



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

The biocalcification of mollusk shells and coral skeletons: Integrating molecular, proteomics and bioinformatics methods

Sequeira dos Ramos Silva, P.

Publication date

2013

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Sequeira dos Ramos Silva, P. (2013). *The biocalcification of mollusk shells and coral skeletons: Integrating molecular, proteomics and bioinformatics methods*.

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Samenvatting

Dit proefschrift presenteert ons huidige inzicht in de moleculaire processen die een rol spelen bij biocalcificatie in schelpdieren en koralen. We hebben nieuwe eiwitten geïdentificeerd die direct betrokken zijn bij biocalcificatie en, indien mogelijk, de complete verzameling skeleteiwitten onderzocht. Hiervoor hebben we high-throughput technieken gebruikt zoals proteomics, en dit gecombineerd met andere moleculaire methoden en bioinformatica. Dit doel is grotendeels bereikt: ons werk heeft de kennis uitgebreid van mechanismen voor skeletgroei (in koralen) en schelpvorming (in schelpdieren).

Volgend op het inleidende hoofdstuk, beschrijft Hoofdstuk 2 de identificatie en moleculaire opheldering van Upsalin, een nieuw eiwit dat verbonden is met de binnenlaag van de zoetwaterdubbelschelp *Unio pictorum*. Upsalin is een klein eiwit, waarvan de functie onbekend is, dat niet de onderscheidende kenmerken vertoont van andere schelpeiwitten. De ontdekking van Upsalin benadrukt de diversiteit aan eiwitten die verbonden zijn aan gecalcificeerde weefsels, en de nodige investering in nieuwe experimentele methoden om hun functies te ontrafelen.

Hoofdstuk 3 beschrijft hoe het skelet van de steenkoraal *Acropora millepora* is bestudeerd met proteomics. Nadat de organische matrix geïsoleerd was, is het proteoom geanalyseerd met vloeistofchromatografie-tandem massaspectrometrie. In combinatie met het koraaltranscriptoom werden hiermee 36 eiwitten in de skeletmatrix geïdentificeerd. Deze dataset omvat eiwitten met bekende patronen die relevant zijn voor biomineralisatie (zuurgroepen, extracellulaire matrix en enzymreacties), maar ook nieuwe kenmerken. Daarnaast tonen we aan dat

sommige eiwitten signaalpeptiden hebben die hen sturen naar de extracellulair ruimte waar calcificatie plaatsvindt, terwijl anderen die in de calcificatieruimte werken vastzitten aan de celmembranen. De 36 skeleteiwitten zijn toen vergeleken met het genoom van drie neteldieren en met het proteoom van de organische matrix van andere calcificerende dieren, met behulp van bioinformatica. De resultaten stellen een tweevoudige ontwikkeling voor voor de evolutie van calcificatie in koralen: door mechanismen van co-optie en patroonwisseling.

Hoofdstuk 4 is een kort verslag dat de uitdagingen behandelt waar wij en andere wetenschappers tegenaan lopen, als we met proteomics bepalen welke eiwitten in de organische matrix direct betrokken zijn bij biomineralisatie. Omdat deze eiwitten gedeeltelijk zijn ingebouwd in de gemineraliseerde weefsels, kunnen ze gemakkelijk geïdentificeerd worden (met vloeistofchromatografie-tandem massaspectrometrie in combinatie met de nucleïnezuurdataset van de bijbehorende soort), nadat de organische fractie gedecalcificeerd en gezuiverd is, zoals beschreven staat in Hoofdstukken 2 en 3. De diversiteit aan eiwitten die gevonden is met deze methodes, is echter zorgelijk. Veel eiwitdatasets die in de afgelopen jaren gepubliceerd zijn, bevatten intracellulaire eiwitten en andere verontreinigingen. Deze belemmeren de interpretatie van de resultaten en de ontwikkeling van nieuwe modellen voor de biocalcificatie die buiten de cellen plaatsvindt. Daarom bespreken we het belang van een grondige reiniging van biomineraalsamples voorafgaand aan een zeer gevoelige bewerking met proteomics.

Hoofdstuk 5 is een beschrijving van de skeletstructuur van *A. millepora*, samen met een globale schets van de biochemie, compositie en functie van de organische skeletmatrix. Het skelet van *A. millepora* is aragoniet met ingebouwde sporenelementen zoals natrium, strontium, zwavel en magnesium. De organische

matrix bestaat niet alleen uit de eiwitten die in Hoofdstuk 3 staan beschreven, maar ook uit een grote hoeveelheid suikers, waarvan het monosacharide arabinose verreweg het meest voorkomt. Dit ongebruikelijke kenmerk wordt niet gevonden in andere biomineralen buiten skeletten en mucus in *Acropora*. Bovendien versterken nieuwe bewijzen de hypothese uit Hoofdstuk 3: sommige eiwitten van de organische matrix zijn transmembraan - hun extracellulaire delen werken in de mineralisatieruimte en komen vervolgens vast te zitten in het skelet. Ten slotte werd *in vitro* de snelheid van CaCO₃-mineralisatie in de OM bepaald, die in grote mate de morfologie van de kristallen beheerst.

Hoofdstuk 6 vat het proefschrift samen, met een algemene discussie en conclusie van de voorgaande hoofdstukken, en stelt nieuwe perspectieven voor de bestudering van biomineralisatie-eiwitten.