

Fremtidens enzymer fra havets biodiversitet

Af projektleder, lektor, ph.d. Peter Stougaard, Institut for Økologi, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Landbaseret projekt (Ikkafjorden, Sydvestgrønland)

Deltagere

Peter Stougaard, projektleder (Københavns Universitet, Life)
Mariane Schmidt (Københavns Universitet, Life), Anders Priemé (Københavns Universitet, Nat), Uffe Wilken (Dansk Polarcenter), Richard Martin (Water A/S), Jasmin Bagge (Frederiksberg Gymnasium) og Malik Lund (Aasiaat Gymnasium)

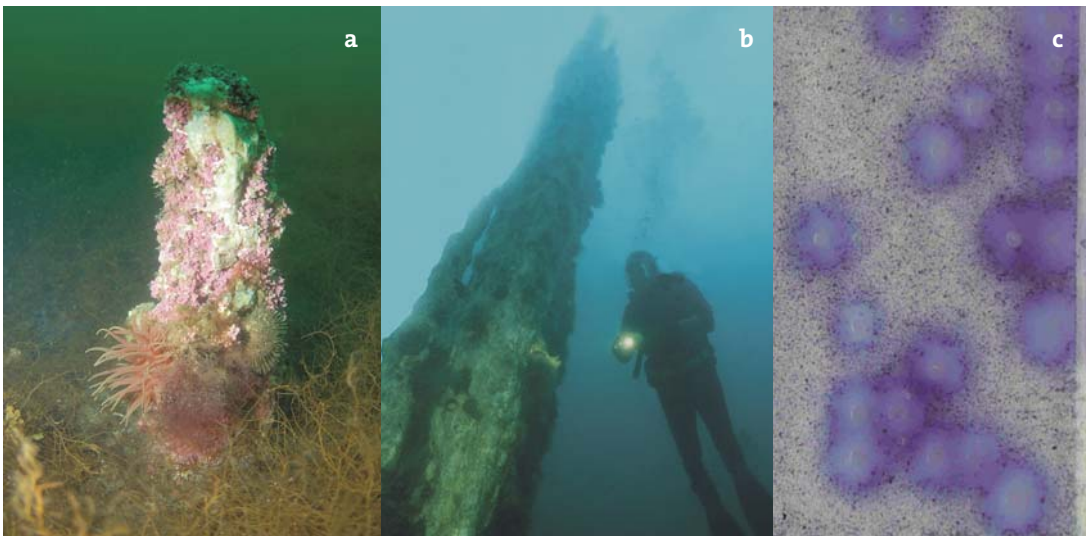
Baggrund

Mikroorganismer fra naturen udgør en vigtig kilde til industrielle enzymer og bioaktive stoffer. Organismer, som lever under ekstreme forhold, f.eks. havis, varme kilder og sodasøer, er særligt interessante, idet de producerer enzymer, som er aktive ved lave eller høje temperaturer og ved højt pH. I projektet vil vi isolere enzymer fra bakterier, som lever i ikaitsøjler, en ekstrem økologisk niche i Grønland. Ikaitsøjler er undersøiske kalksøjler, som kun findes ét sted på Jorden, i Ikkafjorden i Sydvestgrønland. Søjlerne indre er koldt og meget basisk med pH over 10, og organismene, som er tilpasset disse ekstreme forhold, producerer enzymer og bioaktive stoffer, der er aktive ved lav temperatur og højt pH.

A: Ikaitsøjle, Foto Richard Martin.
B: Dykker ved ikaitsøjle, Foto: Uffe Wilken. C: Enzymproducerende bakteriekolonier, Foto: Peter Stougaard

Formål

De overordnede formål for projektet er



- at udforske den mikrobielle diversitet i ikaitsøjler fra Ikkafjorden i Sydvestgrønland,
- at analysere mikroorganismernes potentiale for industriel anvendelse,
- at formidle resultaterne til lægmand og fagfolk, samt
- at iværksætte uddannelsesmæssige tiltag gennem inddragelse af unge mennesker i projektet.

Aktiviteter

Før ekspeditionens start blev der udskrevet en konkurrence, hvor danske og grønlandske gymnasieelever skrev en opgave om et bioteknologisk emne. To gymnasieelever, én fra Danmark og én fra Grønland, blev udvalgt til at deltage i Galathea 3-projektet. Alle udgifter i forbindelse med gymnasieelevernes deltagelse var sponsoreret af *Novozymes A/S*.

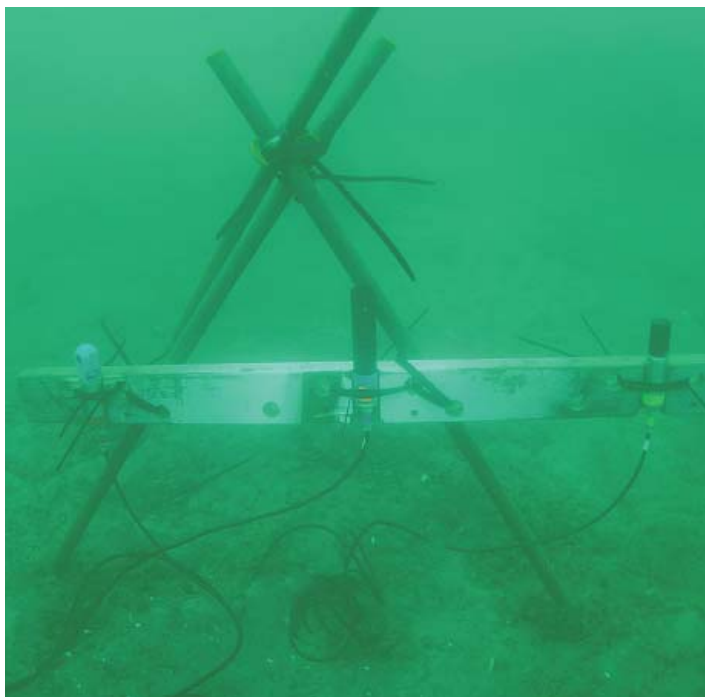
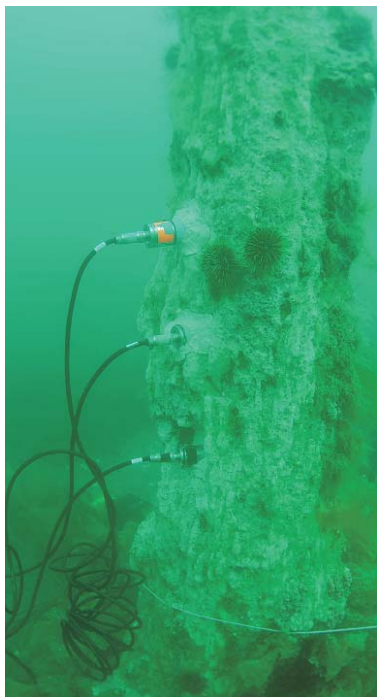
Den egentlige ekspedition til Grønland varede fra 11. til 28. august 2006. I alt deltog syv personer samt fem forskere, der deltog i et parallelt forskningsprojekt i Ikkafjorden. Vejret var meget blæsende i perioden, og det lykkedes at foretage tre egentlige undervandsindsamlingsture i Ikkafjorden, hvorunder tre ikaitsøjler blev høstet, én ca. 50 cm lang, og to ca. 1 m lange. Endvidere blev indsamlet en del løst ikaitmateriale, sediment- og bundprøver og vandprøver både fra ikaitsøjlernes indre og fra Ikkafjorden. Desuden blev materiale og vandprøver indsamlet fra kilder og småsøer fra bjergmassivet nord for Ikkafjorden. Et feltlaboratorium blev etableret ved Grønlands Kommando i Grønnedal. I feltlaboratoriet blev de indsamlede prøver udpladet på forskellige dyrkningsmedier og på enzym-screeningsplader. De to gymnasieelever deltog i alt feltarbejde og alle enzymscreeningsaktiviteter på lige fod med projektets øvrige deltagere. De skulle desuden blogge om deres oplevelser på internettet. Dyrkningsmedier og plader podet med ikaitbakterier blev transporteret til København i termostaterede kasser, og ikait blev frosset ned og sendt med frysecontainer.

I det parallelle projekt blev tre sonder, som måler pH, temperatur, ledningsevne og ilt, sat ind i en ikaitsøjle. Tre tilsvarende referencesonder blev placeret i vandsøjlen umiddelbart ved siden af.

I København fortsatte dyrkning af ikaitbakterierne fra Ikkafjorden. Bakterierne udpladedes på screeningsplader, som bl.a. kunne detektere β -galactosidase-, β -glucosidase-, protease-, amylase-, cellulase-, mannanase- og glucanaseaktivitet. De to gymnasieelever fortsatte deres arbejde med udvalgte bakterieisolater i en uge i efteråret på Biologisk Institut, Københavns Universitet. De to gymnasieelever afsluttede Galathea 3-projektet med en rapport om deres arbejde.

Resultater

Resultatet af Galathea 3-projektet er, at en samling på over 500 dyrkede bakterieisolater er etableret, og den udvides fortsat. Indledende screeninger af stammesamlingen viste



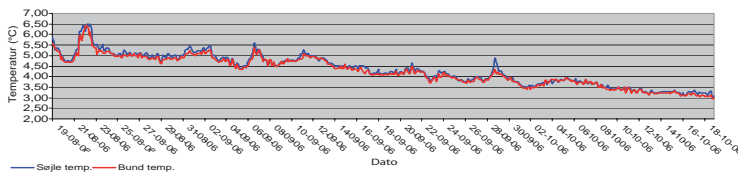
Til venstre.: Sonde installeret i
ikaitsøjle. Til højre.: Referencesta-
tion på bunden én meter fra ikait-
søjle. Foto: Richard Martin

tilstedeværelse af enzymer, som er aktive ved lav tempera-
tur og/eller ved høj pH. Enzymet β -galaktosidase er studeret
i nærmere detaljer, og det er vist, at en ny Gram-positiv bak-
terieart producerer en β -galaktosidase, som har aktivitet ved
lave temperaturer. Enzymet er stabilt ved temperaturer fra
0-20°C. Fylogenetiske og diversitetsmæssige undersøgelser af
det indsamlede materiale er ligeledes påbegyndt, men ikke
afsluttet endnu.

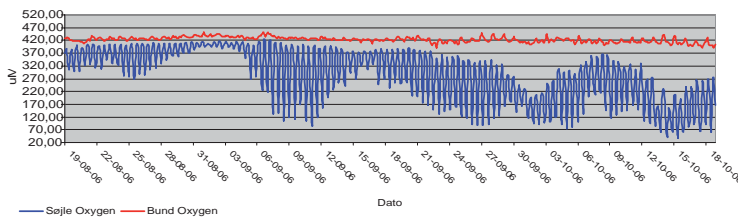
I det parallelle projekt var installeret tre sonde i en ud-
valgt ikait-søjle og en referencestation tæt ved søjlen. Son-
derne måler temperatur, ledningsevne, iltindhold og pH i
ikaitsøjlen og på bunden i 10 meters dybde. Måleperioden
strækker sig fra den 19. august 2006, hvor sonderne blev in-
stalleret, og frem til den 18. oktober 2006, hvor målingerne
blev afbrudt på grund af is i fjorden.

Temperaturen falder kontinuerligt i løbet af måleperio-
den fra en middeltemperatur på 4,8 °C i den første halvdel af
perioden til en middeltemperatur på 3,6 °C i den sidste halv-
del af perioden. Den højeste observerede temperatur i søjlen
er 6,5 °C, og den laveste 3,0 °C, ved reference-stationen hhv.
6,4 °C og 3,0 °C. Der optræder små forskelle mellem søjle- og
bundtemperaturer på mellem 0,3 °C og 0,4 °C. Forskellene er
størst ved relativt store temperaturudsving og i den første
halvdel af perioden.

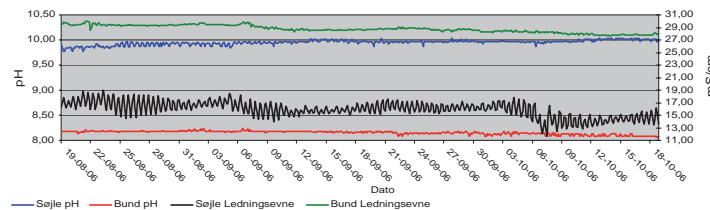
Iltindholdet i søjlen falder i løbet af måleperioden fra en
middelværdi på 354 μM i den første del af perioden til en
middelværdi på 225 μM i den sidste del af perioden, mens
indholdet på bunden falder markant mindre fra en middel-
værdi på 428 μM til 417 μM i samme periode. Den højeste



Figur 1: Temperaturen målt i ikait-søjle og ved referencestation (bund) på ca. 10 meters dybde for perioden 19. august til 18. oktober 2006.



Figur 2: Iltindholdet målt i ikait-søjle og ved referencestation (bund) på ca. 10 meters dybde for perioden 19. august til 18. oktober 2006



Figur 3: pH og ledningsevnen målt i ikait-søjle og ved referencestation (bund) på ca. 10 m dybde for perioden 19. august til 18. oktober 2006

iltkoncentration i søjlen ligger på 425 μM , den laveste på 37 μM . Værdier for referencen på bunden er hhv. 453 μM og 389 μM . Iltmålingerne i havvandet (referencen) svinger med en frekvens på omkring 24 timer og er muligvis lysafhængige. Iltindholdet i søjlen svinger med to frekvenser, der med al sandsynlighed begge er styret af tidevandsvariationer og lokale trykforskelle i området. De hurtige svingninger kunne være forårsaget af den daglige tidevandsperiode, mens de langsomme svingninger kunne skyldes månedlige tidevandsvariationer. Hvordan koblingen mellem oxygenbestemmelserne og trykvariationerne finder sted, er endnu uafklaret.

De gennemsnitlige pH-niveauer er målt til 9,9 i søjlen og 8,1 i havvandet. Værdierne ligger stabilt over hele måleperioden. Dog kan der observeres en mindre stigning i pH for søjlen i første del af perioden, hvorefter pH stabiliseres. De lavere værdier i begyndelsen kan skyldes forstyrrelser af systemet i forbindelse med installation af sonderne, men de kan også være relateret til temperaturændringer i søjlevandet.

Ledningsevnen for søjlen falder lidt i løbet af måleperioden fra en middelværdi på 16,4 mS/cm den første del af perioden til en middelværdi på 15,4 mS/cm i den sidste del af perioden. Ledningsevnen svinger med en frekvens på omkring 12 timer og afspejler sandsynligvis en trykrelateret tidevandseffekt. Ledningsevnen for havvandet (bund) falder lidt over måleperioden fra en gennemsnitsværdi på 29,16 den første halvdel af perioden til en gennemsnitsværdi på 28,31 i den sidste halvdel.

	Temp.(°C) Søjle	Temp.(°C) Bund	Ilt (µM) Søjle	Ilt (µM) Bund	pH Søjle	pH Bund	Ledningsevne mS/cm Søjle	Ledningsevne mS/cm Bund	Salinitet ppt. Bund
Max. 19/8 til 18/10	6,49	6,41	425,31	453,63	10,04	8,23	18,97	29,96	31,00
Max. 19/8 til 19/9	6,49	6,41	425,31	453,63	10,02	8,23	18,97	29,96	30,81
Max. 20/9 til 18/10	4,89	4,48	387,22	447,77	10,04	8,17	17,80	29,08	31,00
Min. 19/8 til 18/10	3,03	2,95	37,11	389,18	9,77	8,06	11,65	27,61	28,17
Min. 19/8 til 19/9	4,14	4,06	89,85	406,75	9,77	8,12	13,99	28,27	28,17
Min. 20/9 til 18/10	3,03	2,95	37,11	389,18	9,87	8,06	11,65	27,61	29,87
Gms. 19/8 til 18/10	4,34	4,26	291,98	423,31	9,95	8,15	15,92	28,75	30,20
Gms. 19/8 til 19/9	4,92	4,82	354,21	428,63	9,93	8,17	16,42	29,16	30,16
Gms. 20/9 til 18/10	3,71	3,65	225,54	417,62	9,98	8,12	15,39	28,31	30,24

Tabel 1: Maksimum, minimum og gennemsnitsværdier for temperatur, ilt, pH og ledningsevne i søjlen og på bunden (referencestation), for hele måleperioden og for hhv. første og sidste halvdel af perioden.

Publikation og formidling

Sommerens ekspedition har opnået stor mediedækning, både inden og i særdeleshed efter ekspeditionen i august, da de første meget interessante resultater dukkede op. Artikler om Ikkafjord-projektet er publiceret i Politiken 29. januar, 5. februar, 17. og 26. september 2006, Berlingske Tidende 6. og 15. marts 2006, Ingeniøren 1. september 2006, Sermitsiaq 5. maj 2006, Grønlandsposten 29. august 2006 samt i flere danske lokaldagblade.

Ikkafjord-projektet er præsenteret ved foredrag for gymnasieelever, 24. januar 2007, for unge universitetsstuderende på kandidatniveau, *JuniorForskerCafé*, 26. oktober 2006, og for gymnasiebiologilærere i *Netværk af Danske Biologer*, 30. oktober 2006. Projektet indgik også i *Den Naturvidenskabelige Landsby*, Kgs. Nytorv 24.-29. september og er præsenteret flere steder på internettet, bl.a. på ekspeditionens egen hjemmeside, www.galathia3.dk/dk/Menu/Forskning/Fremtidens+enzym+fra+Ikkaits%c3%b8jler+i+Gr%c3%b8nland, på Dansk Polarcenters hjemmeside, www.dpc.dk/sw6023.asp, på hjemmesiden for undervisningsverdenen (EMU), http://galathia3.emu.dk/biologi/Ikka_projektet.html og på Grønlands Hjemmestyres officielle website: http://dk.nanoq.gl/Groenlands_Landsstyre/Direktoratet_for_Kultur_Uddannelse/Nyheder/2006_Lykonskning_til_GU_studerende.asp

Aktiviteterne har desuden haft stor bevågenhed blandt studerende. To bachelorstuderende i 2006 og én i 2007 lavede projekt i ikaitbakterier. Tre specialestudenter lavede speciale i ikaitbakterier i 2006-07, og en specialestuderende udfører projekt inden for fysiske/kemiske målinger i Ikkafjorden.

Endelig er projektet forelagt og præsenteret for landsstyremedlem Josef Motzfeldt, da han besøgte Ikkafjorden i august 2006.

Projektets samarbejdsrelationer med Galathea 3 og Dansk Ekspeditionsfond

Projektet skaffede selv, inden ansøgningsfristen udløb, finansiering til aktiviteterne fra Forskningsråd for Teknologi og Produktion og Villum Kann Rasmussen Fonden (faglige aktiviteter) samt fra Novozymes (formidlings- og undervisningsaktiviteter). Finansieringen dækkede både rejse og ophold i forbindelse med Galathea 3 og efterfølgende to års videre forskning samt resultatbearbejdning.

Desuden sørgede projektet selv for indhentning af indsamlingstilladelser, al logistik og kontakt til journalister.

Projektet har under Galathea 3-ekspeditionen 2006 og de efterfølgende to ekspeditioner i 2007 mødt megen hjælpssomhed fra Grønlands Kommando ved Flådestation Grønneal. Flådestationen var således behjælpelig med bl.a. kost, logi, it-forbindelser, feltlaboratorium, transport til og fra Ikkafjorden.

Konklusion

Projekt *Fremtidens enzymer fra havets biodiversitet* har været en stor succes.

På det *forskningsmæssige* plan har vi opnået gode resultater. Ikaitsøjler er høstet, nye arter af ekstremofile bakterier er isoleret, og nye enzymer med industrielle anvendelsespotentialer er isoleret.

Undervisningsmæssigt har vi også fået meget ud af projektet, idet vi har fået god feedback på vores foredrag for gymnasielærere, gymnasieelever og folkeskoleelever.

Formidlingsmæssigt har der været stor interesse for projektet, dets deltagere (især gymnasieeleverne) og dets resultater.