

HANNA FABCZAK i STANISŁAW FABCZAK  
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN  
ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

## REAKCJA FOTOFOBOWA U ORZĘSKA *BLEPHARISMA JAPONICUM*

### WPROWADZENIE

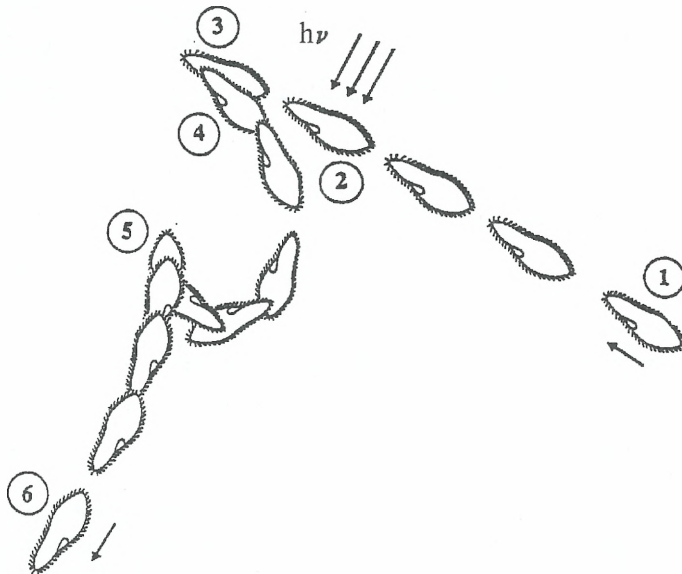
*Blepharisma japonicum* jest jednym z niewielu orzęsków posiadających pigment, którego obecność nadaje komórce nie tylko zabarwienie ciemnoróżowe, ale czyni ją wrażliwą na działanie światła w zakresie światła widzialnego oraz ultrafioletowego. Dzięki temu orzęski skutecznie unikają miejsc jasno oświetlonych, gromadząc się w rejonach zacienionych (JENNINGS 1906, MAST 1906, GIESE 1973, 1981). Takie zjawisko unikania światła zostało nazwane fotodypersją (DIEHN i współaut. 1977). Fotodypersja jest końcowym wynikiem różnych zachowań poszczególnych komórek w odpowiedzi na działanie światła. U *Blepharisma* występują dwa typy reakcji ruchowych, które składają się na obserwowane zjawisko. Jedną z nich jest fotokineza, to jest zależność szybkości poruszania się orzęska od intensywności światła; komórki pływają szybciej w jasno oświetlonym środowisku niż w rejonach zacienionych. Adaptacja do ciemności prowadzi do całkowitego zaniku ruchu. W związku z tym orzęsek pływając szybko w jasno oświetlonym rejonie wcześniej czy później trafi do miejsca zacienionego, gdzie ze względu na redukcję szybkości, z jaką się porusza, maleje prawdopodobieństwo opuszczenia takiego obszaru. Szczegółowy mechanizm reakcji fotokinetycznej nie jest znany.

Innym typem reakcji ruchowej wywoływanej światłem, która również ułatwia komórkom pozostanie w rejonie zaciemnionym, jest reakcja fotofobowa (KRAML i MARWAN 1983, MATSUOKA 1983, FABCZAK i współaut. 1993a). Ten typ reakcji można obserwować, gdy komórka przepływa z rejonu ciemnego do rejonu jasnego, czyli w momencie gdy na komórkę zaczyna działać bodziec świetlny o wyższym natężeniu (ryc. 1). Orzęsek po wpłynięciu do obszaru jasnego przez pewien czas płynie jeszcze w tym samym kie-

runku (opóźnienie reakcji), następnie zatrzymuje się na moment i w wyniku rewersji ruchu rzęskowego zaczyna płynąć do tyłu. Po krótkim okresie cofania orzęsek zatrzymuje się powtórnie, po czym następuje renormalizacja ruchu rzęsek. Ponowny ruch do przodu odbywa się najczęściej w odmiennym kierunku niż to miało miejsce przed reakcją ruchową. Opóźnienie z jakim zatrzymuje się komórka jest zależne od wielkości zmiany w natężeniu oświetlenia; im większa jest różnica, tym mniejsze jest opóźnienie reakcji. Ponowny ruch komórki do przodu zachodzi zwykle ze zwiększoną szybkością (fotokineza). Końcowym rezultatem reakcji fotofobowej jest więc zmiana kierunku i wzrost szybkości ruchu, dzięki którym komórka może szybko opuścić oświetlony obszar.

Zjawisko rewersji ruchu rzęskowego, to jest zmiana kierunku efektywnego uderzenia rzęski, której konsekwencją jest cofanie się komórki, jest typową reakcją ruchową, charakterystyczną dla wszystkich orzęsków, znaną jako reakcja ucieczki (JENNINGS 1906, FABCZAK i FABCZAK 1994, FABCZAK i współaut. 1996a). Reakcja rewersji ruchu rzęsek u *Blepharisma* może być wywołana również i innymi bodźcami, jak na przykład: stymulacja mechaniczna (FABCZAK 1993, dane nie opublikowane), chemiczna lub termiczna (MATSUOKA i współaut. 1991, 1992a). Reakcja ta jest więc wspólnym dla różnych bodźców zjawiskiem w procesach przekazywania sygnału ze środowiska do rzęsek (aksonem) — aparatu lokomotorycznego komórki.

Pomimo że reakcji fotofobowej w odróżnieniu od fotokinezy badacze poświęcili znacznie więcej uwagi i że znacznie więcej danych na ten temat jest dostępnych w literaturze, to nadal nie poznano wszystkich szczegółów towarzyszących temu zjawisku. Poniżej przedstawiono nie-



Ryc. 1. Fotofobowa reakcja u *Blepharisma*; orzęsek poruszający się w zaciemnionym obszarze do przodu (1) poddany oświetleniu (2) zatrzymuje się po pewnym czasie (3), płynie następnie do tyłu po zakrzywionym torze (4), zatrzymuje się powtórnie (5), aby w końcu rozpocząć ponownie ruch do przodu w innym przypadkowym kierunku (6).

które etapy w procesie przetwarzania bodźców świetlnych u *Blepharisma* prowadzących do obserwowanych zmian elektrycznych na błonie

komórkowej (potencjał fotoreceptorowy) i aktywacji kolejnych procesów w komórce kończących się reakcją motoryczną.

#### KOMÓRKOWY UKŁAD FOTORECEPTOROWY

Procesy zachodzące w komórce orzęska *Blepharisma* podczas reakcji fotofobowej są zapoczątkowywane, podobnie jak w innych systemach przekazywania fotoreceptorowego, przez aktywację pigmentu. Fotorecepcja u tego orzęska, jak się obecnie uważa, zachodzi w specyficznych strukturach granularnych skupiających różowy barwnik, blefarisminę. Granule pigmentowe zlokalizowane tuż pod pelliculą, połączone z nią ściśle, są ułożone w regularne ciemne rzędy na przemian z jasnymi rzędami kinet (KENNEDY 1965, GIESE 1973). Z badań spektrofotometrycznych wynika, że pigment u *Blepharisma* jest strukturalnie podobny do hiperycyny (SEVENANS 1965, GIESE 1973, TAO i współaut. 1994), substancji syntetyzowanej przez dziurawiec (*Hypericum*). Blefarismina wykazuje właściwości fotodynamiczne i intensywne naświetlenie powoduje śmierć komórki. Badania medyczne dostarczają ostatnio danych świadczących o skutecznym zastosowaniu wyizolowanego pigmentu z komórek *Blepharisma* i hiperycyny w fototerapii komórek nowotworowych (VANDERWERF i współaut. 1996, VANDENBOGAERDE i DE WITTE 1996).

Istnieje wiele dowodów na to, że to właśnie blefarismina pełni funkcję fotoreceptora, który pochłania światło i zapoczątkowuje sekwencję zdarzeń podczas reakcji fotofobowej. Dostarczają ich doświadczenia, w których stwierdzono zbieżność charakteru widma czynnościowego dla reakcji fotofobowej komórek *Blepha-*

*risma* oraz widma absorpcyjnego zawiesiny komórek lub preparatów zawierających pigment (SCEVOLI i współaut. 1987, GUALTIERI i współaut. 1989, GHETTI 1991, FABCZAK i współaut. 1993a, TAO i współaut. 1994). Orzęski te wykazują najwyższą reaktywność na działanie światła przy tych długościach fali świetlnej, przy których w widmie absorpcyjnym występuje maksimum. Powyższe właściwości fotopigmentu są uwidocznione także przy adaptacji komórek do jasnego światła w obecności tlenu (CHECCUCCI i współaut. 1993). Zachodzące w takich warunkach utlenianie pigmentu powoduje nie tylko zmianę barwy komórki z różowej na niebieską, ale również przesunięcie maksimum absorpcji w widmie absorpcyjnym wyizolowanego barwnika w takim samym zakresie, jak ma to miejsce w widmie czynnościowym reakcji fotofobowej. Procedury wybielania, powodujące częściowe pozabawienie komórek pigmentu, prowadzą do znacznego zredukowania reaktywności komórek (MATSUOKA i współaut. 1995).

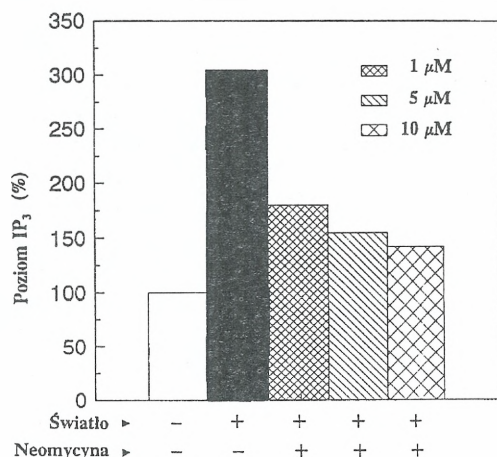
Naświetlaniu preparatu zawierającego wyizolowane granule z fotopigmentem, jak pokazano ostatnio, towarzyszy wyraźne zakwaszenie zawiesiny (MATSUOKA i współaut. 1992b). Zjawisko to jest związane z uwalnianiem jonów  $H^+$  do zawiesiny podczas fotoaktywacji pigmentu. Podobne zjawisko deprotonacji pigmentu przez światło obserwuje się także w fotoreceptorowych komórkach oka u bezkręgowców (BROWN 1983, O'BRIEN 1982). Przypuszcza się, że takie

zmiany poziomu jonów  $H^+$  mogą być wstępnym krokiem w procesie przetwarzania sygnału świetlnego u orzęska lub w komórkach foto-

receptorowych (FABCZAK i współaut. 1993b, TAO i współaut. 1994).

### MECHANIZM PRZETWARZANIA ŚWIATŁA

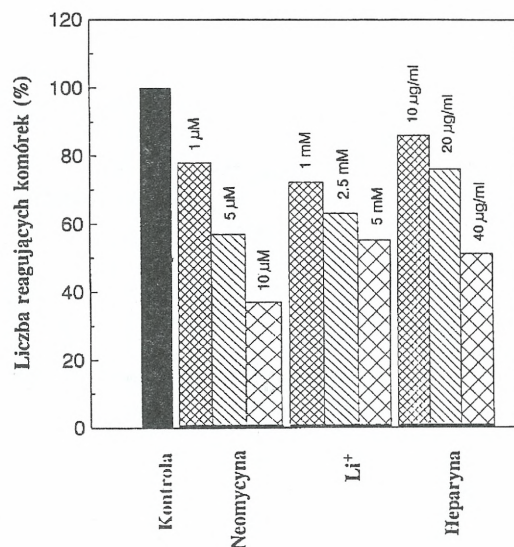
Przeprowadzone ostatnio pomiary wewnątrzkomórkowego poziomu trisfosfoinozytolu ( $IP_3$ ) u *Blepharisma* wykazują, że światło może w znacznym zakresie modyfikować stężenie tego lipidu (FABCZAK i współaut. 1996b). W komórkach poddanych działaniu krótkotrwałego naświetlania stężenie  $IP_3$  jest kilkakrotnie wyższe niż w komórkach kontrolnych, adaptowanych do ciemności. Obserwowane zmiany w poziomie  $IP_3$  są zależne od natężenia światła jak również od czasu naświetlania. Obecność neomycyny w roztworze zawierającym naświetlane komórki znacznie redukuje wpływ światła na poziom  $IP_3$  (ryc. 2). Adaptacja stymulowanych komórek do ciemności powoduje proces odwrotny, poziom  $IP_3$  wraca po pewnym czasie do wartości kontrolnej.



Ryc. 2. Poziomy  $IP_3$  w komórkach *Blepharisma* adaptowanych do ciemności (-) oraz podczas naświetlania (+) światłem białym (10 s,  $5 \times 10^{-4}$  Wcm<sup>-2</sup>) bez obecności (-) neomycyny lub w jej obecności (+) w różnych stężeniach. Za 100% przyjęto poziom  $IP_3$  w komórkach adaptowanych do ciemności.

Okazuje się również, że reakcja fotofobowa u *Blepharisma* ulega wyraźnej modyfikacji spowodowanej obecnością w środowisku neomycyny (inhibitora fosfolipazy C), heparyny (bloker

receptora  $IP_3$ ), a także jonów litu (inhibitora fosfatazy monofosfoinozytolu) (ryc. 3) (FABCZAK



Ryc. 3. Wpływ neomycyny,  $Li^+$  i heparyny na występowanie reakcji fotofobowej. Za 100% przyjęto liczbę reagujących komórek w roztworze kontrolnym (środo-wisko hodowlane).

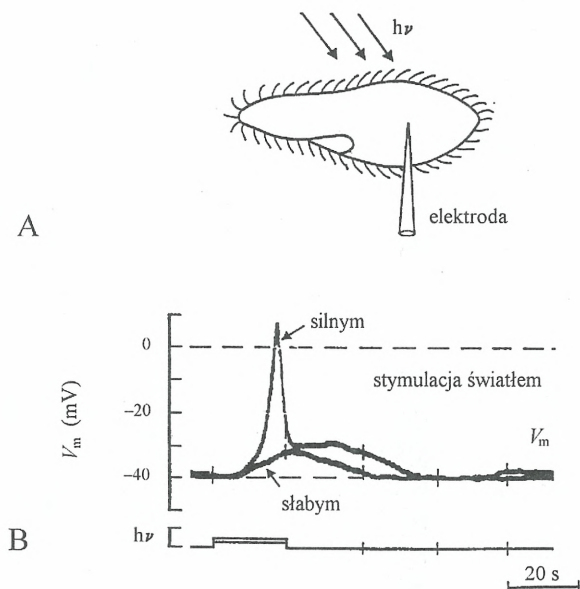
i współaut. 1996c), czyli czynników, które w istotny sposób rozprzegają szlak przetwarzania sygnału z udziałem  $IP_3$  w komórkach organizmów wielokomórkowych (SCHIBECI i SCHACHT 1977, DOWNES i MICHELL 1981, TAKIMOTO i współaut. 1985, SUPATTAPONE i współaut. 1988). Traktowanie komórek wymienionymi inhibitorami jednocześnie z egzogennym  $IP_3$  powoduje zniesienie hamującego wpływu tych czynników.

Przytoczone dane wskazują, że w orzęsku *Blepharisma* światło prawdopodobnie inicjuje hydrolizę fosfatydilinozytolu do  $IP_3$ , który jako potencjalny wtórny przekaźnik może być zaangażowany w proces przetwarzania energii świetlnej. Dodatkowym potwierdzeniem tej sugestii jest obecność w pelikuli *Blepharisma* receptorów dla  $IP_3$  (FABCZAK i współaut. 1996b).

### POTENCJAŁ FOTORECEPTOROWY

Stymulacja adaptowanego do ciemności orzęska krótkotrwałym niezbyt silnym bodźcem świetlnym prowadzi do chwilowego przyspieszenia ruchu komórki do przodu (fotokineza). Taka stymulacja wywołuje, jak wynika z we-

wnątrzkomórkowych pomiarów elektrofizjologicznych, przejściową depolaryzację błony komórkowej, to jest generację potencjału fotoreceptorowego (ryc. 4). Wytwarzanie potencjału receptorowego nie jest natychmiastowe, lecz



Ryc. 4. Błonowy potencjał fotoreceptorowy i czynnościowy u orzęska *Blepharisma*.

(A) Stymulacja orzęska światłem ( $h\nu$ ) wywołuje zmiany potencjału błonowego ( $V_m$ ) komórki, rejestrowane przez mikroelektrodę szklaną. (B) Impuls świetlny o niskiej intensywności wywołuje depolaryzacyjny potencjał receptorowy, w wyniku którego następuje przyspieszenie normalnej pracy rzęsek i szybszy ruch komórki do przodu. Potencjał receptorowy o amplitudzie powyżej progu pobudliwości elektrycznej błony, wywołany impulsem światła o wyższej intensywności, indukuje potencjał czynnościowy, który, z kolei, generuje rewersję ruchu rzęskowego, a zatem ruch komórki do tyłu (element reakcji fotofobowej). Na dole rysunku są przedstawione: względna intensywność, przebieg i czas trwania impulsów światła (podprogowego i nadprogowego).

zachodzi ze znacznym opóźnieniem, a jego amplituda rośnie wraz z intensywnością bodźca, aż

#### POTENCJAŁ CZYNNOŚCIOWY I REWERSJA RUCHU RZĘSKOWEGO

Oświetlenie adaptowanego do ciemności orzęska *Blepharisma* intensywnym światłem wywołuje opisaną powyżej reakcję fotofobową. Taka stymulacja komórki wytwarza bardziej złożoną niż w przypadku słabszej stymulacji odpowiedź elektryczną błony komórkowej (ryc. 4). W tym przypadku również jest generowany potencjał fotoreceptorowy lecz o znacznie szybszym przebiegu i wyższej amplitudzie od progu elektrycznego pobudzenia błony, co prowadzi do wytworzenia przez komórkę potencjału czynnościowego (FABCZAK i współaut. 1993a). Mechanizm jonowy powstawania potencjału czynnościowego u *Blepharisma* jest poznany zaledwie w niewielkim tylko stopniu. Stwierdzono, że amplituda potencjału czynnościowego zależy od poziomu jonów  $Ca^{2+}$  w środowisku. Poten-

do maksymalnej wartości 15–25 mV (FABCZAK i współaut. 1993a). Stymulacja komórki bodźcem o przedłużonym czasie trwania wywołuje potencjał receptorowy o wydłużonej fazie repolaryzacyjnej. Zjawisko to jest prawdopodobnie związane z procesem adaptacji komórek do światła. Opóźnienie w generacji potencjału oraz zjawisko adaptacji odpowiedzi elektrycznej do światła sugerują, że wytwarzanie potencjału fotoreceptorowego może być poprzedzane przez szereg reakcji biochemicznych, których zajście wymaga czasu. Może to być, jak przedstawiono wyżej, hydroliza fosfatydyloinozytolu, podobnie jak w komórkach fotoreceptorowych oka u bezkręgowców (RAYER i współaut. 1990, YARFITZ i HURLEY 1994). Mechanizm jonowy generacji potencjału fotoreceptorowego w komórkach *Blepharisma* nie jest znany. Z doświadczeń związanych z wpływem zmian stężenia niektórych jonów w środowisku komórki wynika, że potencjał fotoreceptorowy jest w części zależny od poziomu  $Ca^{2+}$  w medium (FABCZAK i współaut. 1996d).

Podobnie jak w przypadku widma czynnościowego reakcji fotofobowej widmo czynnościowego potencjału receptorowego orzęsków wykazuje najwyższą wrażliwość komórek w obszarze światła czerwonego (FABCZAK i współaut. 1993a). Największą amplitudę potencjału receptorowego można wywołać stymulując komórkę *Blepharisma* światłem monochromatycznym o długości fali 580 nm. Komórki te wykazują także dużą wrażliwość na działanie promieniowania w zakresie UV, natomiast światło powyżej 700 nm nie wywiera zauważalnego wpływu na zmiany elektryczne na błonie komórki.

Spoczynkowy potencjał u *Blepharisma* jest zależny głównie od poziomu jonów  $K^+$  w środowisku i podwyższenie stężenia tych jonów depolaryzuje silnie błonę komórkową. Stymulacja komórek światłem w takich warunkach nie prowadzi do wytwarzania potencjału czynnościowego ze względu na inaktywację systemu generującego ten potencjał. Brak potencjału czynnościowego stanowi prawdopodobnie przyczynę obserwowanego zaniku reakcji fotofobowej (rewersji ruchu rzęskowego) u *Blepharisma* w środowisku przy wyższych stężeniach jonów  $K^+$  (COLOMBETTI i współaut. 1982).

Wstępne dane sugerują więc, że błonowy potencjał czynnościowy u *Blepharisma* jest uzależniony, podobnie jak w pokrewnym orzęsku *Stentor*, głównie od jonów potasu i wapnia. W

komórkach *Stentor* potencjał czynnościowy powstaje w wyniku napływu jonów  $\text{Ca}^{2+}$  do komórki przez zależne od napięcia kanały wapniowe. Repolaryzacja potencjału błonowego następuje, z kolei, na skutek wypływu jonów  $\text{K}^+$  z komórki poprzez aktywowane wapniem kanały potasowe (WOOD 1995). Potencjał czynnościowy u *Blepharisma* nie jest, podobnie jak rewersja ruchu rzęskowego, specyficzną odpowiedzią błony na działanie światła i może być indukowany dowolną nadprogową depolaryzacją błony komórkowej (FABCZAK 1990). Podobnie jak ma to miejsce w modelowym orzęsku, *Paramecium*, gdzie stwierdzono jednoznacznie, że wystąpienie rewersji ruchu rzęskowego jest skorelowane z potencjałem czynnościowym (ECKERT i NAITOH 1970). U *Blepharisma* również zaobserwowano, podczas rejestracji zmian potencjału błonowego

ściłą korelację czasową pomiędzy rewersją ruchu rzęskowego i ponadprogową depolaryzacją błony komórkowej. Komórka zawieszona tylko na jednej mikroelektrodzie rejestrującej w momencie wystąpienia potencjału czynnościowego wykonuje wokół tej elektrody ograniczony ruch, wywołany rewersją ruchu rzęskowego (FABCZAK i FABCZAK 1995). Ponadto analiza czasowa opóźnień, z jakimi pojawia się rewersja ruchu rzęskowego i potencjał czynnościowy w odpowiedzi na taki sam impuls świetlny, wykazuje, że są one bardzo zbliżone (FABCZAK i wsp. 1993a). Również obserwacje dotyczące braku generacji potencjału czynnościowego i reakcji fotofobowej przez komórki znajdujące się w roztworach zawierających wysokie stężenie jonów potasu dowodzą o korelacji między potencjałem czynnościowym a rewersją ruchu rzęskowego.

#### PODSUMOWANIE

*Blepharisma* posiada system fotoreceptorowy, który czyni ją wrażliwą na działanie światła widzialnego oraz ultrafioletowego. Odzwierciedleniem tej właściwości jest fotodispersja, polegająca na gromadzeniu się orzęsków w miejscach zacienionych. Za to zjawisko są odpowiedzialne, występujące u poszczególnych orzęsków reakcje fotofobowa oraz fotokinetyczna. Reakcja fotofobowa jest odpowiedzią na wzrost natężenia światła w środowisku i polega na chwilowym zatrzymaniu się, następnie ruchu do tyłu (rewersji ruchu rzęsek) i ponownym ruchu do przodu (renormalizacja pracy rzęsek) w odmiennym kierunku i ze zwiększoną szybkością (efekt fotokinetyczny). Rewersja ruchu rzęskowego jest następstwem generacji potencjału czynnościowego, ten zaś powstaje na skutek przejściowej depolaryzacji błony (potencjał fotoreceptorowy) o amplitudzie wyższej od progu pobudzenia błony komórkowej. Wstępne dane wskazują, że w generacji potencjałów recep-

torowego i czynnościowego biorą udział jony wapnia. W komórkach wstępnie adaptowanych do ciemności a następnie poddanych działaniu światła następuje wzrost poziomu IP3. Zmiany te są redukowane w znacznym stopniu przez neomycynę. Również neomycyna oraz heparyna i jony litu wyraźnie hamują występowanie reakcji fotofobowej. Wpływ tych czynników na reakcję fotofobową jest zmniejszony w przypadku, gdy w środowisku występuje jednocześnie egzogeny IP3. Przedstawione dane sugerują, że system przetwarzający bodźce świetlne u *Blepharisma* może być zbliżony do procesów przekazywania receptorem występujących w komórkach organizmów wyższych.

Szereg zjawisk zachodzących u *Blepharisma* w wyniku absorpcji światła czyni z tego jednokomórkowego organizmu interesujący układ modelowy do badań mechanizmów przetwarzania sygnału świetlnego na błonowe zmiany elektryczne i związane z tym reakcje ruchowe.

#### THE PHOTOPHOBIC RESPONSES IN THE CILIATE *BLEPHARISMA JAPONICUM*

##### Summary

*Blepharisma* contains, unlike most other ciliates, an endogenous pink pigment, blepharismine, which has been identified as the photoreceptor molecule that renders the cell sensitive to visible and UV radiation. The ciliates exhibit photodispersal as they tend to swim away from a bright illumination and to accumulate in shady or dark areas. This photobehaviour results from step-up photophobic and photokinetic responses. The photokinetic effect is observed when the cell increases its swimming velocity upon the rise of intensity of steady illumination while the photophobic response occurs when the cell is exposed to a sudden increase in the illumination intensity. The photophobic response starts with delayed cessation and reversal of ciliary beating that results in stopping of swimming followed

by a period of backward movement. The ciliary activity is renormalized after that, and the cell resumes the forward movement in a randomly chosen new direction. Modification by light of the cell behaviour allows its rapid escape from an overlighted area by changing the direction and velocity of its movement. The cell stimulation with a brief light pulse leads to a transient membrane depolarization, i.e. generation of a photoreceptor potential. The light induced potential changes may trigger an all-or-none action potential when the depolarization exceeds the membrane excitation threshold. An action potential, as in all other ciliates, causes the occurrence of reversal of ciliary beating observed during the photophobic response. The action potential is generated possibly by influx of external  $\text{Ca}^{2+}$

ions through voltage dependent ion channels of the cell membrane. The photoreceptor potentials show some dependence on external  $\text{Ca}^{2+}$  concentration but the exact ionic mechanism of its generation is not known. Determination of  $\text{IP}_3$  level in cell cytoplasm shows that, in dark adapted cells, light stimulation induces a rapid increase of  $\text{IP}_3$  concentration. These light induced changes in cellular  $\text{IP}_3$  level are partially abolished by treatment of the cell with neomycin. Also photophobic responses in ciliate cells are suppressed to a large extent in cells treated with neomycin

and heparin or lithium ions as well. These inhibitory influences on cell photobehaviour is entirely canceled when  $\text{IP}_3$  is simultaneously added to the cell medium. These results suggest that the inositol signalling pathway may be involved in the light signal transduction in *Blepharisma*, like it is in various cells of multicellular organisms. The light dependent events observed in *Blepharisma* render this ciliate an interesting system for investigation of the mechanisms of the light signal transduction and electromechanical coupling in unicellular organisms.

## LITERATURA

- BROWN H. M., 1983. *The role of  $\text{H}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  in Balanus photoreceptor function.* [W:] *The Physiology of Excitable Cells.* Liss A. R., Inc., New York, 327–341.
- CHECCUCCI G., DAMATO G., GHETTI F., LENCI F., 1993. *Action spectra of the photophobic response of blue and red forms of Blepharisma japonicum.* Photochem. Photobiol. 57, 686–689.
- COLOMBETTI G., LENCI F., SONG P.-S., 1982. *Effect of  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  ions on motility and photosensory responses of Stentor coeruleus.* Photochem. Photobiol. 36, 609–611.
- DIEHN B., FEINLEIB M., HAUPT W., HILDEBRAND E., LENCI F., NULTCH W., 1977. *Terminology of behavioral responses of motile microorganisms.* Photochem. Photobiol. 26, 559–560.
- DOWNES C. P., MICHEL R., 1981. *The polyphosphoinositide phosphodiesterase of erythrocyte membranes.* Biochem. J. 198, 133–140.
- ECKERT R., NAITOH Y., 1970. *Passive electrical properties of Paramecium and problems of ciliary coordination.* J. Gen. Physiol. 55, 467–483.
- FABCZAK S., 1990. *Free potassium and membrane potentials in cells of Blepharisma japonicum.* Acta Protozool. 29, 179–185.
- FABCZAK S., FABCZAK H., SONG P.-S., 1993a. *Photosensory transduction in ciliates. III. The temporal relation between membrane potentials and photomotile responses in Blepharisma japonicum.* Photochem. Photobiol. 57, 872–876.
- FABCZAK H., FABCZAK S., SONG P.-S., CHECCUCCI G., GHETTI F., LENCI F., 1993b. *Photosensory transduction in ciliate: The role of intracellular pH and comparison between Stentor coeruleus and Blepharisma japonicum.* J. Photochem. Photobiol. 21, 47–52.
- FABCZAK H., FABCZAK S., 1994. *Rzęski i wici.* Biologia w Szkole 237, 5–12.
- FABCZAK S., FABCZAK H., 1995. *Phototransduction in Blepharisma and Stentor.* Acta Protozool. 34, 1–11.
- FABCZAK H., WALERCZYK M., FABCZAK S., 1996a. *Rola wapnia i cyklicznych nukleotydów w regulacji ruchu orzęsków.* Kosmos 45, 11–24.
- FABCZAK H., WALERCZYK M., FABCZAK S., 1996b.  *$\text{IP}_3$ -mediated light signal transduction in the protozoan ciliate Blepharisma japonicum.* Abstracts of Intern. Meeting on UV/Blue Light. Marburg, 71.
- FABCZAK H., WALERCZYK M., FABCZAK S., GROSZYŃSKA B., 1996c.  *$\text{InsP}_3$ -modulated photophobic responses in Blepharisma.* Acta Protozool. 35, 251–255.
- FABCZAK S., FABCZAK H., WALERCZYK M., SIKORA J., GROSZYŃSKA B., SONG P.-S., 1996d. *Ionic mechanism controlling photophobic responses in the ciliate Blepharisma japonicum.* Acta Protozool. 35, 245–249.
- GHETTI F., 1991. *Photoreception and photomovements in Blepharisma japonicum.* [W:] *Biophysics of Photoreceptors and Photomovements in Microorganisms.* LENCI F. i współaut. (red.) Plenum Press, New York, pp. 257–265.
- GIESE A. C., 1973. *Blepharisma. The Biology of a Light-Sensitive Protozoan.* Stanford University Press, Stanford, California.
- GIESE A. C., 1981. *The photobiology of Blepharisma.* [W:] *Photochemical and Photobiological Review,* SMITH K. C., (red.) Plenum Press, New York, 139–180.
- GUALTIERI P., PASSARELLI V., BARSANTI L., 1989. *In vivo microspectrophotometric investigation of Blepharisma japonicum.* J. Photochem. Photobiol. 3, 379–383.
- JENNINGS H., 1906. *Contributions to the study of the behavior of lower organisms. Reactions to light in ciliates and flagellates.* Carnegie Inst. Washington, s. 31–48.
- KENNEDY J. R., 1965. *The morphology of Blepharisma undulans Stein.* J. Protozool. 12, 542–561.
- KRAML M., MARWAN W., 1983. *Photomovement responses of the heterotrichous ciliate Blepharisma japonicum.* Photochem. Photobiol. 37, 313–319.
- MAST S. O., 1906. *Light reactions in lower organisms. I. Stentor coeruleus.* J. Exp. Biol. 3, 379–399.
- MATSUOKA T., 1983. *Negative phototaxis in Blepharisma japonicum.* J. Protozool. 30, 409–414.
- MATSUOKA T., IMANAKA T., ARITA T., TANEDA K., 1991. *Localization of thermoreceptor systems that induce step-up and step-down thermophobic responses and switching in the dominance of these systems in Blepharisma.* J. Protozool. 38, 335–338.
- MATSUOKA T., TAKAHASHI M., WADA K., TANEDA K., 1992a. *Chemosensory response in Blepharisma. I. Accumulation of cells in products of bacterial metabolism.* J. Protozool. 39, 329–333.
- MATSUOKA T., MURAKAMI Y., FURUKOHRI T., ISHIDA M., TANEDA K., 1992b. *Photoreceptor pigment in Blepharisma:  $\text{H}^+$  release from red pigment.* Photochem. Photobiol. 56, 399–402.
- MATSUOKA T., WATANABE Y., SAGARA Y., TAKAYANAGI M., KATO Y., 1995. *Additional evidence for blepharismmin photoreceptor pigment mediating step-up photophobic response of unicellular organism, Blepharisma.* Photochem. Photobiol. 62, 190–193.
- O'BRIEN D. F., 1982. *The chemistry of vision.* Science 218, 961–966.
- RAYER B., NAYNERT M., STIEVE H., 1990. *Phototransduction; Different mechanisms in vertebrates and invertebrates.* J. Photochem. Photobiol. 7, 107–148.
- SCEVOLI P., BISI G., COLOMBETTI G., BARONE E., NOBILI R., 1987. *Photomotile responses of Blepharisma japonicum. I. Action spectra determination and time-resolved fluorescence of photoreceptor pigments.* J. Photochem. Photobiol. B. 1, 75–84.
- SCHIBECI A., SCHACHT J., 1977. *Action of neomycin on the metabolism of polyphosphoinositides in the guinea pig kidney.* Biochem. Pharmacol. 26, 1769–1774.
- SEVENANTS M. R., 1965. *Pigments of Blepharisma undulans compared with hypericin.* J. Protozool. 12, 75–84.
- SUPATTAPONE S., WORLEY P. F., BARABAN J. M., SNYDER S. H., 1988. *Solubilization, purification and characterization of an inositol triphosphate receptor.* J. Biol. Chem. 263, 1530–1534.
- TAKIMOTO K., OKADA M., MATSUDA Y., NAKAGAWA H., 1985. *Purification and properties of myo-inositol-1-phosphate.* J. Biochem. 98, 363–370.

- TAO N., DEFORCE L., ROMANOWSKI M., MEZA-KEUTHEN S., SONG P.-S., FURUYA M., 1994. *Stentor and Blepharisma photoreceptors: Structure and function*. Acta Protozool. 33, 199–211.
- VANDEBOGAERDE A. L., DE WITTE P.A., 1996. *Hypericin as a natural photosensitizer with cytotoxic and antitumor effects*. Phytother. Res. 10 (Suppl. 1), S150–S152.
- VANDERWERF G. M., SAXTON R. E., CHANG A., HORTON D., PAIVA M. B., ANDERSON J., FOOTE CH., SOUDANT J., MATHEY A., CASTRO D. J., 1996. *Hypericin: A new laser phototargeting agent for human cancer cells*. Laryngoscope 106, 479–483.
- WOOD D. C., 1995. *Action potentials generated by  $I_{Ca}$  and  $I_{K(Ca)}$  in a primitive ciliate*. Abstr. Soc. Neurosci. 21, 65.
- YARFITZ S., HURLEY J. B., 1994. *Transduction mechanisms of vertebrate and invertebrate photoreceptors*. J. Biol. Chem. 269, 14329–14332.