

Hvor gammel kan en enhjørning blive?

Hvor gammel kan en hval blive? – Hvad skal vi bruge den viden til? – Og hvorfor? Et tværfagligt samarbejde mellem Københavns Universitets Biologiske Institut og Det Farmaceutiske Fakultet samt Grønlands Naturinstitut i Nuuk forsker i alder af havpattedyr og finder nye svar på gamle spørgsmål

Af Eva Garde, Mads Peter Heide-Jørgensen og Steen Honoré Hansen, Københavns Universitet og Grønlands Naturinstitut



Narhvaler i isen.

Foto: Mads Peter Heide-Jørgensen, Grønlands Naturinstitut.

Når biologer skal udregne bæredygtige fangstkvoter for en dyreart under jagttryk, er det vigtigt at have en solid viden om arten og dens biologi. Dette inkluderer især at kende til de enkelte populationers udbredelsesområde samt individ-antal, og deres aldersstruktur. Verden over er biologer derfor stærkt optaget af at tælle dyr, afdække deres vandringsmønstre og indsamle biologiske prøver. Tællinger af individer fra fly og skibe bruges til at udregne populationsstørrelser, mens mærkning af enkelte individer med satellitsendere hjælper til at afdække migrationsruter.

De biologiske prøver bruges til at indhente viden om et hav af forskellige biologiske processer: F.eks. udtages vævsprøver til genetiske undersøgelser, spæk analyseres for tungmetaller, maveindhold angiver artens fødevalg, de reproduktive organer fortæller om reproduktiv status, og øjne og tænder afslører alderen. Aldersstruktur og levetid er essentielt at kende til, da overlevelseshastigheder i forskellige aldersgrupper udregnes herfra – en information som inkluderes i beregninger af bæredygtige fangstkvoter.

Det er dog langt fra nemt at estimere alderen hos vilde dyr. Den mest anvendte metode til aldersbestemmelse af arter med tænder er ved at tælle lag i tænderne, som man tæller årringe i

et træ. Denne metode er dog selvsagt ikke brugbar for tandløse arter, som f.eks. bardehvalerne, og det er desuden vanskeligt hos især ældre dyr at tælle alle lag, idet tænderne nedslides med tiden. Det er derfor af stor betydning at have alternative aldersbestemmelsesmetoder til rådighed.

Narhvalen – den arktiske enhjørning

Narhvalen har en meget speciel tandstruktur, der ikke findes nogen anden i hele dyreriget. Både hanner og hunner fødes med kun to aflange tænder, der ligger gemt i overkæben. Hos hunnen bryder disse sjældent frem, men hos hannen vokser den venstre tand med tiden ud gennem den venstre overlæbe og bliver til den verdenskendte lange, spiralformede stødtand. Netop denne tand var i middelalderens Europa bedre kendt som den ædle enhjørnings horn, indtil ejermandens sande identitet langsomt blev afsløret i takt med europæernes togter til de arktiske områder. Narhvalens tænder har tidligere været forsøgt brugt til aldersbestemmelse, men grundet tandens specielle form er dette meget vanskeligt, hvilket har betydet at narhvalernes levealder og aldersstruktur indtil for få år siden var ukendt. Da narhvalen samtidig er et yndet fangstdyr hos Inuit i både Grønland og Canada og dermed underlagt et højt jagttryk, var der i forvaltningen af arten et stort behov for de informationer som en aldersbestemmelse kunne give. Et større studie af aldersbestemmelse hos de vestgrønlandske narhvalpopulationer blev derfor iværksat som et samarbejde mellem Københavns Universitet og Grønlands Naturinstitut, og som metode til dette formål blev det valgt at anvende en relativ ny teknik baseret på aspartat racemisering. Så hvordan aldersbestemmer man hvaler ved brug af aspartat racemisering?

Aspartat racemisering

Aminosyrer kan optræde som to isomere former, en D- og en

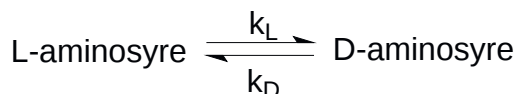
Faktaboks

Narhvalen er en arktisk tandhval. Dens udbredelsesområde strækker sig fra Østcanada, over Grønland til det østlige Rusland. Den udgør sammen med hvidhvalen (også kaldet belugaen) familien *Mondontidae*. Narhvalen, hvidhvalen og grønlandshvalen er de tre eneste arter af hvaler, der lever året rundt i Arktis.



L-form. De er hinandens spejlbilleder – enantiomerer – og kan omdannes til hinanden. Kun L-formen er normalt forekommen i levende organismer, hvor de indgår som vigtige byggesten i proteinerne. I væv der ikke undergår stofskifte, som f.eks. øjelen eller tænder, akkumuleres D-formen med tiden pga. racemisering.

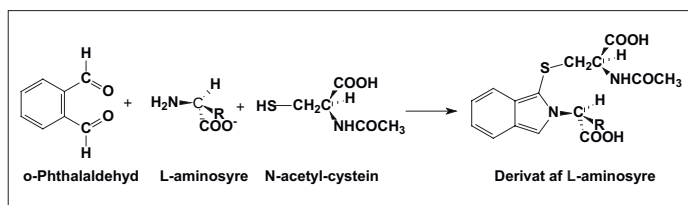
Alle aminosyrer undergår racemisering over tid, og de kan derfor alle i princippet anvendes til aldersbestemmelse.



Racemiseringen er en første-ordens reaktion og for de fleste aminosyrer er $k_L/k_D = 1$. Hastighedskonstanten er dog ikke en virkelig konstant. Racemiseringen er primært afhængig af temperaturen, men også af om det foregår i fast form eller i opløsning. Endvidere har pH og ionstyrke også en indflydelse.

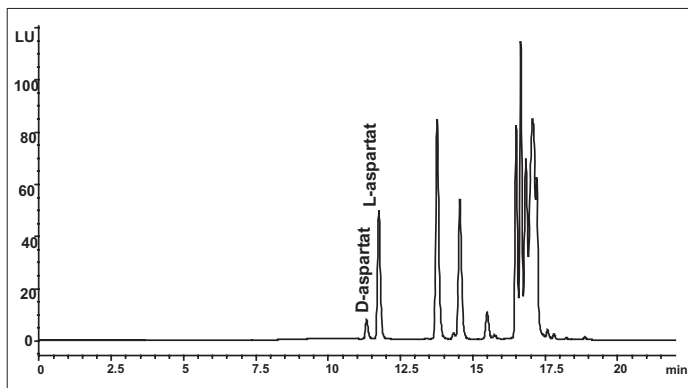
For at kunne bestemme forholdet mellem D-form og L-form af en aminosyre er det nødvendigt at separere dem. Det gøres lettest ved at derivatisere aminosyrerne med et chiralt reagens, hvorved man opnår diastereomere forbindelser. Disse kan separeres i et almindeligt kromatografisk system og typisk anvendes omvendt fase højtryksvæskerkromatografi.

Derivatisering:



Figur 1. Derivatisering af aminosyre med o-phthalaldehyd og thiol-reagens.

Årsagen til at netop racemiseringen af asparaginsyre er fundet specielt velegnet er, at den har en høj racemiseringshastighed. Samtidig er det også særdeles praktisk at asparaginsyrederivaterne elueres først af alle aminosyrerne i det anvendte HPLC-system.



Figur 2. Bestemmelse af D-/L-aspartat-forhold hos narhval. Alder bestemt til 115 år.

Den høje racemiseringshastighed af asparaginsyre skyldes dens struktur, der muliggør et specielt intermedat i racemiseringen.

Forudsætningen for at kunne anvende aminosyreracemisering til alderbestemmelse af bl.a. havpattedyr er, at der ikke fra

Automatiserings Specialisterne:

Fastfaseoprensning SPE, Filtrering, pH-måling, Reaktionsmonitoring, Automatisk Vejestation, robotløsninger til generel væskehåndtering.



Liquidhandlere, HPLC / GPC / LC- kromatografi fra Gilson Inc. .
Spektrofotometre fra Scinco & Picodrop.
TLC / HPLC udstyr fra CAMAG.
Reaktionsudstyr fra Radleys.
ProteinPro, OligoPro & MicroPro fra AATI mv.



Salg og service af Gilson pipetter.

Akkrediteret kalibrering af alle fabrikater pipetter

 **DANAK** akkreditering nr. 482.



Biolab A/S
Sindalsvej 29 DK
8240 Risskov
Telefon 8621 2866
E-mail: sales@biolab.dk

www.biolab.dk



Kemikalier, REACH og GHS

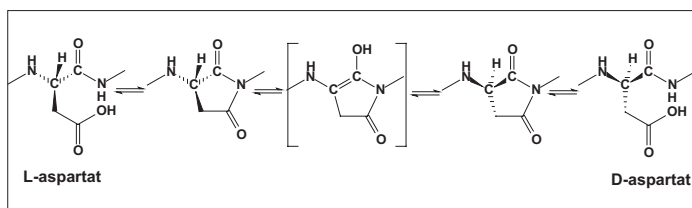
Rådgivning

Software

Kurser

DHI har Danmarks stærkeste tværfaglige videnmiljø på kemiske stoffer og deres effekt på mennesker og miljø.

DHI Center for Miljø og Toksikologi Agern Allé 5 2970 Hørsholm
Tel: 4516 9200 www.reach.dhigroup.com www.dhi.dk



Figur 3. Racemisering af aspartat i et protein.

analyse materialet sker udveksling med den samlede aminosyre-pool, hvilket vil sige at prøvematerialet skal anlægges på fosterstadiet eller senest omkring fødselstidspunktet. Herefter må der ikke ske metabolisering af de anlagte proteiner, dvs. at proteinerne skal indlejres permanent. Det sker f.eks. i tænder og i øjelinsekernen. Øjelinse er forholdsvis let at isolere og prøvetilberedningen og analysegangen er simpel: Et stykke af linsen hydrolyseres med saltsyre og produkterne derivatiseres ved tilsætning af o-phthalaldehyd og et thiol-reagens. Så dannes indolderivater som er kraftigt fluorescerende. Hvis thiol-reagenset samtidig er optisk aktivt får man dannet diastereomere derivater som kvantiseres vha. HPLC med fluorescensdetektion.

Gamle hvaler

De biologiske prøver til aldersbestemmelse af narhvaler består af øjne fra narhvaler indsamlet i forbindelse med den grønlandske fangst. Øjne fra i alt 75 narhvaler blev indsamlet, og deres aldersstruktur var mere end overraskende [1]. Det viste sig nemlig, at narhvalerne kunne blive langt ældre end man hidtil havde troet – faktisk dobbelt så gamle. Narhvaler kan nå en imponerende høj alder af over 100 år og følger dermed i fodsporene på sin fjerne fætter grønlandshvalen. Tidligere studier har vist, at denne arktiske kæmpe kan blive op omkring 200 år gammel [2]. Resultaterne er understøttet af fundet af flere meget gamle spydspidser dybt begravet i spækket hos de ældste hvaler. At netop to ud af tre af de hvalarter, der lever året rundt i Arktis, har en så lang levetid, kan skyldes en tilpasning til det ekstreme og variable miljø de lever i. Lang levetid kan således være opstået som en del af en optimeret livshistorie og en måde at imødegå de livstruende omkostninger ved drastiske ændringer i klimaet.

Aldersbestemmelserne ved brug af aspartat racemisering fortsætter. Et større studium af narhvalernes aldersstruktur er i gang og et sammenlignende studie af alder hos grønlands-sælen er næsten afsluttet. Et projekt med formålet at optimere metoden er startet. Prøver fra individer med kendt alder fra flere forskellige arter analyseres. Der samarbejdes desuden med udenlandske institutioner om analyse af prøver fra bardehvaler.

E-mail-adresser

Eva Garde: egarde@bio.ku.dk

Mads Peter Heide Jørgensen: mhj@ghsdk.dk

Steen Honoré Hansen: shh@farma.ku.dk

Referencer

1. Garde, E., Heide-Jørgensen, M. P., Hansen, S. H., Nachman, G., and Forchhammer, M. C. 2007. Age-specific growth and remarkable longevity from narwhals (*Monodon monoceros*) from West Greenland as estimated by aspartic acid racemization. *Journal of Mammalogy*, 88(1): 49-58.
2. George, J. C., Bada, J. L., Zeh, J., Scott, L., Brown, S. E., O'Hara, T. & Suydam, R. 1999. Age and growth estimates of bowhead whales (*Balaena mysticetus*) via aspartic acid racemization. *Canadian Journal of Zoology* 77: 571-580.

Carlsberg Danmark går ikke på kompromis med sikkerheden

BROEN A/S har siden 1948 udviklet og produceret en lang række produkter inden for fødevarerregulering, herunder nødbusser. Produkterne anvendes typisk i industrien, i laboratorier og i sundheds- og uddannelsessektoren

Nye BROEN-nødbusser på Carlsberg Læk i Fredericia opfylder EU's norm EN 15154. Det skaber tryghed, pointerer sikkerhedsrepræsentanten.

I 2008 har Carlsberg Danmark A/S udskiftet nødbusserne på sodavandstapperiet i Fredericia.

"Nødbusserne er leveret af BROEN LAB. Og det er ingen tilfældighed", fastslår Jens Hansen, der fungerer som koordinerende sikkerhedsrepræsentant for ca. 235 kolleger hos Carlsberg. "Vi går ikke på kompromis med sikkerheden. Derfor har vi valgt at udskifte alle nødbusser, så de er tids-svarende", fortsætter han.

Nødbusserne opfylder – som de eneste på markedet – kravene i EU's norm EN 15154 fra 2006.

"Det betyder, at vores anlæg i dag opfylder Arbejdstil-jøloven og alle nye AT-med-delelser og AT-vejledninger", fortæller Jens Hansen, mens han viser rundt på tapperiet i Fredericia, hvor man gennem de seneste 13 år har tappet sodavandsprodukter fra Coca Cola-koncernen på licens.

Streng sikkerhedskrav

Det verdensomspændende læskedrikfirma stiller betydelige sikkerhedskrav til Carlsberg Danmark.

"Sikkerheden og

kontrollen gælder ikke kun sodavandsprodukterne. Den omfatter også medarbejdere. Og vi gør rigtigt meget ud af, at sikkerheden er helt i top", siger Jens Hansen og tilføjer:

"Vi har mennesker ansat, vi skal passe godt på. Vi låner dem jo af deres familier. Og det er vores klare holdning, at vores arbejdsplads skal være et sted, hvor man har det godt og sikkert".

Klar signalværdi

Han lægger vægt på, at BROEN-nødbusserne med deres karakteristiske orange farve har en tydelig signalværdi.

"Nye medarbejdere introduceres grundigt i de

