

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ В ПОЛЕТЕ АВТОМАТИЧЕСКИХ КОСМИЧЕСКИХ АППАРАТОВ (Особенности подготовки и проведения экспериментов)

М.Г. Таирбеков

Государственный научный центр РФ- Институт медико-биологических проблем РАН

Введение

История развития биологических исследований в космосе, в полете автоматических космических аппаратов типа «БИОН» и «ФОТОН», насчитывает более трех десятилетий. За этот период были подготовлены и проведены многочисленные эксперименты на различных биологических объектах: микроорганизмах, покоящихся и прорастающих семенах высших растений, одноклеточных свободноживущих организмах, культуре клеток и тканей, беспозвоночных, низших и высших позвоночных животных.

В разработке научной программы, методов исследования, бортовой аппаратуры, подготовке полетных экспериментов и в послеполетном анализе биоматериала, наряду со специалистами нашей страны, в разное время принимали участие специалисты стран Восточной Европы (Интеркосмос), США, Европейского космического агентства, а также Канады и Китая.

Результаты этих исследований были предметом широкого и всестороннего обсуждения на международных форумах и на страницах–научных журналов. Поэтому, в статье автор приводит лишь краткий обзор наиболее значимых результатов, полученных в экспериментах с культурой клеток *in vitro* и одноклеточными организмами.

Главная цель настоящей работы - акцентировать внимание специалистов на некоторых особенностях подготовки и проведения экспериментов на борту автоматических космических аппаратов, и главным образом специфике изменений физико - химических и биомеханических параметров как самих клеток и клеточных ассоциаций, так и среды их обитания в условиях микрогравитации. Понятие среды обитания, в данном случае, включает характеристики систем жизнеобеспечения, как самих биологических объектов, так и физико-технические параметры полета.

Особое внимание обращено на подготовку и проведение контрольных экспериментов: лабораторного (т.н. базального) и синхронного, и на точное соответствие всех параметров окружающей среды, за исключением микрогравитации, в контрольных экспериментах и в полете.

1. Краткий обзор основных результатов исследований.

Исследования на культуре клеток и тканей проводятся с середины 60-х и занимают значительное место в космической биологии. Однако одним из первых результативных исследований следует назвать 12-суточный эксперимент с культурой клеток легкого человека Н-38, проведенный в полете орбитальной станции «Скайлеб-3» с использованием бортового культиватора клеток, позволявшего выращивать культуру при t 37° С, регулярно менять питательную среду, периодически фиксировать биоматериал и проводить цейтраферную киносъемку [25]. При послеполетном анализе изучали скорость роста культуры, подвижность клеток, содержание белка, ДНК и РНК. Полученные данные не выявили существенных различий между опытным (полетным) и контрольным (наземным) образцами, за исключением одного факта. Содержание глюкозы в клетках полетного образца было на 58% больше, чем в контроле. На этом основании было высказано предположение о том, что низкий уровень утилизации углеводов в клетке в условиях микрогравитации может быть связан со снижением метаболической активности, а следовательно и интенсивности энергообмена.

Этот вывод, сделанный авторами в качестве «частного определения» натолкнул специалистов на мысль о том, что проблема влияния силы тяжести на клетку может быть рассмотрена не только с точки зрения возможной механической деструкции сократительных структур, в частности цитоскелета, но и в энергетическом аспекте. Одним из наиболее информативных показателей уровня энергетического обмена в клетке служит интенсивность движения цитоплазмы [20]

Классическим объектом для изучения цитоплазматической подвижности является слизевой гриб - плазмодий миксомицета *Physarum polycephalum*, представляющий собой гигантский многоядерный синцитий.

Нами, совместно со специалистами Института биофизика АН СССР в 1979 году впервые, в полете биоспутника «Космос-1129», был подготовлен и проведен эксперимент с растущим плазмодием миксомицета *Physarum polycephalum*. Послеполетный анализ биоматериала, показал, снижение скорости движения цитоплазмы в условиях микрогравитации, что экспериментально подтверждает ранее выдвинутое предположение о снижении метаболической активности клеток в условиях микрогравитации. В дальнейшем детальные многоцелевые исследования в условиях реального космического полета и при моделировании эффектов микрогравитации с использованием плазмодия миксомицета *Physarum polycephalum* были выполнены немецкими коллегами [13].

Объектом исследования в космосе была также культура растительных клеток. В полете биоспутника «Космос-782» в 1975 году был выполнен совместный советско-американских эксперимент с культурой клеток моркови *Daucus carota*, посвященный изучению морфогенеза тотипотентных клеток, включая и ранний соматический эмбриогенез, в невесомости [1, 4].

Задача уникального совместного эксперимента была полностью выполнена. Были получены убедительные доказательства того, что соматические клетки, культивируемые *in vitro* способны полностью реализовать свою генетическую программу в условиях космического полета, формировать осевые органы а в послеполетный период образовывать взрослые растения.

Еще один эксперимент был выполнен нами совместно со специалистами ГДР в полете биоспутника «Космос-1667» в 1985г. на культуре клеток томата *Lycopersicum esculentum*. Основной целью эксперимента было изучение влияния микрогравитации на темпы роста, скорость регенерации и поведенческие характеристики клеток. При послеполетном анализе биоматериала было выявлено отставание в темпах развития полетной культуры от нормы, в частности при реализации переходных (критических) стадий развития культуры. [30]

Однако, наиболее достоверные результаты были получены в эксперименте, выполненном нами совместно со специалистами Европейского космического агентства полете биоспутника «Космос-2044» в 1989 году на изолированных протопластах моркови *Daucus*

carota и рапса *Brassica napus* с использованием бортового прибора «Proto» [7, 29] Послеполетные исследования, предусматривающие всесторонний анализ основных морфо-функциональных характеристик, выполненный в различных лабораториях Европы и нашей страны выявил существенные различия.

Довольно часто в качестве объекта исследования с культурой клеток в космосе специалисты использовали клетки крови (лимфоциты и лейкоциты). Полномасштабный и целенаправленный цикл исследований с культурой клеток - лимфоцитов уже более 2-х десятилетий проводится группой специалистов под руководством А. Коголи [16, 17].

За это время всесторонне изучены почти все аспекты функционирования этих клеток как *in vitro*, так и *in situ* в условиях космического полета. Эксперименты, проводились преимущественно в полете пилотируемых космических аппаратов.

Особое внимание в этих исследованиях уделяли изучению пролиферативной активности и реализацию специфических функций лимфоцитов, в частности способности поддерживать оптимальный уровень активности иммунной системы. Во многих экспериментах было отмечено, снижение активности Т-лимфоцитов, растущих в культуре в условиях микрогравитации.

В последние годы исследования с культурой клеток крови были продолжены. На борту Международной космической станции специалистами нашего Института был проведен эксперимент «Межклеточное взаимодействие» [14]. Полученные данные существенно расширили понимание механизма реализации межклеточных контактов в условиях микрогравитации.

В начале 90-х годов в полетах автоматических космических аппаратов «Бион-10» и «Фотон-10» нами с использованием бортового прибора "Biovox", сконструированного по заказу Европейского космического агентства, были подготовлены и проведены эксперименты «Фибробласт» и «Фибробласт-2» соответственно в 1992 и 1994 гг. [8].

В первом эксперименте, в качестве объекта исследования служила культура клеток, изолированная из эмбриональных тканей мышей, во втором культура соединительно-тканых клеток - фибробластов, изолированная из крайней плоти человека. Кроме того, в полете биоспутника «Бион-10» с использованием того же бортового прибора, голландскими специалистами был проведен эксперимент «Остеобласт», где в качестве объекта исследования были использованы клетки, изолированные из бедренной кости эмбрионов мышей [35].

Основной задачей этих исследований было выяснить вероятность и степень влияния факторов космического полета на пролиферативную активность, скорость распространения по субстрату и способность образовывать колонии. Было показано, что рост и скорость распространения по субстрату у культуры, экспонированной в невесомости существенно ниже по сравнению с контролем. В культуре клеток костной ткани - остеобластах было отмечено снижение способности формирования костной ткани.

Результаты этих исследований и внесли заметный вклад в изучение первичных этапов формирования тканей и органов в условиях микрогравитации.

Функционирование одноклеточных организмов, динамика их роста и особенности распределения в среде в условиях измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитации, представляют большой интерес для космической биологии и биотехнологии. Исследования в этой области проводятся с начала 80-х годов XX века.

Наибольшее количество экспериментов в космосе выполнено с одноклеточными свободноживущими организмами - инфузориями класса *Ciliata: Paramecium aurelia* и *Tetrahymena pyriformis* французскими специалистами [27] и нами [3, 6].

Кроме того, в нашей лаборатории были выполнены исследования с использованием клиноста, имитирующего некоторые эффекты невесомости. Во всех экспериментах, выполненных в условиях реального космического полета и при клиноститировании, была выявлена стимуляция пролиферативной активности, что приводило к увеличению скорости роста культур и накопления биомассы.

Напротив, в условиях гипергравитации в диапазоне от 2 до 5 g создаваемом вращением на центрифуге, после короткого стимуляции скорости деления клеток, во всех случаях наблюдали устойчивое торможение скорости роста популяции [6]. Как показали теоретические расчеты, подтвержденные результатами экспериментальных исследований, в двухкомпонентной среде (клеточная популяция - среда) в условиях невесомости к изменению поверхностных взаимоотношений газ- жидкость - твердое тело и увеличению площади пограничных зон, что создает более благоприятные условия для газообмена. Очевидно в этом заключается причина стимуляции роста культуры в условиях гипо- и особенно микрогравитации, тогда как гипергравитация (центрифугирование в диапазоне ускорений 2-5 g существенно ускоряет осаждение (седиментацию) клеток и снижает уровень биоконвекции в среде, и, как результат, приводит к торможению роста культуры. Таким образом, результаты экспериментальных исследований показывают, что варьируя силой тяжести как переменным фактором можно регулировать процесс культивирования одноклеточных организмов. Это утверждение, помимо теоретического значения, имеет существенный практический выход, так как дает возможность оптимизировать рост культур и накопления биомассы и позволяет тем самым совершенствовать методы не только космической, но и земной биотехнологии. [9]

Очевидно, следует кратко остановиться на результатах космических экспериментов с использованием низших позвоночных животных, направленных на изучение клеточных и молекулярных механизмов эмбриогенеза, формирования органов и тканей, процессов репарации и регенерации.

В этом контексте, последовательные и широкомасштабные исследования (более 10 экспериментов) в космосе в полете автоматических космических аппаратов «Бийон» и «Фотон» с использованием земноводных - испанских тритонов *Pleurodeles waltl* были проведены специалистами Института биологии развития РАН совместно с нами под руководством В.И. Миташева [22].

Основное внимание в этих экспериментах уделяли изучению пролиферативной активности клеток и процессу регенерации органов и тканей. Было показано, что условия микрогравитации стимулирует пролиферативную активность и ускоряет регенерацию различных органов в послеполетный период.

Только несколько экспериментов в условиях микрогравитации выполнено на низших позвоночных животных, целью которых было изучение особенностей эмбрионального развития после оплодотворения.

Эти исследования были проведены преимущественно на амфибиях и рыбах с использованием методов молекулярной и клеточной биологии [31, 18,23].

Авторы работ отмечают ряд нарушений, происходящих в условиях микрогравитации. В частности имеет место снижение скорости движения цитоплазмы в кортикальном слое оплодотворенной яйцеклетки, уменьшение степени адгезии клетки и др. Специалисты на основе полученных результатов с использованием морфологических, гистологических и иммуно-цитохимических методов, а также данных видеосъемки, проводившейся во время полета пришли к заключению, что эффект микрогравитации на ход эмбрионального развития значителен в критические периоды развития зародыша, а именно стадии нейруляции (стадия образования нейрулы) и стадии закладки нервного ствола. Таким образом, на основе результатов этих экспериментов можно прийти к заключению о том, что наиболее чувствительными к условиям микрогравитации, являются ранние стадии эмбрионального развития животных. Почти 10 лет с середины 90-х годов прошлого столетия и до середины первого десятилетия нового века из-за отсутствия полетов, в силу объективных причин, биологические эксперименты в космосе не проводились.

Первый, после длительного перерыва, успешный запуск российского автоматического космического аппарата (АКА) «Фотон-М» № 2 состоялся 31 мая 2005 года с космодрома Байконур.

Космические аппараты серии «Фотон» технологическими аппаратами, лишенными

специальной системы жизнеобеспечения, присущим специализированным биологическим спутникам типа «Бион». Это обстоятельство существенно ограничивает выбор биологических объектов исследования. В частности на борту к «Фотон» нет возможности проводить исследования на млекопитающих. Однако, использовать в качестве объектов исследований микроорганизмы или некоторые виды беспозвоночных и низших позвоночных животных возможно, при соблюдении определенных условий, а именно выборе видов приспособленных к экстремальным условиям среды обитания (способность выживать при длительном отсутствии пищи и воды, в условиях повышенных температур и относительно низкой влажности).

С учетом этих условий нами в полете КА «Фотон-М» №2 совместно со специалистами институтов РАН и РАМН были подготовлены и проведены 4 эксперимента. В послеполетных исследованиях приняли участие американские специалисты.

Объектами исследования служили микроорганизмы - низшие грибы - актиномицеты *Streptomyces lividans*, беспозвоночные - виноградные улитки *Helix lucorum*, амфибии - иглистые тритоны *Pleurodeles waltlii*, рептилии - ящерицы *Pachydactylus bibroni*. Особенностью выполненных исследований было использования современных молекулярно-биологических и молекулярно-генетических методов анализа.

Основная задача исследований состояла в изучении роли экспрессии определенной группы генов в процессе адаптации живых систем к условиям космического полета, главным образом микрогравитации. [2]

Предварительные результаты экспериментов были обсуждены совместно с американскими коллегами в октябре 2005 г в Москве в Институте медико-биологических проблем с участие ведущих специалистов Институтов РАН и РАМН, принимавших участие в подготовке и проведении исследований в полете КА «Фотон-М» №2. Полученные данные свидетельствуют о том, о ведущей роли молекулярных и клеточных механизмов в восприятии и реализации гравитационного стимула в клетке.

Итоговое обсуждение экспериментов планируется провести в мае – июне 2006 года с последующей публикацией в печати.

2. Выбор объекта исследования и условий проведения экспериментов

При подготовке и проведении исследований по клеточной биологии и анализе полученных результатов, помимо специфических требований к космическим (полетным) и лабораторным (контрольным) экспериментам, первостепенное значение приобретают следующие обстоятельства: выбор объекта исследования, установление приоритетов внутриклеточных структур и процессов по шкале их чувствительности к силе тяжести и сведения о среде обитания клеток [10].

Основными объектами для изучения клеточных механизмов восприятия и реализации влияния измененной силы тяжести, в частности микрогравитации, служат клетки, развивающиеся в культуре *in vitro* на твердом субстрате и ассоциация одноклеточных организмов *in vivo*, средой обитания которых является жидкость - вода.

Первый тип клеток не встречается в природе и представляет собой искусственно созданный в лабораторных условиях продукт - популяцию клеток, для поддержания которой в активном состоянии требуется постоянный контроль за основными параметрами роста. Сообщество клеток, изолированное из органов и тканей, развивающееся в культуре свободно от влияния интегрирующих и координирующих систем многоклеточного организма, лишено внутритканевых и внутриорганных связей, но в то же время сохраняет свойства, присущие многоклеточному организму, давшеему начало развитию инициальной культуры. Это позволяет использовать культуру клеток *in vitro* в качестве объекта исследования и получать информацию о структурно-функциональном состоянии и поведенческих характеристиках клеток не «затушеванную» влиянием регуляторных механизмов высшего порядка (нервных или гормональных), действующих на уровне целого организма.

В отличие от культуры клеток *in vitro*, популяция одноклеточных организмов *in vivo* - это естественное образование, способное к самостоятельному существованию в природе. Свободноплавающие одноклеточные организмы представляют собой относительно адекватный объект для изучения не только поведенческих характеристик, но и структурно-функциональной организации клетки при изменении величины или направления вектора гравитации

Таким образом, как культура клеток *in vitro*, так и свободноживущие одноклеточные организмы с полным основанием могут служить объектами исследования в гравитационной и космической биологии.

Второе немаловажное обстоятельство при проведении экспериментов в области космической биологии - установление приоритетов при ранжировании внутриклеточных структур и процессов в соответствии с их ролью и степенью участия в восприятии и реализации гравитационного стимула (степени гравитационной чувствительности). Таковыми, по нашему мнению, являются:

- оценка уровня метаболической активности, определяемая по интенсивности энергетического обмена на основе изучения количественного содержания и структурно-функциональных характеристик митохондрий в клетке

- информация о количестве, размерах и особенностях пространственного распределения клеточных органелл, сократительных элементов и мембранных структур во внутриклеточном объеме и их взаимодействии в клетке

- оценка уровня двигательной активности клетки (скорости передвижения по субстрату) для клеток, растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате скорости плавания для одноклеточных организмов

Третье необходимое условие для экспериментальных исследований на клеточном уровне - сведения об особенностях среды обитания клеток: концентрационных и химических градиентах растворенных в среде высокомолекулярных соединения (питательные вещества и продукты жизнедеятельности), соотношении поверхностей фаз газ-жидкость

- твердое тело, гидростатическом давлении, плотности, температуре, скорости седиментации и характере распределения в среде клеток

3. Состояние динамической невесомости - основной фактор космического полета

Обширный экспериментальный материал, полученный за последние десятилетия в области космической биологии и проанализированный в соответствии с современными теоретическими положениями фундаментальной биологии, приблизил нас к расшифровке механизмов адаптации живых систем к действию факторов космического полета. Важную роль в этом сыграл анализ результатов, полученных в экспериментах на простейших биологических объектах: культуре клеток и одноклеточных организмах.

Отправной точкой при объяснении эффектов микрогравитации на живые системы служит теоретический постулат, свидетельствующий о том, что физико-химические процессы, такие как конвекция, седиментация, пространственное распределение высокомолекулярных соединений и газожидкостных фаз, другими словами, - тепло-массообмен, определяющий закономерности функционирования организмов, при силе тяжести ($1g$) на Земле и в космическом полете (микрогравитация) протекает неодинаково [11]

Наглядно этот постулат находит свое экспериментальное подтверждение в исследованиях с различными типами клеток и клеточными ассоциациями [10]

Вместе с тем, одним из основных принципов фундаментальной биологии является общепринятый факт, свидетельствующий о том, что морфо-функциональные отклонения, проявляющиеся на системном уровне, обусловлены нарушениями регуляторных механизмов, контролируемых в клетке на молекулярном уровне. [12]

Уже в 90-х годах прошлого столетия многолетнюю дискуссию о возможности влияния силы тяжести на клетку можно считать завершенной. Ответ на вопрос, поставленный в середине 60-х годов способен ли изменение величины и направления вектора гравитации вызывать

заметные сдвиги в структурно-функциональной организации клетки - должен быть положительным. К такому выводу пришли специалисты в результате тщательного и всестороннего анализа большого количества данных, полученных в экспериментах с различными клеточными культурами *in vitro* и одноклеточными организмами *in vivo*, выполненных в лабораторных условиях на земле при моделировании эффектов измененной силы тяжести (гипо- и гипергравитации) с помощью клиностата и центрифуги соответственно и в условиях микрогравитации в экспериментах на борту летательных космических аппаратов. В этих исследованиях были получены экспериментальные доказательства наличия в клетках структур и процессов, чувствительных к изменению напряженности гравитационного поля. [12]

Корректное проведение биологических исследований в космосе требует тщательного рассмотрения ряда физических параметров, присущих космическому полету. Прежде всего - это состояние динамической невесомости, возникающее в условиях микрогравитации [21]. Как известно, вес тела в космическом полете, если и не исчезает полностью, но уменьшается в сотни тысячи раз. В частности, на борту автоматического космического аппарата типа «Бион» или «Фотон» уровень микрогравитации составляет 10^{-5} - 10^{-6} g. Это может привести к следующим событиям: [33]

-гравитационной (механической) разгрузке клетки и внутриклеточных структур, значение которой будет соответствовать их весу и плотности, физической деформации клеток и внутриклеточных структур, образованию гидростатических градиентов - прекращению процесса осаждения (седиментации), изменению скорости плавания или способности к плаванию (плавучести), перестройке цитоскелета и существенному сдвигу в процессах тепло - массопереноса внутри клетки и в окружающей клетку среде [32]

На что же следует обратить особое внимание? Какие процессы имеют место или могут быть изменены в условиях микрогравитации? Это в первую очередь: - конвекция (тепловое движение)

-движение клеток (передвижение по субстрату в случае с культурой клеток *in vitro*, плавучесть, в случае одноклеточными организмами) - радиация

-динамические изменения на старте и при посадке КА (сдвиг клеточных пластов) При наличии центрифуги на борту к этому следует добавить -осаждение (седиментацию) клеток в среде -ускорение Кариолиса -изменение веса клетки

-внутренний сдвиг в клетке (перемещение клеточного содержимого) Изменение динамики межклеточного содержимого, представляющего собой окружающую среду клетки, сама по себе безадресная, но может опосредованным образом влиять на функционирование клетки. В частности, это касается установления коэффициентов поглощения субстратов клеткой и скорости утилизации продуктов жизнедеятельности. Эта взаимосвязь между клеткой и окружающей средой требует тщательного экспериментального анализа (для получения эмпирических данных) и необходима для детального количественного анализа и установления репрезентативных связей между феноменами прямого (непосредственного) и косвенного (опосредованного) влияния гравитации на биологические объекты.

Факторы, которые имеют непосредственное отношение к поведению клеточных ассоциаций в гравитационном поле и которые могут влиять на распределение клеток при изменении величины и направления вектора силы тяжести это: плотность жидкости, ее вязкость, скорость диффузии, плавучесть, плотность самой клетки, скорость осаждения и направление биоконвективных потоков.

При размещении биологических образцов на бортовой центрифуге, потенциальный эффект микросреды на распределение популяции одноклеточных организмов может проявляться в уменьшении питательных веществ и снижении концентрации кислорода культуры в условиях наличия искусственной силы тяжести в $1g$.

Таким образом, ответная реакция клетки на изменение величины и направления гравитационного вектора выражается в сдвиге первичных физико-химических параметров. Понимание или выяснение причин этого сдвига при анализе результатов космических

экспериментов и составляет суть фундаментальных биологических исследований.

Этот анализ очень сложен, так как изменение напряженности гравитационного поля приводит не только к сдвигу внутриклеточных процессов, но и изменению характера взаимоотношения клетки с окружающей ее средой

При обсуждении влияния измененной силы тяжести на клетку в литературе часто используются термины «прямой» (непосредственный) и «непрямой» (опосредованный) эффект.

Использование термина «прямой» эффект предусматривает наличие в клетке сенсорной системы, которая оценивает степень физической деформации внутриклеточных структур, прежде всего цитоскелета, и сигнализирует об этом рецепторы, расположенные на внешней клеточной мембране.

Опосредованный косвенный эффект рассматривается как развитие каскадной цепи причинно-следственных реакций инициированных в результате влияния измененной силы тяжести на окружающую клетку среду.

При обсуждении прямого эффекта на клетку, необходимо иметь в виду такие характеристики как размер, геометрия, масса, плотность, как самой клетки, так и внутриклеточных компонентов. Совершенно очевидно, что изменение этих параметров может привести и приводит к таким явлениям как сдвиг, растяжение или сжатие, механический стресс, в результате чего происходят характерные перестройки клеточного метаболизма в условиях измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитации [12].

Кроме того, следует учитывать изменения, которые происходят во внешней среде, а именно, возникновение разницы плотностей, изменение вязкости, скорости седиментации, плавучести, конвективных потоков. Эти параметры также должны быть включены в «коллективный механизм» при оценке степени гравитационного эффекта на структурно-функциональный статус клетки или одноклеточного организма.

Главный аргумент противников наличия прямого эффекта гравитации на клетку состоит в том, что до сих пор не обнаружены клеточные структуры, на которые могла бы оказывать непосредственное влияние силы тяжести. Исключение составляют только, специализированные гравирецепторы: статолиты - у растений [26] и статоцисты - у животных [23]. Это справедливо если рассматривать клетку как статическую структуру! Однако, клетка - клетка комплексная по организации и очень сложная функциональная единица живой системы, которая постоянно находится термодинамически в неравновесном состоянии. В этой ситуации гравитация может играть существенную роль в жизнедеятельности клетки. По мнению И. Пригожина [28] в неравновесной системе самые незначительные изменения во внешней среде могут привести к драматическим ситуациям. Гораздо большее место в биологических исследованиях отводится непрямому (опосредованному) эффекту

В этом случае ведущая роль принадлежит тепло - массопереносу. Как известно, любой процесс во внутриклеточном объеме связан с переносом тепла и перемещением субстрата (как правило, жидкости или газа) пассивным или активным способом [21]. Он может представлять собой движение жидкости или дискретных твердых частиц внутри жидкости, транспортируемых к различным участкам внутриклеточного объема. Активное перемещение масс, инициированное работой насосов физической или биологической природы используемых для разделения жидкости или растворов требует дополнительной энергии для преодоления силы гравитации, и является гравитационно-зависимым процессом.

Анализ влияния гравитации на тепло - массоперенос в клетках растущих в культуре *in vitro* в жидкой среде или на твердом субстрате должен включать всестороннее и тщательное сравнительное изучение ряда физических параметров, связанных с условиями космического полета (микрогравитации).

Отклонения от нормы в работе бортовых приборов или показаниях измерительной аппаратуры в космосе бывают более значительными, чем на земле. Это приводит к

появлению дополнительных проблем в ходе космического эксперимента. Идеальным, вероятно, является тот случай, когда для проведения контрольной группы наземных экспериментов учитываются все, без исключения, факторы космического полета, разумеется, кроме микрогравитации

Для оценки, величин, интенсивности воздействия и степени влияния физических факторов космического полета на проводимые в космосе эксперименты, в том числе и биологические, должны быть созданы приборы, которые позволили бы получать достоверные результаты при сравнительном анализе полетных и контрольных (наземных) вариантов конкретного эксперимента.

Так, например, известно, что одной из задач при проведении экспериментов на борту космического летательного аппарата (пилотируемого или беспилотного) остается возможность достаточно точного измерения уровня гравитационных возмущений, приносимых как техногенными, так и антропогенными факторами. В этой связи, на наш взгляд, в дополнение к техническим, могли бы быть использованы и биологические методы измерения, а именно, применение в качестве сенсоров гравитационных возмущений клетки как совершенной микробиомеханической системы [9]

4. Радиационный фактор

За более чем 30-летний период проведения экспериментальных исследований, в области клеточной биологии были получены доказательства о влиянии космической радиации на основные характеристики клеточного метаболизма, включая изучение эффектов сочетанного действия микрогравитации и ионизирующей радиации космической природы. Основная информация о влиянии космической радиации на клетку была получена в экспериментах, выполненных в длительных космических полетах [19]. Изучали характерные проявления радиационного эффекта: гибель клеток, мутации, трансформации к малегнизации, повреждение ДНК и процессы репарации. При этом, величины и характер нарушений в функционировании живых систем на молекулярном и клеточном уровнях, сравнивали с хорошо известными кривыми доза-эффект. Результаты этих исследований, содержащие данные о характерных видах космической радиации и дозах облучения суммированы в недавно опубликованной обзорной статье [34].

Что же касается информации по этой обсуждаемой проблеме, полученной в полетах автоматических космических аппаратов, то следует отметить отсутствие систематических данных об анализе радиационной обстановки в период функционирования на орбите КА типа «Бион» или «Фотон». Исключение составляет недавний полет КА «Фотон-М» № 2.

Для оценки радиационной обстановки и изучения возможного влияния космической радиации на биологические объекты различного уровня эволюционного развития в каждом контейнере, размещенном на борту КА «Фотон-М» №2 содержащим полетные образцы биоматериала: колонию актиномицетов (эксперимент «Плазмида»), (эксперимент «Рецептор»), тритонов (эксперимент «Регенерация») и ящериц (эксперимент «Геккон»), были размещены миниатюрные радиационные дозиметры.

По окончании полета дозиметры были возвращены в лабораторию для определения интегральной дозы поглощенной за время 16- суточного полета.

Обработка дозиметров выявила следующее распределение дозы поглощенной радиации: Гекконы - 200м.рад., актиномицеты - 260 м.рад., улитки- 260 м.рад., тритоны -330 м.рад. Приведенные выше дозы ионизирующей космической радиации, по результатам многолетних наблюдений, являются характерными для космических аппаратов типа «ФОТОН» и соответствуют длительности и навигационным параметрам. Кроме того, количества поглощенной радиации биологическими объектами, свидетельствуют о том, что радиационная обстановка во время полета КА «Фотон - М» №2 была нормальной [3].

5. Бортовая научно-исследовательская аппаратура

Космический эксперимент любой сложности - это дорогостоящее мероприятие! Но следует различать понятие стоимости самого эксперимента и стоимость т.н. накладных расходов

включающих долю стоимости космического аппарата, ракеты - носителя затрат на организацию работ связанных с запуском космического аппарата и на месте приземления. Отдельной и довольно внушительной статьёй расхода являются затраты на разработку и создание бортовой научной аппаратуры для проведения исследований с культурой клеток и одноклеточными организмами в области клеточной биологии в полете автоматически космических аппаратов.

Прежде всего, необходимо остановиться на необходимости наличия на борту центрифуги

5.1. Центрифуга

Использование центрифуги для создания искусственной силы тяжести в 1g давно является одним из обязательных условий при проведении полетного эксперимента. Сравнительный анализ образцов биоматериала, экспонированного в космосе на стационарной платформе и на вращающейся бортовой центрифуге, позволяет выявить в «чистом виде» эффект микрогравитации т.к. все остальные параметры полета: радиационный фон, ускорения во время старта и ударные перегрузки в момент приземления космического аппарата были абсолютно идентичными.

Впервые центрифуга была установлена на борту биоспутника «Космос- 782» (1975г) и предназначалась для проведения эксперимента с млекопитающими - крысами. Затем на следующем биоспутнике «Космос-936» (1977г) на бортовой центрифуге были размещены простейшие биообъекты (сухие семена растений, низшие грибы и насекомые). Полученные результаты дали возможность оценить влияние искусственной силы тяжести на живые системы. Опыты с млекопитающими, а также простейшими организмами показали, что между земной и искусственно созданной силой тяжести принципиальных различий относительно влияния на биологические процессы не существует, что и следовало ожидать, т.к. природа того и другого феномена одинакова -это ускорение.

Вместе с тем, использование центрифуги в космическом полете как способа получения земной силы тяжести в экспериментах с клеточными культурами может привести к нежелательным явлениям, а именно сдвигу клеточных пластов, внутриклеточного содержимого и нарушению межклеточных взаимодействий [36].

В зависимости от геометрии используемого экспериментального оборудования (радиуса центрифуги, размеров экспериментального контейнера и расстояния его расположения от центра вращения) сила этих сдвигов может составлять до 90% от общей составляющей сил, влияющих на клеточную культуру, растущую на твердом субстрате.

Внутренняя сила сдвига - основная причина появления артефактов, как в полетном, так и наземном (контрольном) экспериментах. Сила сдвига зависит от двух параметров: во-первых, от длины и глубины экспериментального контейнера, и во-вторых, от точки его расположения на плече центрифуги. Самый большой силы сдвиг приходится на клетки, расположенные на дистальном конце экспериментального контейнера. Чем больше длина контейнера и чем дальше от центра вращения центрифуги он расположен, тем большие ускорения будут испытывать клетки.

Таким образом, при проведении экспериментов с использованием центрифуги следует учитывать, не только положительный эффект, но и нежелательные явления, привносимые феноменом ускорений.

5.2. Бортовые культиваторы клеток и одноклеточных организмов

Для проведения экспериментов с культурой клеток *in vitro* и/или одноклеточными организмами необходима соответствующая аппаратура, отвечающая следующим требованиям:

- создание оптимальных условий культивирования и хранения клеток
- постоянное поддержание оптимальных параметров окружающей среды (температуры, влажности, давления) на всем протяжении эксперимента
- проведение периодических манипуляций с культурой в автоматическом режиме в соответствии с разработанной циклограммой эксперимента -возможность введения в культуральную среду биологически активных соединений (стимуляторов или

ингибиторов), фиксации и консервации биологических образцов - фото- и видео - регистрация поведенческих изменений культуры в ходе эксперимента

В настоящее время в распоряжении специалистов, занимающихся исследованиями в области клеточной биологии, в космосе, имеется в распоряжении ряд бортовых приборов, способных выполнять перечисленные задачи.

Прообразом всех современных культиваторов клеток, служит бортовой прибор «Биофиксатор», разработанный и изготовленный НПО «Респиратор» г Донецк в 1977 г. по нашему техническому заданию.

Прибор представлял собой батарею из 10 цилиндрических металлических емкостей, (вегетационных камер) каждый объемом 60 мл. соединенных с 2 камерами, одна из которых содержит 3 мл воды, а другая 5 мл. фиксатора (формалина или глутаральдегида). Подача в основную емкость (вегетационную камеру) воды и фиксатора происходит автоматически, через определенные промежутки времени, в соответствии с циклограммой

С помощью бортового прибора «Биофиксатор» в полете биоспутника «Космос- 936» в 1977 году нами был проведен эксперимент с прорастающими семенами кукурузы. Сухие семена размещались в 10 вегетационных камерах. Подача воды в них осуществлялась одновременно сразу же после космического аппарата на околоземную орбиту. Затем, через каждые 12 часов в одну из камер подавался фиксатор. Эксперимент длился 6 суток. После окончания полета, прибор был демонтирован и из вегетационных камер был извлечен биоматериал - сформированные в условиях космического полета проросты растений находящиеся на различных стадиях развития. Далее был проведен сравнительный цитологический анализ полетных и контрольных образцов. Основным бортовым устройством для проведения исследований с одноклеточными организмами в космическом полете, в том числе и на автоматических космических аппаратах, был прибор «Цитос», разработанный и сконструированный французскими специалистами в начале 80-х годов.

Бортовой прибор «Цитос» представлять собой термостатируемый контейнер, внутри которого размещена батарея (64 шт.) пластиковых емкостей («берлинго»), каждая объемом 1,2 мл. Внутри каждой емкости находится стеклянная ампула (капилляр), содержащая 0,2мл фиксатора (формалина или глутаральдегида).

Бортовой прибор «Цитос» способен поддерживать стабильный температурный режим (4 и 25°С) и проводить темпральную фиксацию биоматериала в автоматическом режиме.

Основными объектами исследования в экспериментах, выполненных французскими специалистами, были одноклеточные организмы класса инфузорий - *Paramecium*

Позже с использованием этого прибора нами, совместно с французскими специалистами в полете биоспутника «Космос-1887» в 1987 г. был проведен эксперимент «Цитос-3». Объектом исследования служила культура одноклеточных организмов - инфузорий, принадлежащая к тому же отряду *Hymenostomatidae* - *Tetrahymena pyriformis*.

Как и в первых экспериментах с культурой парамеций, выполненных французскими специалистами, нами было показано, что условия космического полета способствуют ускорению темпов деления клеток и увеличению плотности культуры, что, в конечном счете, приводит к увеличению общей биомассы [3,7].

Следующее поколение бортовых приборов для проведения экспериментов с культурой клеток уже было снабжено соответствующей современной электроникой и компьютерным программным обеспечением. Типичным представителем этого поколения бортовых устройств следует назвать бортовой прибор «**Biobox**», разработанный и сконструированный по заказу Европейского космического агентства фирмой «**Dornier**» (Германия) в 1992 г.

Бортовой прибор «**Biobox**», представляет собой контейнер, содержащий 3 автономных блока и центрифугу, способный поддерживать постоянную температуру -37°С и осуществлять в автоматическом режиме необходимые манипуляции по выращиванию культуры клеток и фиксации биоматериала в соответствии с циклограммой. С использованием прибора «**Biobox**» нами совместно с европейскими исследователями в

полетах КА «Бион-10» (1992г) и «Фотон-10» (1994) были проведены эксперименты «Фибробласт» и «Фибробласт-2» соответственно

Очевидно, нужно остановиться и на некоторых разработках приборов для проведения экспериментов с культурой клеток на пилотируемых космических аппаратах и орбитальной станции, в частности МКС.

Из апробированных следует назвать бортовой прибор «**Биокультиватор**», разработанный и сконструированный специалистами США. Прибор представляет собой моноблок массой 24 кг и габаритами 650х 425х170 мм в состав, которого входят:

- биореактор, включающий 24 патрона, каждый из которых содержит культуру до 10^8 клеток
- автоматическая система подачи питательной среды и отбора проб культур клеток в соответствии с циклограммой эксперимента
- видеокамера с анализатором изображений для измерения морфологических параметров
- холодильник для хранения продуктов реакции (образцов биоматериала) при $t^{\circ} 4^{\circ}\text{C}$
- система обеспечения кислородом и удаления углекислого газа.

С использованием прибора «**Биокультиватор**» была выполнена серия экспериментов в полете КА Space Shuttle в конце 90-х годов.

Заслуживает внимание также отечественный бортовой прибор микрокультиватор «**Вита**».

Основой микрокультиватора служит реактор, содержащий два пучка волокон с раздельными входами-выходами для газа и жидкости соответственно гидрофобной и гидрофильной природы. Рост клеток осуществляется в межволоконном пространстве: по гидрофильным волокнам к клеткам подводятся компоненты питательной среды и отводятся продукты метаболизма, по гидрофобным волокнам компоненты газовой среды.

Массообмен компонентов осуществляется за счет диффузии по градиенту концентрации через стенки мембраны волокон. Градиент концентрации по компонентам питательной среды постоянно поддерживается за счет роста клеток и ассимиляции ими субстрата при постоянном протоке. Величина градиента растет по мере увеличения концентрации клеток. Газовая и жидкая среды подаются непрерывно в течение 120 часов. Отбор проб проводится вручную один раз в сутки.

Прибор "Вита" позволяет осуществлять следующие операции с культурами про- и эукариотических клеток в автоматическом режиме:

- доставку клеткам компонентов питательных сред и отведение продуктов жизнедеятельности клеток
 - культивирования клеток в аэробных условиях и стерилизацию отобранных образцов
- С использованием бортового прибора «Вита» было проведено 6 экспериментов в космосе.

6. Организация и проведение космических экспериментов

6.1 Полетный эксперимент

Подавляющее большинство экспериментов по клеточной биологии было выполнено в полете автоматических космических аппаратов: специализированных биологических спутниках Земли серии «Бион», а также космических аппаратов серии «Фотон».

Особенностью специализированных спутников серии «Бион» является то обстоятельство, что конструкция этих аппаратов, бортовая научная аппаратура, система жизнеобеспечения биологических объектов, длительность полета (около 3-недель) и другие параметры полностью подчинены интересам проводимых экспериментов. Более того, наличие мобильного наземного комплекса, в который входила полевая лаборатория, давала возможность проводить первичную обработку биоматериала (осмотр, фотографирование, фиксацию и/или консервацию) непосредственно на месте приземления космического аппарата в кратчайшие сроки с последующей транспортировкой в стационарную лабораторию.

Однако, вследствие объективных причин, в середине 90-х годов, после полета биоспутника «Бион -11» (1995г) использование специализированных биологических спутников и наземного лабораторного комплекса стало невозможным.

Биологические исследования в космосе были продолжены после десятилетнего перерыва. В 2005 году в полете автоматического космического аппарата «Фотон-М» №2 нами совместно со специалистами институтов РАН и РАМН было подготовлено и проведено 4 эксперимента. Краткая информация о результатах этих экспериментов представлена [2]. Космические аппараты серии «Фотон» по своим конструктивным характеристикам почти не отличаются от АКА «Бион», однако их функциональное назначение иное. Это технологические аппараты, в которых не предусмотрена система жизнеобеспечения, присущая специализированным биоспутникам «Бион». Эта особенность накладывает существенные ограничения не только на выбор биологических объектов, но и делает необходимым создание бортовой аппаратуры с автономной системой жизнеобеспечения. Кроме того, вследствие отсутствия полевой лаборатории, работы на месте приземления КА и время пребывания в полевых условиях сводится до минимума. С целью сохранения биоматериала и во избежание возможных искажений эффектов микрогравитации, полетные образцы в кратчайшие сроки должны быть доставлены в стационарные лаборатории для проведения экспресс-анализа, желательно не позднее 1-1,5 суток после приземления КА. Так, например, биоматериал экспонированный на борту КА «Фотон-М» №2 был доставлен с места посадки Москву через 30 часов после приземления СА.

Схема подготовки и проведения исследований по клеточной биологии в полете автоматических космических аппаратов включает следующие ключевые этапы работ:

- разработку научной программы экспериментов
- разработку и создание бортовой аппаратуры или ее усовершенствование
- проведение предполетных лабораторных экспериментов с целью отработки методов исследований
- проведение биотехнических испытаний бортовой аппаратуры и анализ результатов
- проведение полетных экспериментов
- проведение контрольных (наземных) экспериментов
- анализ и обработку биоматериала (образцов полетного и контрольных экспериментов)

Образцы биоматериала, предназначенного для экспонирования на борту космического летательного аппарата (полетный эксперимент) и лабораторных условиях на земле должен быть идентичными и их отбор должен быть проведен в одинаковых условиях. График проведения необходимых операций с биоматериалом, предусмотренных научной программой во время полетного и контрольных экспериментов, должен четко соответствовать циклограмме.

Как известно, в соответствии с регламентом, работы по загрузке биоматериала и компоновке научной аппаратуры внутри гермообъема космического аппарата «Бион» должны быть завершены за 2 суток, а в случае с КА «Фотон» за 3 суток до старта. (В отдельных случаях при проведении экспериментов на КА «Бион» допускается размещение биоматериала на борту за 10 часов до старта - т.н. «поздний доступ»).

Таким образом, полетные образцы биоматериала должны быть готовы и размещены в бортовых приборах самое позднее за 4 суток до старта КА (+1 сутки на транспортировку)

Особое внимание, в случае экспериментов с культурой клеток, уделена поддержанию стабильного температурного режима в период транспортировки биоматериала к месту старта, и в большинстве случаев и с места приземления КА после завершения полета. Для этого используется транспортный термостат на 37° С в случае с культурой животных клеток или на 25° С в случае с культурой клеток растений.

После проведения необходимых операций на технической позиции (ТП) на космодроме, прохождения входного контроля и получения сертификата «космический эксперимент», бортовой контейнер с биоматериалом размещается внутри спускаемого модуля (СМ) КА. С этого момента экспериментатор (ответственный за эксперимент) не имеет возможности активного вмешательства в ход событий и может только наблюдать за ними.

6.2. Контрольный (синхронный) эксперимент

Проведения контрольных экспериментов, не менее важной вместе с тем сложной задачей является залогом успешного решения поставленной

исследовательской задачи

Первое и неперемное условие - это идентичность биологического материала, используемого для полетного и контрольных экспериментов. В случае использования в качестве объекта исследования одноклеточных организмов необходимо пользоваться клонированием. Так, например, при подготовке и проведении эксперимента в полете биоспутника «Космос-1887» (1987 г.) с использованием одноклеточных организмов *Tetrahymena pyriformis* была использована культура из коллекции Института цитологии АН СССР. Подготовка биоматериала также осуществлялась в лаборатории цитологии одноклеточных организмов. В эксперименте были использованы клоны, то есть абсолютно идентичные «дочери», только что разделившейся материнской клетки. Последовательность операций была следующей. Капля суспензии (около 2-мл.) забирали стерильной пипеткой из колбы и размещали в камере под микроскопом. Отбирали клетки находящиеся в стадии деления и сразу же после расхождения, вновь образовавшиеся дочерние клетки брали одну для размещения в полетном приборе другую в приборе для проведения синхронного эксперимента. Причем, «бортовой» и «наземный» приборы были также идентичными. Затем, оба прибора, вплоть до помещения одного из них на борт космического аппарата, содержались в одинаковых условия.

Второе неперемное условие - это соблюдение одинаковых значений всех параметров окружающей среды, кроме микрогравитации.

Во всех, без исключения, полетах космических аппаратов биоспутников серии «Бион» и спутников «Фотон» исполнители эксперимента имели периодически поступающую по каналам телеметрии информацию об изменении параметров среды в гермообъеме спускаемого модуля КА. (температуры, влажности, давлении, а по необходимости и динамических ускорениях).

Это позволяло внести необходимые коррективы в проведение синхронного контрольного эксперимента, организуемого в лаборатории в специальных климатических камерах со сдвигом во времени минимум на 1 и максимум на 2 суток. Отставание синхронного эксперимента от полетного диктуется теми объективными обстоятельствами. Отложенное время необходимо экспериментатору для введения данных и определенной коррекции в программу наземного эксперимента.

6.3. Организация работ на месте приземления СА

Район приземления космического аппарата «Бион» или «Фотон» традиционно занимает довольно обширную зону. Как правило, это северные области Казахстана и в редких случаях Южного Урала. Для этих областей характерен резко континентальный климат с широким диапазоном колебания летних и зимних температур от + 40 С до -40 С соответственно. Поэтому для успешной эвакуации биоматериала, экспонированного на борту космического аппарата, после его приземления необходима надежно работающая аппаратура, в первую очередь, транспортные термостаты способные поддерживать необходимую температуру + 4°, 25°, + 37° С или же контейнеры с сухим льдом (—70°С)

Поиск и обнаружение космического аппарата осуществляется силами поисково-спасательной службы (ПСС) Министерства обороны. Вылет в район посадки СА происходит за 1-1,5 часа до времени приземления КА на вертолетах, где специалисты - ответственные за обработку и доставку биоматериала, размещаются вместе с членами группы поиска и специалистами организации изготовителя космического аппарата. Экипажи вертолетов обычно прибывают на место посадки спускаемого модуля (СМ) с коротким промежутком времени через 10-20 мин. после приземления СМ. Время от момента приземления СМ до открытия люков от 20 до 30 мин. Далее происходит демонтаж научной аппаратуры и передача бортовых контейнеров специалистам - ответственным за эксперименты.

Заключение. Перспектива исследований

Исследования в области клеточной биологии, выполненные в полете автоматических космических аппаратов, главным образом специализированных биологических спутников, дали возможность выдвинуть ряд гипотез и предположений о клеточных и молекулярных механизмах влияния микрогравитации на живые системы.

В настоящее время, проводятся более глубокие исследования, направленные на изучение роли молекулярных механизмов в регуляции функционирования живых систем в условиях микрогравитации. В частности, определение степени влияния экспрессии генов на выход и молекулярный состав клеточных продуцентов.

Как известно [24], продуценты генов *c-fos* и *c-jin* играют существенную роль в регуляции процессов пролиферации и дифференциации клеток. Экспрессия этих генов, как правило, быстро индуцирует ростовой фактор, что в свою очередь, активизирует процессы роста и развития.

В экспериментах, выполненных в полете космического аппарата «Фотон-М2 №2, несмотря на относительно простое аппаратное сопровождение, были использованы современные молекулярно - генетические методы анализа биологических образцов, экспонированных в космическом полете и на земле.

Исходя из теоретических предположений о том, что сила тяжести вносит и играет роль в поддержании гомеостаза клетки, можно было ожидать, что в условиях микрогравитации произойдут существенные изменения в характере как межклеточных взаимодействий, так и во взаимодействии клеток с субстратом (в частности адгезивных свойств клеток).

Принимая во внимание сказанное, необходимо продолжить исследование с использованием культуры трансформированных клеток, в частности культуры соединительно-тканых клеток- фибробластов и/или клеток кожи - каратиноцитов, с измененной динамикой организации цитоскелета, различными адгезивными свойствами, способностью к образованию межклеточных контактов и уровнем метаболической активности. Эксперименты с культурой трансформировали клеток, помимо решения фундаментальных проблем гравитационной биологии, могут принести пользу космической медицине и здравоохранению в целом в плане практических решения травматологии в процессах регенерации и посттравматического периода заживления ран. Следует так же предусмотреть эксперименты с одноклеточными организмами для сравнительного изучения специализированных и неспециализированных гравирецепторов. Для этого наиболее подходящими объектами, с нашей точки зрения являются инфузории, относящиеся к одному и тому же отряду *Hymenostomatidae: Bursaria* и *Loxodes*.

Несмотря на то, что оба этих вида принадлежат к одному и тому же классу, сходны по размерам (200-400 мкм в диаметре) длительности клеточного цикла (~ 24 ч.), среде обитания (естественные водоемы) и температурному оптимуму (10-12 С), они существенно различаются по внутренней организации. А именно *Loxodes striatum* содержит т.н. Мюллеровскую вакуолю, представляющую собой конгломераты соли Ва Са выполняющие функцию специализированного гравирецептора, тогда как *Bursaria truncatella* лишена такого внутриклеточного элемента.

Таким образом, сравнительное изучение особенностей структурной организации полетных образцов этих культур с наземным контролем может пролить свет на механизм восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке.

Наконец, чрезвычайно актуальной проблемой в космической биологии остается изучение динамики и особенностей протекания морфогенетических процессов в условиях измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитации, т.к. в большинстве случаев гравитационный стимул может быть идентифицирован как морфогенетический сигнал.

Для изучения процессов морфогенеза, в том числе и в интересах космической биологии, идеальным объектом является слизневой грибок *Dictyostelium discoideum*, который может выращиваться в лабораторных условиях при температуре около 25° С как в жидкой среде так и на твердом субстрате. Жизненный цикл *Dictyostelium discoideum* состоит из

нескольких стадий, в ходе которых происходят морфогенетические изменения, от отдельного одноклеточного организма - амeboидной клетки до многоклеточного образования, представляющего собой плодовое тело на ножке, опирающееся на субстрат. Специфичность морфогенеза, динамика и скорость прохождения стадий морфогенетических преобразований *Dictyostelium discoideum* зависит от условий окружающей среды и действия внешних факторов.

В этой связи вполне вероятно предположит, что условия космического полета могут внести определенные изменения в закономерности роста и развития этого объекта. Сравнительный анализ данных, полученных при изучении полетного и контрольных образцов биоматериала, позволит расширить наши знания об особенностях протекания различных стадий морфогенеза в невесомости.

Литература

1. Бутенко Р.Г., Дмитриева Н.Н., Онгко В., Басырова Л.В. Влияние невесомости на соматический эмбриогенез // В кн. Биологические исследования на биоспутниках «Космос» М. Наука, 1979, С. 118-126
2. Ильин Е.А., Таурбеков М.Г., Исследования по фундаментальной биологии в полете космического аппарата «Фотон-М» №2 // Авикосмич. и экологич. мед. 2005, № 6 С. 57-59
3. Ирлина И.С., Габова А.В., Райков И.Б., Таурбеков М.Г. Влияние условий космического полета на скорость размножения, морфологию клеток, содержание ДНК и белка у инфузории *Tetrahymena pyriformis* // Цитология 1989, Т. 31, № 7, С. 829-836
4. Стюард Ф., Григорян А. Морфогенез тотипотентных клеток в невесомости // В кн. Биологические исследования на биоспутниках «Космос» М. Наука, 1979, С. 96-118
5. Таурбеков М.Г., Бейлина С.И., Лайранд Д.Б., Будницкий А.А., Леднев В.В. Плазмодий миксомицета как объект исследования в гравитационной биологии // Изв. АН СССР (сер. биол.) 1984, №2. С. 198-209
6. Таурбеков М.Г., Габова А.В., Ирлина И.С., Райков И.Б. Одноклеточные организмы в условиях микрогравитации // В кн. Результаты исследований на биоспутниках М. Наука, 1992, С. 299-306
7. Таурбеков М.Г., Кордюм Е.Л., Климчук Д.А., Заботина О.А., Лозовая В.В., Баггеруд К., Иверсен Т.-Х., Расмуссен О., Гмюндер Ф. Развитие изолированных растительных клеток в условиях космического полета // Изв. РАН (сер. биол.) 1992, № 1, С. 5-19
8. Таурбеков М.Г., Марголис Л.Б., Байбаков Б.А., Габова А.В., Дергачева Г.Б. Рост и подвижность клеток в культуре (*in vitro*) в условиях микрогравитации // Изв. РАН (сер. биол.), 1994, № 5 с. 745-749
9. Таурбеков М.Г. Общие принципы гравичувствительности клеток // Изв. РАН, (сер. биол.) 1996, № 2, С. 133-140
10. Таурбеков М.Г. Вероятные механизмы гравитационной чувствительности клеток // Докл. РАН, 2000, Т.375, №1, С. 121-124
11. Alhrecht- Buehler G. Possible mechanisms of gravity sensing by cell // ASGSB Bull., 1991, V.4(2) P.25-34
12. Asashima M., Malachinski G. Fundamental of Space Biology // Space Sci.Sos. Research. Springer-Verlagen 1990, P. 11 -20
13. Block I, Wolke A., Briegleb W., Gravitation response of the slime mold *Physarum* // Adv. Space Res. 1994, V. 14,14.8 P. 21-34
14. Buravkova LB., Rykova M.P., Grigorieva V.I., Antropova E.N. Ceil interaction in microgravity: effects of natural killer cells // *in vitro* J. Gravit. Physiol., 2004, V. 11, N.2, p 177
15. Cogoli A. Strategies of cell biology experimentation in space // J. Gravit. Phys., 2004, VII, N.1, P 111-116
16. Cogoli A., Tschopp A., Fuchs- Bislin P. Cell sensitivity to gravity // Science 1984, V.225, P.228-230
17. Cogoli-Greuter M, Scioly L, Spano A., Me/oni M., Pappia P., Cogoli A. The simulation of microgravity conditions on the ground // ASGSB Bull. 1992, V.5, P. 3-21
18. Gualandris-Parisot l., Husson D., Baulz A Durnon B., Kan P., A miral C, Membre A., Duprat A., Durnon C. Effects of environment of embryonic growth up to hatching of salamander eggs fertilized and developed during orbital flights // Biol. Sci. in Space (Jap), 2002, V.16, n.1, P.3-11
19. Horneck G., Re ttberg P., kozubek S., Baumstark-Khan C, Rink H., Schqfer M, Schiiz C The influence of microgravity on repair of radiation-induced DNA damage in bacteria and human fibroblasts. // Radiation Res. 2001, V. 147, P.376-384
20. Kamija N., Jashimoto J, Dinamic characteristics of the cytoplasm. A study on the plasmodia strand of myxomycete: // In Aspects of cellular and molecular physiology. Tokyo Press, 1972
21. Klaus I., Benoit M, Nelson A", Hammond T. Extracellular mass transport considerations for space flight research concerning suspended and adherent *in vitro* cell cultures // J. Gravit. Physiol., 2004, V.11 N 1, P. 17-28

22. *Mitashov V., Brushlinskaya N., Grigorian E., Tuchcova S., Anton H.* Regeneration of organs and tissues in lower vertebrates during and after space flight // *Adv. Space Res.*, 1996, V. 17, N. 7, P.241-255
23. *Mogami K., Imamizo M.* Astronewt. early development of newt in Space // *Inbid.* P257-263
24. *Moor D., 'ogoti A.* Gravitational and space biology at the cellular level // *In Biological and Medical Research in Space*, Springer-Ver. 1997, P3-107
25. *Montgomery P., Cook J., Reynolds R, Paul J., Hayflick L, Slock D., Schullz W., Kimsley S., Thiold R., Rogers I., Campbell D* The response of single human cell to zero gravity // *In Vitro*, 1978, V/14, N.2, P. 165-178
26. *Perbal G. Driss-Ecole D.* Contributions of space experiments to the study of gravitropism. // *J. Plant Growth Regul.* , 2002, V.21, P. 156-165
27. *Planel H., Tixador R, Nefedoff Y., Gratchko G., Richoille S.* Effect of space flight factors at the cellular level: Result of Cytos experiment // *Aviat. Space Env.Med.*, 1982, V.52, P. 370-375
28. *Prigogine I., Stengers L.* Order out of Chaos // *Bantam Books*, N-y, 1984
29. *Rasmussen O., Klimchuk D., Kordium E., Danevich L., Lozovaya V., Tairbekov M., Baggerud C, Iversen T-H.* The effect exposure to microgravity on the development and structural organization of plant protoplast flow on "Biokosmos -9" // *Physiologia Plantarum*, 1992, V.82P. 162-170
30. *Schultze P., Leike R, Maltz W., Tairbekov M.* Callus and shoot formation in cell culture of *Licopersicon esculentum* after 7-day space flight in Soviet biosatellite "Kosmos- 1667" // *Biocem. Physiol. Pflanzen.* 1987, V.182, P. 367-374
31. *Snetkova E., Chelnaya N., Serova L., Saveliev S., Cherdanzova N., Pronich S., Wassersug R* Effects of space flight on *Xenopus* larval development // *J. Exp. Zool.* 1995, V.273, P.21-32
32. *Tabony J., Glaude N., Papaseit C, Demongeot J.* Microtubule self-organization and its gravity dependence // *In Cell Biol, and Biotech, in Space* Edit. A. Cogoli, 2002, P. 19-52
33. *Tairbekov M.* Cell in gravitational field // *The Physiologist* ,992 , V.35, N.1, P.16-18
34. *Todd P.* Overview of the space flight radiation environment and its impact on cell biology experiments // *J. Gravit. Physiol.*, 2004, V.11, N.1, P.11-16
35. *Valdhuizen P., Van Loon J.* Mineral metabolism in insolated mouse long bones: opposite effects of microgravity on mineralisation and resorption // *Proceed. 5-th Europ. Sym. Life Sci. Res. in Space* , 1994, P. 19-23
36. *Van Loon J. , Folgering E., Bouten C, Smit T* Centrifuges and internal shear forces // *J. Gravit. Physiol.* , 2004, VII, N.1, P. 29-38