

HANNA FABCZAK i STANISŁAW FABCZAK

Zakład Biologii Komórki, Instytut Biologii Doświadczalnej, PAN

Pasteura 3, 02-093 Warszawa

e-mail: hannaFab@nencki.gov.pl

JAK PORUSZAJĄ SIĘ WICI I RZĘSKI?

WPROWADZENIE

Organelle, które po raz pierwszy ponad 300 lat temu, w 1675 r., zobaczył Antoni van Leeuwenhoek, opisał jako „rozliczne nieprawdopodobnie cienkie, malutkie odnóża poruszające się bardzo szybko” (SATIR 1995). Były to rzęski, nazwane tak dopiero w 1786 r. przez MÜLLERA, pierwsze organelle komórkowe, których ruch został opisany jako funkcja fizjologiczna komórki. Wśród organizmów jednokomórkowych za pomocą rzęsek poruszają się orzęski (takie jak np. *Paramecium* czy *Blepharisma*, Ryc. 1C). Wiciowce, jako narządu ruchu, używają wici. Za pomocą tego organellum porusza się powszechnie znana *Euglena* (Ryc. 1A) i niezwykle użyteczny w badaniach nad mechanizmem ruchu wici, *Chlamydomonas* (Ryc. 1B). Wiciowce mają zwykle od jednej do kilku wici zlokalizowanych w ściśle określonym rejonie. Natomiast rzęski w liczbie kilku tysięcy, mogą pokrywać całą powierzchnię pierwotniaka (np. u *Paramecium* czy *Blepharisma*, Ryc. 1C), mogą również tworzyć

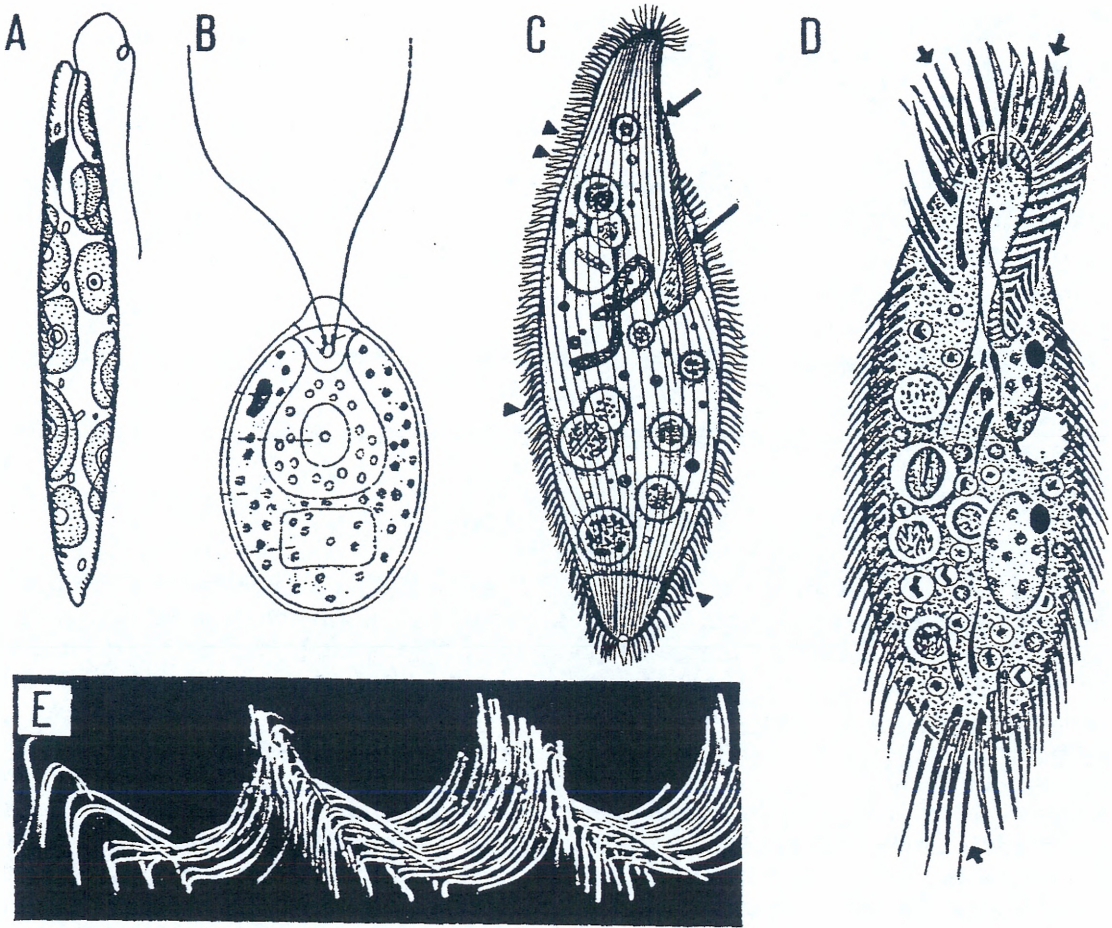
zespoły krótkich sztywnych szczecinek, zwanych cirri, powstałych na skutek zlepiania ze sobą kilku rzęsek (np. u *Oxytricha*, Ryc. 1D, strzałki) lub też formować rodzaj „falbanki” nazwanej membranellą, otaczającej otwór gębowy orzęsków (Ryc. 1C, duże strzałki). Rzęski i wici są wytworami powierzchni komórki o średnicy około 0,2 μm . Długość rzęsek wynosi zwykle około 10 μm , natomiast wici od 100 do 200 μm .

Od czasów van Leeuwenhoek’a techniki mikroskopowe, w połączeniu z systemami rejestracji i analizy ruchu, zrobiły tak wielki postęp, że sposób poruszania rzęsek lub wici nie powinien kryć w sobie żadnych tajemnic. Niestety, mimo poznania za pomocą mikroskopii elektronicznej, tajników budowy i ultrastruktury tych organelli oraz poznania przy użyciu technik biologii molekularnej i genetyki funkcji, jakie pełnią poszczególne elementy budujące rzęski i wici, wyjaśnienie mechanizmu ich ruchu nadal pozostaje na etapie modeli i hipotez.

STRUKTURA AKSONEMY RZĘSEK I WICI

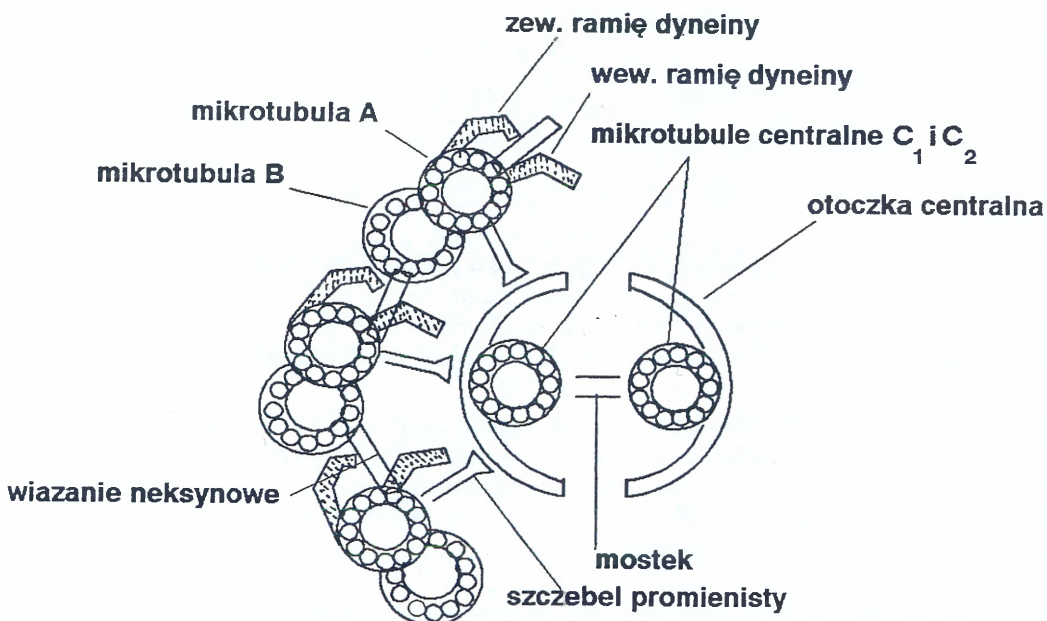
Cytoszkielek rzęski i wici stanowi aksonema, struktura wyrastająca z ciała bazalnego (nazwanego kinetosomem) i zbudowana według schematu $9 \times 2 + 2$. Oznacza to, że 9 dubletów mikrotubul obwodowych, rozmieszczonych symetrycznie na obwodzie rzęski, otacza dwie mikrotubule centralne wchodzące w skład aparatu centralnego (Ryc. 2). Zarówno mikrotubule obwodowe, jak i centralne zbudowane są z tubuliny, białka dimerycznego, w skład którego wchodzi dwie podjednostki α i β o masie cząsteczkowej, odpowiednio 53 i 56 kD. Szczegółowe badania aparatu centralnego, zwłaszcza wici *Chlamydomonas* pokazały, że jest to skomplikowana struktura składająca się z dwóch mi-

krotubul centralnych (oznaczonych C1 i C2) zbudowanych z 13 protofilamentów tubuliny, każda i połączonych mostkiem centralnym. Z mikrotubul tych wystają niewielkie wyrostki długości od 8 do 18 nm ułożone w rzędy, wzdłuż mikrotubuli. Wielkość wypustek, gęstość ich upakowania w rzędzie oraz liczba rzędów przypadająca na jedną mikrotubulę odróżnia mikrotubule i jest charakterystyczna dla poszczególnych gatunków. Biochemiczna analiza aparatu centralnego wykazała, że poza tubuliną, jest on zbudowany z 23 polipeptydów, których masa cząsteczkowa waha się między 14-60 kD (ADAMS i współaut. 1981, DOUTCHER i współaut. 1984). Dziesięć z nich jest związa-



Ryc. 1. Schemat przedstawiający wybrane gatunki pierwotniaków:

(A) *Euglena*; (B) *Chlamydomonas*; (C) *Blepharisma* — małymi strzałkami zaznaczono orzesienie somatyczne, duże strzałki wskazują membranelle; (D) *Oxytricha* — strzałkami zaznaczono cirri; (E) model fal metachronalnych u *Paramecium*.



Ryc. 2. Schemat poprzecznego przekroju przez fragment aksonemy, z zaznaczonymi ważniejszymi elementami strukturalnymi.

nych wyłącznie z mikrotubulą C1, natomiast 7 tylko z mikrotubulą C2. Gęsto ułożone wypustki wystające z mikrotubul centralnych tworzą otoczkę centralną. Od góry para mikrotubul centralnych zakończona jest czapeczką mającą połączenie z błoną wici lub rzęski (SMITH i LEFEBVRE 1997).

Każdy dublet mikrotubul obwodowych składa się z mikrotubuli A, która ma na obwodzie 13 protofilamentów tubuliny oraz niepełnej mikrotubuli B składającej się tylko z 10 protofilamentów i mającej wspólną ścianę z mikrotubulą A. Sąsiadujące dublety mikrotubul obwodowych połączone są ze sobą za pomocą białka, neksyny, o własnościach elastycznych (Ryc. 2).

Od każdej mikrotubuli A w kierunku sąsiedniej mikrotubuli B „wyrasta” zewnętrzne i wewnętrzne ramię dyneinowe (Ryc. 2). Ramiona te o długości między 40–50 nm, zbudowane są z 2 lub 3 łańcuchów ciężkich, oznaczonych α , β i γ , tworzących głowy cząsteczki dyneiny. Masa cząsteczkowa dyneiny w aksonemie pierwotniaków przekracza 2000 kD. W tym 512 kD przypada na łańcuch α , 475 kD na β i 470 kD na γ . Głowy dyneiny są miejscem wiązania i hydrolizy ATP, charakteryzują się one aktywnością ATP-azy zależnej od Mg^{2+} i są zapewne odpowiedzialne za aktywność motoryczną kompleksu dyneinowego. To im przypisuje się zdolność „krocze-

nia” po sąsiedniej mikrotubuli B. Na N-końcu łańcuchów ciężkich zlokalizowane są łańcuchy pośrednie o masie cząsteczkowej od 85–120 kD (KING i współaut. 1991, WITMAN 1992, KOROHODA 1997). Genetyczne i biochemiczne badania wykazały, że łańcuchy te są najprawdopodobniej odpowiedzialne za przyłączenie cząsteczki dyneiny do mikrotubuli (KING i współaut. 1991). Łańcuchy lekkie o masie cząsteczkowej od 8–30 kD są odpowiedzialne za regulację aktywności cząsteczki dyneiny (PORTER 1996). Wzdłuż każdej mikrotubuli A, w odstępach co 96 nm, w pobliżu wewnętrznego ramienia dyneinowego (PORTER 1996), odchodzą w kierunku aparatu centralnego szczelble promieniste (Ryc. 2). W tych strukturach, zbudowanych z wielu polipeptydów, można wyróżnić owalną głowę, która ma luźny kontakt z wyrostkami na mikrotubulach centralnych oraz wydłużony stylik łączący się z mikrotubulą A (CURRY i ROSENBAUM 1993).

Wymienione powyżej składniki aksonemy są elementami strukturalnymi najbardziej istotnymi w generacji ruchu. Należy jednak pamiętać, że zarówno wic, jak i rzęska zbudowane są z około 250 polipeptydów strukturalnych i regulatorowych i dopiero współdziałanie tych elementów umożliwia prawidłowy ruch organeli, a tym samym przemieszczanie całej komórki.

KOORDYNACJA RUCHU RZĘSEK

Badanie ruchu rzęski pozwoliło wyodrębnić dwie jego fazy. Pierwszą, nazwaną efektywnym uderzeniem rzęski i następującą po niej fazę ruchu powrotnego (PÁRDUCZ 1954). Podczas uderzenia efektywnego rzęska pozostaje względnie sztywna, a zgięcie utworzone tuż u jej podstawy umożliwia szybki ruch, „smagnięcie”, w jednej płaszczyźnie. Natomiast w trakcie fazy ruchu powrotnego, która trwa 2–3 razy dłużej niż uderzenie efektywne, rzęska traci sztywność, a zgięcie poprzednio ograniczone do podstawy powiększa się i rozprzestrzenia na całą jej długość. Podczas tej fazy rzęska oddala się od płaszczyzny ruchu wychylając się w jedną stronę ku powierzchni komórki. W ten sposób kosztem utraty małej ilości energii, osiąga ona pozycję wyjściową i jest gotowa do kolejnego efektywnego uderzenia (Ryc. 3A). Powierzchnia *Paramecium* pokryta jest tysiącem rzęsek, tworzących ściśle określony wzór i poruszających się rytmicznie, co w konsekwencji można obserwować w postaci fal metachronalnych (PÁRDUCZ 1954, 1956, MACHEMER 1974, Ryc. 1E). Niezynchronizowana praca rzęsek, bez koordynacji ich ruchu, byłaby dla komórki nieefektyw-

nym sposobem poruszania się i wiązałaby się ze zbyt dużą stratą energii.

Pojawia się zatem pytanie: jaki czynnik jest odpowiedzialny za koordynację ruchu tysięcy rzęsek na powierzchni *Paramecium* i innych orzęsionych pierwotniaków? GRAY (1928, 1930) pierwszy zwrócił uwagę na istotną rolę lepkości środowiska w koordynacji tego ruchu. Mechaniczne współdziałanie nie wymaga, aby rzęski stykały się ze sobą. Wystarczy, że są one luźno ze sobą sprzężone poprzez lepkość zewnętrznego środowiska. Na tej podstawie oparta jest hipoteza sprzężeniowo-oscylacyjna, która sugeruje, że fale metachronalne powstają w wyniku oddziaływań pomiędzy sąsiednimi rzęskami w płynnym środowisku o określonej lepkości. Rozwój tej hipotezy nastąpił w latach sześćdziesiątych, kiedy SLEIGH (1965, 1969) stwierdził, że lepkość środowiska ma istotny wpływ na szybkość i kierunek rozchodzenia się fali metachronalnej u *Paramecium*. Tym samym potwierdziło to przypuszczenia, że u podstaw tworzenia fali metachronalnej leży przekazywanie mechaniczne. Hipoteza ta zakłada, że rzęska posiada pewną podatność do biernego zginania się. Za-

łożenie to znalazło potwierdzenie w doświadczeniach na „rzęsce olbrzymiej” małża, będącej pęczkiem ściśle skręconych ze sobą długich rząsek. Jej niewielkie mechaniczne odkształcenie zapoczątkowywało pełny cykl uderzenia rząski. Zatem można przypuszczać, że fala metachronalna powstaje na skutek przenoszenia od rząski do rząski niewielkich mechanicznych odkształceń wywołanych przez ruch płynu otaczającego komórkę.

Próbowano również wyjaśnić naturę fal metachronalnych poprzez hipotezy neuroidalne, zakładające rozprzestrzenianie się sygnału w

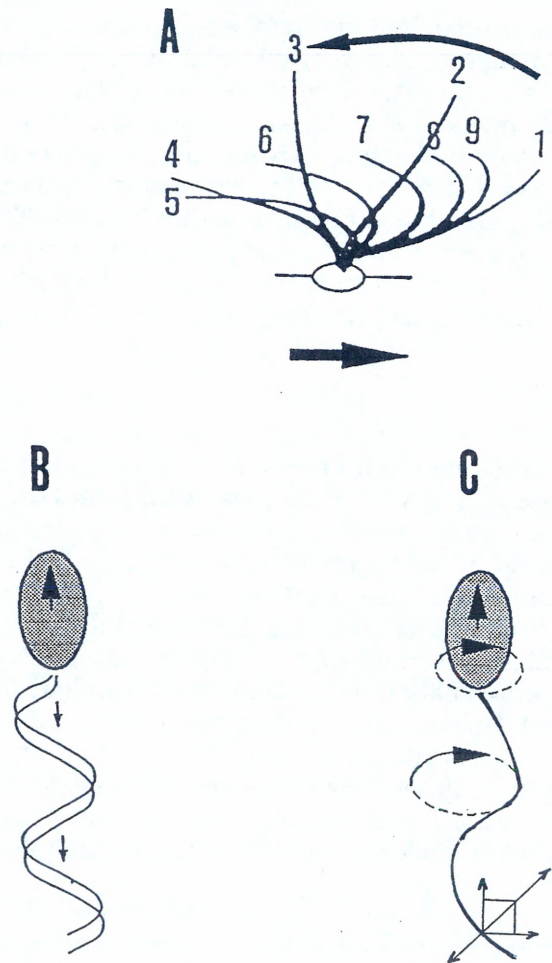
postaci fali, bądź przez powierzchnię błony plazmatycznej, bądź poprzez wewnątrzkomórkowe „włókna” łączące ciała bazalne. Dane doświadczalne nie potwierdziły jednak tych hipotez. Mikrochirurgiczne usunięcie połączeń między ciałkami bazalnymi nie zakłóca rytmu fali metachronalnej. Również rząski w komórkach pozbawionych funkcjonalnej błony (np. modelach glicerynowych lub detergentowych), w obecności ATP i Mg^{2+} wykazują pełną koordynację ruchu rząskowego w postaci fal metachronalnych.

FORMY RUCHU WICI

W przypadku wici obserwujemy różne formy jej ruchu, które dają napęd całej komórce. Fala zgięcia może przebiegać w jednej płaszczyźnie i wówczas komórka porusza się w kierunku przeciwnym do kierunku rozprzestrzeniania fali (Ryc. 3B), bądź fala ma charakter spiralny w trzech płaszczyznach i wypadkowa sił nadaje komórce ruch obrotowy, również w kierunku przeciwnym do kierunku rozchodzenia się fali (Ryc. 3C) (JAHN i współaut. 1963). Obserwując pracującą wicę mamy wrażenie, że porusza się ona dzięki biernemu przenoszeniu fali wywołanej aktywnym ruchem u jej podstawy. W rzeczywistości jednak ruch wici, podobnie jak rząski, jest aktywnym przemieszczaniem, wzdłuż całej organelli, zgięcia zapoczątkowanego u jej podstawy. Istnieje wiele przesłanek przemawiających za tym twierdzeniem. Po pierwsze, amplituda fali rozchodzącej się wzdłuż wici nie ulega zmniejszeniu wraz z oddalaniem się od miejsca pobudzenia. Po drugie, izolowana wicę, podobnie jak rząska, może poruszać się niezależnie od swojego punktu zakotwiczenia. Poza tym ruch niektórych wici ogranicza się tylko do ruchu samego końca, podczas gdy pozostały rejon jest nieruchomy i względnie sztywny (ECKERT 1988). Nasuwa się więc pytanie, jaki jest mechanizm zgięcia będącego podstawowym elementem ruchu rząski i wici?

HIPOTEZA ŚLIZGU MIKROTUBUL

Z uwagi na fakt, że sama aksonema po dostarczeniu ATP i jonów Mg^{2+} jest zdolna wykonać pełen cykl pracy rząski lub wici, mechanizm zgięcia leżący u podstaw ruchu tych organelli związany jest ich cytoszkieletem (HOFMAN-BERLING 1955, BROKAW 1961). Pierścieniowi dubletów mikrotubul otaczających aparat centralny może wykonać zgięcie: (1) poprzez skurcz mikrotubul po jednej oraz rozciąg-

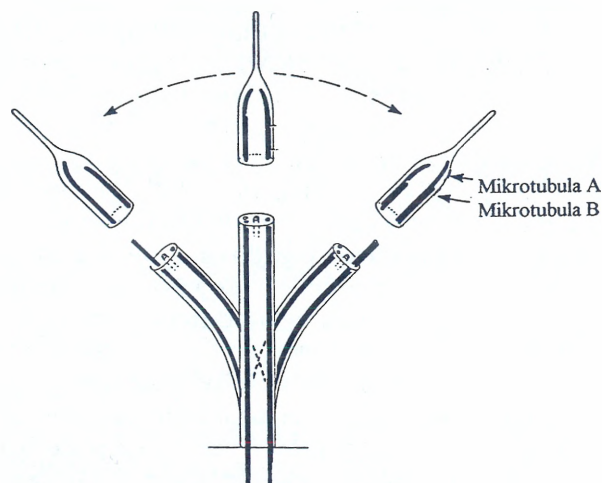


Ryc. 3. Schematy przedstawiające ruch aksonemy.

A: rząska; pozycja 1-4 kolejne fazy efektywnego uderzenia rząski. Rząska podczas efektywnej fazy ruchu jest wyprostowana. Pozycje 5-9 faza ruchu powrotnego, rząska traci swoją sztywność, tracąc najmniej energii przyjmuje pozycję 1, wyjściową do wykonania efektywnego uderzenia. B: ruch wici, fala zgięcia przesuwana się w jednej płaszczyźnie; C: ruch spiralny wici w trzech płaszczyznach (wg ECKERTA 1988).

nięcie po przeciwnej stronie rzęski, (2) poprzez przesuwanie się mikrotubul względem siebie po jednej tylko stronie aksonemy. Ta druga możliwość legła u podstaw ślizgowej hipotezy ruchu rzęski. SATIR w 1974 r. przedstawił zdjęcia z mikroskopu elektronowego, na których mikrotubule znajdujące się po wewnętrznej stronie krzywizny zgięcia zawsze wystawały poza te, które zlokalizowane były po zewnętrznej stronie łuku (Ryc. 4). Aktywne przesunięcie mikrotubul względem siebie wymaga wytworzenia mostków krzyżowych pomiędzy sąsiednimi mikrotubulami, analogicznie jak w aktomiozynom aparacie komórek mięśniowych. W przypadku rzęski współdziałanie pomiędzy dwoma głównymi białkami aksonemy, tubuliną i dyneiną posiadającą własności ATP-azy, zapewnia utworzenie połączeń między sąsiednimi dubletami. Przy braku ATP, główki dyneiny wiążą się stabilnie z cząsteczkami tubuliny na sąsiedniej mikrotubuli i rzęska pozostaje sztywna. W momencie dodania ATP, domeny dyneiny połączone do tej pory z tubuliną, ulegają gwałtownej dysocjacji. Hydroliza ATP przez dyneinę powoduje ponowne przyłączenie główek dyneinowych do sąsiedniej mikrotubuli. Jednak ramię dyneinowe zmienia kąt pod jakim głowa cząsteczki dyneiny przyczepia się teraz do sąsiedniej mikrotubuli. Nowe miejsce wiązania znajduje się bliżej podstawy sąsiedniej mikrotubuli B, wskutek czego dyneina spowoduje „ślizganie się” mikrotubul względem siebie. Podsumowując, możemy powiedzieć, że dyneinowe ramiona, znajdujące się na jednym dublecie mikrotubul, generują siłę względem sąsiedniej mikrotubuli,

powodując w ten sposób wzajemne przesunięcie mikrotubul względem siebie. Ponieważ mikrotubule są zakotwiczone w komórce poprzez



Ryc. 4. Schemat ilustrujący hipotezę ślizgową mikrotubul w aksonemie rzęsek lub wici na podstawie zdjęć z mikroskopu elektronowego (wg SATIRA 1974).

przyłączenie do ciałek podstawowych i połączone ze sobą poprzez wiązania neksynowe, to ich ślizg względem siebie przekształca się w zgięcie rzęski lub wici. W celu osiągnięcia całościowego cyklu pracy rzęski lub wici aktywność dyneinowych ramion musi być jednak regulowana. Gdyby wszystkie ramiona dyneinowe były równocześnie aktywne, to aksonema pozostawałaby w stanie pełnego zeszywnienia (SATIR 1985). Dlatego przypuszcza się, że musi istnieć system regulacji ślizgu mikrotubul względem siebie.

REGULACJA ŚLIZGU MIKROTUBUL PRZEZ DYNEINĘ

Regulacja aktywności aksonemy, w pewnym stopniu, może opierać się na istnieniu wielu izoform dyneiny. Jak się okazało, różnorodność ta występuje nie tylko między poszczególnymi gatunkami, lecz również w obrębie ramion dyneinowych tego samego organizmu. Podczas gdy w aksonemie obecny jest tylko jeden typ zewnętrznego ramienia dyneiny, to badania ultrastrukturalne wici *Chlamydomonas* wykazały, że wewnętrzne ramię dyneinowe występuje w dwóch różnych formach morfologicznych. Pierwsza, nazwana dwugłową, charakteryzująca się obecnością dwóch głów globularnych i druga, nazwana potrójną, w skład której oprócz dwóch głów wchodzi dwupłatkowa struktura (WITMAN 1992). Sytuacja jest jeszcze bardziej skomplikowana, gdyż na podstawie badań genetycznych i biochemicznych stwierdzono występowanie przynajmniej 8 różnych izo-

form łańcuchów ciężkich cząsteczki dyneiny, które wchodzi w skład wewnętrznego ramienia dyneinowego *Chlamydomonas* (PORTER 1996, KAGAMI i KAMIYA 1992). Stwierdzono (PORTER 1996), że trzy podtypy wewnętrznego ramienia dyneinowego występujące w komórce *Chlamydomonas*, ułożone w triplet, powtarzają się co 96 nm (dla przypomnienia, co 96 nm z każdej mikrotubuli A, w pobliżu wewnętrznego ramienia dyneinowego, wyrasta para szczelbi promienistych). Ramiona te różnią się nie tylko składem, ale ich rozmieszczenie wzdłuż mikrotubuli jest ściśle zaprogramowane. Próba ponownego przyłączenia do mikrotubuli uprzednio usuniętych wewnętrznym ramion dyneinowych wykazała, że ramiona dyneinowe, mimo wolnych pozycji w rzędzie ramion zewnętrznych lub „waku” w miejscu odmiennego podtypu ramienia wewnętrznego, przyłączają się do przypisanych

im, właściwych dla danego podtypu miejsc (SMITH i SALE 1992a). Funkcję łącznika między ramieniem dyneinowym a tubuliną pełni uniwersalny kompleks 7 polipeptydów, między innymi aktywny i centryny. Kompleks ten jest ściśle związany z aksonemą i nazwany regulatorowym kompleksem dyneiny. To najprawdopodobniej dzięki niemu następuje przytwierdzenie wewnętrznego ramienia dyneiny do tubuliny mikrotubuli A (LUCK i PIPERNO 1989, PIPERNO i współaut. 1992, 1994). W aksonemie mutantów charakteryzujących się defektem w regulatorowym kompleksie dyneiny, obserwuje się zmniejszoną ilość wewnętrznych ramion dyneinowych. Na podstawie zdjęć z mikroskopu elektronowego możemy wnioskować, że w ich aksonemie zanika lub ulega zmianie sierpowata struktura zlokalizowana u podstawy szczelki promienistej, przy połączeniu tego ostatniego z ramieniem wewnętrznym dyneiny (GARDNER i współaut. 1994).

Różnorodność form dyneiny, odmienność budowy ramion — wewnętrzne i zewnętrzne oraz ich ściśle określona lokalizacja dowodzą, że ramiona dyneinowe nie pełnią tej samej roli w prawidłowym funkcjonowaniu aksonemy. Zewnętrzne ramie dyneinowe w *Chlamydomonas*, jak wykazali BROKAW i KAMIYA (1987), reguluje częstotliwość uderzenia wici; w przypadku rzęsek podobnych spostrzeżeń dokonał SATIR i współaut. (1993).

Z drugiej strony badania na mutantach *Chlamydomonas* dostarczyły dowodów wykazujących, że wewnętrzne ramiona dyneinowe są odpowiedzialne za kształt fali, to znaczy formę zgięcia przesuwanego się wzdłuż aksonemy. Ruch wici pozbawionych jednej lub wielu izoform dyneiny budującej wewnętrzne ramiona jest zaburzony, a w niektórych przypadkach takie wici są zupełnie sparaliżowane (BROKAW i KAMIYA 1987; KAMIYA i współaut. 1989, 1991). Mikrotubule pozbawione wewnętrznych lub zewnętrznych ramion dyneinowych, w badaniach *in vitro*, mogą wprawdzie przesuwać się względem siebie, ale ze znacznie zredukowaną szybkością. Należy zaznaczyć, że zarówno wewnętrzne, jak i zewnętrzne ramiona dyneinowe generują siłę przemieszczania mikrotubul względem siebie tylko w jednym kierunku, wzdłuż aksonemy (SALE i SATIR 1977, FOX i SALE 1987). Prawdopodobnie, do wywołania aktywnego zgięcia aksonemy, będącego podstawą efektywnego ruchu rzęski i wici, musi zaistnieć współdziałanie obu ramion oraz lokalna aktywacja i inaktywacja wielu izoform dyneiny, zarówno wzdłuż długiej osi, jak i na obwodzie aksonemy.

Oprócz ramion dyneinowych, również takie elementy strukturalne aksonemy, jak szczelki promieniste i aparat centralny, są z pewnością zaangażowane w mechanizm poruszający rzęskę i wici. OMOTO i jego współpracownicy (OMOTO i KUNG 1979, 1980, OMOTO i WITMAN 1981) wykazali, że mikrotubule wchodzące w skład aparatu centralnego rzęsek *Paramecium* i wici morskiego jednokomórkowego glonu, *Micromonas pusilla*, wykonują podczas cyklu uderzenia pełny obrót o 360° . Te obserwacje sugerują, że w aksonemie istnieje dodatkowy stopień kontroli. Zapewne w regulację aktywności aksonemy włączona zostaje koordynacja ślizgu mikrotubul obwodowych względem siebie, z rotacją mikrotubul aparatu centralnego. Jeden z modeli zakłada, że wyrostki na mikrotubulach centralnych przekazują do szczelki promienistej lokalny sygnał, który selektywnie aktywuje lub inaktywuje odmienne izoformy dyneiny w ramionach (OMOTO i KUNG 1980). Mutanty *Chlamydomonas* pozbawione częściowo lub całkowicie aparatu centralnego mają sparaliżowaną wici. Nieruchomą wici obserwuje się również w mutantach pozbawionych szczelki promienistej (WITMAN i współaut. 1978). Jednak mikrotubule obwodowe wici mutantów z uszkodzonym aparatem centralnym lub pozbawionych szczelki promienistej, w doświadczeniach *in vitro* na izolowanych i wstępnie trawionych trypsyną aksonemach, po dodaniu ATP mają zdolność ślizgu względem siebie. Nie obserwuje się wprawdzie pełnego cyklu uderzenia wici związanego z inicjacją zgięcia, gdyż trawieniu ulegają szczelki promieniste i wiązania neksynowe, lecz dublety obwodowe kilkakrotnie zwiększają swoją długość, rozciągając się „teleskopowo” (WITMAN i współaut. 1976, 1978; SMITH i SALE 1992b). Bezpośredni pomiar szybkości ślizgu pokazuje, że praca wykonana przez mikrotubule obwodowe jest znacznie mniej wydajna w przemieszczaniu mikrotubul względem siebie w aksonemach mutantów, niż pochodzących ze szczepu dzikiego. Paraliż aksonemy nie jest jednak spowodowany defektem samego mechanizmu generującego ślizg, ale systemu kontrolującego, który reguluje generację ślizgu. Jedną z hipotez zakłada, że szczelki promieniste ograniczają aktywność endogennej kinazy białkowej. Już wcześniejsze doświadczenia (HASEGAWA i współaut. 1987) wykazały, że fosforylacja zależna od cAMP hamuje aktywność ruchową *Chlamydomonas*. Zastosowanie inhibitorów kinazy zależnej od cAMP (HOWARD i współaut. 1994), w przypadku mutantów pozbawionych szczelki promienistej lub z uszkodzonym aparatem centralnym, w doświadczeniach na „try-

psynowanych" aksonemach, powoduje powrót szybkości ślizgu do wartości charakterystycznych dla aksonem ze szczepu dzikiego. Doświadczenia te sugerują też, że jednym z substratów dla endogennej kinazy może być wewnętrzne ramię dyneinowe. Jednak zahamowanie fosforylacji zależnej od cAMP nie jest wystarczające do przywrócenia ruchu sparalizowanych wici.

Podsumowując, możemy powiedzieć, że w rzęskach i wiciach istnieją dwa systemy odpowiedzialne za mechanizm ruchu: 1) motoryczny, oparty na hydrolizie ATP przez dyneinę, oraz 2) system wrażliwy na trypsynę, kontrolujący ślizg mikrotubul w zakresie koniecznym do wystąpienia zgięcia. Tę drugą funkcję pełnią szczeble promieniste, które uważa się za regulator wewnętrzznego ramienia dyneiny (WARNER i SATIR 1974, SATIR 1989).

ZMIANY PARAMETRÓW RUCHU WICI I RZĘSEK W ODPOWIEDZI NA BODŹCE

Parametry ruchu, takie jak kierunek uderzenia i częstotliwość pracy — w przypadku rzęski lub zmiana kształtu fali (np. amplitudy) i szybkość przesuwania zgięcia wzdłuż aksonemy — w przypadku wici, są charakterystyczne dla poszczególnych gatunków. Parametry te mogą podlegać zmianie, w zależności od rodzaju bodźców płynących ze środowiska, w tym: mechanicznych, świetlnych czy chemicznych (KUNG i SAIMI 1982; MACHEMER i DEITMER 1985; VAN HOUTEN 1988; FABCZAK i współaut. 1993a, b; WITMAN 1993; FABCZAK i FABCZAK 1995). Wici i rzęski są efektem, ostatnim elementem, w złożonym procesie zainicjowanym percepcją bodźca przez receptory zlokalizowane na błonie komórkowej, poprzez szereg reakcji pośrednich, aż do odpowiedzi motorycznej komórki charakteryzującej się zmianą parametrów ruchu.

REWERSJA RUCHU AKSONEMY

Na początku wieku JENNINGS (1906) pierwszy opisał rewersję ruchu rzęskowego (reakcję ucieczki orzęsków), jako odpowiedź pierwotniaków na różnego rodzaju bodźce. Rewersję ruchu rzęskowego możemy obserwować w warunkach fizjologicznych, gdy wolno płynący do przodu orzęsek napotka przeszkodę mechaniczną. Wówczas zatrzymuje się na moment, następnie przez krótki czas płynie do tyłu, aby w końcu rozpocząć ruch do przodu w zmienionym kierunku. Niektóre orzęski, np. *Stentor* i *Blepharisma*, rewersją ruchu rzęskowego reagują na gwałtowny wzrost natężenia światła w środowisku (FABCZAK i FABCZAK 1995). Taką odpowiedź komórki określa się jako reakcję fotofobową (DIEHN i współaut. 1977). Przy wzroście natężenia światła obserwujemy również rewersję ruchu wici u *Chlamydomonas*, a reakcję tę określono jako reakcję szokową (WITMAN 1993). We wszystkich opisanych przypadkach takie zachowanie się komórek ma na celu uniknięcie zagrożenia i jak najszybsze i skuteczne wycofa-

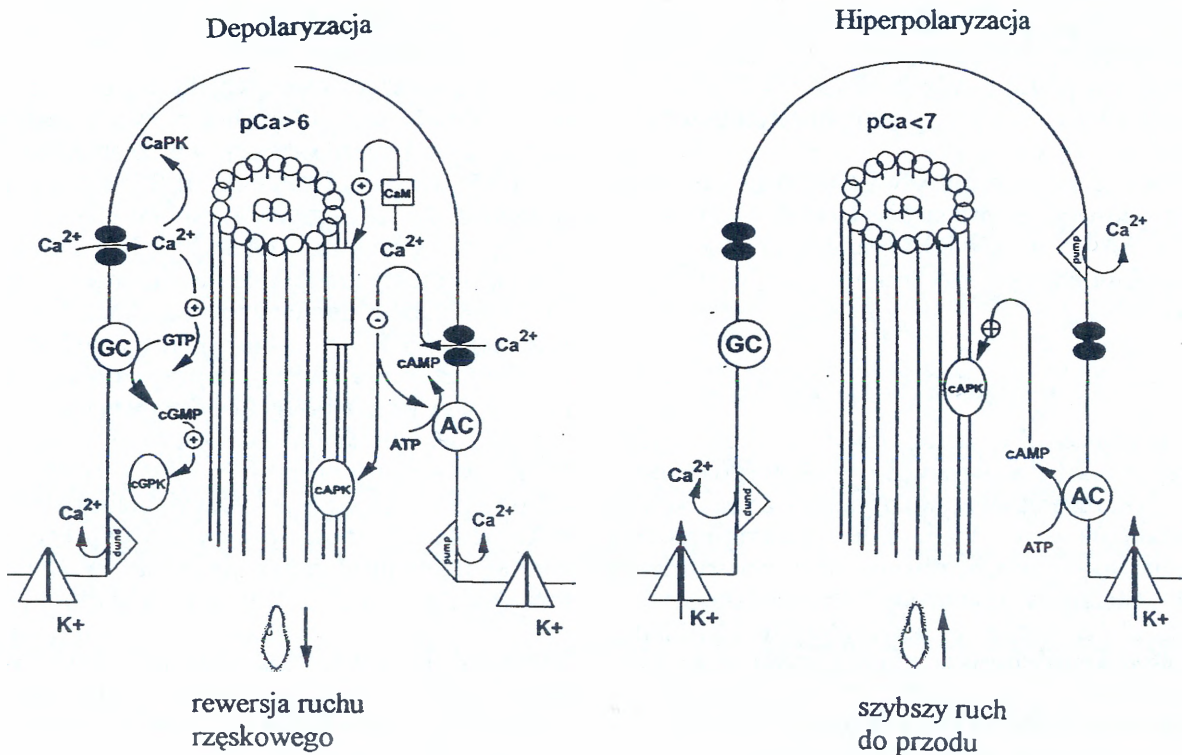
nie się z nieprzychylnego otoczenia. W normalnych warunkach komórka *Paramecium* płynie do przodu, rotując przeciwnie do kierunku ruchu wskazówek zegara. Pierwotniak kreśli tor ruchu, który można opisać jako wydłużoną, lewoskrętną spiralę. Kąt pod jakim następuje efektywne uderzenie rzęsek jest zmienny, oscyluje w granicach 135° w stosunku do kierunku ruchu. Podczas rewersji ruchu rzęskowego komórka płynie do tyłu, lecz rotacja komórki zostaje nadal skierowana przeciwnie do kierunku ruchu wskazówek zegara, natomiast tor ruchu staje się prawie prostoliniowy, a kąt efektywnego uderzenia rzęsek waha się w granicach 45° (DRYL i GREBECKI 1966, GREBECKI i współaut. 1967, KUŹNICKI i współaut 1970). Badania elektrofizjologiczne wykazały, że zmiana kierunku efektywnego uderzenia rzęsek u orzęsków oraz odwrócenie ruchu wici u *Chlamydomonas* są ściśle związane z generowaniem potencjału czynnościowego, poprzedzonego wstępną depolaryzacją błony komórkowej (potencjał receptorowy) (KAMADA 1934; KINOSITA 1954; KINOSITA i współaut. 1964a, b; ECKERT 1972; DOUGHTY i DRYL 1981; FABCZAK i współaut. 1993a, b). Generacja potencjału czynnościowego jest wynikiem otwarcia napięciowo zależnych kanałów wapniowych zlokalizowanych w błonie otaczającej rzęski lub wici. Lokalizację tych kanałów stwierdzono na podstawie, klasycznych już dziś, doświadczeń polegających na porównaniu rejestracji prądów jonowych w komórkach kontrolnych i pozbawionych rzęsek i wici. W odrzessionym *Paramecium* lub w *Chlamydomonas* po amputacji wici, typową odpowiedź elektryczną — potencjał czynnościowy, uzyskiwano dopiero po upływie czasu wymaganego do regeneracji tych organelli (DUNLAP 1977, BECK i UHL 1994). Poziom jonów wapnia w komórce orzęska, podobnie jak we wszystkich komórkach Eukaryota, utrzymywany jest na bardzo niskim poziomie, poniżej 10^{-7} M. Lokalny, nawet niewielki wzrost stężenia tego jonu w wyniku zmiany przepuszczalności błony komórkowej (np. otwarcie ka-

nałów wapniowych) powoduje elektryczną odpowiedź błony i jest odczytywany przez komórkę jako sygnał. Dobrym tego przykładem, chociaż niedokładnie zbadanym, może być zmiana aktywności rzęski i wici podczas rewersji ruchu (Grębecki 1965). Rolę jonów wapnia w tym procesie potwierdziły badania na detergentowych modelach komórkowych *Paramecium* (NAITOH i KANEKO 1972, NAKAOKA i współaut. 1983) i *Chlamydomonas* (KAMIYA i WITMAN 1984). Odblonione komórki, w obecności ATP i Mg^{2+} oraz przy 10^{-7} M Ca^{2+} , poruszają się do przodu. Wzrost stężenia Ca^{2+} w środowisku do 10^{-6} M powoduje zmianę kierunku efektywnego uderzenia rzęski (rewersję ruchu rzęsek) i komórka płynie do tyłu. Podobnie w przypadku wici parametry ruchu ulegają takiej zmianie, że komórka zaczyna płynąć do tyłu. Doświadczenia te dowodzą, że regulacja funkcji rzęski i wici następuje bezpośrednio w odpowiedzi na wzrost stężenia jonów wapnia w obrębie aksonemy, nie

jest zaś wywołana poprzez zmiany elektryczne na błonie komórkowej.

Nieznane są do tej pory mechanizmy odpowiedzialne za zmianę kierunku efektywnego uderzenia rzęski pod wpływem wzrostu wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia. Najbardziej zaawansowane są badania mające na celu wyjaśnienie tego zagadnienia na modelowym orzęsku *Paramecium*. Za najbardziej prawdopodobne uważa się procesy fosforylacji, bądź defosforylacji białek. W *Paramecium* zidentyfikowano dwie immunologicznie odmienne kinazy białkowe regulowane przez jony wapnia, Ca-PKI o masie cząsteczkowej 52 kD i Ca-PKII o masie cząsteczkowej 50 kD, obie niezależne od kalmoduliny i diacyloglicerolu (BONINI i współaut. 1991).

Oprócz bezpośredniego regulowania stopnia fosforylacji białek, jony wapnia mogą kontrolować aktywność polipeptydów aksonemy poprzez białka wiążące Ca^{2+} (WATANABE i współ-



Ryc. 5. Diagram przedstawiający odpowiedź rzęski *Paramecium* na bodziec depolaryzujący (A) i hiperpolaryzujący (B).

A — Depolaryzacja błony komórkowej powoduje otwarcie napięciowo zależnych kanałów, wpływ jonów wapnia do rzęski. Efektem tego procesu jest obniżenie aktywności cyklazy adenylnowej syntetyzującej cAMP, spadek poziomu tego nukleotydu, redukcja aktywności kinazy białkowej zależnej od cAMP i defosforylacja białka 29 kD. B — Hiperpolaryzacja błony komórkowej związana jest z otwarciem zależnych od napięcia błonowego kanałów potasowych zlokalizowanych w błonie somatycznej, wzrostem poziomu cAMP, aktywacją kinazy zależnej od cAMP i fosforylacją polipeptydu 29 kD. Efektem tych zmian jest przyspieszenie efektywnego uderzenia rzęsek i szybszy ruch do przodu. AC — cyklaza adenylnowa, cAMP — cykliczny monofosforan adenozyliny, cAPK — kinaza białkowa zależna od cAMP, GC — cyklaza guanylanowa, cGMP — cykliczny monofosforan guanozyny, cGPK — kinaza białkowa zależna od cGMP, CaPK — kinaza białkowa zależna od Ca^{2+} (FABCZAK i współaut. 1999)

aut. 1990). Najlepiej poznanym kandydatem na tę funkcję jest kalmodulina. To niskocząsteczkowe białko, występujące we wszystkich komórkach eukariotycznych, posiada 4 miejsca wiązania wapnia (KLEE i NEWTON 1985). Kalmodulina została zidentyfikowana u *Paramecium* i *Tetrahymena* jako jedno z białek ściśle związanych z dubletem mikrotubul obwodowych (MAIHLE i współaut. 1981, WATANABE i współaut. 1990). Doświadczenia z kalmoduliną znakowaną radioaktywnym izotopem jodu, ^{125}I -CaM, wykazują, że może ona wiązać się w obecności Ca^{2+} do 9 polipeptydów wchodzących w skład rzęsek *Paramecium*, z czego trzy są ściśle związane z aksonemą (BONINI i współaut. 1991). Kalmodulina, jako białko regulatorowe, może również kontrolować aktywność enzymów, np. fosfatazy zależnej od Ca^{2+} i CaM — kalcyneuryny (KLUMPP i współaut. 1983). Natomiast kinaza białkowa zależna od kalmoduliny, w obecności Ca^{2+} specyficznie fosforyluje β -tubulinę w aksonemie *Tetrahymena* (HIRANO-Oshnishi i WATANABE 1989).

PRZYSPIESZENIE RUCHU DO PRZODU

Przyspieszenie efektywnego ruchu rzęsek następuje podczas stymulacji tylnej części komórki. Orzęsek płynąc do przodu z większą prędkością, szybciej oddala się od potencjalnego zagrożenia (JENNINGS 1906, DOROSZEWSKI 1963, 1970, NAITOH i ECKERT 1969). Zjawisku

temu, jak wykazały badania elektrofizjologiczne, towarzyszy hiperpolaryzacja błony komórkowej wywołana aktywacją napięciowo zależnych kanałów potasowych zlokalizowanych w błonie komórkowej (OGURA i MACHEMER 1980). Podobne zmiany w częstotliwości uderzenia rzęsek *Paramecium* obserwuje się, gdy wzrasta wewnątrzkomórkowy poziom cAMP (BONINI i NELSON 1988). Ponadto wykazano, że zjawisko hiperpolaryzacji błony komórkowej związane jest ze wzrostem poziomu cAMP w cytoplazmie (SCHULTZ i współaut. 1992, PECH 1995). Jednocześnie, w obecności cAMP, stwierdzono wzrost ATP-azowej aktywności cząsteczki dyneiny (BONINI i NELSON 1990) oraz wzrost poziomu fosforylacji wielu białek aksonemy, w tym również dyneiny (TRAVISK i NELSON 1988, HAMASAKI i współaut. 1989, BONINI i NELSON 1990). Ważnym odkryciem potwierdzającym wcześniejsze spostrzeżenia było wykazanie, że lekki łańcuch dyneiny o masie cząsteczkowej 29 kD, wchodzący w skład zewnętrznego ramienia dyneinowego u *Paramecium*, ulega specyficznej fosforylacji w obecności cAMP przy stężeniu Ca^{2+} poniżej 10^{-7} M (HAMASAKI i współaut. 1989). Wzrost stężenia wapnia do poziomu powyżej 10^{-7} M powoduje zahamowanie fosforylacji. Lekki łańcuch dyneiny jest jej regulatorem. W formie ufosforylowanej, w badaniach *in vitro*, generuje on 1,4 razy szybszy ślizg mikrotubul niż w formie nieufosforylowanej (HAMASAKI i współaut. 1991, BARKALOW i współaut. 1994).

PODSUMOWANIE

Przedstawione w tej pracy dane mają na celu pokazanie, jak bardzo złożonym procesem jest mechanizm ruchu wici i rzęsek. Nie powinno zaskakiwać Czytelnika, że proces ten jest kontrolowany i regulowany na wielu etapach (WALCZAK i NELSON 1994, FABCZAK i współaut. 1999). Zdolność komórek do przemieszczania się zapewnia im zaspokajanie podstawowych funkcji fizjologicznych takich jak ucieczka przed agresorem, znalezienie pokarmu czy spotkanie „partnera” w celu koniugacji. Prawidłowe funkcjonowanie aparatu lokomotorycznego, jakim u wielu pierwotniaków są rzęski lub

wici, gwarantowane jest przez współdziałanie wszystkich elementów aksonemy budujących ten aparat. Regulacja aktywności ruchowej następuje najprawdopodobniej przez zależne od wapnia i cyklicznych nukleotydów procesy fosforylacji i defosforylacji białek wchodzących w skład aksonemy (Ryc. 5). Dalsze badania w zakresie biologii molekularnej i genetyki wykorzystujące liczne mutanty orzęsków i wiciowców z pewnością przyczynią się do pełnego wyjaśnienia mechanizmu odpowiedzialnego za ruch tych organelli.

FLAGELLAR AND CILIARY MOVEMENT

Summary

Ciliary and flagellar motile systems are constructed from conservative „9 × 2+2” structure, named axoneme, which is the most representative system of microtubule-mediated cell motility. The basic mechanochemical mechanism of ciliary and flagellar motility is microtubule sliding generated by dynein-ATP-ase activity. The longitudinal slid-

ing of outer-doublet microtubules is converted to the bending motion characteristic of ciliary or flagellar beat. Certain subciliary or subflagellar structure, such as basal bodies, dynein arms, radial spokes and nexin links are regulatory components. In addition to the basic mechanism, increasing evidence indicates that regulatory pathways

that control ciliary and flagellar motion employ second messengers including cyclic nucleotides and calcium ions. The extracellular stimuli sensed through a membrane receptor or change in membrane potential alters intraciliary or intraflagellar levels of second messengers. These in turn

trigger a cascade of biochemical events, which control the ciliary and flagellar locomotor systems by modulating the activity of axoneme proteins changing the direction and frequency of effective ciliary beating or the pattern of flagellar motion.

LITERATURA

- ADAMS G. M. W., HUANGD B., PIPERNO G., LUCK D. J. L., 1981. Central-pair microtubular complex of *Chlamydomonas flagella*: polypeptide composition as revealed by analysis of mutants. *J. Biol. Chem.* 91, 69-76.
- BARKALOW K., HAMASAKI T., SATIR P., 1994. Regulation of 22S dynein by a 29-kD light chain. *J. Cell Biol.* 126, 727-735.
- BECK C., UHL R., 1994. On the localization of voltage-sensitive calcium channels in the flagella of *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Cell Biol.* 125, 1119-1125.
- BONINI N. M., NELSON D. L. 1988. Differential regulation of *Paramecium* ciliary motility by cAMP and cGMP. *J. Cell Biol.* 106, 1615-1624.
- BONINI N. M., NELSON D. L., 1990. Phosphoproteins associated with cyclic nucleotide stimulation of ciliary motility in *Paramecium*. *J. Cell Sci.* 95, 219-230.
- BONINI N. M., EVANS T. C., MIGLIETTA L. A. P., NELSON D. L., 1991. The regulation of ciliary motility in *Paramecium* by Ca^{2+} and cyclic nucleotides. [W:] *Adv. Second Messenger Phosphoprotein Res.* GREENGARD P., ROBINSON G. A., (red.) Ravell Press Ltd. New York, 23, 227-272.
- BROKAW C. J., 1961. Movement and nucleoside polyphosphate activity of isolated flagella from *Polytoma uwela*. *Expl. Cell Res.* 22, 151-162.
- BROKAW C. J., KAMIYA R., 1987. Bending patterns of *Chlamydomonas* flagella: IV Mutants with defects in inner and outer dynein arms indicate differences in dynein arm function. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 8, 68-75.
- CURRY A. M., ROSENBAUM J. L., 1993. Flagellar radial spoke: a model molecular genetic system for studying organelle assembly. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 24, 224-232.
- DIEHN B., FEINLEIB M., HAUPT W., HILDEBRAND E., LENCI F., NULTSCH W., 1977. Terminology of behavioral responses in motile microorganisms. *Photochem. Photobiol.* 32, 781-786.
- DOROSZEWSKI M., 1963. The response of *Dileptus* and its fragments to the puncture. *Acta Protozool.* 1, 313-319.
- DOROSZEWSKI M., 1970. Responses of the ciliate *Dileptus* to mechanical stimuli. *Acta Protozool.* 7, 353-362.
- DOUGHTY M. J., DRYL S., 1981. Control and ciliary activity in *Paramecium*. An analysis of chemosensory transduction in eukaryotic unicellular organism. *Progress in Neurobiol.* 16, 1-115.
- DOUTCHER S. K., HUANGD B., LUCK D. J. L., 1984. Genetic dessection of the central pair microtubules of the flagella of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.* 98, 229-236.
- DRYL S., GREBECKI A., 1966. Progress in the study of excitation and response in ciliates. *Protoplasma* 62, 255-284.
- DUNLAP K., 1977. Localization of calcium channels in *Paramecium caudatum*. *J. Physiol.* 271, 119-133.
- ECKERT R., 1972. Bioelectric control of ciliary activity. *Science* 176, 473-481
- ECKERT R., 1988. *Cell motility*. [W:] *Animal Physiology. Mechanisms and Adaptations*. ECKERT R., RANDALL D. (red.), wyd W. H. Freeman and Company. New York, str. 368-386.
- FABCZAK S., FABCZAK H., 1995. Phototransduction in *Stentor* and *Blepharisma*. *Acta Protozool.* 34, 1-11.
- FABCZAK S., FABCZAK H., TAO N., SONGK P.-S., 1993a. Photosensory transduction in ciliate. I. An analysis of light induced electrical and motile responses in *Stentor coeruleus*. *Photochem. Photobiol.* 57, 696-701.
- FABCZAK S., FABCZAK H., SONGK P.-S., 1993b. Photosensory transduction in ciliate. III. The temporal relation between membrane potentials and photomotile responses in *Blepharisma japonicum*. *Photochem. Photobiol.* 57, 872-876.
- FABCZAK H., WALERCZYK M., SIKORA J., FABCZAK S., 1999. Ciliary and flagellar activity control in Eukaryotic cells by second messengers: calcium ions and cyclic nucleotides. *Acta Protozool.* 38, 87-96.
- FOX L. A., SALE W. S., 1987. Direction of force generated by the inner row of dynein arms on flagellar microtubules. *J. Cell Biol.* 105, 1781-1787.
- GARDNER L. C., O'TOOLE E., PERRONE C. A., GIDDINGS T., PORTER M. E., 1994. Components of a "dynein regulatory complex" are located at the junction between the radial spokes and the dynein arms in *Chlamydomonas* flagella. *J. Cell Biol.* 127, 1311-1325.
- GRAY J., 1928. *Ciliary Movement*, Cambridge U.K.: Cambridge Univ. Press.
- GRAY J., 1930. The mechanism of ciliary movement. *Proc. R. Soc. London [Biol.]* 107B, 113-332.
- GREBECKI A., 1965. Role of Ca^{2+} ions in the excitability of protozoan cell. Decalcification and recalcification and the ciliary reversal in *Paramecium caudatum*. *Acta Protozool.* 3, 275-289.
- GREBECKI A., KUZNICKI L., MIKOŁAJCZYK E., 1967. Some observation on the inversion of spiralling in *Paramecium caudatum*. *Acta Protozool.* 4, 383-388.
- HAMASAKI T., MURTAUGH T. J., SATIR B. H., SATIR P., 1989. In vitro phosphorylation of *Paramecium* axonemes and permeabilized cells. *Cell Motil. and Cytoskel.* 12, 1-11.
- HAMASAKI T., BARKALOW K., RICHMOND J., SATIR P., 1991. cAMP-stimulated phosphorylation of an axonemal polypeptide that copurifies with the 22S dynein arm regulates microtubule translocation velocity and swimming speed in *Paramecium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 7918-7922
- HASEGAWA E., HAYASHI H., ASAKURA S., KAMIYA R., 1987. Stimulation of in vitro motility of *Chlamydomonas* axonemes by inhibition of cAMP-dependent phosphorylation. *Cell Motil Cytoskeleton* 8, 302-311.
- HIRANO-OHNISHI J., WATANABE Y., 1989. Ca^{2+} /calmodulin-dependent phosphorylation of ciliary β -tubulin in *Tetrahymena*. *J. Biochem. (Tokyo)* 105, 858-860.
- HOFFMAN-BERLING H., 1955. Geisselmodelle und Adenosintriphosphate (ATP). *Biochem. Biophys. Acta.* 16, 146-154.
- HOWARD D. R., HABERMACHER G., GLASS D. B., SMITH E. F., SALE W. S., 1994. Regulation of *Chlamydomonas* flagellar dynein by an axonemal protein kinase. *J. Cell Biol.* 127, 1683-1692.
- JAHN T. L., HARMON W. M., LANDMAN M., 1963. Mechanism of locomotion in flagella. *J. Protozool.* 10, 358-363.
- JENNINGS H. S., 1906. *Behaviour of the lower organisms*. Columbia Univ. Press, New York.
- KAGAMI O., KAMIYA R., 1992. Translocation and rotation of microtubules caused by multiple species of *Chlamydomonas* inner-arm dynein. *J. Cell Sci.* 103, 653-664.
- KAMADA T., 1934. Some observations on potential differences across the ectoplasm membrane of *Paramecium*. *J. exp. Biol.* 11, 94-102.
- KAMIYA R., WITMAN B., 1984. Submicromolar levels calcium control the balance of beating between the two demembrated models of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.* 98, 97-107.
- KAMIYA R., KURIMOTO E., SAKAKIBARA H., OKAGAKI T., 1989. A genetic approach to the function of inner and outer arm

- dynein. [W:] *Cell Movement vol. 1 The Dynein Atpases*. WARNER F. D., SATIR P., GIBBONS I. R. (red). Alan R. Liss Inc. New York, str. 209-219.
- KAMIYA R. KURIMOTO E., MUTO E., 1991. *Two types of Chlamydomonas flagellar mutants missing different components of inner-arm dynein*. J. Cell Biol. 112, 441-447.
- KING S. M. WILKERSON C. G., WITMAN G. B., 1991. *The 78 kD intermediate chain of Chlamydomonas outer-arm dynein interacts with -tubulin in situ*. J. Biol. Chem. 266, 8401-8407.
- KINOSHITA H., 1954. *Electrical potentials and ciliary response in Opalina*. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sec IV, 1-14.
- KINOSHITA H., DRYL S., NAITOH Y., 1964a. *Changes in the membrane potential and the responses to the stimuli in Paramecium*. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sec IV, 10, 291-301.
- KINOSHITA H., DRYL S., NAITOH Y., 1964b. *Relation between the magnitude of membrane potential and ciliary activity in Paramecium*. Sci. Univ. Tokyo, Sec IV, 10, 303-309
- KLEE C. B., NEWTON D., 1985. *Calmodulin: overview*. [W:] *Control and Manipulation of Calcium Movement*. J. R. PARRAT (red.). Raven Press, New York, str. 131-146.
- KLUMPP S., STEINER A. L., SCHULTZ J., 1983. *Immunocytochemical localization of cyclic GMP, cGMP-dependent protein kinase, calmodulin and calcineurin in Paramecium tetraurelia*. Eur. J. Cell Biol. 32, 164-170.
- KOROHODA W., 1997. *Cytoszkielek*. [W:] *Biofizyka dla Biologów*. BYSZEWSKA M. i LEYKO W. (red). Państwowe Wydawnictwo Naukowe, str. 349-375
- KUNG C., SAIMI Y., 1982. *The physiological basis of taxes in Paramecium*. Annu. Rev. Physiol. 44, 519-534.
- KUŹNICKI L., JAHN T. L., FONECA J. R., 1970. *The helical nature of the ciliary beat of Paramecium micronucleatum*. J. Protozool. 17, 16-24.
- LUCK D. J. I. PIPERNO G., 1989. *Dynein arm mutants in Chlamydomonas*. [W:] *Cell Movement vol. 1 The Dynein Atpases*. WARNER F. D., SATIR P., GIBBONS I. R. (red). Alan R. Liss Inc. New York, str. 49-60.
- MACHEMER H., 1974. *Ciliary activity and metachronism in Protozoa*. [W:] *Cilia and Flagella*. SLEIGH M.A. (red.). Academic Press London New York, str. 199-286.
- MACHEMER H., DEITMER J. W., 1985. *Mechanoreception in ciliates*. [W:] *Progress in Sensory Physiology*. HARDIE R. et al. (red.). Springer Berlin Heidelberg, New York, Tokyo 5, 81-118.
- MAHLE N. J. DEDMAN J. R., MEANS A. R., CHAFOULEAS J. G., SATIR B. H., 1981. *Presence and indirect immunofluorescent localization of calmodulin in Paramecium tetraurelia*. J. Cell Biol. 89, 695-699.
- MÜLLER O. F. (1786) *Animalcula infusoria Fluvatilia et Marina*. Havniae.
- NAITOH Y., ECKERT R., 1969. *Ionic mechanisms controlling behavioral responses in Paramecium to mechanical stimulation*. Science 164, 963-965
- NAITOH Y., KANEKO H., 1972. *Reactivated Triton-extracted models Paramecium, modification of ciliary movement by calcium ions*. Science 176, 523-524.
- NAKAOKA Y., OKA T., SERAZAWA K., TOYOTAMA H., OOSAWA F., 1983. *Acceleration of Paramecium swimming velocity is effected by various cations*. Cell Struct. Funct. 8, 77-84.
- OGURA A., MACHEMER H., 1980. *Distribution of mechanoreceptor channels in the Paramecium surface membrane*. J. Comp. Physiol. 135, 233-242.
- OMOTO C. K., KUNG C., 1979. *The pair of central tubules rotates during ciliary beat in Paramecium*. Nature 279, 532-534.
- OMOTO C. K., KUNG C., 1980. *Rotation and twist of the central pair microtubules in the cilia of Paramecium*. J. Cell Biol. 87, 33-46.
- OMOTO C. K., WITMAN G. B., 1981. *Functionally significant central-pair rotation in primitive eukaryotic flagellum*. Nature 290, 708-710.
- PÁRDUZ B., 1954. *Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. II. Neue Beiträge zum Bewegungs- und Koordinationsmechanismus der Ziliaten*. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 5, 169-212.
- PÁRDUZ B., 1956. *Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. IV. Über das Empfindungs- bzw. Reaktionsvermögen von Paramecium*. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 6, 289-316.
- PECH L. L., 1995. *Regulation of ciliary motility in Paramecium by cAMP and cGMP*. Comp. Biochem. Physiol. 111A, 31-37.
- PIPERNO G., MEAD K., SHESTAK W., 1992. *The inner dynein arms I2 interact with a „dynein regulatory complex” in Chlamydomonas flagella*. J. Cell Biol. 118, 1455-1463.
- PIPERNO G., MEAD K., LE DIZET M., MOSCATELLI A., 1994. *Mutation in the „dynein regulatory complex” alter the ATP-insensitive binding sites for inner arm dyneins in Chlamydomonas axonemes*. J. Cell Biol. 125, 1109-1117.
- PORTER M. E., 1996. *Axonemal dyneins: assembly, organization, and regulation*. Curr. Opin. Cell Biol. 8, 10-17.
- SALE W. S., SATIR P., 1977. *The direction of active sliding of microtubules in Tetrahymena cilia*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 2045-2049.
- SATIR P., 1974. *The present status of the sliding microtubule model of ciliary motion*. [W:] SLEIGH M. A. (red) *Cilia and Flagella* Academic Press. London and New York, str. 131-143.
- SATIR P., 1985. *Switching mechanisms in control of ciliary motility*. Mod. Cell Biol. 4, 1-46.
- SATIR P., 1989. *Mechanism of ciliary movement - whats new?* NIPS 4, 153-157.
- SATIR P., 1995. *Landmarks in cilia research from Leeuwenhoek to us*. Cell Motil. Cytoskeleton 32, 90-94.
- SATIR P., BARKALOW K., HAMASAKI T., 1993. *The control ciliary beat frequency*. Trends. Cell Biol 3, 409-412.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., BENZ R., SCHURHOFF-GOETERS W. J. C., SMID A., 1992. *Regulation of adenylyl cyclase from Paramecium by an intrinsic potassium conductance*. Science 255, 600-602.
- SLEIGH M. A., 1965. *Ciliary coordination in Protozoa*. Progress in Protozool. (Proc 2 nd Int. Conf. Protozool. London), 110-111.
- SLEIGH M. A., 1969. *Coordination of the rythm of beat in some ciliary systems*. Inter. Rev. Cytol. 25, 31-54.
- SMITH E. F., SALE W. S., 1992a. *Structural and functional reconstitution of inner arms in Chlamydomonas flagellar axonemes*. J. Cell Biol. 117, 573-578.
- SMITH E. F., SALE W. S., 1992b. *Regulation of dynein-driven microtubule sliding by the radial spokes in flagella*. Science 257, 1557-1559.
- SMITH E. F., LEFEBVRE P. A., 1997. *The role of central apparatus components in flagellar motility and microtubule assembly*. Cell Motil. Cytoskeleton. 38, 1-8.
- TRAVIS S. M., NELSON D. I., 1988. *Purification and properties of dyneins from Paramecium cilia*. Biochem. Biophys. Acta 966, 73-83.
- VAN HOUTEN J., 1988. *Chemoresponse mechanism toward the molecular level*. J. Protozool. 35, 241-243.
- WALCZAK C. E., NELSON D. L., 1994. *Regulation of dynein driven motility in cilia and flagella*. Cell Motil. Cytoskeleton. 27, 101-107.
- WARNER F. D., SATIR P., 1974. *The structural basis of ciliary bend formation. Radial spoke positional changes accompanying microtubule sliding*. J. Cell Biol. 63, 35-63.
- WATANABE Y., HIRANO-OHNISHI J., TAKEMASA T., 1990. *Calcium binding proteins in ciliary movement regulation in Tetrahymena*. [W:] *Calcium as an Intracellular Messenger in Eukaryotic Microbes*. O'DAY D. H. (red.). American Society for Microbiology, Washington, D. C., str. 124-150.
- WITMAN G. B., 1992. *Axonemal dyneins*. Curr. Opin. Cell Biol., 4, 74-79.

- WITMAN G. B., 1993. *Chlamydomonas phototaxis*. Trends in Cell Biol., 3, 403-408.
- WITMAN G. B., FAY R., PLUMER J., 1976. *Chlamydomonas* mutants: evidence for the role of specific axonemal components in flagellar movement. [W:] Cell Motility. GOLDMAN R. D., POLLARD T. D., ROSENBAUM J. L. (red.). Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbord N. Y, str. 969-986.
- WITMAN G. B., PLUMMER J., SANDER G., 1978. *Chlamydomonas* flagellar mutants lacking radial spokes and central tubules. Structure, composition, and function of specific axonemal components. J. Cell Biol. 76, 729-747.