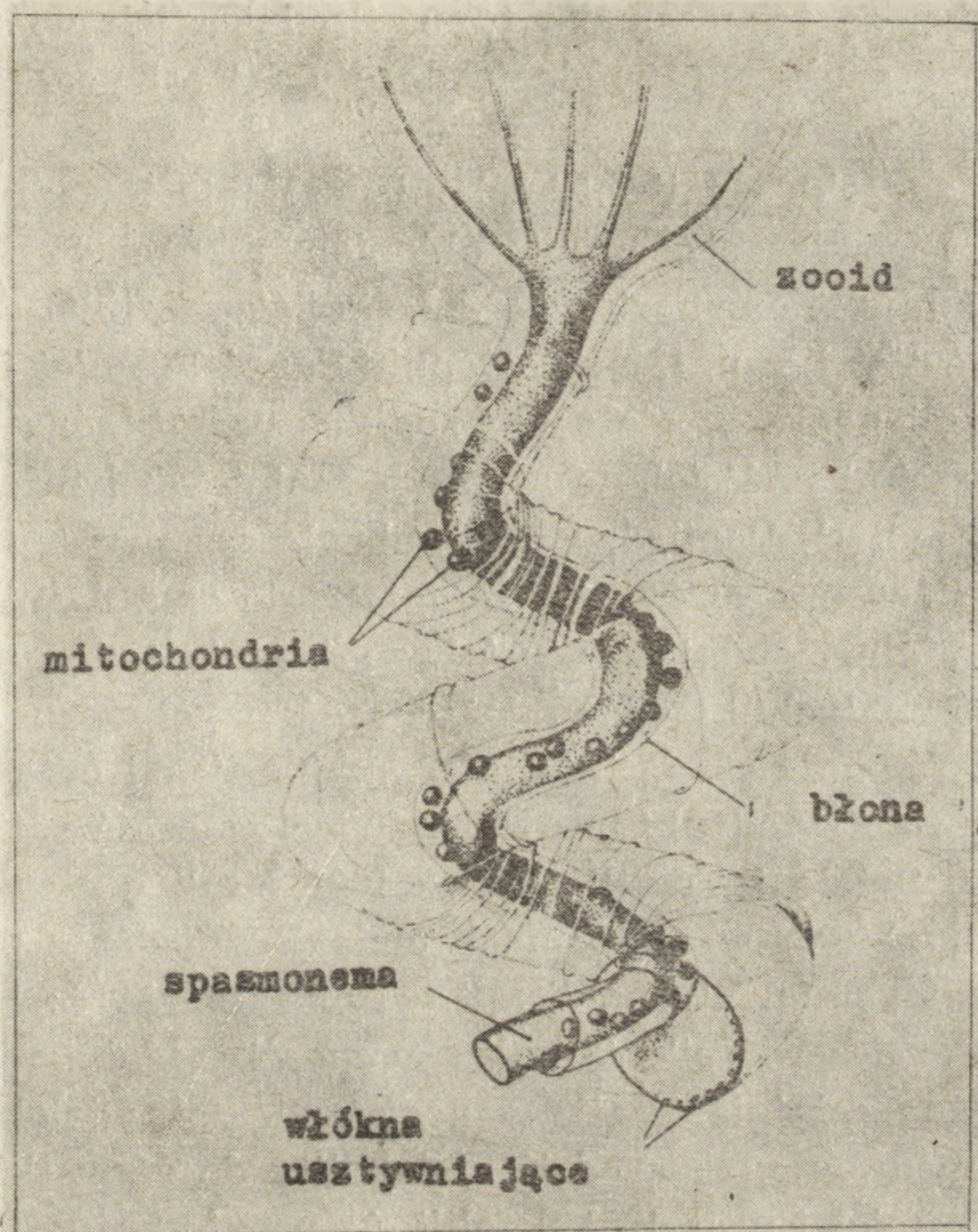
1. procesy skurczowe zachodzące dzięki mechanizmom występującym jedynie u pierwotniaków (np. skurcze mionem *Peritricha* i *Heterotricha*),  
2. procesy skurczowe zachodzące dzięki odmiennemu wykorzystaniu mechanizmów występujących w innych komórkach (np. wzajemne oddziaływanie między mikrotubulami a dyneiną w aksostylach niektórych wiciowców i we włóknach kinetodesmalnych *Heterotricha*), 3. procesy skurczowe zachodzące w podobny sposób jak w komórkach innych organizmów (np. ruch amebowy, strumień cytoplazmatyczny).

W pracy niniejszej zostaną omówione ultrastrukturalne podstawy zjawisk należących do dwóch pierwszych grup.

### SKURCZE NÓZEK *PERITRICHIA*

Jednym z najbardziej interesujących rodzajów ruchu, u których podstaw leży skurcz, jest skręcanie się i relaksacja nóżek pewnych *Peritricha*. Orzęski te mają przeważnie kształt kieliszkowaty lub cylindryczny. Na aboralnym końcu ciała zaś posiadają nóżkę, za pomocą której mogą przyczepiać się do podłoża.

Już w 1905 r. Fauré-Fremiet [21] opisał zaobserwowaną za pomocą mikroskopu świetlnego budowę nóżek *Vorticella* i *Carchesium*. Organela te składają się według niego z cylindrycznej otoczki, wewnątrz której spiralnie biegnie kurczliwa nić zwana spasmonemą. Na wewnętrznej powierzchni otoczki znajdują się włókna pełniące rolę „usztyniaczy”, dzięki którym nóżki po skurczu przybierają kształt spirali. Późniejsze badania przy użyciu mikroskopu elektronowego potwierdziły te dane i dostarczyły wielu nowych, istotnych szczegółów. Najwięcej informacji zawierają prace Amosa [4] i Allena [1, 2]. Otoczka nóżki zbudowana jest z bardzo cienkiej (12 nm) błony wykazującej strukturę trójwarstwową. Wewnętrzna jej powierzchnia pokryta jest fibrylarną warstwą o grubości 20 nm. Wewnątrz otoczki biegnie pasmo cytoplazmy o kształcie lewoskrętnej spirali, a w nim acentrycznie położona jest spasmonema (ryc. 1). Ma ona kształt wstęgi o zewnętrznej powierzchni spłaszczonej od strony otoczki. Druga powierzchnia spasmonemy, skierowana do wnętrza, sąsiaduje z licznymi mitochondriami obecnymi w warstwie cytoplazmatycznej. Na terenie skopuli (miejsca połączenia nóżki z ciałem, czyli zooidem) pasmo cytoplazmy nóżki łączy się z cytoplazmą zooidu, a spasmonema rozgałęzia się tworząc mionemy. Każde z włókien usztyniających, tworzących spiralną palisadę, składa się z około 30 „podwłókien”. Badania Amosa [4] potwierdziły, że ich ułożenie warunkuje zwijanie się nóżki bez jednoczesnego obrotu ciała. Zarówno *Vorticella* [55], jak i *Carchesium* [4] w optycznie pustej przestrzeni między otoczką nóżki a cytoplazmą



Ryc. 1. Schemat budowy nóżki *Peritricha* [4]

posiada uwidocznioną za pomocą mikroskopu elektronowego gęstą sieć włókien.

Największym zainteresowaniem badaczy cieszyły się mionemy i spasmonemy uznane przez wszystkich za miejsce skurczu. Pierwsze badania przy użyciu mikroskopu elektronowego przeprowadzone były przez Fauré-Fremiet i wsp. [23] i Randalla [52]. Opisali oni mionemy w ciele *Vorticella campanula* jako wstęgi gęstych fibryli. W nóżce tworzą one pojedynczy pęczek — spasmonemę o budowie beleczkowatej. Fauré-Fremiet i Rouiller [24] stwierdzili, że skurczona mionema *Ophrydium versatile* zawiera fibryle o średnicy około 2 nm. Natomiast według Sotelo i Trujillo-Cenoza [60] elementarne fibryle w mionemach *Vorticella* mają średnicę 3-4 nm. Po udoskonaleniu technik mikroskopii elektronowej stały się możliwe dokładniejsze badania tych struktur. Grupy Randalla i Fauré-Fremiet opublikowały w 1962 r. bardziej kompletne badania kilku *Peritricha*. Randall i Hopkins [55] wykazali istnienie korelacji między zdolnością nóżki do skurczu a posiadaniem przez nią spasmonemy. Dokładne badania wielu autorów [2, 4, 25, 27, 46, 55] pozwoliły ustalić, że wszystkie mikrofibryle, obserwowane w mionemach bądź spasmonemach

mach *Petritricha*, są tego samego typu. Średnica ich wynosi 2 - 5 nm. Ułożone są one z grubsza równolegle do długiej osi pęczka mikrofibrylarnego.

W ścisłym związku z mikrofibrylami pozostaje towarzyszący im system błonowy. Pierwsze obserwacje obłonionych pęcherzyków (vesicles) leżących obok lub w mionemach *Opercularia* i *Carchesium* dokonane były przez Fauré-Fremiet i wsp. [23]. Następnie Fauré-Fremiet i Rouiller [24] stwierdzili, że mionemy w ciele *Ophrydium versatile* na swojej wewnętrznej powierzchni podścielone są przez mniej lub bardziej spłaszczone woreczki (sacculles). Pomiedzy mikrofibryle zaś penetrują pęcherzyki o przekroju 30 - 120 nm, często rozszerzające się ampularnie. Pęcherzyki wewnątrzmiomemalne wydają się być bezpośrednio związane z cytoplazmatyczną siecią małych kanałów, leżące zaś na obrzeżu woreczki komunikują się zarówno z siecią intermiomemalną, jak i cytoplazmatyczną. Oba opisywane rodzaje struktur uznano więc za część retikulum endoplazmatycznego. Sotelo i Trujillo-Cenoza [60] pisali o ciągłości kanałów wewnątrzmiomemalnych w mionemach ciała *Vorticella* z podobnym systemem w spasmonemie. Wysunęli oni przypuszczenie, że kanały te mogłyby służyć jako przewodniki impulsu w sposób podobny jak retikulum sarkoplazmatyczne mięśnia prążkowanego zwierząt wielokomórkowych. Sądziłi też, że mogą one przewodzić metabolity do wszystkich części komórki. Fauré-Fremiet i wsp. [25] ustalili, że peryferyczne woreczki mionem i retikulum endoplazmatyczne są elementami tego samego systemu, wykazując, że błony woreczków na swej powierzchni skierowanej do cytoplazmy pokryte są rybosomami. Pęcherzyki wewnątrzmiomemalne mają natomiast błony gładkie, a wewnątrz ich wypełnia lekko elektronogęsty, homogeniczny materiał. U *Epistylis anastatica* pęcherzyki nie mają najprawdopodobniej ciągłości z woreczkami peryferycznymi. W dysku *Trichodinopsis paradoxa* Favard i wsp. [25] wyróżniają dwa typy systemów mikrofibrylarnych, z których tylko jeden posiada peryferyczne woreczki i tylko on uznany został przez autorów za kurczliwy. Favard i Carasso w serii trzech prac [13, 14, 27] dokładniej wyjaśnili strukturę i rolę tego związanego z mionemami retikulum, nazwanego przez nich tubulami. Dzięki bowiem utrwalaniu materiału aldehydem glutarowym, otrzymali oni obrazy nie woreczków czy pęcherzyków, a rurek (tubules) o średnicy 50 nm i długości 10  $\mu$ m. Przecinają one spasmonemę pod różnymi kątami, biegnąc w stałej od siebie odległości około 80 nm. Autorzy ci opisywali, że jeden koniec tubuli łączy się z warstwą cytoplazmy zawierającą mitochondria, podczas gdy drugi przylega ściśle do błony plazmatycznej. Ta ostatnia obserwacja potwierdzałaby wcześniejsze sugestie Sotelo i Trujillo-Cenoza [60], że tubule (czy pęcherzyki) mogą działać jako ścieżki, wzdłuż których może płynąć pobudzenie z błony plazma-



tycznej do miejsca uwalniania jonów wapnia. Hipoteza ta znalazła potwierdzenie, kiedy Carasso i Favard [13, 14] przez zastosowanie technik cytochemicznych wykazali akumulację jonów  $\text{Ca}^{2+}$  wewnątrz tych tubuli. Jednakże ani Amos [4], ani Allen [1, 2] nie znaleźli dowodów na kontaktowanie się tubuli z błoną cytoplazmatyczną. W przypadku mionem ciała, taka ścisła zależność przestrzenna niemożliwa jest ze względu na to, że struktury te oddzielone są od błony przez warstwę cytoplazmy i worki alweolarne. Jedyne wyjątki mogłyby stanowić miejsca, gdzie błona plazmatyczna wpukła się do wnętrza komórki, tworząc tzw. pory pellikularne. Jednakże brak tych porów na terenie nóżki *Peritricha* sprawia, że nie mogą być one traktowane jako struktury łączące błonę z elementami kurczliwymi. Allen [2] opisał natomiast tzw. kompleks łączący (linkage complex), towarzyszący zarówno mionemom, jak i spasmonemie *Vorticella convalaria*. Według tego autora struktury takie są również obecne u innych *Peritricha*. Kompleks łączący jest tworem granularno-fibrylarnym kontaktującym się z mionemą (czy spasmonemą) oraz związanym z nią systemem ER z jednej, a błoną plazmatyczną z drugiej strony.

#### SZYBKOŚĆ I ENERGIA SKURCZU SPASMONEMY

Jones i wsp. [41] filmując skręcanie się nóżki *Vorticella* za pomocą szybkiej kamery stwierdzili, że skurcz trwa u tego orzęska tylko 4 msek., podczas gdy faza rozkurczu trwa kilka sekund. Pomiarzy ich wskazywały, że spasmonema kurczy się w bardzo niewielkim stopniu. Jednakże ponieważ w *Carchesium* (którego spasmonema jest bardzo podobna) redukcja długości przy skurczu wynosi 36%, słuszne wydają się być przypuszczenia Amosa [4], że w przypadku *Vorticella* popełniono błąd spowodowany złymi warunkami optycznymi pomiaru. Spasmonema *Zootamium*, szczególnie wygodna do pomiarów ze względu na swe duże rozmiary, skraca się podczas skurczu do 45% swej długości początkowej, a tempo skurczu może sięgać 172 długości/sek. [6]. Rahat i wsp. [51] zmierzili siłę wytwarzaną przez nóżkę żywego osobnika *Carchesium* i wykazali, że napięcie w spasmonemie wynosi  $4 \times 10$  i  $8 \times 10 \text{ Nm}^{-2}$ . Dane te zgadzają się z wartością obliczoną teoretycznie na podstawie filmu Jonesa i wsp. [41]. Wartości te według Amosa i wsp. [6] są porównywalne z napięciem panującym w mięśniach. Natomiast nieporównalnie wyższe jest tempo skurczu.

#### WPLYW KATIONÓW DWUWARTOŚCIOWYCH NA SKURCZ SPASMONEMY

Levine [45] stwierdził, że jony wapnia, magnezu i manganu mogą indukować skurcz glicerynowanych komórek *Vorticella*, dodanie nato-

miast EDTA powoduje ich rozkurcz. Reakcja ta może być powtórzona wielokrotnie bez potrzeby dodawania ATP lub innego związku wysokoenergetycznego. Hoffmann-Berling [36] wykonując podobne doświadczenia wykazał, że jony  $Mg^{2+}$  i  $Be^{2+}$  nie mogą indukować skurczu, jony zaś  $Ca^{2+}$  działają w stężeniu mniejszym niż  $10^{-5}M$ . Efektywne są też według niego jony  $Sr^{2+}$  i  $Ba^{2+}$ . Autor ten sugerował, że jony wapnia neutralizują ładunki ujemne w długich cząsteczkach polimeru tworzącego mikrofibryle, powodując znikanie elektrostatycznych sił odpychania i pozwalając tym samym na fałdowanie się tych cząsteczek. W obecności buforu  $Ca^{2+}$ -EGTA [3] glicerynowane nóżki *Vorticella* kurczą się, jeśli poziom wolnych jonów wapnia jest wyższy niż  $4 \times 10^{-8}$ . Reakcja ta może być powtórzona wielokrotnie. Detergenty, inhibitory metabolizmu i związki rtęci nie mają wpływu na liczbę cykli, nawet jeśli obecne są podczas całego doświadczenia. Lantan i terb też indukują skurcz, ale ich stężenia progowe nie były mierzone. Jony magnezu nie zmieniają progowego poziomu wapnia, nawet jeśli obecne są w wielkim nadmiarze, jakkolwiek wysokie ich stężenie ( $5 \times 10^{-2}M$ ) blokuje skurcz nieodwracalnie. Wydaje się nieprawdopodobne, aby obecna była stale odpowiednio duża ilość wewnętrznego ATP, który dostarczałby energii potrzebnej do skurczu zachodzącego dzięki mechanizmowi odpornemu na tak wiele różnych inhibitorów. Amos [3] wysunął hipotezę, że źródłem energii może być różnica potencjałów chemicznych między roztworami o wysokiej i niskiej zawartości jonów wapnia.

#### POMIARY ZAWARTOŚCI WAPNIA W SPASMONEMIE

Routledge i wsp. [56] przy użyciu mikroanalizy rentgenowskiej zbadali zawartość wapnia w glicerynowanych spasmonemach *Zootamium* w czasie skurczu i wyciągnięcia. Wykazali oni, że skurczone organella zawierały zawsze około 1,7 g więcej wapnia na kg suchej masy niż wyciągnięte i ta ilość wapnia była mocno związana. Dane te zgodne są z teorią, że energia skurczu pochodzi z potencjału chemicznego jonów wapnia.

#### LOKALIZACJA I TRANSPORT WAPNIA W SPASMONEMIE

Ponieważ *Zootamium*, które ma spasmonemę o średnicy  $40 \mu m$ , reaguje na bodziec elektryczny skurczem po 8 msek. [6], niemożliwe jest, aby wapń potrzebny do tej reakcji był dostarczony drogą dyfuzji z zewnątrz. Natomiast reakcja ta jest w pełni zrozumiała, jeśli przyjmuje się, że następuje uwalnianie wapnia z tubuli towarzyszących spasmonemom.

Bez względu na źródło wapnia, następować musi gwałtowne przewodzenie bodźca (sygnału). Jedyłą dotychczas zaobserwowaną struktu-

ra, która mogłaby być odpowiedzialna za tę czynność, jest kompleks łączący opisany przez Allena [2]. Według tego autora część tego kompleksu wbudowana w błonę tubuli jest miejscem aktywnego pompowania wapnia. Interesujące jest, że gałęzie spasmonemy wchodzące do ciała komórki mogą być aktywowane niezależnie od części leżącej w nóżce [41], chociaż obie te części systemu kurczliwego mają identyczną strukturę i stanowią continuum. Sugeruje to, że uwalnianie wapnia musi zachodzić w różnych częściach komórki.

Amos i wsp. [6] sugerują, że masa filamentów spasmonemy jest „mechanochemiczną maszyną” skracającą się w odpowiedzi na wzrost stężenia jonów wapnia. Tłumaczy to doskonale nieproporcjonalnie długi okres rozciągania się (rzędu sekund w porównaniu z 2-4 msek. potrzebnymi na skurcz), który byłby fazą, kiedy energia metaboliczna zużywana jest na pompowanie wapnia do systemu tubuli. Filamenty natomiast wyprostowują się, ponieważ wapń jest z nich usuwany. Gwałtowne uwalnianie wapnia z tubuli (w sposób dotychczas nieznanym) powodowałoby skracanie się masy filamentów, uwalniając energię potencjału chemicznego nagromadzoną w długim czasie przez pompę.

#### BIAŁKA SPASMONEMY

Badania Amosa i wsp. [5] wykazały, że glicerynowane preparaty spasmonemy, zdolne do skurczu indukowanego wapniem, nie zawierają ani aktyny, ani tubuliny na poziomie, który można wykryć na żelu poliakrylamidowym. 60% stanowi białko o ciężarze cząsteczkowym około 20 000 daltonów składające się z dwóch podobnych podjednostek, którym autorzy nadali nazwę spasmin. Zawierają one dużą ilość kwasu asparaginowego i glutaminowego i ich pochodnych oraz serynę, mają natomiast nieliczne aminokwasy aromatyczne oraz pozbawione są cysteiny i metioniny. Podczas elektroforezy na żelu poliakrylamidowym z buforem wapniowym obserwowano, że ruchliwość elektroforetyczna spasmin była zredukowana specyficznym przez jony  $\text{Ca}^{2+}$  w tych samych niskich stężeniach, które indukują skurcz [5]. Sugeruje to, że spasminy są białkami wiążącymi wapń i mogą być bezpośrednio zaangażowane w skurcz spasmonemy.

#### MECHANICZNE I OPTYCZNE WŁAŚCIWOŚCI SPASMONEMY

Wyciągnięta spasmonema wykazuje dodatnią dwójłomność, która podczas skurczu spada do zera [3, 57]. Sugeruje to, że podczas skurczu następuje fałdowanie się molekuł polimeru wchodzącego w skład mikrofibryli, a nie ślizganie się tych ostatnich. Weis-Fogh i Amos [64] przeprowadzili optyczną i mechaniczną analizę izolowanych, glicerynowanych spasmonem *Zootamium*. Przy wysokim poziomie wapnia ( $10^{-5}\text{M}$ ) orga-

nellum to zachowuje się jak guma. Kiedy poziom wolnych jonów  $\text{Ca}^{2+}$  maleje do  $10^{-8}$  M, spasmonema wydłuża się aktywnie, wytwarzając mierzalną siłę pchania i staje się dwójłomna. Takie aktywne wyciąganie się spasmonemy obserwowano też w żywych *Peritricha*. Jeśli uniemożliwiono otoczce nóżki *Zootamium* rozfałdowywanie się po skurczu, spasmonema wydłużała się jednak i załamywała wewnątrz nóżki [16]. To samo zjawisko było też obserwowane w *Carchesium* [3].

#### MOLEKULARNA INTERPRETACJA ZJAWISKA SKURCZU SPASMONEMY

Wiele dowodów wskazuje, że skurcz spasmonemy zachodzi dzięki bezpośredniemu, wzajemnemu oddziaływaniu między wapniem i aparatem kurczliwym. Jest prawdopodobne, że podstawą skurczu jest zmiana konformacyjna spasminy, zachodząca podczas wiązania jonów wapnia. Wskazuje na to powinowactwo spasminy do jonów dwuwartościowych. Wiąże ona wapń w tym samym zakresie stężeń, w którym zachodzi skurcz glicerynowanych preparatów spasmonemy, i ma wysokie powinowactwo do wapnia w porównaniu z magnezem, który nie indukuje skurczu i nie rywalizuje o miejsce z wapniem. Zmiana ruchliwości elektroforetycznej spasminy może być konsekwencją zmiany konformacyjnej, która zachodzi pod wpływem wiązania wapnia. Pomiarzy za pomocą mikroanalizy rentgenowskiej wskazują, że każda molekula spasminy wiąże jeden lub dwa jony wapnia. Z tego powodu, jak również ze względu na to, że jest ona kwaśnym białkiem o niskim ciężarze cząsteczkowym, przypomina spasmina parwalbuminę z mięśni karpia i troponinę C. Amos i wsp. [6], zakładając, że gęstość białka wynosi  $810 \text{ daltonów/mm}^{-3}$ , wyliczyli, że średnica cząsteczki spasminy wynosi 3,6 nm, co w porównaniu z obserwowaną periodycznością poprzecznego prążkowania spasmonemy (3,5 nm) sugeruje, że filamenty mogą składać się z liniowo ułożonych cząsteczek spasminy. W takim przypadku byłoby możliwe, że skurcz spasmonemy byłby sumą pojedynczych zjawisk zachodzących niezależnie w poszczególnych cząsteczkach. Tłumaczyłoby to szybkie tempo skracania się spasmonemy, jak również prosty, niekooperatywny stosunek między stężeniem wapnia i stopniem skurczu.

Pomiary dwójłomności i stosunku długości do napięcia w izolowanych spasmonemach wykazują, że przy wysokich poziomach wapnia zachowują się one jak guma. Weis-Fogh i Amos [64] stwierdzili, że stosunki długość/napięcie w spasmonemie przy wysokim poziomie wapnia zgodne są z obliczeniami teoretycznymi przyjmującymi, że poszczególne połączenia w łańcuchu polipeptydowym są stałej długości i są elementami jednoosiowymi o stałej dwójłomności.

Teoria zakładająca, że spasmonema zachowuje się jak guma nie tłu-

maczy jednakże zachowania się tego organellum w niskim poziomie wapnia, kiedy pojawia się mechaniczna i optyczna anizotropia. Weis-Fogh i Amos [64] sugerowali, że w stanie wyciągniętym spasmonema utrzymywana jest podobnie jak kolagen przez mostki, które mogą być zniszczone przez jony wapnia. Jednakże w swej późniejszej pracy przyznają, że skoro wyciągnięta spasmonema jest tylko niewiele sztywniejsza niż w stanie skurczu — istnieje więc w obu stanach swoboda kinetyczna cząsteczek spasminy [6]. Trudno jest więc wyobrazić sobie, w jaki sposób mostki mogą być wbudowane w sposób uporządkowany powodując anizotropię. Ponadto autorzy ci wykazali, że dwójłomność spasmonemy nie może być uznana za wskaźnik konformacji łańcuchów polipeptydowych. Proponują więc inną hipotezę, głoszącą, że submolekularna struktura spasmonemy nie jest w żadnym stanie podobna do gumy, lecz każda jej podjednostka ma wysoko uporządkowaną konformację. W tym przypadku rozciągliwość wciąż istnieje, jeśli cząsteczki spasminy są połączone tworząc spiralne lub pofałdowane filamenty. Kiedy spasmonema jest biernie rozciągana, mostki wewnątrz cząsteczki mogą być rozciągnięte w niewielkim stopniu, co powoduje, że kąt połączenia z następną cząsteczką zmienia się lekko. Podobnie jak w metalowej sprężynie, małe wewnętrzne zmiany energii mogłyby odpowiadać znacznemu wydłużeniu struktury jako całości. Dalsze badania przy użyciu mikroskopu elektronowego i ewentualnie dyfrakcji promieni X mogłyby wyjaśnić, który z modeli jest bliższy prawdy.

### SKURCZ CIAŁA ORZĘSKÓW

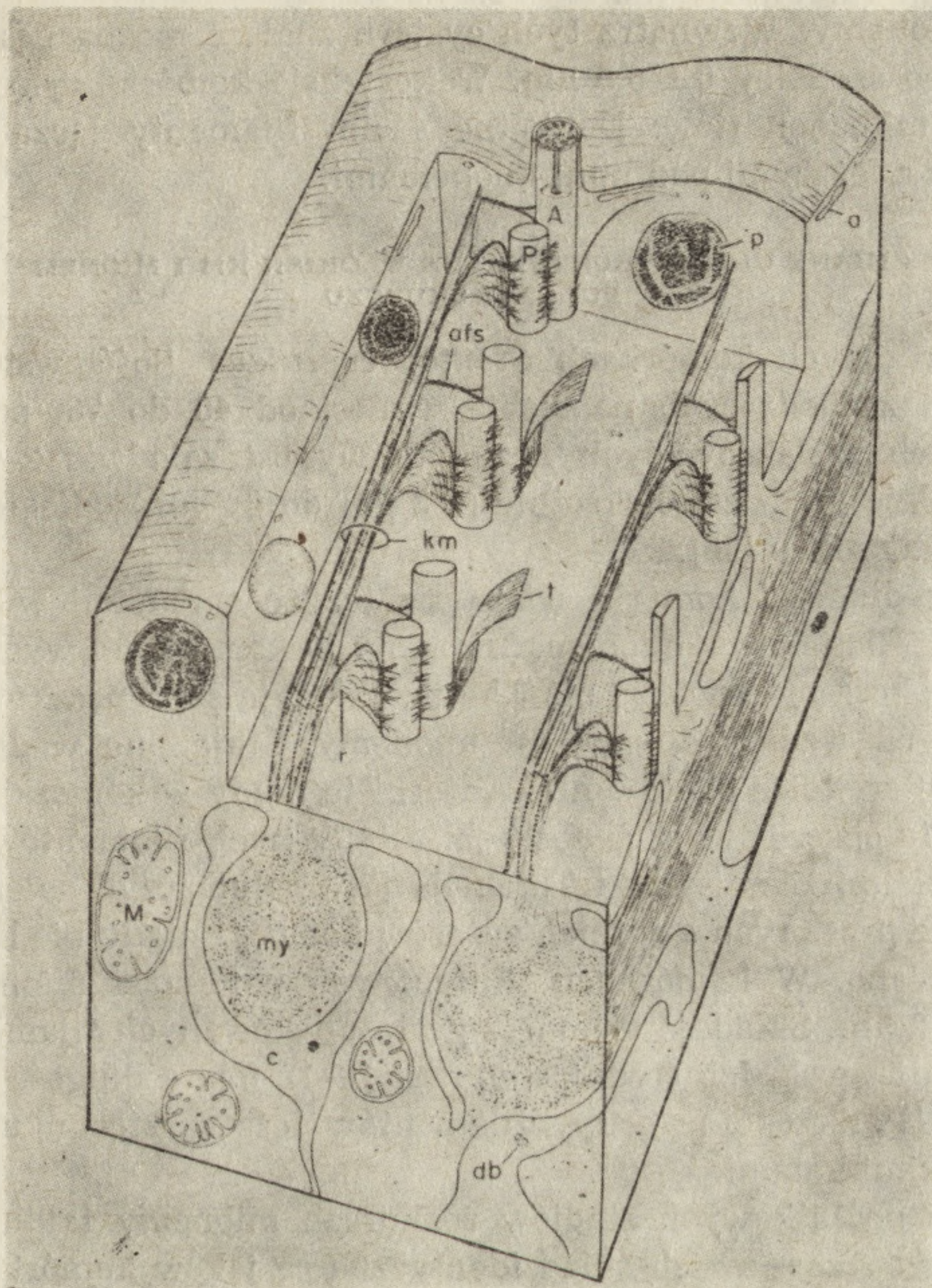
Zdolnością do gwałtownych zmian długości ciała charakteryzują się także niektóre orzęski z grupy *Heterotricha*. Do najlepiej wśród nich poznanych należą *Stentor* i *Spirostomum*. Wiele informacji na ten temat dostarcza praca Fabczaka [21]. Zwrócono w niej jednakże uwagę głównie na zjawiska pobudliwości. W tej zaś pracy pragnę zająć się przede wszystkim ultrastrukturalnymi aspektami skurczu.

### SKURCZE CIAŁA *STENTOR COERULEUS*

Ogromną kurczliwość *Stentora* przypisuje się dwóm systemom biegnącym wzdłuż ciała orzęska w korteksie komórkowym. Struktury te były początkowo badane w mikroskopie świetlnym i opisane w pracach monograficznych Taylora [62] i Tartara [61]. Nie było jednakże wtedy możliwe wyciągnięcie wniosków dotyczących funkcji kurczliwości, związanych z opisywanymi systemami. Pierwsze badania przy użyciu mikroskopu elektronowego przeprowadzili Fauré - Fremiet i wsp. [23] i Fauré -

Fremiet i Rouiller [24]. Autorzy ci uznali, że oba obserwowane przez nich systemy włókniste biorą udział w skurczu zwierzęcia. Randall i Jackson [54] nazwali jeden z tych systemów, o charakterze mikrotubularnym, włóknami kinetodesmalnymi (km), drugi zaś, filamentowy — mionemami [M]. Z obserwacji ich wynikało, że oba te rodzaje struktur zachowują się identycznie: podczas skurczu skracają się i pozostają proste, podczas gdy w czasie relaksacji fałdują się. Podobne wnioski wysnuli również Bannister i Tatchell [7] na podstawie obserwacji przy użyciu mikroskopu świetlnego. Autorzy ci przeprowadzili również badania za pomocą mikroskopu elektronowego stwierdzając, że mionemy w części dystalnej pierwotniaka tworzą wyraźnie od siebie oddzielone pęczki, w części adoralnej natomiast łączą się ze sobą licznymi odgałęzieniami. Obserwowali również połączenia filamentowe między mionemami i kinetosomami oraz włóknami km i kinetosomami, jak również między mikrotubulami sąsiednich wiązek we włóknach km. Autorzy ci przeprowadzili również pierwsze próby porównania ultrastruktury osobników skurczonych i zrelaksowanych. W tym celu przed utwaleniem część orzęsków oziębiali do temperatury około  $0^{\circ}\text{C}$  lub zatapiali w żelatynie, co zapobiegało kurczeniu się pierwotniaków pod wpływem utwalacza. Na podstawie obserwacji tak przygotowanych obiektów doszli do wniosku, że podczas zmian długości ciała pierwotniaka wiązki mikrotubuli ślizgają się względem siebie. W późniejszej pracy ci sami autorzy [8] zajęli się bardziej szczegółowo ultrastrukturą mionem w osobnikach skurczonych i wyciągniętych, dzięki zastosowaniu przed utwaleniem środowiska o zwiększonej sile jonowej i wysokim stężeniu jonów jednowartościowych w stosunku do dwuwartościowych. W obu rodzajach preparatów obserwowali w mionemach rurkowate mikrofibryle o średnicy 8 nm, które stanowiły większość, oraz niewielką ilość filamentów o średnicy 3–5 nm. Mikrofilamenty skurczonych mionem leżały w mniejszych od siebie odległościach niż w mionemach osobników wyciągniętych. Na tej podstawie autorzy wysnuli wniosek, że podczas skurczu mikrofilamenty nie przechodzą wewnętrznych zmian konformacyjnych, a zmieniają tylko swoje położenie względem osi komórki.

Lepsze rezultaty otrzymywania komórek w stanie wyciągniętym dała metoda zastosowana przez Huang i Pitelkę [38]. Przed utwaleniem część komórek poddawana była wpływowi roztworu zawierającego 10 mM EGTA, 50–80 mM Tris, 3 mM  $\text{MgSO}_4$ , 7,5 mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$  i 10 mM buforu fosforanowego ( $\text{pH} = 7,1$ ). Na podstawie pracy tych autorek oraz wcześniejszych badań [7, 23, 24, 31, 40, 54] odtworzyć można dokładnie organizację struktur włóknistych *Stentora* (ryc. 2). Tuż pod powierzchnią komórki biegną, ułożone wzdłuż długiej osi ciała pierwotniaka, widoczne na całej długości komórki włókna km. Każde z nich składa się z leżących



Ryc. 2. Budowa korteksu *Stentor coeruleus* [28]

a — alweole pellikularne, p — granule pigmentu, A — kinetosom urzęsiony, P — kinetosom nie urzęsiony, km — włókno km, r — wstęga mikrotubuli, afs — przednie pasmo włókniste, t — włókno transwersalne, my — mionema, c — cysterna retikulum endoplazmatycznego, db — elektronowo gęste ciało

równoległe, zachodzących na siebie częściowo wstęg mikrotubuli. W swej przedniej części wiążą się one z nieurzęsionym kinetosomem, gdzie widoczny jest jeszcze jeden system włóknisty. Większość wstęg składa się z 20 mikrotubuli ułożonych w rzędzie. Liczba ta maleje w dystalnej części wstęgi. Połączenia między mikrotubulami sąsiadujących wstęg występują jedynie w przedniej części włókna km.

Bezpośrednio pod włóknami km leżą mionemy składające się z filamentów tworzących pęczki w tylnej części komórki, a niezorganizowaną sieć — w przedniej. Mionemy z trzech stron otoczone są kanałami gładkiego retikulum endoplazmatycznego penetrującymi nawet czasem do

wnętrza mionemy. Wewnątrz tych cystern znaleźć można gęste elektro-nowo ciała o średnicy 0,1–0,5  $\mu\text{m}$ . W korteksie komórkowym występują też grupy mitochondriów. Delikatne 4 nm filamenty łączą krawędzie włókien km z leżącymi pod nimi mionemami.

#### ZMIANY ULTRASTRUKTURALNE WŁÓKIEN KM I MIONEM PODCZAS SKURCZU

W skurczonych komórkach *Stentor coeruleus* ilość wstęg mikro-tubularnych zachodzących na siebie wynosi od 40 do 78, podczas gdy w komórkach zrelaksowanych liczba ta wynosi zaledwie 2–6. Podczas skurczu maleje aż dziesięciokrotnie (z 3  $\mu\text{m}$  do 0,3  $\mu\text{m}$ ) odległość między parami kinetosomów [38].

Zmiany długości komórki wiążą się też ze zmianami w strukturze i organizacji filamentów mionem. Mionemy w komórkach wyciągniętych, mające szerokość nie większą niż 0,5  $\mu\text{m}$ , składają się z pęczków filamentów ułożonych wzdłuż długiej osi mionemy. Mają one według Huang i Pitelki [38] średnicę około 4 nm. Autorki te nigdy w komórkach zrelaksowanych nie obserwowały grubszych, tubularnych filamentów. Sprzeczność z wynikami Bannistera i Tatchella [7, 8] tłumaczyć należy faktem, że utrwalane przez tych ostatnich autorów komórki nigdy nie były w pełni zrelaksowane. W komórkach skurczonych natomiast mionemy mają średnicę aż 2  $\mu\text{m}$ . Składają się one z gęsto upakowanych filamentów mających kształt rurek. Ich średnica wynosi 10–12 nm, a długość nie więcej niż 0,1  $\mu\text{m}$ . Poszczególne grupy filamentów leżą w stosunku do siebie pod niewielkimi kątami.

Podczas początkowych stadiów rozkurczu mionemy fałdują się, zaś filamenty wchodzące w ich skład identyczne są jak w komórkach całkowicie zrelaksowanych. Ułożone są one równolegle do osi mionemy, zgodnie z jej wycięciami [38].

Włókna km natomiast, w komórkach częściowo tylko wyciągniętych, przypominają włókna w komórkach skurczonych.

Ponieważ rozkurczanie się mionem wyprzedza wydłużanie się włókien km, a oba te systemy są połączone, w pierwszej fazie rozkurczu następuje fałdowanie się mionem „przytrzymywanych” przez włókna km. Podczas wydłużania się włókien km rośnie stopniowo odległość pomiędzy poszczególnymi miejscami połączeń z mionemą i następuje rozfałdowanie się tej ostatniej.

#### FIZJOLOGIA, WŁAŚCIWOŚCI OPTYCZNE I MECHANICZNE MIONEM

Zmiany obserwowane w morfologii filamentów podczas skurczu nie przemawiają za mechanizmem polegającym na ślizganiu się filamentów względem siebie. Również właściwości optyczne wskazują, że



w przypadku mionem *Stentora* mechanizm ich działania jest raczej taki, jak w przypadku *Peritricha*, wykazują one bowiem dwójłomność dodatnią w stosunku do ich długości [42].

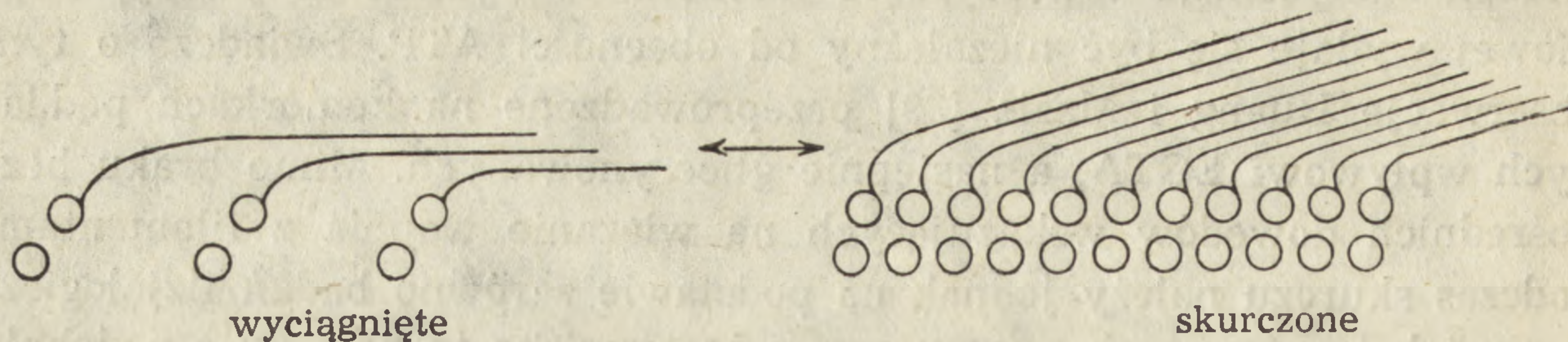
Stan kurczliwości mionem *Stentora* zależy od obecności dostępnych jonów wapnia. Komórki kurczą się zawsze pod wpływem utrwalania za pomocą aldehydu glutarowego. Zjawisko to nie zachodzi natomiast, jeżeli zostaną one przedtem poddane wpływowi EGTA [37, 38]. 10 mM EGTA sprawia również, że komórki nie reagują skurczem nawet na tak silny bodziec, jak cięcie. Inkubacja w roztworach zawierających 10 mM EGTA przez 10–15 min powoduje również gwałtowną utratę różnych funkcji życiowych komórek. Przeniesienie ich do środowiska nie zawierającego EGTA nie powoduje renormalizacji tych zjawisk [39]. Jednakże w tych samych warunkach mionemy nie tracą swych zdolności kurczliwych. Komórki poddane wpływowi EGTA, a następnie przeniesione do środowiska zawierającego powyżej  $10^{-7}M$   $Ca^{2+}$  przechodzą stopniowy skurcz podobny do obserwowanego w żywych komórkach. Zjawisko to nie zachodzi, jeżeli ilość jonów wapnia w środowisku jest niższa. Skurcz może też być indukowany, jeżeli obecne są jony  $Ba^{2+}$  i  $Sr^{2+}$  w stężeniu podobnym, jakie potrzebne jest dla jonów  $Ca^{2+}$ . Natomiast obecność jonów  $Mg^{2+}$  nawet w stężeniu  $10^{-2} M$  nie wywołuje skurczu. Obserwacje przeprowadzone za pomocą mikroskopu elektronowego wskazują, że morfologia mionem poddanych wpływowi EGTA, a następnie skurczonych pod wpływem jonów  $Ca^{2+}$ , jest taka sama, jak włókien w żywych komórkach utrwalonych podczas skurczu [38]. Również zachowanie się i morfologia mionem rozkurczonych pod wpływem usuwania ze środowiska jonów  $Ca^{2+}$  jest taka sama, jak w żywych, wydłużających się pierwotniakach. Te obserwacje wskazują, że musi istnieć mechanizm zmieniający stężenie wolnych jonów wapnia wewnątrz komórki. Ponieważ *Stentor* nie traci zdolności do skurczu w środowisku pozbawionym wapnia, należy wykluczyć przypuszczenie, że aktywacja mionemy zależy jedynie od przepływu wapnia przez błonę komórkową. Zmiany poziomu wolnych jonów  $Ca^{2+}$  wewnątrz komórki mogą być powodowane przez uwalnianie się lub wychwytywanie wapnia przez woreczki retikulum endoplazmatycznego towarzyszące mionom. System aktywacji wapniowej wydaje się być niezależny od obecności ATP. Świadczą o tym obserwacje Huang i Mazia [39] przeprowadzone na komórkach poddanych wpływowi EGTA, a następnie glicerynowanych. Mimo braku bezpośrednich dowodów wskazujących na wiązanie wapnia z filamentami podczas skurczu należy jednak na podstawie zarówno badań fizjologicznych, jak i optycznych przypuszczać, że zjawisko to następuje podobnie jak w przypadku *Peritricha*.

## MODEL SKURCZU FILAMENTOWEGO MIONEM STENTORA

Ponieważ średnica ścianki tubularnych filamentów obserwowanych w skurczonych komórkach *Stentor coeruleus* jest taka sama jak średnica filamentów w zrelaksowanych komórkach, Huang i Pitelka [38] przypuszczają, że w obu wypadkach mamy do czynienia z tymi samymi włóknami, ale w różnych stanach. Podstawą tej zmiany może być albo liniowa agregacja, albo spiralne zwijanie się filamentów podczas skurczu. Ponieważ agregacja nie tłumaczyłaby znacznego skracania się filamentów podczas skurczu, autorki skłaniają się ku hipotezie, że za zmianę odpowiedzialne jest zwijanie się filamentów.

## ŚLIZGANIE SIĘ MIKROTUBULI WE WŁÓKNACH KM

Huang i Pitelka [38] na podstawie prac swych poprzedników oraz swoich wyciągnęły hipotezę ślizgania się mikrotubuli włókien km (ryc. 3). We włóknach *Stentor coeruleus* każda wstęga mikrotubuli ślizga się względem wstęgi przyległej tak, że równocześnie ze zmianą stopnia zachodzenie mikrotubuli na siebie następuje zmiana odległości między punktami początkowymi przylegających wstęg i zmiana ilości zachodzących na siebie wstęg widocznych w przekroju poprzecznym włókna. Ta ostatnia zmiana jest odpowiedzialna za zmiany wymiaru włókna km towarzyszące zmianom długości komórki. Parametry możliwych zmian położenia wstęg mikrotubularnych zależą od geometrii całego systemu. Ponieważ każda wstęga w swej przedniej części przyczepiona jest do ciała bazalnego, maksymalne skrócenie może być zdefiniowane przez minimalną, możliwą odległość między środkami przyległych kinetosomów (około  $0,3 \mu\text{m}$ ). Maksymalne ślizganie się, które może zachodzić między sąsiadującymi wstęgami podczas skurczu, jest określone przez długość ślizgających się komponentów. Jednakże z pracy Huang [37] wynika, że w praktyce odległości te są mniejsze niż teoretycznie możliwe. Przy czterokrotnym wzroście długości komórki każda wstęga mikrotubularna ślizga się w stosunku do przylegającej na odległość około  $2,0 \mu\text{m}$ . Połączenia widoczne między mikrotubulami mogłyby być aktywnymi, mechanochemicznymi jednostkami działającymi w sposób analogiczny do mięśniowych mostków poprzecznych (cross-bridges), pchając

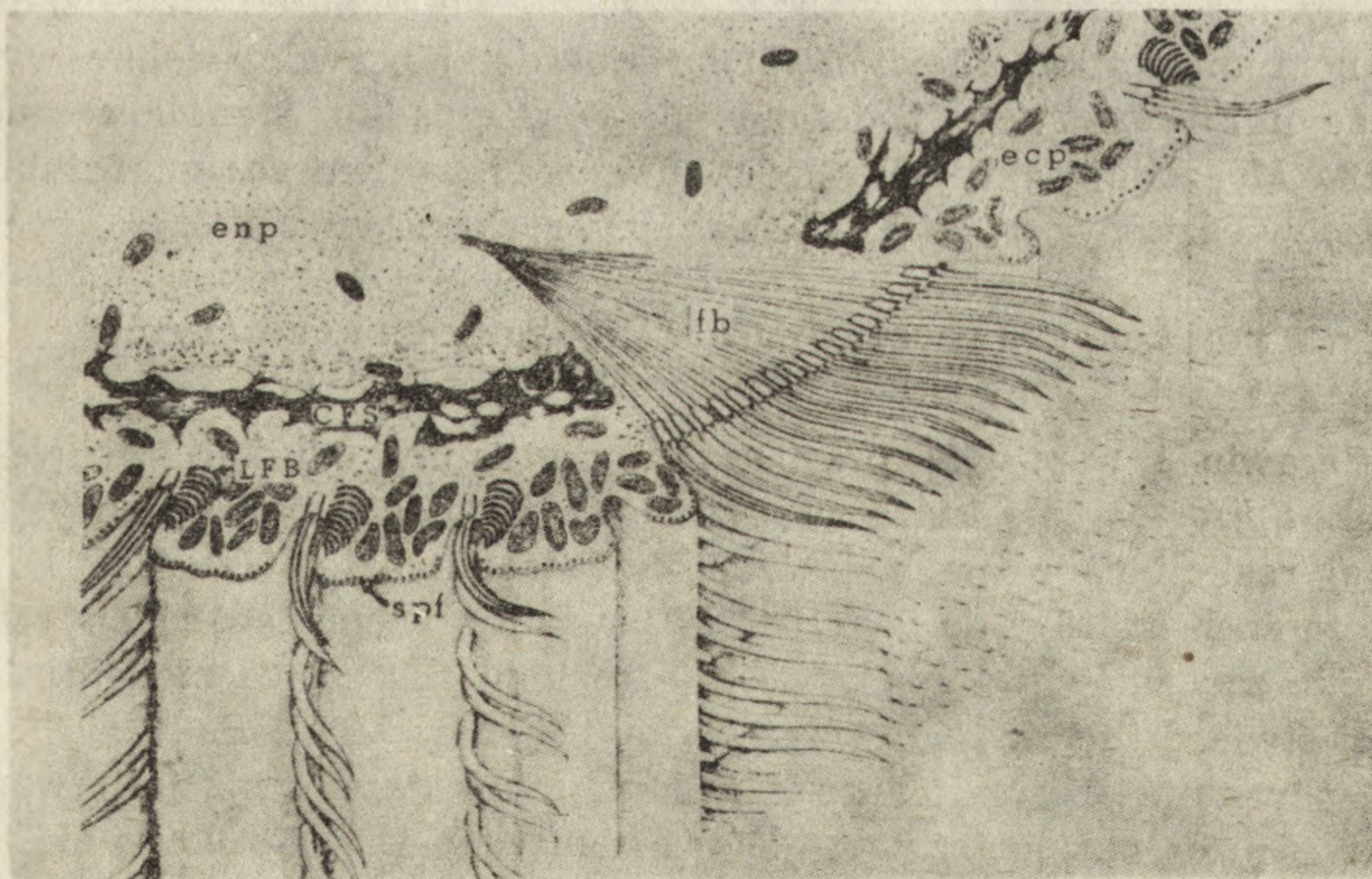


Ryc. 3 Schemat ślizgania się mikrotubuli we włóknie km *Stentor coeruleus* [38]

wstęgi względem siebie. Tę hipotezę potwierdzają obserwacje, że struktura i orientacja połączeń między wstęgami różni się w komórkach utrwalanych w różnych stadiach procesu skurczu [39]. Podczas skurczu komórki mostki odczepiają się, aby pozwolić na przemieszczenie się wstęg. W mostkach może znajdować się białko podobne do dyneiny, związane z aktywacją ślizgania się mikrotubuli podczas procesu rozkurczu.

#### SKURCZ CIAŁA SPIROSTOMUM

Pierwsze badania organelli kurczliwych *Spirostomum* przy użyciu mikroskopu elektronowego przeprowadzone zostały przez Finleya [28, 29]. Opisał on pasma włókien o charakterze mikrotubularnym biegnące wzdłuż ciała orzęska i łączące się z błoną komórkową. Podobne wyniki otrzymał wkrótce potem Randall [52, 53], który również jako mionemy potraktował pasma tubuli o średnicy 25 nm. Dalsze badania struktury układu pelikularnego przeprowadzili Yagiu i Shigenaka [66, 67]. Jako pierwsi stwierdzili oni, że mionemom, czyli strukturom odpowiedzialnym za skurcz, odpowiada raczej znaleziona przez nich warstwa filamentów leżąca na pograniczu ekto- i endoplazmy, a nie układ mikrotubularny (ryc. 4). System kurczliwy składa się z sieci filamentów o śred-



Ryc. 4. Budowa warstw powierzchniowych *Spirostomum ambiguum* [67]

LFB — podłużne pęczki fibrylarne (włókno kinetodesmalne, CFS — kurczliwy system włóknisty (mionema, spf — włókna podpelikularne, enp — endoplazma, ecp — ektoplazma, fb — fragment włókien aparatu gębowego

nicy 3–4 nm. Towarzyszą jej pęcherzyki gładkiego retikulum endoplazmatycznego. System mikrotubuli natomiast nazwany został przez tych autorów podłużnymi pęczkami włóknistymi i odpowiada kinetodesmie innych orzęsków. Według tych autorów jest to struktura zachowująca się podczas skurczu biernie. Bezpośrednio pod powierzchnią komórki *Spirostomum* Yagiu i Shigenaka [66, 67] odkryli trzeci układ fibrylarny składający się z elementów o przekroju 20–26 nm. Funkcja tego układu według nich polega na działaniu przeciwnym do układu mionemalnego lub też powoduje spiralizację komórki podczas skurczu. Podobne obrazy kompleksu pelikularnego *Spirostomum* otrzymali także Finley i wsp. [30]. Jako mionemy traktowali oni jednak zarówno struktury filamentowe, jak i mikrotubularne. Nie podali też żadnych hipotez dotyczących ich działania. Większej ilości informacji dostarczają natomiast prace Legranda [43] i Lehmana i Rebhuna [44], którzy użyli do swych badań zarówno mikroskopu elektronowego, jak i świetlnego. Potwierdzili oni istnienie w komórce *Spirostomum* włókien kinetodesmalnych, które — zgodnie z terminologią wprowadzoną dla *Stentora* — nazwali włóknami km. Struktury filamentowe, nazwane przez tych autorów włóknami M, tworzą ciągłą warstwę w postaci cylindra na całej długości komórki. Przeprowadzili oni również porównanie preparatów otrzymanych z komórek skurczonych i wyciągniętych. Nie pozwoliło to jednak na ustalenie roli, jaką w czasie skurczu odgrywa układ filamentowy i tubularny, ale autorzy sugerowali, że skracanie się komórek zachodzi dzięki włóknom mikrofilamentowym (M). Najbardziej prawdopodobne wydaje się, że u *Spirostomum*, podobnie jak w przypadku *Stentor coeruleus*, włókna M działają aktywnie podczas skurczu, system zaś mikrotubularny odpowiedzialny jest za powstawanie sił rozkurczowych.

#### MOLEKULARNE PODSTAWY DZIAŁANIA WŁÓKIEN KURCZLIWYCH SPIROSTOMUM

Serawin i wsp. [58] przy użyciu digitoniny uzyskali modele komórek *Spirostomum*, które w roztworze fizjologicznym nie wykazują żadnej reakcji na różne bodźce. Wprowadzenie natomiast ATP i  $Mg^{2+}$  w stężeniach od  $10^{-3}$  do  $5 \times 10^{-3}$  M powoduje wznowienie bicia rzęsek. Dodanie zaś jonów wapnia wywołuje reakcję skurczową modelu. Autorzy ci stwierdzili też, że również obecność jonów  $Mg^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  i innych powoduje skurcz, jednakże w mniejszym stopniu niż jony wapnia. Mocny skurcz można też wywołać za pomocą NAD. Nie udało się natomiast spowodować relaksacji modeli ani za pomocą EDTA, ani ATP, który rozkurcza modele *Peritricha*. Dodanie do modeli *Spirostomum* KCl o dużej sile jonowej (wypłukującego miozynę z modeli mięśniowych) powoduje brak reakcji rzęskowej po dodaniu  $Mg^{2+}$  i ATP, natomiast nie ma

wpływu na pojawienie się reakcji skurczowej po dodaniu jonów  $\text{Ca}^{2+}$  [58]. Wskazywałoby to, że miozyna może występować w organellach ruchu, natomiast brak jej jest w układzie kurczliwym. Według tych autorów nie ulega jednak wątpliwości, że mionemy *Spirostomum* zawierają F-aktynę. Dalszych wiadomości na temat roli wapnia w procesie skurczu *Spirostomum* dostarcza praca Etienne'a [17]. Zastosował on mikroiniekcję do cytoplazmy *Spirostomum* bioluminiscencyjnego białka — aquoriny, która w obecności zjonizowanego wapnia emituje światło widzialne. Rejestracja zmian świecenia aquoriny wewnątrz cytoplazmy po stymulacji elektrycznej wykazała, że zapoczątkowanie skurczu ciała *Spirostomum* następuje wtedy, gdy w cytoplazmie pojawi się określona ilość wolnych jonów wapnia. Jak wykazali Hawkes i Holberton [34] poziom ten wynosi  $10^{-5}$  M.

Wydłużanie się komórki *Spirostomum* wiąże się ze spadkiem natężenia świecenia aquoriny, a więc z obniżeniem poziomu wolnego wapnia. Jeżeli poziom jego jest niższy niż  $10^{-7}$  M, nie można wywołać skurczu ciała *Spirostomum* [34]. Hawkes i Holberton [35] obliczyli, że teoretycznie mała ilość jonów  $\text{Ca}^{2+}$  musi wiązać się z filamentami kurczliwymi, aby wytworzyć energię potrzebną do skurczu. Wiadomo też, że błony wchodzące w skład układu pellikularnego *Spirostomum* odznaczają się wysoką opornością właściwą [17]. Czas między początkiem działania bodźca a początkiem reakcji jest bardzo krótki (nie więcej niż 20 msek.), a oporność błony nie ulega wtedy zmianie [34]. Wszystkie te dane wskazują, że w procesie skurczu wapń ze środowiska zewnętrznego nie bierze bezpośredniego udziału. Potwierdza to fakt, że aktywność skurczowa *Spirostomum* występuje również w środowisku pozbawionym wapnia [20]. Jednakże w środowisku bezwapniowym okres latencji (czas między początkiem działania bodźca a początkiem reakcji) ulega stopniowemu wydłużeniu [17], co wskazuje, że w warunkach tych następuje obniżenie poziomu wapnia cytoplazmatycznego, brak jest natomiast możliwości jego uzupełnienia. Liczne twory wakuolarne, obserwowane w cytoplazmie *Spirostomum* [15, 63, 65], mogą służyć jako miejsca akumulujące wapń. Etienne i Dickstein [18] zwracają uwagę, że jedynie faza skurczu niezależna jest od obecności ATP. Gromadzenie zaś i przechowywanie jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w obrębie retikulum endoplazmatycznego wymaga poboru energii. Obserwowany brak relaksacji w obecności inhibitorów metabolizmu [18, 19] powodowany jest zahamowaniem dopływu energii potrzebnej do akumulacji jonów wapnia.

Jak wynika z przedstawionych badań, podstawą kurczliwości ciała *Heterotracha* jest współdziałanie dwóch systemów: mionem i włókien km. Powstawanie siły potrzebnej do skurczu tych orzęsków wiąże się najprawdopodobniej ze zmianami w makromolekularnej konformacji fila-

mentów w mionemie, indukowanym wapniem. U *Stentor coeruleus* zmiany te obrazuje odwracalne przejście filamentów w krótsze, tubularne formy. Zmiany przestrzenne we włóknach km są generowane przez ślizganie się elementów tych włókien względem siebie. Zmiany morfologii połączeń między tymi komponentami sugerują, że działają one w procesie wyciągania się komórki albo tworząc siły ślizgania potrzebne do aktywnego przemieszczenia sąsiadujących ze sobą wstęg mikrotubularnych, albo regulując stopień tego ślizgania się.

#### RUCHY AKSOSTYLI NIEKTÓRYCH WICIOWCÓW

Dużej ilości informacji dotyczących mechanizmów ślizgania się mikrotubuli względem siebie dostarczają prace dotyczące badań aksostyli. Aksostyl jest to organellum występujące u wiciowców z rodziny *Pyrsonimphidae*, pasożytujących w jelicie termitów. Ma on kształt wstęgi lub pałeczki biegnącej przez całą długość komórki. Zdolny jest do przesuwających się wzdłuż całej jego długości ruchów typu zginania, powodujących zmianę kształtu całej komórki, co z kolei sprawia, że cały organizm porusza się.

Grassé [32] pierwszy opisał ultrastrukturę tego organellum i przyrównał ją do włókien obserwowanych u *Spirostomum*. Grimstone Cleveland [33] natomiast podkreślali podobieństwo elementów tej struktury z elementami wici, nie nazywając ich jednakże mikrotubulami. Opisy podane przez tych autorów potwierdzone zostały przez późniejsze badania Brugerolle [12]. Szczegółowych danych na temat ultrastruktury aksostylu, ale bez interpretacji dotyczącej jego funkcjonowania, dostarcza praca McIntosha i wsp. [49] przeprowadzona na dwóch gatunkach *Saccinobaculus*. Wyjaśnili oni, że opisywany już przedtem, znajdujący się w przedniej części aksostylu twór w kształcie pałeczki stanowi rząd mikrotubuli połączonych z centriolami. Z nim łączy się tzw. pierwotny rząd mikrotubuli (primary row), leżący na całej swej długości najbliżej powierzchni komórki. Przednią jego część otacza palisada utworzona z leżących do siebie równolegle, połączonych tubuli. Struktura ta odpowiada opisywanej przedtem [33] cienkiej płytce (thin lamella). Równolegle do rzędu pierwotnego biegną inne rzędy mikrotubuli tworzące cały aksostyl. Mikrotubule jednego rzędu połączone są ze sobą z periodycznością charakterystyczną dla danego gatunku. Połączenia pomiędzy rzędami są rzadsze. Tylna część aksostylu na 1/5–1/10 swej długości pokryta jest otoczką zbudowaną z 25 nm tubuli połączonych ze sobą, podobną do otoczki przedniej. Otoczki te mogą spełniać rolę przyczepienia aksostylu [33, 49].

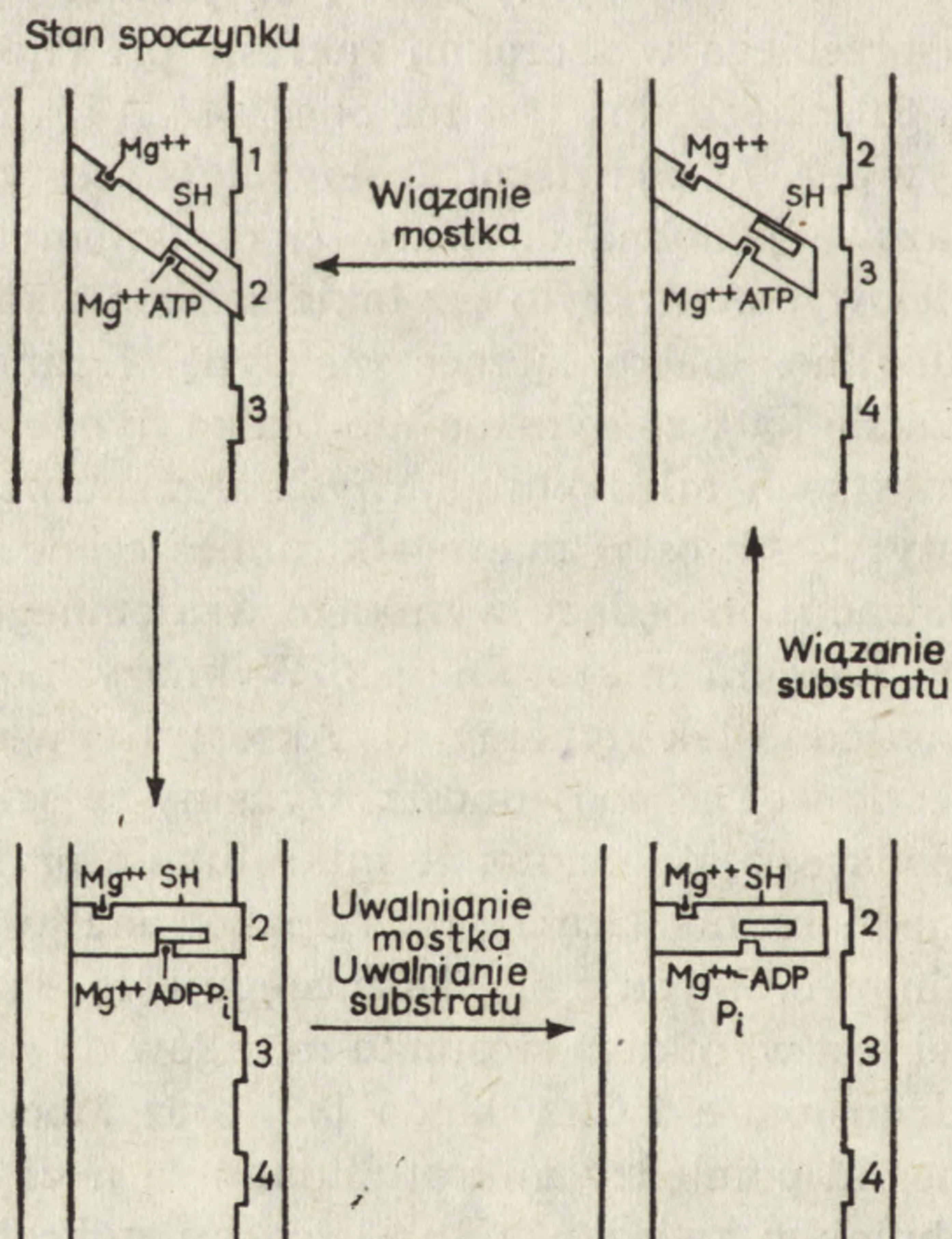
McIntosh [48] porównał strukturę aksostylu w miejscu zgięcia

i w części wyprostowanej. Stwierdził, że przekrój poprzeczny niezgiętego aksostylu ma kształt różka, który spłaszcza się przy zgięciu. Pomiary dyfrakcji optycznej na elektronogramach przedstawiających aksostyl w miejscu zgięcia wykazały, że podczas zginania się aksostylu mikrotubule ślizgają się względem siebie. W niektórych przypadkach autor obserwował też kurczenie się mikrotubuli leżących po wewnętrznej stronie zgiętej części aksostylu. Postuluje jednakże, że samo ślizganie się mikrotubuli jest wystarczające do spowodowania zgięcia aksostylu. Podobne wyniki, dotyczące struktury mikrotubuli i łączących je mostków, otrzymali Bloodgood i Miller [9] używając techniki „freeze - fracture”. U *Pyrosomypha* stwierdzono też obecność sieci filamentów związanych z pierwotnym rzędem mikrotubuli [10].

#### MECHANIZM ŚLIZGANIA SIĘ MIKROTUBULI AKSOSTYLU

Moosaker i Tilney [50] izolowali aksostyle za pomocą *Tritonu X 100*. Zdolne one były do normalnego ruchu w tych samych warunkach, w jakich następuje reaktywacja ruchu wici plemników. Zjawisko to wymaga obecności jonów dwuwartościowych. Najlepsze rezultaty dają jony  $Mg^{2+}$ , podczas gdy  $Ca^{2+}$  są nieefektywne i hamują aktywację powodowaną przez  $Mg^{2+}$ . Stymulująco działają też jony  $Mn^{2+}$ , są jednak mniej efektywne niż  $Mg^{2+}$ . Reakcja przebiega w szerokim zakresie pH (7,5–9,6) przy optimum wynoszącym 8,3. Niezbędna jest też obecność ATP. ITP i GTP mają bardzo mały wpływ na to zjawisko. Izolowane aksostyle wykazywały aktywność ATP - azową podobną do wartości otrzymanych dla aksonem rzęskowych czy wiciowych. Wykryto też takie same białka, jak w aksone-mach: dyneinę, tubulinę, białko łączące (neksynę) i inne białka drugorzędne. Przypuszcza się [50], że dyneina lub białko dyneinopodobne zlokalizowane jest w mostkach międzytubularnych. Przemawiają za tym następujące argumenty: 1. Aksostyl ma mostki umieszczone w odpowiedniej pozycji, aby generować ruch będący wynikiem wzajemnego oddziaływania między przyległymi rzędami mikrotubuli; 2. Wymiary mostków odpowiadają rozmiarom podjednostek dyneiny; 3. Aksostyl zawiera białko o tej samej masie cząsteczkowej co podjednostki dyneiny rzęsek i wici. Moosaker i Tilney [50] podkreślają ponadto, że mikrotubule przyległych rzędów nie są upakowane jednorodnie. Część z nich upakowana jest heksagonalnie, a część — prostoliniowo. Wydaje się, że następuje to dzięki wklęsnięciu aksostylu, co z kolei jest wynikiem stosunku mostków do sąsiednich mikrotubuli. Ze zdjęć Grimstone'a i Clevelanda [33] oraz Moosakera i Tilneya [50] wynika, że mostki pomiędzy mikrotubulami są nachylone. Pozostaje to najprawdopodobniej w związku z substrukturą mikrotubuli (tzn. nierówną ilością podjednostek). W każdym razie, w związku z tworzeniem się wklęsnięcia w nieaktywnym aksostylu, odległości między tubulami jed-

nego rzędu i rzędu sąsiedniego różnią się i to nie pozwala na tworzenie się maksymalnej ilości mostków. Może to natomiast zachodzić, kiedy wstęga aksostylu jest spłaszczona. Z badań McIntosha i wsp. [47] wynika, że aksostyl jest spłaszczony w rejonie aktywnym. Spłaszczenie to posuwa się wzdłuż aksostylu wraz z aktywną falą, co pozwala na maksymalną interakcję mikrotubuli przyległych rzędów w tym właśnie miejscu. Dodatkowym dowodem na tego rodzaju przebieg zjawiska aktywacji aksostylu są obserwacje Longforda (cytowane w pracy Moosakera i Tilneya [50]) wskazujące, że spłaszczenie *in vivo* części aksostylu wywołuje ruch, który propagowany jest z tego miejsca w dwóch kierunkach. Bloodgood [11] na podstawie obserwacji przy użyciu mikroskopu elektronowego oraz badań biochemicznych postuluje również, że aktywność ATP-azowa zlokalizowana jest w mostkach między rzędami mikrotubuli. Natomiast mostki wewnątrzrzędowe są — zdaniem tego autora — miejscem mechanochemicznej transdukcji. ATP i jony dwuwartościowe potrzebne są do wytwarzania się mostków w miejscu aktywacji (odwrotnie niż w mięśni prążkowanym i wici plemnika jeżowca, gdzie gwałtowna redukcja stężenia ATP powoduje wytwarzanie mostków, a obecność ATP — ich uwalnianie).



Ryc. 5. Model aktywności mostków międzyrzędowych aksostylu [11]

1 — nadejście fali zgięcia, 2 — aktywacja ATP-azy, 3 — hydroliza ATP, 4 — transdukcja mechanochemiczna



Ryc. 5 przedstawia zaproponowany przez Bloodgooda [11] model cyklicznej aktywacji mostków międzyrzędowych podczas propagacji zgięcia aksostylu. Zakłada on, że każdy taki mostek międzyrzędowy posiada miejsce wiązania mikrotubuli na każdym końcu, z jednej strony jednak wiąże się z mikrotubulą silniej niż z drugiej. Postuluje też, że każdy taki mostek ma miejsce wiązania kompleksu kation-nukleotyd, miejsce wiązania jonu dwuwartościowego i jedną lub więcej grup sulfhydrylowych związanych funkcjonalnie z aktywnością ATP-azową mostka. Aby mostek mógł związać drugą mikrotubulę, substrat ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATP lub  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP) i kation dwuwartościowy ( $\text{Ca}^{2+}$  lub  $\text{Mg}^{2+}$ ) muszą być związane we właściwych dla nich miejscach. W normalnym stanie spoczynku każdej części aksostylu, wielka część mostków międzyrzędowych ma związany substrat (zwykle  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP) i kation (zwykle  $\text{Mg}^{2+}$ ), a więc jest w stanie przyczepienia. Aby powstała aktywność ATP-azowa mostka, muszą być spełnione dwa warunki: 1. mostek musi być przyczepiony do drugiej mikrotubuli, 2. na system musi być wywarty odpowiedni nacisk mechaniczny. Normalnie ten drugi warunek jest spełniony przez zgięcie aksostylu. Kiedy aktywność ATP-azowa mostka jest aktywowana, następuje hydroliza substratu i uwolniona w tym procesie energia chemiczna jest (w nieznanym dotąd sposób) przetwarzana na energię mechaniczną, powodując ślizganie się mikrotubuli sąsiedniego rzędu. Generowanie siły zachodzi tylko wtedy, jeśli miejsce wiązania jonu dwuwartościowego zajęte jest przez  $\text{Mg}^{2+}$ , natomiast jeśli tam związany jon  $\text{Ca}^{2+}$ , uwalnianie energii zachodzi, brak jest natomiast mechanochemicznej transdukcji. Uwalnianie mostka i uwalnianie substratu zachodzi po mechanochemicznej części cyklu. Inna cząsteczka substratu i jon dwuwartościowy wiąże się następnie z mostkiem i zachodzi wiązanie drugiej mikrotubuli. W tym czasie zgięcie przeszło już przez ten region aksostylu i mostek, jakkolwiek związany, jest znowu nieaktywny.

Model Bloodgooda [11] postuluje więc, że aktywacja cyklu jest związana z mechaniczną zmianą stanu spoczynkowego. Założenie to potwierdzają dwie obserwacje: 1. aksostyl *Saccinobaculus*, spłaszczony przez szkiełko przykrywkowe, inicjuje aktywne zgięcie w miejscu kontaktu, 2. rytmiczne oscylacje w wici plemnika ssaków mogą być w obecności ATP i ADP indukowane przez mechaniczne zgięcie wici. Postulat, że mostki zawierają dwa miejsca wiązania: jedno dla substratu, a drugie dla kationu dwuwartościowego, opiera się na założeniu, że stany konformacyjne aksostylu pozostają w związku ze stanem mostków oraz na następujących obserwacjach: 1. EDTA powoduje przejście aksostylu z formy skróconej do wyprostowanej, 2.  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$  jednakowo dostarczają aktywności ATP-azowej, ale tylko w obecności jonów  $\text{Mg}^{2+}$  może być indukowany ruch aksostylu.

Bloodgood [11] nie wyklucza też możliwości, że cykl przez niego zaproponowany jest przesunięty, tzn. w stanie spoczynku aksostylu mostki są odcięte. W chwili nadejścia zgięcia powstają warunki sprzyjające przyczepianiu się mostków, następuje aktywacja własności ATP-azowych, hydroliza substratu, mechanochemiczna transdukcja i prawdopodobnie uwolnienie mostków, które w tym stanie pozostają do nadejścia następnej fali zgięcia.

Omówione rodzaje ruchliwości pierwotniaków świadczą o tym, że u jej podstaw leżą systemy włókniste zbudowane z filamentów lub mikrotubuli. Ruch może być wynikiem działania jednego z tych układów (filamentowego — u *Peritricha*, mikrotubularnego — w aksostylach *Pyrsonymphidae*) lub współdziałania ich obu (skurcz ciała *Spirostomum* i *Stentora*). We wszystkich tych przypadkach mechanizmy leżące u podstaw skurczu, mimo wielu zewnętrznych podobieństw, na poziomie molekularnym różnią się znacznie od zjawisk zachodzących w komórkach *Metazoa*.

#### LITERATURA

- [1] ALLEN R. D., Structures linking the myonemes, endoplasmic reticulum and surface membranes in the contractile ciliate *Vorticella*, *J. Cell Biol.*, **56**: 559–579, 1973.
- [2] — Contractility and its control in *Peritrich Ciliates*, *J. Protozool.*, **20**: 25–36, 1973.
- [3] AMOS W. B., A reversible mechanochemical cycle in the contraction of *Vorticella*, *Nature*, **229**: 127–128, 1971.
- [4] — Structure and coiling of the stalk in the *Peritrich Ciliates Vorticella* and *Carchesium*, *J. Cell Sci.*, **10**: 95–122, 1972.
- [5] AMOS W. B., ROUTLEDGE L. M., YEW F. F., Calcium binding proteins in vorticellid contractile organelle, *J. Cell Sci.*, **19**: 203–213, 1975.
- [6] AMOS W. B., ROUTLEDGE L. M., WEIS-FOGH T., YEW F. F., The spasmoneme and calcium dependent contraction in relation to specific calcium binding proteins, [w] *Calcium in Biological Systems. 30th Symposium of the Society for Experimental Biology*, Cambridge University Press, 273–302, 1976.
- [7] BANNISTER L. H., TATCHELL E. G., Contractility and the fibre systems of *Stentor coeruleus*, *J. Cell Sci.*, **3**: 295–308, 1968.
- [8] Fine structure of the M fibres in *Stentor* before and after shortening, *Exp. Cell Res.*, **73**: 221–225, 1972.
- [9] BLOODGOOD A., MILLER K. R., Freeze - fracture of microtubules and bridges in motile axostyles, *J. Cell Biol.*, **62**: 660–671, 1974.
- [10] BLOODGOOD R. A., MILLER K. R., FITZHARRIS T. P., McINTOSH J. R., The ultrastructure of *Pyrsonympha* and its associated microorganisms, *J. Morph.*, **143**: 77–105, 1974.

- [11] BLOODGOOD R. A., Biochemical analysis of axostyle motility, *Cytobios*, **14**: 101-120, 1975.
- [12] BRUGEROLLE G., Sur l'ultrastructure et la position systematique de *Pyrsonampha vertens* (Zooflagellata, Pyrsonamphina), *C. r. hebd. Seanc. Acad. Sci., Paris D.*, **270**: 966-969, 1970.
- [13] CARASSO N., FAVARD P., Mise en évidence du calcium dans les myonèmes pédonculaires des ciliés peritriches, *J. Micros.*, **5**: 759-770, 1966.
- [14] — Le reticulum endoplasmique dans les myonemes de ciliés peritriches et son role dans l'accumulation du calcium, 6th International. Cong. Electron Microsc., Kyoto, Japan, Maruzen Comp. Ltd., Tokyo, 229-230, 1966.
- [15] EISENSTEIN E. M., OSBORN D., BLAIR H. J., Behaviour modification in *Protozoa*, [w] Behaviour of Micro-organism, wyd. Pérez - Miravete, Mexico, 247-256, 1970.
- [16] ENGELMANN T. W., Contractilität und Doppelbrechung, *Pfügers Arch. Physiol.*, **11**: 432-464, 1875.
- [17] ETIENNE E. M., Control of contractility in *Spirostomum* by dissociated calcium ions, *J. Gen. Physiol.*, **56**: 168-179, 1970.
- [18] ETIENNE E. M., DICKSTEIN S., Contractility in *Spirostomum* provides for nonelectrogenic calcium regulation through energy dissipative metabolic processes in the absence of membrane excitability, *Nature*, **250**: 782-784, 1974.
- [19] ETIENNE E. M., SELITSKY M., The antagonic effects of antimitotic agents on contraction and re-extension in the ciliate *Spirostomum ambiguum*, *J. Cell Sci.*, **16**: 377-383, 1974.
- [20] FABCZAK S., Studies on the electrical stimulation of contraction in *Spirostomum*. II. The effect of external ions on cell excitability, *Cytobiologie*, **101**: 131-139, 1974.
- [21] — Pobudliwość i skurcz u niektórych orzęsków, *Post. Biol. Kom.*, **3**: 89-112, 1976.
- [22] FAURÉ - FREMIET E., La structure de l'appareil fixateur chez les *Vorticellidae*, *Arch. Protistenk.*, **6**: 207-226, 1905.
- [23] FAURÉ - FREMIET E., ROUILLER C., GAUCHERY M., Les structures myoides chez les Ciliés. Étude microscope électronique, *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exptl.*, **45**: 139-161, 1956.
- [24] FAURÉ - FREMIET E., ROUILLER C., Reseau canaliculaire dans les myonèmes endoplasmique de quelques Ciliés., *C. R. Acad. Sci. Paris*, **246**: 2039-2042, 1958.
- [25] FAURÉ - FREMIET E., FAVARD P., CARASSO N., Étude a microscope électronique des ultrastructures d'*Epistylis anastatica* (Cilié Peritriche), *J. Micros.*, **1**: 287-312, 1962.
- [26] FAVARD P., CARASSO N., FAURÉ - FREMIET E., Ultrastructure d l'appareil adhesif des Urceolaires (Ciliés, Peritriches), *J. Micros.*, **2**: 337-368, 1963.
- [27] FAVARD P., CARASSO N., Mise en évidence d'un réticulum endoplasmique dans le spasmonème de Ciliés Peritriches, *J. Micros.*, **4**: 567-572, 1965.
- [28] FINLEY H. E., Electron microscopy of thin sectioned *Spirostomum*, *Science*, **113**: 362-363, 1951.
- [29] — Electron microscopical observations on *Spirostomum ambiguum*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **62**: 229-246, 1955.
- [30] FINLEY H. E., BROWN C. A., DANIEL W. A., Electron microscopy of the ectoplasm and infraciliature of *Spirostomum ambiguum*, *J. Protozol.*, **2**: 264-280, 1964.

- [31] GRAIN J., Les systèmes fibrillaires chez *Stentor igneus* Ehrenberg et *Spirostomum ambiguum* Ehrenberg, *Protistologica*, 4: 27–36, 1968.
- [32] GRASSÉ P. P., L'ultrastructure de *Pyrsonympha vertens* (Zooflagellata, *Pyrsonymphina*). Les flagelles et leur coaptation avec le corps, l'axostyle contractile, le paraxostyle, le cytoplasme, *Arch. Biol.*, 67: 595–609, 1956.
- [33] GRIMSTONE A. V., CLEVELAND C. R., The fine structure and function of the contractile axostyles of certain flagellates, *J. Cell Biol.*, 24: 387–400, 1965.
- [34] HAWKES R. B., HOLBERTON D. V., Myonemal contraction of *Spirostomum*. I. Kinetics of contraction and relaxation, *J. Cell Physiol.*, 84: 225–236, 1974.
- [35] — Myonemal contraction of *Spirostomum*. II. Some mechanical properties of the contractile apparatus, *J. Cell Physiol.*, 85: 595–603, 1975.
- [36] HOFFMANN-BERLING H., Der Mechanismus eines neuen, von der Muskelkontraktion verschiedenen Kontraktionszyklus, *B. B. A.*, 27: 247–255, 1958.
- [37] HUANG B., Ultrastructure of cortical fiber systems in *Stentor coeruleus* relaxed in ethylenebis-(oxyethylenenitrilo) tetracetic acid., *J. Cell Biol.*, 47: 92a, 1970.
- [38] HUANG B., PITELKA D. R., The contractile process in the ciliate *Stentor coeruleus*. I. The role of microtubules and filaments, *J. Cell Biol.*, 57: 704–728, 1973.
- [39] HUANG B., MAZIA D., Microtubules and filaments in *Ciliate* contractility, [w] *Molecules and Cell Movement*, Raven Press, S. Inoué i R. E. Stephens wyd., 389–410, 1975.
- [40] INABA R., Electron microscope study on the fine structure of *Stentor coeruleus*, *Bull. Biol. Soc. Hiroshima Univ.*, 10: 35–43, 1961.
- [41] JONES A. R., JAHN T. L., FONSECA J. R., Contraction of protoplasm. IV. Cinematographic analysis of the contraction of some peritriches, *J. Cell Physiol.* 75: 9–20, 1970.
- [42] KRISTENSEN B. J., NIELSEN L. E., ROSTGAARD J., Variations in myoneme birefringence in relation to length changes in *Stentor coeruleus*, *Exp. Cell Res.*, 85: 127–135, 1974.
- [43] LEGRAND B., Action de certaines drogues (chorétone et cytochalasine B) sur le myonèmes du Spirostome (Protozoaire, Cilié), *C. R. Acad. Sci., Paris*, 274: 2197–2199, 1972.
- [44] LEHMAN W. J., REBHUN L. I., The structural elements responsible for contraction in the ciliate *Spirostomum*, *Protoplasma*, 72: 153–178, 1971.
- [45] LEVINE L., Contractility of glycerinated *Vorticellae*, *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole III*, 319, 1956.
- [46] LOM J., CORLISS J. O., Observations on the fine structure of two species of the peritrich ciliate genus *Scyphidia* and on their mode of attachment to their host, *Trans. Am. Micros. Soc.*, 87: 493–509, 1968.
- [47] McINTOSH J. R., CLEVELAND S., OGATA E. S., Motion and structure of axostyle in *Saccinobaculus*, *J. Cell Biol.*, 47: 134a, 1970.
- [48] McINTOSH J. R., The axostyle of *Saccinobaculus*. II. Motion of the microtubule bundle and a structural analysis of straight and bent axostyles, *J. Cell Biol.*, 56: 324–339, 1973.
- [49] McINTOSH J. R., OGATA E. S., LANDIS S. C., The axostyle of *Saccinobaculus*. I. Structure of the organism and its microtubule bundle, *J. Cell Biol.*, 56: 304–323, 1973.
- [50] MOOSAKER M. S., TILNEY L. G., Isolation and reactivation of the axostyle.

- Evidence for a dynein-like ATP-ase in the axostyle, *J. Cell Biol.*, **56**: 13–26, 1973.
- [51] RAHAT M. Y., PRI-PAZ Y., PARNAS I., Properties of stalk „muscle” contraction of *Carchesium* sp., *J. Exp. Biol.*, **58**: 463–471, 1973.
- [52] RANDALL J. T., Fine structure of some ciliate *Protozoa*, *Nature*, **178**: 9–14, 1956.
- [53] — The fine structure of the protozoan *Spirostomum ambiguum*, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **10**: 185–198, 1957.
- [54] RANDALL J. T., JACKSON S. F., Fine structure and function in *Stentor polymorphus*, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**: 807–830, 1958.
- [55] RANDALL J. T., HOPKINS J. M., On the stalks of certain peritrichs, *Phil. Trans-Roy. Soc. Lond. B.*, **245**: 59–79, 1962.
- [56] ROUTLEDGE L. M., AMOS W. B., GUPTA B. L., HALL T. A., WEIS-FOGH T., Microprobe measurements of calcium binding in the contractile spasmoneme of a *Vorticellid*, *J. Cell Sci.*, **19**: 195–201, 1975.
- [57] SCHMIDT W. J., Die Doppelbrechung des Stieles von *Carchesium* insbesondere die optisch-negative Schwankung seines myonems bei der Kontraktion, *Protoplasma*, **35**: 1–14, 1940.
- [58] SERAWIN L. N., SKOBLO I. I., BAGNIUK I. G., Mechanism of contraction of myonemes in the ciliate *Spirostomum ambiguum*, *Acta Protozool.*, **3**: 327–335, 1965.
- [59] SLEIGH M. A., PITELKA D. R., Process of contractility in *Protozoa*, [w] *Actualités Protozoologiques. Résumé des discussions des tables rondes du 4<sup>e</sup> Congrès International de Protozoologie*, Clermont Ferrand, P. De Puytorac, J. Grain wyd., 293–306, 1974.
- [60] SOTELO J. R., TRUJILLO-CENOZ O., The fine structure of an elementary contractile system, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**: 126–127, 1959.
- [61] TARTAR V., *The Biology of Stentor*, Pergamon Press Ltd., Oxford 1961.
- [62] TAYLOR C. V., Fibrillar systems in *Ciliates*, [w] *Protozoa in Biological Research*, G. N. Calkins i F. M. Summers wyd., Columbia University Press, New York, 191, 1941.
- [63] UEDA K., Studies on the stalk muscle of *Carchesium*, *Zool. Mag.*, **61**: 367–371, 1962.
- [64] WEIS-FOGH T., AMOS W. B., Evidence for a new mechanism of cell motility, *Nature*, **236**: 301–304, 1972.
- [65] WOLPERT L., GINGELL D., The cell membrane and contact control, [w] *CIBA Foundation Symp. on Homeostatic Regulators*, J. A. Churchill wyd., 241–259, 1969.
- [66] YAGIU R., SHIGENAKA Y., Electron microscopy of the longitudinal bundles and the contractile fibrillar system in the *Spirostomum ambiguum*, *J. Protozool.*, **10**: 364–369, 1963.
- [67] — An electron microscope study of the fibrillar system of two heterotrichous ciliates, *Condylostoma spotiosum* and *Spirostomum ambiguum*, [w] *Progress in Protozoology*, Praque, 411–413, 1963.

Otrzymano: 19 września 1979.

Przyjęto: 22 października 1979.

Adres autorki: ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa.



## RECENZJE

Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich w Warszawie wydał w marcu 1979 r. „Atlas ultrastruktury tkanek i narządów”, przygotowany przez Michała Karaska i Marka Pawlikowskiego w nakładzie 3000 egzemplarzy. Atlas poprzedzony jest „Wprowadzeniem”, które zawiera informacje o zasadach konstrukcji mikroskopu elektronowego, przygotowaniu materiału biologicznego do obserwacji w mikroskopie elektronowym oraz krótki syntetyczny opis ultrastruktury komórki zwierzęcej. Sam atlas obejmuje 155 elektronogramów. W pierwszej części, zatytułowanej „Komórka”, przedstawione są podstawowe organelle (32 elektronogramy). Część druga „Tkanki i narządy” zawiera elektronogramy z wybranych fragmentów komórek, tkanek i narządów i tak w kolejności: powierzchniowe zróżnicowania nabłonków (6), komórki tkanki łącznej właściwej i krwinki (21), komórki mięśniowe (9), komórki i włókna nerwowe oraz synapsy (13), naczynia krwionośne (4), śledziona i grasica (4), gruczoły dokrewne (21), gruczoły przewodu pokarmowego (18), pęcherzyki płucne (5), nefron (6), pęcherzyki jajnikowe (5), kosmki łożyska człowieka (2), naskórek (7), siatkówka (6). Do szeregu elektronogramów dołączone są schematy, np. komórki neurosekrecyjnej, pęcherzyka płucnego, ciała nerkowego i in. Kanalik nasieniowódca przedstawiony jest wyłącznie w formie schematu. Obok elektronogramów i schematów podane są objaśnienia.

Jak sami autorzy podkreślają w „Przedmowie”, atlas stanowić ma pomoc naukową i uzupełnienie podręczników histologii dla studentów medycyny i biologii. Wszystkie krajowe podręczniki histologii wydane obecnie uwzględniają szeroko zdobycze ostatnich lat dotyczące ultrastruktury komórek, tkanek i narządów, natomiast uboga jest w nich dokumentacja w formie elektronogramów, głównie z technicznych przyczyn wydawniczych. Student nie może więc skonfrontować tekstu z odpowiednim obrazem z mikroskopu elektronowego. Stąd też dobrze się stało, że autorzy M. Karasek i M. Pawlikowski odważyli się na wydanie swojego atlasu. Jest to pierwszy polski atlas ultrastruktury komórki zwierzęcej, który jest ogólnie dostępny. Zagraniczne atlasy sprowadzane są w niewielkiej liczbie egzemplarzy, a ponadto — ze względu na wysoką cenę — dostępne są tylko nielicznym osobom.

O wartości atlasu ultrastruktury komórek i tkanek decyduje dobór tematyczny elektronogramów i jakość druku. Dobór odpowiednich elektronogramów jest zawsze trudny. Powinny one przedstawiać najbardziej charakterystyczne cechy danej struktury czy danej komórki, właściwe wszystkim zwierzętom i człowiekowi. Na elektronogramach siłą rzeczy uwidocznione są jedynie małe fragmenty komórek, trzeba więc dysponować odpowiednio bogatą ich kolekcją, aby wybrać najwłaściwsze. Trudno jest też tak zestawić elektronogramy, aby dawały one obraz wszystkich struktur i komórek jakie występują w organizmie. Nawet w atlasach ultrastruktury, opracowywanych przez autorów z renomowanych zagranicznych pracowni z długimi tradycjami badań w tym zakresie, nie znajduje się kompletnego zestawu elektronogramów. Podobnie i w przypadku omawianego atlasu wybór tematyczny ilustracji został ograniczony materiałem, jakim autorzy dysponowali i ich zainteresowaniami naukowymi. Zastrzeżli się oni na wstępie, że atlas nie obejmuje ultrastruktury wszystkich narządów. Drugą istotną sprawą jest jakość druku elektronogramów. Znanne są ogólnie trudności na jakie w tym względzie napotykają krajowe wydawnictwa. Zła jakość druku fotografii naukowej, a zwłaszcza elektronogramów, w publikacjach biologicznych i medycznych jest stałą troską wszystkich zainteresowanych redakcji i wydawnictw. Zła jakość druku obniża, a często zacierca całkowicie czytelność elektronogramów i powoduje, że nie przedstawiają one wymaganej wartości. Jak więc udała się ta próba pierwszego polskiego atlasu ultrastruktury? W moim przekonaniu zadowalająco. Większość elektronogramów jest czytelna, można na nich łatwo odszukać charakterystyczne struktury, mając nawet mało wprawne oko w ich rozpoznawaniu.

„Atlas ultrastruktury tkanek i narządów” spełni na pewno swoje zadanie jako pomoc naukowa i ułatwi nie tylko naukę studentom, ale i pracę dydaktyczną pracownikom naukowym.

Sądzę, że w następnym wydaniu autorzy dopełnią atlas nowymi elektronogramami, ujednolicią i uzupełnią opisy oraz szczegółowiej oznaczą same elektronogramy.

Z. Bielańska-Osuchowska

D. A. ERASMUS, editor. Electron Probe Microanalysis in Biology.

Wydane przez Chapman and Hall Ltd. 11 New Fetter Lane, London 1978. Str. 248, wydanie pierwsze, twarda okładka z obwolutą, funtów ang. 15.

Fascynacja organizacją materii ożywionej, oglądanej za pomocą mikroskopu elektronowego, poczęła wygasać pod koniec lat sześćdziesiątych.



Cytologowie wyrobili sobie określony obraz struktury cytoplazmy, poklasyfikowali jej organelle i przy pomocy biochemików podporządkowali im określone funkcje biologiczne. Z początkiem lat siedemdziesiątych wydawało się, że mikroskop elektronowy został zepchnięty wyłącznie do roli bardziej tylko złożonego aparatu fotograficznego służącego jedynie do rejestracji wyników prac doświadczalnych prowadzonych przez fizjologów i biochemików. Zastosowanie analizatora promieni Roentgena do mikroskopu elektronowego stworzyło już na początku lat sześćdziesiątych nowe perspektywy dla cytologii.

Mikroskop elektronowy wyposażony w sondę do mikroanalizy pierwiastków, na poziomie wybranych fragmentów cytoplazmy, umożliwia wykonanie mapy rozmieszczenia pierwiastków na kanwie poznanej już dokładnie struktury cytoplazmatycznej. Analityczny mikroskop elektronowy jest przyrządem bardzo drogim, złożonym, a zatem niełatwym w obsłudze. Przygotowanie preparatów biologicznych do analizy wymaga specjalnych zabiegów, które zapewniają możliwie najmniejsze wahania w rozmieszczeniu i zawartości analizowanych w komórce pierwiastków.

Recenzowana książka, pod redakcją D. A. Erasmusa, wykładowcy parazytologii w uniwersytecie Cardiff, ma na celu wprowadzenie czytelnika obeznanego już z rutynową techniką mikroskopii elektronowej w tajniki mikroanalizy za pomocą promieni Roentgena. Treść książki zawarta jest w siedmiu rozdziałach napisanych przez zespoły autorów, łącznie 11 osób, pochodzących głównie z Anglii i Stanów Zjednoczonych. Po krótkim wstępie, napisanym przez redaktora, czytelnik znajdzie dwa pierwsze rozdziały dotyczące ogólnych zasad analizy promieni Roentgena i ich zastosowania w mikroskopie elektronowym oraz wykorzystanie tego instrumentu do analizy pierwiastków w ultracienkich skrawkach. Rozdział czwarty i piąty zawiera omówienie różnych metod przygotowania preparatów biologicznych do mikroanalizy oraz interpretację uzyskanych wyników. Występowanie poszczególnych pierwiastków omawiają autorzy tego rozdziału na przykładach rozmaitych tkanek pochodzenia tak roślinnego, jak i zwierzęcego. Równocześnie w rozdziale piątym czytelnik dowiadyuje się, w jakim stopniu technika krioultramikrotomii zapewniła wiarygodną analizę pierwiastków w komórce. Dwa ostatnie rozdziały mają w swojej treści charakter bardziej specjalistyczny od poprzednich. Rozdział szósty zawiera bowiem rozważania na temat połączenia mikroanalizy z różnymi technikami histochemicznymi. Ostatni rozdział dotyczy wyłącznie analizy przesączu kłębkowego nefronów przedstawicieli różnych gromad kręgowców: ssaków, płazów i ryb, oraz metod związanych z jego pobieraniem i analizą. Całość książki zamyka indeks.

Poszczególne rozdziały są bogato ilustrowane fotografiami analizowanych komórek, wykresami, schematami i tabelami, co czyni je bardzo czy-

telne, a zawarte w nich opisy metod są tym samym lepiej zrozumiałe i łatwiej przyswajalne. Omawiana w niniejszej recenzji książka będzie zapewne pożytecznym nabytkiem w bibliotece każdego cytologa.

W. Kilarski

G. V. SHERBET. The Biophysical Characterization of the Cell Surface.

Wydane przez Academic Press, London, New York, San Francisco 1978. Str. 298, twarda okładka z obwolutą, funtów ang. 12,80.

Odkrycie błony komórki zwierzęcej datuje się na XIX w. Pod koniec XIX stulecia pojawiły się pierwsze sugestie na temat składu chemicznego błony i jej ewentualnej funkcji. Jednym z ważniejszych odkryć, którym szczyci się mikroskopia elektronowa, jest sfotografowanie błony komórkowej i oparte na tym sugestywne interpretacje jej struktury. Odkrycie to przez długi czas ciążyło na koncepcji molekularnej organizacji błony komórkowej. Obraz i koncepcja strukturalna błony zmieniały się wielokrotnie od czasu jej odkrycia. Istotny wpływ na tworzenie coraz to nowych modeli morfofizjologicznych błony miały stale doskonalące się techniki badawcze, udostępniane w miarę ich rozpowszechniania cytobiologom. Odkrywanie coraz to nowych zjawisk biologicznych coraz częściej wiązano z istnieniem błony komórkowej, a przede wszystkim z jej różnym molekularnym składem białkowo - cukrowo - lipidowym. Różnorodność składników błony oraz ich dynamiczny stan i stopień komplikacji doprowadziło do wytworzenia przez biologów komórki nowego, jakże odmiennego od pierwotnych, obrazu błony, którego stopień komplikacji i topograficzne zróżnicowanie cząsteczek może w dużym stopniu tłumaczyć różne zjawiska biologiczne związane z powierzchnią komórki.

Powierzchnia komórki, będąc wykładnikiem jej zróżnicowania i stanów fizjologicznych, bierze udział i jest odpowiedzialna za wiele zjawisk biologicznych, takich jak podział, wzrost, różnicowanie morfologiczne, zdolność wzajemnego rozpoznawania i tolerancji komórek oraz transformacji nowotworowej. Aktywność biologiczna błony komórkowej jest regulowana jej składem molekularnym, który w obecnej dobie jest intensywnie badany. Kluczowa rola błony w całym życiu komórki stała się ośrodkiem zainteresowania wyosobnionej grupy specjalistów, którzy stworzyli nową gałąź wiedzy z odrębnymi metodami badawczymi oraz nową nomenklaturą. W konsekwencji pojawiły się na światowym, księgarskim specjalistyczne wydawnictwa, które postawiły sobie za cel upo-

wszechnianie metod badania błony komórkowej oraz analizy i interpretacji uzyskanych nimi wyników.

Recenzowana książka jest jednym z wielu przykładów propagowania wiedzy o metodach badawczych i własnościach błony komórkowej. Zawiera ona opisy kilku dobrze znanych metod fizycznych, które zostały wprowadzone do analizy materii żywej, a przede wszystkim błony komórkowej i całych komórek. Oprócz opisów czysto metodycznych znajdzie w niej czytelnik interpretacje różnych zjawisk fizykochemicznych, jakie obserwuje się na powierzchni komórek w ich różnych stanach fizjologicznych i patologicznych. Treść książki podzielona jest na 6 rozdziałów; po krótkim wstępie autor umieszcza zestawienie skrótów, stosowanych przez niego w całym dziele, oraz osobne zestawienie symboli wartości fizycznych. Pierwszy rozdział zawiera krótką rekapitulację dawnych i obecnych poglądów na molekularną organizację błony komórkowej. Natomiast w rozdziale drugim autor omawia biofizyczną i biochemiczną charakterystykę powierzchni błony różnych komórek, określoną za pomocą metody miareczkowania elektrometrycznego. Rozdział trzeci poświęcony jest pomiarom potencjału bioelektrycznego, jako jednej z cech charakteryzujących powierzchnię błony komórkowej. Autor przytacza w tym rozdziale wyniki prac nad różnymi typami komórek: nabłonkowych, chrząstki, mięśni, erytrocytów, komórkami nowotworowo zmienionymi itp. Omawia on również rolę potencjału błony w regulacji podziałów mitotycznych. Zastosowanie metody elektroforetycznej do badań powierzchni komórkowej prokariotów i eukariotów omawia autor w rozdziale czwartym, który notabene jest najobszerniejszym rozdziałem w tej książce. W części pierwszej główna uwaga została położona na opisie metodyki badawczej, a w części drugiej znajdzie czytelnik opisy zjawisk różnej ruchliwości elektroforetycznej komórek będących bądź to w różnych fazach cyklu, stopniu zróżnicowania, bądź też pod wpływem wirusów transformujących lub przeciwciał. Rozdział piąty zawiera opisy metod oraz interpretacji wyników metody równowagi izoelektrycznej. W pierwszej części autor opisuje szereg technik badawczych i prostej aparatury, podnosząc ich zalety i ograniczenia wpływające na interpretację wyników. W drugiej części rozdziału znajdzie czytelnik opisy zastosowania tej metody badawczej, np. do obliczania ładunku elektrostatycznego błony, określenia ilości grup karboksylowych i aminowych na jej powierzchni, obliczenia ilości receptorów konkanawaliny, wpływu przeciwciał na równowagę izoelektryczną itd. Ostatni rozdział książki dotyczy metody rozdziału komórek oraz jej organelli w wodnym układzie dwufazowym. Jest to wprawdzie metoda stosowana do oczyszczania i izolowania makrocząsteczek biologicznych, np. wirusów, niemniej jednak może ona posłużyć w pewnym stopniu do scharakteryzowania powierzchni błon komórkowych. Różnie

bowiem rozdzielają się komórki obciążone lekami w porównaniu do komórek zdrowych, erytrocyty stare od młodych oraz komórki w różnych fazach cyklu życiowego. Całość bardzo interesująco napisanej książki zamyka bogata bibliografia (bez tytułów) zawierająca ponad 1000 pozycji. Przyjemnie jest przeczytać w tym obszernym spisie kilka nazwisk polskich uczonych, np. Kościelak, Korohoda, Łukiewicz, Lisowska, Morawiecki, Romanowska, Zakrzewski i inni. Recenzowana książka jest pozycją wybitnie specjalistyczną, ale godną polecenia wszystkim biologom komórki.

W. Kilariski

Pragnąc przyczynić się do ujednoczenia polskiego mianownictwa z zakresu biologii komórki, Redakcja „Postępów Biologii Komórki”, w porozumieniu z Prezydium Komitetu Cytobiologii PAN oraz Przewodniczącym Komisji Mianownictwa Histologicznego prof. drem Markiem Wawrzyńniakiem, proponuje polskie miana włóknistych struktur komórkowych odpowiadające mianom w języku angielskim. Redakcja zwraca się z uprzejmą prośbą o nadsyłanie uwag dotyczących proponowanych mian do dnia 30 czerwca 1980 r. Nadesłane uwagi po rozpatrzeniu zostaną opublikowane w zeszycie 4(1980) i z tą chwilą miana te wraz z przyjętymi uwagami Czytelników będziemy uważali za obowiązujące.

*Redakcja*

termin w j. angielskim

proponowany termin w j. polskim

**Microtubules**

cytoplasmic microtubules  
neurotubules  
mitotic spindle microtubules

**Mikrotubule**

mikrotubule cytoplazmatyczne  
neurotubule  
mikrotubule wrzeciona podziałowego

**Filaments 10 nm filaments intermediate-size filaments**

muscle filaments  
glial filaments  
neurofilaments  
epidermal keratin filaments

**Filamenty**

filamenty mięśniowe  
filamenty glejowe  
neurofilamenty  
filamenty naskórka keratynowe

**Microfilaments 4 nm microfilaments, actin microfilaments**

thin myofilaments  
thick myofilaments

**Mikrofilamenty**

miofilamenty cienkie, aktynowe  
miofilamenty grube, miozynowe

## INFORMACJE DLA AUTORÓW

POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI drukują artykuły przeglądowe, omawiające najnowsze osiągnięcia w dziedzinie biologii komórki, nie publikowane dotąd w innych wydawnictwach. Autorzy odpowiadają za ścisłość podawanych informacji. Obowiązuje terminologia zgodna z polskim mianownictwem histologicznym, anatomicznym i embriologicznym.

Artykuły drukowane w POSTĘPACH BIOLOGII KOMÓRKI nie mogą być bez zgody Redakcji publikowane w innych periodykach.

Prace należy przysyłać w dwu egzemplarzach — zarówno tekst, jak i załączniki. Objętość tekstu (bez rysunków wraz z objaśnieniami) nie powinna przekraczać 20 stron maszynopisu. Maszynopis powinien być pisany jednostronnie, z podwójną interlinią, marginesem około 4 cm po lewej stronie oraz ponumerowany. W tekście nie należy robić żadnych podkreśleń na maszynie ani atramentem.

Na pierwszej stronie, przed tekstem, należy podać tytuł pracy w języku polskim i angielskim, pod nim imiona (w pełnym brzmieniu) i nazwiska autorów oraz nazwę zakładu naukowego, w którym autorzy pracują, następnie krótkie streszczenie (ok. 1/2 strony) — również w języku polskim i angielskim. Za streszczeniem, z pozostawieniem około 5 cm odstępu, następuje tekst główny. W tekście nie należy zamieszczać żadnych tabel, rysunków, fotografii ani schematów. Dla ustalenia ich lokalizacji należy pozostawić wolny wiersz w żądanym miejscu i odpowiednio zaznaczyć ołówkiem na marginesie: tab. 1, ryc. 1 itp.

Tekst podzielony na rozdziały jest bardziej przejrzysty. Po tytułach wydzielonych nie należy stawiać kropek. Za tekstem należy dołączyć spis literatury. Powinna być ona ułożona w porządku alfabetycznym. Powoływanie się na cytowaną literaturę następuje przez wymienienie liczby porządkowej w nawiasach prostokątnych, np. [5].

Przykłady cytowania literatury:

- [1] Sachsenmayer W., Remy U., Plattner R., Initiation of synchronous mitosis in *Physarum polycephalum*, *Exptl. Cell Res.*, **73**: 41–48, 1972.
- [2] Hnilica L. S., McClure M. E., Speltzberg T. C., Histone biosynthesis and the cell cycle, [w] *Histone and Nucleohistones*, red. D. M. P. Philips, Plenum Press, London, New York 1977, 60–64.

Tabele należy dołączyć na oddzielnych kartkach — każda powinna być podpisana. Rysunki, schematy, fotografie należy dołączyć w postaci nadającej się do reprodukcji lub przerysowania. Fotografie powinny być na błyszczącym papierze, kontrastowe. Podpisy pod ryciny powinny być dołączone na oddzielnej kartce. Przy załącznikach powinno być podane ich pochodzenie.

Redakcja zastrzega sobie prawo dokonywania skrótów.

Autor na życzenie Redakcji obowiązany jest dokonać korekty autorskiej, którą powinien zwrócić w ciągu 3 dni. Koszty spowodowane zmianami tekstu w korekcie, poza poprawkami błędów drukarskich, ponosi Autor.

Artykuły honorowane są według ustalonych stawek, autorzy otrzymują 25 nadbitek bezpłatnie.

## Warunki prenumeraty kwartalnika

### POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI

Cena prenumeraty krajowej:

rocznie zł 80.—

półrocznie zł 40.—

Prenumeratę na kraj przyjmują Oddziały RSW „Prasa-Książka-Ruch” oraz urzędy pocztowe i doręczyciele w terminach:

- do dnia 25 listopada, na I półrocze roku następnego i na cały rok następny,
- do dnia 10 czerwca na II półrocze roku bieżącego.

Jednostki gospodarki uspołecznionej, instytucje, organizacje i wszelkiego rodzaju zakłady pracy zamawiają prenumeratę w miejscowych Oddziałach RSW „Prasa-Książka-Ruch”, w miejscowościach zaś, w których nie ma Oddziałów RSW — w urzędach pocztowych.

Czytelnicy indywidualni opłacają prenumeratę wyłącznie w urzędach pocztowych i u doręczycieli.

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę przyjmuje RSW „Prasa-Książka-Ruch”, Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw, ul. Towarowa 28, 00-958 Warszawa; konto NBP XV, Oddział w Warszawie, Nr 1153-201045-139-11, w terminach podanych dla prenumeraty krajowej.

Prenumerata ze zleceniem wysyłki za granicę jest droższa od prenumeraty krajowej o 50% dla zleceniodawców indywidualnych i o 100% dla instytucji i zakładów pracy.

Bieżące i archiwalne numery można nabyć lub zamówić we Wzorcowni Wydawnictw Naukowych PAN-Ossolineum-PWN, Pałac Kultury i Nauki (wysoki parter), 00-901 Warszawa, oraz w księgarniach naukowych „Domu Książki”.

A subscription order stating the period of time, along with the subscriber's name and address can be sent to your subscription agent or directly to Foreign Trade Enterprise Ars Polona-Ruch, 00-068 Warszawa, 7 Krakowskie Przedmieście, P. O. Box 1001, POLAND.

Payments are to be sent to the account of Ars Polona-Ruch in Bank Handlowy S. A., 7 Traugutt Street, 00-067 Warszawa, POLAND.

## SPIS TREŚCI

T. SAWICKA, Aktywność nukleolityczna plazmolemy komórek ssaków . . . . .	1
B. TOŁŁOCZKO, Organizacja odmiennych niż aktywno- -miozynowe systemów kurczliwych występujących w komórkach pierwotniaczych . . . . .	19
Recenzje . . . . .	45