

# Fluorescerende proteiner, oceanernes gave til forskning og bioteknologi

Af projektleder, professor Peter Roepstorff, Institut for Biokemi og Molekylær Biologi, Syddansk Universitet

Togtben 10, 11 og 16.

## Baggrund for projektet

Fluorescerende proteiner anvendes i bioteknologisk, cellebiologisk og medicinsk forskning til at spore proteiners vandring gennem den levende organisme og dermed til at få bedre forståelse for proteinernes funktion. I forbindelse med medicinsk forskning anvendes de desuden til at afdække effekten af lægemidler. Det hidtil mest anvendte fluorescerende protein, *Green Fluorescent Protein* (GFP), blev isoleret fra en vandmand i Nordvest-USA og siden modificeret til praktisk anvendelse og kommercialiseret af en dansk virksomhed, *Bioimage*, som var afledt af *Novo Nordisk A/S*. Adskillige rapporter har vist, at fluorescerende proteiner er hyppige i tropiske koralrev i såvel koraller som en række andre organismer der. Formålet med projektet var derfor at finde nye fluorescerende proteiner i organismer fra tropiske koralrev for om muligt at supplere forskernes værktøjskasse med nye redskaber.

## Deltagelse i Galathea 3, arbejdsmetode og -forløb

Vort projekt deltog i Galathea 3-ekspeditionen på togtbenene 10 og 11 (Sydney – Salomonøerne - Christchurch) og togtben 16 (Caribien). På togtbenene 10 og 11 havde projektet tre deltagere: Lektor Martin R. Larsen (SDU), direktør Ole Thastrup (*2Curex A/S*) samt undertegnede. På grund af Søværnets regler kunne vi ikke foretage skibsbaseret indsamling af prøver, da vi ikke havde professionel dykkeruddannelse. Derfor tog Martin og Ole direkte til Salomonøerne, hvor de begyndte prøveindsamling ved natdykning i koralrevene på Salomonøerne assisteret af en lokal dykkerentreprise. Fluorescerende organismer kunne identificeres ved anvendelse af en undervandslampe med ultraviolet lys, som fremkalder fluorescens, og et filter foran dykkermasken, som frafiltrerer det ultraviolette (og blå) lys fra lyskilden. Jeg påmønstrede i Sydney og installerede vore laboratoriefaciliteter i en af containerne.

Vi havde inden afrejsen udarbejdet en procedure til at teste, om fluorescens i en organisme skyldtes protein eller andre molekyler, ved at klonere GFP ind i gær. Der er dog stor forskel på en gær-celle og en koral, orm, søneme eller alge. Derfor var det nødvendigt at udvikle og afprøve metoder på realistiske prøver. Dette blev på togtben 10 gjort på prøver indsamlet ved snorkling samt prøver opsamlet i forbindelse



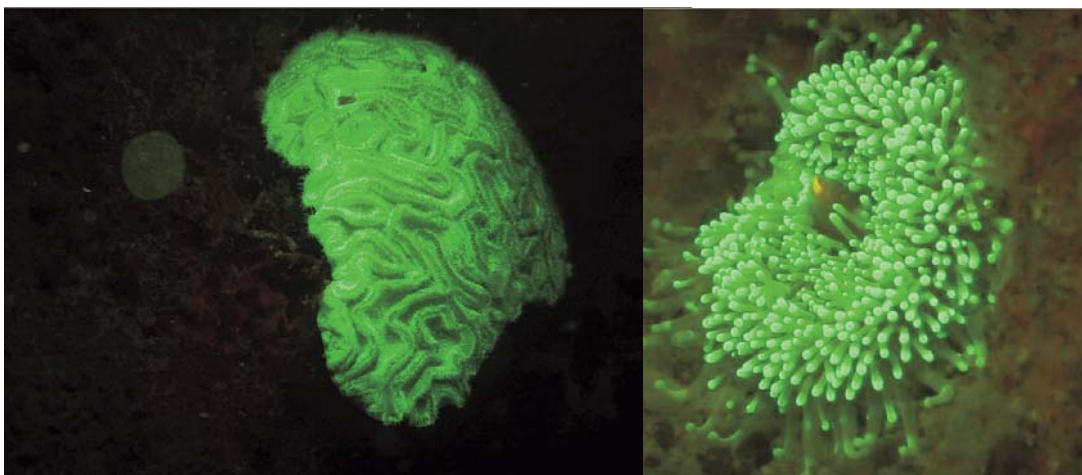
Koraller indsamlet på Salomonøerne. De var alle fluorescerende. Foto: Peter Roepstorff

med andre projekter om bord. Allerede adskillige af disse viste fluorescens. Dette var meget lovende, da de var indsamlet tilfældigt og ikke på basis af observation af fluorescens. Helt uventet også for zoologerne om bord viste det sig, at dybhavsfisk med lysorganer også viste fluorescens. Samarbejdet med skibets besætning og andre forskningsprojekter om bord viste sig at fungere perfekt. Besætningen hjalp med at få fremstillet praktiske redskaber, og det var intet problem at låne udstyr, f.eks. ultralydbad og frysetørrer, fra andre projekter. Samarbejdsånden var i top.

Ved ankomsten til Gizo på Salomonøerne påmønstrede Martin Larsen og Ole Thastrup medbringende et større antal fluorescerende prøver. Prøveopsamlingen fortsatte ved natdyk, medens VÆDDEREN var i Gizo. Alle de opsamlede prøver (ca. 100) blev analyseret i laboratorierne på VÆDDEREN under forlægningen til Christchurch. Ca. 30 prøver, overvejende koraller, viste sig lovende med hensyn til, at fluorescensen skyldtes protein, medens den i ca. 40 prøver var forårsaget af små molekyler. Disse var ikke interessante for vort projekt. I andre 30 prøver kunne årsagen til fluorescensen ikke umiddelbart forklares. Disse blev sammen med de første 30 prøver nedfrosset til minus 80 grader i fryseren på VÆDDEREN for hjemtransport til Danmark.

På basis af erfaringerne fra den første del af togtet besluttedes det at udvide gruppen på næste togtedel i Caribien med yderligere tre personer: Nicolai Bache og Krzysztof Wrzesinski, begge SDU, samt Jacob Thastrup fra University of Dundee, Skotland. Dette var muligt, fordi en væsentlig del af aktiviteten i Caribien ville blive landbaseret, dels fra forskningsstationen VIERS (Virgin Islands University Environmental Resource Station) på St. John, og dels fra Christiansted på St. Croix. Krzysztof Wrzesinski, som er uddannet dykkerinstruktør, skulle fungere som "dive master" for projektet, idet en sådan ikke ville være til rådighed på St. John. Vore erfaringer fra Salomonøerne viste, at en udvidelse af antallet af aktivt dykkende ville lette prøveindsamlingen og *in situ*-dokumentatio-

Fluorescerende koral og sønemo-  
ne fotograferet under vandet ved  
natdyk i Caribien. Fotos: Krzysztof  
Wrzesinski





nen af de indsamlede prøver. Vi havde endvidere - baseret på de tidligere erfaringer - udviklet filtre, som gjorde det muligt at optage undervandsfotos og -film af fluorescens.

På grund af forbud mod indsamling af revdannende koraller i Caribien blev det besluttet at koncentrere indsatsen omkring bløde koraller, søanemoner, forskellige bløddyr og alger. Dette ville også være et godt supplement til de mange koraller indsamlet på Salomonøerne. Hele gruppen foretog prøveindsamling ved St. John i en uge før VÆDDERENS ankomst til St. Thomas. På dette tidspunkt påmønstrede de tre oprindelige deltagere VÆDDEREN og påbegyndte analyse af de indsamlede prøver, mens de øvrige projektdeltagere fortsatte prøveindsamling fra St. Croix, hvorfra det ville være muligt to gange under togtben 16 at bringe prøver om bord på VÆDDEREN for analyse. Samlet blev ca. 70 af de i Caribien opsamlede prøver vurderet som lovende og nedfrosset på VÆDDEREN.

### Videre arbejde

Ved VÆDDERENS ankomst til København blev i alt 126 lovende prøver afhentet i minus 80 grader-fryseren på skibet og overført til fryseri i vort laboratorium på Syddansk Universitet. Identifikation og karakterisering af de fluorescerende komponenter i de indsamlede prøver vil i de kommende år beskæftige adskillige forskere og studerende på Syddansk Universitet. Det vil kræve anvendelse af en stor del af det avancerede udstyr til proteinanalyse, som findes der. De prøver, som ser ud til at være specielt lovende som redskaber i

En del af teamet på rekognosceringsdyk i Caribien. Fra venstre Jacob, Peter, Martin og Nicolai. Foto: Krzysztof Wrzesinski

"forskningens værktøjskasse", vil blive klonet, fremstillet i større mængde og - hvis de ikke allerede er beskyttet - forsøgt kommercialiseret gennem firmaet 2Curex A/S eller andre biotekfirmaer. Vi forventer, at de første videnskabelige resultater vil foreligge i foråret 2008. På Galathea 3-ekspeditionen konstaterede vi, at fluorescensfænomenet er langt mere udbredt i havet, end vi havde forventet. Vi fandt også fluorescens i relativt koldt vand nær New Zealand. Det får os til at tro, at der også findes fluorescerende organismer i danske farvande. Vi vil derfor i sommeren 2007 indlede vores egen lille "Galathea 3.5" og ved natdyk her i Danmark forsøge at bekræfte dette. Tilbage står det grundvidenskabelige spørgsmål: Hvorfor anvender alle disse organismer stor energi på at producere fluorescens? En dominerende hypotese, at fluorescensen skulle beskytte koraller mod skadeligt UV-lys, har vi opgivet, fordi vi fandt fluorescerende organismer på alle vanddybder og også i mørke huler.

### **Konklusion**

Vor deltagelse i Galathea 3-ekspeditionen har overgået alle vore forventninger. Vi ville have været glade for at vende hjem med 5-10 lovende prøver. Det blev til 126. Fagligt har ekspeditionen rejst en række spændende grundvidenskabelige spørgsmål, hvoraf nogle forhåbentligt vil blive besvaret i de kommende par år. Det er meget sandsynligt, at adskillige af de prøver, vi nu har, vil kunne udvikles til nye værktøjer i forskningen og dermed også har kommercielle muligheder. Samspillet mellem de forskellige forskere om bord og med besætningen har været mønsterværdigt. Specielt skal det fremhæves, at de professionelle besætningsmedlemmer fra Søværnet har været enestående, dybt interesserede i de ombordværende projekter, altid hjælpsomme, fleksible og altid med en opmuntrende bemærkning til trætte eller søsyge forskere. De belastende overskrifter om *Druk og hor på VÆDDEREN* efter ekspeditionens afslutning er efter vore oplevelser helt grebet ud af luften. Sammenfattende har deltagelsen i Galathea 3-ekspeditionen været en meget stor oplevelse både menneskeligt og fagligt for alle fra projektet *Fluorescerende proteiner, oceanernes gave til forskning og bioteknologi*.