

ЗВІТ
з виконання НДР «Експеримент «BIOMEX» на міжнародній космічній станції»
Етап 2 «Підготовка до аналізу після польотних біо-мінеральних зразків для Міжнародного
експерименту «BIOMEX» на МКС»
у 2015 р.

У передполітних наземних випробуваннях у межах міжнародного проекту Biology and Mars experiment (BIOMEX), мультимікробну целюлозну біоплівку комбучі випробувано у центрі випробувань в м. Кельн, ФРН (Аерокосмічний центр, м. Кельн), щоб перевірити структурну цілісність бактеріальної целюлози і виживання мікробного угруповання в умовах, що імітують марсіанську атмосферу та радіацію, подібну до такої, що на поверхні Марса. У ході підготовчого етапу тестування було встановлено, що після синергетичної дії імітованих марсіанських факторів, мінералізована целюлоза зберегла характерні молекулярні відбитки, які можна виявляти інструментально. Показано також, що цілісність і морфологія целюлозної плівки залежить від умов культивування бактерій-продуцентів целюлози. Відомо, що на синтез целюлози впливають надлишкові концентрації неорганічних іонів та позаклітинні компоненти мікробного угруповання (віруси, мембранні везикули).

У період перебування BIOMEXу на МКС (етап польоту розпочався 25 липня 2014 року і триватиме протягом 12-18 місяців на платформі EXPOSE-R2, встановленої астронавтами за межами МКС) досліджували інші, окрім целюлози компоненти плівки комбучі, які впливають на формування плівки та її фенотип. Отже, метою етапу було визначення бактеріофагів у ключовій бактерії угруповання комбучі – *Komagataeibacter intermedius*, - а також зовнішньо-мембранних везикул, які виділяє бактерія у нормі та у стресових умовах, для отримання досвіду у дослідженні пост-політних зразків плівки комбучі.

Профаги *K. intermedius* IMBG180 було індуковано мітоміцином С і налідиксовою кислотою. Аналіз їхньої морфології за допомогою електронної мікроскопії виявив хвостаті бактеріофаги, що належать до родини *Myoviridae* (Рис. 1).

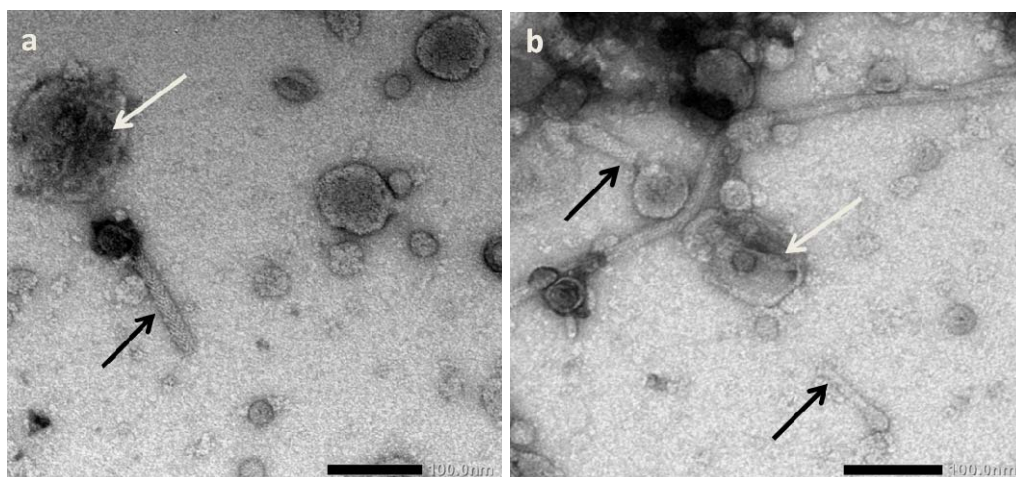


Рис. 1. Електронна мікрофотографія, що ілюструє морфологію помірною бактеріофага, виявленого в *Komagataeibacter intermedius* IMBG180 після обробки мітоміцином С (а, б, чорні стрілки) і хвосту фага в зовнішньо-мембранних везикулах (білі стрілки).

ПЛР аналіз гена капсида фагів підтвердив філогенетичну приналежність індукованих фагів до родини *Myoviridae*.

Налідиксовою кислотою індуковано зовнішньо-мембранні везикули (ЗМВ). Розмір ЗМВ варіює в межах 30-80 і 120-200 нм. У середині деяких з них було видно хвосту фагів. В

умовах індукування профагів ЗМВ діють як колектори утворених фагових частинок, використовуючи зовнішньо-мембранні рецептори для виявлення фага (в даному випадку, рецептори сідерофорів) і виконують таким чином "чистку", а також захисні функції, запобігаючи поширенню бактеріофагу за межі популяції бактерій. Це перший опис міовірусів, афілійованих з *K. intermedius*, а також взаємодії мембранних везикул з фагами в межах даного хазяїна.

Опромінення культури комбучі високошвидкісними електронами у дозі $1.0 \times 10^{15} \text{ e}^{-}\cdot\text{cm}^{-2}$ призводить до збільшення виділення мембранних везикул у 10 разів. Підвищення рівня утворення МВ штамми культури комбучі зафіксовано також у стресових умовах культивування у присутності гірської породи - анортозиту, з якої мікроорганізми вилучали неорганічні іони. Вірогідно, везикули виконували функцію попередження отруєння мікробних клітин видобутими іонами важких металів, або виносячи іони важких металів з клітин, або сорбуючи їх на поверхні або навколо клітин. Таку ідею було підтверджено елементним аналізом відмитих профільтрованих, тобто, відокремлених від мікробів МВ. У

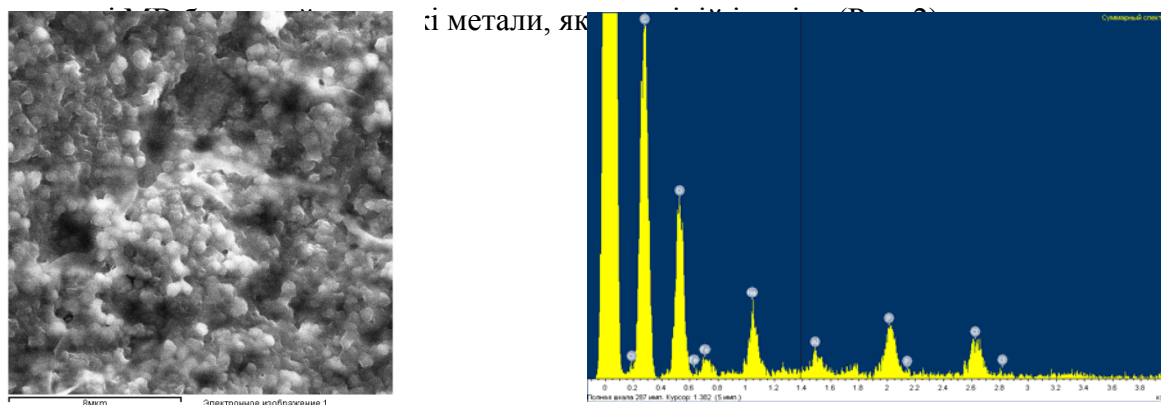


Рис. 2. Електронна мікрофотографія мембранних везикул, виділених з культури комбучі (А) та рентгенівські спектри елементів, виявлених у препаратах везикул, утворених культурою у присутності гірської породи анортозиту (Б).

Отримані результати та відпрацьовані методи дослідження буде використано у дослідженні пост-політних зразків комбучі у 2016 р.

Публікації за темою проекту:

Kharina A., Podolich O., Faidiuk Yu., Zaika S., Haidak A., Kukharenko O., Tovkach F., Reva O., Kremenskoj M., Kozyrovska N. Temperate bacteriophages collected by outer membrane vesicles in *Komagataeibacter intermedius*. J. Basic Microbiol. – 2015. -Vol. 54. - P. 1–5

Podolich O., Kukharenko O., Orlovska I., Haidak A., Shpylova S., Khirunenko L., Rogutskyy I., Reva O., Rabbow E., de Vera J.-P. P., Demets R., Kozyrovska N. Pre-flight kombucha samples testing before exposition outboard the International Space Station. Космічна наука і технологія.- 2015. - Т. 21, № 3. – С. 54-58.

Kozyrovska N., Podolich O., Kukharenko O., Orlovska I., Haidak A., Shpylova S., Khirunenko L., Rogutskyy I., Reva O., Rabbow E., Demets R., de Vera J.-P. P. Post-flight program of kombucha samples exposed outboard the International Space Station. Abstracts 15th Ukrainian conference on Space Research (24 -28 August, 2015, Odessa, Ukraine), p. 42.

Керівник проекту

Н.О. Козировська