

海洋硅藻硅质细胞壁结构的形成机理研究概述

梁君荣¹, 陈丹丹¹, 高亚辉^{1*}, 程金凤^{1,2}

(1. 厦门大学 生命科学学院 滨海湿地生态系统教育部重点实验室, 福建 厦门 361005; 2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 硅藻具有形态各异、结构复杂、精美绝伦的硅质细胞壁, 是海洋中进行生物硅化最主要的生物体。硅质细胞壁的形成同样是一个错综复杂的过程, 它涉及硅藻细胞将硅酸从胞外转运到胞内; 硅酸在细胞内的转移; 在硅沉积囊泡(SDV)中的浓缩沉积; 最后合成具种类特异性的细胞壁。重点介绍硅酸转运基因(SITs)的分子特征与作用机制; 与生物硅化相关的三种蛋白即硅体蛋白(frustulins)、亲硅蛋白(silaffins)和侧壁蛋白(pleuralins)的结构与功能; 硅质结构如何在硅沉积囊泡内最终形成的模式。

关键词: 硅藻; 硅质细胞壁; 硅转运; 生物硅化

中图分类号: Q949.27

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2010)05-0001-08

1 引言

硅藻是一类分布广泛、光合自养的单细胞真核生物, 遍布世界海洋和淡水水域。它是海洋生态系统内最主要的初级生产者, 每年通过光合作用生产 4.5~5.0 Gt 的有机碳, 占海洋初级生产力的 40%^[1], 其在全球碳循环中的作用可以媲美于陆地雨林^[2]。硅藻也是海洋中进行生物硅化最主要的生物体, 是生物硅的最大贡献者。在自然界中除硅藻具有生物硅化作用外, 放射虫、金藻以及海绵动物等也能形成以二氧化硅为基础的外生或内生骨架^[3], 但仍以硅藻最突出。硅藻形成的硅质结构错综复杂、精妙绝伦, 并能在各代之间以种特异性的方式精确复制。硅藻如何形成这些形态各异、超微小的复杂硅质化结构引起了人们的极大兴趣, 科学家正努力探究硅藻硅质结构的形成过程, 以寻求一种新的纳米硅材料的制造方法。

硅藻的细胞壁由 2 个套合的硅质壳组成(见图 1), 分上壳(epitheca)和下壳(hypotheca)。上壳来

自母细胞, 由上壳面和上壳环组成; 下壳来自细胞分裂后的子细胞, 由下壳面和下壳环组成。壳顶和壳底均称为壳面(valve)。壳边相连部分称为相连带, 上下相连带总称为壳环或壳环带(girdle band), 该面为壳环面。壳面向相连带弯曲部分称为壳套。硅藻细胞普遍存在两种结构类型: 轴对称和左右对称。中心纲硅藻中最常见的是中心轴对称, 但不一定都呈圆形。羽纹纲硅藻普遍比较细长, 多呈左右对称。硅藻的细胞壁表面已高度纹理化, 不同的硅藻纹饰通常也不一样, 因而被用作硅藻种类形态学鉴定的主要特征依据。

硅藻细胞硅质结构的形成过程非常复杂, 对许多细节与调控机理目前尚不清楚, 根据现有的一些动力学和形态学上的证据推测硅藻的生物硅化过程大致分为 5 个阶段: (1) 细胞外的硅酸通过硅酸转运子(silicon transporters, SITs)转运到细胞内^[4]; (2) 硅酸在硅转运小泡(silicon transport vesicles, STVs)中形成直径 30~50 nm 的二氧化硅微粒^[5] (目前还没有确切的证据证实这一点); (3) STVs 行

收稿日期: 2009-11-19; 修订日期: 2010-02-02。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40676082; 40831160519); 国家“九七三”项目(2005CB422305)。

作者简介: 梁君荣(1975—), 女, 福建省长汀市人, 副教授, 从事海洋硅藻生化与分子学的教学和研究。E-mail: sunljr@xmu.edu.cn

* 通信作者: 高亚辉(1963—), 教授, 博士生导师, 从事海洋硅藻学的教学和研究。E-mail: gaoyh@xmu.edu.cn

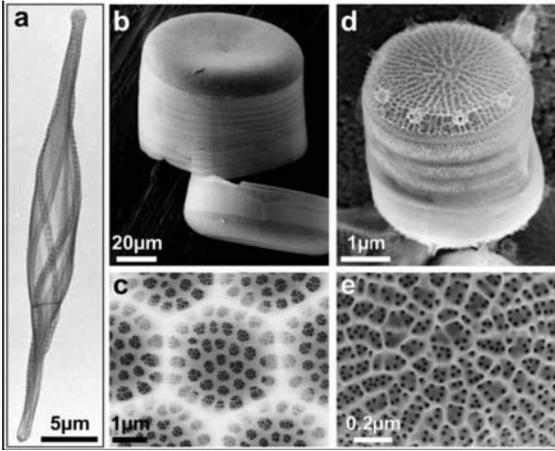


图 1 硅藻细胞壁结构(电子显微镜照片)

a. 纺锤筒柱藻(*Cylindrotheca fusiformis*); b, c. 星脐圆筛藻(*Coccinodiscus asteromphalus*); d, e. 假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*) (引自文献 [6])

至硅沉积囊泡(silica deposition vesicle, SDV)附近,与 SDV 膜(又称硅质囊膜)融合,向内释放二氧化硅微粒^[7]; (4)二氧化硅微粒在 SDV 内不断沉积,使壳面不断延伸扩展^[5, 8]; (5)随着精细结构的进一步形成,壳面不断增厚^[8-11]。

2 硅藻硅酸转运基因

硅藻的细胞壁由硅质($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$)和果胶质(pectin)组成。在海洋硅藻中硅主要以 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 的形式被硅藻细胞吸收,其转运方式是一种依赖 Na^+ 的协同运输,而且 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 与 Na^+ 浓度之比为 1 : 1^[12]。参与硅藻硅酸转运的是一类称为硅酸转运子的全新基因家族,由 Hildebrand 等^[4] 首先在纺锤筒柱藻中鉴别到。

2.1 硅酸转运子的分子特征

Hildebrand 等^[4] 向非洲爪蟾(*Xenopus laevis*) 卵母细胞注射这类基因转录合成的 mRNA,卵母细胞表现出的硅酸吸收特征与硅藻的相似,表明该基因编码为硅酸转运蛋白。该蛋白有 10 个跨膜结构域和一个长的亲水羧基末端,在亲水羧基末端有一个卷曲螺旋结构(介导硅酸转运蛋白与其他蛋白相互作用)^[4, 13],但在假微型海链藻和中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*) 中鉴定到的 SITs 序列缺少这种蛋白与蛋白相互作用的模体^[14]。在大量进化发生分歧的硅藻中都鉴定到了 SIT 序列,甚至在金藻——彼得森黄群藻(*Synura petersenii*) 和卵形棕鞭藻(*Ochromonas ovalis*)——中也找到了

它^[14-17]。每种硅藻都具有多种 SITs^[14],这就说明了每种硅藻都具有多个在动力学特性、细胞内的位置或表达特征上不不同的转运子^[13, 18]。

尽管目前已经获得了大量的序列,但仍没有找到 SITs 的同源物,对其进化起源仍不清楚。Schörder 等^[19] 报道了在海绵中克隆到一个潜在的硅酸转运子,但经基因鉴定其为碳酸氢盐转运子的同系物,与 SITs 没有同源性,只是推理证明了其对硅酸的吸收起作用。Ma 等^[20] 对水稻的硅转运系统进行了描述,确定了水稻的硅酸转运子与水通道蛋白(aquaporin)同源,与硅藻的 SITs 也没有相似性。

2.2 硅酸转运机制模型

SITs 是第一个表现出与硅酸相结合但不促进其聚合的蛋白,因此这为研究蛋白如何与硅酸结合提供了模型。首先需要确定参与识别绑定硅酸的氨基酸,氨基酸在进化上的保守性通常对蛋白质的功能非常重要。比较 SIT 序列是最初的研究方式,根据序列比较,提出了两种氨基酸与硅酸相互作用的模型。一种模型是基于锌参与硅酸转运的模型^[21]。此模型提出了 SITs 通过氨基酸序列 CMLD(Cys-Met-Leu-Asp) 中的半胱氨酸残基来束缚锌,并协调硅酸绑定^[17]。在假微型海链藻中鉴定到的三个 SITs 中只有一个含有半胱氨酸,另外两个 SITs 仅参与硅酸的流出^[22],然而对这三个 SITs 的 mRNA 表达水平检测表明,含有半胱氨酸的 SIT mRNA 的积累比另外两个少 40%~80%^[23],这与其在吸收中起主要作用的事实不相符。Thamatrakoln 等^[24] 在最近的实验中使用了锌螯合剂,这也证明了它对 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 的吸收没有影响。

SIT 介导转运的第二个模型是基于 8 种硅藻中 26 个 SIT 序列的比较结果^[14]。在所有被检测的种类中,包括金藻,都鉴定到一个保守的 GXQ(Gly-X-Gln, X 代表不同的氨基酸) 序列模体,其在全序列中重复 4 次。GXQ 模体的位置保守,一组位于跨膜片段 7 和 8 之间,另一组位于细胞质内面向原生质膜附近的跨膜片段 2 和 3 上^[14]。根据跨膜片段的位置,这两组谷氨酰胺的位置可能相反且彼此相对稍微错开。该模型(见图 2) 提出,跨膜片段 7 和 8 间位置相反的谷氨酰胺通过氢键与硅酸配位(图 1b, c),导致蛋白构象变为向内开放型(图 1d, e),便于硅酸被谷氨酰胺释放且与跨膜片段 2 和 3 上的谷氨酰胺结合,使释放的硅酸能够进入细胞。流出过程与此相反。这个模型是以交替存取转运的功能模

式为基础,根据细胞外或内的环境,蛋白质构象交替

变化暴露出底物结合位点^[25]。

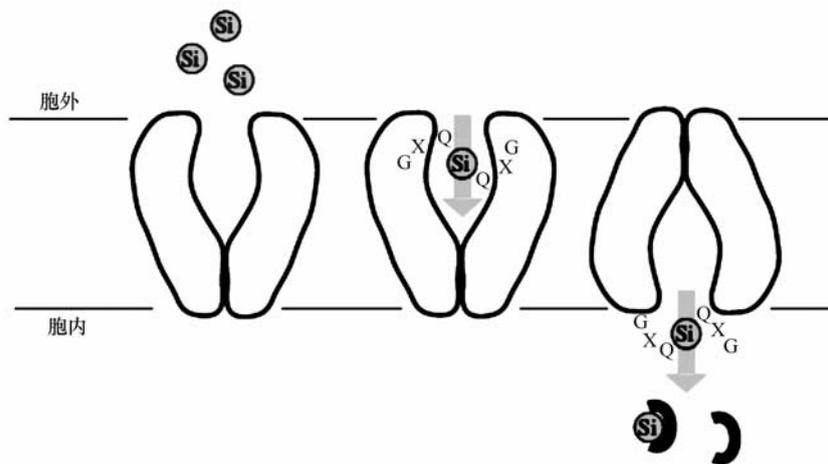


图2 硅转运模型^[14]

最近一篇报道提供了海链藻目(Thalassiosirales) 45个种的 *SIT* 序列数据,共有 97 段序列^[26]。虽然不是全长序列,但也包括了跨膜片段 7 和 8 上的 CMLD 和 GXQ 模体。尽管 CMLD 模体的氨基酸组成高度保守,但半胱氨酸的保守性较低(仅存在于 64% 的序列中),在此位点发现了 6 种不同的氨基酸。此外,其中有一个种没有 CMLD 模体。由此可见,CMLD 模体的这些特征没有显示出其在功能上的重要性。GXQ 模体上的谷氨酰胺始终存在且附近的残基也高度保守,这与其在功能上的重要作用相符合^[26]。

2.3 SITs 对硅酸转运的控制

硅酸转运活性随细胞周期性演化而发生变化^[27],而且与细胞壁结构形成时细胞对硅的需求相关^[28]。因此,*SIT* 的活性或表达与细胞对硅的需求同步。据初步研究,在纺锤筒柱藻中鉴定到的五个 *SITs* 在细胞周期内,mRNA 表达水平表现出大致相似的变化趋势,不同之处在于 *SIT* 的拷贝数不同^[18]。

Thamatrakoln 等^[23]研究了在细胞周期同步化过程中假微型海链藻三个 *SITs* 的 mRNA 和蛋白表达水平,发现这三个 *SITs* 的 mRNA 表达水平变化与蛋白表达水平并不一致。mRNA 表达水平的最大值发生在 S 期,此时细胞不需要硅,蛋白表达水平最低。mRNA 表达水平的这些变化与翻译水平调控机制一致,*SIT* mRNA 有积累但没有相应地被翻

译成蛋白质。硅藻的硝酸还原酶基因已经为翻译调控提供了证明,当需要蛋白时,mRNA 的积累能提供一个快速的反应^[29-30]。另一个有趣的结论是,*SIT3* mRNA 表达水平比 *SIT1* 和 *SIT2* 低 40%~80%,表明其在硅酸转运中的作用较小。低水平表达的 *SIT3* 与 *SIT1*,*SIT2* 的序列差异表明了 *SIT3* 可能是一个硅感应器^[23]。在其他的转运子中也发现有相似的特征,提示 *SIT3* 起感应作用^[31-32]。这项研究还表明,作为一个整体,虽然 *SIT* 的丰度在转录和翻译水平上受到控制,但 *SIT* 蛋白总量与吸收活力之间没有严格的相关性,这表明 *SIT* 活力的控制是调控的主要部分。重要的是该研究还认为仅靠控制 *SIT* 蛋白不一定能达到控制转运的目的。底物转运的平衡效应显然也能产生强大的影响力^[23]。

3 硅化作用相关蛋白

在硅藻细胞壁的形成过程中,蛋白质显然发挥了重要的作用,但是在硅藻细胞壁中只有少数的相关蛋白被提取并部分被鉴定。Kröger 等^[33-37]从纺锤筒柱藻的细胞壁上鉴定到三类全新的蛋白——硅体蛋白、侧壁蛋白、亲硅蛋白。

3.1 硅体蛋白

硅体蛋白(frustulins)是一类缔合细胞壁的钙结合糖蛋白,位于细胞壁的有机外壳上^[33-34]。免疫化学研究证明, α_1 -硅体蛋白存在于不同种类的硅藻

中^[33-34, 38]。在纺锤筒柱藻中 α_1 -硅体蛋白在壳面形成之前被诱导表达,但在小皮舟形藻 [*Navicula pelliculosa* (Brébisson et Kützing) Hilse] 中,诱导表达发生在壳面形成之后。在小皮舟形藻和盐生舟形藻 (*Navicula salinarum* (Grunow) Husted) 中, α_1 -硅体蛋白似乎只存在于新的或接近完成的壳面上^[38],显然硅体蛋白不直接参与硅化过程,它更可能是覆盖在硅质壁的有机外壳,发挥着结构上的功能。

3.2 侧壁蛋白

侧壁蛋白 (Pleuralins) 是采用氢氟酸从纺锤筒柱藻中提取出的蛋白质,在完成硅沉积后侧壁蛋白与壳环带特异性结合。免疫定位实验显示,在分裂间期侧壁蛋白只与细胞上壳相结合,位于上壳壳环带的末端。在细胞分裂时,在新的下壳尚未形成的母细胞的下壳壳环带也有侧壁蛋白,这一过程伴随着母细胞的下壳成为其中一个子细胞上壳的功能转换。因此,侧壁蛋白的缔合可能涉及到硅藻细胞壁上壳与下壳的分化^[37, 39]。

3.3 亲硅蛋白与长链多聚胺

从纺锤筒柱藻氢氟酸抽提的蛋白质和多肽中还鉴定到了一组聚阳离子多肽——亲硅蛋白 (silafins) 和一类低分子量复合物长链多聚胺 (long-chain polyamines, LCPAs), 这两者都能够在体外沉积二氧化硅^[36]。亲硅蛋白由两个低分子量的多肽 (亲硅蛋白-1A, 亲硅蛋白-1B) 和一个蛋白质 (亲硅蛋白-2) 组成,富含丝氨酸和赖氨酸残基。克隆编码亲硅蛋白-1A 和亲硅蛋白-1B 的基因表明,它们源自于同一多肽的精确水解^[36]。天然亲硅蛋白-1 (natural silaffin-1, natSil-1) 翻译后被高度修饰,所有的丝氨酸残基被磷酸化^[40]。亲硅蛋白-1 的硅沉积功能取决于赖氨酸残基的修饰,亲硅蛋白-1 在缺少翻译特异性修饰的情况下,不能进行硅沉积^[36]。Kröger 等^[36]在正磷酸缓冲液中对纯化后的纺锤筒柱藻中亲硅蛋白-1A 或亲硅蛋白-1B 进行培育发现,二氧化硅以球形颗粒相互连接的形式迅速形成,颗粒大小从 50 到 700 nm 不等,其大小取决于亲硅蛋白各组分组成比例的不同。

LCPAs 由 8~20 个重复的 N-甲基正丙胺单位连接腐胺组成^[35]。这些重复单位与发生赖氨酸修饰后的亲硅蛋白相似^[36]。在磷酸盐缓冲液中 LCPAs 也能迅速将硅酸沉积为二氧化硅,产生相互连接的球状颗粒,大小为 100 nm 至 1 μ m。

Kröger 等^[35]同时使用天然化合物和合成类似物研究了亲硅蛋白和 LCPAs 促进二氧化硅形成的机制,结果表明大小不同的 LCPAs 导致大小不同的二氧化硅小球的形成。natSil-1A 和 LCPAs 以不同的比率联合 natSil-2 共同作用,能在体外创造出多种硅质结构^[6, 40-42]。虽然和 natSil-1 同样具有相同的赖氨酸修饰,但 natSil-2 自身没有沉积硅的能力。natSil-2 的主要作用是自动抑制多聚胺的硫化、糖基化等修饰,发挥着控制硅聚合程度的作用^[41, 43]。每种硅藻都可能拥有种特异性的 LCPAs 和亲硅蛋白,这很可能与某种特异性的硅质化结构的形成有关^[35, 43-44]。

4 硅质结构的形成

4.1 硅沉积囊泡

据前面所述,所有硅藻硅质结构的形成过程都发生在膜结合的 SDV 中^[45]。SDV 膜又称为硅质囊膜 (silicalemma), 与其他细胞膜相比具有独特的功能。因为它与硅质结构的形成密切相关,而且固相硅的聚合也会对细胞器产生巨大的渗透压,但硅质囊膜仍能保持形状,其必定具有某些特性能保持细胞器的完整性^[45-46]。此外,SDV 内部的 pH 呈酸性,而且环绕细胞区室,这都有利于二氧化硅的聚合^[47]。一旦硅质结构在 SDV 内完成,整个细胞器向外的分泌物成为细胞壁的一部分^[45],而不会损害细胞的完整性。二氧化硅的沉积主要发生在细胞内,但是还没有直接的证据证明。因为细胞外硅浓度远低于细胞内,底物的可利用性可能受限制。在其他矿化系统中矿物可被反复沉积、反复吸收,在硅藻中也可能发生外泌的二氧化硅被再次吸收。对于一个特定的硅藻种类,大小相同的细胞中的二氧化硅量可以相差 4 倍之多,这表明硅质细胞壁的厚度有差异。在可利用性大的条件下,过量吸收沉积的二氧化硅会使细胞在此后可利用性小的条件下也能正常生长^[48-49]。

根据细胞内已知的膜转运过程,SDV 很可能来自高尔基体,但是这尚未得到明确的证实。SDV 的最初形态根据硅藻种类的不同而有所不同^[45]。羽纹纲硅藻最先形成被定义为半壳缝的长管。长管弯曲延伸至整个细胞的长度,然后硅质化长管同时从末端和中央节相对增长,并融合形成壳缝的另一半。中心纲硅藻最初的沉积发生在一个称为最初硅化点 (primary silicification site) 的环形区域,而且

SDV 呈一个扁平的环形结构^[45]。

很明显 SDV 膜在硅藻硅质结构形成中起了重要的作用,尽管已经了解了一些 SDV 内腔的硅聚组分^[35-36],但纯化的 SDV 蛋白至今未能分离到,对构成硅质囊膜的分子组分也一无所知,这其中可能包括与细胞骨架相互作用的蛋白,还包括参与维持膜的完整、成型以及组织聚合部分形成更高层次结构的组分。目前硅藻基因组序列的获得^[44],加上基因鉴别和标记方法应能使这一领域得到进一步的发展。

4.2 大规模硅质结构的形成

SDV 的扩张和形成除自身的模子作用外,还与细胞骨架有关,通过直接观察^[45-46, 50-51]和运用细胞骨架抑制剂证明了这点^[52-53]。与硅质化作用相关的细胞骨架成分主要是微管和肌动蛋白。微管是杆形的管状分子,由异形单体微管蛋白重复亚基组成。微管在特定的方向上进行装配或拆卸,形成定向性的扩张或收缩。马达蛋白能沿着微管形成的轨迹以特异的方式定向移动,并且与其他细胞器如泡囊相接触促进其移动。微管可以组织形成微管中心(microtubule center),提供大量微管发出的一个位置定位点。肌动蛋白丝也是由单体亚基组装而成的,其可能参与了细胞分裂(卵裂沟的缢缩)和移动,还提供蛋白运动的轨道。肌动蛋白和微管通过促进或抑制 SDV 的^[1]扩张来参与 SDV 形状的形成^[54]。

对于羽纹纲硅藻,微管中心常位于硅沉积起始点附近。SDV 先形成,然后微管中心与其结合^[45]。在双壳缝硅藻中,微管中心精确定位于最初形成的中央节上,当其形成壳缝时,在扩张的管状 SDV 两侧可见微管^[45],当微管抑制剂存在时,壳缝呈畸形^[52],由此证明微管参与了 SDV 大范围的精确延伸。对于中心纲硅藻,由于可视化观察上的困难不能很明确地界定微管中心的作用,但个别研究表明,微管参与了壳面的形成。例如,翼根管藻(*Probooscia alata*),荧光显微观察它发现,微管附着于 SDV 的前缘,而且始终邻接硅聚合的区域,这表明它们将牵引 SDV 直到其达到最终的尺寸^[46]。

角毛藻属(*Chaetoceros*)的硅藻细胞具有长管状的硅质延伸部分,称为角毛,其形成了向外拉长的硅质肋纹^[55]。具刺角毛藻(*Chaetoceros armatum*)的微管的排列毗邻 SDV,它精确地与形成中的硅质肋纹排列成行,而且当硅化作用完成后微管也会消失,

这表明微管参与了肋纹的定位^[45]。

壳缝纤维是与 SDV 相互作用的独特的细胞骨架元件,对其组成成分还不清楚^[50]。现有两种关于壳缝纤维参与壳缝形成的假设:第一种假设是壳缝纤维阻止 SDV 扩大进入管壳缝;第二种假设是基于动力学作用。壳缝通常都具有“tongue-in-groove”的复合结构,该结构可能是通过壳缝纤维先在某一方向上改变 SDV 的位置,然后再向其反方向改变 SDV 的位置形成的^[45]。

肌动蛋白似乎与圈定 SDV 直径的范围有关。在多种羽纹纲硅藻中都发现肌动蛋白处于 SDV 扩展的边缘^[45]。在翼根管藻中肌动蛋白呈环状排列在 SDV 的边缘并与 SDV 的直径扩展方向一致。使用肌动蛋白抑制剂的结果进一步支持了肌动蛋白参与 SDV 直径圈定的观点^[46]。在并基角毛藻(*Chaetoceros decipiens*)的角毛末端观察到一些具有肌动蛋白特征的物质,这类物质为 SDV 膜提供了轮廓和刚性,并在其生长阶段通过分子运动系统沿末端扩展^[51]。

现已确定了微管和肌动蛋白参与 SDV 的成型,更多的例子将有助于进一步理解它们的动力学及相互作用。微管有助于扩张,而肌动蛋白将提供轮廓,两者的综合效应能形成动力学张力,这就是特异性结构形成的关键。

5 结语

在硅藻这种超凡的生物工艺被发现之前,科学家们感兴趣的主要是硅藻在地球碳循环中的作用。形态各异的、精妙绝伦的硅质细胞壁渐渐地吸引了科学家的视线,不少科学家对硅藻硅质壁的形成机理着迷不已。科学家们希望能从遗传学角度探明硅藻硅质壁结构的形成过程,发明一种在温和条件下制造超精纳米材料的新方法。近十几年来科学家在硅藻硅质结构形成的研究上取得了令人欣喜的成果。除发现 SITs,亲硅蛋白等新基因、新蛋白外,科学家还运用 DNA 芯片技术在假微型海链藻中发现了 75 个与硅质结构形成有关的基因^[56],但其中大部分的基因与已知基因没有相似性,尚不知其功能。假微型海链藻和三角褐指藻(*Phaeodactylum tri-cornutum*)的全基因组序列已先后被破译,圆柱拟脆杆藻(*Fragilariopsis cylindrus*)和多列拟菱形藻(*Pseudonitzschia multiseriis*)全基因组序列的测定也在进行中。硅藻种类间硅质结构的差异性是以遗

传为基础的,这些不同种类硅藻的全基因组序列的测定将有助于辨别参与硅质结构形成的保守基因以及造成种类特异性的基因。相信随着研究技术的不断

更新和研究工作的不断深入,人们对硅藻硅质结构形成的调控机理将会有有一个更加确切、全面的认识,硅藻生物纳米材料也将指日可待。

参考文献:

- [1] NELSON D M, TRÉGUER P, BREZZINSKI M A, et al. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation[J]. *Global Biogeochem Cycl*, 1995, 9: 359—431.
- [2] FIELD C B, BEHRENFELD M J, RABERSON J T, et al. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components[J]. *Science*, 1998, 281(5374): 237—240.
- [3] KRÖGER N, SUMPER M. The molecular basis of diatom biosilica formation[M]// BAEUERLEIN E. *Biom mineralization: Progress in Biology, Molecular Biology and Application*. Berlin: Wiley-VCH, 2004: 137.
- [4] HILDEBRAND M, VOLCANI B E, GASSMANN W, et al. A gene family of silicon transporters[J]. *Nature*, 1997, 385(6618): 688—689.
- [5] SUMPER M, BRUNNER E. Silica biomineralization in diatoms: the model organism *Thalassiosira pseudonana*[J]. *Chem Bio Chem*, 2008, 9: 1187—1194.
- [6] SUMPER M, KRÖGER N. Silica formation in diatoms: the function of long-chain polyamines and silaffins[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2004, 14: 2059—2065.
- [7] GORDON R, LOSIC D, TIFFANY M A, et al. The glass menagerie: diatoms for novel applications in nanotechnology[J]. *Trends in Biotechnology*, 2008, 27(2): 116—127.
- [8] HAZELAAR S, AVN DER STRATE H J, GIESKES W W C, et al. Monitoring rapid valve formation in the pennate diatom *Navicula salinarum*(Bacillariophyceae)[J]. *Journal of Phycology*, 2005, 41(2): 354—358.
- [9] GORDON R, DRUM R W. The chemical basis for diatom morphogenesis[J]. *Int Rev Cytol* 1994, 150: 243—372.
- [10] LENOCI L, CAMP P J. Diatom structures templated by phase-separated fluids[J]. *Langmuir*, 2008, 24: 217—223.
- [11] TIFFANY M A. Valve development in *Aulacodiscus*[J]. *Diatom research*, 2008, 23: 185—212.
- [12] BHATTACHARYYA P, VOLCANI B E. Sodium-dependent silicate transport in the apochlorotic marine diatom *Nitzschia alba*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1980, 77(10): 6386—6390.
- [13] HILDEBRAND M. Silicic acid transport and its control during cell wall silicification in diatoms[M]//BAEUERLEIN E. *Biom mineralization: Progress in Biology, Molecular Biology and Application*. Berlin:Wiley-VCH, 2004: 159.
- [14] THAMATRAKOLN K, ALVERSON A J, HILDEBRAND M. Comparative sequence analysis of diatom silicon transporters: toward a mechanistic model of silicon transport[J]. *Journal of Phycology*, 2006, 42(4): 822—834.
- [15] GRACHEV MA, DENIKINA N N, BELIKOV S I, et al. Elements of the active center of silicic acid transporters in diatoms[J]. *Mol Biol: Mosk*, 2002, 36(4): 679—681.
- [16] LIKHOSHWAY Y V, MASYUKOVA Y A, SHERBAKOVA T A, et al. Detection of the gene responsible for silicic acid transport in chrysophycean algae[J]. *Dokl Biol Sci*, 2006, 408: 256—260.
- [17] SHERBAKOVA T A, MASYUKOVA Y, SAFONOVA T P, et al. Conserved motif CMLD in silicic acid transport proteins of diatoms[J]. *Molecular Biology*, 2005, 39: 269—280.
- [18] HILDEBRAND M, DAHLIN K, VOLCANI B E. Characterization of a silicon transporter gene family in *Cylindrotheca fusiformis*: sequences, expression analysis, and identification of homologs in other diatoms[J]. *Molecular and General Genetics*, 1998, 260(5): 480—486.
- [19] SCHÖRDER H C, PEROVIC-OTTSTADT S, ROTHENBERGER M, et al. Silica transport in the demosponge *Suberites domuncula*: fluorescence emission analysis using the PDMPO probe and cloning of a potential transporter[J]. *Biochemical Journal*, 2004, 381: 665—673.
- [20] MA J F, TAMAI K, YAMAJI N, et al. A silicon transporter in rice[J]. *Nature*, 2006, 440(7084): 688—691.
- [21] RUETER J G, MOREL F M M. The interaction between zinc deficiency and copper toxicity as it affects the silicic acid uptake mechanisms in *Thalassiosira pseudonana*[J]. *Limnology and Oceanography*, 1981, 26(1): 67—73.
- [22] GRACHEV M, SHERBAKOVA T, MASYUKOVA Y, et al. A potential zinc-binding motif in silicic acid transport proteins of diatoms[J]. *Diatom Research*, 2005, 20(2): 409—411.
- [23] THAMATRAKOLN K, HILDEBRAND M. Analysis of *Thalassiosira pseudonana* silicon transporters indicates distinct regulatory levels and transport activity through the cell cycle[J]. *Eukaryotic Cell*, 2007, 6(2): 271—279.

- [24] THAMATRAKOLN K, HILDERBAND M. Silicon uptake in diatoms revisited: a model for saturable and nonsaturable uptake kinetics and the role of silicon transporters[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(3): 1397—1407.
- [25] HILDEBRAND M, DOKTYCZ M J, ALLISON D P. Application of AFM in understanding biomineral formation in diatoms[J]. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology*, 2008, 456(1): 127—137.
- [26] ALVERSON A J. Strong purifying selection in the silicon transporters of marine and freshwater diatoms[J]. *Limnology and Oceanography*, 2007, 52(4): 1420—1429.
- [27] SULLIVAN C W. Diatom mineralization of silicic acid: II. Regulation of silicic acid transport rates during the cell cycle of *Navicula pelliculosa*[J]. *Journal of Phycology* 1977, 13(1): 86—91.
- [28] HILDEBRAND M, FRIGERI L G, DAVIS A K. Synchronized growth of *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae) provides novel insights into cell-wall synthesis processes in relation to the cell cycle[J]. *Journal of Phycology*, 2007, 43(4): 730—740.
- [29] POULSEN N, CHESLEY P M, KROGER N. Molecular genetic manipulation of the diatom *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae)[J]. *Journal of Phycology*, 2006, 42(5): 1059—1065.
- [30] POULSEN N, KRÖGER N. A new molecular tool for transgenic diatoms: control of mRNA and protein biosynthesis by an inducible promoter—terminator cassette[J]. *FEBS J*, 2005, 272(13): 3413—3423.
- [31] FORSBERG H, LJUNGDAHL P O. Sensors of extracellular nutrients in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Curr Genet*, 2001, 40(2): 91—109.
- [32] VAN BELLE D, ANDRE B. A genomic view of yeast membrane transporters[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13(4): 389—398.
- [33] KRÖGER N, BERGSDORF C, SUMPER M. A new calcium binding glycoprotein family constitutes a major diatom cell wall component. [J]. *EMBO J*, 1994, 13(19): 4676—4683.
- [34] KRÖGER N, BERGSDORF C, SUMPER M. Frustulins: domain conservation in a protein family associated with diatom cell walls[J]. *Eur J Biochem*, 1996, 239(2): 259—264.
- [35] KRÖGER N, DEUTZMANN R, BERGSDORF C, et al. Species-specific polyamines from diatoms control silica morphology[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(26): 14133—14138.
- [36] KRÖGER N, DEUTZMANN R, SUMPER M. Polycationic peptides from diatom biosilica that direct silica nanosphere formation[J]. *Science*, 1999, 286(5442): 1129—1132.
- [37] KRÖGER N, LEHMANN G, RACHEL R, et al. Characterization of a 200-kDa diatom protein that is specifically associated with a silica-based substructure of the cell wall[J]. *Eur J Biochem*, 1997, 250(1): 99—105.
- [38] VAN DE POLL WH, VRIELING E G, GIESKES W W C. Location and expression of frustulins in the pennate diatoms *Cylindrotheca fusiformis*, *Navicula pelliculosa*, and *Navicula salinarum* (Bacillariophyceae)[J]. *Journal of Phycology*, 1999, 35: 1044—1053.
- [39] KRÖGER N, WETHERBEE R. Pleuralins are involved in theca differentiation in the diatom *Cylindrotheca fusiformis*[J]. *Protist*, 2000, 151(3): 263—273.
- [40] KRÖGER N, LORENZ S, BRUNNER E, et al. Self-assembly of highly phosphorylated silaffins and their function in biosilica morphogenesis[J]. *Science*, 2002, 298(5593): 584—586.
- [41] POULSEN N, SSMPE M, KRÖGER N. Biosilica formation in diatoms: characterization of native silaffin-2 and its role in silica morphogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(21): 12075—12080.
- [42] WONG PO FOO C, HUANG J, KAPLAN D L. Lessons from seashells: silica mineralization via protein templating[J]. *Trends Biotechnol*, 2004, 22: 577—585.
- [43] POULSEN N, KRÖGER N. Silica morphogenesis by alternative processing of silaffins in the diatom *Thalassiosira pseudonana*[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(41): 42993—42999.
- [44] ARMBRUST E V, BERGES J A, BOWLER C, et al. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism[J]. *Science*, 2004, 306(5693): 79—86.
- [45] PICKETT-HEAPS J D, JEREMY S, ANNA M M, et al. The cell biology of diatom valve formation[J]. *Progress in Phycological Research*, 1990, 7: 1—167.
- [46] VAN DE MEENE A M L, PICKETT-HEAPS J D. Valve morphogenesis in the centric diatom *Proboscia alata* sundstrom[J]. *Journal of Phycology*, 2002, 38: 351—363.
- [47] VRIELING E G, GIESHES W W C. Silicon deposition diatoms: control by the pH inside the silicon deposition vesicle[J]. *Journal of Phycology*, 1999, 35: 548—559.
- [48] BRZEZINSKI M A, OLSON R J, CHISHOLM S W. Silicon availability and cell-cycle progression in marine diatoms[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1990, 67: 83—96.
- [49] TAYLOWR N J. Silica incorporation in the diatom *Cosinodiscus granii* as affected by light intensity[J]. *European Journal of Phycology*, 1985, 20(4): 365—374.

- [50] EDGAR L A, PICKETT-HEAPS J D. Valve morphogenesis in the pennate diatom *Navicula cuspidata* [J]. Journal of Phycology, 1984, 20(1): 47—61.
- [51] PICKETT-HEAPS J D. Cell division and morphogenesis of the centric diatom *Chaetoceros decipiens* (Bacillariophyceae): I. Living cells [J]. Journal of Phycology, 1998, 34: 989—994.
- [52] BLANK G S, SULLIVAN C W. Diatom mineralization of silicic acid: VI. The effects of microtubule inhibitors on silicic acid metabolism in *Navicula saprophila* [J]. Journal of Phycology, 1983, 19(1): 39—44.
- [53] SCHNEPF E, DEICHGRABER G, DREBES G. Morphogenetic processes in *Attpheya decora* (Bacillariophyceae, Biddulphiineae) [J]. Plant Systematics and Evaluation, 1980, 135: 265—277.
- [54] HILDEBRAND M. Diatoms, biomineralization processes, and genomics [J]. Chemical Reviews, 2008, 108(11): 4855—4874.
- [55] ROGERSON A, DE FREITAS A S W, MCLNNES A G. Growth rates and ultrastructure of siliceous setae of *Chaetoeros gracilis* (Bacillariophyceae) [J]. Journal of Phycology, 1986, 22(1): 56—62.
- [56] MOCK T, SAMANTA M P, LVERSON V, et al. Whole-genome expression profiling of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* identifies genes involved in silicon bioprocesses [J]. PNAS, 2008, 105(5): 1579—1584.

A review on the process and mechanism of marine diatom silica structure formation

LIANG Jun-rong¹, CHEN Dan-dan¹, GAO Ya-hui¹, CHENG Jin-feng^{1,2}

(1. Key Laboratory of Ministry of Education for Coastal and Wetland Ecosystems, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Northwest Agricultural and Forest University of Science and Technology, Yangling 712100, China)

Abstract: Diatoms have different morphologies, structure complex and beautiful silica cell wall. They are one of the largest groups of silicifying organisms in the ocean. The genetic control and mechanism of this silica structure formation are a very complicated process, including silica acid transportation across biological membranes to cells, silica acid transformation inside cells, silica polymerization within silica deposition vesicle (SDV), and formation of species-specific cell wall and complex silica structure. An overview of current knowledge about the diatom silica structure formation in recent years was provided. It is focused on the detailed structure and function of silica acid transporters (SITs), three proteins associated with biomineralization—frustulins, silaffins and pleuralins, and the mode of the frustule formation inside SDV.

Key words: diatom; silica cell wall (frustule); silicon transport; biosilicification (biomineralization)