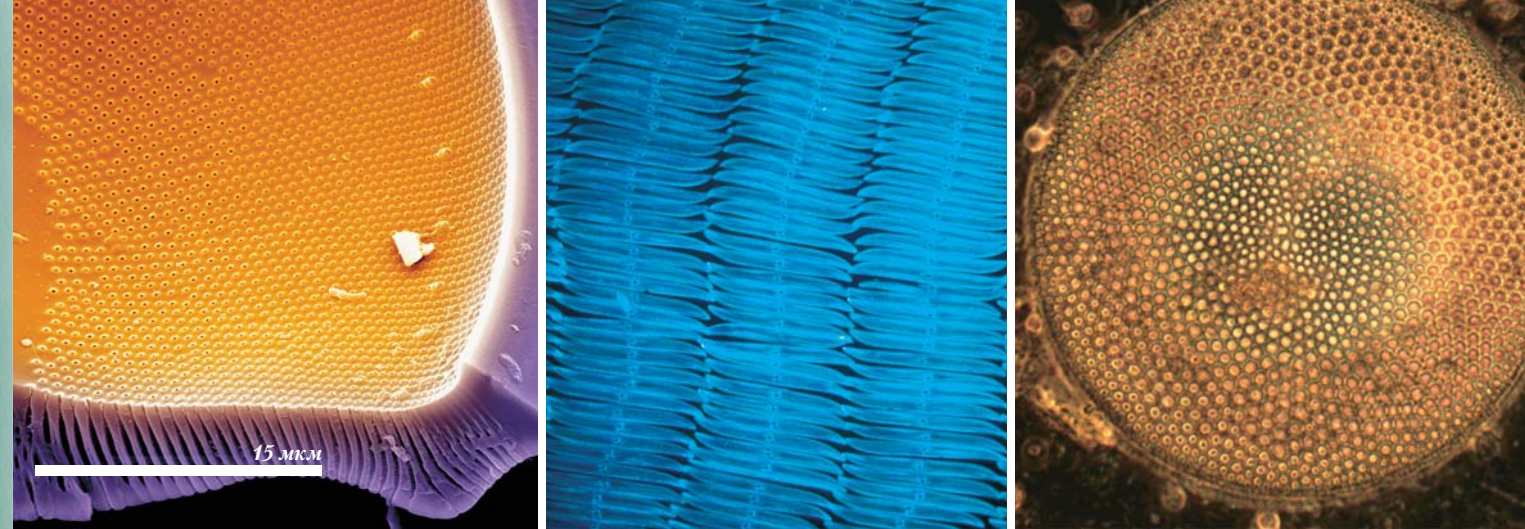


НАНОИНЖЕНЕРЫ МИНИ

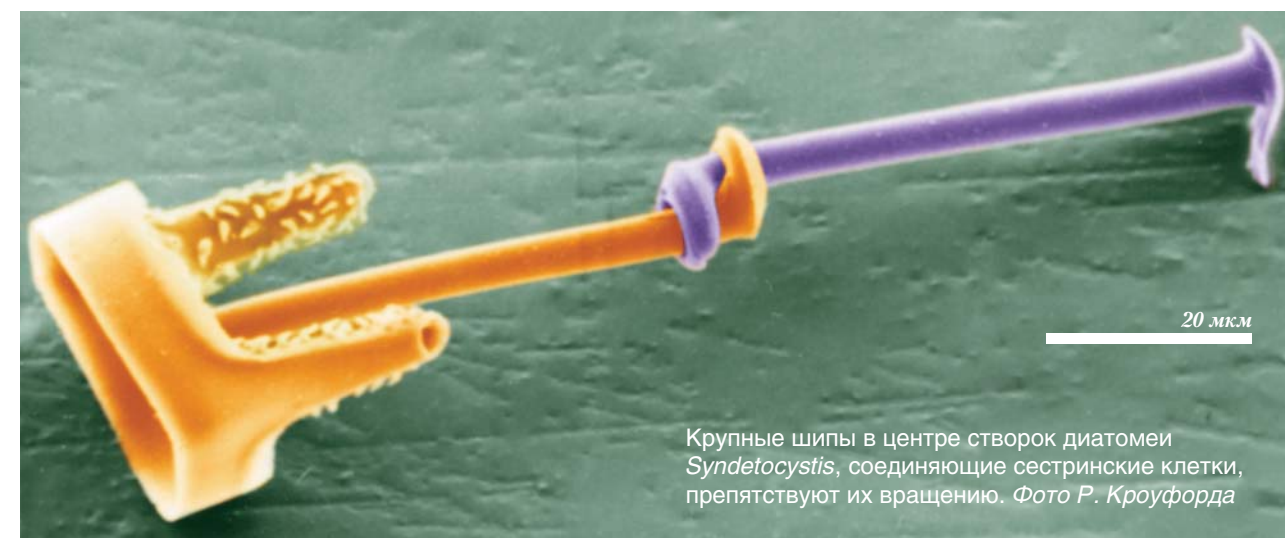


В верхнем ряду слева — детали края створки диатомеи *Hyalodiscus*. Фото Р. Кроуфорда. В центре и справа — примеры различного преломления света в кремниевом панцире двух видов диатомей (подробнее на с. 55)

Р. КРОУФОРД: Кремний — безошибочный выбор диатомей для фотосинтеза с точки зрения его доступности, прочности и прозрачности. При этом через клеточную стенку должен осуществляться транспорт в обе стороны растворенных газов и веществ. Этой проблеме долгое время не уделяли достаточного внимания — практически всю историю изучения диатомей ученых занимало лишь морфологическое разнообразие отверстий на створках, служащее основой их классификации. Однако многочисленные отверстия, видимые в световой микроскоп представляют собой мелкие ареолы со сложно организованными системами перегородок и пор, сквозь которые и происходит обмен между клеткой и средой.

В настоящее время диатомистов все больше увлекает и интригует тонкая организация клеточной стенки диатомей. Каким образом они с такой точностью строят и воспроизводят структуру панциря? Какие механизмы клеточного и молекулярного уровня задействованы в процессах синтеза и рождения новой створки, как происходит химическая организация кремниевых строительных блоков?

Макро- и микропроцессы морфогенеза диатомей привлекают сегодня особенное внимание в связи с возможностями, которые они открывают для нанотехнологий. Инженерия в микромасштабе — мощная индустрия, и умение диатомей искусно манипулировать с кремнием представляет несомненную ценность в эпоху высоких технологий.



Крупные шипы в центре створок диатомеи *Syndetocystis*, соединяющие сестринские клетки, препятствуют их вращению. Фото Р. Кроуфорда

ГАРМОНИЯ КРАСОТЫ И

Быть «единицами» или быть «раздельными» — для биологических объектов не альтернатива, но один из фундаментальных принципов существования. Низшие одноклеточные организмы поддерживают физическую общность, формируя колонии, клетки высших организмов — ткани. Казалось бы, в пику этим приверженцам «общественного» образа жизни диатомовые водоросли, обучившиеся в ходе эволюции формировать твердую клеточную стенку, должны быть настоящими индивидуалистами. Однако это далеко не так. Правда, единственный путь сохранения единства, доступный для диатомовых, — оставаться после клеточного деления связанными друг с другом, формируя своеобразные цепочки. И интерес человека к механизмам, удерживающим вместе этих обитателей «стеклянных домиков», далеко не бескорыстен...



Ричард М. КРОУФОРД, д-р, Институт полярных и морских исследований им. А. Вегенера (Бремерхафен, Германия)



Илле ГИБШУБЕР, д-р, Институт общей физики, Венский технологический университет (Вена, Австрия)

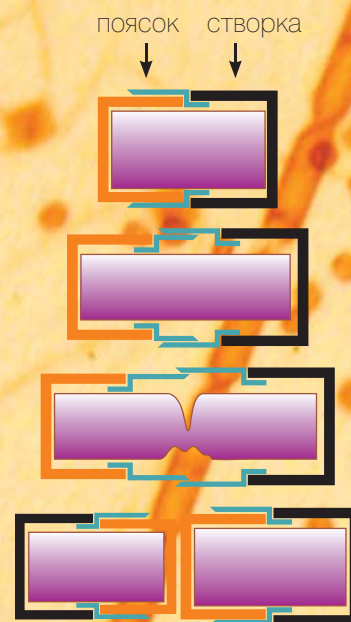
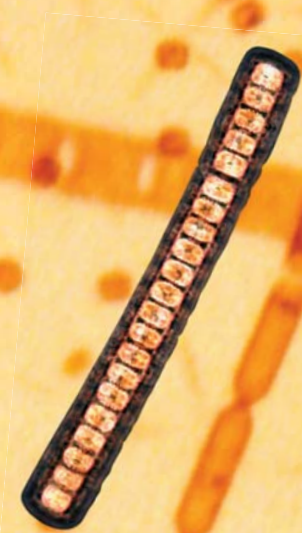
ту. Да и при переходе к половому размножению такая стратегия увеличивает вероятность встречи мужских и женских клеток. С другой стороны, в местообитаниях с бурным характером или бедных питательными веществами разделение клеток способствует расселению популяции и расширению участка обитания.

Нужно отметить, что среди диатомей мы можем встретить оба жизненных варианта, причем зачастую колониальные виды соседствуют с одноклеточными. Цепочки клеток могут прикрепляться к растениям, песчинкам, камням и скалам, или даже свободно «парить» в воде. Но во всех случаях клетки диатомей должны противостоять различного рода сильным воздействиям со стороны внешней среды. Как же они это делают?

То, что животные способны двигаться, а растения неподвижны, — общеизвестно. Однако те же самые растения, как сухопутные, так и водные, могут перемещаться своеобразным способом — с помощью пыльцы, семян или, в некоторых случаях, отдельными вегетативными частями родительского организма.

Обращаясь к жизни одноклеточной водоросли, заметим, что после каждого клеточного деления вновь образовавшиеся клетки-близнецы могут либо остаться соединенными, либо отправиться в разные стороны на поиски своей судьбы. В каждом случае есть свои плюсы и минусы. При благоприятном окружении дочерним клеткам выгодно не обособляться, а оставаться вместе в «родительском гнезде», прикрепленными к субстра-

ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ

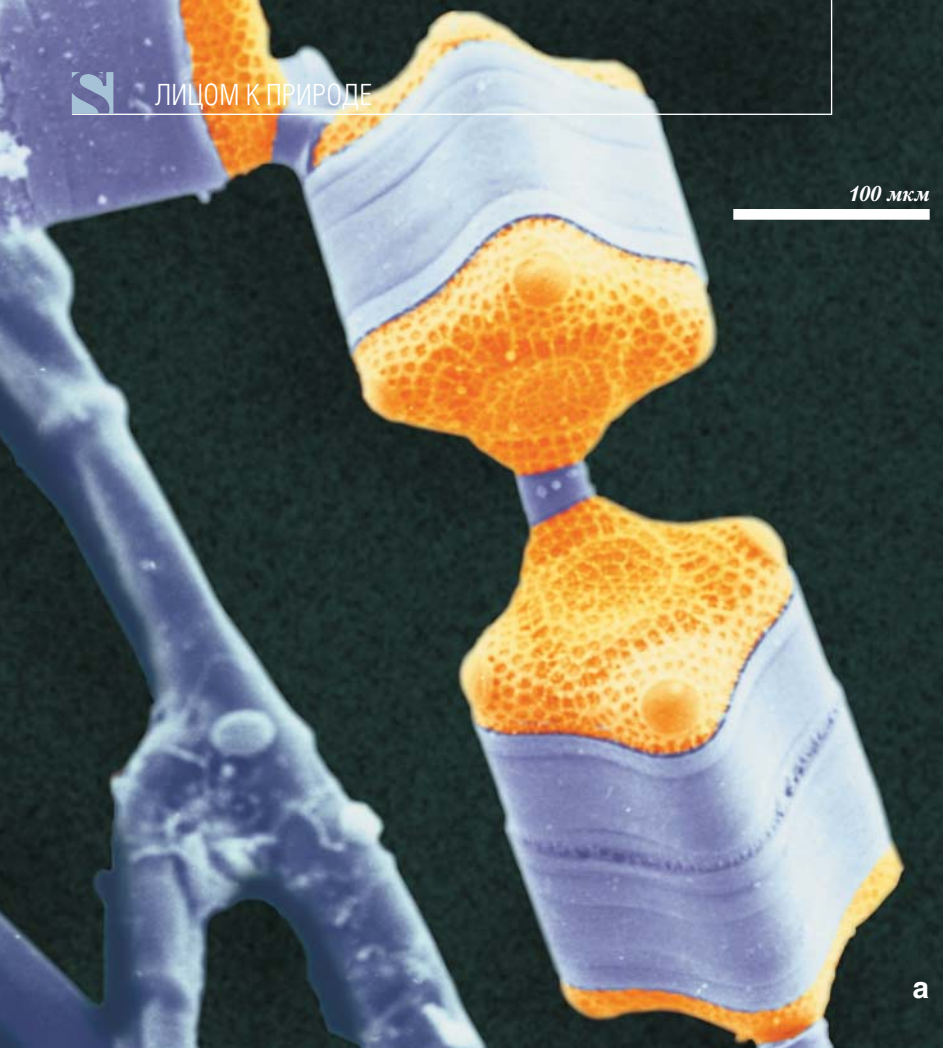


После каждого клеточного деления диатомей вновь образовавшиеся клетки могут остаться соединенными

Трибология (от греч. *tribos* — трение) — раздел инженерии, занимающийся поверхностями, двигающимися относительно друг друга (подшипники, шестеренки и т. п.); их устройством, взаимодействием (трением, адгезией), смазкой, износом... — это одновременно и наука, и технология, и практика. В последние годы прочные позиции завоевывают микро- и нанотрибология, имеющие дело с функциональными элементами размером от 100 мкм до десятков нанометров. И это неудивительно — понимание феноменов трения в этом масштабе необходимо для создания новых продуктов бурно развивающихся современных технологий (кремниевые технологии, производство наноэлектромеханических систем и т. п.).

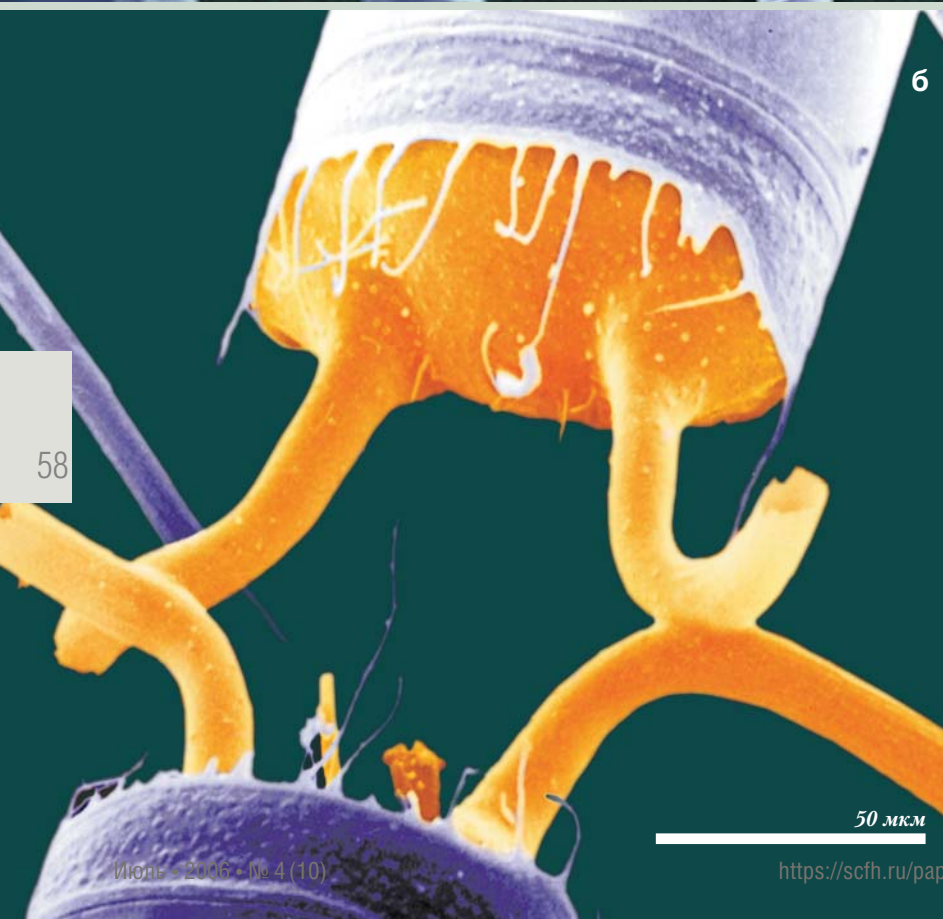
Цель биотрибологии — сбор информации о процессах взаимодействия между элементами биологических систем, а также приложение этих знаний к разработке технологических продуктов, близких к природным. Примеров на эту тему в биологии можно привести множество: движущиеся суставы и суставной хрящ, моргающее веко и глазное яблоко, матка и плод, соединение перьев у птиц, спинной плавник у рыб, липкие лапки насекомых... Эта новая междисциплинарная отрасль исследований сочетает методы и теорию физики, химии, механики и биологии.

Биомикро- и нанотрибология возникли в ответ на серьезные нужды технологии, в том числе продолжающуюся миниатюризацию техники. Биологические системы преуспевают в микро- и наномасштабе, а потому их стратегии можно использовать при создании новых инженерных устройств. Например, твердые компоненты диатомей, движущиеся относительно друг друга и испытывающие на себе действия разных сил, представляют особый интерес для одного из направлений в разработке микросистем



100 мкм

а



б

50 мкм

У колониальных диатомовых водорослей существуют разные способы соединения клеток между собой.

а — клетки *Amphitetras*, соединенные по углам подушечками из особого клейкого вещества;
б — клетки *Chaetoceros* с соединенными выростами панциря

Один из самых распространенных способ соединения клеток диатомовых — с помощью специальных соединительных шипов, подходящих друг к другу как ключ к замку.

в — пары соединенных сестринских клеток *Cymatoseira*;
г — пары соединенных сестринских клеток *Aulacoseira*

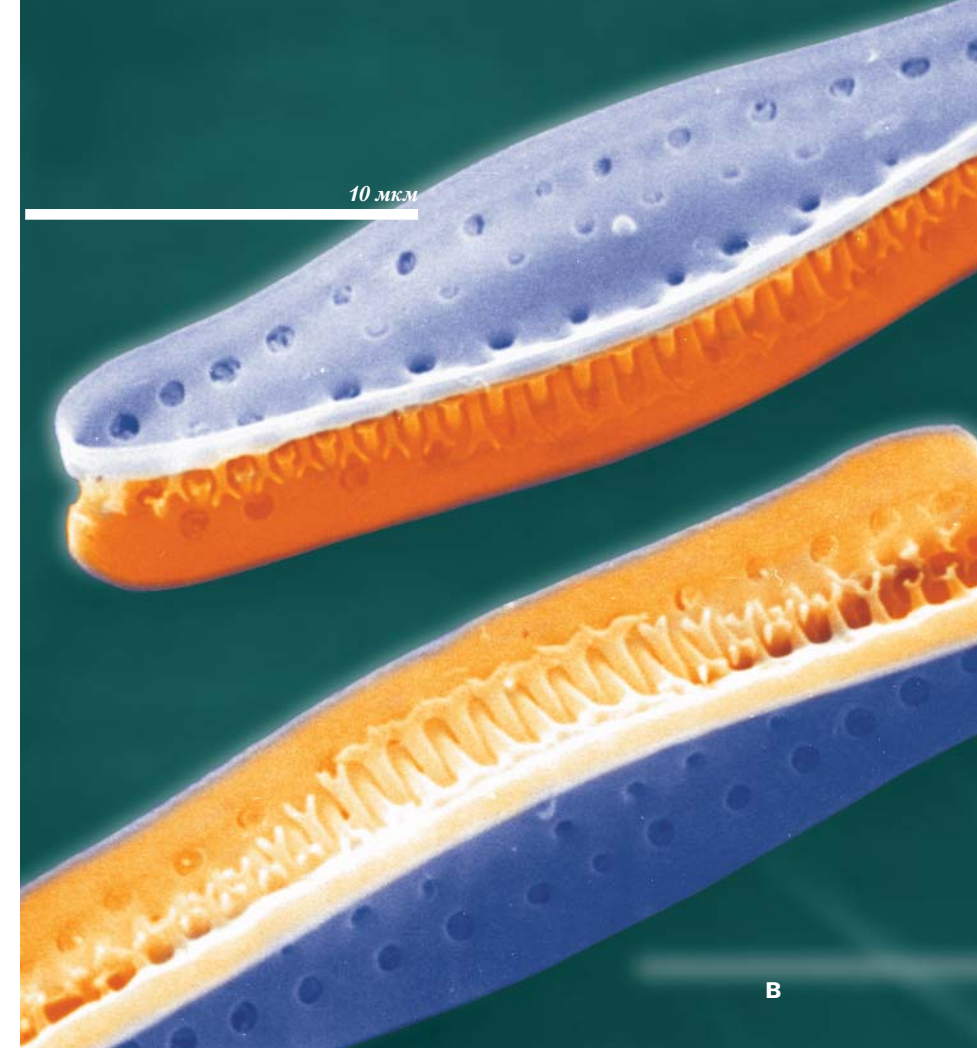
«Создавая любое из своих творений... природа связывала воедино гармонию красоты с гармонией целесообразности — придавала ему ту единственную форму, которая идеальна с точки зрения инженера» (М. Туполев).

Как ключ к замку

У диатомей можно выделить три способа соединения клеток между собой. Клетки могут соединяться друг с другом особым клейким материалом, поступающим через трубочки в клеточной стенке. У небольшого числа родов кремнистые структуры сестринских клеток сплавлены. Но наиболее часто клетки соединяются между собой с помощью специальных шипов различных размеров и форм, подходящих друг к другу как ключ к замку. Эти структуры образуются еще во время формирования клеточных стенок дочерних клеток.

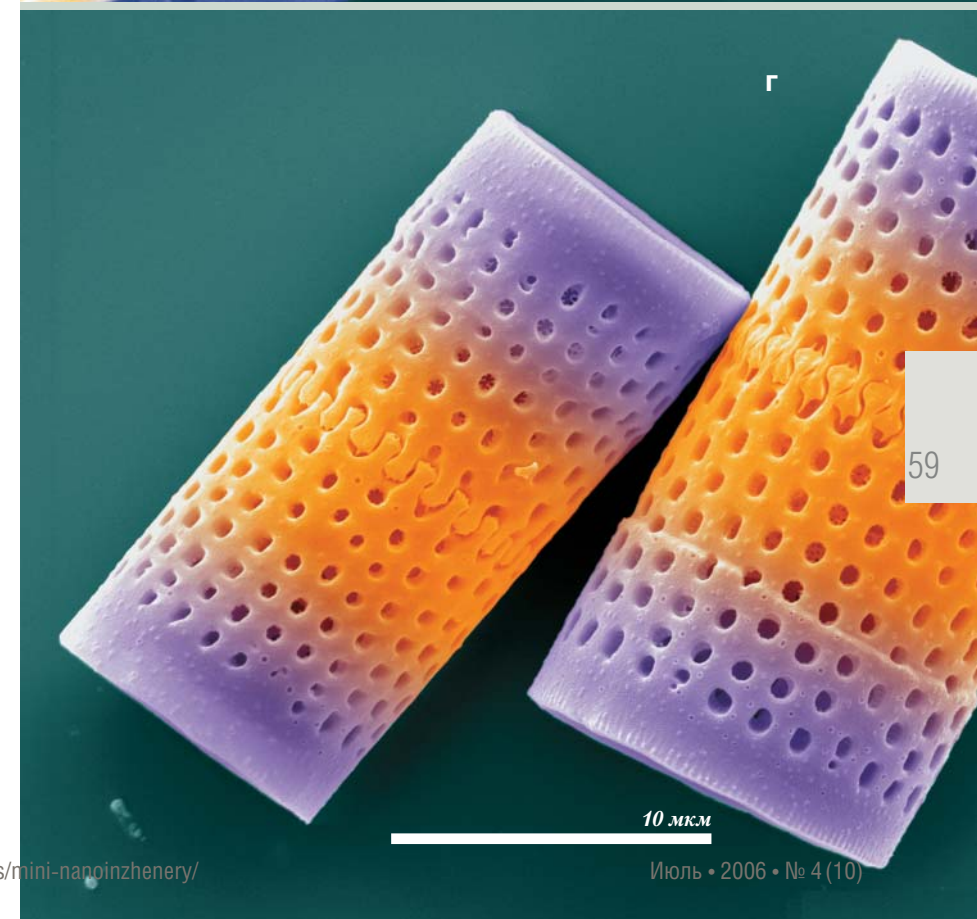
Было замечено, что конструкция соединительных шипов зачастую сложнее, чем этого требует устройство, служащее лишь для удержания клеток вместе. Это подтолкнуло нас к изучению основных сил, действующих на клетки в цепочке, — растяжения, сжатия и вращения. Несложно представить, что находящиеся в турбулентной среде — например, в зоне прибоя песчаного берега — клетки цепочки будут испытывать суммарное действие всех перечисленных сил, хотя в отношении силы вращения это не так очевидно.

Для изучения действия последней силы мы исследовали несколько колониобразующих видов и пришли к заключению, что многим диатомеям приходилось иметь дело с силой вращения на самых ранних стадиях эволюции. По крайней мере, у многих ископаемых видов возраста примерно 30 млн лет обнаружены сложные структуры, которые могли не только удерживать две створки вместе, но и препятствовать их вращению. В этом смысле исключительным примером может служить род *Ellerbeckia*.



10 мкм

в

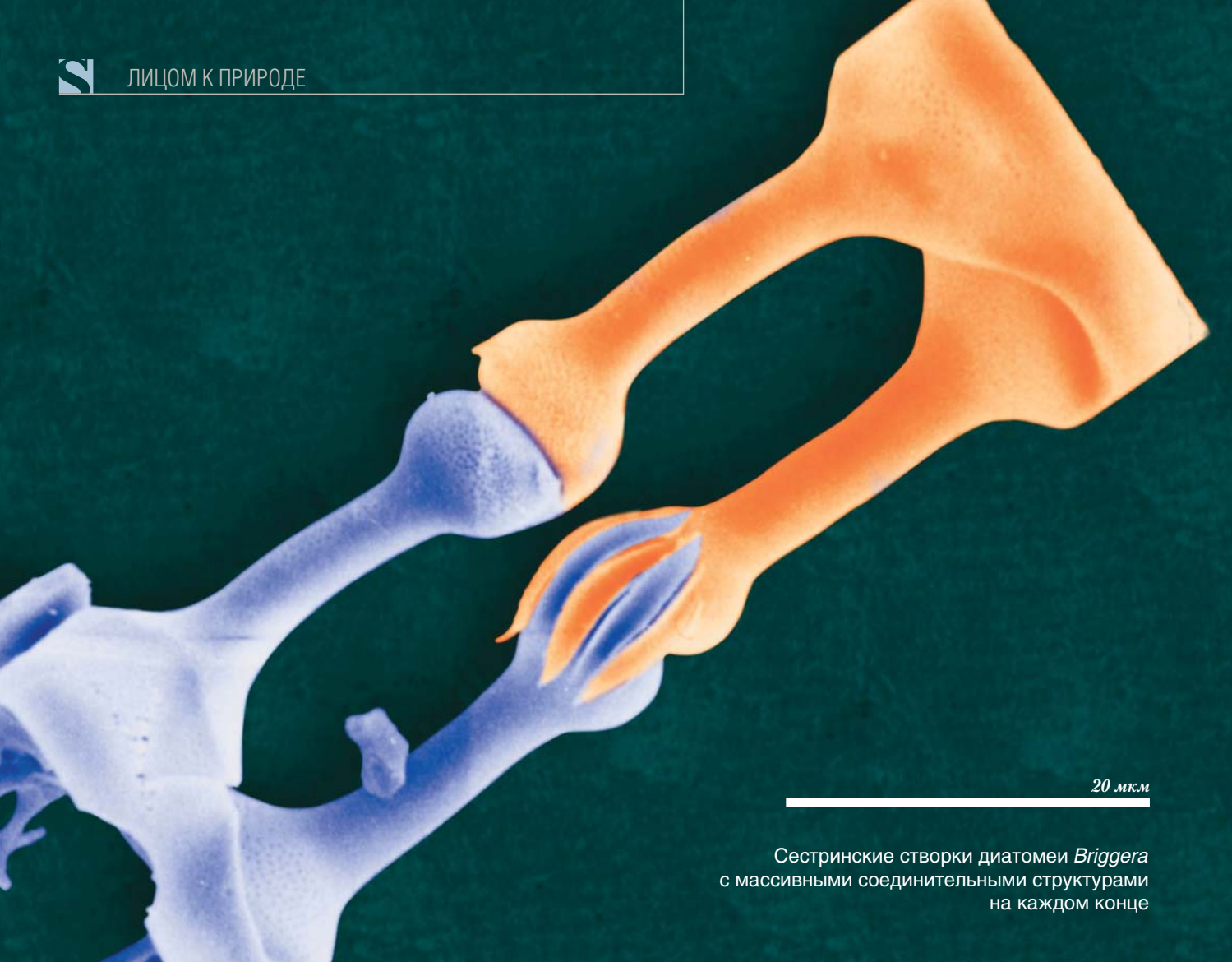


г

10 мкм

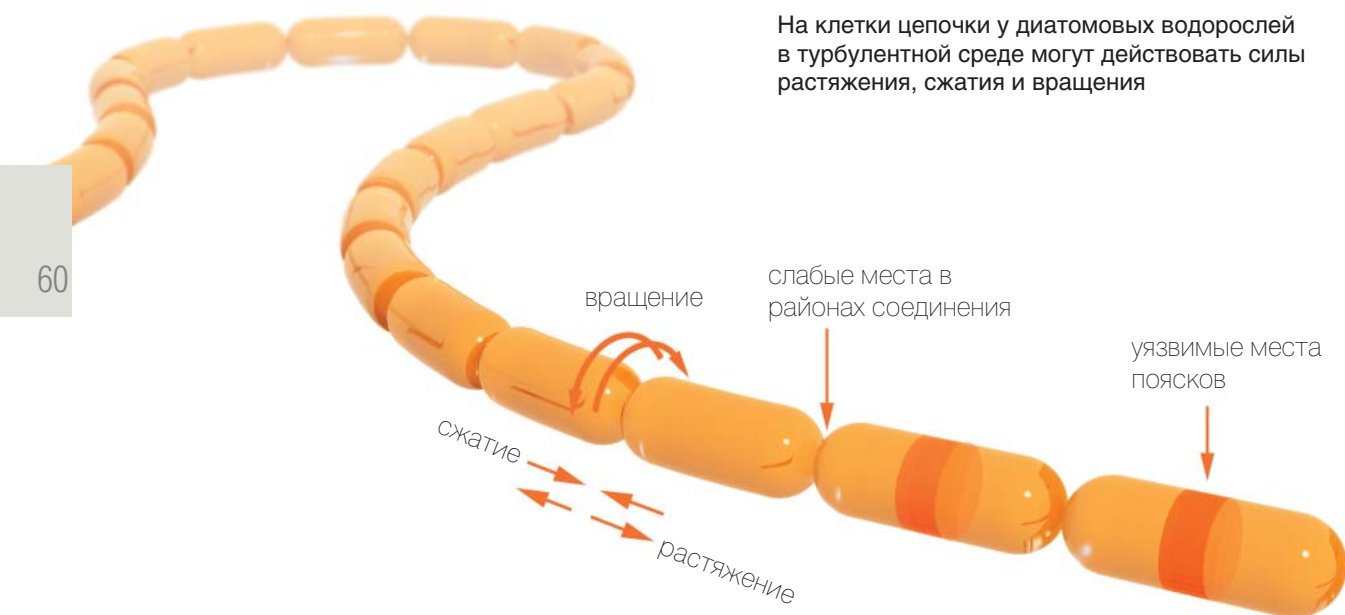
59

58



Сестринские створки диатомеи *Briggera* с массивными соединительными структурами на каждом конце

20 мкм



На клетки цепочки у диатомовых водорослей в турбулентной среде могут действовать силы растяжения, сжатия и вращения

вращение

слабые места в районах соединения

уязвимые места поясков

сжатие

растяжение

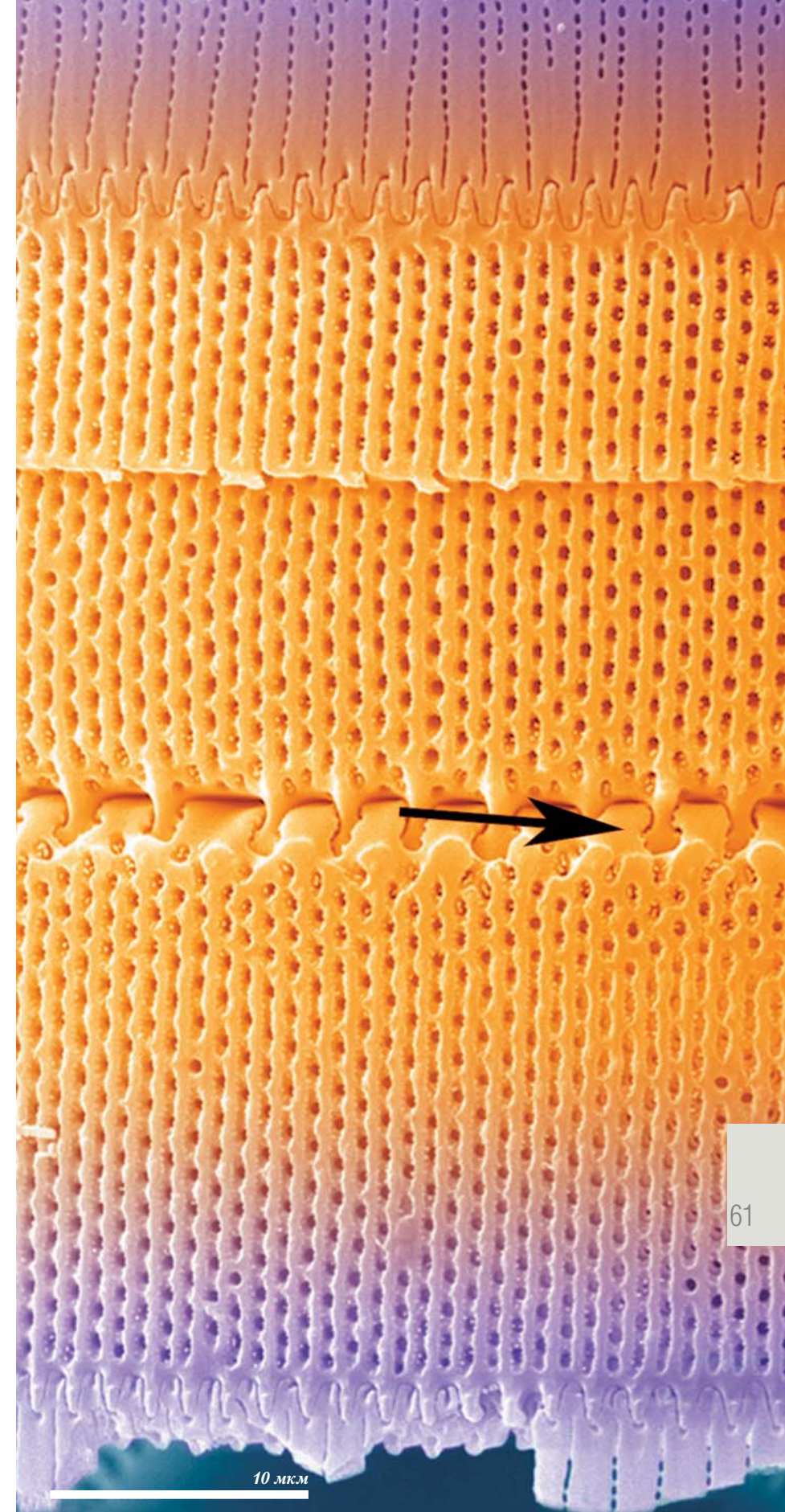
Инженерные решения *Ellerbeckia*

Древний род *Ellerbeckia* замечателен не только крайне тесным соединением сестринских створок, но и очень долгой эволюционной историей наряду с очень ранним обособлением от других диатомовых.

Клеточная стенка у этих диатомовых грубая, а лицевая часть створки загнута на боках под прямым углом. На створке располагаются шипы, соединяющие сестринские клетки, которые прочно замыкаются друг на друга. В середине лицевой части створки имеется еще один элемент соединительной структуры, общий для всех видов рода. Он представляет собой ребра, плотно вставленные в углубления другой створки. При наличии таких прочных соединительных структур двум клеткам практически невозможно ни повернуться, ни отодвинуться друг от друга. Но при этом возникает другая проблема.

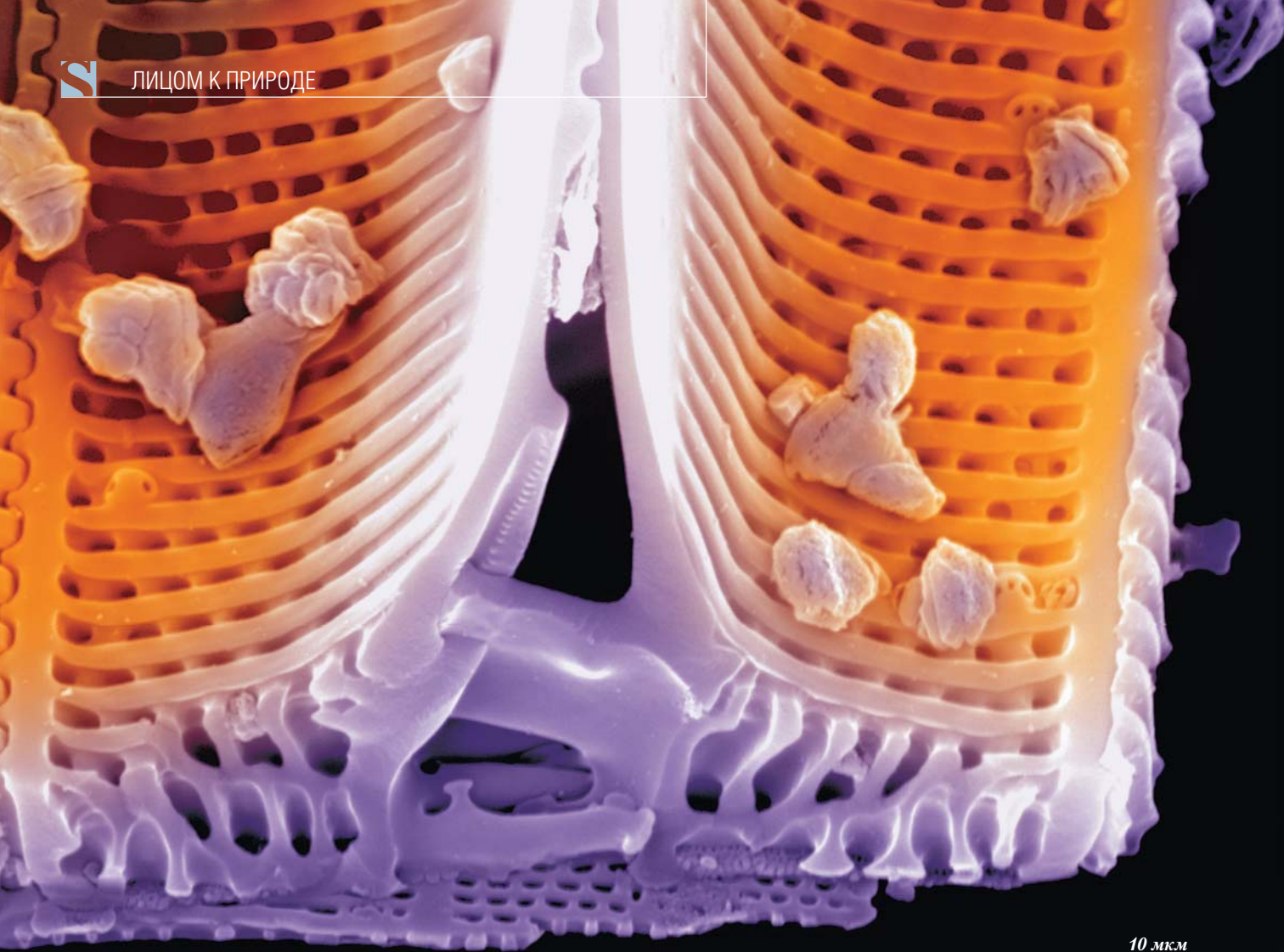
Слабым звеном цепи, наиболее подверженным воздействию различных сил, становится соединение между створками и поясковыми ободками. И здесь *Ellerbeckia* демонстрирует уникальную среди всех прочих диатомей конструкцию. В отличие от большинства родов, в особенности от современных подвижных одноклеточных диатомей, у *Ellerbeckia* все без исключения части кремнистой оболочки плотно соединены и подогнаны друг к другу подобно костяшкам двух сжатых кулаков.

Результат такого прочного соединения в обоих потенциально уязви-



Сложные соединительные структуры сестринских створок у древнего рода *Ellerbeckia*

10 мкм



10 мкм

К. ТАМАТРАКОЛЬН, М. ХИЛЬДЕБРАНД

СТРОИМ ИЗ КРЕМНИЯ

Кимберли ТАМАТРАКОЛЬН, д-р, отдел изучения биологии морей Института океанографии им. Скриппса, Калифорнийский университет (Сан-Диего, США)

Марк ХИЛЬДЕБРАНД, д-р, отдел изучения биологии морей Института океанографии им. Скриппса, Калифорнийский университет (Сан-Диего, США)

К растворимым формам кремния относятся кремниевая кислота $\text{Si}(\text{OH})_4$ и силикаты $\text{Si}(\text{OH})_3$. Полимеризованный кремний в разных структурных формах называют кремнеземом

Для строительства своих домиков диатомовые водоросли используют растворенный в воде кремний (в виде кремниевой кислоты) и, контролируя его полимеризацию, синтезируют створки панциря, создавая изысканные орнаменты микро- и нанометрового масштаба. Проводя аналогию между формированием панциря диатомей и строительством дома, отметим необходимость не только специального оборудования для создания разнообразных структурных элементов, но и исходных материалов, поступающих в точном соответствии с надобностью на том или ином этапе строительства. У диатомей этот непростой процесс обеспечивается специальными клеточными транспортными белками.

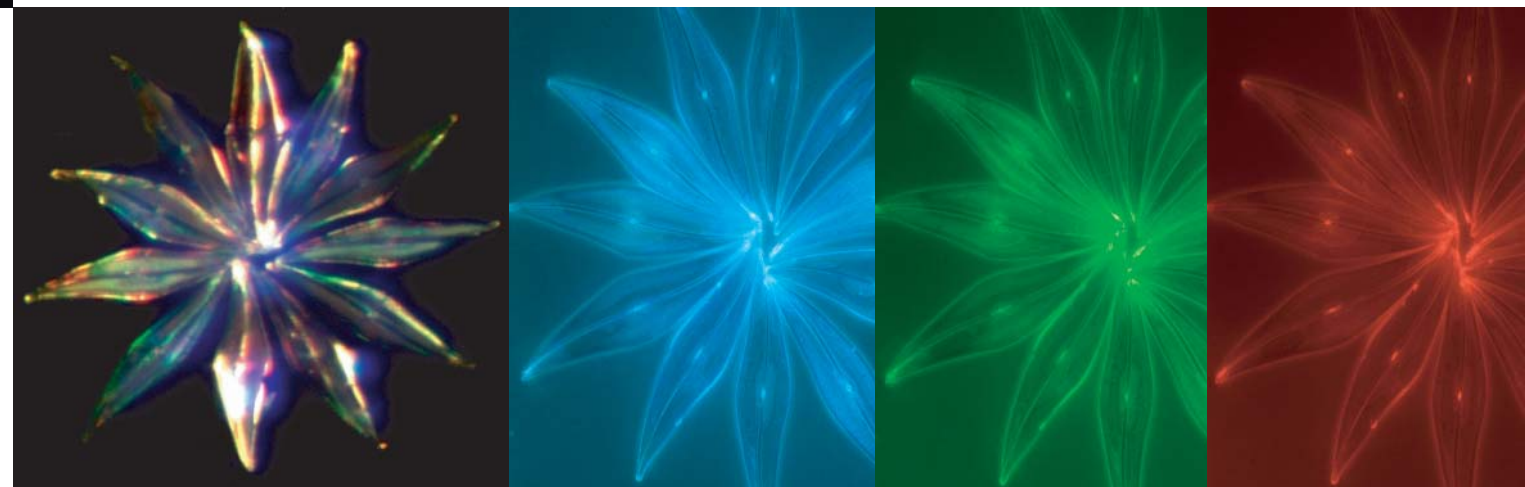
Детали соединения сестринских створок у диатомеи *Ellerbeckia*. (Дополнительные иллюстрации соединения частей кремнистых панцирей у этого вида — на с. 32)

62
мых местах может быть двойким: либо колония станет жесткой, как стержень (что увеличивает вероятность ее разрушения при больших нагрузках), либо часть приложенной к колонии энергии внешних воздействий должна рассеиваться через небольшие, но многочисленные и тесные контакты структурных элементов. Судя по тому, что нам не попадались цепочки водорослей со сломанными соединительными структурами, вся эта система соединений функционирует как единое целое по второму сценарию.

Почему именно у этого рода мы находим признаки, более не встречающиеся у других разнообразных форм диатомей? И почему другим колониобразующим видам, у которых отсутствуют подобные соединения, удастся избежать разрушения под действием тех же самых сил? Вероятно, ответ на этот вопрос лежит в самой истории древнего рода, сформировавшегося в мелководных бурных морях далекого прошлого. Тот факт, что представители других родов прекрасно живут рядом с *Ellerbeckia* и другими реликта-

ми, добавляет таинственности, но и подтверждает исключительное разнообразие диатомей и их стратегий выживания. И в этом смысле диатомовые являются настоящей «золотой жилой» для нанотрибологии, которой суждено внести весомый вклад в технологическое завтра человечества.

В публикации использованы фотографии Р. Кроуфорда



Особое расположение мелких деталей на створках у некоторых видов диатомей может усиливать взаимодействие их «стеклянного» панциря со светом. Первое фото слева — пример преломления света в панцире диатомеи; другие фотографии получены с помощью разных цветных фильтров. Световая микроскопия

Основной формой кремния в океане является кремниевая кислота (97 %); остальное приходится на долю силикатов. Поскольку диатомовым водорослям, чья численность в океане очень велика, кремний жизненно необходим, именно они влияют на его концентрацию в морской воде. Согласно литературным данным, до появления диатомей и других кремнистых организмов вода в мировом океане была просто насыщена кремнием (1,7–2,5 мМ), сегодня же его концентрация упала до 70 мкМ и ниже, а в поверхностных водах — до 1 мкМ. Концентрация же кремниевой кислоты внутри диато-

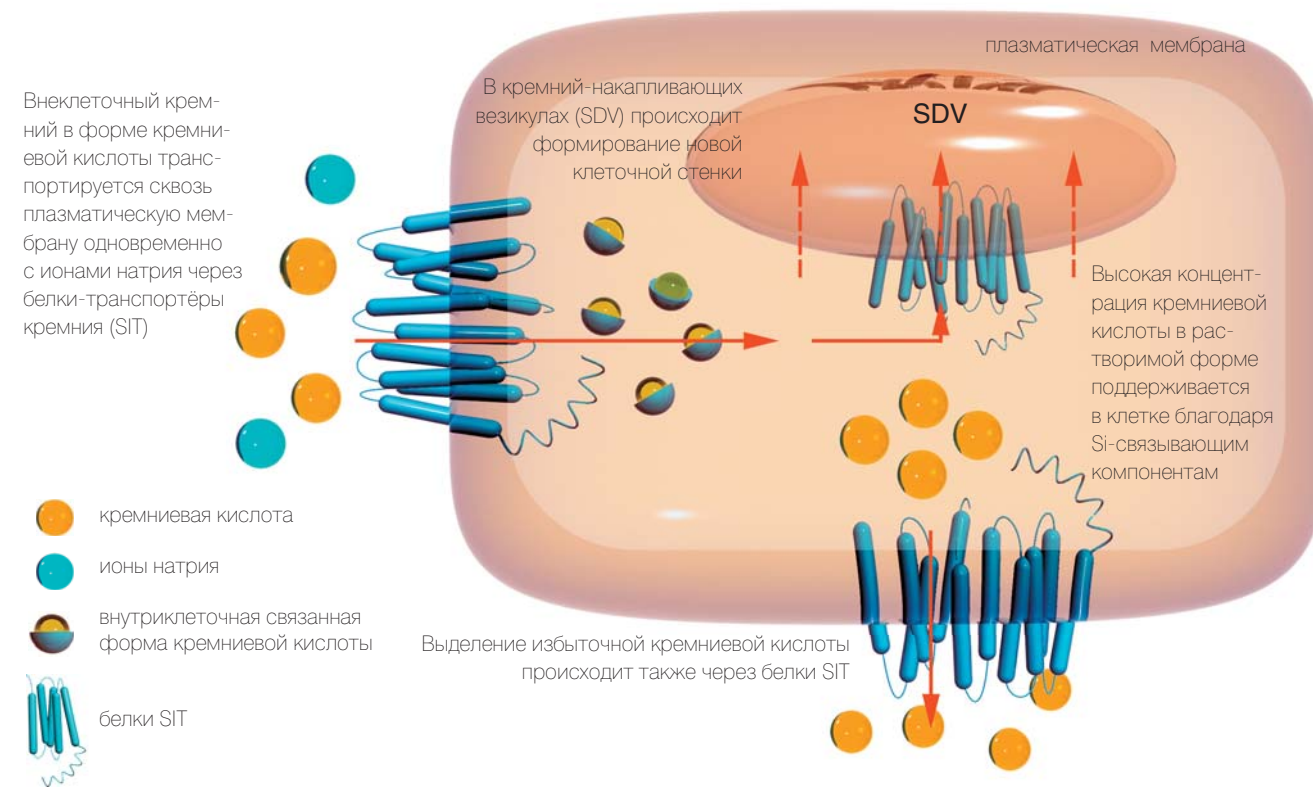
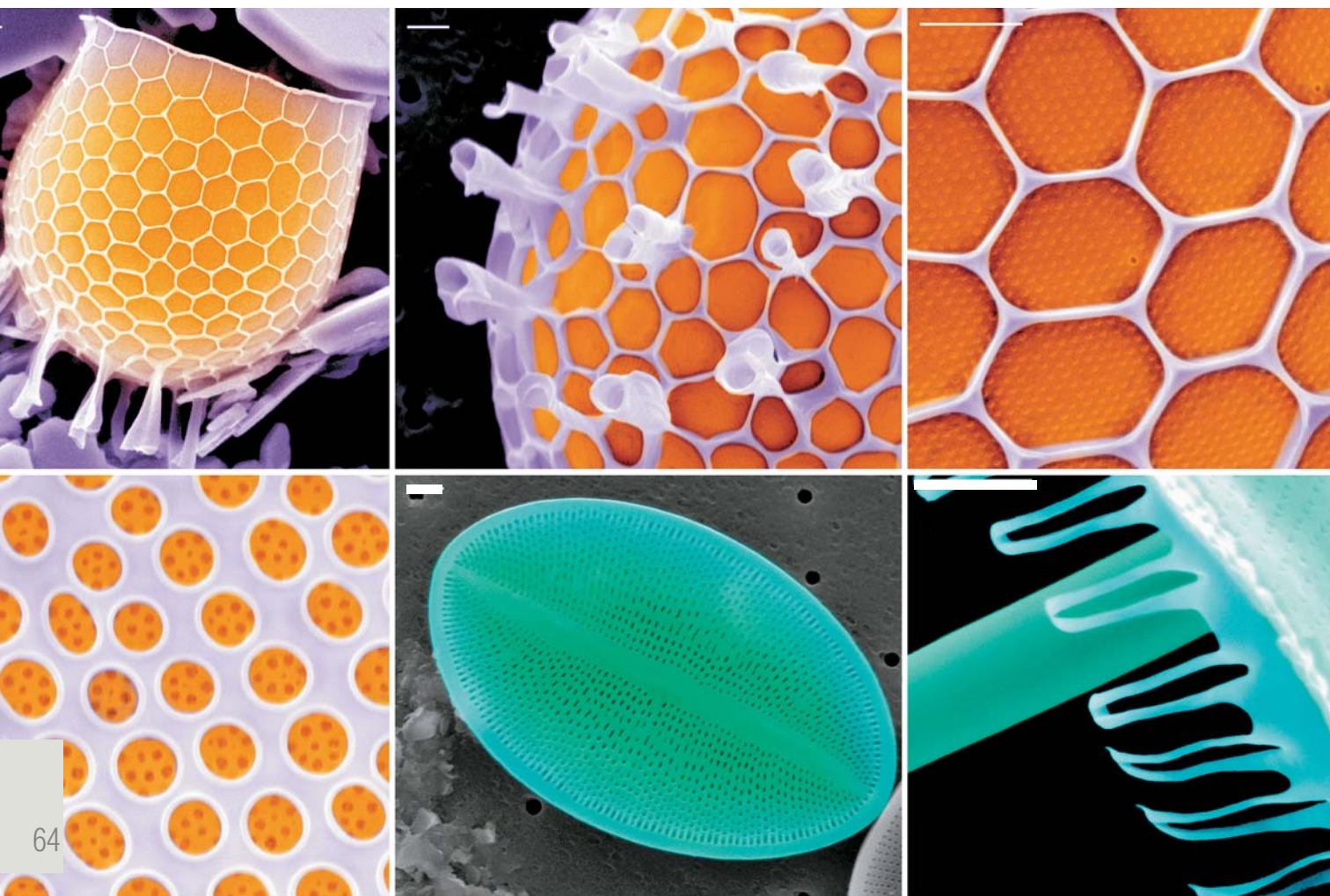
стройматериалы на грузовике через ворота, расположенные на высоком крутом холме.

Вторая проблема заключается в том, что при концентрациях, превышающих 2 мМ, кремниевая кислота начинает самопроизвольно полимеризовываться. Подобный процесс, идущий не в «том» месте, губителен для клетки — все равно как бетонную смесь выгрузить не на стройплощадке, а в соседнем садике. Однако, поскольку в диатомовой клетке самопроизвольная полимеризация кремния повсеместно не наблюдается, должен существовать какой-то механизм сохранения

сверхнасыщенного раствора кремниевой кислоты. Предположительно, он заключается в связывании кремниевой кислоты с органическими молекулами или белками.

Распознают, связывают и транспортируют кремниевую кислоту из окружающей среды специальные белки, называемые транспортерами кремния (SIT). Они пронизывают мембрану, формируя особый канал для проведения кремния через непроницаемый для него липидный слой. В исследованиях на морских диатомеях показано, что для поглощения кремния из среды

ены, кодирующие SIT, были впервые обнаружены у морской диатомеи *Cylindrotheca fusiformis* — пять отдельных генов, отличающихся уровнем и режимом экспрессии в ходе формирования клеткой дочерних створок. В недавно расшифрованном геноме центрической диатомеи *Thalassiosira pseudonana* обнаружены три белка SIT. Можно предположить, что у диатомей много генов SIT для того, чтобы иметь возможность жить при разных концентрациях кремния, поскольку средство и способность к транспортировке кремния у разных белков различная.



Попав в клетку, кремниевая кислота транспортируется в специализированные везикулы (SDV), депонирующие кремний. Внутри них в слегка подкисленной среде находятся полипептиды или длинноцепочечные полиамины, которые полимеризуют кремниевую кислоту, превращая ее в створку новой клетки. Когда новая створка внутри везикулы полностью сформируется, она выводится из клетки наружу

мовой клетки лежит в диапазоне 19–350 мМ. Получается, что внутриклеточная концентрация кремниевой кислоты в тысячи раз выше внеклеточной!

Эти данные поднимают две основные проблемы. Во-первых, диатомеи должны каким-то образом забирать кремниевую кислоту из среды против очень «крутого» градиента концентраций — все равно как подвозить

Таковыми видятся кремниевые панцири диатомей в сканирующий электронный микроскоп. Масштаб: 2 мкм

В публикации использованы фото авторов

требуется присутствие ионов натрия во внеклеточном пространстве. Поскольку высокая концентрация натрия в океане благоприятствует его попаданию в клетку по градиенту концентрации, то белки SIT могут использовать энергию, выделяющуюся при проникновении натрия, для одновременного переноса кремния. То есть SIT являются, по-видимому, натрий/кремний симпортерами.

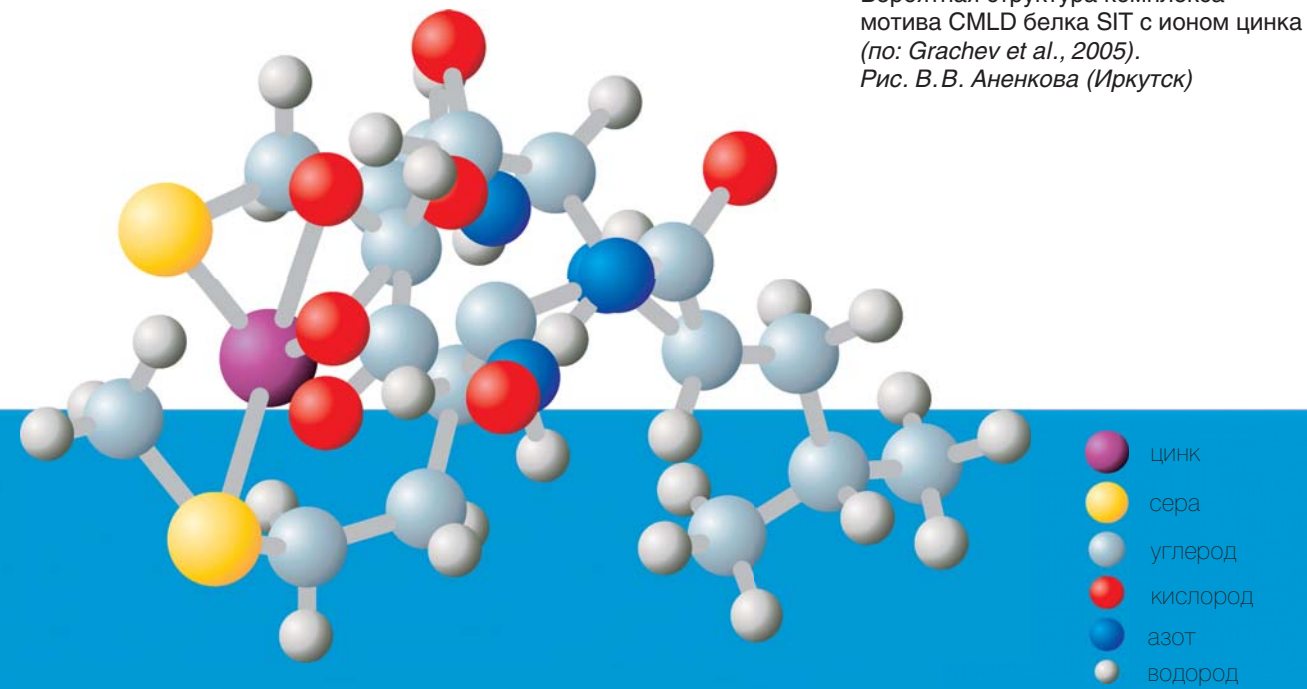
SIT оказались первыми белками, для которых была доказана способность напрямую и специфично взаимодействовать с кремниевой кислотой. К настоящему времени обнаружено несколько других белков, взаимодействующих с кремнием, тем не менее SIT до сих пор остаются единственными белками, взаимодействующими с кремниевой кислотой без ее полимеризации. Уникальность аминокислотных последовательностей SIT

позволяет говорить о новом семействе белков-транспортеров. Это делает их особенно привлекательными для ученых, но затрудняет исследование деталей их функционирования, поскольку аналоги, необходимые для моделирования, отсутствуют. Для объяснения взаимодействия белков SIT с кремниевой кислотой предложено два возможных механизма. Обе эти модели базируются на сравнениях последовательностей аминокислот в белках и на достаточно ограниченном объеме экспериментальных данных. Предлагаемые механизмы действия белков SIT различаются, но сейчас у ученых есть возможность проверить их в лабораторных экспериментах.

С помощью современных молекулярно-биологических методов можно направленно изменить ключевые

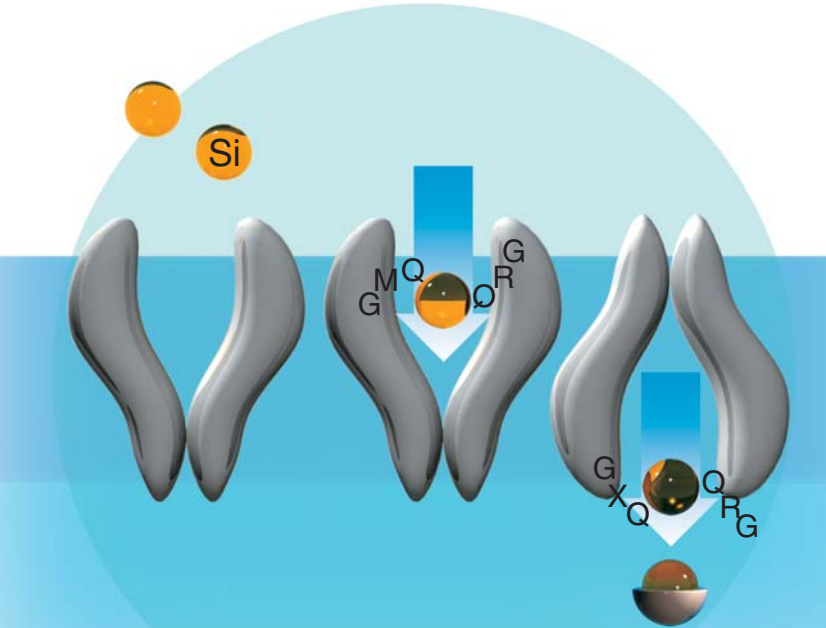
аминокислотные остатки в белках, что позволит в прямом эксперименте установить их роль в транспорте кремния. Во многих изученных видах диатомей присутствует несколько копий генов, кодирующих эти белки, которые образуют семейство генов *sit*. Важным инструментом для дальнейшего изучения SIT может стать перенос отдельных генов семейства в другой организм, не являющийся диатомовой водорослью.

Нужно отметить, что белки SIT, играющие такую существенную роль в метаболизме кремния диатомей, могут быть использованы как отличная модель для понимания механизма взаимодействия живых систем с этим элементом. Кремний важен практически для всех форм жизни, в том числе для



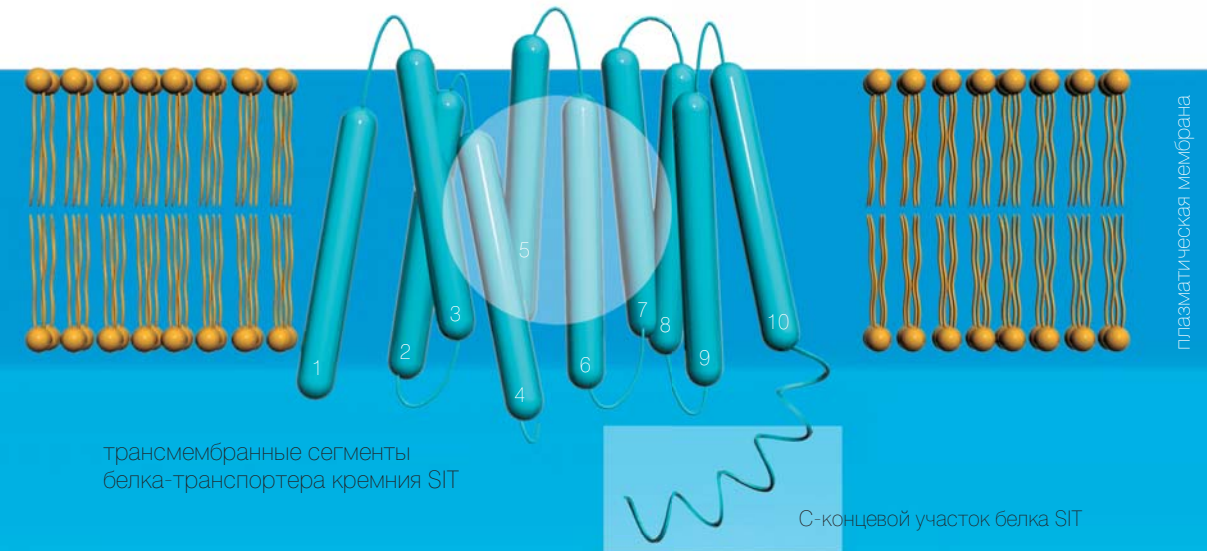
высших растений, которым он обеспечивает жесткость стебля, высокую урожайность и устойчивость к болезням, и для позвоночных, у которых участвует в формировании костей, хрящей, соединительных тканей. Детальное изучение механизмов распознавания, связывания и транспорта кремниевой кислоты у диатомовых водорослей может пролить свет на механизмы участия этого элемента в жизненно важных процессах живых существ.

Стадии транспорта кремниевой кислоты через мембрану клетки с помощью мотива GXQ белка-транспортера кремния (SIT) (по: Thamtrakoln et al., 2006)



Кремниевая кислота связывается с глутаминами (Q) мотивов GXQ, расположенных в направленном во внешнюю среду фрагменте белка SIT — в гидрофильной петле между 7-м и 8-м трансмембранными сегментами

Изменение формы белка позволяет глутамину из внутриклеточной гидрофильной петли между 2-м и 3-м сегментами связать кремниевую кислоту, тем самым продвигая ее внутрь клетки



Белки-транспортеры кремния SIT у диатомовых состоят из десяти пронизывающих плазматическую мембрану сегментов, соединенных гидрофильными петлями. У пеннатных диатомовых *Cylindrotheca fusiformis* и *Nitzschia alba* (у них последовательности SIT полностью расшифрованы) внутриклеточный С-концевой участок формирует особый «суперзакрученный» мотив. Известно, что такие закрученные аминокислотные мотивы участвуют в белок-белковых взаимодействиях. У центральных диатомей *Thalassiosira pseudonana* и *Skeletonema costatum* таких мотивов нет

Предложено два альтернативных механизма взаимодействия белков-транспортеров кремния (SIT) с кремниевой кислотой. Согласно первой модели кремниевая кислота связывается с ионом цинка, находящимся в активном центре мотива CMLD белка SIT. Этот мотив найден не только у большинства диатомей, но и у гораздо более древних хризофитовых (золотистых) водорослей (Лихошвай и др., 2006). Вторая модель взаимодействия белков SIT с кремниевой кислотой основана на изменении конформации самого белка-транспортера. При сравнении 29 последовательностей белков SIT из 12 видов диатомей в четырех разных районах белковой молекулы идентифицирован консервативный мотив GXQ, предположительно отвечающий за связывание кремниевой кислоты с помощью водородных связей (Thamtrakoln et al., 2006)