

综 述

贝类钙代谢研究概况

Overview of studies on calcium metabolism in molluscs

唐 敏 石安静

(四川联合大学生物系, 成都 610064)

Tang Min, Shi Anjing

(Department of Biology, Sichuan Union University, Chengdu 610064)

关键词 贝类, 钙, 代谢

KEYWORDS molluscs, Calcium, metabolism

贝类种类繁多, 应用广泛, 在医药、农业、工业中受到越来越多的重视。随着人工培育珍珠技术的发展, 贝类的经济价值有了很大提高。贝类的矿质硬壳和光泽美丽的珍珠, 其主要成分都是碳酸钙, 占 90% 以上^[1]。贝壳和珍珠都是贝类进行钙代谢, 最终以碳酸钙结晶形式沉积而成的。珍珠主要在贝类的外套膜和内脏团附近的囊袋中形成, 贝壳是外套膜分泌物形成的。因此, 研究贝类钙代谢, 特别是外套膜组织的钙代谢, 对进一步阐明贝壳以及珍珠形成机理, 提高优质珠的产量都有着重要意义。

到本世纪中期, 随着各种新技术、新方法的出现以及发展应用, 这方面的研究也有了较大的进展, 本文主要综述了贝类钙代谢的研究成果及进展, 以了解其研究动态, 期望为贝类钙代谢以及贝壳和珍珠形成机理方面的深入进行提出新的研究方向, 为贝类养殖业提供参考资料。

1 钙的吸收

用放射性同位素⁴⁵Ca 研究的结果表明, 淡水贝类和海水贝类都积极地从环境中吸收钙^[1]。贝类吸收钙的途径主要有两条: 一是通过消化系统从摄取的食物中吸收钙, 二是通过与周围水环境相接触的贝体各组织器官(如外套膜、鳃、足等)直接从环境中吸收钙。对于淡水贝来讲, 环境水中钙含量很低, 直接从环境中吸收钙是钙进入贝体内的一种重要途径。周围水环境中 Ca^{2+} , 以原有的离子形态难以直接穿过外套膜表皮细胞的质膜, 且要耗费一定的能量, 所以推测一部分 Ca^{2+} 在膜的界面上有离子搬运体结合, 形成复合体再进入细胞内^[1]。另有实验发现, 在淡水贝 *Hyriopsis cumingii* 和 *Anodonta woodiana pacifica* 尾部外套膜内表皮下, 聚集了大量酸性粘液腺的区域钙阳性反应很强, 推测酸性粘液在钙的截流、捕获及包装上起着重要作用^[2]。另一方面, 从外套膜中酶的组化定位研究结果可看出, 在钙阳性反应区域存在 ATP 酶、5'—核苷酸酶等酶的活性, 这表明此处的代谢活动旺盛, 为钙的逆浓度进入及粘液合成提供物质及能量基础^[3]。到目前为止, 贝类对钙吸收方面的研究还不多, 许多具体过程及机理仍不清楚, 还有待进一步的研究。

2 钙的贮藏和运输

2.1 钙的贮藏

淡水贝类和海水贝类都能从环境中吸收钙, 但由于它们所栖息环境的差异, 钙代谢机制显著不同。已有资料表明, 在海水贝外套膜和消化腺中几乎没有钙的存在^[4]。这是由于海水贝体内钙浓度低于海水中的钙浓度, 钙有过剩的可能,

国家自然科学基金资助项目(珍珠和贝壳形成机理的研究), 39970577 号。

第一作者简介: 唐 敏, 1972 年 8 月生, 女, 硕士。Tel: 028-5421848, E-mail: MinTang Tang@263.net

收稿日期: 1998-03-16

所以海水贝把体内剩余的钙积极向外排除,不在组织中滞留。而淡水贝的情况则与之相反,淡水贝体内钙浓度高于淡水中的钙浓度,如果钙贮藏机制不发达,体内的钙就有流失的危险,故淡水贝从环境中吸收的钙,除一部分被立即动用外,另一部分则主要以钙球体的形式贮藏起来备用。

钙球体普遍存在于无脊椎动物中,包括原虫类,扁形动物,环节动物,节肢动物及软体动物^[5]。在淡水贝类的结缔组织中、游走变形细胞内、血管及窦状隙中都分布有钙球体。放射自显影、组织化学、电子显微探针分析都充分证明了钙球体中含有大量的钙和磷及少量的硅、铁、锰和铅^[6,7]。透射电镜下,可见钙球体呈球形,电子密度不均一,被一低电子密度带分成高电子密度的中央核和较低电子密度的外周两部分。若用甲酸或 EDTA 进行脱钙处理后,整个钙球体呈绒絮团状,电子密度显著降低,中央着色比外周要浅。中央和外周这两部分的元素含量有明显差异,特别是钙和磷的含量,外周区域明显地低,这可能表示此区域的矿质离子已释放到了外套膜表皮细胞的基底区域^[8]。X 射线显微探针分析及透射电镜观察都发现钙球体内存在糖蛋白,这种糖蛋白与脊椎动物骨和钙化软骨中的糖蛋白相似,与无机离子沉淀有关,对 Ca^{2+} 具有高亲和力,从而形成糖蛋白——钙结合物^[9]。所以,钙球体作为淡水贝体内贮藏库,在钙的运输及钙的动态平衡中起着重要作用^[8]。

2.2 钙的运输

2.2.1 钙运输到外套膜表层

钙球体通过两种途径到达外套膜表皮细胞的基底部:一是通过囊腔系统;二是通过窦状网络系统。在表皮细胞下的组织中可见到钙球体围绕着囊腔和窦状网络通道。此外,还观察到有些钙球体位于游走变形细胞内或十分接近游走变形细胞。故推测,游走变形细胞在钙球体的运输中也起着很重要的作用^[7]。

2.2.2 钙穿越表皮细胞

经 Von kossa 反应可知,钙球体在外套膜表皮细胞或在外沟的柱状表皮细胞的基底部释放出钙^[7]。外套膜外表皮细胞和外沟的柱状表皮细胞在形态上很相似,都具有表面微绒毛及与之相联系的细胞被膜。细胞被膜与焦磷酸铋盐(Pyroantimonate)反应显著。显然,钙是从基底膜处进入表皮细胞或细胞间通道而到达细胞被膜的。采用同位素方法及电生理学研究表明淡水贝类的外套膜对钙具有高度通透性^[10~12]。在 *Mercenaria mercenaria* 外套膜上发现了细胞间可溶性钙离子通道^[13]。在其它贝类外套膜的表皮细胞间也发现了与质膜直接有关的细胞外离子运输通道^[14]。外套膜外表皮细胞内有许多大的多角型、高电子密度的实体,经酸性磷酸酶组化反应确认为溶酶体,用显微灰化法及显微探针分析,发现其中含有相当数量的钙及少量的铁、铅等^[15]。在细胞的顶端及基部都有分布,在细胞核的周围聚集成团簇,常与粗面型内质网、高尔基复合体等管状结构相联系。这些溶酶体不论在形态、元素组成,还是组化反应特征都与鸟类肠道吸收细胞(属钙吸收及运输表皮细胞)中的溶酶体非常相似,并且这两种表皮细胞对维生素 D_3 及其代谢产物都很敏感,若把此类甾体激素注射到外套膜外腔中,不仅会使外套膜表皮细胞的形态发生很大变化,而且使外套膜外腔溶液中钙的浓度从 10mg/L 至 40mg/L ^[15]。因此认为这类钙吸收及运输表皮细胞中的溶酶体在协同细胞的胞饮和胞吐作用,钙的方向性穿越细胞的运输及调节细胞内、外钙的稳态平衡中起着重要作用^[7,8]。Neff^[4] 在贝类外套膜外表皮细胞上发现了另一种细胞外钙的运输途径,即钙通过结合在某种钙结合蛋白上,通过胞饮作用进入细胞,这些泡状物随后与溶酶体融合,在酸性水解酶的作用下,钙结合蛋白变性,释放游离态的钙,再通过胞吐作用排到表皮细胞外。

3 钙的沉积

贝类钙代谢的一个显著特点是,以碳酸钙结晶形式沉积下来,与基质蛋白一同形成贝壳或珍珠。贝壳和珍珠同质,珍珠是球形的贝壳^[1]。它们的形成机制也基本相同。贝壳是整个外套膜分泌物形成的,珍珠是外套膜外表皮细胞进入体内,形成珍珠囊,由珍珠囊分泌物形成的。贝壳和珍珠的形成是个复杂而精细的生物矿化过程,在由外套膜和外套腔液组成的体系中完成。

3.1 外套膜

外套膜是贝壳形成的器官^[16,17]。外套膜由两层表皮细胞即其间的结缔组织构成。电刺激贝类外套膜外表皮,可产生两种动作电位:峰电位由位于表皮细胞基底膜上的钠离子内流形成;心肌样动作电位具有一个明显的平台期,由钙离子内流形成,钙通道位于细胞顶端膜^[18,19]。外表皮细胞上出现哪种动作电位,依赖于它的生理状态。在有效生长期,壳分泌和壳物质被吸收交替进行,处于有效分泌状态的蚌,外表皮细胞产生心肌样动作电位;在长期不利条件下,贝壳关闭,壳物质的被吸收占主要地位,这时外表皮细胞产生峰电位^[20]。石安静等^[21~23] 研究了三角帆蚌及椭圆背角无齿蚌外

套膜的超微结构,发现外套膜的内、外表皮都具有分泌和吸收功能,并指出表皮间的结缔组织也可能参与了贝壳、珍珠或其前体物的合成。内表皮分泌活动表现为持续性和连续性特点,外表皮分泌活动呈节律性和区段性特点。外套膜外表皮分泌的粘液为酸性非硫酸化粘液物质(富含唾液酸),内表皮分泌的为酸性硫酸化粘液物质。石安静等^[31]进行了三种淡水育珠蚌外套膜酶的研究,发现与表皮细胞向壳侧分泌蛋白质和钙有关的碱性磷酸酶只分布在表皮细胞。碳酸酐酶在蚌尾部的结缔组织中活性高,碳酸酐酶在调节蚌体内碳酸浓度及碳酸钙的沉积方面都起着重要作用。外套膜的内、外表皮细胞在结构和性质特征、分泌方式及分泌物性质上均有显著差异,反映出它们功能上的差异。外套膜进行生理机能活动的能量主要来源于糖原分解,cAMP 和 Ca^{2+} 在糖原分解过程中起着重要的调节作用^[24]。

3.2 碳酸钙晶体的形成和沉积

外套膜细胞分泌的钙质进入外套膜外腔溶液,最终形成碳酸钙结晶,有序地沉积在壳内表面,完成壳的长大和加厚,形成的贝壳是碳酸钙结晶与壳基底层相互交替排列的结构,从珍珠的剖面上也可看到类似的结构。这是一个复杂的生物矿化过程,受基因调控。贝壳缘结晶层的形成与角质层关系密切。这方面的研究正在逐步深入,已取得了一定的进展。

3.2.1 外套膜外腔溶液

外套膜外腔是指在贝壳与外套膜之间,由壳缘角质层封闭而形成的一个腔。腔内的外套膜外腔溶液是贝类钙沉积的环境,是壳形成系统的液体部分。

研究发现,外套膜外腔溶液由多种有机、无机物质混合而成^[4,25]。外套膜外腔溶液是相对独立于血腔和体外水环境的^[2,26]。由外套膜外表皮细胞分泌而来的。凝胶电泳及免疫研究发现,双壳类中一些蛋白质广泛存在于不同物种的外套膜外腔溶液中,而另一些蛋白质具有种族特异性^[27]。圆盘凝胶电泳实验表明在经过透析的外套膜外腔溶液中至少有五种蛋白质成分,其中三种广泛存在于贝类的外套膜外腔溶液中及壳有机基质中。在相近的种类之间,蛋白质和粘多糖的种类都极其相似。故推测,一些必需酶和基质蛋白的基本单位是外套膜外腔溶液中恒定的组分,这表明贝类不同种间,其壳形成机制是相似或相同的^[25]。

3.2.2 碳酸钙晶体的形成

碳酸钙晶体的形成首先通过核化作用形成晶核,在晶核上随着晶种的形成和生长,进而形成碳酸钙晶体。这整个过程都与贝壳有机基质密切相关,贝壳有机基质决定碳酸钙晶体形成类型、形状、大小及碳酸钙的沉积速率。故称此生物矿化过程为“有机基质介导”的过程^[28]。

贝壳有机基质由外套膜表皮细胞分泌的蛋白质和糖类物质组成,根据在 EDTA 中的溶解性,分为不溶性的纤层内基质(IM)和可溶性的纤层间基质(SM)。所有的基质蛋白中都有 $(\text{Asp}-\text{Y})_n$ 的重复序列结构,Y 主要是 Ser 或 Gly^[29-31]。透射电镜显示 SM 多分布在 IM 表面,与晶体表面直接接触^[32]。不溶性基质硬化后构成晶体生长的网架状三维空间结构。大量研究发现,各种贝类的 SM 在贝体内、外都对碳酸钙晶体的形成有重要的调节作用^[33]。使用高效液相色谱技术(HPLC),发现 SM 中含有许多明显分段的组分^[30],其一级结构中主要氨基酸顺序是 $(\text{Asp}-\text{Y})_n$,此外,一级结构中还包括疏水性氨基酸区域,多聚丝氨酸,这种序列类似于胶原和蚕丝等结构蛋白质的序列特征。红外光谱技术发现,此类蛋白质大多呈 β 折叠结构。Wheeler 等^[34]研究了贝壳有机基质结合钙的能力及其与钙化的关系,发现在正常生理离子强度下,SM 在体内、外对碳酸钙晶体的亲和力都远远高于对 Ca^{2+} 的亲和力。体外实验还证明,SM 能引起核化作用的发生。因此,他们认为,SM 启动晶体生长,并不是通过结合游离 Ca^{2+} 而是通过固定化离子簇或珍珠质晶体物来实现的。在生理条件下,这些离子簇或珍珠质晶体反复地溶解与形成,最后稳定下来,形成晶核。SM 结合晶体的特性与它的双重功能——诱导晶核形成、抑制晶体生长相适应的。

研究表明,调节晶核形成的关键在于矿物质与有机质界面之间的相互作用^[35]。晶核形成位点在壳有机基质上是呈分散、不连续排列的,这是由有机大分子构成的基底表面及空间结构决定的。有机基质大分子的功能基团与无机离子之间的界面只有在电荷及空间结构上互补的位置才可形成晶核。这种识别主要表现在三个方面:静电积累,结构相应,立体化学特征。有机基质局部阴离子电荷的积累形成离子位效应,能诱导晶核的形成且有利于阳离子的初步结合,一些有机基质蛋白可形成有利于钙结合的空间构象; CO_3^{2-} 的立体化学特征决定了不同结晶型。随着贝壳的生长,在周期性形成的有机基质上,晶核位点反复生成,从而形成三维棱柱状的方解石结晶和片状的霏石结晶。

3.2.3 壳有机基质对碳酸钙结晶型的影响

贝类形成的碳酸钙结晶主要有两种类型:棱柱状的方解石结晶和片状的霏石结晶。在自然界中,还存在一种称之为球状方解石结晶的碳酸钙结晶型,性质不稳定,在正常的生物矿化中一般不存在。碳酸钙结晶的这两种同质异象结晶的晶体结构十分相象,主要差异表现在 CO_3^{2-} 的位置及配位数的不同。与方解石相比,霏石中 CO_3^{2-} 群旋转了 30° ,结果在

其间形成较大的阳离子空间, 它的配位数随之增多, 方解石的配位数为 6, 霏石的配位数为 9。它们属于不同的结晶系, 方解石属于六方晶系, 霏石属于斜方晶系。从热力学角度看, 方解石比霏石结构稳定。贝壳中的棱柱层由方解石形成, 珍珠层或瓷质层由霏石形成, 经 X 射线研究发现这两层的组构轴都和贝壳表面相垂直^[1]。

有关贝壳里这两种碳酸盐结晶系形成的条件及其调节元素, 很多学者进行了各方面的研究, 认为在生物矿化系统中, 决定不同结晶系产生的因素主要是矿化环境中某些无机离子、分子(如 Mg^{2+} , CO_2), pH 值, 温度及壳有机基质^[1]。近年来, 随着研究的深入进行, 越来越多的实验表明壳有机基质是不同碳酸盐结晶系形成的决定性因素。Melenakshi^[35] 在 *Pomacea paludosa* 壳再生研究中发现正常壳只含有霏石, 而再生壳在早期阶段是方解石和霏石构成的, 与正常壳基质相比, 再生壳基质中 Gly 含量低, 酸性氨基酸含量高, 认为当基质中酸性氨基酸/碱性氨基酸的比值小于 1 时形成霏石结晶, 大于 1 时形成方解石结晶, 另有研究表明, 贝壳棱柱层与珍珠层中的壳基质蛋白质不同, 在 *M. californianus* 中大约一半数量的蛋白质在棱柱层与珍珠层中是一样的, 而另一半则是各层中独有的。其中, 纯化出只存在棱柱层中的两种同源性蛋白质, 这与在另一种贝类 *Pinctada margaritifera* 中发现的情况类似, 故推测这类蛋白质在诱导形成方解石结晶中起着关键作用^[28]。

Bowen^[36] 研究了贝壳霏石层的壳基质蛋白, 发现普遍存在三类分子量分别为 37 800, 23 200, 19 600(Da) 的蛋白质, 高分子量蛋白质主要由脂肪族氨基酸和碱性氨基酸组成, 占总量的 87%, 而 Asp 和 Glu 的量少于 1%, 这种组成十分有利于它与其它蛋白质间的相互作用, 据此, 他们提出了一种霏石形成模型, 即高分子量的蛋白质作为锚蛋白, 把可溶性的酸性蛋白质连接到不溶性的壳基质上, 酸性蛋白质在壳基质上特定有序的结合才能诱导形成霏石结晶。这与马文涛等^[37] 进行体外实验所得的结论相同, 认为可溶性基质只要在一定的条件下才能诱导霏石形成, 这个条件就是具有特定的有序构象 β - 折叠。

Miyamoto 等^[38] 在研究壳有机基质对碳酸盐结晶型的影响的分子机理时, 分离纯化出珍珠层中的一个 60kD 的蛋白质, 命名为珍珠质蛋白, 并采用 Northern blot 分析技术, 发现珍珠质蛋白的转录只特异性地在外套膜细胞中进行。故推测它在霏石结晶的形成中有着重要作用。通过对珍珠质蛋白氨基酸序列的分析, 发现这种蛋白质包括两个区域: 一个是碳酸酐酶区域, 另一个是 Gly X-Asn(X= Asp, Asn 或 Glu) 的重复序列, 其中碳酸酐酶区域被 Gly X-Asn 分开成两个亚区域。实验表明, 珍珠质蛋白中的碳酸酐酶具有酶活性, 催化 CO_2 和 HCO_3^- 之间的可逆反应($CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$); Gly X-Asn 区域可结合钙。可见, 珍珠质蛋白不仅是一个结构蛋白质, 还是一种有催化作用的酶。他们推测, 在珍珠质蛋白的作用下, 珍珠层的形成模式是: 通过呼吸作用产生的 CO_2 与 H_2O 在珍珠质蛋白的作用下转变成 HCO_3^- , HCO_3^- 进一步转化成 CO_3^{2-} , CO_3^{2-} 结合 Ca^{2+} 后, 珍珠质蛋白通过改变 CO_3^{2-} 的立体化学位置, 进而形成霏石结晶。酶催化产生的 H^+ 经过质子泵排出或被海水稀释。

对贝壳有机基质生化方面的研究表明, 大分子有机物质在矿化位点形成了复杂而有规律的排列方式, 在霏石结晶层中, 不溶性基质成分组成一个以 β - 几丁质夹于两层蚕丝纤维样蛋白质的三明治结构的核心, 外边覆以可溶性基质成分, 它与其下的反平行 β 折叠多肽链走向一致, 以提供有利的晶体核化界面。Falini 等^[40] 以蚕丝纤维代替蚕丝纤维样蛋白质在体外模拟此结构作为结晶基底, 对结晶型形成条件进行了一系列的研究。发现在体外诱导形成的基底内的结晶型取决于可溶性基质蛋白的来源, 这表明有机基质大分子是主动诱导相关结晶型晶体的形成, 而不是通过抑制不相宜结晶型的形成。若取出蚕丝, 在来自霏石结晶的可溶性基质蛋白诱导下, 在基底内会产生球状方解石结晶; 而蚕丝的有无对方解石的结晶不产生影响。扫描电镜发现, 基底内生成的晶体与几丁质骨架联系密切, 每一个晶体单元也都与有机基质相联系。这些实验结果都表明, 壳有机基质大分子对碳酸盐结晶生成类型起着决定性因素, 其间并不需要其它离子就可为碳酸盐晶体的不同结晶型提供相宜的晶体核化三维空间结构和局部微环境^[40]。

Beldher 等^[41] 研究了鲍鱼壳珍珠层有机基质中的可溶性多聚阴离子蛋白质在体外对碳酸盐结晶型的影响。他们发现, 在这种蛋白质的作用下就可控制碳酸盐两种结晶型之间的相互转换, 在此种蛋白质存在的情况下, 产生霏石结晶; 而当此种蛋白质不存在或耗尽时, 会产生方解石结晶。他们认为这种多聚阴离子蛋白质与形成高度有序的晶体盘形态有关, 而晶体盘的精确厚度则由不溶性基质蛋白纤层间固有空间决定。这些结果表明, 晶体的核化作用, 晶体的生长, 晶体的形态及类型的调节只受有机大分子的控制, 并不象以前所认为的需要预先准备好的有机、无机物质组合成的杂复结构作为基础。

从本质上讲, 决定碳酸盐结晶的形成, 不同结晶型有序地沉积排列形成贝壳和珍珠的因素主要由生物自身决定, 是与其功能相适应的^[42], 并在基因水平进行调节^[35]。

3.2.4 角质层对棱柱层和珍珠层形成的影响

在研究整个贝壳形成, 长大, 加厚过程中, Peit^[7] 通过对淡水贝 *Amblema plicata* *perplicata* 壳缘形成的细致观察研究, 发现角质层对壳缘结晶层的形成具有重要的指导和调节作用。

角质层是一层富含赖氨酸残基的硬化蛋白质,覆盖于贝壳外表面,对贝壳的钙化层有防腐蚀保护作用,另一方面,角质层在贝壳边缘钙化层形成过程中为碳酸钙结晶提供了模板,并起着引导和组织作用^[43]。角质层来源于外褶和中褶之间的外沟^[44,45],呈多层结构, Petit^[7]将其分为三层,每一层又由多层叠合而成。外层为基底细胞和周围少数几个细胞分泌形成的硬化糖蛋白基质,覆盖于贝壳最外面,在 Masson 三色法中显淡桔红色;中层为外褶内侧的柱状细胞分泌的糖蛋白质形成,又称为纤维基质,在 Masson 三色法中显绿色;内层由外褶外表皮细胞分泌的糖蛋白复合物组成。实验结果表明,角质层中的中层和内层都能结合大量的钙,推测这两层在壳缘的棱柱层和珍珠层(或瓷质层)的形成中起着相应的调节和组织指导作用。

Petit^[7]认为壳缘棱柱层的形成几乎全归功于角质层中层的组织作用。从外沟出来的角质层向壳缘靠近的过程中,在角质层中层出现许多囊泡,囊泡起着分割矿物质的作用,囊泡中逐渐堆积矿质复合物,并由针状矿物质融合为球状亚单位,囊泡也不断伸长,成为圆柱状,当其向壳侧迁移时,这些充满了结晶亚单位的圆柱状就变成了特征性的棱柱状结晶单位,并在其表面能不断地结合无机复合物或小晶体,使棱柱状结晶不断生长,最终形成典型的贝壳棱柱层。

类似于棱柱层的形成,贝壳珍珠层主要在角质层内层的组织引导下形成的。角质层延伸出外沟后,其内层出现了高度的折叠,这种折叠增大了表面积,有利于捕获外套膜外腔中更多的钙离子。当其与中层再结合在一起时,折叠逐渐消失,自结合点起内层开始增厚,同时,蛋白质纤维开始有规律地向内突出,突出物的表面有砖块状的碳酸钙结晶,推测是由针状的碳酸钙结晶融合而成的。认为这些突出物可能起着将基质等距离区域化的作用,并能引导它们按顺序不断沉积在等距小室里,形成壳缘珍珠层。

4 结语

有关贝类钙代谢方面的研究,过去主要集中在形态学研究及生物化学方面的研究。近几年来才开始从分子生物学角度及生物矿化学方面进行研究,同时,也注意到了外界环境因子的影响。这些研究的深入进行将是解决贝类钙代谢中各种问题的主要研究方向。

参 考 文 献

- 熊大仁. 珍珠的研究. 北京: 农业出版社, 1966, 6~ 7
- 陈蜀娜, 石安静. 河蚌外套膜钙的组织化学定位及运输途径的研究. 四川大学学报(自然科学版), 1992, 31(专辑): 175~ 178
- 石安静, 吴宗文. 三种淡水育珠河蚌外套膜酶的组织化学研究. 水产科学, 1985, 4(2): 1~ 6
- Richardson C A, Runham N W, Crisp O J. A histological and Ultrastructural study of the cells of the mantle edge of a marine bivalve, *Cerastoderma edule*. Tissue Cell, 1981, 13(4): 715~ 730
- Watabe N, et al. Calcarous spherules in molluscs with special reference of *Pomacea paludosa*. The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants University of South Carolina Press. 1976
- Tompa A S, Watabe N. Calcified arteries in a gastropod. Calc Tiss Res. 1976, 32: 159~ 172
- Petit H, Davis W L, Jones R G. Morphological studies on the calcification process in the fresh water mussel *Amblema*. Tissue Cell, 1980, 12: 13~ 28
- Davis W L, Jones R G, Hagler H K. Calcium containing lysosomes in the normal chick duodenum: A histochemical and analytical electron microscopic study. Tissue Cell, 1979, 11: 127~ 138
- Bonucci E, et al. The organic-inorganic relationship in calcified mitochondria. J Cal Biol, 1973, 59: 185~ 211
- Kirschner L B, Sorensen A L, Kriebel M. Calcium and electric potential across the clam mantle. Science, 1960, 131: 735
- Kirschner L B. Transepithelial electrical phenomena in the molluscan mantle. J Gen Physiol, 1962, 46A: 362~ 363
- Ist in M, Kirschner L B. 1968. On the origin of the bioelectrical potential generated by the fresh water clam mantle. J Gen Physiol, 1968, 51: 478~ 496
- Barry P H, Diamond J M. A theory of ion permeation through membranes with fixed neutral sites. J Memb Biol, 1971, 4: 295~ 330
- Neff J M. Ultrastructural studies of periostracum formation in the hard shelled clam *Mercentaria mercenaria* (L). Tissue Cell, 1972, 4: 311~ 326
- Jones R G, Davis W L. Calcium containing lysosomes in the outer mantle epithelial cells of *Amblema*, a fresh water mollusc. The Anatomical Record, 1982, 203: 337~ 343
- Wilbur K M. Shell formation and regeneration. Physiology of Molluscs. New York: Academic Press. 1964, 243~ 282
- Wilbur K M. Shell formation in mollusks. Chemical Zoology. New York: Academic Press 1972, 7: 103~ 145
- Beirao P S, Nascimento J H M. Sodium and calcium dependent mechanisms in the action potential of secretory epithelium of a clam mantle. J Exp Biol, 1989, 145: 395~ 402

- 19 Soreson A L, Wood D S, Kirschner L B. Electrophysiological properties of resting secretory membranes of lamellibranch mantle. *J Gen Physiol*, 1980, 75: 21~ 37
- 20 Beirão P S, eorenson A L. Two types of action potentials in a secretory epithelium of a clam mantle. *J Exp Biol*, 1986, 121: 179~ 195
- 21 石安静, 张 兵. 三角帆蚌外套膜细胞的超微结构. *水生生物学报*, 1987, 11(0): 236~ 240
- 22 石安静, 刘绍龙. 河蚌外套膜组织培养细胞与未培养细胞分泌活动的亚显微形态结构的研究. *四川大学学报(自然科学版)*, 1994, 31(专辑): 70~ 77
- 23 石安静, 陈维凉, 刘晓光. 淡水育珠蚌外套膜表皮细胞分泌方式的研究. *水生生物学报*, 1994, 18(4): 369~ 375
- 24 Semano F S J, Gonzalez M F, Lopez J L S. Molecular mechanism of the control of glycogenolysis by calcium ions and cyclic AMP in the mantle of *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Comp Biochem Physiol*, 1995, 110(3): 577~ 582
- 25 Misogianes M J, Chasteen N D. A chemical and spectral characterization of the extrapallial fluid of *Mytilus edulis*. *Analytical Biochemistry*, 1979, 100: 324~ 334
- 26 Young S D, Crenshaw M A, King D B. Mantle protein excretion and calcification in the hardshell clam. *Mar Biol*, 1977, 41: 253~ 257
- 27 Pirzák J E, Bates J M, Scott R M. Constituents of Unionid extrapallial fluid, I. Electrophoretic and immunological studies of protein components. *Biol Bull*, 1973, 144: 391~ 399
- 28 Weiner S. Mollusk shell formation: Isolation of two organic matrix proteins associated with calcite deposition in the bivalve *Mytilus californianus*. *Biochemistry*, 1983, 22: 4139~ 4145
- 29 Meenakshi V R, Hare P E, Wilbur K M. Amino acids of the organic matrix of neogastropod shells. *Comp Biochem Physiol*, 1971, 40B: 1037~ 1043
- 30 Weiner S, Hood L. Soluble protein of the organic matrix of mollusk shells: A potential template for shell formation. *Science*, 1975, 190: 987~ 989
- 31 Keith J, Stockwell S, Ball D. Comparative analysis of macromolecules in mollusc shells. *Comp Biochem Physiol*, 1993, 105B: 487~ 496
- 32 Wheeler A P, George J W, Evans C A. Control of calcium carbonate nucleation and crystal growth by soluble matrix of oyster shell. *Science*, 1981, 190: 987~ 989
- 33 Wheeler A P, Rusenko K W, Swift D M. Regulation of in vitro and in vivo CaCO_3 crystallization by fractions of oyster shell organic matrix. *Mar Biol*, 1988, 98: 71~ 80
- 34 Wheeler A P, Rusenko K W, George J W. Evaluation of calcium binding by molluscan shell organic matrix and its relevance to biomineralization. *Comp Biochem Physiol*, 87B(4): 1987, 952~ 960
- 35 Mann S. Molecular recognition in biomineralization. *Nature*, 1988, 332: 119~ 124
- 36 Meenakshi V R, Blackwelder P L, Hare P E. Studies on shell regeneration I. Matrix and mineral composition of the normal and regenerated shell of *Pomacaululosa*. *Comp Biochem Physiol*, 1975, 50A: 347~ 351
- 37 Bowen C E, Tang H. Conchiolin protein in aragonite shells of molluscs. *Comp Biochem Physiol*, 1994, 115A(4): 269~ 275
- 38 马文涛, 沈亦平, 曹连欣. 贝壳有机质对晶型形成的控制作用. *武汉大学学报(自然科学版)*, 1996, 42(4): 469~ 474
- 39 Miyamoto H, Miyashita T, Okushima M. A carbonic anhydrase from the nacreous layer in oyster pearls. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 1996, 93: 9657~ 9660
- 40 Falmi G, Albech S, Weiner S. Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules. *Science*, 1996, 271: 67~ 69
- 41 Belcher A M, Wu X H, Christen R J. Control of crystal phase switching and orientation by soluble mollusc shell proteins. *Nature*, 1996, 381: 56~ 58
- 42 Berman A, Hanson J, Leiserowitz L. Biological control of crystal texture: a widespread strategy for adapting crystal properties to function. *Science*, 1993, 259: 776~ 779
- 43 Nakahara H, Bevelander G. Ingestion of particulate material by the outer surface cells of the mollusc mantle. *J Morph*, 1967, 122: 139~ 146
- 44 Beedham G E. Observations on the mantle of the lamellibranchia. *Q Jl microsc Sci*, 1958, 99: 181~ 197
- 45 Dunachie J E. the periostracum of *Mytilus edulis*. *Trans R Soc Edinb*, 1963, 65: 383~ 411