



УДК 582.22-119.2:547.458.7:577.114

ПОЛИСАХАРИДЫ ИЗВЕСТКОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ПРОЦЕСС КАЛЬЦИФИКАЦИИ

© 2001 г. М. И. Билан, А. И. Усов[#]

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,
117913, Москва, ГСП-1, Ленинский просп., 47

Поступила в редакцию 07.09.2000 г. Принята к печати 19.09.2000 г.

Рассмотрены данные о составе и строении полисахаридов различных групп известковых водорослей (в том числе известковых цианобактерий), у которых процесс отложения карбоната кальция протекает в клеточных стенках, снаружи от них или же внутри клеток. Показано, что два семейства морских водорослей – кораллиновые (*Corallinaceae*, *Rhodophyta*), где наблюдается минерализация клеточных стенок, и кокколитофорида (*Coccolithophoraceae*, *Prymnesiophyta*=*Haptophyta*), где протекает внутриклеточная кальцификация – содержат необычные полисахариды, которые, по-видимому, непосредственно участвуют в процессе кальцификации.

Ключевые слова: полисахариды; кальцификация; известковые водоросли; *Corallinaceae*; *Coccolithophoraceae*.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.

1. Внеклеточная и межклеточная кальцификация.

1.1. Внеклеточная кальцификация.

1.2. Межклеточная кальцификация.

1.3. Кальцификация чехла у зеленых водорослей.

1.4. Кальцификация чехла у сине-зеленых водорослей (цианобактерий).

2. Кальцификация клеточных стенок.

2.1. Кальцификация у кораллиновых водорослей.

2.2. Кальцификация у пейсонелиевых водорослей.

3. Внутриклеточная кальцификация.

3.1. Полисахариды кокколитов *Pleurochrysis carterae*.

3.2. Полисахариды кокколитов *Emiliania huxleyi*.
Заключение.

ВВЕДЕНИЕ

Образование и накопление минеральных веществ у живых организмов широко распространено в природе. Около 60 различных минералов образуется в биосфере под действием тех или иных биологических процессов [1]. Механизмы

минерализации варьируют у разных групп организмов в царствах бактерий, грибов, растений и животных. В одних случаях живые объекты лишь косвенно вовлечены в процесс отложения минеральных солей, меняя отдельные параметры окружающей их среды. У других же организмов существуют специальные метаболические пути, приводящие к накоплению неорганических соединений.

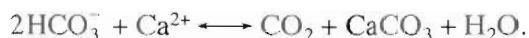
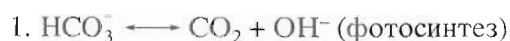
Примерно половина биогенных минералов являются солями кальция, именно поэтому процессы кальцификации изучаются наиболее широко. В царстве растений явление кальцификации особенно распространено среди различных групп водорослей. При этом они накапливают в основном карбонат кальция, отсюда и их название – известковые.

Карбонат кальция откладывается в водорослях в виде двух различных кристаллических модификаций – кальцита и арагонита. При этом арагонит чаще всего обнаруживается у морских форм, а кальцит – у пресноводных. Два исключения среди морских форм составляют, во-первых, красные водоросли (*Rhodophyta*) семейства *Corallinaceae* (порядок *Corallinales*), а, во-вторых, представители примнезиофитов (*Prymnesiophyta*=*Haptophyta*) семейства *Coccolithophoraceae* (кокколитофорида), образующие кальцит. Обычно считается, что наличие кальцита или арагонита является систематическим признаком, и в норме каждое семейство водорослей содержит лишь одну из кристаллических модификаций CaCO_3 [2]. Недавно, однако, было показано на примере красной водоросли *Pseudolithophyllum expansum* семейства *Cor-*

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 137-67-91; e-mail: usov@ioc.ac.ru).

allinaseae, что присутствие кальцита, арагонита, их смеси, а также других минорных минеральных компонентов может зависеть и от микроклиматических условий произрастания водоросли [3]. Наличие одновременно кальцита и арагонита либо их чередование в зависимости от сезона сбора наблюдали и среди красных водорослей рода *Galaxaura* (порядок Nemaliales) [4].

Обызвествление таллома (т.е. вегетативного тела) водоросли может нести различную функциональную нагрузку. Биохимический смысл отложения CaCO_3 , как предполагают, заключается в нейтрализации избытка ионов OH^- , образующихся в результате поглощения HCO_3^- из окружающей среды при фотосинтезе (например, у харовых водорослей (Charophyceae) [5] и кокколитофорид [6]):



В то же время известковый скелет может служить защитой от выедания водорослей рыбами и беспозвоночными. И, наконец, он выполняет механическую функцию, позволяя отдельным видам обитать в условиях интенсивного волнового воздействия.

Процесс кальцификации у живых организмов протекает в органическом матриксе, который в большинстве случаев представляет собой набор макромолекул полианионного характера [7]. У животных (кости позвоночных, раковины моллюсков и т.д.) это в основном белки и гликопротеины. У водорослей кристаллы карбоната кальция во многих случаях ассоциированы с полианионами, которые имеют полисахаридную природу и, по всей вероятности, оказывают влияние на тот или иной тип кальцификации.

По одной из классификаций существует три принципиально различных типа кальцификации у водорослей [8]:

1. Внеклеточная и межклеточная кальцификация;
2. Кальцификация клеточных стенок;
3. Внутриклеточная кальцификация.

Именно в таком порядке будет удобно рассмотреть литературные данные, касающиеся полисахаридов известковых водорослей.

1. ВНЕКЛЕТОЧНАЯ И МЕЖКЛЕТОЧНАЯ КАЛЬЦИФИКАЦИЯ

1.1. Внеклеточная кальцификация

Такой тип кальцификации наблюдается у некоторых представителей пресноводных зеленых водорослей (Chlorophyta), а также у морских бурых водорослей (Phaeophyta) рода *Padina* (порядок Dictyotales) [8]. Это наиболее простой тип отложения карбоната кальция. Кристаллы кальцита (у зеленых водорослей) или арагонита (у *Padina*) образуются снаружи от клеточных стенок на поверхности водоросли и не имеют предпочтительной ориентации относительно клеточной поверхности. Какой-либо органический материал, ассоциированный с кристаллами, по-видимому, отсутствует. Предполагают, что кристаллизация CaCO_3 протекает пассивно вследствие изменения рН на поверхности клеточных стенок (локальные потоки OH^- из клеток).

1.2. Межклеточная кальцификация

Это особый случай внеклеточной кальцификации: CaCO_3 откладывается также снаружи от клеточных стенок, но между клетками. Такая кальцификация характерна, во-первых, для представителей двух порядков зеленых водорослей, Caulerpales и Dasycladales. Среди них наиболее изучен род *Halimeda* (Caulerpales), представители которого имеют, по-видимому, самую высокую среди всех известковых водорослей степень минерализации талломов – порядка 97% сухого веса [9]. Кристаллы арагонита откладываются у этих растений в форме иголок и отделены от окружающей среды слоем клеток [8]. У *Halimeda cylindracea* начальные этапы кальцификации протекают среди фибрилл наружного слоя клеточных стенок. Гистохимические исследования показали, что этот слой имеет полисахаридную природу с небольшим количеством белкового компонента [10]. Авторы не обнаружили, тем не менее, какого-либо органического материала, непосредственно окружающего кристаллы арагонита. В то же время у вида *H. incrassata* все-таки было показано наличие органического матрикса, который, во-первых, формируется до начала кристаллообразования, во-вторых, служит средой для роста кристаллов, и, в-третьих, впоследствии окружает уже сформировавшиеся кристаллы арагонита [11]. Что представляет собой этот матрикс, осталось невыясненным. Наконец, из *H. opuntia* был выделен комплекс водорастворимых сульфатированных полисахаридов, имеющих в своем составе уроновые кислоты [12]. При этом содержание анионных (сульфатных и карбоксильных) групп в полимерах было намного ниже, чем у известных полисахаридов из известковых зеленых водорослей. Более подробно, к сожалению, полисахариды из *H. opuntia*

не исследовались. Была продемонстрирована лишь их способность связывать ионы Ca^{2+} , что является закономерным следствием присутствия в их составе анионных групп и предполагает их возможное участие в процессе кальцификации [13]. Необходимость же протекания процесса фотосинтеза для отложения кристаллов карбоната кальция у *Halimeda* доказана многочисленными исследованиями [8, 14].

Межклеточная кальцификация характерна и для некоторых красных водорослей порядка *Nemaliales*. У представителей рода *Liagora* кристаллы арагонита расположены в межклеточном пространстве, не образуя какую-либо организованную структуру. У водорослей рода *Galaxaura* минерализация также межклеточная, но небольшая часть карбоната кальция наблюдается и в клеточной стенке, кроме того, кристаллы арагонита (или кальцита) организованы в небольшие пучки. Исследования начальных этапов кальцификации у *Galaxaura fastigiata* методом электронной микроскопии показали, что процесс отложения CaCO_3 начинается в молодых тканях водоросли вблизи апикальной меристемы в межклеточном пространстве [15]. Это пространство заполнено фибриллярным материалом, на фоне которого заметны многочисленные электроноплотные частицы (40–200 нм в диаметре). Авторы предполагают (ссылаясь на свои неопубликованные данные о выделении из *G. fastigiata* необычного полисахарида, имеющего в своем составе сульфатные и карбоксильные группы), что фибриллярный материал имеет полисахаридную природу, а частицы представляют собой места инициации кристаллообразования.

Известно, что по полисахаридному составу водоросли порядка *Nemaliales* сильно отличаются от представителей красных водорослей других порядков. В частности, в качестве матричных полисахаридов они синтезируют сульфатированные маннаны, а не сульфатированные галактаны, характерные для подавляющего большинства красных водорослей. Среди известковых представителей этого порядка, с точки зрения полисахаридного состава, исследованы *Liagora valida* и *Galaxaura squalida*. Так, из *L. valida* был выделен сульфатированный ксиломаннан, имеющий в основе молекулы линейную цепь из 1 → 3-связанных остатков α -D-маннопиранозы, к которой в положения 2 (реже 6) присоединены остатки β -D-ксилопиранозы, 3-O-метил- β -D-ксилопиранозы или короткие цепи из остатков β -D-ксилопиранозы с 1 → 4-связями между ними; сульфатные группы в полисахариде занимают положения 6 и 4 главной цепи [16]. У *G. squalida* показано присутствие ксилогалактоманнана, главная цепь которого построена из 1 → 3-связанных остатков β -D-маннопиранозы, а все заместители (сульфат, D-ксилоза (предположительно α -конфигурации), а так-

же L-галактоза) расположены в положениях 4 главной маннановой цепи [17]. Какие-либо данные о связи выделенных из *L. valida* и *G. squalida* сульфатированных ксиломаннана и ксилогалактоманнана с процессом кальцификации у этих водорослей в литературе отсутствуют. Более того, известно, что известковые представители порядка *Nemaliales*, например, *Nemalion vermiculare* [18] и *Nothogenia fastigiata* (= *Chaetangium fastigiatum*) [19], также синтезируют сульфатированные ксиломаннаны, сходные по строению с таковыми у *L. valida*. Эти факты свидетельствуют в пользу того, что сульфатированные маннаны известковых немалиевых водорослей не участвуют в процессе кальцификации. Вопрос о природе фибриллярного материала, заполняющего межклеточное пространство в тканях этих растений, остается открытым.

1.3. Кальцификация чехла у зеленых водорослей

У некоторых представителей зеленых водорослей порядков *Caulercales*, *Zygnematales* и *Dasycladales* отложения арагонита накапливаются также снаружи от клеточной стенки, однако, внутри специализированной оболочки – чехла. Пучки кристаллов организованы в слои, параллельные волокнам этой пористой многослойной оболочки, имеются включения оксалата кальция. Химический состав чехла у большинства видов неизвестен. Неясна также его роль в процессе кальцификации. Возможно, он служит лишь барьером, препятствующим диффузии HCO_3^- в окружающую среду, но не исключено прямое участие чехла в процессе инициации кристаллообразования.

Интересным примером этого типа кальцификации является род *Acetabularia* (*Dasycladales*). Диплоидная стадия у рода *Acetabularia* представлена одной гигантской клеткой, внешне дифференцированной на “ножку” и “шляпку”. В одном из первых сообщений об углеводном составе этих водорослей [20] указывалось на различающиеся соотношения моносахаридов в гидролизатах “ножек” и “шляпок” у *A. mediterranea*. Поэтому Персивал и Сместад [21], исследуя полисахаридный состав другого вида – *A. crenulata*, проводили раздельную экстракцию полисахаридов из этих частей водоросли. Полная структура водорастворимых кислых полисахаридов, выделенных из *A. crenulata*, не была установлена. Тем не менее авторы показали присутствие как в “ножках”, так и в “шляпках” этой водоросли полидисперсного набора высоко-разветвленных полисахаридов, имеющих принципиально сходное строение и лишь незначительные различия в соотношении моносахаридных остатков в их составе. Все они содержат остатки 3-связанной 4-сульфатгалактозы (главный компонент), 3-связанной 6-сульфатгалактозы, 2-связан-

ной *L*-рамнозы, а также 4-*O*-метилгалактозы и ксилозы. Концевые положения разветвленных полимеров занимают *D*-глюкуроновая кислота, галактоза и рамноза, при этом остатки глюкуроновой кислоты присоединены как к рамнозе, так и к галактозе. В литературе отсутствуют какие-либо данные о возможной роли этих полисахаридов в процессе кальцификации водоросли *A. crenulata*. Неизвестен также полисахаридный состав других видов водорослей рода *Acetabularia*. Более того, не проводилось каких-либо систематических исследований состава структурных полисахаридов родственных ацетабулярии водорослей, относящихся к порядку *Dasycladales*; известно лишь, что в качестве запасных полисахаридов они синтезируют инулиноподобные фруктаны [22], а не глюканы, как все остальные зеленые водоросли. Поэтому нет возможности для сравнения полисахаридов, выделенных из *A. crenulata*, с полисахаридами близкородственных, но известкововых видов зеленых водорослей.

У водорослей рода *Acetabularia* кальцифицируются не только диплоидные растения, но также и репродуктивные гаплоидные образования – цисты. На примере *A. mediterranea* было показано, что стенки цист в качестве одного из структурных полисахаридов содержат целлюлозу [23]. В то же время диплоидная стадия водоросли в качестве аналогичного полимера синтезирует β -1 \rightarrow 4-маннан. Эти факты, однако, вряд ли имеют какое-либо отношение к процессу кальцификации.

1.4. Кальцификация чехла у сине-зеленых водорослей (цианобактерий)

Особый тип внеклеточной кальцификации наблюдается у некоторых представителей сине-зеленых водорослей (Cyanophyta). Эти организмы относятся к царству бактерий, но традиционно рассматриваются в группе водорослей. Отложение карбоната кальция у них происходит внутри или на поверхности слизистого чехла, который окружает клетку водоросли или многоклеточную колонию [8, 24, 25]. Пресноводные цианобактерии откладывают магниевый кальцит (CaCO_3 с небольшим количеством MgCO_3). В морских представителях сине-зеленых водорослей обычно обнаруживают арагонит, причем в данном случае скопления этих водорослей способны не только запасать карбонат кальция, но также задерживать осадочные карбонаты, формируя со временем макроскопические структуры – строматолиты [24, 26].

Известно, что хотя обычно кальцифицируются вполне определенные виды цианобактерий, представители ни одного из них не являются облигатно кальцифицирующимися организмами. По-видимому, какие-то внешние условия также важны

для процесса отложения карбоната кальция. В частности, было показано, что кальцификация на поверхности некоторых сине-зеленых водорослей происходит только в присутствии живых бактерий других групп [27]. Более того, в лабораторных экспериментах, равно как и в природе, скопления отмерших сине-зеленых водорослей минерализовались гораздо быстрее и интенсивнее, чем живые клетки водорослей. Таким образом, сопутствующие бактерии выступают своеобразным катализатором процесса кальцификации цианобактерий, приводящего в конечном счете к образованию строматолитов. Необходимость присутствия сапрофитных микроорганизмов на (в) чехлах сине-зеленых водорослей для процесса кальцификации предполагают и другие авторы [25, 28]. Играют ли здесь роль полимерные вещества клеточных покровов этих бактерий или же их жизнедеятельность приводит к некоторой деградации чехлов сине-зеленых водорослей, что как-то способствует кальцификации, остается неясным. Вероятно, кальцификация является побочным процессом жизнедеятельности сине-зеленых водорослей и связана с защелачиванием окружающей среды при фотосинтезе [29], вследствие чего живые цианобактерии стараются каким-то образом ограничить минерализацию поверхности их клеток. С другой стороны, в водоемах с изначально высокими значениями pH (щелочные соленые озера) фотосинтетическая фиксация CO_2 может и не иметь первостепенного значения для кальцификации [30].

Тем не менее, когда кальцификация у цианобактерий все же имеет место, она связана со слизистым чехлом. Цианобактерии формируют очень сложно организованные клеточные покровы [31]. Снаружи от клеточной стенки, имеющей в общих чертах такое же строение, как и у граммотрицательных бактерий, обычно последовательно располагаются дополнительные слои – чехол и капсула. Капсула, кроме того, часто покрыта еще и слоем слизи. Некоторые виды цианобактерий выделяют набор полисахаридов в окружающую их среду. В связи с этим, несмотря на обилие работ по полисахаридам цианобактерий, не всегда ясно, откуда экстрагированы исследуемые авторами полимеры. С одной стороны, хотя биологами отработаны методы избирательного выделения того или иного клеточного покрова, биологические исследования обычно не идут дальше определения их моносахаридного состава. А с другой стороны, во многих химических работах, где устанавливаются структуры выделенных полимеров, не указывается их локализация в клетках.

Чехол у цианобактерий представляет собой однородный слой, примыкающий непосредственно к клеточной стенке и составляющий у разных видов от 6 до 30% общей клеточной биомассы. Выделяют его обычно центрифугированием сус-

пензии дезинтегрированных клеток в градиенте сахарозы [31]. По поводу химического состава чехлов у известковых цианобактерий известно лишь присутствие в них кислых полисахаридов. В общем случае чехлы сине-зеленых водорослей, по-видимому, имеют полисахаридно-белковую природу. Ранние ультраструктурные исследования некоторых видов цианобактерий показали, что их чехол сформирован целлюлозными фибриллами, погруженными в белковый матрикс [32]. Последующие гистохимические исследования, правда, уже других видов сине-зеленых водорослей, показали присутствие в их чехлах полисахаридов пектиновой природы [33]. У трех видов цианобактерий была также продемонстрирована способность их чехлов к связыванию ионов кальция [34].

Многочисленные исследования по моносахаридному составу чехла у различных видов сине-зеленых водорослей показали, что главным мономером обычно является глюкоза, а кроме нее обнаруживают галактозу, маннозу, арабинозу, ксилозу, рамнозу, редко фукозу и глюкозамин; присутствуют также, однако не всегда, уроновые кислоты – глюкуроновая, галактуроновая и маннуоновая [35–44]. В составе полисахаридов чехла обнаруживают сульфатные, *O*-ацетильные, *O*-метильные группы, а также циклические кеталы пировиноградной кислоты [37, 40, 42].

В одной из последних работ был проведен биохимический анализ чехла *Phormidium uncinatum* [45]. В его составе были обнаружены только нейтральные сахара (%): глюкоза – 60, галактоза – 18, ксилоза – 12, арабиноза – <5, рамноза – <5. Гистохимические тесты и рентгеноструктурный анализ показали, что фибриллы чехла представляют собой цепи гомоглюкана (близкого по строению, но неидентичного целлюлозе), имеющие поперечные шивки.

Цианобактерии – это очень обширная группа организмов, насчитывающая не менее 2000 видов. Очевидно, что чехлы разных видов цианобактерий имеют в своем составе разные типы полимеров, но пока еще недостаточно данных, позволяющих сформировать какие-либо общие представления. Достоверные же данные по строению полисахаридов (или иных полимеров), выделенных из чехлов именно известковых цианобактерий, в литературе отсутствуют.

Среди сине-зеленых водорослей существуют виды, способные пробуравливать отверстия в известняке и являющиеся важным компонентом системы биодеградации осадочных отложений [8]. Интересно, что так же, как и известковые цианобактерии, они имеют слизистый чехол, в составе которого обнаруживали кислые полисахариды. Высказывалось предположение, что он участвует в процессе растворения водорослями карбоната кальция [28, 46], однако нет никаких более по-

дробных сведений о его химическом составе. Недавно присутствие таких эндолитных цианобактерий было показано в живых известковых кораллиновых водорослях [47].

2. КАЛЬЦИФИКАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК

2.1. Кальцификация у кораллиновых водорослей

Морские красные водоросли семейства Corallinales (порядок Corallinales) широко распространены в мировом океане и являются важным элементом осадочных отложений, а также вместе с кораллами формируют рифы. Карбонат кальция в виде магнезиевого кальцита откладывается в клеточных стенках вегетативных клеток этих водорослей. Содержание CaCO_3 варьирует в зависимости от вида водоросли и может составлять 80–90% ее биомассы.

Представители семейства Corallinales имеют различные типы организации талломов. Это могут быть корковые или разветвленные членистые формы водорослей. И те, и другие внешне мало напоминают растительные организмы. Процесс кальцификации у них начинается с первыми клеточными делениями прорастающей споры, дающей начало новому растению [48]. При этом кристаллы кальцита ориентируются по направлению полисахаридных фибрилл формирующихся клеточных стенок. Клеточная стенка каждой клетки имеет две части: первичную клеточную стенку, в которой полисахаридные фибриллы и кристаллы кальцита расположены вдоль плазмалеммы (по касательной), и вторичную – где они расходятся радиально. Таким образом, предполагается, что полисахаридные фибриллы являются матриксом для процесса кальцификации. В то же время отмечена обратная корреляция между количеством продуцируемых полисахаридов и степенью минерализации таллома: у высокоминерализованных корковых форм их меньше, чем у слабоминерализованных видов. Интересен также тот факт, что у кораллиновых водорослей в норме наблюдаются некальцифицированные области таллома. Это клетки репродуктивных структур, а также сочленения веточек у членистых разветвленных форм [48, 49]. Кроме того, частичная декальцификация возникает при репаративных процессах в местах повреждения таллома водоросли. Все эти случаи (отсутствие кальцификации и декальцификация) исследователи связывают с повышенной секреторной активностью близлежащих клеток, приводящей к избыточному количеству полисахаридов в клеточной стенке. Данных, однако, слишком мало для окончательных выводов.

Многочисленные ультраструктурные исследования кораллиновых водорослей не выявили каких-либо особенностей строения их клеток (по

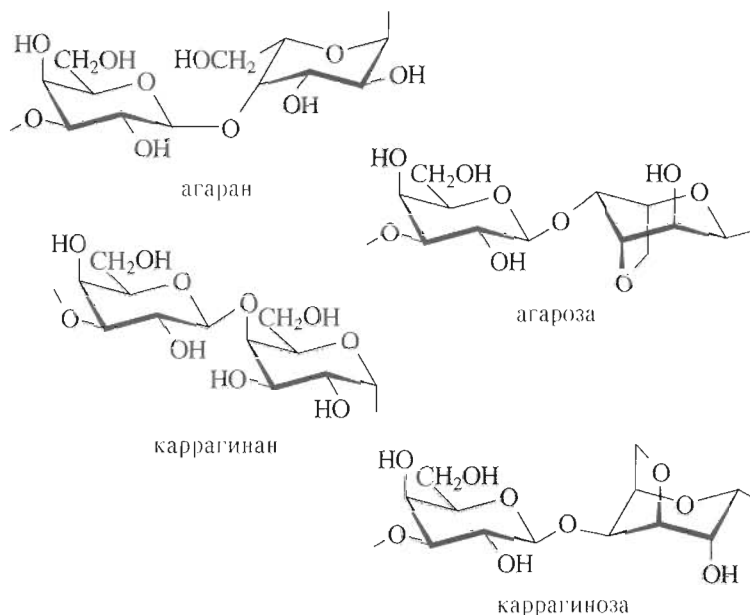


Рис. 1. Строение повторяющихся дисахаридных звеньев четырех основных групп галактанов красных водорослей.

сравнению с известковыми красными водорослями), которые могли бы приводить к кальцификации талломов *Corallinaceae*. Причины минерализации этих водорослей, вероятно, скрыты в полисахаридном составе их клеточных стенок, который, как показали химические исследования, сильно отличается от такового других групп красных водорослей.

Чтобы в дальнейшем было ясно, чем же отличается полисахаридный состав водорослей семейства *Corallinaceae*, вначале необходимо вкратце охарактеризовать полисахариды, присутствующие в большинстве представителей красных водорослей.

Главными матриксными полисахаридами в клеточных стенках большинства красных водорослей являются сульфатированные галактаны, которые представляют собой линейные полимеры, построенные из чередующихся остатков 3-связанной β -галактозы и 4-связанной α -галактозы [50]. β -Галактозный остаток принадлежит к *D*-ряду, в то время как 4-связанный α -галактозный остаток может иметь как *D*-, так и *L*-конфигурацию, а кроме того входит в состав полисахарида в виде 3,6-ангидропроизводного. Исходя из такого строения, по существующей классификации, полисахарид относят к группе каррагинанов, если остаток 4-связанной α -галактозы принадлежит к *D*-ряду, и к группе агаров – если этот остаток имеет *L*-конфигурацию. Таким образом, имея в виду наличие или отсутствие 3,6-ангидрогалактозы, мы получаем четыре родоначальных структуры: две для группы агара и две для группы каррагинана (рис. 1).

Огромное разнообразие природных галактанов обусловлено присутствием различных углеводных

и неуглеводных (сульфатные и метоксильные группы, кетальные группы пировиноградной кислоты) заместителей, которые маскируют регулярность основной цепи молекулы (рис. 2). При этом полисахарид может иметь как близкую к идеальной регулярную структуру (примером является агароза), так и представлять собой молекулярный гибрид, построенный из дисахаридных звеньев разного строения и по-разному замещенных, как в случае порфирана. Большое количество возможных вариаций структуры создает спектр молекул с различными свойствами: от полисахаридов, образующих прочные гели (агароза, некоторые каррагинаны), до полимеров, неспособных к гелеобразованию. Именно из-за гелеобразующих свойств галактаны красных водорослей имеют коммерческое значение. Их выделяют из водорослей в больших количествах и используют, главным образом, в пищевой промышленности. Накоплены обширные сведения о содержании и строении агаров и каррагинанов в представителях разных групп красных водорослей [51]. Долгое время в тени исследований оставались лишь водоросли семейства *Corallinaceae*.

Первое сообщение о полисахаридах, выделенных из представителя кораллиновых водорослей, было сделано на 5 Международном симпозиуме по водорослям в 1965 г. [52]. Тёрвей и Симпсон исследовали широко распространенный вид *Corallina officinalis*. Среди водорастворимых полисахаридов были выделены флоридный крахмал – обычный резервный глюкан красных водорослей, и своеобразный сульфатированный ксилогалактан, содержащий 61,5% галактозы (соотношение

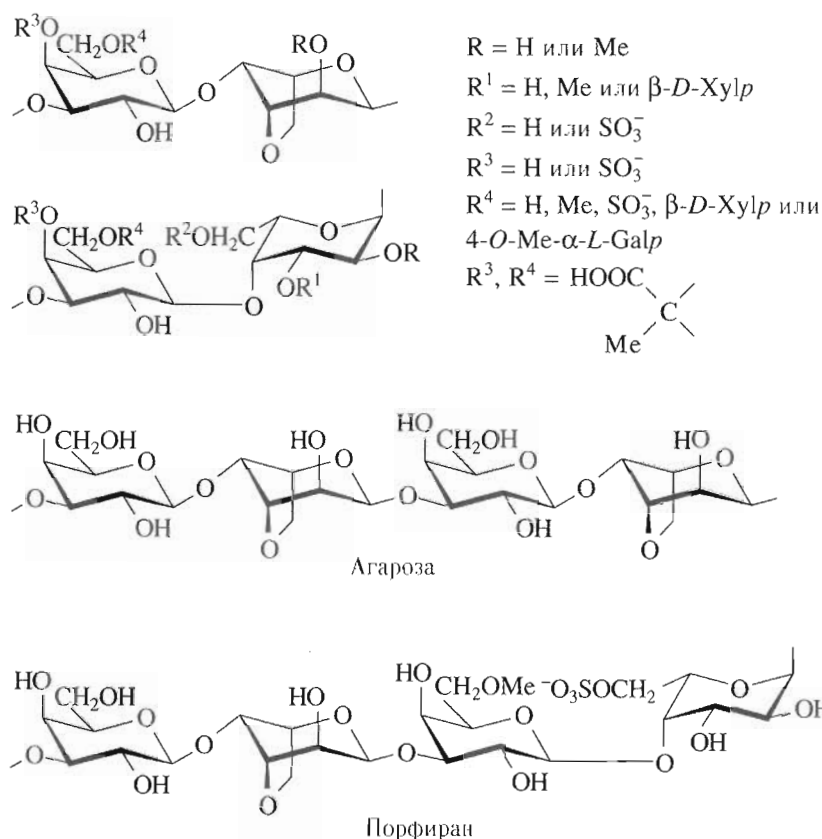


Рис. 2. Структурные особенности полисахаридов группы агара.

D/L- ~ 1 : 1), 22.7% ксилозы и 9.3% сульфата. Необычным в составе ксилогалактана было высокое содержание остатков ксилозы, не характерное для галактанов красных водорослей, и полное отсутствие остатков 3,6-ангидрогалактозы.

Структура сульфатированного ксилогалактана из *S. officinalis* была предложена позднее другими авторами [53, 54]. Они показали, что полисахарид имеет главную галактановую цепь, построенную из повторяющихся дисахаридных звеньев $[\rightarrow 4)\text{-L-Galp}(\alpha 1 \rightarrow 3)\text{-D-Galp}(\beta 1 \rightarrow)]$, т.е. является агараном, а остатки ксилозы в полимере занимают положения 6 3-связанных остатков. Сульфатные группы в полисахариде находятся в положении 6 3-связанных остатков галактозы, а также в положениях 2 и 3 4-связанных остатков галактозы. Кроме того, в составе полисахарида были найдены минорные количества четырех изомерных моно-*O*-метилгалактоз, из которых 6-*O*-метилгалактоза относилась к *D*-ряду, а 2-, 3- и 4-*O*-метилгалактозы к *L*-ряду.

Вслед за этими работами мы провели систематическое исследование полисахаридов большого набора кораллиновых водорослей. Были проанализированы 22 образца растений, относящихся к 11 видам семейства *Corallinaceae*, включая как

членистые, так и корковые формы [55]. Оказалось, что все исследованные образцы, независимо от видовой принадлежности, места и времени сбора, имеют довольно однородный полисахаридный состав. Главными нейтральными моносахаридами в гидролизатах биомассы водорослей являются глюкоза, галактоза и ксилоза, при этом галактоза и ксилоза находятся во всех образцах примерно в одинаковом соотношении, а 3,6-ангидрогалактоза полностью отсутствует. В ходе наших дальнейших исследований из трех видов кораллиновых водорослей – *Corallina pilulifera*, *Bossiella cretacea* и *Clathromorphum nereostratum* – были выделены индивидуальные сульфатированные ксилогалактаны [55–57]. Для их структурного анализа в отличие от предыдущих работ наряду с химическими методами широко использовалась спектроскопия ^1H - и ^{13}C -ЯМР [57–59]. Было обнаружено, что спектры ^{13}C -ЯМР нативных ксилогалактанов имеют очень характерный вид: хорошо разрешенными являются только сигналы остатков $\beta\text{-D}$ -ксилопиранозы, тогда как сигналы углеродных атомов главной галактановой цепи сильно уширены и из-за взаимного наложения не могут быть интерпретированы. Однако для продуктов химической модификации нативных полисахаридов, полученных в результате десульфатирования

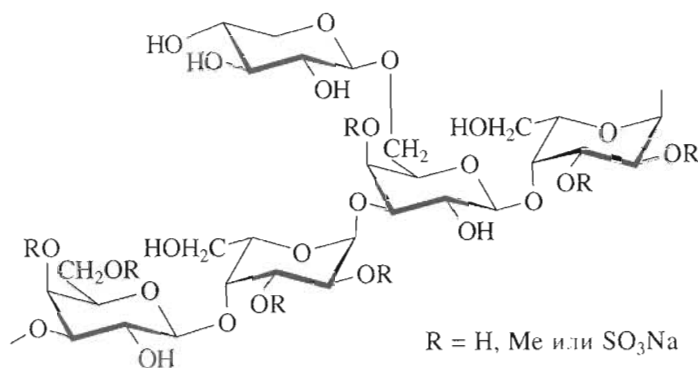


Рис. 3. Фрагмент молекулы сульфатированного ксилогалактана.

и/или периодатного окисления, спектры ¹³C-ЯМР удалось интерпретировать полностью. Спектральные и химические данные показали, что строение всех трех ксилогалактанов в целом аналогично структуре описанного выше полисахарида из *S. officinalis*; отличия заключались лишь в несколько ином расположении неуглеводных заместителей (*O*-метильных и сульфатных групп) в галактановой цепи полимеров.

Позднее японскими исследователями была установлена структура еще одного сульфатированного ксилогалактана, выделенного из кораллиновой водоросли – *Joculator maximus* [60]. Оказалось, что и этот полисахарид имеет принципиально такое же строение, что и описанные выше ксилогалактаны. Спектр ¹³C-ЯМР полисахарида, состоящий из узких сигналов C-атомов остатков β-D-ксилопиранозы и сильно уширенных сигналов C-атомов галактановой цепи (рисунок спектра авторы привели без отнесения отдельных сигналов), был очень похож на описанные ранее спектры ксилогалактанов. Отличием полимера из *J. maximus* является присутствие в составе только одного моно-*O*-метильного производного галактозы, а именно 2-*O*-метилгалактозы.

Таким образом, известковые красные водоросли семейства Corallinales синтезируют сульфатированные ксилогалактаны необычного строения (рис. 3). Эти соединения по структуре галактановой цепи являются полисахаридами группы агара, т.е. построены из чередующихся остатков 3-связанной β-D-галактопиранозы и 4-связанной α-L-галактопиранозы. Тем не менее несколько важных структурных особенностей отличает их от типичных представителей этой группы полимеров:

а) отсутствие в их составе остатков 3,6-ангидро-α-L-галактопиранозы, а также ее возможных биогенетических или химических предшественников – остатков 6-сульфата α-L-галактопиранозы;

б) своеобразное расположение неуглеводных заместителей (*O*-метильных и сульфатных групп), большая часть которых занимает положения 2

или 3 в остатках α-L-галактозы; небольшое их количество находится в положении 6 остатков β-D-галактозы. В полисахариде из *Bossiaella cretacea* сульфатировано также и положение 4 остатков β-D-галактозы;

в) присутствие в составе полисахаридов большого количества остатков β-D-ксилопиранозы, которые представляют собой единичные ответвления от галактановой цепи при C6 остатков β-D-галактопиранозы. Необходимо отметить, что столь высокое содержание ксилозы ранее не обнаруживали ни в одном полисахариде группы агара.

В 80-х годах Оказаки с сотрудниками [61] провели скрининг среди различных видов известковых морских водорослей с целью выявления в них веществ, способных связывать ионы кальция. В результате этого исследования из кораллиновой водоросли *Serraticardia maxima* было выделено вещество, охарактеризованное как альгиновая кислота [62]. Как известно, альгиновые кислоты являются линейными полимерами, построенными из остатков 1 → 4-связанных β-D-маннуроновой и α-L-гулурановой кислот (рис. 4). Эти полисахариды были впервые выделены Стэнфордом в 1883 г. из бурых водорослей (Phaeophyta) [63] и считаются специфическими компонентами клеточных стенок именно этих растений. Кроме них, альгиновые кислоты (отличающиеся, однако, по строению от таковых у бурых водорослей) синтезируют лишь некоторые бактерии [64, 65]. Выделение альгиновой кислоты из представите-

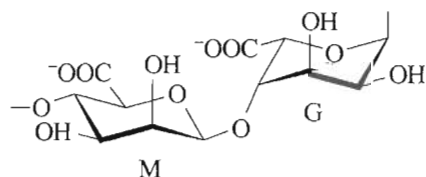


Рис. 4. Фрагмент молекулы альгиновой кислоты. М – β-D-маннуроновая кислота, G – α-L-гулурановая кислота.

ля красных водорослей явилось неожиданным открытием и было воспринято научной общественностью довольно скептически.

Учитывая способность альгинатов избирательно связываться с ионами кальция, авторы предположили их возможное участие в процессе кальцификации водоросли. Однако общеизвестно, что бурые водоросли, содержащие значительно большие количества альгинатов (свыше 30% их биомассы), кальцифицируются крайне редко. Как уже отмечалось (раздел 1.1), среди них известен единственный род *Padina*, у представителей которого кальцификация протекает, тем не менее, не в клеточных стенках, а снаружи от них. Таким образом, участие альгиновых кислот в процессе кальцификации оставалось лишь гипотезой, а самое главное, неясно было, является ли присутствие альгинатов у водорослей семейства *Corallinaceae* систематическим признаком, иными словами, синтезируются ли эти полимеры другими представителями красных водорослей этого семейства.

Исходя из этого, мы проанализировали нашу коллекцию кораллиновых водорослей на присутствие полиуронидов и обнаружили их во всех 22 образцах растений (причем количество уроновых кислот было сравнимо с количеством галактозы) [55]. Полиурониды были найдены не только у представителей членистых форм водорослей, но также и у более примитивных корковых форм. Индивидуальные полиурониды были далее выделены из пяти видов кораллиновых водорослей – *Corallina pilulifera*, *Bossiella cretacea*, *Clathromorphum nereostratum*, *Amphiroa fragilissima* и *Corallina mediterranea* [55–57]. Оказалось, что они представляют собой альгиновые кислоты, сходные по своему строению с альгинатами из бурых водорослей. Преобладание остатков α -L-гулуруновой кислоты над остатками β -D-маннуруновой (M/G ~ 0.4–0.7) свидетельствует о потенциально высоком средстве выделенных полимеров к двухвалентным катионам (особенно к ионам кальция), которое, как хорошо известно, обусловлено наличием в молекулах альгиновых кислот именно блоков из 1 → 4-связанных остатков α -L-гулуруновой кислоты [66]. Этот факт представляется очень важным для выяснения механизма кальцификации у кораллиновых водорослей, поскольку позволяет предполагать прямое участие альгинатов в этом процессе.

Таким образом, по полисахаридному составу известковые красные водоросли семейства *Corallinaceae* сильно отличаются от всех других групп красных водорослей. В качестве структурных полисахаридов они синтезируют сульфатированные ксилогалактаны необычного строения, а также альгиновые кислоты – полимеры, не характерные для красных водорослей.

Предполагается, что уникальный состав и строение полисахаридов как-то связаны с кальцификацией этих водорослей. Например, на основании гистохимических и ультраструктурных исследований водоросли *Serraticardia maxima* была установлена связь между локализацией полиуронидов и сайтов кальцификации в ее талломе [67]. Из *Corallina officinalis* была выделена полимерная фракция, которая являлась ингибитором кристаллизации кальция *in vitro* [68, 69]. Авторы предположили, что действующим началом этой фракции является белково-полисахаридный комплекс (фракция содержала 24% белка и 25% углеводов), который, однако, не был идентифицирован. Однако тот факт, что обработка этой фракции различными протеиназами не оказывала влияния на ее активность, говорит в пользу полисахаридной природы активного компонента фракции. К тому же условия экстрагирования этой фракции из биомассы водоросли (раствор гидроксида натрия) сходны с процедурой экстракции альгинатов. Таким образом, возможно, что авторы имели дело с препаратом, содержащим альгиновые кислоты. Тем более что ранее альгинаты, правда, выделенные из бурых водорослей, уже тестировали на наличие ингибирующей активности в отношении кристаллизации карбоната кальция, получив положительные результаты [70] (см. раздел 3.2).

В заключение хотелось бы отметить, что обнаружение в кораллиновых водорослях несвойственных красным водорослям альгиновых кислот может быть следствием присутствия в их талломах каких-либо симбионтных растений или микроорганизмов. Хорошо известно, что существуют так называемые эпифитные (обитающие на поверхности водоросли) и эндофитные (обитающие внутри тканей водоросли) организмы. В случае кораллиновых водорослей, поскольку их талломы сильно минерализованы, эти организмы могут быть также названы эпилитными и эндолитными. И если присутствие эпифитов (эпилитов) на поверхности водоросли часто можно зарегистрировать визуально и перед экстракцией полисахаридов очистить биомассу от обрастаний, очевидно, что обнаружение эндофитов (эндолитов) внутри таллома водоросли представляет собой более сложную задачу. Поскольку, как уже отмечалось выше, полиурониды гистохимически были зарегистрированы внутри таллома кораллиновой водоросли *Serraticardia maxima*, то, если они и синтезируются какими-либо симбионтами (или паразитами), – это скорее всего эндофитные (эндолитные) организмы. В связи с этим заслуживают внимания два сообщения. В одном из них [71] авторами впервые описано необычное заболевание кораллиновых водорослей, названное ими CLOD (*Coralline Lethal Orange Disease*). Оказалось, что в месте сбора образцов (акватория побережья Новой Зеландии) инфицировано 90–100% корал-

линовых водорослей различных видов. Авторы связывают это заболевание с присутствием в талломах водорослей микроорганизма, который, однако, не был определен. Второе сообщение [47] посвящено обнаружению в талломах нескольких видов кораллиновых водорослей эндолитной цианобактерии *Plectonema terebrans*.

Таким образом, нельзя исключить, что обнаружение альгиновых кислот в кораллиновых водорослях может быть связано с присутствием каких-либо эндолитных микроорганизмов. Тем не менее тот факт, что полиурониды были обнаружены нами во всех 22 образцах (11 видов) кораллиновых водорослей, собранных к тому же в разных частях Мирового океана, позволяет с большой вероятностью считать присутствие альгиновых кислот систематическим признаком семейства *Corallinaceae*. И даже если является верным предположение о том, что альгиновые кислоты синтезируются не в клетках водорослей, а в клетках их симбионтов, то, очевидно, присутствие этих симбионтов также должно быть признаком, характерным для всего семейства кораллиновых.

2.2. Кальцификация у пейсонелиевых водорослей

Кальцификация клеточных стенок наблюдается еще у одной группы морских красных водорослей – представителей семейства *Peyssonneliaceae* [8, 72]. Это сравнительно малоизученное семейство. Известно, однако, что среди пейсонелиевых водорослей встречаются и известковые виды. Данные о кальцифицирующихся растениях этого семейства в основном касаются водорослей рода *Peyssonnelia*. Электронно-микроскопические исследования показали присутствие кристаллов арагонита среди фибриллярного материала клеточных стенок этих растений [73]. Полисахаридный состав представителей семейства пейсонелиевых неизвестен.

Интересно отметить, что у некоторых известковых водорослей семейства *Peyssonneliaceae* наряду с кальцификацией клеточных стенок встречается и так называемая гипобазальная кальцификация [72]. Это по сути внеклеточное отложение карбоната кальция, при котором под коркообразным талломом водоросли (между ризоидами) формируется как бы его дополнительный слой, состоящий из кристаллов арагонита.

3. ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ КАЛЬЦИФИКАЦИЯ

Одноклеточные водоросли, относящиеся к семейству *Coccolithophoraceae* (*Prymnesiales*, *Prymnesiophyta*=*Haptophyta*) – кокколитофориды – образуют на поверхности своих клеток своеобразный панцирь, состоящий из отдельных известковых

чешуек, называемых кокколитами. Это, безусловно, самый необычный тип кальцификации, поскольку процесс образования кокколитов протекает внутри клеток этих водорослей. Жизненный цикл у большинства видов кокколитофорид изучен недостаточно, известно, однако, что образование известковых кокколитов происходит лишь на некоторых определенных его стадиях. Например, у рода *Pleurochrysis* наблюдается стадия развития, характеризующаяся неподвижными клетками с неминерализованными чешуйками на их поверхности. Наоборот, *Emiliania huxleyi* продуцирует органические чешуйки на стадии подвижных клеток, в то время как неподвижные планктонные клетки этой водоросли формируют кокколиты. Некоторые виды кокколитофорид на определенных стадиях жизненного цикла могут продуцировать как неминерализованные чешуйки, так и кокколиты одновременно [74].

Кокколиты имеют весьма сложную структуру. Они формируются внутриклеточно в специальных везикулах; зрелые кокколиты выталкиваются наружу через плазмалемму и встраиваются в коккосферу. Карбонат кальция при образовании кокколитов обычно кристаллизуется в виде кальцита. Различают довольно просто устроенные голококколиты, состоящие из многочисленных, но одинаковых по форме и размеру кристаллических элементов, и более сложные гетерококколиты, имеющие в своем составе морфологически различные субчастицы (пластинки, трубочки, палочки, кольца и т.д.) [75]. Как правило, для каждого вида характерен лишь один тип кокколитов, однако есть и исключения. Например, *Coccolithus pelagicus* в зависимости от стадии жизненного цикла продуцирует как гетерококколиты, так и голококколиты (из-за этого гетерококколитная стадия вначале была описана как отдельный вид *Crystallolithus hyalinus*).

У большинства изученных видов кокколитофорид (на самом деле, более или менее детально кокколитогенезис изучен лишь у двух видов – *Pleurochrysis carterae* и *E. huxleyi*) кокколиты формируются на основе плоских чешуек органической природы, которые являются жесткой матрицей для будущих зрелых минерализованных чешуек; заметное исключение составляет лишь вид *E. huxleyi*, о котором будет сказано далее. Матрица кокколита формируется в цистернах аппарата Гольджи. Здесь же, как было показано для нескольких видов кокколитофорид, синтезируются кислые полисахариды, которые впоследствии покрывают поверхность зрелого кокколита и, вероятно, принимают какое-то участие в его формировании [76, 77].

3.1. Полисахариды кокколитов *Pleurochrysis carterae*

Недавно из кокколитов *P. carterae* (штамм СОССО II) были выделены 3 кислых полисахарида (PS-1, PS-2, PS-3) [78]. Полисахариды экстрагировали непосредственно из отделенных от клеток кокколитов, что доказывало ассоциацию этих полимеров именно с кокколитами.

По моносахаридному составу PS-1 представлял собой полиуронид, состоящий из остатков глюкуроновой и галактурановой кислот в молярном соотношении 1 : 3 и содержащий также минорные количества нейтральных моносахаридных остатков (галактозы, рамнозы, арабинозы). Полисахарид PS-3 состоял из остатков галактурановой кислоты, маннозы, глюкуроновой кислоты и ксилозы в соотношении 1 : 0.53 : 0.16 : 0.09; кроме того, PS-3 оказался единственным выделенным из кокколитов сульфатированным полисахаридом. Структуры PS-1 и PS-3 не исследовались.

Полисахарид PS-2 оказался довольно интересным в структурном отношении. Глюкуроновая и галактурановая кислоты в соотношении 10 : 1 были единственными углеводными компонентами этого полимера, но составляли лишь 50% его массы. Оказалось, что полисахарид PS-2 состоит из *D*-глюкуроновой, *мезо*-винной и глиоксиловой кислот в эквимольном соотношении (минорные количества остатков галактурановой кислоты авторы не учитывали) и имеет повторяющееся звено:

[\rightarrow 4)GlcA(β 1 \rightarrow 2)*мезо*-тарtrat(3 \rightarrow 1)глиоксилат(1-) (рис. 5).

Осталось невыясненным, однако, является ли присутствие в гидролизате PS-2 минорного количества галактурановой кислоты следствием недостаточной очистки препарата, или остатки этого мономера действительно входят в состав полисахарида.

PS-2, безусловно, имеет уникальный состав и строение. Ранее полисахариды такого типа не обнаруживали ни в растительных, ни в животных организмах. Авторы предполагают, что биосинтез PS-2 включает в себя постполимеризационный процессинг предшественника этого полисахарида. Предшественником может быть полиуронид, построенный из 1 \rightarrow 4-связанной *D*-глюкуроновой кислоты или из 1 \rightarrow 4-связанных

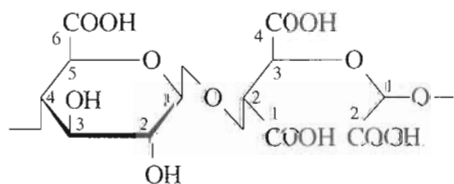


Рис. 5. Повторяющееся звено полисахарида PS-2 из *P. carterae* [78].

чередующихся остатков глюкуроновой и маннурановой кислот. Ферментативное окислительное расщепление связи C2–C3 у каждого второго моносахаридного остатка приводит к появлению PS-2, имеющего четыре отрицательно заряженные карбоксильные группы на каждое повторяющееся звено.

Необходимо отметить, что в литературе существует более раннее сообщение о полисахаридах, ассоциированных с кокколитами *P. carterae* [79]. Авторы исследовали другой штамм этой водоросли и изолировали из кокколитов два кислых сульфатированных полисахарида, имеющих совершенно иной состав, чем полисахариды PS-1, PS-2, PS-3. Один из выделенных полисахаридов состоял из галактурановой кислоты, рамнозы, арабинозы, галактозы, фукозы и глюкозы в молярных соотношениях 14.9 : 2.3 : 1 : 1 : 0.8 : 0.8. В состав второго полимера входили: галактурановая, глюкуроновая и идуроновая кислоты в соотношении 2.4 : 1.1 : 1.0. Кроме того, оба полисахарида содержали примерно 4% сульфатных групп. Моносахаридный состав определялся методом ГЖХ после кислотного метанолиза полимеров, но, поскольку гликозидные связи урановых кислот расщепляются лишь в достаточно жестких условиях, выбранный авторами метод определения моносахаридного состава не вполне подходит для получения количественных характеристик, особенно применительно ко второму полисахариду, являющемуся полиуронидом. Структуры полисахаридов в данной работе не исследовались, тем не менее, мы можем видеть, что полисахаридные составы двух разных штаммов *P. carterae* сильно отличаются друг от друга.

На примере *P. carterae* (штамм СОССО II) были продемонстрированы некоторые особенности процесса формирования кокколитов [80, 81]. Было показано, что полисахариды PS-1 и PS-2 синтезируются в цистернах аппарата Гольджи, затем они захватывают ионы кальция, преобразовываясь при этом в дискретные частицы размером 25 нм (так называемые кокколитосомы). Эти частицы транспортируются к везикулам, где находится органическая заготовка будущего кокколита, причем это происходит до начала минерализации. Таким образом, ионы кальция попадают в кокколитообразующие везикулы только через эндомембранные системы и в составе полимеров. Остается неясным, каким образом кальций высвобождается из полисахаридов для кристаллообразования. Не подтвердилось предположение о том, что это происходит за счет деградации полисахаридов, поскольку ими в дальнейшем оказывается покрыта минеральная фаза зрелого кокколита.

В лабораторных культурах известны три разных штамма *P. carterae*, у которых уровень продукции кокколитов значительно снижен (состав-

ляет 5% уровня штаммов дикого типа) [82]. Интересно, что все три штамма по каким-то причинам не способны к синтезу полисахарида PS-2. Получается, что именно PS-2 влияет на уровень минерализации у этого вида кокколитофорид. Полагают, что это происходит либо за счет регулирования этим полимером количества ионов кальция, доступных для минерализации, либо за счет увеличения им уровня кристаллизации кальция, либо же за счет обоих процессов. В то же время PS-2 не влияет на морфологию формирующихся кристаллов, поскольку кокколиты, которые все же синтезируются в небольшом количестве мутантными штаммами, по размерам и структуре не отличаются от кокколитов нормальных штаммов *P. carterae*.

В недавней работе по структуре и кристаллографии кокколитов у *P. carterae* был снова затронут вопрос о возможном участии в процессе их образования полисахаридов [83]. Два кислых полисахарида (PA и PB) были выделены из кокколитов. Структура полисахаридов осталась за рамками исследования, однако есть основания полагать, что полисахариды PA и PB аналогичны полисахаридам PS-1 и PS-2. Авторы продемонстрировали сильную ингибирующую активность PA и PB на процесс кристаллизации карбоната кальция *in vitro*. Такого рода активность этих полимеров может иметь регуляторное значение при формировании кокколитов (см. раздел 3.2.).

Пока еще остается не до конца ясным вопрос о химическом составе неминерализованных органических чешуек, являющихся заготовками для формирования кокколитов. В 70-х годах было опубликовано несколько работ, посвященных исследованию органических чешуек *P. scherffellii* [84–87]. Авторы изучали этот вид водоросли именно на той стадии жизненного цикла, когда формируются лишь неминерализованные чешуйки (позднее оказалось, что *P. scherffellii* является неминерализованной стадией в жизненном цикле *Hymenomonas carterae*, который в свою очередь недавно переименован в *P. carterae*). Было показано, что чешуйки формируются в аппарате Гольджи. Каждая из этих чешуек состоит из двух слоев микрофибрилл, погруженных в аморфный матрикс. Наружный слой представлен концентрически расположенными фибриллами, в то время как внутренний (обращенный к поверхности клетки) слой состоит из радиального расходящегося фибрилл. В некоторых чешуйках внутренний слой был сильно уменьшен или даже вовсе отсутствовал.

На основании моносахаридного состава, данных ¹H-ЯМР, рентгеноструктурного анализа, а также различных гистохимических тестов был сделан вывод, что наружный слой концентрических фибрилл представлен целлюлозой. Кроме того, в составе этих фибрилл был обнаружен белко-

вый компонент, который, по мнению авторов, ковалентно присоединен к целлюлозе, поскольку обнаруживался даже после жесткой щелочной обработки фибрилл. Соотношение целлюлоза/белок равнялось примерно 2 : 1. Главными мономерами белка были серин и глицин. Обработка фибрилл наружного слоя чешуек такими ферментами, как целлюлаза, лизоцим, трипсин и проназа, не приводила к деградации чешуек.

В составе полисахаридов радиально расположенных фибрилл, а также аморфного матрикса были обнаружены рибоза, глюкоза, галактоза, арабиноза и фукоза.

Интересно, что представители семейства Rhizopneusiales, относящегося к тому же порядку (Rhizopneusiales), что и кокколитофориды, всегда, независимо от стадии жизненного цикла, синтезируют только неминерализованные органические чешуйки. У *Chrysochromulina chiton*, к примеру, эти чешуйки имеют сходное строение с чешуйками *P. scherffellii*, и также состоят из фибриллярного материала, погруженного в аморфный матрикс [88]. В составе чешуек, однако, больше белковых компонентов (65%), чем углеводных (33%). Показано, что фибриллы представляют собой цепи (β1 → 4)-глюкана, кроме того, из чешуек были выделены два кислых полисахарида и один нейтральный полисахарид, содержащий большое количество остатков рибозы.

3.2. Полисахариды кокколитов *Emiliania huxleyi*

Кокколиты *E. huxleyi* не имеют матрицы для своего образования, хотя они также формируются в специальных везикулах. К кокколитообразующей везикуле примыкает специальная структура из связанных между собой мембранных каналов – так называемое сетчатое тело (reticular body) [75, 89]. Сама же везикула тесно связана с поверхностью ядра клетки и, по-видимому, берет начало от эндоплазматического ретикулума. Перед началом минерализации везикула приобретает форму будущего кокколита и заполняется органическим матриксом [90]. Было показано, что формирование матрикса и минерализация чешуйки происходят одновременно [91]. Каждый кристалл кальцита, покрытый органическим материалом, формирует один из элементов кокколита (их примерно 30–40 штук на 1 кокколит). Сформировавшийся кокколит также окутан органическим материалом. Интересно, что этот органический чехол кокколита сохраняется даже в ископаемых образцах кокколитофорид [92].

Что же представляют собой органические вещества, ассоциированные с кокколитами *E. huxleyi*? По крайней мере частично они имеют полисахаридную природу. Серия работ группы исследователей [92–95] посвящена установлению

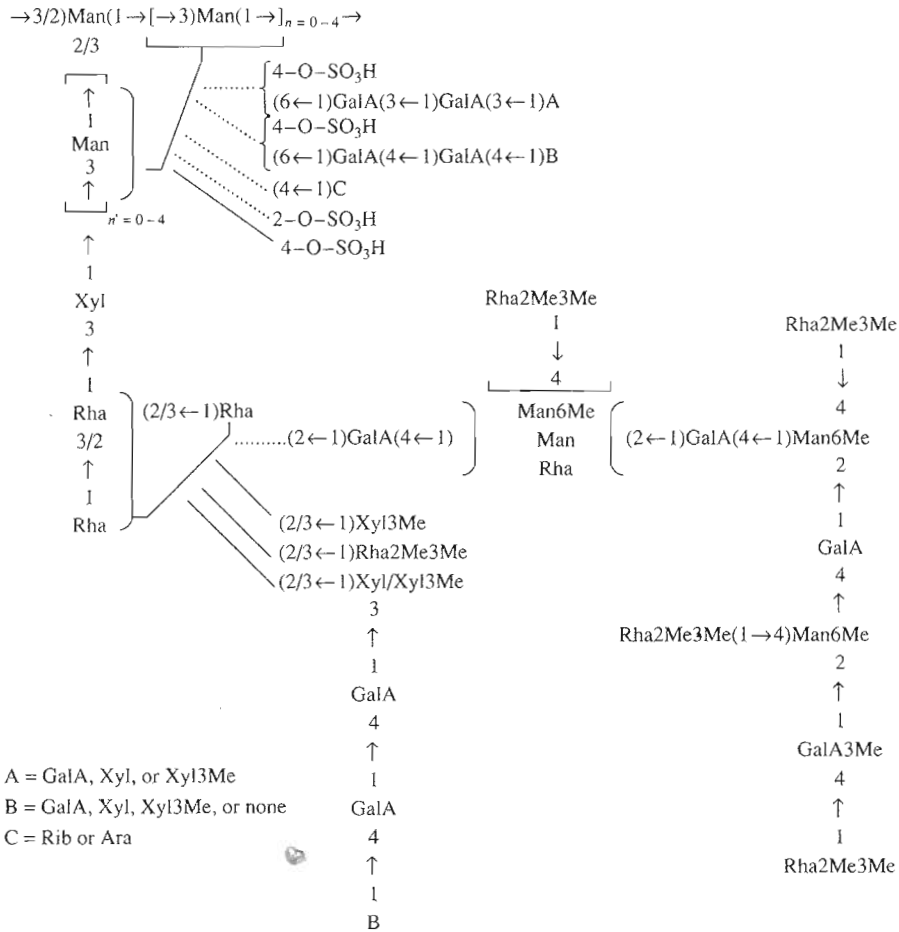


Рис. 6. Предполагаемая структура повторяющегося звена полисахарида, ассоциированного с кокколитами *E. huxleyi* [95]. Точками обозначены связи фрагментов, молярное содержание которых <1.

строения кислого метилированного полисахарида, выделенного из кокколотов *E. huxleyi* (штамм 92). В полисахариде, выделенном из кокколотов водоросли, найдено 14 различных моносахаридов, а именно, *D*-манноза, *L*-манноза, *D*-галактуроновая кислота, *D*-рибоза, *D*-ксилоза, 2,3-ди-*O*-метил-*L*-рамноза, 6-*O*-метил-*D*-манноза, 6-*O*-метил-*L*-манноза, 3-*O*-метил-*D*-ксилоза, *L*-арабиноза, *L*-галактоза, *D*-глюкоза, 3-*O*-метил-*D*-галактуроновая кислота, *L*-рамноза; кроме того, полимер имеет в своем составе сульфатные группы. Проведенные исследования позволили авторам лишь предположить частичную структуру повторяющегося звена полисахарида, ассоциированного с кокколитами *E. huxleyi* (штамм 92) (рис. 6). И это не удивительно, поскольку он представляет собой один из сложнейших углеводных биополимеров, известных в настоящее время.

Позднее другой группой исследователей был проанализирован моносахаридный состав полисахаридов, выделенных из трех других штаммов *E. huxleyi* – A92, L и 92D [96]. Полисахариды, ассоциированные с кокколитами штаммов A92 и L, по

составу были сходны с полисахаридом кокколотов штамма 92. Однако полисахарид из штамма 92D имел в своем составе значительно меньше метилированных сахаров и рибозы и, наоборот, большие количества остатков рамнозы и галактозы, а, кроме того, содержал 4% белка. Структурные исследования полисахаридов не проводились. Интересно, что штаммы 92, A92 и L формируют на поверхности своих клеток один слой кокколотов, в то время как коккосфера клеток у штамма 92D состоит из нескольких слоев. Не исключено, что это как-то связано с обнаруженными отличиями в составе полисахаридов этих штаммов *E. huxleyi*.

Много работ посвящено изучению свойств полисахарида из *E. huxleyi* и его предполагаемой роли в процессе образования клетками водоросли кокколотов. Эксперименты *in vitro* показали, что полисахарид, выделенный из кокколотов штамма A92, способен оказывать ингибирующее воздействие на процесс осаждения кристаллов карбоната кальция из раствора, содержащего хлорид кальция и бикарбонат натрия [70]. Несмотря на

то что полимер имеет в своем составе два типа отрицательно заряженных групп (карбоксильные и сульфатные), именно остатки уроновых кислот очень важны для его функционирования. Этот вывод был сделан на основании того, что десульфатированный полисахарид оказывает такой же эффект, что и нативный, в то время как полисахарид с восстановленными карбоксильными группами практически не влияет на осаждение кристаллов карбоната кальция. При этом ингибирование процесса кристаллизации происходит не за счет захвата полимером ионов кальция, поскольку в эксперименте их концентрация в растворе в 2000 раз превышала концентрацию Ca^{2+} -связывающих сайтов в молекуле. Предполагают поэтому, что полисахарид имеет более высокое сродство к поверхности кальцийсодержащих кристаллов, нежели к свободным ионам кальция в растворе.

Основываясь на предположении о важной роли карбоксильных групп в ингибировании кристаллизации карбоната кальция, авторы исследовали также влияние альгината (альгиновой кислоты) и полигалактуроновой кислоты на этот процесс. Оба этих полимера в отличие от полисахарида из *E. huxleyi* построены исключительно из остатков уроновых кислот; альгинат, как уже было упомянуто, содержится в известковых кораллиновых водорослях, хотя более известен как главный полисахарид бурых водорослей, тогда как полигалактуронат – характерный компонент пектиновых веществ высших наземных растений. И альгинат, и полигалактуроносовая кислота в эксперименте ингибировали кристаллизацию карбоната кальция, однако, для достижения одинакового эффекта требовалось использование гораздо большей (20-кратной) концентрации полигалактуроносовой кислоты, в то время как альгинат работал в той же концентрации, что и полисахарид из кокколитов *E. huxleyi*. В более позднем исследовании [97] было показано, что различные карбоксилсодержащие полимеры, в том числе альгинат натрия (Fluka), способны также ингибировать образование кристаллов пирофосфата кальция.

Функционирование полимера из кокколитов, по всей видимости, связано с определенной конформацией его молекул, которая может возникать вследствие большого количества моно- и диметилированных моносахаридных остатков, имеющих относительно гидрофобный характер и сконцентрированных в определенной области повторяющегося звена [70]. Добавление в экспериментальный раствор 1% этанола приводило к тому, что полисахарид больше не оказывал ингибирующего воздействия на процесс кристаллизации, что, как считают авторы, связано с изменением конформации его молекул.

Таким образом, с одной стороны, имея высокое сродство к кальцийсодержащим кристаллам,

полисахарид из *E. huxleyi* связывается с поверхностью растущего кристалла, прекращая его дальнейший рост. С другой стороны, одновременно с этим процессом, полимер способствует образованию кристаллических агломератов, выполняя роль своеобразного мостика между отдельными кристаллическими структурами [98].

Вестбрук с соавторами предложили свою модель биосинтеза кокколитов у *E. huxleyi* [99]. Несмотря на большое количество данных по химии и биологии этой водоросли, модель все же носит гипотетический характер. Авторы считают, что перед началом кальцификации, а также на ее ранних этапах, полисахаридные молекулы заякорены на внутренней поверхности мембраны везикул, продуцирующих кокколиты, по-видимому, за счет нековалентных взаимодействий с положительно заряженными белками мембраны. Образуется своего рода полисахаридная сеть, заполняющая полость везикулы. На этой стадии, несмотря на перенасыщенный раствор солей внутри везикулы, кристаллизация карбоната кальция не наблюдается. Полисахаридная сеть ингибирует этот процесс за счет связывания с поверхностью зарождающихся кристаллических структур, а также, вероятно, создает стерические помехи кристаллообразованию. Первые кристаллы становятся заметны на стадии, когда везикула начинает расширяться по нескольким строго определенным направлениям (это контролируется цитоскелетом). Неясными остаются факторы, обуславливающие кристаллическую модификацию образующихся частиц карбоната кальция (кальцит), а также их ориентацию, но, по крайней мере частично, это регулируется молекулами полисахарида. Далее, по мере формирования кокколита, полисахаридные молекулы постепенно отделяются от мембраны везикулы, и, покрывая поверхность растущих кристаллов, ингибируют их дальнейший рост. Таким образом, присутствие полисахарида, способного, с одной стороны, стимулировать образование кристаллических агломератов, а с другой – ингибировать избыточный рост кристалла, препятствует появлению слишком больших кристаллических структур и определяет рост кристаллов стандартного размера и формы.

Большинство исследователей считает, что процесс кальцификации у *E. huxleyi* является светозависимым и происходит только у фотосинтезирующих клеток водоросли [6, 89, 100]. Однако похоже, что при некоторых определенных условиях лабораторного культивирования клетки водоросли могут переходить на гетеротрофное питание, и тогда кокколитогенезис происходит и в темноте, хотя менее интенсивно, чем на свету [101].

Интересно, что иногда при лабораторном культивировании, несмотря на стандартные условия, клетки *E. huxleyi* полностью и необратимо теря-

ют способность к образованию кокколитов. Впервые это явление было описано в 1970 г. [102], однако до сих пор остаются неясными причины, его вызывающие. Для одного такого штамма – 451В – было показано, что не формирующие кокколиты клетки тем не менее выделяют в культуральную среду значительные количества полисахарида [103]. По моносакхаридному составу, поведению при ионообменной хроматографии и электрофорезе в ПААГ, а также способности к связыванию ионов кальция этот полисахарид оказался сходным с полисахаридом, ассоциированным с кокколитами *E. huxleyi*.

Необходимо отметить, что помимо растворимого полисахарида, кокколиты *E. huxleyi* содержат также и нерастворимый полимерный компонент, который образует тонкую пленку вокруг отдельных кристаллов кальцита в кокколите [91]. Предварительные исследования показали, что полимер имеет белково-полисахаридную природу [89].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая вышеизложенные данные, можно сделать вывод, что среди всех видов известковых водорослей особняком стоят две группы морских водорослей – кораллиновые (*Corallinales*, *Rhodophyta*) и кокколитофорида (*Coccolithophoraceae*, *Prasinophyta*=*Haptophyta*). Как уже упоминалось, морские известковые растения обычно откладывают карбонат кальция в кристаллической модификации, называемой арагонитом, в отличие от пресноводных водорослей, откладывающих кальцит. В общем случае растворимость кальцита в воде ниже, чем растворимость арагонита, следовательно, предпочтительно должен образовываться более стабильный кальцит, что и происходит в пресной воде. Однако высокая ионная сила морской воды, в частности высокая концентрация ионов магния, приводит к образованию у морских водорослей арагонита. Из них лишь две группы – кораллиновые и кокколитофорида – являются исключением, откладывая в своих талломах кристаллы кальцита. И именно эти две группы водорослей имеют уникальный полисахаридный состав. Кораллиновые водоросли синтезируют необычные сульфатированные ксилогалактаны (кораллианы), а также несвойственный красным водорослям альгинат. Полисахариды кокколитофорид еще более необычны: *E. huxleyi* синтезирует один из самых сложных в природе по своему строению полисахарид (14 различных моносакхаридных остатков, высокая степень разветвленности, высокая молекулярная масса), а один из полисахаридов *P. carterae* в составе своего повторяющегося звена имеет тартрат и глиоксилат. Похоже, что, до крайней мере у кораллиновых водорослей и кокколитофорид,

процесс кальцификации напрямую связан с их полисахаридным составом.

Недавние исследования *in vitro* альгината из *Serraticardia maxima* и двух полисахаридов из *P. haptonemofera* показали, что присутствие в экспериментальном растворе одного из вышеперечисленных полимеров способствует образованию магниевого кальцита, а не арагонита, несмотря на высокие концентрации ионов магния [104]. На основании полученных результатов был сделан вывод, что полисахариды ингибируют рост образующихся зародышей кристаллов арагонита и это дает последним возможность трансформироваться в более стабильные кристаллы кальцита. Таким образом кальцийсвязывающие полисахариды детерминируют кристаллическую модификацию формирующихся кристаллов карбоната кальция.

Необходимость присутствия в полианионах, регулирующих процесс кальцификации, двух функциональных групп – карбоксильной и сульфатной – было показано на искусственной модели, состоящей из поверхности сульфированного полистирола с адсорбированной на ней полиаспарагиновой кислотой [105].

Остается не совсем понятным, почему же многие виды водорослей, синтезирующие как сульфатированные полисахариды, так и полисахариды, содержащие остатки уроновых кислот, не кальцифицируются. Предполагают, что кальцификации могут препятствовать различного рода вторичные метаболиты водорослей. Кроме того, сами сульфатированные полисахариды или полиурониды, продуцируемые в избытке, способны полностью ингибировать кальцификацию [106].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lowenstam H.A., Weiner S. // *Biom mineralization and Biological Metal Accumulation* / Eds P. Westbroek, E.W. de Jong. Dordrecht: Reidel, 1983. P. 191–203.
2. Borowitzka M.A. // *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 1977. V. 15. P. 189–223.
3. Medacovic D., Popovic S., Zavodnik N., Grzeta B., Plazonic M. // *Mar. Biol.* 1995. V. 122. P. 479–485.
4. Okazaki M., Furuya K. // 3rd Int. Symp. Mech. Biom mineralizat. the Invertebr. Plant. Abstracts. Kashikojima, Japan. 1977.
5. Lucas W.J. // *Plant Physiol.* 1979. V. 63. P. 248–254.
6. Nimer N.A., Merret M.J. // *New Phytol.* 1993. V. 123. P. 673–677.
7. Addadi L., Weiner S. // *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1992. V. 31. P. 153–169.
8. Borowitzka M.A. // *Int. Rev. Cytol.* 1982. V. 74. P. 127–162.
9. Boehm E.L. // *Bull. Mar. Sci.* 1973. V. 23. P. 177–190.
10. Borowitzka M.A., Larkum A.W.D. // *J. Phycol.* 1977. V. 13. P. 6–16.
11. Nakahara H., Bevelander G. // *Jpn. J. Phycol.* 1978. V. 26. P. 9–12.

12. *Boehm E.L.* // Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. 1973. V. 58. P. 117–126.
13. *Boehm E.L., Goreau T.F.* // Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. 1973. V. 58. P. 723–740.
14. *Jensen P.R., Gibson R.A., Littler M.M., Littler D.S.* // Deep-Sea Res., Part A. 1985. V. 32(4A). P. 451–464.
15. *Okazaki M., Ichikawa K., Furuya K.* // Bot. Mar. 1982. V. 25. P. 511–517.
16. *Усов А.И., Добкина И.М.* // Биоорган. химия. 1991. Т. 17. С. 1051–1058.
17. *Усов А.И., Яроцкий С.В., Эстевес М.Л.* // Биоорган. химия. 1981. Т. 7. С. 1261–1270.
18. *Усов А.И., Яроцкий С.В.* // Биоорган. химия. 1975. Т. 1. С. 919–922.
19. *Matulevich M.C., Cereso A.S.* // Carbohydr. Polymers. 1987. V. 7. P. 121–132.
20. *Zetsche K.* // Planta. 1967. V. 76. P. 326–334.
21. *Percival E., Smestad B.* // Carbohydr. Res. 1972. V. 25. P. 299–304.
22. *Bourne E.J., Percival E., Smestad B.* // Carbohydr. Res. 1972. V. 22. P. 75–82.
23. *Herth W., Kuppel A., Franke W.W.* // J. Ultrastruct. Res. 1975. V. 50. P. 289–292.
24. *Pentecost A., Riding R.* // Biomineralization in Lower Plants and Animals / Eds B.S.C. Leadbeater, R. Reading. Oxford: Clarendon Press, 1986. P. 73–90.
25. *Pratt B.R.* // J. Sediment. Petrol. 1984. V. 54. P. 948–971.
26. *Golubic S., Focke J.W.* // J. Sediment. Petrol. 1978. V. 48. P. 751–764.
27. *Chafetz H.S.* // Biostab. Sediments. 1994. P. 149–163.
28. *Schneider J., Campion-Alsumard T.* // Eur. J. Phycol. 1999. V. 34. P. 417–426.
29. *Verrecchia E.P., Freydet P., Verrecchia K.E., Dumont J.-L.* // J. Sediment. Res., Sect. A. 1995. V. A65. P. 690–700.
30. *Arp G., Reimer A., Reitner J.* // Eur. J. Phycol. 1999. V. 34. P. 393–403.
31. *Bertocchi C., Navarini L., Cesaro A., Anastasio M.* // Carbohydr. Polym. 1990. V. 12. P. 127–153.
32. *Singh R.N.* // Proc. European Congr. Electron Microscopy Ghent. Vandermeerssche. Brussels, 1954.
33. *Leak L.V.* // J. Ultrastruct. Res. 1967. V. 21. P. 61–74.
34. *Somers G.F., Brown M.* // Estuaries. 1978. V. 1. P. 17–28.
35. *Adhikary S.P., Weckesser J., Jurgens U.J., Golecki J.R., Borowiak D.* // J. Gen. Microbiol. 1986. V. 132. P. 2595–2599.
36. *Weckesser J., Broll C., Adhikary S.P., Jurgens U.J.* // Arch. Microbiol. 1987. V. 147. P. 300–303.
37. *Tease B.E., Walker R.W.* // J. Gen. Microbiol. 1987. V. 133. P. 3331–3339.
38. *Schneider S., Golecki J.R., Weckesser J., Jurgens U.J.* // Proc. VI Int. Symp. Photosynthetic Prokaryotes. Noorwijkerhout. The Netherlands, 1988.
39. *Dunn J.H., Wolk C.P.* // J. Bacteriol. 1970. V. 103. P. 153–158.
40. *Schrader M., Drews G., Golecki J.R., Weckesser J.* // J. Gen. Microbiol. 1982. V. 128. P. 267–272.
41. *Pritzer M., Weckesser J., Golecki J.R., Jurgens U.J.* // Proc. VI Int. Symp. Photosynthetic Prokaryotes. Noorwijkerhout. The Netherlands, 1988.
42. *Schneider S., Jurgens U.J.* // Arch. Microbiol. 1991. V. 156. P. 312–318.
43. *Weckesser J., Hofmann K., Jurgens U.J., Whitton B.A., Raffelsberger B.* // J. Gen. Microbiol. 1988. V. 134. P. 629–634.
44. *Tease B.E., Jurgens U.J., Weckesser J.* // Proc. VI Int. Symp. Photosynthetic Prokaryotes, Noorwijkerhout. The Netherlands, 1988.
45. *Hoiczuk E.* // J. Bacteriol. 1998. V. 180. P. 3923–3932.
46. *Campion-Alsumard T.* // Oceanol. Acta. 1979. V. 2. P. 143–156.
47. *Girardelli L.A.* // Bot. Mar. 1998. V. 41. P. 367–373.
48. *Cabioch J., Giraud G.* // Biomineralization in Lower Plants and Animals / Eds B.S.C. Leadbeater, R. Reading. Oxford: Clarendon Press, 1986. P. 141–156.
49. *Borowitzka M.A., Vesik M.* // Mar. Biol. 1978. V. 46. P. 295–304.
50. *Painter T.J.* // The Polysaccharides. V. 2 / Ed. G.O. Aspinall. N. Y.: Acad. Press, 1983. P. 195–285.
51. *Craigie J.S.* // Biology of the Red Algae / Eds K.M. Cole, R.G. Sheath. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. P. 221–257.
52. *Turvey J.R., Simpson P.R.* // Proc. Int. Seaweed Symp. 1966. V. 5. P. 323–328.
53. *Cases M.R., Stortz C.A., Cerezo A.S.* // Phytochemistry. 1992. V. 31. P. 3897–3900.
54. *Cases M.R., Stortz C.A., Cerezo A.S.* // Int. J. Biol. Macromol. 1994. V. 16. P. 93–97.
55. *Usov A.I., Bilan M.I., Klochkova N.G.* // Bot. Mar. 1995. V. 38. P. 43–51.
56. *Усов А.И., Билан М.И.* // Биоорган. химия. 1996. Т. 22. С. 126–133.
57. *Билан М.И.* Химическое строение полисахаридов известковых красных водорослей семейства кораллиновых (Corallinaceae, Rhodophyta). Дис. ... канд. хим. наук. М.: Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского, 2000.
58. *Usov A.I., Bilan M.I., Shashkov A.S.* // Carbohydr. Res. 1997. V. 303. P. 93–102.
59. *Усов А.И., Билан М.И.* // Биоорган. химия. 1998. Т. 24. С. 139–146.
60. *Takano R., Hayashi J., Hayashi K., Hara S., Hirase S.* // Bot. Mar. 1996. V. 39. P. 95–102.
61. *Misonou T., Okazaki M., Furuya K., Nisizawa K.* // Jap. J. Phycol. 1980. V. 28. P. 105–112.
62. *Okazaki M., Furuya K., Tsukayama K., Nisizawa K.* // Bot. Mar. 1982. V. 25. P. 123–131.
63. *Stanford E.C.C.* // Chemical News. June 1883. V. 1. P. 254–257.
64. *Linker A., Jones R.S.* // Nature. 1964. V. 204. P. 187–188.
65. *Cohen G.H., Johnstone D.B.* // J. Bacteriol. 1964. V. 88. P. 329–338.
66. *Rees D.A., Welsh E.J.* // Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1977. V. 16. P. 214–224.
67. *Okazaki M., Shioto C., Furuya K.* // Jpn. J. Phycol. (Jap.). 1984. V. 32. P. 364–372. Chem. Abstr. 1985. V. 103. № 51385.
68. *Somers J.A., Tait M.I., Long W.F., Williamson F.B.* // Hydrobiologia. 1990. V. 204/205. P. 491–497.
69. *Somers J.A., Long W.F., Williamson F.B.* // Biochem. Soc. Trans. 1992. V. 20(1). 5S.
70. *Borman A.H., de Jong E.W., Huizinga M., Kok D.J., Westbroek P., Bosch L.* // Eur. J. Biochem. 1982. V. 129. P. 179–183.

71. Littler M.M., Littler D.S. // *Science*. 1995. V. 267. P. 1356–1360.
72. James N.P., Wray J.L., Ginsburg R.N. // *J. Sediment. Petrol.* 1988. V. 58. P. 291–303.
73. Flajs G. // *Paleontographica*. 1977. V. 160. P. 69–128.
74. Franke W.W., Brown R.M. // *Arch. Microbiol.* 1971. V. 77. P. 12–19.
75. Faber W.W., Preisig H.R. // *Protoplasma*. 1994. V. 181. P. 78–105.
76. Brown R.M., Romanovicz D.K. // *Appl. Polym. Symp.* 1976. V. 28. P. 537–585.
77. van der Wal P., de Jong E.W., Westbroek P., de Bruijn W.C., Mulder-Stapel A.A. // *J. Ultrastruct. Res.* 1983. V. 85. P. 139–158.
78. Marsh M.E., Chang D.-K., King G.C. // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 20507–20512.
79. de Vrind-de Jong E.W., Borman A.H., Thierry R., Westbroek P., Gruter M., Kamerling J.P. // *Biom mineralization in Lower Plants and Animals* / Eds B.S.C. Leadbeater, R. Reading. Oxford: Clarendon Press, 1986. P. 205–217.
80. Marsh M.E. // *Protoplasma*. 1994. V. 177. P. 108–122.
81. Marsh M.E. // *Protoplasma*. 1996. V. 190. P. 181–188.
82. Marsh M.E., Dickinson D.P. // *Protoplasma*. 1997. V. 199. P. 9–17.
83. Okazaki M., Sato T., Mutho N., Wada N., Umegaki T. // *J. Mar. Biotechnol.* 1998. V. 6. P. 16–22.
84. Brown R.M.J., Franke W.W., Kleining H., Falk H., Sittte P. // *Science*. 1969. V. 166. P. 894–896.
85. Brown R.M.J., Franke W.W., Kleining H., Falk H., Sittte P. // *J. Cell Biol.* 1970. V. 45. P. 246–271.
86. Herth W., Franke W.W., Stadler J., Bittiger H., Keilich G., Brown R.M.J. // *Planta*. 1972. V. 105. P. 79–92.
87. Romanovicz D.K., Brown R.M.J. // *Appl. Polym. Symp.* 1976. V. 28. P. 587–610.
88. Allen D.M., Northcote D.H. // *Protoplasma*. 1975. V. 83. P. 389–412.
89. Westbroek P., de Jong E.W., van der Wal P., Borman A.H., de Vrind J.P.M., van Emburg P.E., Bosch L. // *Ecol. Bull.* 1983. V. 35. P. 291–299.
90. Klaveness D. // *Protistologica*. 1972. V. 8. P. 335–346.
91. Klaveness D. // *Protistologica*. 1976. V. 12. P. 217–224.
92. de Jong E.W., Bosch L., Westbroek P. // *Eur. J. Biochem.* 1976. V. 70. P. 611–621.
93. Fichtinger-Schepman A.M.J., Kamerling J.P., Vliegthart J.F.G., de Jong E.W., Bosch L., Westbroek P. // *Carbohydr. Res.* 1979. V. 69. P. 181–189.
94. Fichtinger-Schepman A.M.J., Kamerling J.P., Ver-sluis C., Vliegthart J.F.G. // *Carbohydr. Res.* 1980. V. 86. P. 215–225.
95. Fichtinger-Schepman A.M.J., Kamerling J.P., Ver-sluis C., Vliegthart J.F.G. // *Carbohydr. Res.* 1981. V. 93. P. 105–123.
96. Borman A.H., de Jong E.W., Thierry R., Westbroek P., Bosch L., Gruter M., Kamerling J.P. // *J. Phycol.* 1987. V. 23. P. 118–123.
97. Smetana K.J., Stol M., Novak M., Danes J. // *Biomaterial.* 1996. V. 17. P. 1563–1566.
98. Kok D.J., Blomen L.J., Westbroek P., Bijvoet O.L. // *Eur. J. Biochem.* 1986. V. 158. P. 167–172.
99. Westbroek P., de Jong E.W., van der Wal P., Borman A.H., de Vrind J.P.M., Kok D., de Bruijn W.C., Parker S.B. // *Phylos. Trans. R. Soc. London. Ser. B.* 1984. V. 304. P. 435–444.
100. Sekino K., Shiraiwa Y. // *Plant Cell Physiol.* 1996. V. 37. P. 1031–1033.
101. van Bleijswijk J.D.L., Kempers R.S., Veldhuis M.J., Westbroek P. // *J. Phycol.* 1994. V. 30. P. 230–241.
102. Paasche E., Klaveness D. // *Arch. Microbiol.* 1970. V. 73. P. 143–152.
103. de Jong E.W., van Rens L., Westbroek P., Bosch L. // *Eur. J. Biochem.* 1979. V. 99. P. 559–567.
104. Wada N., Okazaki M., Tachikawa S. // *J. Cryst. Growth.* 1993. V. 132. P. 115–121.
105. Addadi L., Moradian J., Shay E., Maroudas N.G., Weiner S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987. V. 84. P. 2732–2736.
106. Borowitzka M.A. // *Plant Cell Environ.* 1984. V. 7. P. 457–466.

Polysaccharides of Calcareous Algae and Their Effect on the Calcification Process

M. I. Bilan and A. I. Usov[#]

Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, GSP-1 Moscow, 117913 Russia

The composition and structure of polysaccharides from several groups of calcareous algae (including calcareous cyanobacteria), which differ in the calcification mode (extracellular, cell wall, or intracellular), are reviewed. Two families of marine algae, Corallinaceae (Rhodophyta) and Coccolithophoraceae (Prymnesiophyta = Haptophyta), are considered in detail; they exhibit the cell wall and intracellular calcification modes, respectively, and synthesize unusual polysaccharides that seem to directly participate in the calcification process.

Key words: calcareous algae, calcification, Coccolithophoraceae, Corallinaceae, polysaccharides

[#] To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 137-6791; e-mail: usov@ioc.ac.ru.

For the full text of English translation of this article, see *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2001, vol. 27, no. 1. It is also available (free) in PDF format through the Web Site <http://www.maik.rssi.ru/>.