

Biologi til Mars

Af Christina Toldbo, Niels Bohr Institutet, Københavns Universitet

I laboratorierne på Institut for Plante- og Miljøvidenskab (PLEN) arbejder hvert år et hold af studerende med at gøre bemandede Mars-missioner mulige. Ved at kombinere syntesebiologi og rumforskning, undersøges det, hvordan man ved genmanipulation kan gøre forskellige typer af planter og bakterier mere hårdføre overfor Mars' miljø, samtidig med at de kan producere medicin, kemikalier eller plastik til brug for astronauterne.

Det er efterhånden mange årtier siden at vi sidst besøgte Månen. Hvordan kan det være, at der ikke for længst har været mennesker på Mars? Svaret er simpelt: Det er for dyrt og for risikabelt.

Hvordan man tager til Mars, afhænger af tidspunktet for opsendelsen og hvilke baner man benytter. NASA har beregnet at den mest sandsynlige retur-mission til Mars vil strække sig over mere end 500 dage. Ønsker man et længere ophold på selve overfladen, er det i nærheden af 900 dage, man skal bruge på at komme frem og tilbage [1]. Den bogstaveligt talt astronomiske afstand hjemmefra skaber nye, store udfordringer af både teknisk, økonomisk, etisk, og endda psykologisk karakter.

Ved Apollo-missionerne, som satte mennesker på Månen, var tidshorizonten højst et par uger og i nødstilfælde kunne astronauterne vende tilbage til Jorden på få dage. På den Internationale Rumstation (ISS) kommer der med jævne mellemrum forsyningsfartøjer, og i tilfælde af en nødsituation kan astronauterne vende tilbage til Jorden på få timer [2]. På en Mars-mission er der hverken mulighed for en hurtig flugt tilbage til Jorden eller for at sende hjælp eller ekstra forsyninger. Astronauterne bliver derfor nødt til at kunne klare sig selv, og det medfører, at de skal medbringe mad, vand, tøj, medicin og ilt til flere år. Det estimeres at en enkelt astronaut skal bruge omkring 8000 kg materialer om året [3] og det inkluderer ikke vægten af selve raketten, udstyr til fx beboelse, energiforsyning og transport eller brændstof til raketten. Det absolut billigste bud på hvor meget det vil koste at sende et enkelt kg til Mars er på omkring 6600 \$ [4], dvs. ca. 300 mio. kr pr. astronaut.

Superplanter til koloniseringen af Mars

Men hvad nu hvis astronauterne selv kunne producere det de skal bruge undervejs? Siden rumalderens begyndelse er der blevet forsket i, hvordan man kan producere afgrøder i rummet. Det eneste en plante skal bruge for at gro er næringsstoffer, sollys og CO₂. Planter omdanner via fotosyntesen CO₂ til ilt og det betyder, at planter vil kunne give astronauterne både føde og ilt. En bonus er, at atmosfæren på Mars består af 92 % CO₂ og at en "sol" (navn for et Mars-døgn) er ca. ligesom et døgn på Jorden. Der er altså rigeligt med CO₂ og sollys efter ankomsten til Mars.

Et problem med planter er dog, at de er forholdsvis skrøbelige og ofte tilpassede meget specialiserede forhold. På en Mars-mission er det en nødvendighed, at

planterne kan overleve både selve turen og i mange år efter ankomsten. Det er lettere sagt end gjort for Mars er ganske ubeskyttet uden hverken en tyk atmosfære eller et stærkt magnetfelt. Det betyder, at Solen svitser alt liv på overfladen med dødelige UV-stråler, vandet er frosset eller fordampet og temperaturen svinger med op til 100 °C på et døgn. Derudover er trykket lavere, tyngdekraften er kun 38 % af Jordens og Mars-jorden er giftig for planter fordi den indeholder perchlorater.

Alle disse faktorer gør det ekstremt vanskeligt for liv at overleve på Mars. En måde man kan højne chancerne for overlevelse er ved at benytte syntesebiologi. Med syntesebiologi designes og konstrueres nye biologiske systemer ved at ændre generne i naturlige organismer.

SpaceMoss: Kulderesistent mos

At bruge syntesebiologi indenfor rumfart fangede i 2015 interessen hos en gruppe studerende på Københavns Universitet. Projekt *SpaceMoss* [6] blev startet og ideen var at lave et "proof-of-concept" der kunne inspirere omverdenen ved at vise, at et lille hold af studerende i løbet af et halvt år genetisk kunne manipulere en plante til at være nyttig på en fremtidig bemanded Mars-mission. Projekt *SpaceMoss* kunne således være med til at bane vejen for andre lignende projekter og promovere samarbejdet inden for biologi og rumforskning.



Figur 1. Nogle af medlemmerne af Projekt *SpaceMoss*. Fra venstre: Jonathan Arnesen, Adam Petersen, Victoria Sosnovtseva og Christina Toldbo.

SpaceMoss' første delmål var at gøre mosset i stand til at klare de store temperatursvingninger på Mars. Nær Mars' ækvator kan overfladetemperaturen blive op til 25 °C. Men ved solnedgang falder temperaturen hurtigt til under frysepunktet og om natten bliver det ned til -65 °C. Selvom mosset på Mars formentlig ville være indenfor i en form for drivhus, vil det stadig være gavnligt, at mosset er mere resistent overfor kulde,

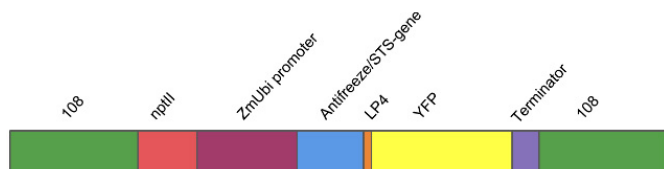
da det i så fald vil koste mindre energi at opvarme drivhuset til plus-grader.



Figur 2. Petriskål med mos. Typen af mos, som SpaceMoss forskede i hedder *Physcomitrella patens* og er den samme mos, som man finder i sin baghave.

SpaceMoss begyndte jagten efter andre organismer, der klarer sig exceptionelt godt under kolde betingelser. Naturen har flere gode kandidater og valget faldt på larven *Spruce Budworm*, der lever i de nordamerikanske granskove. Her anses den for at være et skadedyr, fordi den spiser grantræerne – selv gennem de hårde vintre. *Spruce Budworm* kan nemlig overleve i ned til $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, da den besidder et antifreeze protein som forhindrer væsken i cellerne i at forme iskrystaller, der kan punktere cellevæggene.

Ved at tage DNA-sekvensen, der koder for dette protein, og splejse det ind i mossets eget DNA, kan man potentielt overføre kulderesistensen til mos. Gensplejsningen foregår ved at man designer et “gene construct” som indsættes i mosset via en proces kaldet “Homologrekombination”. I figur 3 ses en forenklet tegning af det construct, som SpaceMoss designede.

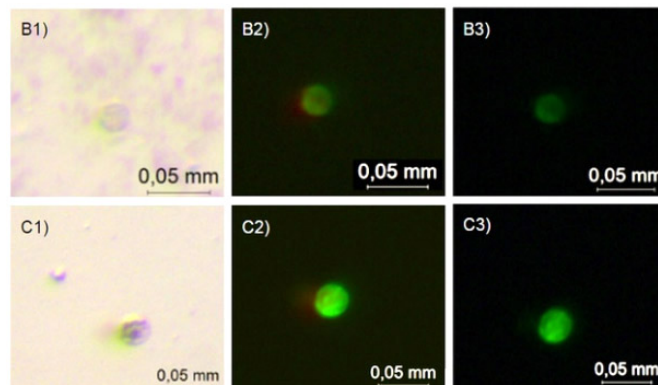


Figur 3. De to yderste dele (gene 108) ligner mossets eget DNA og derfor “snydes” mosset til at inkorporere constructet. ZmUbi er en promoter, der fungerer som et “start”-gen, mens terminatoren er et “slut”-gen. Imellem promoteren og terminatoren findes genskvensen for det vi er interesseret i at producere.

Som i al videnskab er det nødvendigt at have en test for om forsøget er gået godt. Til det kan man bruge det fluorescerende YFP-protein. YFP-proteinet kommer fra en vandmand, og når man lyser på det med UV-lys,

lyser det op med et grønligt skær. Ideen er, at siden både antifreeze og YFP befinder sig, mellem promoter og terminator, kan man sikre sig at antifreeze proteinet succesfuldt er blevet splejset ind i mosset ved at tjekke, om man ser lys fra YFP i de berørte celler.

Efter et par fejlslagne forsøg lykkedes det at få et klart fluorescerende signal fra de enkelte manipulerede celler, se figur 4.



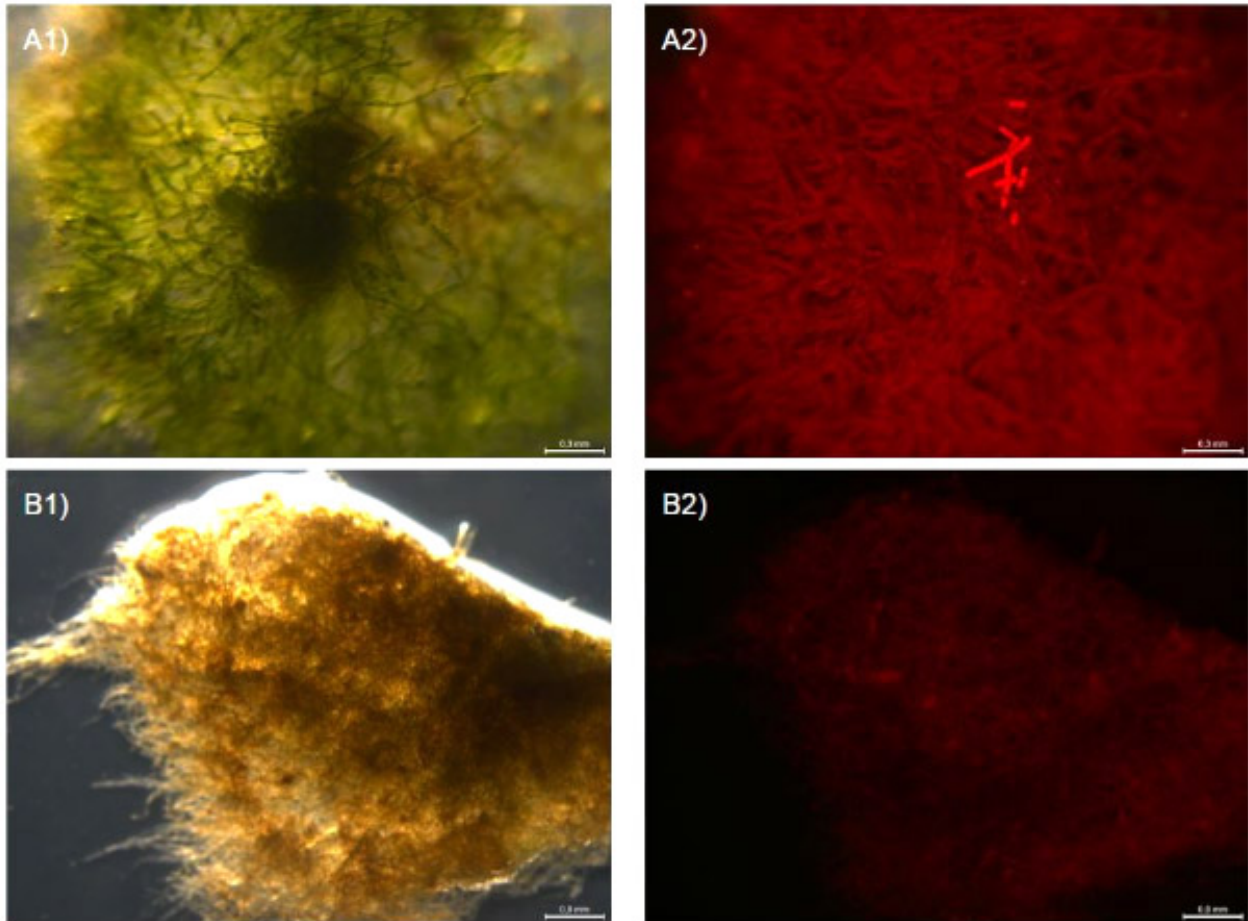
Figur 4. Enkelt mos-celle udsender lys fra YFP efter at constructet er blevet indsat i mosset. Signalet betyder at både anti-freeze og YFP-proteinerne er blevet succesfuldt indsat i mosset.

Men blot fordi antifreeze-proteinet bliver succesfuldt splejset ind i mosset, betyder det ikke nødvendigvis, at det er lykkedes at gøre mosset mere hårdført overfor kulde. SpaceMoss byggede derfor en simpel forsøgsopstilling bestående af en aluminium-bar og en isolerende flamingokasse. Baren blev afkølet i den ene ende med tøris, og der blev dermed dannet en temperaturgradient. Ved at placere almindelig mos og genetisk manipuleret mos langs denne gradient, og måle temperaturen langs baren, kan det undersøges ved hvilken temperatur mosset dør.

Mosssets overlevelsessevne bedømmes fra klare visuelle tegn (fx om mosset er blevet brunt), men også hvor kraftig autofluorescensen er. Autofluorescens er et lys alle levende planteceller udsender, og på styrken af dette lys kan man få et indtryk af mossets tilstand.

Resultaterne viste indikationer på, at det genetisk manipulerede mos var bedre til at overleve et døgn i $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, end almindeligt mos var. Det var dog kun enkelte celler der overlevede, hvilket kan betyde, at antifreeze-proteinet muligvis kun var blevet splejset ind i enkelte og få celler. I $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ var både genetisk manipuleret og almindeligt mos dødt efter et døgn. For virkelig at kunne konkludere om mosset konsekvent er mere resistent overfor kulde, er der behov for langt flere forsøg og langt mere mos.

Problemet med at bruge mos er, at det er lang tid om at gro og at det optager meget plads i forhold til det udbytte det potentielt kunne give. Faktisk er det problemet med de fleste såkaldte ‘højere plantearter’, og derfor forskes der også i, hvordan mindre organismer som alger eller cyanobakterier kan medbringes på rumrejser og indtages som føde. Både alger og cyanobakterier er encellede organismer og blandt noget af det første liv på Jorden. Ligesom større planter laver de CO_2 om til ilt gennem fotosyntese, men de er langt mere robuste, gror hurtigere og så er de små.



Figur 5. De to øverste billeder viser det genmanipulerede mos efter 24 timer ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, mens de to nederste billeder viser helt almindelig "vild-type" mos efter 24 timer i $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Billederne til venstre er i synligt lys og det ses umiddelbart, at det manipulerede mos er grønnere end det almindelige mos. Kigger man på billederne til højre ses områder med autofluorescens – i det manipulerede mos er der enkelte celler, der stadig udsender kraftigt lys. Længdeskalaen i billedene er 0,3 mm i de øverste og 0,8 mm i de nederste.

I 2016 valgte det tidligere SpaceMoss-hold et nyt hold af studerende til at føre forskningen videre inden for syntesebiologi i rumforskning. Holdet kom til at hedde *CosmoCrops* og de besluttede sig for at arbejde med bakterier i stedet for mos.

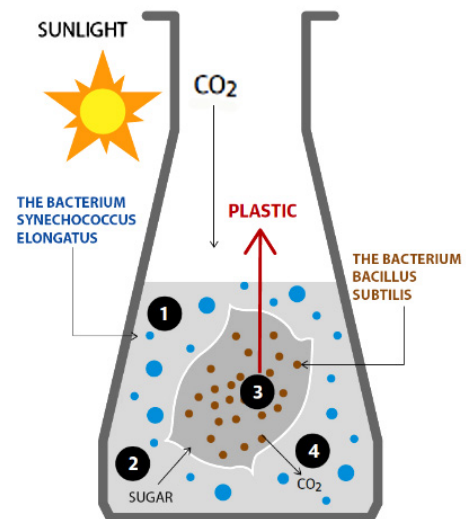
CosmoCrops: Plastik-producerende bakterier

CosmoCrops [7] designede en co-kultur: Et biologisk system der består af to forskellige organismer, som er i stand til at understøtte hinanden mens de sideløbende gror og deles om næringsstofferne. Den ene organisme er en cyanobakterie, der omdanner CO_2 til ilt via fotosyntesen og producerer sukker.

Dette sukker kan den anden bakterie i kulturen bruge. Den hedder *Bacillus Subtilis*, og det er denne bakterie, som *CosmoCrops* manipulerede genetisk til at producere bioplastik PLA (Poly Lactic Acid) inde i sine celler. De to bakterier er adskilt af en såkaldt dialysepose. Det er lidt som en filterpose, som bakterierne ikke kan gå igennem, men som frit lader næringsstoffer passere frem og tilbage. I princippet er det muligt at manipulere *B. Subtilis* til at producere noget andet end plastik. Fx medicin, kemikalier, duft- eller smagsstoffer.

B. Subtilis er meget anvendelig til rumrejser, fordi dens sporer (en inaktiv form af bakterien) kan overleve i flere år uden næring. Altså kan man let opbevare dem indtil man skal bruge dem, og man kan gemme en

backup, hvis noget skulle gå galt i ens produktion.



Figur 6. Princippet bag *CosmoCrops* co-kultur. Den indre del (nummer 3) er en dialyse-pose som indeholder *Bacillus Subtilis*. En dialyse-pose, kan forstås som en form for filter-pose, hvor kun nogle organismer og molekyler kan passere igennem. Posen adskiller *Bacillus Subtilis* fra cyanobakterien, som befinder sig udenfor i kolben. Cyanobakterien bruger CO_2 og sollys til at producere sukker. Sukkeret kan diffundere gennem posen og bruges af *Bacillus Subtilis* til at gro. Den genetisk modificerede *Bacillus Subtilis* producerer bioplastik. Tegning af Gert Gram.

Som det også var tilfældet med SpaceMoss, er det nødvendigt at tænke på organismens overlevelsesmuligheder. Her har bakterier den fordel at de kan "tilpasse" sig udefra kommende stress, hvis de bliver udsat for betingelserne lidt ad gangen. De kan simpelthen udvikle sig, ved naturlige mutationer, til at være resistente overfor visse betingelser.

På Niels Bohr Institutet i København har studerende bygget et kammer, der kan bruges til at undersøge hvordan bakterier reagerer, når de bliver udsat for disse prøvelser i et simuleret Mars-miljø. Kammeret hedder *Jens Martin Mars Chamber* (JMMC) og er kort fortalt 'Mars i en boks'. Med kammeret kan man ændre på tryk, atmosfære og stråling og dermed gøre bakterierne gradvist modtagelige overfor nogle af Mars-miljøets prøvelser. Gennem et samarbejde med Leiden Universitetet i Holland blev bakterierne yderligere udsat for forhold, der minder om vægtløshed.

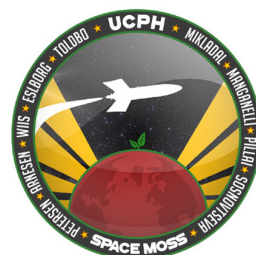
Studieprojekter lægger fundament for fremtiden

Både SpaceMoss- og Cosmocrops-holdene bestod af bachelor- og kandidatstuderende fra flere forskellige fakulteter. Bl.a. fysik, bioteknologi, biomedicin, biologi, matematik, datalogi og studerende fra CBS. Denne tværfaglighed var den største styrke ved projekterne fordi grænserne for, hvad der kan lade sig gøre, bliver skubbet. Studerende har endnu intet omdømme som kan skades, og de er derfor villige til at tage flere chancer og angribe problemerne med nysgerrighed og innovative tilgangsmåder.

Det langsigtede perspektiv ved projekt SpaceMoss og CosmoCrops er, at man vil kunne bygge et modulært drivhus på Mars, hvor man har forskellige typer af organismer, der er mere eller mindre hårdføre overfor Mars-betingelserne, og som kan producere forskellige stoffer eller materialer alt efter behov. Dermed ville en base på Mars kunne blive næsten selvforsynende. Men resultaterne er langt fra kun gavnlige indenfor rumforskning: Planter, der er resistente overfor frost, kan hjælpe til at løse problemer med stigende behov for mad på Jorden, da det ville være muligt at dyrke afgrøder hele året rundt. Produktion af bioplastik i cyanobakterier kan potentielt producere mere plastik på en ny og bæredygtig måde.

SpaceMoss og Cosmocrops deltog begge i det uofficielle verdensmesterskab i syntesebiologi: *iGEM*-konkurrencen, som hvert år afholdes i Boston og hvor omkring 300 hold deltager fra hele verden. SpaceMoss vandt guld-certificering og to nomineringer i kategorierne 'Best Environmental Project' og 'Best Biobrick', mens CosmoCrops vandt bronze-certificering og NASA's interesse. Ideen med *iGEM*-konkurrencen er at skabe et open-source bibliotek af såkaldte biobricks. Biobricks er små stykker funktionel DNA, som kan sættes sammen og danne nye biologiske systemer – man kan se det lidt som biologiske legoklodser. Hvert år samles alle resultaterne fra de deltagende hold, og biblioteket af biobricks udbygges til det følgende år, hvor nye hold af studerende bygger videre. Konkurrencen har været afholdt siden 2003 og omfatter til dato flere end 20.000 biobricks [5].

Studerenterprojekter som disse har utrolig stor indflydelse for alle involverede. SpaceMoss og CosmoCrops fik stor bevågenhed i både indland og udland og har bidraget til positiv reklame for Københavns Universitet og dansk forskning – hvilket har sikret, at projekterne fortsat kan få støtte. Det har åbnet døre for udlandsophold, speciale- og ph.d.-positioner for de involverede studerende og resulteret i den nystartede virksomhed *Batea Biotechnology*, som i forlængelse af CosmoCrops producerer bioplastik. I 2017 starter et nyt hold i kølvandet af SpaceMoss og CosmoCrops og kun fantasien sætter grænser.



cosmo crops

Figur 7. Logoerne fra SpaceMoss (øverst) og CosmoCrops (nederst) afspejler hvordan holdene leger med konceptet om biologi i rummet.

Litteratur

- [1] NASA (1997), Human Exploration of Mars: The reference Mission of the NASA Mars Exploration Study Team, Technical Report, NASA Special Publication SP-6107, NASA Johnson Space Center, 1997.
- [2] Is there any evacuation plan on the ISS in case of an emergency?, <https://www.quora.com/Is-there-any-evacuation-plan-on-the-ISS-in-case-of-an-emergency-Are-there-any-drills-performed-on-the-ISS-for-an-evacuation>.
- [3] Schwartzkopf, S.H. (1992), Design of a Controlled Ecological Life Support System – Regenerative Technologies are Necessary for Implementation in a Lunar Base CELSS, *Bioscience* vol. 42, no. 7, pp. 526-535.
- [4] SpaceX Capabilities & Services (Falcon Heavy, Payload to Mars), <http://www.spacex.com/about/capabilities>.
- [5] The International Genetically Engineered Machine Competition (*iGEM*), Registry of Standard Biological Parts, <http://parts.igem.org/Collections>.
- [6] SpaceMoss projektbeskrivelse, http://2015.igem.org/Team:UNIK_Copenhagen.
- [7] CosmoCrops projektbeskrivelse, http://2016.igem.org/Team:UNIK_Copenhagen.



Christina Toldbo er kandidat i fysik fra Niels Bohr Institutet. Hun har specialiseret sig indenfor rumfart og formidling og var medlem af projekt *SpaceMoss* og supervisor for projekt *CosmoCrops*. For mere information om projekterne se [6] og [7].