



DNA-Lab: «Fortidens framtid»

Louise Lindblom, Kenneth Meland, Solveig Thorkildsen, Endre Willassen

Mennesker har i alle tider beskrevet og gitt navn til dyr og planter. Etter at Darwin introduserte sine teorier om evolusjon, ble klassifisering av arter mer enn å oppdage, beskrive, og gi navn til arter basert på likhet. I vår tid gir molekylære metoder direkte tilgang til organismers gener. Klassifisering har dermed utviklet seg til et felt hvor vi forsker på artenes opphav og utvikling.

For noen år siden kunne vi i År-boken lese om den bibelske personen Noa og noen av de problemer han måtte løse⁽¹⁾. Gud besluttet å utrydde «alt kjøtt» ved en oversvømmelse, syndefloden. Men før han lot syndefloden komme, kommanderte Gud Noa å bygge redningsskøyten Arken, slik at Noa, hans familie og alle landdyr kunne reddes. Noas problem for å klare oppgaven med å redde alle landdyr (de mente tydeligvis at landplantene skulle klare seg uten hjelp) var ikke kun et spørsmål om logistikk og lastekapasitet. Denne storstilte redningsaksjonen hadde et betydelig mer fundamentalt problem: Hadde Noa egentlig tilstrekkelig kunnskap om det mangfoldet av arter som han hadde fått i oppgave å redde fra flommen? Er det mulig for et enkelt menneske å skaffe seg den mengden kunnskap og huske alt?

Ulike forskere anslår i dag at totalt antall arter av dyr er rundt 8 millioner, men det finnes de som mener det finnes over 100 millioner ukjente dyrearter⁽²⁾. Cirka en million dyrearter er kjent og beskrevet

som ikke er mer enn 12 prosent av alle dyrearter på kloden! Husk at to millioner av det totale antallet ikke er landdyr, men lever i havet. De trengte kanskje ikke assistanse fra Noa?

De fleste dyrearter er altså i dag ikke kjent og beskrevet, og hvordan kunne Noa kjenne dem alle? Det spørsmålet er best overlatt til teologene. Det vi biologer derimot kan håpe på er å klare å oppdage, beskrive og gi navn til alle dyr som eksisterer på jorden, både på land og i havet.

«Oppdage, beskrive og gi navn»

Mennesker har til alle tider gitt navn til organismer, dyr og planter som de har brukt til f.eks. mat, medisin, verktøy, og tekstiler (figur 1). Å systematisere levende organismer var livsviktig, blant annet for å gruppere nært beslektede arter eller skille de som ikke er beslektet, hvor for eksempel en art var spiselig, kunne en annen være giftig. I tillegg var det viktig å beskrive hvordan man klarer å skille arter, slik at kunnska-

pen kunne føres videre. Også i vår egen hverdag kjenner vi til navnene på mange dyr, planter og sopp, både fra nordisk natur og mer eksotiske naturtyper. Vi beskriver og leverer denne kunnskapen videre til våre barn og barnebarn; kunnskapen går i arv.

Systematikk som biologisk vitenskap kan sies å ha startet med Aristoteles (384-322 BC), som begynte å dele inn organismer i enheter basert på felles karakteristikk. Gjennom middelalderen var skriftlige kilder om naturhistorie sterkt preget av tradisjonen fra Physiologus⁽³⁾, der fantasifulle beskrivelser av planter, dyr og mineraler ble brukt som allegorier for kristne budskap og moralske påbud. Også i Conrad Gessners Historia animalum, som ofte regnes som starten på moderne naturhistorie, finner en uttrykk for en trang til å finne moralske budskap i naturens mange «skapninger».

Som følge av oppdagelsesreiser på 1600-tallet og begynnelsen av 1700-tallet begynte man å studere





■ Fig. 1. Adam navngir dyrene (Kilde: GKS 1633 40 Bestiarus). Illustrasjon: Det Kongelige Bibliotek København.

og beskrive de nye planter og dyr som ble funnet. Fokus var på deres mulige nytteverdi, en tenkning kalt utilitarisme. Man begynte også å klassifisere artene i slekter, basert på ytre morfologiske likheter, men også anatomi og mikroskopiske karakterer. Dette gjorde også Carl von Linné, «systematikkens far».

Linné og Darwin: Fra en statisk verden til en verden i utvikling

Linné virket på 1700-tallet og hans arbeid har satt spor i systematikken helt frem til i dag. Blant annet beskrev han og klassifiserte alle kjente arter, innførte kategorier for sin klassifisering, og introduserte

den vitenskapelige binomiale nomenklaturen for arter, som fortsatt brukes. Linné, akkurat som andre biologer i denne tiden, virket under paradigmet at artene og slektene var Guds skaperverk, dermed var artene uforanderlig. På slutten av sitt liv begynte Linné å tvile på idéen om uforanderlighet, og litt etter litt begynte flere å se utvikling («evolusjonstanken») som en mulighet, i hvert fall som forklaring på artenes variasjon. Men det tok litt over 80 år før Charles Darwin i 1859 publiserte sin dokumenterte teori om artenes opprinnelse (evolusjon), der han grundig forklarer prosessene bak evolusjonære endringer og blant annet innfører begrepet

naturlig seleksjon. Darwin innså også betydningen og utstrekningen av variasjon innen arter, blant annet dokumenterte han variasjon både innenfor og mellom populasjoner. Den viktigste erkjennelsen som sprang ut av evolusjonstanken var at arter ikke er skapt en gang for alle, men at arter er i forandring og kan endre sine karakteristika over tid. Verden er i stadig forandring og ser ganske annerledes ut i dag enn i tidligere tider. For de fleste av oss er dette blitt triviell kunnskap, men for standhaftige kreasjonister er dette fremdeles en truende tanke. Fortsatt bygget den systematiske vitenskapen på morfologiske og anatomiske karaktertrekk. Men i til-





■ Fig. 2. DNA-Lab. Foto: Louise Lindblom.

legg til å oppdage, beskrive, gi navn og klassifisere basert på likhet, ble systematikken også et felt der man var interessert i å finne ut om artenes evolusjon, utviklingshistorie (fylogeni) og hvordan detaljerte studier på organismens bygning kunne gi informasjon om denne. Og etter Darwin ble det om å gjøre å sikte mot klassifikasjoner som samsvarer med artenes avstammingshistorie. På 1900-tallet tok man i bruk tilgjengelige, mer avanserte metoder for anatomiske studier, for eksempel elektronmikroskopi, men også metoder for å studere kjemiske karaktertrekk som kromatografi (HPLC, TLC). Etter hvert kom også genetiske studier basert på sekvensering av proteiner. I dag bruker vi fortsatt slike metoder i systematikkstudier, men i tillegg har vi fått direkte tilgang til genomer gjennom DNA- og RNA-sekvenser.

«Vår» DNA-lab

Ved Universitetet i Bergen finnes i dag en laboratorie-struktur for forskning på biodiversitet, som eies og driftes felles av Universitetsmuseet (UM) og Institutt for Biologi (BIO). Denne strukturen heter Biodiversitetslaboratoriene (BDL) og omfatter tre laboratorier: «Fossil-lab», «Organismelab» og «DNA-Lab». Det er på DNA-Lab forskere og studenter utvinner molekylære data i form av DNA-sekvenser eller fragmenter av DNA for forskning på jordens arter og deres utviklingshistorie (figur 2).

I dag er DNA-Lab lokalisert ved Institutt for Biologi, i det bygget som kalles Biologen, vakkert beliggende på Marineholmen, der Puddefjorden møter Store Lungegårdsvann (figur 3). DNA-Lab er resultatet av en sammenslåing av to eldre labora-

torier; det ene var på Realfagbygget og det andre i Høyteknologisenteret (faktaboks 1). Dette var i sin tur et resultat av at de fire instituttene Botanisk, Zoologisk (unntatt Zoologisk Museum), Marinbiologisk og Mikrobiologisk ble slått sammen i 2004 og senere (2009) samlokalisert i nybygg på Marineholmen.

Hva forsker vi på?

Det vi kaller for DNA-Lab er en lab for såkalte molekylære metoder innen biologi, det vil si metoder for å få frem genetiske data fra organismene som studeres. Denne type data kan være i form av DNA-sekvenser eller DNA-fragmenter.

De genetiske data brukes for å belyse forskjellige problemstillinger innen biodiversitetsforskning, inkludert (bio)systematikk, slektskapsanalyser, utviklingshistorie og





Laboratoriet i Høyteknologisenteret

Genetikklaboratoriet ved BIO ble etablert i forbindelse med instituttsammenslåing av fiskeri og marinbiologien på Høyteknologisenteret i 1990. Gunnar Nævdal, professor i populasjonsgenetikk, var initiativtaker og ansvarlig for å bygge opp laboratoriet. Forskningsfokus var i begynnelsen populasjonsgenetikk og artsidentifisering ved hjelp av genetiske metoder, for det meste på kommersielle arter som uer, torskefisk, brosme, lange, kamskjell, og blåskjell, og enkelte rekearter.

DNA forskning på 1990-tallets BIO var først og fremst indirekte tolkning av genetisk variasjon gjennom proteinanalyser på blod, muskel og lever. Metoden besto i separasjon av proteiner ved stivelses-elektroforese, isoelektrisk fokusering, synliggjort gjennom spesifikk enzymfarging.

I 1998 ble første PCR maskin kjøpt inn på genetikklaboratoriet og metodene endret seg gradvis mot DNA ekstraksjon, genamplifisering og direkte lesing av nukleotidene i genene. Det var først når PCR-maskinen ankom laboratoriet at biosystematikere ved BIO fattet interesse for DNA-lab. Dette gjaldt i første omgang PhD-studenter under veiledning av Are Nylund og Torleiv Brattegard. Kort fortalt åpnet teknologien for at en ved BIO nå kunne ta steget fra morfologisk basert taksonomi til og også kunne utforske genetisk variasjon mellom organismer ved bruk av molekylær fylogenetiske metoder. Etterhvert etablerte Fiskehelsegruppen ved Are Nylund sin egen DNA-lab. Nævdals DNA-lab besørget nå aktiviteten til fiskerbiologene og marinbiologene ved instituttet. Etablering av ny metodikk og drift av PCR-basert forskning ble utført av PhD-studentene og labens teknikere. Det var en spennende og innovativ tid for taksonomi-miljøet ved BIO, og dette skjedde samtidig med, men uavhengig av, museet sin ferd inn i DNA'ets verden. Uavhengig med to unntak, Endre Willassen (UM) og hans doktorgradstudent Kenneth Meland (BIO); deres samarbeid bygget bro mellom miljøene på Realfagbygget og Marineholmen. Dette ble starten på en uoffisiell fylogeni-gruppe mellom instituttene. Dette faglige samarbeidet skjøt fart etter BIOs ansettelse av Prof. Christoffer Schander. Veien var nå lagt, det var ingen vei tilbake.

Laboratoriet i Realfagbygget

Da Norges Forskningsråd i 1988 publiserte resultatene av en internasjonal evaluering av biologiske fag i Norge, fikk det lille systematikkmiljøet ved gamle Zoologisk Museum svært rosende omtale, men også klare anbefalinger om å ta i bruk molekylære metoder i sin forskning. Daværende professor Ole Anton Sæther fulgte opp disse anbefalingene med flere søknader til Forskningsrådet om midler til etablering av et DNA-laboratorium ved museet. Dessverre lyktes det ikke å skaffe finansiering til dette og saken ble liggende brakk i noen år inntil Lawrence Kirkendall og Endre Willassen, med kynlig rådgivning fra kolleger ved Molekylærbiologisk Institutt, lyktes med å formulere en søknad som Forskningsrådet fant støtteverdig. Prosjektet «Applications of Molecular Techniques in Phylogenetic Biology» fikk først støtte fra 1998 i påvente av at Det Matematisk-naturvitenskapelige Fakultet skulle prioritere prosjektet som et såkalt Strategisk Universitetsprogram. En liten, men velutstyrt lab ble innredet i Realfagbygget, blant annet med Heidi Lie Andersen som midlertidig «innkjøpssjef». På det tidspunkt var også Stefan Ekman fra Botanisk Institutt inkludert blant prosjektmedarbeiderne og flere unge botanikere ble også involvert i arbeidet. Da kompetanseoppbyggingen i molekylære metoder ble videreført fra 1999 til 2007 som Strategisk Universitetsprogram, med tittelen «Applications of Molecular Techniques in Systematic Biology», var prosjektet forsynt med to stipendiater (Ph.D.) og to postdoktorer (Post doc). Miljøet i laboratoriet var dessuten forsterket med stipendiater med annen prosjektfinansiering og med flere studenter.





evolusjon. Hvordan ser evolusjonshistorien til denne arten og dens slektninger ut? Hvilke arter finnes i denne gruppen og hvordan er de i slekt med hverandre?

Svarene på spørsmål som disse hjelper oss også å finne ut om organismenes biologi, økologi, og evolusjonshistorie. Genetiske data kan også fortelle oss om genflyt mellom populasjoner og benyttes til å beregne variasjon i populasjonsstørrelser tilbake i tid, estimere tidsperioder for når arter ble dannet, og sannsynliggjøre at slike hendelser kan være resultat av bestemte, store mil-

jømessige skifter i jordens historie.

Biologisk materiale som det forskes på er ikke bare innsamlinger fra ekskursionsjoner og tokt i dag. Eldre materiale fra UM sine samlinger brukes også for molekylære analyser.

Hvordan får man frem genetiske data?

For at det skal være mulig å studere genetiske karakterer, må DNA (faktaboks 2) ekstraheres ut (isoleres) fra cellene. Dette er ingen heksekunst. Det har vært gjort helt siden 1800-tallet, til og med før man hadde klart for seg at det isolerte

produkt var arvestoffet. Kjemisk eller fysisk påvirkning kan imidlertid gjøre det vanskelig å ekstrahere DNA av god nok kvalitet eller, i verste fall, helt forhindre ekstraksjonen. Denne påvirkningen kan for eksempel være at materialet er blitt fiksert i formalin etter innsamling. Prøver man vet skal brukes til DNA-ekstrahering bør være fiksert i (absolutt) alkohol, aceton eller et annet egnet kjemisk medium. Nedfrysning av vevet kan ofte være et bedre alternativ dersom man har tilgang til nødvendig utstyr. Normalt isoleres alt DNA fra cellene, og oppbevart kjølig eller i fryser (-20°C til -80°C) kan ekstraktene lagres over lang tid. Hvilken metode som blir brukt for å ekstrahere DNA fra en prøve varierer. Det enkleste er å sprengne cellene i en kraftig saltløsning og deretter felle ut DNA ved hjelp av alkohol, men i stor grad brukes kommersielle kits/utstyrspakker. Slike «kits» kommer med nødvendige kjemikalier og oppskriftsprotokoller som er tilpasset ulike typer biologisk materiale. Vi trenger ikke så veldig mye vev, fordi vi har instrumenter som kopierer opp den biten av DNA vi er interessert i. Kopiering, eller amplifisering, skjer gjennom en såkalt polymerasekjedereaksjon (PCR) (figur 4, faktaboks 3).

Et DNA-ekstrakt er isolert fra cellene i en vevsprøve og inneholder altså den totale mengden DNA med alle gener og i tillegg det som ikke koder for noe som helst (DNA-skrot). Forskeren trenger sjeldent all DNA, men begrenser seg til spesifikke de-



■ Fig. 3. Biologen, Thormøhlensgate 53A, Marineholmen. DNA-Lab ligger i 2.etasje. Foto: Louise Lindblom.





ler av DNA. Disse utvalgte bitene brukes som markører for den type spørsmål hun vil ha svar på. Altså, forskeren kopierer opp akkurat den delen av DNA-molekylet hun er interessert i, og sikrer at det er nok av den for å kunne finne rekkefølgen av nukleotider ved sekvensering. Lengden på typiske markører som brukes i analyser er mellom ca. 400-1000 nukleotider fordi dette er optimale lengder for såkalt «Sanger-sekvensering».

Polymerasekjedereaksjonen gjør det mulig å utføre analyser på svært små mengder av vevs-materiale, det er f.eks. ikke noe problem å kopiere opp genene til en bakterie eller virus. Det vil si, meget lave konsentrasjoner av isolert DNA er nok for å starte en prosess der det blir laget ekstremt mange kopier i en amplifiserings-prosess.

Produktet etter polymerasekjedereaksjonene (kalt et amplikon eller PCR-produkt) er en høy konsentrasjon av DNA-markøren. Vi kjører så en såkalt gel elektroforese for å undersøke om det er PCR-produkt og om det er den riktige markøren. Selve sekvenseringen av markøren (lesingen av PCR-produktet) skjer i en prosess der den kopieres samtidig som fluorescerende nukleotider inkorporeres i kopiene samtidig som forlengelsen av nukleotidkjeden avbrytes. Denne teknikken kalles «Sanger-sekvensering». Et Sanger-sekvensert produkt vil derfor bestå av en mengde DNA-sekvenser med ulike lengder. De har alle en «primer»-sekvens i begynnelsen og et fluoriserende nukleotid i enden. Den korteste sekvensen har

Faktaboks 2

Gener og skrot-DNA

I hver celle i en organisme finnes arvestoff. Kromosomene ligger beskyttet inne i cellekjernen eller i celleorganeller (mitokondrier (figur 6), kloroplaster) og består av DNA-molekyler (deoxyribonukleinsyre). DNA-molekylet er formet som en såkalt dobbel-helix; to tvinnede kjeder av sukkerfosfat med nukleotider (A, G, C, T), som er bundet sammen med hydrogenbindinger. DNA-molekylene inneholder gener. Gener er kodet informasjon, oppskrift, som må omskrives (transkribes) til RNA og oversettes (translasjon) til aminosyrer, som deretter kan kjedes sammen til proteiner og danner byggesteiner for alle levende organismer. DNA-molekylene inneholder også lange sekvenser som ikke koder for noe protein. Noen av disse produserer ribosomalt RNA, som brukes av celleapparatet i oversettelsen og produksjonen av proteinkjeder. Andre DNA-sekvenser kan spores tilbake til gener som har mistet sin funksjon ved mutasjoner (pseudogener), eller de kan være rester av virusinfeksjoner som er blitt en del av vertsgenomet. Noen sekvenser finnes som serier av repetisjoner («satellitter») og har blitt dannet ved ulike typer reproduksjonsfeil ved genomdupliseringen under celledelinger. Andre igjen har ingen kjente funksjoner, og har derfor blitt kalt skrot-DNA («junk»). Nettopp fordi slikt DNA ikke er viktig for kroppen, kan det mutere uten begrensninger og danne sekvenser som er helt unike for et individ. Derfor er spesielt slike sekvensmarkører interessante i kriminaletterforskning.

en nukleotidkopi fra organismen, den nest korteste har to osv. Deretter kan sekvensene sorteres med elektroforese etter fragmentlengder som til sammen representerer hele markøren. Den lengste sekvensen har alle nukleotidene fra organismen, flankert av «primer» og et fluoriserende nukleotid i henholdsvis fremre eller bakre ende. Slik kan hele sekvensen i markøren leses av

en detektor i en sekvenseringsmaskin og digitaliseres til en bokstavsekvens av fire ulike nukleotider (ATCG).

Genbanker

Hvis man har laget en DNA-sekvens fra organismer der markøren ikke tidligere har blitt sekvensert, foretar man rutinemessig en sammenligning med kjente sekvenser i en





■ Fig. 4. PCR-maskiner. Foto: Louise Lindblom.

database, for eksempel GenBank, som er tilgjengelig på internett⁽⁴⁾. GenBank er en database åpen for deponering av DNA-sekvenser, som kan brukes som referanse-database. For å få publisert et arbeid i en vitenskapelig journal, er det nå som regel et krav at sekvensene er deponert i GenBank. For å sammenligne den nye sekvensen med sekvenser i GenBank, kopierer man den inn i et skjermvindu på egen datamaskin og

sender den til et såkalt FASTA- eller BLAST-søk. Genbankens søkemotorer gjennomgår sekvenser som potensielt stemmer overens og tilbakemelding, vanligvis på noen få øyeblikk, en liste med nærmeste treff basert på et likhetsmål. Selv om dette på ingen måte er full garanti mot ulike typer feilkilder i laboratoriet, gir det likevel en god forsikring mot grove feil, som for eksempel at prøvene er forurenset med DNA fra

menneske eller forbyttet noe sted i prosessen. Men om en ved en slik sjekk skulle oppleve at det beste treffet samsvarer med en sekvens fra en helt uventet organismegruppe, er det ikke nødvendigvis gitt at problemet ligger på denne siden av «cyberspace». Det kan være at der ikke ligger noen referansesekvens fra den samme organismen. En annen mulighet er at den eller de forskerne som en gang deponerte den samsva-

Faktaboks 3

PCR – en teknologisk revolusjon

For å kopiere og oppkonsentrere mengden av en DNA-markør, brukes en metode som ble utviklet på 1980-tallet av forskeren Kary B. Mullis, nemlig polymerasekjedereaksjonen (Polymerase Chain Reaction, PCR). Mullis hevdet han oppfant PCR i 1986 og fikk Nobelpris for dette i 1993, men Kjell Kleppe, som senere ble professor ved UiB, og hans medarbeidere hadde allerede publisert prinsippene for metoden i et velrennomert tidsskrift i 1971⁽⁵⁾. Noen har derfor stilt spørsmål ved hvor æren for denne revolusjonerende teknologien bør plasseres (se for eksempel referanse⁽⁶⁾). På den tiden da Kleppe og hans kolleger gjorde sine eksperimenter var det flere forhold som bidro til at PCR, slik vi kjenner metoden i dag, ikke ble utviklet. Det skyldtes først og fremst to ting: at såkalt termostabile DNA-polymeraser ikke var tilgjengelige og at det på den tiden tok svært lang tid å kjemisk syntetisere de korte DNA-molekylene som brukes som primere. (Se mer om teknikken i referanse⁽¹⁾).



rende sekvensen i GenBank tok feil. Dette kan være vanskelig å korrigere dersom det ikke finnes muligheter for å bestemme organismen på nytt. Det er derfor viktig at det finnes vitenskapelige samlinger som ivaretar organismen som prøven ble tatt fra, slik at den opprinnelige identifikasjonen eventuelt kan rettes på.

Når man er ferdig med kvalitetskontroll av markøren/e, - sekvensene sine, kan man sette dem sammen og lage en datafil der også sekvenser lastet ned fra GenBank kan inkluderes i analyser.

Samarbeid og muligheter

Det er to forskningsgrupper fra De Naturhistoriske Samlingene ved UM, Fylogenetisk systematikk og evolusjon (FSE) og Fortidens landskap og miljø, og tre forskningsgrupper fra BIO, Marin Biodiversitet, Geomikrobiologi, og Ecological and Environmental Change Research Group (EECRG) som samarbeider om driften av Biodiversitetslaboratoriene (BDL). BDL er organisert som en teknisk infrastruktur og fungerer slik at instrumenter, utstyr og kjemikalier som alle bruker kan kjøpes inn til felles bruk, og at nye brukere raskt og effektivt kan få opplæring som er lik og tilpasset laboratoriene. Tre fast ansatte teknikere er tilknyttet DNA-Lab, Kenneth Meland og Solveig Thorkildsen fra BIO og Louise Lindblom fra UM. Organiseringen i BDL og de tre laboratoriene er ment å effektivisere og profesjonalisere laboratoriedriften for å sikre en effektiv utnyttelse av tid, materiell og teknisk personale. En ytterligere fordel for forskningsgrupper som deler laboratorier, er at det har po-



■ Fig. 5. IonTorrent-instrumentering – årets nyanskaffelser på DNA-Lab. A, Ion Personal Genome Machine (Ion PGM); B, Ion chip (halvlederbrikke). C, Chip clamp, feste for halvlederbrikke. Her skjer sekvenseringen (se faktaboks 4). Foto: Beate Helle.

tensial til å legge til rette for faglig utveksling og utvikling av nye forskningsidéer i skjæringspunktene mellom de involverte fagfeltene. På DNA-Lab utføres akkurat nå prosjekter som er ulike både hva gjelder spørsmålstillinger (evolusjons-, utviklingshistorie, populasjonsgenetikk, systematikk, biomangfold) og organismegrupper (marine svamper, krepsdyr, parasitter på krabber, mollusker, lav (begge symbiontene, dvs. sopper og alger), og planter fra rosefamilien, mm).

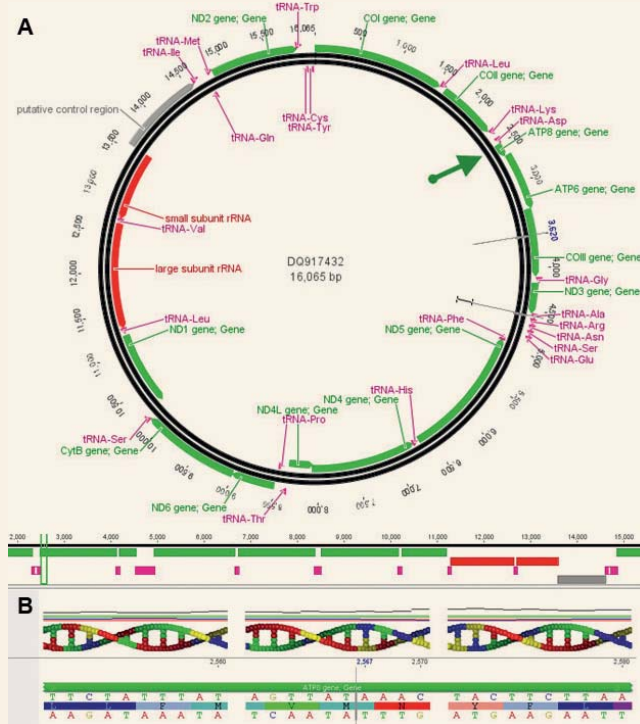
Flere av prosjektene er samarbeid med institutter utenfor UiB, for eksempel Norsk institutt for Vannforskning (NIVA), Havforskningsinstituttet (HI), Norsk Institutt for Skog og Landskap eller andre universiteter i Norge og utlandet.

Dette gjør DNA-Lab til en møteplass for forskere og studenter som kan skape nye relasjoner og lede

til nye og spennende samarbeid og samarbeidsprosjekter. Det arrangeres dessuten labmøter annenhver uke, der alle kan ta opp og luften hva man jobber med akkurat nå, be om innspill og diskutere ulike labtekniske og/eller forskningsproblemer.

Fremtiden på DNA-Lab

Fremtiden for DNA-Lab er i høyeste grad avhengig av hvordan forskningsinteressene i de forskergruppene som eier laboratoriet utvikler seg. Det som er sikkert, er at vi kommer til å produsere betydelig større datamengder til relativt sett billigere pris. Mens vi hittil har basert oss på såkalt første-generasjons-sekvenseringsmetoder («Sanger-sekvensering»), har ny teknologiutvikling det siste tiåret («next-generation-sequencing», NGS) framskaffet muligheter for nye anvendelser og for produksjon av enorme DNA-datamengder fra både kjente og ukjente



■ Fig. 6 A, Kart over sekvensene i et mitokondrie hos en reke. Den grønne pilen peker mot ATP8-genet, som er forstørret i 6 B., en kort sekvens av ATP-genet med nukleotidrekkefølgen hos de to DNA-trådene. Oversettelsen til aminosyrer er angitt mellom de to DNA-sekvensene. Illustrasjon: Endre Willassen.

Faktaboks 4

Neste-generasjons-sekvensering og IonTorrent

IonTorrent er en helt annerledes måte å sekvensere på enn Sanger-sekvensering. Mens Sanger-metoden har vært omtalt som «første-generasjons-sekvensering», har IonTorrent blitt plassert et sted mellom «next-», dvs. andregenerasjon, og «tredjegerasjonssekvensering». Den kjemiske prosessen foregår på en liten halvlederbrikke, som kan inneholde 1.2 millioner mikroskopiske brønner, der reaksjonene skal finne sted (figur 5). En lader slike brikker med DNA som på forhånd er kuttet opp i korte fragmenter ved hjelp av enzymer eller mekanisk risting. Disse fragmentene bindes så til mikroskopiske perler, som spres utover en brikke og fordeler seg ut i små brønnener. Under sekvenseringsprosessen skylles brikken over med en av de fire typene nukleotider ca. hvert 15 sekund. Når ett av disse frie nukleotidene binder seg til en komplementært nukleotid i DNA-fragmentet, frigjøres et hydrogenproton. Dette registreres som en pH-endring av en detektor i maskinen ⁽⁷⁾. På denne måten kan maskinen på nåværende tidspunkt lese sekvenslengder opp mot 400 basepar. Den neste utfordringen blir å sette sammen millioner av slike fragmenter til sammenhengende sekvenser. Dette kan gjøres ved å la datamaskiner sammenstille overlappende fragmenter eller en kan bruke et genom fra en kjent organisme som modell for å filtrere ut ønskede målsekvenser fra en kolossal mengde med data.





organismer. Den nye teknologien har gitt muligheter for å utforske og kartlegge hele genomer («genomikk») på relativt kort tid, og for å forstå hvordan ulike gener uttrykkes («transkriptomikk») i ulike situasjoner av en organismes livsløp. Men for de biologiske fagfelt som studerer forskjellige aspekter ved biodiversitet, er det kanskje særlig mulighetene for å oppskalere undersøkelsene som har revolusjonert omfanget av molekylært arbeid. For eksempel kan såkalt «metabarcoding» og «miljøsekvensering» benyttes til å framkalle et bilde av den genetiske diversiteten i vann-, bunn-, og jordprøver, eller sågar av mikroflora eller parasitter i syke og friske individer av ulike organismer, uten at en nødvendigvis vet umiddelbart hvilke organismer sekvensene tilhører. De nye sekvenseringsteknologiene har store utfordringer i behandlingen av de enorme datamengdene de produserer, og bioinformatikk og datalagring er derfor høyst nødvendige elementer i infrastrukturen til de nye forskningsfasilitetene. Allerede i sommer har ny avansert instrumentering blitt installert og innkjøringen av maskinene tilhørende den nye IonTorrent-teknologien (figur 5, faktaboks 4) er begynt. Denne nykommeren i instrumentparken vil utvilsomt åpne nye dører for forskningen på BIO og UM, men den vil selvsagt også stille nye krav til kunnskap og ferdigheter hos brukerne av laboratoriet. Vi er definitivt inne i en ny og meget spennende tid på DNA-lab og forventer at små og store oppdagelser om planter, dyr, og encellede organismer snart vil bli rapportert fra forskere og studenter ved vår DNA-lab.

Takk

Takk til Beate Helle som har hjulpet oss med alle illustrasjonene.

Referanser

- 1) Willassen, E. 2006. Kan verdens kuleste laboratorium løse Noas problem? Årbok for Bergen Museum 2005: 18-25.
- 2) Mora, C., Tittensor, D. P., Adl, S., Simpson, A.G.B. & Worm, B. 2011. How many species are there on Earth and in the Ocean? PLOS Biology 9(8): e1001127.
- 3) Wikipedia. <http://nn.wikipedia.org/wiki/Physiologus>
- 4) NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
- 5) Kleppe, K., Ohtsuka E, Kleppe, R., Molineux, I., Khorana, H.G. 1971. Studies on polynukleotides XCVI. Repair replication of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. J. Mol. Biol 56:341-361.
- 6) Bladet Forskning http://www.forskningsradet.no/bladetforskning/Nyheter/Nobelprisen_som_Glapp/125081041338
- 7) Ion Torrent™ next-gen sequencing technology <https://www.youtube.com/watch?v=MxkYa9XCvBQ>

Eksempler på Universitetsmuseets publikasjoner fra DNA-Lab

- Byrkjedal, I., Rees, D.J., Christiansen, J.S. & Fevolden, S.-E. 2008, The taxonomic status of *Theragra finnmarchica* Koefoed, 1956 (Teleostei: Gadidae): perspectives from morphological and molecular data, Journal of Fish Biology 73: 1183-1200. (samarbeid med Universitetet i Tromsø)
- Eilertsen, M.H. & Malaquias, M.A.E. 2013, Systematic revision of the genus *Scaphander* (Gastropoda, Cephalaspidea) in the Atlantic Ocean, with a molecular phylogenetic hypothesis, Zoological Journal of the Linnean Society, 167, 389-429.
- Ekman, S., Wedin, M., Lindblom, L.

& Jørgensen, P.M. 2014, Extended phylogeny and a revised generic classification of the Pannariaceae (Peltigerales, Ascomycota), Lichenologist 46: 627-656. (samarbeid med NRM og Uppsala Universitet)

- Ekrem, T., Willassen, E., Stur, E. 2007. A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes, Molecular Phylogenetics and Evolution 43: 530-542. (samarbeid med NTNU)
- Jordal, B.H. & Kambestad, M. 2014. DNA barcoding of bark and ambrosia beetles reveals excessive NUMTs and consistent east-west divergence across the Palearctic, Molecular Ecology Resources, 14: 7-14
- Meland, K. & Willassen, E. 2007, The disunity of "Mysidacea" (Crustacea), Molecular Phylogenetics and Evolution 44: 1083-1104. (evt kort summary) DNA-sekvenser (samarbeid UM + BIO)
- Poulsen, J.Y., Byrkjedal, I., Willassen, E., Rees, D., Takeshima, H., Satoh, T.P., Shinohara, G., Nishida, M. & Miya, M. 2013, Mitogenomic sequences and evidence from unique gene rearrangements corroborate evolutionary relationships of Myctophiformes (Neoteleostei), BMC Evolutionary Biology 13: 111. (samarbeid med tre japanske institusjoner)
- Rolstad, J., Ekman, S., Andersen, H.L. & Rolstad, E. 2013, Genetic variation and reproductive mode in two epiphytic lichens of conservation concern: a transatlantic study of *Evernia divaricata* and *Usnea longissima*, Botany 91: 69-81. (samarbeid med Norsk Institutt for Skog og Landskap og Uppsala Universitet)

