

Эксперимент «Вита-1»

Культивирование клеток в условиях невесомости

Манаков М.Н., МИТХТ им. Д.И.Менделеева

Материал — животные клетки (миеломная линия SP-2)

Метод — рост клеток в питательной среде

Аппаратура — МКМ-1 (Вита)

КА МИР

Дата — август 1990 г.

Ключевые слова: культивирование, микрокультиватор, гидрофобный, гидрофильный, животные клетки, продукты метаболизма, кинетические параметры роста, плазмида, морфологические характеристики, активность.

Цель — фундаментальные исследования процесса культивирования клеток в условиях космического полета, которые могут быть применены для создания космической системы биосинтеза, выделения и очистки биологически активных веществ, системы жизнеобеспечения, выяснения влияния невесомости на рост и пролиферацию животных клеток.

Эксперименты проводились в микрокультиваторе, основой которого служит полволоконный реактор, содержащий два пучка волокон с ракельными 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 водорастворимые продукты метаболизма, по гидрофобным — компоненты газовой фазы. 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 численности клеток. Газовая и жидкая питательные среды непрерывно подавались в течение -120 часов. Отбор проб жидкости и газа проводился вручную 1 раз в сутки. На Земле шли синхронные эксперименты.

Проведено три опыта с культивированием животных клеток (миеломная линия SP-2). После засева на Земле система захлаживалась до 5 - 10 оС на период транспортировок. Процесс культивирования проводился при температуре 36,8 - 37 оС. В чистой питательной среде контролировалось содержание глюкозы, в среде с клетками — содержание нуклеиновых кислот. После эксперимента анализировались содержание живых и мертвых клеток и их морфология.

Сравнительное культивирование показало, что кинетика роста практически не отличается от контрольной. Полетные клетки более округлы. В культуре несколько возросла гетерогенность клеток: на 20% больше клеток с уменьшенными на 20 - 30% размерами. Однако после одного пассажа в лабораторных условиях гетерогенность популяции полностью исчезает, и они не отличаются по кинетическим, физиологическим и морфологическим показателям от обычных.

В принципе гетерогенность можно объяснить не только условиями в космосе, но и изменением температурного режима при транспортировке со станции на Землю.

Основным выводом можно считать, что система культивирования пригодна для работы в условиях невесомости, и исследования по кинетике роста клеток целесообразно продолжить, имея кстати в виду, что на клеточную генетику, вероятно, действует и магнитное поле Земли.

Эксперимент «Вита-2»

Культивирование клеток в условиях невесомости

Манаков М.Н., МИТХТ им. Д.И.Менделеева

Материал — штаммы *E. coli*.

Метод — рост клеток в питательной среде

Аппаратура — МКМ-1 (Вита)

КА МИР

Дата — август 1990 г.

Ключевые слова: культивирование, микрокультиватор, гидрофобный, гидрофильный, животные клетки, продукты метаболизма, кинетические параметры роста, плаزمиды, морфологические характеристики, активность

Цель эксперимента — фундаментальные исследования процесса культивирования клеток в условиях космического полета, которые могут быть применены для создания космической системы биосинтеза, выделения и очистки биологически активных веществ, системы жизнеобеспечения, выяснения влияния невесомости на рост и пролиферацию животных клеток. Эксперименты проводились в микрокультиваторе, основой которого служит половолоконный реактор, содержащий два пучка волокон с отдельными 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 водорастворимые продукты метаболизма, по гидрофобным — компоненты газовой фазы. 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 протокте. Величина градиента растет по мере увеличения численности клеток. Газовая и жидкая питательные среды непрерывно подавались в течение -120 часов. Отбор проб жидкости и газа проводился вручную 1 раз в сутки. На Земле шли синхронные эксперименты. Проведено три опыта по культивированию штаммов *E. coli*. (Второй опыт с генноинженерным штаммом *E.coli*.(lum) оказался неудачным из-за того, что была выбрана малая начальная концентрация клеток; их оказалось недостаточно для запуска нормального процесса культивирования после транспортировки на станцию). В экспериментах изучали кинетические параметры роста и люминисценции культуры. Исследовался процесс выщепления плазмиды, несущий ген люциферазы, с целью оптимизации условий культивирования клеток, которые используются для получения высокостабильного светопродуцирующего генно-инженерного штамма и наработки биомассы для экспериментов по кристаллизации люциферазы. Температура процесса составляла $28 \pm 0,2$ оС, длительность — 120 часов. Установлено, что в течение всего эксперимента идет нормальный рост клеток с одинаковой конечной концентрацией клеток как в космическом, так и в контрольном экспериментах. Выщепление плазмиды к концу земного эксперимента составило -30%, а космического — менее 1%. Значение удельной активности свечения культуры выше в 1,5 раза, чем у земной. Кинетические кривые роста и морфологические характеристики практически не изменились. Вместо сбоя были получены клетки, активность которых по люциферазе (ферменту, клонированному в клетки) возросла в 120 раз. При последующих пассажах клеток в наземных условиях их активность снижалась и после 12 пассажей достигла нормального значения.