

ОБЗОР ВЕЩЕСТВ, УЧАСТВУЮЩИХ В БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ

К.С. Голохваст, И.Э. Памирский, А.М. Паничев

Приводится обзор веществ, участвующих в процессах биоминерализации.

REVIEW OF THE SUBSTANCES INVOLVED IN BIOMINERALIZATION

K.S. Golokhvast, I.E. Pamirsky, A.M. Panichev

The article provides an overview of substances involved in biomineralization.

На Земле минеральные образования в норме в виде экзо- и эндоскелетов встречаются у радиолярий, кокколитофорид, диатомовых водорослей, губок, всех позвоночных животных. В качестве включений минералы присутствуют во всех формах жизни на планете, в том числе и в грибах, лишайниках и растениях (фитоминералы) (Skinner, Jahren, 2003; Юшкин, 2007). В губках и диатомовых водорослях открыты ферменты, которые в качестве субстрата используют минеральные кристаллические решетки (кремниевые минералы, апатиты и некоторые другие). В частности силикатеины и силиказы способны формировать и разрушать неорганические структуры на основе кремния, например кремнезем (SiO_2) (Foo et al., 2004; Brandstadt, 2005; Brunner et al., 2009; Kröger, 2009; Ehrlich et al., 2010; Tesson, Hildebrand, 2010). Ниже приводятся обзорные данные по известным на сегодняшний момент веществам, участвующим в биоминерализации.

Силикатеины. Первый силикатеин был обнаружен в осевой нити спикул губок, и назван силикатеин- α (Shimizu et al., 1998). Сегодня известно около 50 силикатеинов, выделенных из разных речных и морских губок. По химической природе силикатеины подобны протеолитическим ферментам, катепсинам (Shimizu et al., 1998; Krasko et al., 2000; Müller et al., 2003). В губках силикатены катализируют образование аморфного кремнезема из его мономерных соединений – эфиров кремниевой кислоты (Schröder et al., 2007). Процесс происходит в две стадии: 1) гидролиз эфира кремния с образованием силанола; 2) полимеризация молекул силанола с образованием аморфного кремнезема (Cha et al., 1999).

Силиказы. Силиказы – ферменты, осуществляющие деполимеризацию кремнезема, обнаружены в морской губке (Schröder et al., 2007). Силиказа принадлежит к семейству угольных ангидраз (Müller et al., 2007), относящихся к классу цинкзависимых металлоферментов (Sly, Hu, 1995), и механизм работы силиказы губки аналогичен механизму цинкзависимых ферментов, гидролизующих эфиры (Schröder et al., 2007). Экспрессия гена силиказы резко возрастает в ответ на увеличение концентрации кремния (Krasko et al., 2000).

Карбоангидраза II. В плане исследования биоминеральных процессов из семейства карбоангидраз, кроме силиказы, стоит выделить карбоангидразу II (CA II) (29 кДа), принимающую участие в регуляции обновления костной ткани животных, в том числе и человека (Lindskog, 1997; Geers, Gros, 2000; Breton, 2001; Zo Fisher et al., 2010).

Силаффины. Силаффины – пептиды, богатые лизином. Впервые эти полипептиды были обнаружены в диатомовых водорослях, клеточные стенки которых образуют «панцирь» из кремнезёма и на данный момент хорошо изучены (Kröger et al., 2001; Poulsen, Kröger, 2004; Kharlampieva et al., 2010; Sheppard et al., 2010). Установлено также, что *in vitro* силаффины способны образовывать кремнезем различной наноструктуры, однако подобные структуры биокремнезема у диатомовых водорослей не обнаружены (Kröger et al., 2002). На данный момент к этому семейству относят пептиды, выделенные с помощью NH_4F : natSil (natSil) natSil-1A (6,5 кДа), natSil-1B (10 кДа) и nat-Sil-2 (40 кДа), а также более легкие пептиды, выделяемые после обработки диатомей HF : силаффин-1A (4 кДа), силаффин-1B (8 кДа) и силаффин-2 (17 кДа) (Rezanka, Sigler, 2008).

Фрустулины. Фрустулины – кальцийсвязанные гликопротеины, являющиеся одними из основных компонентов клеточной стенки диатомей, были открыты сравнительно недавно и также участвуют в биоминерализации (Kröger et al., 1994, 1996, 1997). Ранее было показано, что ϵ -фрустулин из диатомовой водоросли *Navicula pelliculosa*, найденный и в *Cylindrotheca fusiformis*, локализован в клеточной стенке, и его синтез выражен во время строительства клеточной стенки (Fischer et al., 1999). На сегодняшний момент описано 5 типов фрустулинов: α -фрустулин (75 кДа), β -фрустулин (105 кДа), γ -фрустулин (200 кДа), δ -фрустулин (35 кДа) и ϵ -фрустулин (140 кДа) (Scala, Bowler, 2001). Все они содержат характерные богатые цистеином области (ACR domains). Функция этого домена пока неизвестна (Falcia-tore, Bowler, 2002).

Плевралины. Плевралины (ранее назывались НЕР) – семейство кальцийсвязанных белков (Kröger et al., 1997; Wenzler et al., 2001), расположенных на внутренней поверхности терминальных элементов эпитеки диатомовых водорослей. Все плевралины содержат пролин-богатый домен, состоящий из 3–5 консервативных так называемых PSCD-доменов из 87 или 89 аминокислотных остатков, соответственно, богатых пролином (22 %), серином (11 %), цистеином (11 %) и аспартатом (9 %). С помощью HF выделены плевралин-1 (200 кДа), плевралин-2 (180 кДа) и плевралин-3 (150 кДа), обнаруженные при формировании новой теки (одной из половинок клеточной стенки диатомей) (Kröger, Wetherbee, 2000; Rezanka, Sigler, 2008).

Силацидины. Силацидины – фосфорилированные пептиды, содержащие 29–31 аминокислотный остаток, которые чрезвычайно богаты серином, аспартатом и глутаматом. Известны силацидин А, силацидин В и силацидин С (Sumper, Brunner, 2008; Wenzl et al., 2008).

Полиамины с длинной цепью (LCPA). LCPA найдены как в губках, так и в клеточных стенках диатомовых водорослей (Matsunaga et al., 2007). LCPA – небелковые компоненты, которые содержат линейные олигопропиленаминные цепи. N-атомы в LCPA имеют широкие возможности для метилирования (Bridoux, Ingalls, 2010).

Транспортеры кремния (SIT). Типичными представителями транспортеров кремния являются SIT1 (548 Ам; 60,572 Да), выделенный из диатомовой водоросли *Cylindrotheca fusiformis*, и aquaporin NIP2-1, или low silicon protein 1 (Lsi 1) (298 Ам; 31,978 Да), выделенный из риса обыкновенного. Аквапорин NIP2-1, SIT1 и подобные им белки объединяют в семейство транспортеров кремния (SIT – Silicon Transporter, silicic acid transporters). Сегодня открыто более 100 различных белков, способных транспортировать ионы и кислоты кремния (Yamaji, Ma, 2007). Одна из

точек зрения по поводу механизма транспорта кремния такова. Lsi 1, как и Lsi 2, согласно (Ma et al., 2007), локализованы в плазмалемме, но первый находится с дистальной стороны, а второй – с проксимальной. Как считают авторы, имеет место уникальный механизм переноса: Lsi 1 закачивает кремний внутрь клетки, а Lsi 2, наоборот, выкачивает.

Магнитосомные белки (Mam). В магниточувствительных бактериях, способных накапливать ионы железа, имеется ряд белков, осуществляющих внутриклеточный синтез нано- и микрочастиц (от 10 до 200 нм) магнетита, грейгита, маггемита и других ферритов (FeO , Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , Fe_3S_4) различной формы (кубические, удлиненные призматические, стрелкообразные и другие). Частицы магнетита накапливаются во внутриклеточных образованиях, магнитосомах, формирующих упорядоченное скопление в виде цепочек из нескольких десятков звеньев (иногда в литературе под магнитосомами понимается скопление частиц кристаллов магнетита). Магнитосомы были открыты К. Блэкмором (Blakemore) в 1975 г. Они представляют собой образования в виде пузырьков, имеющих уникальный биохимический состав и мембрану, берущую начало от цитоплазматических мембран. Предположительно, магнитосомные цепи встраиваются в структуру цитоскелета, образованного актин-подобными белками (Schüler, 2008). Установлено, что механизмы биосинтеза магнитосом регулируются генетическим аппаратом, но изучены не до конца (Schüler, 2008; Nakazawa et al., 2009). Известно около 20 магнитосом-специфических белков, участвующих в формировании магнитосом, направленном транспорте железа, а также при кристаллизации и внутриклеточном расположении частиц магнетита у разных магниточувствительных бактерий (Grünberg et al., 2004; Schüler, 2008).

Микоспорин-подобные аминокислоты (МАА). В диатомовых водорослях обнаружен ряд веществ с предполагаемым участием в биоминерализации, хотя и с не определенной пока ролью, например микоспорин-подобные аминокислоты (mycosporine-like amino acids (MAA)) (Singh et al., 2008; Ingalls et al., 2010).

В качестве заключения можно отметить, что силикатеины, силиказа, силаффины, транспортеры кремния, магнитосомные белки и их гомологи встречаются во многих формах жизни. Возможно, многие организмы утратили возможность утилизировать такие соединения, как кремнезем и ферриты, а гены, кодировавшие необходимые для этого белки, «молчат» либо претерпели изменения. Очевидно, что появление и развитие живых организмов находилось и продолжает находиться в постоянном взаимодействии с минеральным окружением. Можно предположить, что ответ на вопросы происхождения и эволюции жизни на Земле лежит в расшифровке механизмов биоминерализации, а также в установлении филогенетической связи участвующих в этом процессе белков.

Литература

1. Юшкин Н.П. Минеральный мир и биосфера // Вестник Института геологии Коми НЦ УрО РАН. 2007. №6. С. 2–5.
2. Brandstadt K.F. Inspired by nature: an exploration of biocatalyzed siloxane bond formation and cleavage // Current Opinion in Biotechnology. 2005. Vol. 16, №4. P. 393–397.
3. Breton S. The cellular physiology of carbonic anhydrases // J. Pancreas (Online). 2001. Vol. 2 (4 Suppl). P. 159–164.
4. Bridoux M.C., Ingalls A.E. Structural identification of long-chain polyamines associated with diatom biosilica in a Southern Ocean sediment core // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2010. Vol. 74, №14. P. 4044–4057.
5. Analytical studies of silica biomineralization: towards an understanding of silica processing by diatoms / E. Brunner, C. Gröger, K. Lutz et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009. №84. P. 607–616.
6. Silicatein filaments and subunits from a marine sponge direct the polymerization of silica and silicones in vitro / Cha J.N., Shimizu K., Zhou Y. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. №96. P. 361–365.

7. *Modern views on desilicification: biosilica and abiotic silica dissolution in natural and artificial environments* / H. Ehrlich, K.D. Demadis, O.S. Pokrovsky, P.G. Koutsoukos // Chem. Rev., Article ASAP. DOI: 10.1021/cr900334y. Publication on May 4, 2010.
8. *Falciatore A., Bowler C. Renealing thermoregular secrets of marine diatoms* // Annu. Rev. Plant Biol. 2002. №53. P. 109–30.
9. *Targeting and covalent modification of cell wall and membrane proteins heterologously expressed in the diatom Cyclodrotheca fusiformis (BACILLARIOPHYCEAE)* / H. Fischer, I. Robl, M. Sumper, N. Kröger // Journal of Phycology. 1999. Vol. 35, №1. P. 113–120.
10. *Lessons from seashells: silica mineralization via protein templating* / C.W.P. Foo, J. Huang, D.L. Kaplan // Trends in Biotechnology. 2004. Vol. 22, №11. P. 577–585.
11. *Geers C., Gros G. Carbon dioxide transport and carbonic anhydrase in blood and muscle* // Physiological Reviews. 2000. Vol. 80, №2. P. 681–715.
12. *Biochemical and proteomic analysis of the magnetosome membrane in Magnetospirillum gryphiswaldense* / Grünberg K., Müller E.C., Otto A. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2004. Vol. 70, №2. P. 1040–1050.
13. *Tinted windows: The presence of the UV absorbing compounds called mycosporine-like amino acids embedded in the frustules of marine diatoms* / A.E. Ingalls, K. Whitehead, M.C. Bridoux // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2010. №74. P. 104–115.
14. *Secondary structure of silaffin at interfaces and titania formation* / E. Kharlampieva, C.M. Jung, V. Kozlovskaya, V.V. Tsukruk // J. Mater. Chem. 2010. №20. P. 5242–5250.
15. *Expression of silicatein and collagen genes in the marine sponge Suberites domuncula is controlled by silicate and myotrophin* / A. Krasko, B. Lorenz, R. Batel et al. // Eur. J. Biochem. 2000. Vol. 267. P. 4878–4887.
16. *A new calcium binding glycoprotein family constitutes a major diatom cell wall component* / N. Kröger, C. Bergsdorf, M. Sumper // EMBO J. 1994. №13. P. 4676–4683.
17. *Frustulins: domain conservation in a protein family associated with diatom cell walls* / N. Kröger, C. Bergsdorf, M. Sumper // Eur. J. Biochem. 1996. №239. P. 259–264.
18. *Characterization of a 200-kDa diatom protein that is specifically associated with a silica-based substructure of the cell wall* / N. Kröger, G. Lehmann, R. Rachel, M. Sumper // European Journal of Biochemistry. 1997. Vol. 250, №1. P. 99–105.
19. *Kröger N., Wetherbee R. Pleuralins are involved in theca differentiation in the diatom Cyclodrotheca fusiformis* // Protist. 2000. №151. P. 263–273.
20. *Silica-precipitating peptides from Diatoms. The chemical structure of silaffin-1A from Cyclodrotheca fusiformis* / N. Kröger, R. Deutzmann, M. Sumper // J. of biological chemistry. 2001. Vol. 276, №28. P. 26066–26070.
21. *Self-assembly of highly phosphorylated silaffins and their function in biosilica morphogenesis* / Kröger N., Lorenz S., Brunner E., Sumper M. // Science. 2002. Vol. 298. P. 584–586.
22. *Kröger N. The molecular basis of nacre formation* // Science. 2009. №325. P. 1351–1352.
23. *Lindskog S. Structure and mechanism of carbonic anhydrase* // Pharmacology & Therapeutics. 1997. Vol. 74, №1. P. 1–20.
24. *An efflux transporter of silicon in rice* / J.F. Ma, N. Yamaji, N. Mitani et al. // Nature. 2007. Vol. 448(7150). P. 209–12.
25. *Long-chain polyamines (LCPAs) from marine sponge: possible implication in spicule formation* / S. Matsunaga, R. Sakai, M. Jimbo, H. Kamiya // ChemBioChem. 2007. Vol. 8, №14. P. 1729–1735.
26. *Molecular mechanism of spicule formation in the demosponge Suberites domuncula: silicatein – collagen – myotrophin* / W.E.G. Müller, A. Krasko, G. Le Pennec et al. // Prog. Mol. Subcell. Biol. 2003. №33. P. 195–221.
27. *The unique skeleton of siliceous sponges (Porifera; Hexactinellida and Demospongiae) that evolved first from the Urmetazoa during the Proterozoic: a Review* / W.E.G. Müller, J. Li, H.C. Schröder et al. // Biogeosciences Discuss. 2007. №4. P. 385–416.
28. *Whole genome sequence of Desulfovibrio magneticus strain RS-1 revealed common gene clusters in magnetotactic bacteria* / Nakazawa H., Arakaki A., Narita-Yamada S. et al. // Genome Res. 2009. Vol. 19, №10. P. 1801–1808.
29. *Poulsen N., Kröger N. Silica morphogenesis by alternative processing of silaffins in the diatom Thalassiosira pseudonana* // The Journal of Biological Chemistry. 2004. №279. P. 42993–42999.
30. *Rezanka T., Sigler K. Biologically active compounds of semi-metals* // Phytochemistry. 2008. №69. P. 585–606.
31. *Scala S., Bowler C. Molecular insights into the novel aspects of diatom biology* // Cell. Mol. Life Sci. 2001. №58. P. 1666–1673.
32. *Silicateins, silicase and spicule-associated proteins: synthesis of demosponge silica skeleton and nanobiotechnological applications* / Schröder H.C., Krasko A., Brandt D. et al. // Biodiversity, innovation and Sustainability. 2007. P. 581–592.
33. *Schüler D. Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria* // FEMS Microbiol. Rev. 2008. Vol. 32, №4. P. 654–672.

34. *Characterization of an endoplasmic reticulum-associated silaffin kinase from the diatom Thalassiosira pseudonana* / V. Sheppard, N. Poulsen, N. Kröger // J. Biol. Chem. 2010. №285(2). P. 1166–76.
35. *Shimizu K., Cha J., Stucky G.D., Morse D.E. Silicatein alpha: cathepsin L-like protein in sponge biosilica* // PNAS. 1998. №95. P. 6234–6238.
36. *Mycosporine-like amino acids (MAAs): chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/sunscreen compounds* / S.P. Singh, S. Kumari, R.P. Rastogi et al. // Indian J. Exp. Biol. 2008. №46. P. 7–17.
37. *Skinner H.C.W., Berger A. Geology and health, clothing the gap*. New York: Oxford University Press, 2003. 204 p.
38. *Sly W.S., Hu P.Y. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies* // Annu. Rev. Biochem. 1995. № 64. P. 375–401.
39. *Sumper M., Brunner E. Silica biomineralisation in Diatoms: the model organism Thalassiosira pseudonana* // ChemBioChem. 2008. Vol. 9, №8. P. 1187–1194.
40. *Tesson B., Hildebrand M. Dynamics of silica cell wall morphogenesis in the diatom Cyclotella cryptica: Substructure formation and the role of microfilaments* // Journal of Structural Biology. 2010. Vol. 169, №1. P. 62–74.
41. *Silacidins: highly acidic phosphopeptides from diatom shells assist in silica precipitation in vitro* / S. Wenzl, R. Hett, P. Richthammer, M. Sumper // Angewandte Chemie. 2008. Vol. 120, №9. P. 1753–1756.
42. *Letter to the Editor: 1H, 13C and 15N sequence-specific resonance assignment of the PSCD4 domain of diatom cell wall protein pleuralin-1* / M. Wenzler, E. Brunner, N. Kröger et al. // Journal of Biomolecular NMR. 2001. №20. P. 191–192.
43. *Yamaji N., Ma J.F. Spatial distribution and temporal variation of the rice silicon transporter Lsi1* // Plant Physiology. 2007. №143. P. 1306–1313.
44. *Neutron structure of human carbonic anhydrase II: implications for proton transfer* / S. Zo Fisher, A.Y. Kovalevsky, J.F. Domsic et al. // Biochemistry. 2010. Vol. 49 (3). P. 415–421.