



**Игорь Эдуардович Памирский** – к.б.н., с.н.с.,  
Учреждение Российской академии наук Институт геологии  
и природопользования ДВО РАН, г. Благовещенск

**Igor E. Pamirsky** – PhD, Senior Scientist, Institute of Geology  
and Nature Management FEB RAS, Blagoveshensk



**Кирилл Сергеевич Голохваст** – к.б.н., доцент кафедры  
нефтегазового дела и нефтехимии, Дальневосточный  
федеральный университет, г. Владивосток;  
ВФ ДНЦ ФПД СО РАМН – НИИ медицинской климатологии  
и восстановительного лечения

**Kirill S. Golokhvast** – MD, PhD, Associate Professor,  
Department of Oil and Gas Deal, Engineering School, Far-  
Eastern Federal University;  
researcher of laboratory of medical ecology, Institute of Medical  
Climatology and Rehabilitation SB RAMS

**УДК 575.852, 577.3**

## ПОИСК ГОМОЛОГОВ БЕЛКОВ БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ ПРИМИТИВНЫХ ОРГАНИЗМОВ

### SEARCH FOR HOMOLOGUES OF PROTEINS OF PRIMITIVE ORGANISMS BIOMINERALIZATION

---

Методами биоинформатики (*in silico*) на уровне целых полипептидных цепей и отдельных участков аминокислотных последовательностей установлена (с учетом открытых новых протеинов) степень гомологии внутри групп белков биоминерализации силаффинов, силацидинов и силикатеинов. Для типичных представителей данных белков, а также силиказы (единственный представитель) был произведен поиск гомологов первичной структуры из числа известных пептидов и полипептидов (обработано около 2000 аминокислотных последовательностей). Сходство первичных структур гомологов силаффинов составило 21–94 % (E-value от 0 до  $5,0 \times 10^{-6}$ ), силацидинов – 45–98 % (E-value от  $2,0 \times 10^{-3}$  до  $6,7 \times 10^{-2}$ ), силикатеинов – 39–50 % (E-value от  $3,0 \times 10^{-89}$  до  $1,0 \times 10^{-88}$ ), силиказы – 28–40 % (E-value от  $8,0 \times 10^{-43}$  до  $1,0 \times 10^{-17}$ ). Проанализировано распределение гомологов по семействам вирусов, а также классам бактерий, растений и животных. Сопоставлены биологические функции исследуемых белков и их гомологов.

**Ключевые слова:** белки минерализации, силаффины, силацидины, силикатеины, силиказа.

Bioinformatic methods (*in silico*) at the level of entire polypeptide chains and individual sections of the amino acid sequence set (including the discovery of new proteins) degree of homology groups of proteins in biomineralization silaffins, silacidins and silicateins. For the typical representatives of these proteins as well as silicase (only representative) was searched homologs of the primary structure of the known peptides and polypeptides (processed about 2000 amino acid sequences). The similarity of the primary structures of homologous silaffins was 21–94 % (E-value from 0 to  $5,0 \times 10^{-6}$ ), silacidins – 45–98 % (E-value of  $2,0 \times 10^{-3}$  to  $6,7 \times 10^{-2}$ ), silicateins – 39–50 % (E-value of  $3,0 \times 10^{-89}$  to  $1,0 \times 10^{-88}$ ), silicase – 28–40 % (E-value of  $8,0 \times 10^{-43}$  to  $1,0 \times 10^{-17}$ ). Analyzed the distribution of homologs of the families of viruses as well as classes of bacteria plants and animals. Compared the biological functions of the studied proteins and their homologs.

*Key words:* **protein of mineralization, silaffins, silacidines, silicatein, silicase.**

---

## **Введение**

Минералы, образующиеся при участии различных организмов, достаточно разнообразны [4, 19]. Из них особый интерес представляют биоминералы эндогенного происхождения, которые являются функциональной частью данного организма. В формировании таких биоминералов значительную роль играют протеины, которые условно можно разделить на следующие группы: 1) пептиды и полипептиды, образующие органическую матрицу, на основе которой формируется минерал; 2) ферменты, катализирующие формирование неорганических полимерных структур; 3) ферменты, катализирующие гидролиз неорганических полимерных структур; 4) белки, осуществляющие транспорт структурных компонентов биоминералов. Яркими представителями таких белков являются силаффины и силацидины диатомовых водорослей, силикатеины и силиказа речных и морских губок. **Силаффины** и **силацидины** (фосфопротеины) – небольшие пептиды, катализирующие формирование и размер наносфер кремнезема из кремниевой кислоты, играют ведущую роль в формировании клеточной стенки диатомей. **Силикатеины** катализируют образование аморфного кремнезема из эфиров кремниевой кислоты, участвуя в формировании кремниевого скелета. **Силиказа** – единственный известный фермент, осуществляющий деполимеризацию кремнезема. В основных работах, посвященных этим белкам, вопросы исследования гомологии и эволюции данных протеинов преимущественно носят несистемный характер [5–10, 13, 15–18]. Высокая актуальность подобных исследований процессов биоминерализации определяется не только глубиной фундаментальности (биология, геология), но важным прикладным значением (синтез материалов с заданными функциями; медицина). Однако вопросы о закономерностях и особенностях биохимизма формирования и последующего метаболизма биоминералов, в том числе при непосредственном участии белков, остаются открытыми. Одним из путей решения данных вопросов является поиск структурных и функциональных гомологов известных белков биоминерализации у разных организмов. В этой связи представляется логичным начать исследование вышеперечисленных пептидов и белков древних примитивных организмов, что и стало целью данной работы.

## **Материалы и методы**

Аминокислотные последовательности всех исследуемых белков, кроме силиказы и силацидинов, были взяты из базы данных сервера вычислительной биологии UniProt (<http://www.uniprot.org>). Данные по силиказе были взяты из работы Шрёдера с соавт. [16],

по силацидинам – из работы Ричхаммера с соавт. [15]. Исследование гомологии последовательностей белков проводилось при помощи того же сервера (на момент обращения в базу хранилась информация о более чем 19 млн последовательностях). Для изучения белков внутри семейств и групп использовали режим множественного выравнивания последовательностей «Align», реализованного на базе «ClusalW 2.0.12» (параметры режима на сервере не настраиваются).

Поиск белков гомологов осуществляли методом попарного выравнивания при помощи инструмента «BLAST» (BLASTP 2.2.25 Feb-01-2011; реализован на базе NCBI), также предусмотренного на сервере, с выставлением следующих параметров: Database – UniProtKB (база данных, по которым производится поиск, включая блоки последовательностей с 100, 90 или 50 % идентичностью), Threshold – 0,1–0,0001 (статистический порог; для каждого пептида или белка устанавливали минимальное значение в указанном пределе, при котором возможно найти максимальное количество гомологов), Matrix – Auto (матрица оценки вероятности для каждой позиции выравнивания), Filtering – None (фильтр регионов с низким уровнем сложности), Gapped – yes (введение пробелов при выравнивании), Hits – 250 (максимальное количество гомологичных последовательностей, выводимых в результаты). В инструкции по работе с сервером под термином «Threshold» понимается среднее значение (E) порога статистической меры числа ожидаемых совпадений в случайных данных. При значениях E, лежащих в пределах 0,0001–0,1, данные принято считать достоверными, при значениях от 0,1 до 10 – сомнительными, более 10 – результаты не достоверны. При любом заданном значении E все полученные результаты проверялись вручную.

Гомологи искали для трех типичных представителей из каждой группы пептидов и белков (исключение – силиказа). Для силаффинов были выбраны предшественник силаффинов-пептидов силаффин-1 из *Cylindrotheca fusiformis* (ID Q9SE35, 265 Ам) и силаффины из *Thalassiosira pseudonana* (ID Q5Y2C0, 231 Ам; ID Q5Y2C1, 485 Ам). Для силацидинов выбраны пептиды натсилацидин А и силацидины В и С, для силикатеинов – силикатеин- $\alpha$  (ID B1GSK9, 334 Ам) из *Geodia Cydonium*, силикатеины А1 (ID B5B2Z1, 329 Ам) и А2 (ID B5LT52, 329 Ам) из *Latrunculia oparinae*.

## Результаты и обсуждение

Количество исследуемых белков биоминерализации, информация о которых внесена в базу Uniprot (полипептидные цепи некоторых белков представлены в базе частично, так как аминокислотные последовательности расшифрованы не полностью), а также приводится в литературе, отражено на рис. 1. Количественное распределение гомологов по происхождению (белки гомологи, принадлежащие к той же группе, что и исследуемый протеин, не учитывались, кроме гомологов силиказы), а также их таксономическая принадлежность в систематике вирусов и биологических доменов представлены в табл. 1, 2. Ввиду особенностей применяемого метода полученные данные не означают принадлежность других (неизвестных, необнаруженных или не вошедших в число результатов по причине ограничения количества выдаваемых результатов) гомологов только к одному из указанных в таблицах таксонов.

### *Исследование матричных белков (силаффины и силацидины)*

**Силаффины.** В базе силаффины были представлены пятью белками из двух видов диатомовых водорослей (*C. fusiformis*, *T. pseudonana*). Четыре полипептида принадлежат

*T. pseudonana* (гомология обнаружена только между белками Q5Y2C1 и Q5Y2C2, а также Q5Y2C0 и B8BRK6 и составляет 99 % для каждой пары). Предшественник силаффиновых пептидов *C. fusiformis*, имеющий в своем составе Silaffin-1B, Silaffin-1A2 и Silaffin-1A1 (пептиды длиной 15–29 Ам идентичны между собой на 32–60 %), не гомологичен полипептидам другого вида диатомей.

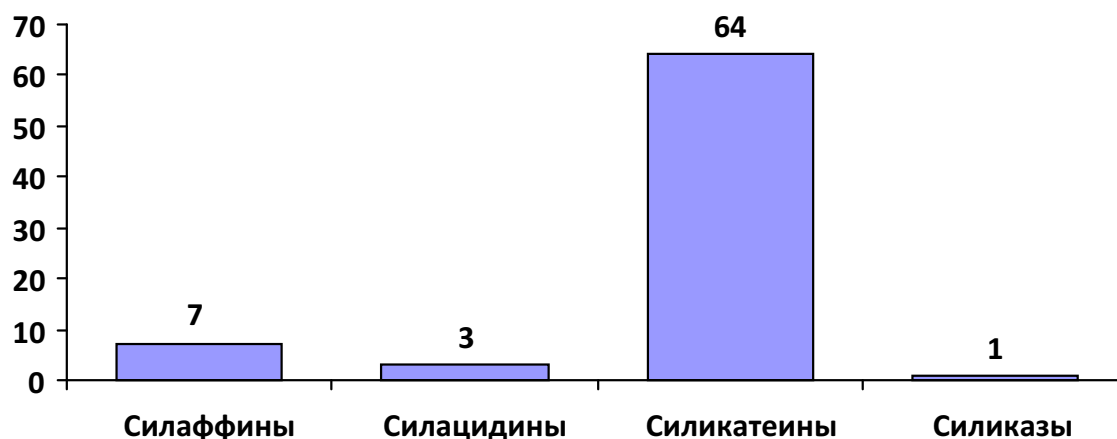


Рис. 1. Количество известных белков биоминерализации диатомовых водорослей и губок по состоянию данных базы UniProt и литературы на конец 2011 г.

Установлено, что протеины, идентичные исследуемым силаффинам на 21–94 % (матрица blosum-62; E-value от 0 до  $5,0 \times 10^{-6}$ ), встречаются преимущественно в клеточных организмах (эукариоты и бактерии), а также в некоторых вирусах (см. табл. 1, 2). Биологические и молекулярные функции большинства найденных гомологов не связаны с биоминерализацией или неизвестны.

Таблица 1

#### Количественное распределение гомологов по происхождению

Домены биологической систематики	Белки биоминерализации, %			
	Силаффины	Силацидины	Силикатеины	Силиказа
Вирусы	1	0,8	–	–
Эуархеоты	0,6	–	–	–
Бактерии	38,4	–	–	–
Эукариоты	60	99,2	100	100

Белки биоминерализации найдены только среди гомологов силаффина-1. Это около 80 сиалофосфопротеинов дентина (DSPP) – неколлагеновых матричных белков дентина млекопитающих, регулирующих минерализацию, размер и форму кристаллов апатита,

а также люстрин А моллюска *Haliotis rufescens*, укрепляющий перламутровый слой раковины и жемчуга. Вероятно, в биоминерализации могут участвовать и некоторые неохарактеризованные на сегодняшний день белки (B8LDT2, B8LDT6, B3ITC3) клеточной стенки диатомеи *T. pseudonana* и кальцитовой раковины двусторчатого моллюска *Crassostrea nippona*.

Из числа других гомологов силаффина-1 стоит обратить внимание на цементирующие (склеивающие) белки: шелка шелкопряда *Bombyx mori*, златоглазки *Mallada signata*, эмбий *Aposthonia gurneyi* и *Haploembia solieri*, используемые для постройки коконов и паутиных ходов; цементирующий белок 3В червя *Phragmatopoma californica* для склеивания песчинок и остатков раковин моллюсков при строительстве жилища. Для этих белков также характерно наличие большого количества серина и повторяющихся областей, они не имеют отношения к биоминерализации, однако детальное сравнительное изучение их выраженных адгезивных свойств может помочь глубже понять механизм действия матричных белков биоминерализации.

Таблица 2

### Таксономическая принадлежность гомологов в генеалогическом древе

Систематика вирусов и организмов	Белки			
	Силаффины	Силацидины	Силикатеины	Силиказа
Mimiviridae, Herpesviridae, Baculoviridae и др. (вирусы*)	+	+	-	-
Bacilli, Gammaproteobacteria и др. (бактерии)	+	-	-	-
Lobosea (лобозные амебы)	-	-	+	-
Heterolobosea (гетеролобозные амебы)	+	-	-	-
Tricoplacia	+	+	+	-
Dictyostelia	+	+	+	-
Kinetoplastida (кинетопластиды)	-	+	-	-
Conoidasida	+	-	-	-
Aconoidasida (споровики)	+	-	-	-
Oligohymenophorea (олигохименофоры)	+	-	-	-
Demospongiae (обыкновенные губки)	-	-	+	+
Hydrozoa (гидроидные)	+	-	+	-
Holothuroidea (голотурии)	-	-	+	-
Anthozoa (коралловые полипы)	-	-	+	-
Chromadorea (круглые черви)	+	+	+	+
Bdelloidea (коловратки)	-	-	+	-
Branchiopoda (жаброногие)	+	+	+	-
Monogenea (моногеи)	-	-	+	-
Polychaeta (полихеты)	-	-	+	-
Gastropoda, Bivalvia (моллюски)	+	-	+	-
Arachnida (паукообразные)	-	-	+	-
Insecta (насекомые)	+	-	+	+

Malacostraca (высшие раки)	–	–	+	–
Maxillopoda (водные ракообразные)	–	–	+	+
Appendicularia (оболочники)	–	+	+	+
Leptocardii (ланцетники)	–	–	+	–
Actinopterygii (лучепёрые рыбы)	+	–	+	+
Amphibia (земноводные)	+	–	+	+
Aves (птицы)	+	–	+	+
Mammalia (млекопитающие)	+	+	+	+
Homo sapiens (человек**)	+	–	+	+
Eurotiomycetes, Nomobasidiomycetes и др. (грибы)	+	+	–	–
Phaeophyceae, Mamiellophyceae и др. (водоросли)	+	+	–	–
Liliopsida (однодольные)	+	–	+	–
Magnoliopsida (двудольные)	+	–	–	–

**Примечание.** «+» – наличие гомолога; \* – классификация ICTV; \*\* – человек представлен как вид в качестве исключения.

Следует сказать о гомологах силаффина Q5Y2C2, муцинах, представленных несколькими десятками, но имеющих отличные от биоминерализации функции. В то же время известно, что некоторые муцин-подобные белки участвуют в процессах минерализации раковин моллюсков [11], а также костной, зубной и хрящевой тканей позвоночных животных [12], то есть биологическая функция (биоминерализация) этих протеинов аналогична силаффинам. Однако муцин-подобных минерализующих белков в списке 250 гомологов нет. Отдельное сравнение одного типичного из таких белков (белок Q9VKM3 моллюска выбран случайно) с Q5Y2C2 показало низкую степень сходства последовательности около 15 %, что объясняет результат поиска гомологов.

**Силацидины.** Гомология между силацидинами А, В и С составляет около 86 %. Поиск гомологов показал 54, 17 и 14 результатов для силацидинов А, В и С соответственно. Идентичность с обнаруженными белками составляет 45–98 % (при матрице ram30). Значительное различие в длине (в 2,7–64 раза) полипептидных цепей силацидинов и данных белков объясняет низкие значения схожести на уровне целых последовательностей (E-value от  $2,0 \times 10^{-3}$  до  $6,7 \times 10^{-2}$ ). В то же время отмечается высокая гомология с отдельными участками цепей большинства найденных белков (рис. 2).

Функции большинства гомологов пока не изучены, остальные белки в основном связывают ионы цинка и нуклеиновые кислоты. Белки биоминерализации, такие как матриксные протеины дентина хоботковой собачки *Rhynchocyon petersi* и лемура *Lemur catta*, остеопонтины мыши *Mus musculus* и морского карася *Sparus aurata*, сервер включает в число гомологов силацидинов только в режиме высокого статистического порога достоверности (значение  $\geq 10$ ).

## Исследование энзимов, полимеризующих (силикатеины) и деполимеризующих (силиказа) кремнезем

**Силикатеины.** Установлено, что степень идентичности первичной структуры силикатеинов составляет около 40–99 %. Из всех найденных гомологов силикатеинов (гомология составила 39–50 % при матрице blosum62, E-value от  $3,0 \times 10^{-89}$  до  $1,0 \times 10^{-88}$ ) преимущественную часть составляют катепсины L, S и K (с каталитическим центром цистеинового типа) широкого круга эукариот (см. табл. 2). Если катепсины L и S не связаны с процессами биоминерализации, то катепсины K, способные расщеплять белки костного матрикса, будучи тканеспецифичными ферментами остеокластов, участвующих в резорбции костной ткани, имеют только косвенное отношение в образованию биоминералов (неизвестен прямой контакт с частицами биоминералов). Остальные гомологи по первичной структуре и строению активного центра (не встретилось ни одного белка с сериновым каталитическим центром как у силикатеинов) можно отнести к цистеиновым протеазам, но их точные молекулярные и биологические функции не установлены.

1	-----SS	2	silacidinA
1	-----	0	silacidinC
1	-----	0	silacidinB
61	TPVGVRKHSRDQTADENG&DTKRVRQTPVKTEVKSEPA&ASPRKAATPKGKYAEADSDSE	120	E9C5X5 E9C5X5_CAP03
3	SEDSGDSPP-----SDES	15	silacidinA
1	SEDSVDSLPE-----SDES	13	silacidinC
1	SEDSGDSL-----SDES	12	silacidinB
121	SESNSDSADDDKSLAARLASKAKASPKPSPKAKAAAPSSAKKAPTPKKAAKESSEES	180	E9C5X5 E9C5X5_CAP03
	**.. **		..**
16	EESEDSVS-----SEDED-----	28	silacidinA
14	EESEDSVS-----SEDED-----	26	silacidinC
13	EESEDSVS-----SEDED-----	25	silacidinB
181	EESEDSSEDEDGSDSGSDSGDDSDDEDAYDDEDAPKPKPAVKKAASPKKAAASPK	240	E9C5X5 E9C5X5_CAP03
	***** .		*:***

Рис. 2. Пример выравнивания аминокислотных последовательностей силиацидинов А (silacidinA), В (silacidinB) и С (silacidinC) и ДНК топоизомеразы I *Capsaspora owczarzaki* (E9C5X5). Последовательности представлены в формате FASTA. \* – идентичные аминокислоты, «.» и «>» – химически подобные аминокислоты. Числами обозначены диапазоны аминокислотных остатков, приходящихся на строку. Последовательность топоизомеразы представлена неполностью

**Силиказа.** Поиск гомологов силиказы губки *S. domuncula* показал, что все белки, идентичные силиказе на 28–40 % (матрица blosum62, E-value от  $8,0 \times 10^{-43}$  до  $1,0 \times 10^{-17}$ ), представляют собой карбонат-дегидратазы (встречаются в многоклеточных эукариотах; см. табл. 1, 2), биологическая роль которых исследована в разной степени. Для наиболее изученных карбоангидраз отмечается участие данных ферментов в костной резорбции и дифференциации остеокластов, но, учитывая механизм их действия, провести аналогию с силиказой нельзя.

Несмотря на достаточно высокий уровень сходства (консервативности) на уровне первичной организации, прямых аналогов среди гомологов ферментов силиказы и силикатеинов не показано. В случае силикатеинов (сериновые протеазы) это объясняется отличным от цистеиновых катепсинов строением каталитического центра. Возможно, другие сериновые протеазы могут работать с кремниевыми кислотами. Силиказа же,

как представитель карбоангидраз, вызывает большой интерес. В литературе нам также не встречалась информация о прямых функциональных аналогах силиказы губки. Полагают, что в силикатных бактериях имеются ферменты – силиказы, ответственные за разрушение связей Si–O в кристаллических решетках глинистых минералов, а также связей Si–C в кремнийорганических соединениях, однако в чистом виде эти ферменты не выделены [2, 3]. Возможно, что эукариоты могут вырабатывать силиказа-подобные ферменты. Такие энзимы вполне могут способствовать усвоению (обмену) кремния. Придерживаясь определенной логики, имеет смысл упомянуть такой фермент человека, как хиториозидаза из семейства хитиназ, осуществляющих гидролиз хитина, характерного для покровных тканей грибов, насекомых, ракообразных. И хотя данный субстрат хитиназы не является структурным элементом тела человека, в определенных ситуациях (при некоторых мукополисахаридозах) некоторые клетки вырабатывают такие ферменты [1].

### Заключение

Установлено, что белки, первичные структуры которых умеренно и высокогомологичны силаффинам, силацидинам, силиказе и силикатеинам, встречаются во внеклеточных агентах и многих различных организмах от простейших до высших животных, в том числе в организме человека.

Биологические и молекулярные функции данных структурных гомологов разнообразны (связывание белков, связывание ионов металлов, трансферазная активность, протеолиз и др.), однако большая часть белков не имеет прямого отношения к образованию биоминеральных кристаллов. Остальные гомологи являются прямыми аналогами исследуемых белков (силаффинов, силацидинов) либо способны участвовать в биоминерализации только косвенно (гомологи силиказы и силикатеинов).

Данные по силаффинам и силацидинам позволяют более тесно рассматривать эволюционные отношения разных типов биоминерализации (биосилификации и биокальцификации), протекающих с их участием. Вероятно, механизм формирования частиц кремнезема, фосфатов и карбонатов кальция на подобных белковых матрицах является принципиально схожим. Исследования в данном направлении расширят понимание механизмов формирования физиогенных и патогенных биоминералов, а также вопросов взаимодействия (коэволюции) живого и неживого.

### Список литературы

1. *Высоцкая Р.У., Немова Н.Н.* Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.
2. *Колесников М.П.* Формы кремния в растениях // *Успехи биол. хим.* 2001. Т. 41. С. 301-332.
3. *Самсонова Н.Е.* Роль кремния в формировании фосфатного режима дерново-подзолистых почв // *Агрехимия.* 2005. № 8. С. 11-18.
4. *Юшкин Н.П. и др.* Происхождение биосферы и коэволюция минерального и биологического миров. Сыктывкар: ИГ Коми НЦ УрО РАН, 2007. 202 с.
5. *Cha J.N. et al.* Silicatein filaments and subunits from a marine sponge direct the polymerization of silica and silicones in vitro // *PNAS.* 1999. Vol. 96. P. 361-365.
6. *Kröger N. et al.* Polycationic peptides from diatom biosilica that direct silica nanosphere formation // *Science.* 1999. Vol. 286. P. 1129-1132.
7. *Kröger N. et al.* Species-specific polyamines from diatoms control silica morphology // *PNAS.* 2000. Vol. 97. P. 14133-14138.
8. *Kröger N. et al.* Silica-precipitating peptides from diatoms. The chemical structure of silaffin-A from *Cylindrotheca fusiformis* // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 26066-26070.



9. Kröger N. *et al.* Self-assembly of highly phosphorylated silaffins and their function in biosilica morphogenesis // *Science*. 2002. Vol. 298. P. 584-586.
10. Kröger N. Prescribing diatom morphology: toward genetic engineering of biological nanomaterials // *Current Opinion in Chemical Biology*. 2007. Vol. 11. P. 662-669.
11. Marin F. *et al.* Mucins and molluscan calcification. Molecular characterization of mucoperlin, a novel mucin-like protein from the nacreous shell layer of the fan mussel *Pinna nobilis* (Bivalvia, pteriomorpha) // *J. Bid. Chem.* 2000. Vol. 275. № 27. P. 20667-20675.
12. Midura R.J., Hascall V.C. Bone sialoprotein—a mucin in disguise? // *Glycobiology*. 1996. Vol. 6. № 7. P. 677-681.
13. Muller W.E.G. The unique skeleton of siliceous sponges (Porifera; Hexactinellida and Demospongiae) that evolved first from the Urmetazoa during the Proterozoic: a review // *Biogeosciences Discuss.* 2007. Vol. 4. P. 385-416.
14. Natalio F. *et al.* Bioengineering of the silica-polymerizing enzyme silicatein-a for a targeted application to hydroxyapatite // *Acta Biomaterialia*. 2010. Vol. 6. P. 3720-3728.
15. Richthammer P. *et al.* Biomineralization in Diatoms: The Role of Silacidins // *ChemBioChem*. 2011. Vol. 12. P. 1362-1366.
16. Schröder H.C. *et al.* Silicateins, silicase and spicule-associated proteins: synthesis of demosponge silica skeleton and nanobiotechnological applications // *Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability*. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. P. 581-592
17. Shen X. *et al.* Molecular cloning and characterization of lustrin A, a matrix protein from shell and pearl nacre of *Haliotis rufescens* // *J. Biol. Chem.* 1997. № 272. P. 32472-32481.
18. Shimizu K. *et al.* Silicatein alpha: cathepsin L-like protein in sponge biosilica // *PNAS*. 1998. Vol. 95. P. 6234-6238.
19. Skinner H.C.W., Jahren A.H. Biomineralization // *Treatise on Geochemistry*. 2003. Vol. 8. P. 117-184.