

Эксперимент «Рекомб-1»

Зеров Ю.П., Кривоногов СВ., ВНИИ ОЧБ Минмедпрома РСФСР, Митичкин О.В., Самарина М.Р. НПО «Энергия»

2 серии по 3 эксперимента в каждой

Материал — модельные штаммы *Bacillus megaterium* AL и ТНТ, *Bacillus circulans*.

Метод — слияние протопластов

Аппаратура — «Рекомб»

КА — ОПС МИР

Дата — февраль 1990 г.

Ключевые слова: штаммы, протопласты, слияние, межвидовой, клоны, прототрофный, морфологический, генетический, конгломераты, интактные бактериальные клетки.

Цель первой серии экспериментов — изучение эффективности получения протопластов, их слияния и регенерации на модельных штаммах.

Штаммы получены путем лиофильной сушки исходных биообъектов. Создан буферный раствор для регидрации и обработки лизоцимом.

Эксперимент проводился в 6 емкостях, соединенных магистралями с пережимами. Шестая емкость съемная, возвращаемая на Землю. Перемещение суспензий из одной емкости в другую осуществлялось поршнями с фиксированным положением.

Емкости заполнялись следующим образом:

- 1 — смесь лиофильно высушенных клеток,
- 2 — порошок лизоцима,
- 3 — буферный раствор для протопластирования,
- 4 — раствор полиэтиленгликоля,
- 5 — буферный раствор как в 3 емкости,
- 6 — питательная среда (агар или бульон).

В процессе эксперимента содержимое емкости 3 переводится в емкость 2, а емкости 2 — в емкость 1 в течение одной минуты; затем идет перемешивание компонентов в емкости 1 в течение 5 минут и часть содержимого ее переводится в емкость 3 в течение 1 минуты. Здесь в состоянии покоя в течение 1,5—3 часов образуются протопласты; затем часть содержимого емкости 3 переводится в емкость 4, где в состоянии покоя в течение 3—5 минут образуются гибридные конгломераты. После перевода содержимого в емкость 5 в ней концентрация полиэтиленгликоля уменьшается в 10 раз, содержимое находится там в течение 5 минут, затем следует перевод части содержимого этой емкости в емкость 6, где находятся нормальные клеточные формы. Идет процесс регенерации вплоть до момента вскрытия; это около 100 часов.

Температура в емкостях 1 — 5 составляет 18-23°C, а в емкости 6 — 37°C.

В первом опыте были возвращены емкости 3 — 6; во втором и третьем — только емкость 6.

В результате эксперимента все стадии прошли успешно. Произошло образование и слияние протопластов. Неповрежденные слившиеся протопласты дошли до емкости 6.

При микроскопическом анализе среды из емкости 6 обнаружена посторонняя микрофлора: кокки, дрожжеподобные грибы и т.д. Рост посторонней микрофлоры не позволил дать однозначного ответа о возможности регенерации протопластов в невесомости.

Во второй серии экспериментов проведено: 2 опыта по слиянию различных штаммов *Bacillus megaterium* ТНТ и АЛ и 1 опыт по межвидовому слиянию *Bacillus megaterium* АЛ и *Bacillus circulans*.

С целью получения рекомбинации клонов из емкости 6 были проведены высевы на плотные питательные среды. Высевы из одной емкости показали, что при межвидовом слиянии протопластов на селективных средах получают 8 прототрофных клонов, которые анализируются по морфологическим и генетическим признакам. При высевах из двух других емкостей были получены соответственно по 10 прототрофных клеток в 1 мл.

С помощью световой микроскопии был проанализирован биологический материал из емкостей 3 — 6 одного прибора. Материал в емкостях 3 — 5 кондиционный. В материале из емкости 6 находятся интактные бактериальные клетки. Это значит, что в невесомости происходит практически полная регенерация бактериальных протопластов в жидкой среде, что на Земле невозможно

Эксперимент «Рекомб-2»

Изучение влияния условий космического полета на рекомбинантные штаммы микроорганизмов

Зеров Ю.П., Кривоногов СВ., ВНИИ ОЧБ Минмедпрома РСФСР, Митичкин О.В., Самарина М.Р. НПО «Энергия»

Материал — модельные штаммы бактерии *Escherichia coli*, штаммы-продуценты интерлейкина—1 Метод — экспозиция на борту КА Аппаратура — «Рекомб» КА — ОПС МИР Дата — июль 1993 г.

Ключевые слова : штамм, выживаемость клеток, рекомбинантные плазмиды, сегрегационная стабильность, белок, антибиотик.

Цель эксперимента — выявление эффекта условий орбитального космического полета на свойства культуры микроорганизмов.

Экспозиции на борту КА подвергались модельные штаммы бактерии *Escherichia coli*, содержащие или не содержащие рекомбинантные плазмиды.

По завершении эксперимента анализировались выживаемость клеток, сегрегационная стабильность рекомбинантных плазмид, уровень устойчивости к ампициллину, синтез белка, ген которого локализован на плазмиде.

В ходе анализа результатов экспериментов получено:

- повышается выживаемость ряда штаммов *Escherichia coli*,
- повышается устойчивость к антибиотикам, по крайней мере, некоторых клеток в культуре. Эти эффекты не связаны со стимуляцией роста, что имело место в ранее опубликованных материалах, т.к. в данном случае эксперимент проводился с культурами в стационарной фазе роста.

Получены оригинальные данные о повышении сегрегационной стабильности рекомбинантных плазмид (превышающей в 1,7 — 2,5 раза повышение выживаемости клеток) и о наследовании повышенной устойчивости к антибиотикам при последующей селекции штаммов на Земле.

Отмечено также (для двух штаммов-продуцентов интерлейкина—1) значительное увеличение выхода целевого продукта после наземной селекции клеток, подвергнутых экспозиции.