

A CONTRACTILIS FEHÉRJÉK SZEREPE AZ OSMOREGULATIÓBAN

BICZÓK FERENC

A sejtek, szervek, az élő szervezetek zavartalan működésének előfeltétele az optimális vízmennyiség biztosítása. Ennek érdekében a phylogenesis folyamán olyan berendezések jöttek létre, amelyek a szervezet vízellátottságát szabályozni, a kívánt egyensúlyi állapotot fenntartani képesek. Az állatvilág legalsóbb fokán ezt a célt szolgálja a lüktetőhólyag (contractilis vacuola), a gerinctelenek legtöbbjénél a nephridialis apparátusok, a magasabbrendűeknél a vesék a maguk bonyolult glomerularis és tubularis rendszerükkel. E szervek működésében számos egyéni jellegzetesség, különbség van. Ami közös, ami az egyszerű protozoától az emberig alapvető jelenség, az, hogy a víznek, természetesen a vízben oldott anyagoknak, vagy legalábbis azok egy részének a sejt, illetve a sejtek protoplasmáján kell áthatolniuk. A sejtek vízfelvételének és leadásának mechanizmusa részben kolloidkémiai jelenség, amelynek helyes értelmezése kulcsot ad az osmoregulatio problémájának a tisztázásához is.

A sejtkolloid rendszer dinamikus folyamatainak értelmezésében igen jelentős mozzanat volt annak felismerése, hogy a plasmagel és a plasmagel változásaiban a protoplasma elemeinek contractiója játszik szerepet (LEWIS, 1942). Másfelől, hogy a contractilis fehérjéken végzett röntgenanalízisek eredményei egyes protozoákon (ASTBURY és WIELAND, 1949) összhangba hozhatók azzal a korábbi megállapítással, hogy a peptid láncok nyújtott állapotban a β -keratin-, zsugorodott formában az α -keratin-configurációt mutatják (ASTBURY, 1930—35). Ezek a változások módot adnak arra, hogy a sol-gel plasmatikus viszonyoknak újabb, mélyebbre tekintő értelmezést adjunk. Amikor ugyanis a proteinmolekulák configurációja újabb formát vesz fel, gyökeinek helyzete, kötési viszonyai, továbbá adsorbtíós, illetve desorbtíós készsége, egyszerűen functionális állapota is jelentősen módosul. Erre vonatkozólag számos tényadatot sorol fel többek közt GOLDACRE (1952), GOLDACRE és LORCH (1950), akik neutrálveressel vitálisan festett amőbánál egyirányú mozgás közben a festék desorbtíóját, felhalmozódását figyelték meg a test hátsó részén. E jelenséget azzal a megállapítással hozták összefüggésbe, hogy a proteinmolekulák kiterülését (unfolding) és felgyűrődését (folding) szokatlanul nagy felszínváltozás kíséri (EYRING-JOHNSON és GENSLER, 1946), éspedig

csökkenés, amikor a proteinláncok felgyűrődnek, növekedés, amikor kiterülnek, megnyúlnak. Feltehetően az előbbi változás eredményezi azt, hogy az amoeba cortexében a proteinmolekulák kiterülésével adsorbeálódott neutrálveres festék a testvégén az ATP-re történő contractio hatására desorbeálódik. Kézenfekvő volt a gondolat, hogy a proteinmolekulák ezúton sokféle iont s molekulát, többek között vizet is képesek megkötni s azt a protoplasma mozgása, áramlása segítségével szállítani, transportálni is tudják. Az ilyen tevékenység alapját képezheti a secretiónak (GOLDACRE, 1952; DANIELLI, 1952) s magának az osmotikus munkának is (GOLDACRE, 1952). A sokoldalúan alátámasztott conceptio termékenynek látszik. Alapgondolata érdemlegesen egészíthető ki az actomyosin modelleken végzett kísérletek eredményeivel.

Az actomyosin modelleken ATP hatására bekövetkezett contractiók tanulmányozása közben felmerült annak lehetősége, hogy itt is az eukolloidoknál jól ismert syneresis játszódik le (SZENT-GYÖRGYI, 1951). IVANOV-ék (1955) különböző módszerekkel előállított fibrilláris és lemezes szerkezetű actomyosin modellek vizsgálata alapján megerősítették a contractióval összefüggő intermicelláris syneresis tényét. A contractilis fehérjék vízleadásának e lehetősége pedig tényadatnak tekinthető az osmoregulatio folyamatának a megértéséhez.

Az osmoregulatio szempontjából fontos kérdések tisztázásához az egysejtű állatok élő modelleknek tekinthetők. Vizsgálataim arról győztek meg, hogy az amőbák mellett különösen a ciliáták jelentősek e tekintetben, mivel hogy ezeknél többnyire állandó helyzetű lüktetőhólyag végzi az osmoregulatio feladatát. Az ilyen meghatározott fekvésű vacuola az amőbák hasonló szervével szemben nem követi a protoplasma dinamikus folyamataiból adódó elmozdulásokat, áramlásokat, hanem egyhelyben maradván ezekre működésének módosulásával válaszol. A contractilis vacuola azonban nemcsak azokra a környezeti hatásokra (hőmérséklet-, ionconcentráció-, pH-változások, anyagszereprodukumok stb.) válaszol, amelyek a pelliculán keresztül a protoplasmát érik, hanem azokra is, amelyek a protoplasmában az életfolyamatok közben végbemennek. A pelliculán keresztül ért hatásokkal kapcsolatban szükségesnek tartom annak kihangsúlyozását, hogy a pellicula a permeabilitás szempontjából hasonló szerepet tölt be, mint a sejtek membránja. Az ilyen membránról TROSCHEIN (1956) a víz s a vitális festékek felvétele alapján úgy vélekedik, hogy ezen anyagoknak a sejt által történő felvételében nincs döntő szerepe. „A sejtbe belépő vitális festékek mennyisége, ugyanúgy eloszlása a sejt és a médium között a protoplasma functionalis állapotától függ. Ez a függés abban áll, hogy a sejt functionalis állapotának megváltozásánál a sejtfehérje sorbtios lehetősége is változik.”

Fenti megállapítás vonatkozásai átvihetők a véglények osmoregulációs szervének működésére is és pedig oly módon, hogy e ritmikus tevékenységben beálló frequentia-változásokat, az osmotikus munka nagyságának ingadozását nem a pellicula állapotára, hanem a proteinmolekulák functionalis

állapotának változásaira vezetjük vissza, s hogy a vacuoláris tevékenység megváltozásának okait elsősorban a polypeptidláncok konfigurációjának átalakulásában keressük. Az ilyen szemlélet igen szükséges ahhoz, hogy a contractilis vacuola működése alapján a protoplasma élettanának néhány fontosabb kérdését is megközelíthessük.

A vizsgálatok körülményei, eredményei s azok megvitatása

A cytoplasma proteinmolekuláinak lehetséges formaváltozásaira, azoknak az osmoregulációra való hatására a *Platyophrya lata* Kahl, *Colpoda fastigata* Kahl és a *Pyxidium asymmetricum* Biczők nevű ciliáták lüktetőhólyagjának működéséből következtettem. Amint arra már rámutattam, az életfunkciók hatnak a vacuoláris tevékenységre. Méginkább hatnak a kísérletesen alkalmazott mechanikai-, vegyi-, vagy a sugárhatások. E plasmazerkezetet befolyásoló tényezők szintén segítettek az osmoregulációs tevékenység és a proteinláncok functionális állapota közti összefüggések kutatásában. Az alábbi megfigyelések és kísérletek alapján ilyen összefüggések lehetőségére szeretnék rámutatni.

Ismeretes, hogy a csillós állatok legdifferenciáltabb csoportjának, a *Perytricháknak* a teste contractilis. A contractilitás szembetűnő a rögzült merev nyélről leváló, szabadon úszó *Pyxidium asymmetricum* rajzónál is. A test gyors összehúzódása, amelyet fibrillák, az ún. myonemák támogatnak, sokszor meghaladja a test hossz méretének 50%-át is. Az ilyen contractiók és a lüktetőhólyag összehúzódása, systoléja között érdekes összefüggést találtam. Amikor ugyanis a test összehúzódott, a pulsatiós frequentia ideje többnyire jelentősen megrövidült (1., 2. ábra). Ez annyit jelent, hogy a contractilis vacuola rövidebb idő alatt érte el normális méretét s ezzel az egységnyi időn belül több folyadékot ürített ki a protoplasmából. Úgy látszott, hogy a test contractiója alkalmával létrejött nagyobb plasmanyomás fokozta a folyadéknak a vacuolába való behatolását, illetve a vacuoláris membránra nehezedő nyomás elősegítette a lüktetőhólyag pulsatióját (Biczők, 1956). E feltevés kézenfekvő volt, ha figyelembe vesszük, hogy számos kutató vezeti vissza a systole létrejöttét a cytoplasma részéről megnyilvánuló vacuoláris membránra nehezedő nyomásra (HOWLAND és POLLACH, 1927; MAST, 1926; GELEI, 1935). A jelenség újabb értelmezésére a véletlen nyújtott alkalmat.

Az erősen metabolikus *Platyophrya lata ciliata* tenyésztés közben mikroszkópikus gombafonalba került s annak alig néhány μ -os huroknyílásán szinte „átfolyt”. E jelenségben a plasmacontractio tanulmányozásának kitűnő lehetősége kínálkozott. Sikeres kísérletezés útján számos hasonló megfigyelésre nyílt alkalom (Biczők, 1959). Közben feltűnt, hogy a testvég felé lateralisán fekvő lüktetőhólyag frekvenciája lassult, miközben az állat a huron lassan átfolyt. A systematikus vizsgálat egyik tipikus eredményét — figye-

lembe véve a contractilis vacuola átmérőjét, a másodpercekben megadott pulsatiós frequentiát s a μ^3 -ban kifejezett 1 másodpercre eső kiürített folyadék mennyiségét, — az alábbi táblázat tünteti fel.

Contractiók száma	A vacuola egy cont. ideje mp	A contr. vacuola átmérője μ -ban	1 másodpercre eső kiürített folyadék μ^3
1	30	11	23,2
2	30	11	23,2
3	30	11	23,2
4	28	11	24,8 A
5	25	11	27,8
6	45	11	15,5
7	15	11	46,4
8	20	11	34,8
9	22	11	33,0
10	25	11	27,8
11	27	11	25,7
12	28	11	24,8
13	263	28	43,7
14	38	11	18,3 B
15	25	11	27,8
16	15	11	46,4
17	19	11	36,6
18	14	11	49,7
19	31	11	22,5
20	25	11	27,8
21	15	11	46,4
22	17	11	40,9
23	15	11	46,4
24	17	11	40,9
25	16	11	43,5
26	15	11	46,4 C
27	15	11	46,4
28	14	11	49,7
29	15	11	46,4

(A = a hurkolt állat contr. vacuolájának működése, B = vacuoláris működés a hurokból való kiszabadulás után, C = a vacuoláris működés stabilizálódása.)

A táblázatból szembeötlő a vacuola pulsatiójának nagymérvű ingadozása. Ez az ingadozás a limax-szerű amőboid mozgás plasmaváltozásainak (MAST, 1926; GOLDACRE, 1952) analógiája alapján világosan értelmezhető. A hurokba került lágy cortexű állat a testvégről kiinduló plasmacontractióktól előre irányított plasmaáramlással „igyekszik átfolyani” a szűk nyíláson (Biczók, 1959). E contractiók az ectoplasmában kiterült állapotban levő proteinláncokból felépített gelállomány testvég felé eső részének felgyűrődése útján jönnek létre. Az így létrejött solos plasmaállapot azonban nem befolyásolja közvetlenül a vacuola működését, mivel az a plasmagel részben fekszik, ahol a polypeptidláncok kiterülve lényegesen több vizet kötnek meg, mint a felgyűrt láncok. Ennek hatása tükröződik vissza a pulsatio frequentiájának csökkené-

sében, amelynek eredményeként az állat átmenetileg — (amíg a vacuolát tartalmazó testrész a hurkon át nem jutott) — csaknem feleannyi vizet veszít, (Táblázat A-szakasza) mint normális körülmények között (C-szakasz).

A táblázat B-oszlopában feltüntetett adatokból az tűnik ki, hogy a szoros hurokból kiszabadult állat contractilis vacuolájának pulsációs frekvenciája erősen ingadozott. Ez az ingadozás mintegy 10 percet vett igénybe. Ezalatt a protoplasma reorganizálódik. Helyreállhat a korábbi szerkezet, a dinamikus egyensúly. 10 perc után a vacuoláris tevékenység ritmusa kiegyenlített s így a pulsatio 1 mp-re eső kiürített folyadékmennyisége közel állandó. Feltűnő, hogy ez a mennyiség viszonylag magas; kétszerese a *Platyophrya lata* más példányánál talált átlagértéknek. Ennek oka abban keresendő, hogy a típusos esetként vizsgált állat tokozódáshoz közel álló egyed volt, amelynél a protoplasmán jelentős solosodás lépett fel.

A contractilis vacuola működésének csökkenése azon *Platyophrya lata*knál is észlelhető volt, amelyek hosszukat jóval felülmúló nematoda féreg elnyelésével „kísérleteztek” (Biczók, 1959). A „zsákmány” fogvatartása alatt világosan kielemezhető volt, hogy ha a protoplasma gelesedése áterjedt a lüktetőhólyag közvetlen környékére is, a 45–47 másodperces pulsációs frekvenciával dolgozó vacuola periódusa 50–56 másodpercre módosult anélkül, hogy annak terjedelmében változás állott volna be.

Végeredményben leszögezhető, hogy a protoplasma gelesedése csökkenti a vacuoláris funkciót, a vacuolán keresztül kiürített folyadékmennyiséget. E jelenséget a gelben kiterülő polypeptidláncok vízmegkötő képességének fokozódása nyilván befolyásolja.

A *Pyxidium asymmetricum* rajzó testcontractióját követő vacuoláris frequentia megrövidülése a gyűrődött proteinláncok vízdesorbtíójával függhet össze. Előfordulhat, hogy egyes életfolyamatok tartósan is felfokozhatják a pulsációs tevékenységet. Példaként említhető a *Paramecium* két vacuolájának működésében megfigyelt különbség (FORTNER, 1924), a hátsó vacuola működésének felgyorsulása táplálkozás közben (FRISCH, 1938). Utóbbi esetben a táplálékvacuolát szállító plasmaáramlás érdemel figyelmet. A *Pyxidium* esetében az egész testre kiterjedő gyors contractio a jellemző, amely rövid ideig tart. A *Paramecium*nál a hátsó lüktetőhólyag környékén lejátszódó plasmacontractio a jellegzetes. Ez utóbbiak gyors egymásutánban játszódnak le, mindaddig, amíg a cytopharynx végéről ritmikusan válnak le a táplálékkal telt vacuolák. A contractio alkalmával felgyűrődő proteinláncok dehidratációs terméke a *Pyxidium*nál rövidebb, a *Paramecium*nál hosszabb ideig veszi erősebben igénybe az osmoregulációs szervet, amely több kutató szerint (DEGEN, 1905, NASSONOW, 1924; GELEI, 1935) vízteleníti a sol állapotú entoplasmát.

Az osmotikus functio és a protoplasma szerkezetének correlatív összefüggése konkrétabb formában elemezhető azoknál a véglényeknél, amelyek a külső körülmények kedvezőtlen alakulásának következményeként tokosodnak.

Ez esetben a functio és szerkezet — amint az az alábbi táblázatból kitűnik — a jellegzetes változások egymásutánjában tanulmányozható :

A Platyophrya lata Kahl lüktetőhólyagjának váltakozása a tokozódás előtt, alatt és után

Protoplasma szerkezete	Contr. vacuola átlag átmérő	Kiürítési átlag mp-ben	1 mp-re eső kiürített folyadék
I. Tokozódás előtt : Retikuláris protein szerk.	7 μ	23 mp	7,8 μ^3
II. Tokozódás alatt : Erősen solos, intenzív áramlásban. Gyűrődött, részben globularis proteinek	12 μ	15 mp	60,2 μ^3
III. Tokozódás után : Gelképződés. Plasmaproteinek részben orientáltak	4 μ	90 mp	0,37 μ^3

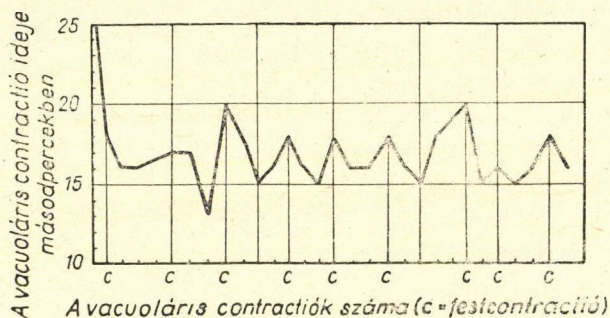
Az adatok a *Platyophrya lata* kisebb (56 μ) példányára vonatkoznak. Lényegében hasonló összefüggések állapíthatók meg több más példánynál, sőt más fajú véglénynél is, mint pl. a vizsgált *Colpoda fastigatanal*, az alkalomszerűen tanulmányozott *Colpoda cucullus*nál és az *Oxytricha sp.*-nél is. Mindezeknél egyöntetűen megállapítható volt, hogy közvetlenül a tokozódás előtt a cytoplasma jelentősen elsolósodott. Lényegében a retikuláris plasmaprotein rendszer átrendeződése megy végbe, sajátos proteinláncok kialakulása, globuláris szerkezet tömeges formálódása. Erre mutat a test legömbölyödése s a kiterjedt élénk protoplasmaáramlás megindulása. E jelenség és más életjelenség hasonló következménye között nem nehéz, sőt szükséges is párhuzamot keresni. Mint ismeretes, a petesejtben a megtermékenyítés után szintén szembe-tűnő plasmaáramlás indul meg. Hasonló folyamat tapasztalható a véglények-nél is az osztódás s a conjugatio alatt. Közben jelentősen megnövekszik az anyagfelvétel s azok accumulatioja. Ezt tapasztalta WHYTELI (1949) a megtermékenyített petesejtnél, amely jelentős mennyiségű P-t akkor tudott felhalmozni, amikor az élénk plasmamozgás megindult. Hasonló jelenséggel függ össze az a tény, hogy osztódás alatt (GELEI, 1935), vagy rajzóképzés köz-ben (PESTEL, 1931) a lüktetőhólyag ütemes működése jelentősen meggyorsul, megnő a vízfelvétel és a vízleadás. És végül a protoplasma erős solosodásával, illetve a közben fellépő élénk áramlásával függ össze a tokozódó véglények vacuoláris működésének nagymérvű fokozódása is. Az osmoregulációs munka ekként történő nagymérvű változását legszemléletesebben a számok tükrében látjuk. Amíg az aktív, szabadon mozgó állatnál normális körülmények között, szobahőmérsékleten 71,5 perc szükséges a test térfogatának megfelelő víz-mennyiség vacuolán keresztül történő eltávolításához, addig a tokozódó állat ugyanezt a vízmennyiséget 9,3 perc alatt löki ki a vacuola excretiós pólusán keresztül. (A számításokat megközelítő pontossággal az teszi lehetővé, hogy a tokozódó állat s maga a lüktetőhólyag is gömbtérfogatú.)

A mondottak alapján felvethető a probléma, hogy miként befolyásolja a plasmaáramlás az osmoregulációs aktivitást, s hogy milyen szerepe van ebben a polypeptid láncok functionális állapotának?

GOLDACRE (1952) szerint az osmotikus munka és a cytoplasmatis áramlás egymásra vonatkozó jelenségek, amelyek a proteinmolekulák reversibilis gyűrődéséből következnek. Mindez logikusnak látszik, ha meggondoljuk, hogy a sejt legnagyobb részére kiterjedő gyors áramlással a molekulákra (főleg a kiterülő) adsorbeálódott anyagok — többek között a víz is —, lényegesen gyorsabban jutnak el a kiürítés helyére. Az anyagoknak ilyen transportja persze elképzelhető a plasmaproteinek fractionálódásával létrejött egyes fractiók útján is, amikor az egyes részek specifikusan kötnek meg s szállítanak bizonyos anyagokat (COHN, 1943). Az ilyen fractiók adott helyen, adott körülmények között aggregálódva le tudnák adni hydrátburkuk egy részét s ezzel részt vehetnének az osmoregulatio munkájában. Ez az elgondolás azonban nem egyeztethető össze a protoplasma sol-gel állapotáról vallott s itt részben vázolt korszerű felfogással.

A plasmaáramlásnak az osmoregulációban betöltött szerepére egyébként abból is következtethetünk, hogyha ezen áramlást lelassítjuk, megállítjuk, a vacuola pulsatiója is lassul, illetve megáll. Az idevonatkozó irodalmi adatok közül GELEI-ét (1935) emelem ki, aki észrevette, hogy a különböző Ni-sók töménységüknek megfelelően késleltetik, illetve megállítják a vacuola lüktetését. A szerző kissé bizonytalanul polemizál a kérdés felett, mert egyfelől „diffúziót szabályozó pellicula eltömődésében”, illetőleg „pórusszűkítésben”, „a lüktetőhólyag falának megkeményítésében” látja a Ni-sók említett hatását (58. o.), másfelől abban, hogy e vegyületek az entoplasma áramlást megállították. „Az entoplasma valószínűleg megalvasztható anélkül, hogy a lüktetőhólyag működése megszűnnék” GELEI megfigyelésének conclusióját így zárja le : „. . . az entoplasma hígultsági állapota (áramlásgyorsasága) s a lüktetőhólyag működése ha nem is kizárólagos, mégis kisebb-nagyobb mérvű összefüggésben van” (72. o.). Itt valójában a plasmaproteinek jól ismert denaturálásáról van szó, amely az alkalmazott nehéz fém sójának töménysége szerint nemcsak a plasmaáramlást szünteti meg, hanem a proteinmolekulák konfigurációváltozási készségét is. Hogy ilyen körülmények között minimális osmoregulációs tevékenység mégis megfigyelhető, annak oka nyilván azon körülményekben keresendő, amely létrehozta magát a contractilis vacuolát, amikor a kérdéses véglény a tenger vizéből más szegényebb ionconcentrációjú környezetbe, édesvízbe került át, ami a plasma sóconcentráció arányának megváltozását eredményezte a külső és belső környezet között. Ennek tudható be, hogy egyes édesvízi véglények haláluk, illetve osmoregulációjuk megszünte után kissé megduzzadnak. E jelenségbe véleményem szerint a proteinmolekulák változása is belekalkulálható az osmotikus vízfelvétel mellett. Erre enged következtetni GUILLIERMOND (1941) által a növényi sejt vacuoláiban,

általam a protozoák lüktetőhólyagjában észleltek, hogy a halál beálltakor az itt levő neutrálveres festett folyadék elszíntelenedik. A festéknek a cytoplasma által történő adsorbtíója azzal magyarázható, hogy a holt proteinek hirtelen denaturálódva kiterülnek s a festéket felveszik (GOLDACRE, 1952). De jelentős mennyiségű vizet is kötnek így magukhoz. A duzzadás ezzel azonban éppenséggel nem magyarázható. A kérdés megközelítése szempontjából igen jelentősnek vélem azon összefüggést, amely a vacuola elszíntelenedése és a mag festődése között van. A *Platyphrya lata* magja általában akkor festődött intenzívebben, amikor a lüktetőhólyag elvesztette neutrálveres festékét. A plasmaproteinek viszonylatában ezzel kapcsolatban arra kell gondolnunk, hogy a polypeptid láncok kiterülését gyorsan követte e molekulák felcsavarodása, az adsorbeált festék, víz s bizonyos ionok desorbtíója. Lehet,



1. ábra. Tokozódó Pyxidium rajzó lüktető-vacuolájának ritmusváltozása a testcontractiók hatására

hogy a felszabadult festék egy része a magfehérjéhez kötődött, az ionizált diffúzióképes anyagok viszont osmotikus vízbeáramlást, duzzadást hoztak létre a protoplasmában.

Értekezésemben már utaltam arra, hogy a protoplasma gelesedése csökkenti a vacuoláris tevékenységet. Ez teljességgel beigazolódik a tokozódás előrehaladt állapotában. Ahogyan a protoplasma áramlása csökken s az állat egy helyben végbemenő forgó mozgása megszűnik, gyérül a lüktetőhólyag ritmusa, kisebbedik átmérője. Az osmoregulációs functio néhány óra után már nem tapasztalható. Hogy a plasmaáramlás mindeddig megvan, az a már részben betokozott Amoeba vespertilionál világosan kivehető volt. A gelesedő protoplasmában a már éppen hogy működő két lüktetőhólyag igen lassan változtatta helyét, egymáshoz való viszonyát. Az ilyen mozgás nagy ritkán lökés-szerűen felgyorsult s a vacuolát test-átmérőnyi távolságig is magával ragadta. Jellemző, hogy az ilyen vacuola tevékenységében megszűnik a ritmusosság, teljes a dissotatio. A polypeptidláncok tehát hosszú ideig nincsenek nyugalomban. Mozgásuk közben — amint arra kettős törésük alapján következtethetünk

(Schmidt, 1938) — orientálódnak s az intermolekuláris erők hatására asszociálódnak. Az ilyen szerkezet mellett a lüktetőhólyag mindenképpen működésképtelen. A contractio még desztillált vízben sem következett be, jóllehet ez ismertén hidratáló folyadék. Azoknál az egyedeknél azonban, amelyeknél a contractilis vacuola kis hólyagocska formában maradt meg, ennek fala mentén szabálytalan deformálódás, alakváltozás volt megfigyelhető. Ez annak a jele, hogy a geles biokolloid adott esetben inkább osmotikus úton nyel el vizet.

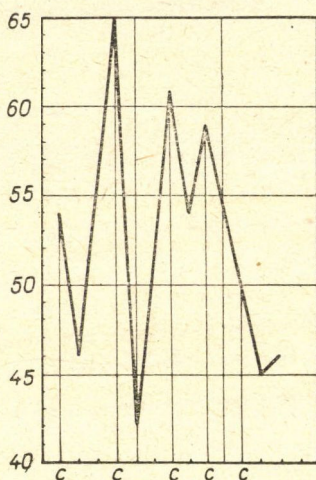
A protoplasmának a vízhez való viszonyát a továbbiakban elsősorban a proteinláncok egymáshoz való helyzete, asszociáltságának mértéke határozhatja meg. Az a viszonylagos stabilitás, amely ilyenkor mindjobban kifejezésre jut, a protoplasmát mindinkább az élettelen eukolloid-gelekhez teszi hasonlóvá. Az állat alig él, bár potenciálisan teljes életképességgel rendelkezik. Ezen ún. latens élet alatt ugyanis az anyagcsere, a légzés (SCHOLANDER és munkatársai, 1952) a legminimálisabbra csökken. Ugyanakkor csökken a protoplasma térfogata is. Számos jel arra mutat, hogy az élettelen geleknél jól ismert spontán vízvesztés, intermicelláris syneresis megy végbe, amelynek forrását a fehérjeláncok fokozatos tömörülésében kereshetjük.

Amint a proteinláncok megváltozásán keresztül követni lehetett az osmoregulációs functio fokozatos megszűnését, ugyanúgy e láncok reversibilis alakulásán, átrendeződésén át figyelemmel kísérhető volt az élet aktivizálódása, a contractilis vacuola működésének megindulása. A *Colpoda fastigata* és a *Platyophrya lata ciliata* végvény cystákon ezt kísérletesen, — mechanikai, sugár — és vegyi behatásokkal is sikerült részben vagy egészben elérnem.

Az üveggyönggyel, vagy éles homokkal együtt rázott cystákon többnyire már néhány perc után megjelent a lüktetőhólyag, amely fokozatosan tágult. A mechanikai ütközések olyanféle változást hoztak létre a plasmagelen, aminőt ANGERER (1936) és HEILBRUNN (1956) közleményei szerint a végvények cortexén is előidézhettünk mechanikai és más ingerekkel. Csökken a viszkozitás, a gelállomány elfolyósodik. E tipikus thixotröp jelenség a tokozott állat egész cytoplasma protein rendszerének megváltozását, desorientálódását, elsolósodását jelenti. Közben nem regulált, jelentős vízfelvétel megy végbe; lényegesen nagyobb mennyiség felvétele, mint amennyit a protoplasma a syneresis útján elvesztett. A contractilis vacuola tágul s gyakran keskeny területre szorítja a kissé duzzadó protoplasmát. Ezt követően a kitágult vacuola hosszú intervallumokkal, szabálytalanul működni kezd, mialatt az állatok tömegesen kitokozódnak.

Hasonlóképpen gyors vízfelvételt indított meg az 5–15 perces folyamatosan s 3–5 perces megszakításokkal alkalmazott ultrahang sugárzás is. Elvértve megtörtént, hogy a Petri-csészében besugárzott több ezer cysta közül néhányánál megindult a lüktetőhólyag pulsatiója s a kitokozódás. A többinél azonban elmaradt éspedig feltehetően azért, mert túlادagolt UW irreverzibilisen denaturálta a plasmaproteint.

A vegyi hatóanyagok közül az alkalmazott gyökérextractumok leg többje gyorsan megváltoztatta a protoplasma gel szerkezetét, az osmoregulatio megindulását s kitokozódást hozott létre. Feltűnő, hogy a Ca Cl_2 0,2% — 0,5%-os oldatban alkalmazva átmenetileg szintén elősegítette a vízfelvételt. A vacuola azonban csak mérsékelten tágult, majd röviddel azután fokozatosan eltűnt. Emellett az állat, miután az oldattal érintkezésbe került, rövid ideig folytatta azt a forgó mozgást, amelyet néhány nappal előbb beszüntetett. E jelenség azért figyelemre méltó, mert a jólismerten mobilis Ca-ionok a mozgás-



2. ábra. Lassan mozgó *Pyxidium asymmetricum* rajzó lüktető-vacuolájának ritmusváltozása testcontractiók hatására

hoz oly plasmarendszerből szabadítottak fel jelentősebb energiát, amelyben az eredeti gelszerkezet, az asszociált részben kötött polypeptidláncok miatt az igen korlátozottan érvényesülhetett. Feltételezhető, hogy az alkali sókra jellemző folyamatról, a polypeptid csoportok közti kötések lazításáról van szó, ezen keresztül a megfelelő enzim aktivitás fokozódásáról. Amellett a Ca-ionok, — miként a mesenchymatikus eredetű sejtmodellben (HOFFMANN-BERLING, 1954), — helyi contractiókat, relaxatiókat indíthattak meg, vagyis sol-gel állapotváltozásokat, de csak rövid időre, úgyhogy az osmoregulatio nem indulhatott meg, a kitokozódás teljesen elmaradt. Azt, hogy a Ca-ionok hatásáról itt feltételezettek mennyiben hozhatók összhangba azzal, hogy a különböző ingerekre bekövetkező cortex-gel solosodása a fehérjékhez kötött Ca felszabadításával függ össze (HEILBRUNN, 1956) csak a további vizsgálatok dönthetik el. Mindenesetre megalapozottnak látszik az a feltevés, hogy a Ca a plasmaproteinekre gyakorolt hatása révén közvetve befolyásolhatja az osmoregulatiót.

A tokozódó végvények lüktetőhólyagjának vizsgálata szintén azt mutatja, hogy sol-gel változásnak, a contractilis fehérjeláncoknak az osmoregulációban szerepe van. E láncok adsorbtíós, desorbtíós tevékenysége, transportáló munkája mellett ott áll az a felfogás, hogy az osmoregulatio a protoplasma sótartalmán, szabad ionjainak koncentrációján alapuló egyszerű osmotikus vízfelvétellel van kapcsolatban. E kérdésben nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy a sók, illetve a különböző ionok bonyolult kölcsönhatásban vannak a protoplasma contractilis fehérjéivel s azok funkcióját, osmoregulációban való részvételét jelentősen befolyásolják. Az osmotikus munka, annak végvények szintjén történő szabályozása végeredményben bonyolult kölcsönhatások eredménye, amelyben az említett tényezők mellett különböző enzimek tevékenységével is számolnunk kell. A jövő feladata épp ezen összefüggések, kapcsolatok keresése, fokozatos megközelítése.

Összefoglalás

A végvények osmoregulációs szervének funkcióját, működésének különböző körülmények között történő módosulását a polypeptidláncok megváltozásával összefüggésben igyekeztem vizsgálni. Vizsgálataimat arra építettem, hogy a protoplasma sol-gel változásait a polypeptidláncok contrahált, felfűrdött, illetve kiterült állapotok határozza meg. Másrészt arra, hogy e változások nagymértékben befolyásolják e láncok adsorbtíós és desorbtíós, hidratációs és dehidratációs tevékenységét. E célból ciliaták lüktető vacuolájának működését vizsgáltam, amely állandó fekvésénél fogva nem térhet ki a protoplasma mozgásban kifejezett dinamikus folyamatai, állapotváltozásai elől, hanem azokra frekvenciájának fokozódásával vagy csökkenésével, esetleg megszűnésével válaszol. A vizsgálatok szerint:

1 A *Pyxidium asymmetricum* rajzó testcontractióját a lüktető-vacuola frekvenciájának megrövidülése követte. Ebből a plasmacontractióval együttjáró syneresis tényére lehet következtetni.

2. Azok az élettani folyamatok, amelyek a lüktető-vacuola körül a plasma gelesedését hozzák létre, átmenetileg csökkentik a vacuola ritmikus tevékenységét, a kiürített folyadék mennyiségét. Ez a tény a gel-állományban kiterült polypeptidláncok felületnagyságából eredő fokozott vizadsorbtíóval hozható összefüggésbe.

3. A *Platyophrya lata* tokozódását kísérő solosodás, élénk plasmaáramlások alatt a vacuoláris tevékenység erősen megnő; a kiürített folyadék mennyisége csaknem nyolcszorosa a korábbinak. A cytoplasmikus áramlás és az osmotikus functio tehát egymásra vonatkozó jelenségek.

4. Ahogy a tokozódás közben a polypeptidláncok orientálódnak, associációjuk nő, úgy csökken a vacuoláris functio. Az osmoregulatio megszűntét a protoplasma zsugorodása, spontán vízleadás, syneresis követte.

5. A tokozódott állatot ért mechanikai hatások vízfelvételt, solosodást, a protoplasma thyxotropiáját eredményezte. A vacuoláris tevékenység megindulását tömeges kitokozódás követte.

6. Ultraibolya besugárzás és híg CaCl_2 oldat az eukolloidokhoz hasonlóan vízfelvételt indít meg. A vacuola fokozatosan tágult. A nem túl dagolt UW-sugarak elvétele osmoregulatiót, illetve kitokozódást is létrehozhatnak. A Ca-ionok hatása a polypeptidláncok lazításában és helyi contractiók megindításában nyilvánulhat meg. Közben energia szabadul fel a mozgás számára. A nyugalomban levő cystázott állat ugyanis forogni kezd, majd röviddel ezután megáll. Az állat osmoregulációs munkára, kitokozódásra képtelen.

7. Az osmoregulációs tevékenységben proteinláncok, ionok, enzimek kölcsönhatásával kell számolnunk.

IRODALOM

1. ANGERER, C. A.: The effects of mechanical agitation on the relative viscosity of amoeba protoplasm (J. Cell. Comp. Phys. 8, 329, 1936).
2. BICZÓK, F.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an einer neuen Pyxidium-Art (Acta Biol. Univ. Szeged. 2, 155, 1956).
3. BICZÓK, F.: Élettani vizsgálatok *Platyophrya lata* Kahl-on. II. Contractio jelenségek (Közlés alatt).
4. COHN N. EDSALL: Proteins, Amino Acids and Peptides. New York, 1943.
5. DANIELLI, J. F.: Structural factors in cell permeability and secretion (Symp. of the Soc. for Exper. Biol. 1952).
6. DEGEN, A.: Untersuchungen über die contractile Vacuole und die Wabenstruktur der Protoplasmas (Botan. Zgt. Bd. 63, 1905).
7. FORTNER, H.: Über die physiologische differente Bedeutung der contractilen Vacuolen beim *Paramecium caudatum* (Zool. Anz. 60, 217, 1924).
8. FRISCH, J. A.: The rate of pulsation and the function of the contractile vacuole in *Paramecium multimicronucleatum* (Arch. f. Protist. 90, 123, 1938).
9. GELEI, J.: A véglények kiválasztószerve (Mat. és Term. tud. Közl. Bp. 1935).
10. GOLDACRE, R. J. and LORCH, I.: Folding and unfolding of proteins molecules in relation to cytoplasmic streaming amoeboid movement and osmotic work (Nature, 166, 497, 1950).
11. GOLDACRE, R. J.: The folding and unfolding of protein molecules as a basis of osmotic work (Internat. Rev. Cytology, 1. 135, 1952).
12. GUILLIERMOND, A.: The Cytoplasm of the Plant Cell (Chron. Bot. Co. 1941)..
13. HEILBRUNN, L. V.: The Dynamics of Living Protoplasm. New York, 1956.
14. HOFFMANN, H.—BERLING: Adenosintriphosphat als Betriebsstoff von Zellbewegungen (Bioch. et Biophys. Act. Amsterd. 14, 183, 1954).
15. HOWLAND, R. B. and POLLACK, H.: J. Exper. Zool. 48, 441, 1927.
16. IVANOV, J. J.—JU. M. TORCSINSZKY: O prirode szokrascsenija aktomiozinovüh i „plenocsnüh” aktomiozinovüh nitej pod vlijaniem adenzotrifoszfata (Biochimija, 3, 328, 1955).
17. LEWIS, W. H.: The structure of protoplasm (Monograph Amer. Soc. Plant Physiol. Ames. Iowa, p. 163, 1942).
18. MAST, S. O.: Structure, movement, locomotion, and stimulation in Amoeba (J. Morph. Physiol., 41, 347, 1926).
19. NASSONOW, D.: Der Excretionsapparat der Protozoa etc. (Arch. f. Mikr. Anat. und Entwickl. Mech. Bd. 103, 1924).
20. PESTEL, B.: Beiträge zur Morphologie und Biologie des *Dendrocometes paradoxus* Stein (Arch. für Protist. Bd. 75, 1931).
21. SCHMIDT, W. J.: Über die Doppelbrechung des Amöbenplasma (Protoplasma, 33, 44, 1938).
22. SZENT-GYÖRGYI, A.: Chemistry of Muscular Contraction. New York, 1951.
23. TROSCHEIN, A. S.: Das Problem der Zellpermeabilität. Jena, 1958. (Orosz nyelven Moszkva, 1956).