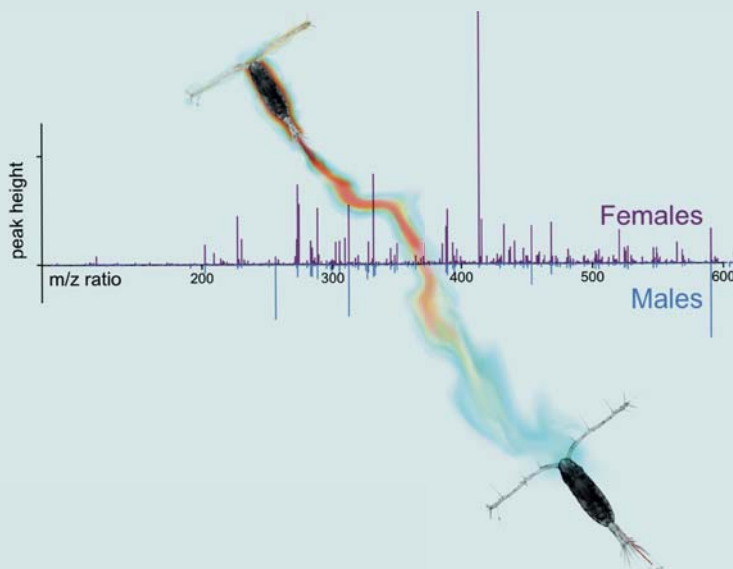


Fotos: Erik Selander

Metabolomics – at finde nålen i høstakken

Metabolomics er en betegnelse for en metode til systematisk at undersøge det kemiske fingeraftryk – eller mere præcist de stoffskifteprodukter (metabolitter) – som specifikke processer efterlader i en organisme. Metoden er oprindeligt udviklet til brug i medicinsk forskning, og i princippet måler man alle de stoffer, man kan finde i fx blodet eller i væv. Specifikke stoffer adskilles ved hjælp af følsom massespektrometri, og hvert stof giver et udslag på en kurve. Derefter undersøger man hvilke af de mange stoffer, der forekommer sammen med en sygdomstilstand.

Biologer anvender metoden til at tyde havets kemiske sprog. Først indsamles vandløpper med planktonnet i havet. Hanner og hunner fordeles i flasker med rent havvand, og over natten filtreres vandet løbende for at opsamle udskilte stoffer til analyse på massespektrometer. Det resulterende spekter viser, at der er nogle stoffer som kun hunner udskiller. Disse stoffer er mulige feromoner. Dette afgøres ved at undersøge, om stoffet tiltrækker hanner. Endelig skal stoffet eller stofferne identificeres kemisk. Det er en meget lang og omstændelig proces.



Artiklen kommer fra tidsskriftet *Aktuel Naturvidenskab*: aktuelnaturvidenskab.dk

Havets dufte

Havets mindste beboere – bakterier, planteplankton og dyreplankton – orienterer sig i et kemisk landskab af dufte. Alle udskiller de kemiske stoffer, som bruges til at finde mad, sexpartnere eller til at undgå fjender. Forskere arbejder på at tyde mikroorganismernes kemiske sprog og sanseverden.

Havets plankton lever i en blind verden. De mikroskopiske planktonorganismer er for små til at have øjne, der kan danne billeder. Ganske vist er der mikroorganismer, der har noget som ligner øjne, men de kan højst danne et billede på nogle få pixels. Det er nok til at skelne lys og mørke, men utilstrækkeligt til effektiv orientering og kommunikation. Men havets mikroorganismer klarer sig fint alligevel. De "taler" med hinanden ved hjælp af kemiske signalstoffer, og de finder føde og undgår fjender ved at udnytte kemisk information. Planktonalger bliver således giftige eller ændrer adfærd, hvis der er græssere til stede, vandloppe-hanner finder hunner ved hjælp af feromoner, og bakterier bekæmper konkurrenter med antibiotika. Den karakteristiske duft af hav, som vi alle kender, skyldes primært dimethylsulfid ($\text{CH}_3)_2\text{S}$, der udskilles af alger. Vi er så småt begyndt at forstå planktonets sanseverden, og der er efterhånden mange fascinerende eksempler på kemisk kommunikation og kemisk krigsførelse blandt havets mindste beboere. Og der er et stort anvendelsespotentiale i de involverede stoffer. Det har imidlertid vist sig vanskeligt at isolere og identificere de stoffer planktonorganismer bruger, men nye kemiske metoder viser vejen frem.

Kiselalgernes sex-feromoner afluret

Lad os tage nogle eksempler. Kiselalger er encellede planktonalger, der er indesluttet i en kiselskal, og de har interessante livscyklusser. De blom-

strer i vore farvande typisk om foråret, og de former sig ved simpel celledeling. Men engang imellem har de kønnet formering. I Napolibugten har en forskergruppe omkring Marina Montresor på Stazione Zoologica i Napoli således for nylig vist, at kiselalger af slægten *Pseudo-nitzschia* har koordineret sex præcist hver andet år. Det med koordinationen er vigtigt, fordi det øger sandsynligheden for at møde en sexpartner. Husk på, at vi taler om mikrometerstore (små!) celler, der skal finde hinanden i en stor 3-dimensionel verden.

Man har længe ment, at sex-feromoner var involveret, fordi det dramatisk øger cellernes mulighed for at finde hinanden. Nu er det lykkedes en tysk gruppe omkring kemikeren Georg Pohnert ved Friedrich Schiller Universitetet i Jena at bevise dette, og ved hjælp af en metode til systematisk at analysere stofskifteprodukter (*metabolomics*) har de identificeret feromonet hos en kiselalge. Metoden er i princippet enkel: Der er to celletyper, nogle der svømmer (hanner) og nogle, der ikke gør (hunner). Hunnerne producerer et stof, der tiltrækker hanner. Ved at sammenligne profiler af alle de mange tusinde stoffer, som hanner og hunner producerer, kan man finde feromon-kandidater, som er de stoffer kun hunnerne producerer. Disse kan efterfølgende afprøves ved at undersøge, om de tiltrækker hanner. Og med held og dygtighed kan man så kemisk identificere det aktive stof. Det er nu for første gang lykkedes for Pohnert og hans medarbejdere.

Forfattere



Thomas Kiørboe, professor, centerleder, Centre for Ocean Life (VKR Center of Excellence), DTU-Aqua. tk@aqu.dtu.dk



Jan Heuschele, ph.d., postdoc, Centre for Ocean Life, DTU-Aqua.

janheuschele@gmail.com



Erik Selander, ph.d., postdoc, Centre for Ocean Life, DTU-Aqua og Göteborgs Universitet. erik.selander@bioenv.gu.se

Vandloppernes sexliv

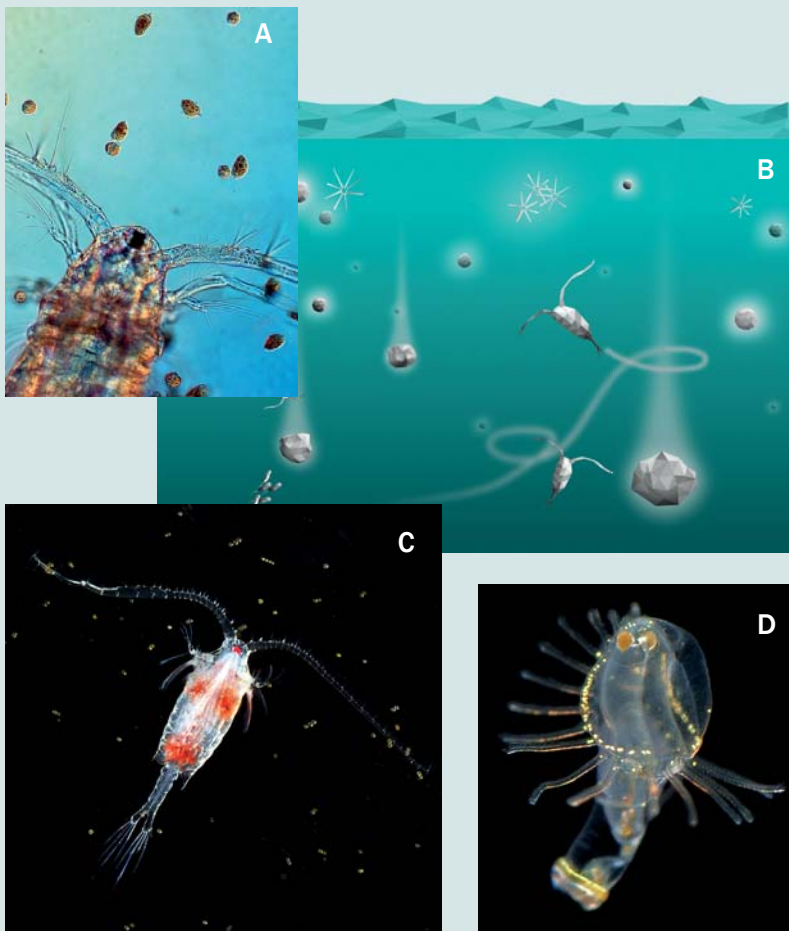
Det meste dyreplankton har sex i hver generation, og her har man i mere end 100 år vidst, at der for nogle arter var sex-feromoner involveret, men flere forskergrupper har nu intensiveret studiet af sex-feromoner hos vandlopper. Vi har fx fundet, at hunner af mm-store vandlopper kan afsætte et duftspor i vandet, som leder hannerne til hunnerne. Afhængig af hvordan duftsignalet spredes af hunnen, kan det give anledning til en fascinerende adfærd hos hannen, der enten ræser op langs et aflangt spor for at finde hunnen, eller han gennemfører noget, der ligner en parringsdans, i den duftsky en hun kan omgive sig med. Det er klart, at duftsignalerne øger hannens mulighed for at finde hunner op mod 200 gange, har vi beregnet. Og duftsignalet informerer også om hunnens tilstand – nogle hanner reagerer mere begejstret på en jomfru end på en ældre frue. Ved at studere hannens adfærd kan vi sige noget om de kemiske egenskaber ved feromonerne. For det første er de ikke meget artsspecifikke: Hanner forfølger ikke kun hunner af egen art, men også af beslægtede arter. For det andet er de involverede molekyler antageligvis små – det er det mest økonomiske. Ved hjælp af metabolomics forsøger vi nu at identificere sex-feromoner hos vandlopper. Men det er ikke nødvendigvis en nem opgave, for der kan være mange stoffer involveret. Sex-feromoner hos

møl består for eksempel af en blanding af tre molekyler. Indtil videre har vi identificeret ca. 30 kandidat-molekyler hos tre arter.

Duftspor leder frem til føden

Dyreplankton kan også følge kemiske spor, når de leder efter føde. Det er velkendt, at hajer kan spore blod på lang afstand, og at bundlevende krabber vandrer opstrøms, hvis de får fært af føde. Kemisk fødesporing blev første gang påvist hos en pelagisk invertebrat, en reje, af amerikaneren Bill Hamner fra University of California, Los Angeles, da han dykkede under sit forskningsfartøj. Han observerede, hvordan rejer fulgte i sporet efter synkende, uidentificerbare organiske aggregater og koloniserede og åd disse, og han kunne vise, at de fulgte et kemisk spor. Aggregaterne viste sig i øvrigt at stamme fra en søsyg bådsmænd, der havde brækket sig ud over rælingen – ifølge rapporten i *Science*.

Vi har netop vist, at zooplankton på tilsvarende måde kan følge det kemiske spor som mm-store aggregater – såkaldt "Marin sne" – efterlader, når de synker gennem vandet. Havet er en ernæringsmæssig ørken for zooplankton, idet koncentrationen af deres føde, planktonalger, er meget lav. Men ind i mellem aggregerer algerne og bliver til "snefnug", som er attraktive kaloriebomber for det



Vandlopper i fødekæden (A)

Lugten af en vandloppe (*Acartia tonsa*) inducerer giftighed i dinoflagellaten (*Alexandrium*) og gør den uspiselig. Partiklerne omkring vandloppen er celler af dinoflagellaten. Giftstofferne kan også ophobes i muslinger og give anledning til alvorlige forgiftninger.

Alting lugter (B)

Havet er sprængfyldt af små organismer, fra bakterier og vira til planktonalger og dyreplankton. Alle udskiller de kemiske stoffer – lugte – og de lidt større efterlader en hale af duft. Havets små, blinde organismer orienterer sig i dette kemiske landskab for at finde mad og sex, og for at undgå fjender.

Vandloppe (C)

Billedet viser en vandloppe, der er omgivet af celler af alger (dinoflagellater). Nogle af dinoflagellaterne har koblet sig sammen i kæder, og dermed kan de bevæge sig hurtigere. Når dinoflagellaterne lugter en vandloppe kan de enkelte eller koble sig af kæden og dermed mindske chancen for at blive ædt af vandloppen.

Havets vuggestue (D)

De frie vandmasser er opvækstplads for larver af mange bundlevende dyr, her f.eks. larven af et bundlevende ormeligende dyr *Phoronis*. Mange larver benytter kemisk information til at finde det rette sted at slå sig ned, når de skal etablere sig på havbunden.

Fotos: Erik Selander, Tegning: Jan Heuschele

hungrende zooplankton. Det kemiske spor dannes, fordi bakterier nedbryder snefnugget og derved taber opløst organisk stof, som tegner et kemisk spor i vandet efter det synkende fnug.

Kemisk forsvar

Planktonorganismer udnytter også kemisk information til at undgå at blive ædt. Det har længe været kendt, hvordan dafnier i ferskvand gemmer sig i dybet, hvis de kan lugte fisk. Men det er nyt, at planktonalger også kan ændre deres adfærd, når de lugter dyreplankton. Mange alger danner kæder af sammenlængede celler. Vi ved ikke altid, hvorfor de gør det, hvad fordelene er. Men nogle dinoflagellater foretager vandringer i havet: De svømmer mod overfladen om dagen for at høste lys til fotosyntesen, og de svømmer ned i dybet om natten for at samle næringsstoffer, som forekommer rigeligt her. På den måde kan alger, der måler blot 25 mikrometer (tusindedele mm), vandre 10 m op og ned hver dag. På menneskeskala svarer det nogenlunde til en tur fra København til Skagen og tilbage igen – hver dag. Det er de kun i stand til, hvis de kobler sig sammen i kæder og forener deres kræfter i at svømme hurtigt: Celler i kæder svømmer en halv gang hurtigere end enkelte celler. Men det har en pris, idet det er nemmere for en vandloppe at finde en cellekæde end en enkelt celle. Vi har nu vist, at dinoflagellaterne kobler sig af kæden, hvis de kan lugte vandlopper. Det samme gør visse kiselalger. Andre arter igen begynder at producere giftstoffer, hvis de lugter vandlopper, for derved at undgå at blive ædt. Vi har nu (næsten) identificeret det molekyle, vandlopperne udskiller, og som algerne reagerer på. Vi ved ikke, hvad formålet med molekylet er, men det er helt sikkert ikke at advare byttet.

Kampstoffer som evolutionær strategi

Kemisk krigsførelse synes i det hele at være almindelig blandt havets mikroorganismer, men det er ikke altid forstået, hvordan det evolutionært er opstået hos planktonorganismer. Bakterier elsker at sidde på overflader, fx på marin sne, og fasthæftede bakterier sidder ofte i grupper, hvor alle naboer er genetisk identiske, dvs. er kloner. Hvis enkelte bakterieceller udskiller kampstoffer for at hindre andre arter i at kolonisere det forsvarede område, er det til gavn for alle de fasthæftede celler. Det er en evolutionær stabil strategi, fordi de alle er genetisk identiske. Men hvad med fritsvævende planktonalger? De kan ligeledes udskille kampstoffer, og hvis en enkelt planktonalge gør det, vil det også gavne de naboer, der tilfældigvis er i nærheden. Forskergruppen i Napoli har undersøgt slægtskabsforholdene mellem algeceller af samme art, der optræder i samme vandmasse, og det tyder ikke på, at der er nært slægtskab mellem cellerne. Hvis det er omkostningsfyldt at producere kampstoffer, vil der opstå snydere – dvs. individer, der sparer udgif-

terne og nasser på de andre. Snyderne vil få overtaget, fordi de kan øge investeringen i reproduktion. Det er populært sagt det, man kalder “tragedy of the commons” og kampstoffer er ikke en evolutionær stabil strategi. Der mangler derfor stadig en forklaring på fænomenet. Noget andet er kampstoffer, der forbliver i cellen og forhindrer dyreplanktonet i at æde cellen – her er det producenten selv, der høster fordelene.

Erkendelse og forretning

Havets mindste organismer er også de mest betydningsfulde. Mere end 90 % af de biologiske processer i havet skyldes organismer, der er mindre end 1 mm store. De er af betydning for det globale klima, og deres produktion er grundlaget for fiskebestandene. Vi vil gerne udvikle modeller af marine økosystemer for at kunne vurdere effekter af miljø- og klimaændringer. De fundamentale vekselvirkninger mellem havets mindste organismer styres, som det er fremgået, i vid udstrækning af kemiske signaler og informationer. Korrekte modeller forudsætter en korrekt forståelse af de grundlæggende mekanismer. Derfor vil vi gerne kunne tyde mikroorganismernes kemiske sprog og sanseverden.

Der er tillige store kommercielle interesser i at forstå, identificere og udnytte havets kemiske signaler. Antibiotika og sygdomsbekæmpelse er velkendt og et kolossalt forskningsfelt, efterhånden også når det gælder marine organismer. Der er et stort uudnyttet potentiale i aktive stoffer fra planktonalger. Og vi forsøger at identificere sex-feromoner hos vandlopper for at effektivisere kultiveringen af dem. Det er akvakultur-industrien meget interesseret i, fordi levende vandlopper er det bedste startfoder for fiskelarver. ■

Læs mere

Gillard, J. et al. (2013) Metabolomics Enables the Structure Elucidation of a Diatom Sex Pheromone. *Angewandte Chemie – International Edition*. 52 (2): 854-857 DOI: 10.1002/anie.201208175

Lombard, F. et al. (2013) Copepods use chemical trails to find sinking marine snow aggregates. *Limnol. Oceanogr.* 58: 185-192

Sarno, D. et al. (2010) A massive and simultaneous sex event of two *Pseudo-nitzschia* species- Deep-Ses Res. Part II. 57: 248-255

Selander, E., Jakobsen, H. H., Lombard, F. and Kiørboe, T. (2011). Grazer cues induce stealth behavior in marine dinoflagellates. *PNAS*, 108: 4030-4034.



Centre for Ocean Life (www.oceanlifecentre.dk) er et tværfagligt forskningscenter hvor biologer, fysikere, matematikere og kemikere studerer livet i havet og udvikler modeller af marine økosystemer med henblik på at kunne vurdere effekter af klimaændringer, fiskeri, og andre miljøpåvirkninger. Centret er oprettet af Villum Fonden som et VKR Center of Excellence og engagerer studerende, post docs, og forskere fra DTU, KU og RUC.

Se videoer på internettet

1. Hvordan kiselalgeferomoner tiltrækker hanceller.
2. Hvordan copepoder udnytter sexferomoner:
www.int-res.com/articles/suppl/blind-dating/
3. Hvordan copepoder forfølger kemiske spor fra synkende aggregater (video 2).



1.



2.



3.