

# HEMMELIGHEDEN BAG BILLERS FROSTSKJOLD

Siden 1960'erne har forskere vidst, at en række bakterier, planter, insekter og fisk rummer særlige antifryseproteiner. I studier af antifryseproteiner fra den skandinaviske bille blankplettet tandbuk er det nu for første gang lykket at iagttage, hvordan antifryseproteiner virker, når de binder sig til overfladen af is.

**H**ans Ramløv ligner en af den slags zoologer, der er født med gummistøvler på. Det khakifarvede tøj går næsten i ét med den massive ophobning af brune flyttekasser, der optager så godt som al gulvplads i hans lille kontor på Roskilde Universitet. Bøger, udstoppede dyr og krøllede forskningsartikler er også med i kampen om den sparsomme plads, og det er som om, at rummet kun modvilligt efterlader en plads til forskeren selv.

Hans Ramløv er professor i sammenlignende dyrefysiologi på RUC og internationalt anerkendt for sin forskning i antifryseproteiner. I flyttekasserne på kontoret ligger resultaterne af næsten 30 års forskning i området og venter på at blive pakket ud, når de sædvanlige laboratorier og kontorer står færdigrenoverede til foråret.

## Varme fisk i koldt vand

Mange af de centrale spørgsmål om antifryseproteiner, som Hans Ramløv har brugt sin karriere på at besvare, dukker bogstaveligt talt op til overfladen i 1950'erne. Her kommer polarforskere langs den canadiske nordkyst på overarbejde, da de finder polartorsk i sprækker i isen, hvor torsken ikke burde være. For torskens blod fryser ved  $-1^{\circ}\text{C}$ , og havet omkring sprækkerne bliver målt til  $-1,9^{\circ}\text{C}$ . Forskerne undrer



Billen blankplettet tandbuk (*rhagium mordax*) indeholder et hyperaktivt antifryseprotein, der beskytter mod temperaturer helt ned til  $-10^{\circ}\text{C}$ . Foto: Thorbjørn Ramløv

sig: Fiskene burde være frosne, men er umiskendeligt helt levende.

Noget af gåden bliver løst, efter den amerikanske forsker Arthur DeVries i midten af 1960'erne begynder sine studier på forskningsstationen McMurdo i Antarktis. Her observerer han, at også ved sydpolen kan nogle fisk tåle lavere temperaturer end forventet. Hvorfor kan fisk tilsyneladende svømme underafkølede rundt i vand fyldt af små iskrystaller, som ryger indenbords sammen med havvand?

Svaret kommer først i 1969, da det lykkes Arthur DeVries at isolere proteiner i fisk, der hæmmer væksten af små iskrystaller. I dag har forskere fundet antifryseproteiner i alt fra arktiske bakterier til danske ålekvabber.

Selvom antifryseproteinerne er

strukturelt forskellige fra organisme til organisme, er funktionen altid at hæmme væksten af små iskrystaller. Det giver organismer mulighed for at overleve temperaturer, der er adskillige grader lavere end deres kropsvæskers frysepunkt. I de seneste år har hyperaktive antifryseproteiner fundet i insekter fået stor interesse i forskningen, for insekternes antifryseproteiner har vist sig at kunne sænke organismens frysepunkt helt op til  $7^{\circ}\text{C}$ .

## Forskning på tværs af kontinenter og fagdiscipliner

Opdagelsen af antifryseproteiner satte tidligt gang i spekulationer om, proteinerne måske rummede opskriften på en nedfrosset dvaletilstand, der en gang i fremtiden kan sikre håbefulde sjæle genoplivning fra et langt ophold i flydende nitrogen.

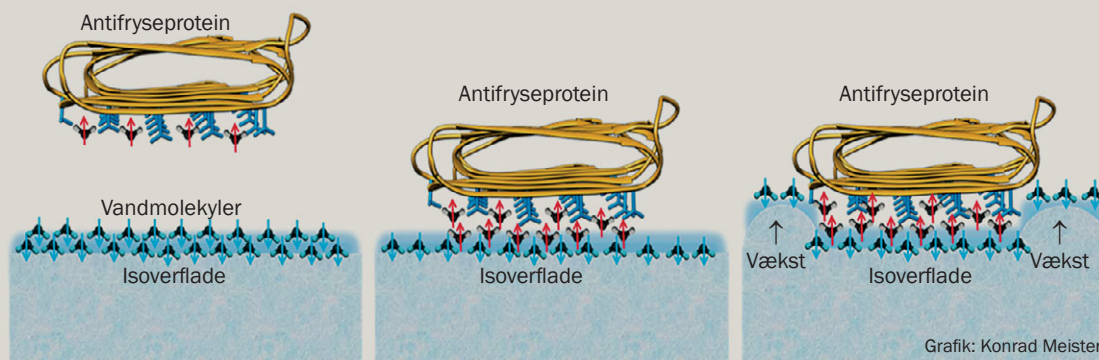


Om forskeren  
Hans Ramløv er professor ved Institut for Naturvidenskab og Miljø, Roskilde Universitet.  
hr@ruc.dk



Forfatteren  
Torben Jarl Jørgensen er kommunikationsmedarbejder ved Institut for Naturvidenskab og Miljø, Roskilde Universitet.  
toj@ruc.dk

## Sådan vinder blankplettet tandbuk over isen



Antifryseproteinet i blankplettet tandbuk kan beskrives som en slags potent magnet, der kan tage kontrollen over, hvordan vandmolekyler orienterer sig på iskrystalens overflade. Hvis vandmolekylerne orienterer sig i én retning, binder de sig til iskrystallen, så der lægges et lag af vandmolekyler til overfladen, og iskrystallen vokser. Hvis vandmolekylerne derimod tvinges til at orientere sig i den modsatte retning, kan de ikke binde sig til isoverfladen. Allerede inden antifryseproteinet rammer isoverfladen har det struktureret en del vandmolekyler omkring sig. Når antifryseproteinet binder sig til en iskrystal, tvinger det yderligere en del af de vandmolekyler, der allerede er bundet i isen, til at binde sig til antifryseproteinet, hvorved antifryseproteinet bindes til isoverfladen, samtidigt med at andre vandmolekyler ikke kan sætte sig mellem antifryseproteinet og isoverfladen. På denne måde standses isvæksten, der hvor antifryseproteinet er bundet til isoverfladen.

Den side af antifryseproteinerne, der binder sig til isen, har oftest en flad struktur. Denne side af antifryseproteinet er hydrofob – det vil sige vandskyende – og har ingen ladede områder. Antifryseproteinet fra Blankplettet

Tandbuk har toppe og dale langs den isbindende side. På toppene er vandmolekylerne orienteret, så antifryseproteinet kan binde sig til isoverfladen. I virkeligheden er der tale om en dynamisk situation, hvor vandmolekylerne i isoverfladen under antifryseproteinet hele tiden delvist er bundet til isoverfladen og delvist til proteinet. Derved er proteinet bundet til isoverfladen. I dalene tvinges vandmolekylerne derimod til at binde sig til antifryseproteinet. På grund af antifryseproteinet's struktur og den måde, hvorpå vandmolekylerne orienterer sig på i dalene, kan der ikke sætte sig yderligere vandmolekyler i området mellem proteinet og isoverfladen. Der kan derfor ikke dannes et vækstlag af vandmolekyler, som skubber antifryseproteinet udad. Derved er isvæksten blokeret der, hvor antifryseproteinerne er bundet til isoverfladen. Isen kan vokse mellem antifryseproteinerne, men den vokser som små hvælvinger. Den hvælvede overflade betyder, at vanddamptrykket inde i isen stiger jo mere hvælvet, isen bliver. Hvis vanddamptrykket er det samme som vanddamptrykket i den flydende væske omkring isen, standser isvæksten. På den måde kan dyr som blankplettet tandbuk overleve med ganske små, men vækstblokerede, iskrystaller i blodet.

Tanken om såkaldt kryopræserving får med jævne mellemrum telefonen til at ringe kontoret. Håbefulde borgere og journalister på jagt efter evigheden vil vide, hvor langt forskningen er kommet. Hans Ramløv må altid skuffe og svare, at han overlader jagten på det evige liv til andre. For i næsten et helt forskerliv har professoren været optaget af det mere jordnære spørgsmål: Hvordan virker et antifryseprotein helt præcist?

Indtil for nyligt er det hverken lykket at forklare eller observere, hvad der eksakt sker, når antifryseproteiner binder sig til iskrystallerne og hæmmer isvækst. Det ændrede Hans Ramløv og en tværfaglig gruppe af internationale forskere på, da

de i april 2019 præsenterede et forskningsgennembrud i Tidsskriftet *Journal of Chemical Physics*.

»Dyrefysiologer, fysikere og biologer har arbejdet tæt sammen med eksperter i computersimulationer. Tværfaglighed åbner nye døre, og det hér havde aldrig kunnet lade sig gøre, hvis der ikke var så mange fagligheder i spil. For mit vedkommende er de fælles resultater kulminationen på næsten 30 års arbejde.«

### Alt andet end kølervæske

Hans Ramløv ved godt, at det er kompliceret stof, han formidler. Kort fortalt starter det hele med billen Blankplettet Tandbuk, der bor i barken på løvtræer i Danmark og resten

af Skandinavien. Rejsen fortsætter i RUC's laboratorier, når billens antifryseprotein skal oprenses for siden at ende i et af verdens mest avancerede islaboratorier på Max Planck Institutet i Mainz, Tyskland.

På Max Planck Institutet for polymerforskning har forskere med professor Konrad Meister i spidsen udviklet en teknik, der sender en laserstråle mod en isoverflade, så det for første gang er muligt at observere direkte, hvordan organiske molekyler binder sig til krystaloverfladen.

Forskningen i antifryseproteiner er Hans Ramløvs hjertebar, og han svarer gerne på spørgsmål af alle slags. Men ét ord vil han gerne und-

**Videre læsning:**  
Konrad Meister, C.J. Moll, S. Chakraborty, B. Jana, Arthur DeVries, Hans Ramløv, H.J. Baker: *Molecular structure of a hyperactive antifreeze protein adsorbed to ice*. The Journal of Chemical Physics 150, 131101 (2019). doi.org/10.1063/1.5090589

gå: Kølervæske. For selv om både antifryseproteiner og kølervæske i sidste ende sænker frysepunktet, er vejen dertil helt forskellig.

Uheldigvis har flere populærvideenskabelige magasiner netop dristet sig til at skrive, at de små biller indeholder en naturlig kølervæske, der gør, at de kan modstå lave temperaturer uden at gå til grunde. Det irriterer professoren.

### Genkender isoverfladen

Når bilister hælder kølervæske på bilen, sker en simpel kemisk proces. Effekten hænger helt sammen med antallet af molekyler af kølervæske, der bliver blandet i vandet. Uanset om kølervæsken er en sukker-, salt- eller alkoholopløsning, vil det tilsatte stof forstyrre vandmolekylerne så meget, at det sænker smeltepunktet i opløsningen. Dermed bliver det sværere at danne is.

»Med antifryseproteiner fungerer det helt anderledes. De nedsætter ikke bare smeltepunktet. Antifryseproteinerne har faktisk en interaktion med isen. De hér proteiner kan genkende isoverflader, binde sig til dem og dermed hæmme væksten af isen. Det vil ultimativt også sige, at antifryseproteiner kun fungerer, hvis der er en lille smule is til stede,« forklarer Hans Ramløv.

Hans Ramløv trommer begejstret i bordet med en kuglepen og tillader sig selv en velfortjent indånding. Begejstringen er til at forstå. For det er mere end 25 års undren og arbejde, der har ledt frem til, at det for første gang er eksperimentelt muligt at observere, hvordan et antifryseprotein binder sig til en isoverflade.

### Antifryseprotein er en magnet

I mange år op til gennembruddet er det antagelsen, at antifryseproteinets hemmelighed er, at det kan påvirke det semiflydende lag i overgangen mellem vand og is ved på en ukendt måde at organisere vandmolekylerne. Laserekspimentet på Max Planck Institutet i Mainz afslører imidlertid, at antifryseproteiner nærmere kan

beskrives som en slags magnet, som kan binde eksisterende vandmolekyler både i vandet og i isen og organisere dem på en ny måde uafhængigt af de andre vandmolekyler i opløsningen.

Det overrasker forskerne. For pludseligt står det klart, at antifryseproteinerne er så potente, fordi de kan tage kontrollen over, hvordan vandmolekyler orienterer sig på iskrystallens overflade.

»Hvis vandmolekylerne orienterer sig i én retning, binder de sig til iskrystallen, så der lægges et lag af vandmolekyler til overfladen, og iskrystallen vokser.«

Hvis vandmolekylerne derimod tvinges til at orientere sig i den modsatte retning, kan de ikke binde sig til isoverfladen. Det er antifryseproteinets simple vinderstrategi: For når antifryseproteinet binder sig til en iskrystal, tvinger det helt basalt vandmolekylerne til at binde sig til antifryseproteinet, og så går iskrystallens vækst i stå.

### Næste skridt er masseproduktion

Hans Ramløvs primære fokus ligger på den grundvidenskabelige forskning, men han er ikke tvivl om, at det kommercielle potentiale ligger lige for:

»Hvis vi vil fremstille antifryseproteiner kunstigt, er det væsentlig at forstå, hvad for nogle molekyllære strukturer, der er bestemmende for, om noget binder sig stærkt eller svagt til overfladen af is. For så kan vi ændre strukturen i proteinmolekylet eller måske lave noget med samme strukturer, som slet ikke er proteiner.«

I laboratorierne på Roskilde Universitet har Hans Ramløv i samarbejde med kolleger fra Institut for Naturvidenskab og Miljø sat genetisk materiale fra antifryseproteiner ind i gensplejsede *E.coli*-bakterier, som dermed kommer til at fungere som en slags fabrik til fremstilling af antifryseprotein. I øjeblikket kun til videre brug i forskning.

»På nuværende tidspunkt kan vi ikke fremstille antifryseprotein i store mængder. Det er faktisk en af de største udfordringer i forhold til anvendelse af insekt-antifryseproteiner. Så næste skridt er at knække koden for masseproduktion, for før bliver dette ikke interessant i en kommerciel sammenhæng.«

### Allerede i cremet flødeis

Andre antifryseproteiner anvendes allerede i fødevarerindustrien. Blandt andet af fødevarerigiganten Unilever, der tilsætter antifryseprotein under produktionen af flødeis. Det sikrer, at flødeisen er delikat og cremet, selvom isen tidligere har været tøet en smule op.

Antifryseproteinerne anvendt i blandt andet flødeis er gensplejset fra fisk, og disse antifryseproteiner har kun effekt ned til  $-3^{\circ}\text{C}$ . Andledes ser det ud med det hyperaktive antifryseprotein fra blankpletet tandbuk, der har været under laseren på Max Planck Institutet. Det beskytter mod temperaturer helt ned til  $-10^{\circ}\text{C}$ .

### Fly og møllevinger uden is

Kunstigt fremstillede antifryseproteiner åbner også for helt nye metoder til at bekæmpe is i for eksempel fly- og vindmølleindustrien, hvor isdannelse kan være fatalt. Her er ambitionen at gøre overflader afvisende over for is ved at binde antifryseproteinerne i en væske, der kan lakeres eller sprøjtes direkte på fly- og møllevinger. Det kan betyde færre aflyste fly i vinterkulden, og vindmøller opstillet i arktiske områder, hvor is og kulde i dag umuliggør møller.

»Jeg tror, vindmølleindustrien tager telefonen, hvis vi en dag ringer og siger, at vi har teknologien, der kan forhindre rimfrost og isslag på møllerne. For begge dele gør vingerne mere tunge og mindre effektive. Isslag kan i værste fald betyde, at møllerne ryster sig selv i stykker, fordi isen skaber en helt anden aerodynamik. Hvis vi kan binde molekyler med antifryseprotein på møllerne, har vi måske løst problemet. For isen vil formentligt blæse af, når vingerne kører rundt.« ■