



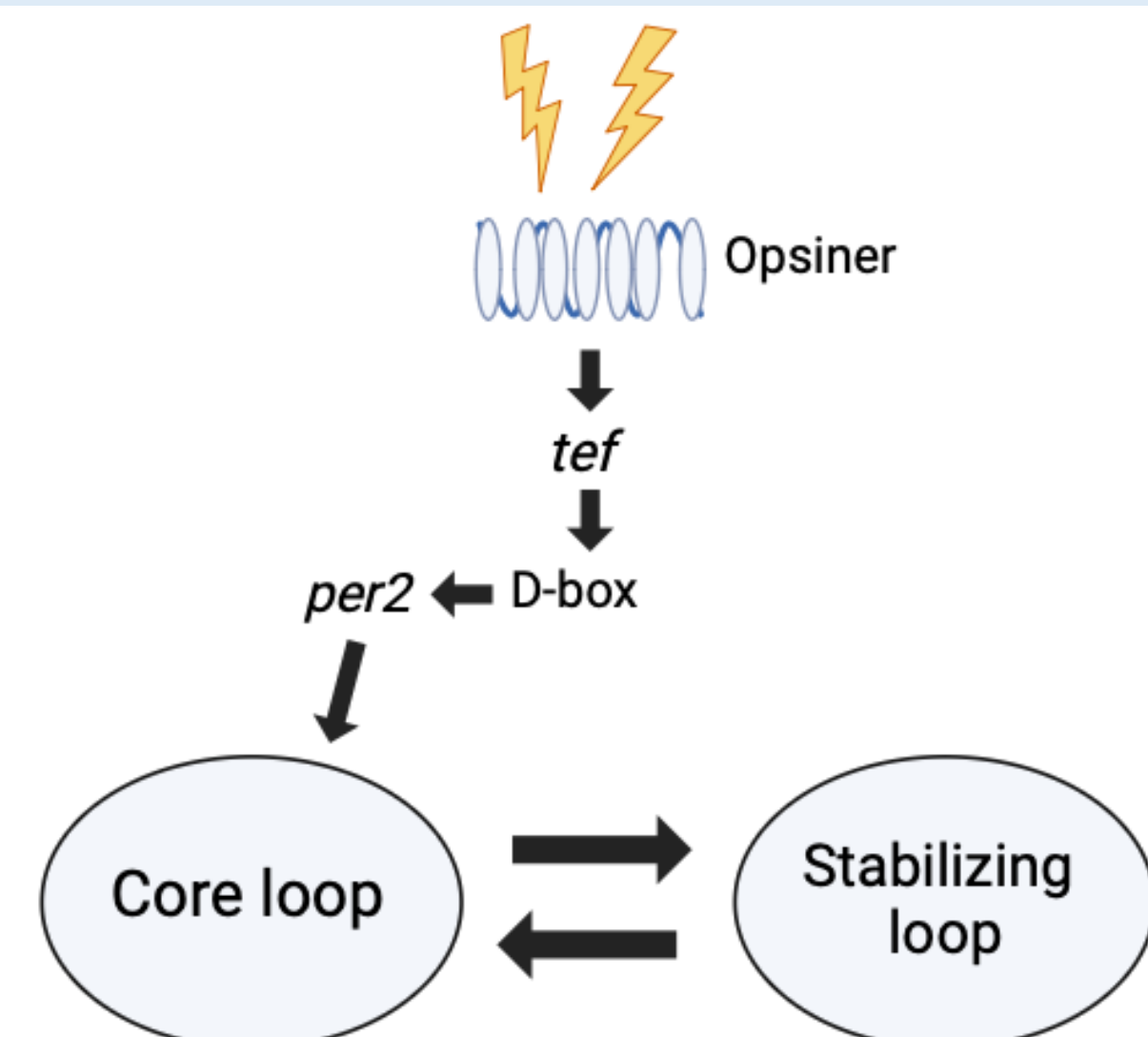
BIO299-11

Laksens biologiske klokke: Styring av døgnrytme med lysperiode

Bakgrunn

Den biologiske klokken i laks:

Døgnrytmen er kontrollert ved hjelp av «klokkegener» som har en rytmisk svingning i nivå gjennom døgnet [1]. Koordinering av klokkegenenes uttrykningsnivå med omgivelsenes lys og mørke er viktig, ettersom dette opprettholder en synkronisering av organismens biologiske prosesser til dag og natt [1]. Hos sebrafisker styres prosessen blant annet ved hjelp av klokkegenet *period 2* (*per2*) som har høyt nivå i lys [2]. Forbindelsen mellom lysoppfattende celler og *per2* er gjennom en transkripsjonsfaktor som heter «*thyrotroph embryonic factor (tef)*» [2]. Om forbindelsen mellom *tef* og *per2* er lik for Atlantisk laks vet vi ikke sikkert. Om opsiner, lysømfintlige proteiner [3], lokalisert i Atlantisk laks [3,4] og *tef* er i samme celler er heller ikke sikkert [3,4].



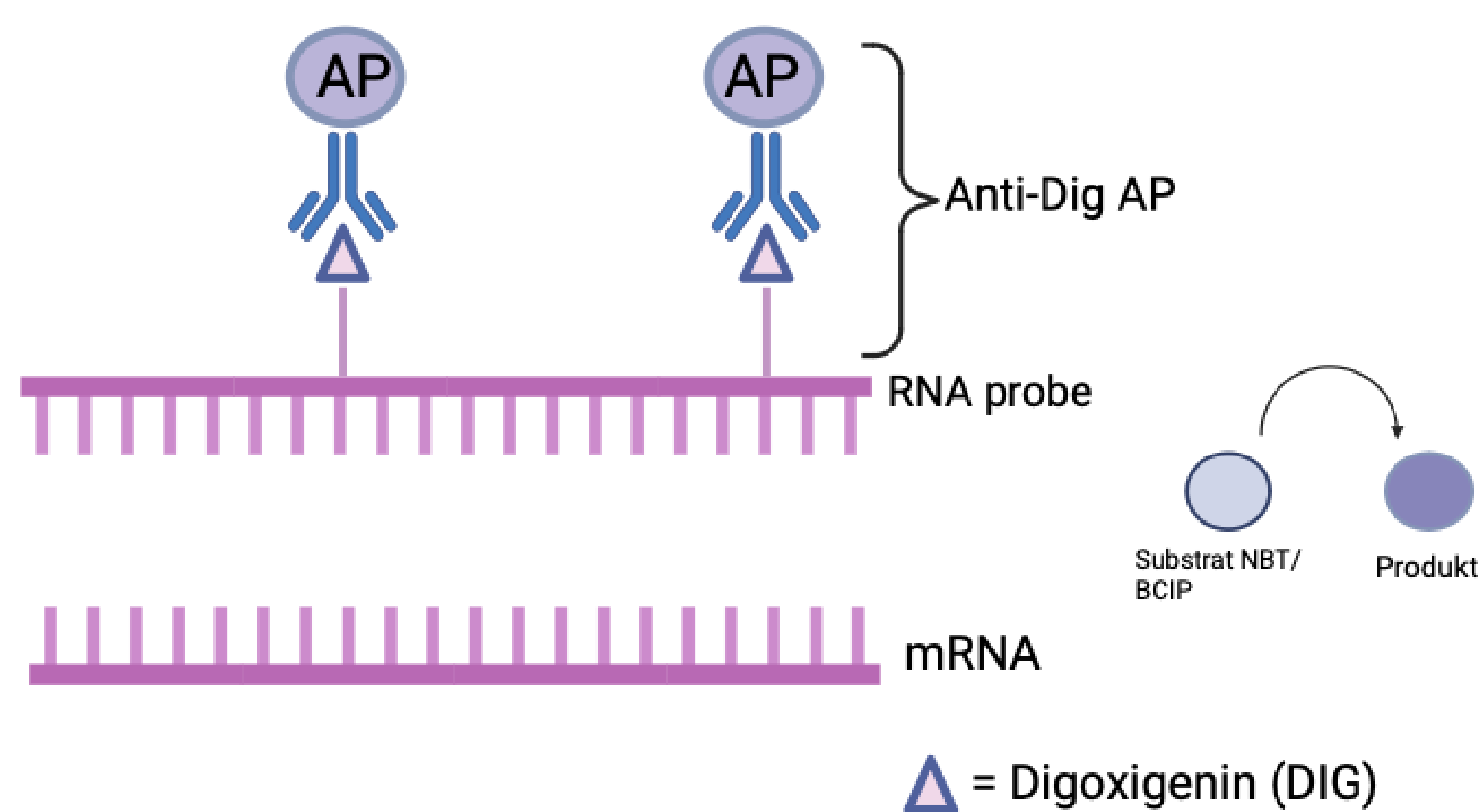
Figur 1: Den biologiske klokken i laks. Uttrykket av *tef* er regulert av lys og binder til D-box elementet av *per2* som fører til økt uttrykk av *per2* og dermed også funksjonen av klokkemekanismen. Laget i BioRender.com

Formål:

- Se på hvordan *tef* er uttrykt i hjernen
- Se på hvordan opsiner er uttrykt i forhold til *tef*
- Se på hvordan *per2* er uttrykt i forhold til *tef*

Metode:

Kartlegging av klokkegener blir gjort ved å ta i bruk en molekylær metode som heter *in situ* hybridisering (ISH). ISH går ut på å detektere mRNA i celler ved å ta i bruk en RNA probe. RNA proben er komplementært til mRNAet man prøver å detektere og har et merke som kalles for Digoxigenin (DIG) [5]. Dette kan deretter bli «fremkalt» ved å ta i bruk immunohistokjemi. Det er alkaline fosfatase (AP) på DIG som skaper den enzymatiske reaksjonen [5].



Figur 2: Prinsippet av *in situ* hybridisering. Laget i BioRender.com.

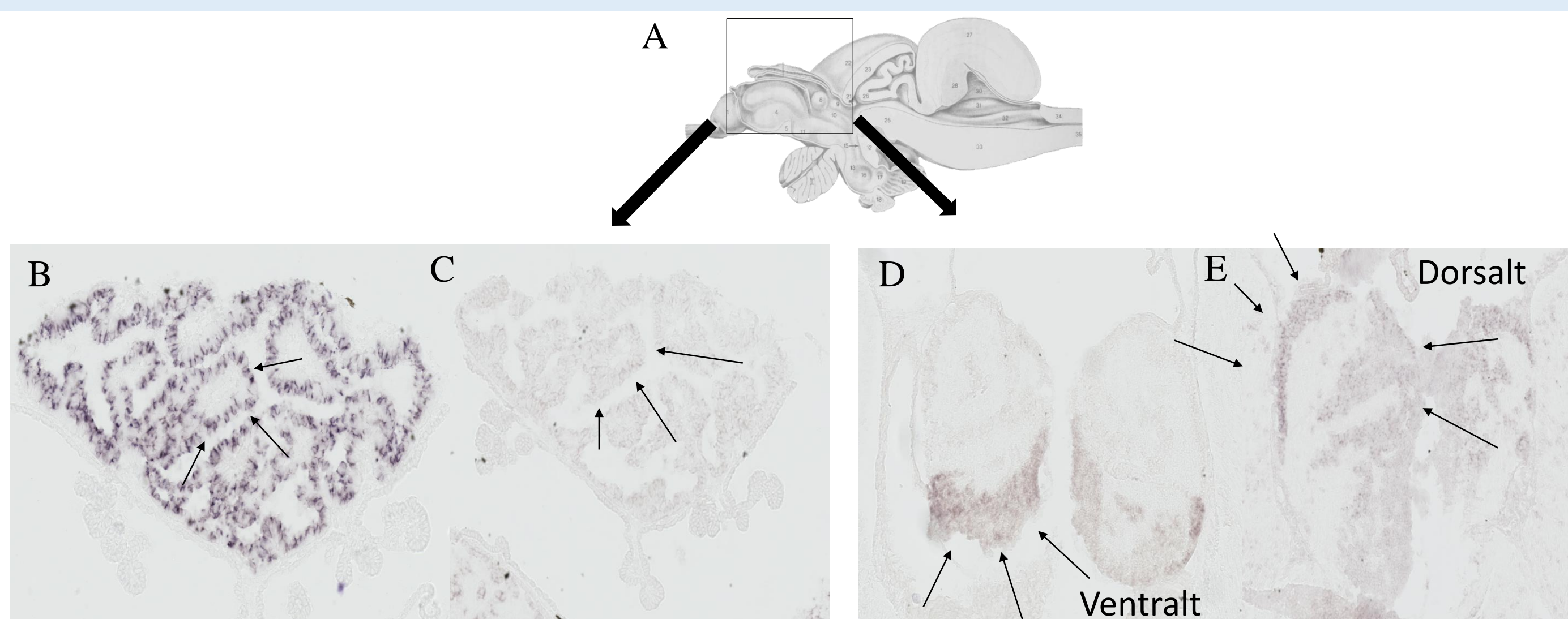
Resultater:

I pinealorganet:

- *exorhodopsin* og *tef* er i samme celler - inn mot pineal-lumen

I habenula:

- *per2* og *tef* er uttrykt i habenula men ikke i samme celler, *per2* ventralt og *tef* dorsalt



Figur 3: A): Skjematisk figur av Atlantisk laksehjerne som viser plassering av pinealorganet og habenula. B) Uttrykk av *exorhodopsin* i pinealorganet er lokalisert på samme sted som C) *tef* i pinealorganet, illustrert av piler i figur B) og C). D) Uttrykk av *per2* er lokalisert ventralt i habenula, mens E) viser *tef* lokalisert dorsalt i habenula, illustrert med piler i figur D) og E).

Konklusjon:

Jeg har karakterisert *tef* uttrykk i Atlantisk laksehjerne. Det ble funnet ut at *tef* gener er flere steder der opsiner er og at *tef* og *per2* er lokalisert i habenula i hjernen, men ikke i samme celler i denne regionen.



Kristina Mangersnes Iversen¹, Rita Karlsen²,
Christine Horne², Mariann Eilertsen³ & Jon Vidar Helvik³
1: Hovedforfatter, 2: Bidragsyter, 3: Veileder

Referanser:

- [1] Isorna et al. 2017. Interplay between the endocrine and circadian systems in fishes. *Journal of Endocrinology*.
- [2] Vatine et al. 2011. It's time to swim! Zebrafish and the circadian clock.
- [3] Sandbakken et al. 2012. Isolation and Characterization of Melanopsin Photoreceptors of Atlantic Salmon (*Salmo salar*).
- [4] Eilertsen et al. 2021. Neural activation in photosensitive brain regions of Atlantic salmon (*Salmo salar*) after light stimulation.
- [5] Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas of Plant and Animal Histology. Lastet ned 17.11.2023.
- Figurer laget i BioRender.com.