

УДК 579.61:579.65

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК *Escherichia coli* С БАКТЕРИОФАГОМ Т7

© 2024 г. Н. Н. Сыкилинда^{1, *}, А. А. Лукьянова¹, В. В. Лаврикова², И. В. Кутник³,
Н. В. Панин⁴, Н. А. Старицын², К. А. Мирошников¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук, Москва, 117997 Россия

²ОАО “БИОХИММАШ”, Москва, 127299 Россия

³Научно-исследовательский испытательный центр подготовки космонавтов им. Ю.А. Гагарина,
Звездный городок, Московская область, 141160 Россия

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии
им. А.Н. Белозерского, Москва, 119991 Россия

*e-mail: sykilinda@mail.ru

Поступила в редакцию 03.04.2024

После доработки 17.04.2024 г.

Принята к печати 28.04.2024 г.

Впервые получены данные по влиянию факторов космического полета на взаимодействие бактериофага с бактерией — хозяином. Исследования проведены на российском сегменте МКС с использованием модельной системы *Escherichia coli* — бактериофаг Т7. Установлено, что лизис клеток бактериофагом в космических экспериментах, которые были проведены в первые 2 сут воздействия микрогравитации на микроорганизмы, проходил в 1.5 раза быстрее, чем в наземных. При более длительном воздействии микрогравитации на клетки *E. coli* они приобретали устойчивость к бактериофагу Т7, которая сохранялась в течение 2 сут после возвращения на Землю. Чувствительность к бактериофагу полностью восстанавливалась на 4–5 сут после возвращения клеток с МКС.

Ключевые слова: клетки *E. coli*, бактериофаг Т7, лизис, факторы космического полета

DOI: 10.31857/S0555109924050075 **EDN:** QTICAK

Освоение ближнего и дальнего космоса, освоение Луны в обозримом будущем предполагает длительное пребывание астронавтов в ограниченном пространстве в условиях действия факторов космического пространства (ФКП). Известно, что на орбитальных космических станциях обитают разнообразные популяции бактерий и грибов, которые могут включать условно-патогенные микроорганизмы и угрожать здоровью космонавтов и надежности оборудования [1–5]. Доминирующие организмы связаны с микробиомом космонавтов. Длительное пребывание в космосе негативно влияет на иммунную функцию, в частности на клеточный иммунитет космонавтов, что приводит к возрастающей роли микроорганизмов в развитии инфекций [6, 7]. На Международной космической станции (МКС), а ранее на орбитальных станциях “Салют” и “Мир” отмечены случаи микробных инфекций, включая конъюнктивиты, острые респираторные и стоматологические инфекции. Взаимодействия между

микроорганизмами и макрохозяином могут существенно измениться в условиях космического полета, поэтому для прогнозирования такого поведения и оценки мер предосторожности во время космического полета необходимо изучение роста и активности микроорганизмов. С.А. Никерсон с соавт. [8], Г. Сенатор с соавт. [9], Б. Хуан и соавт. [10] обобщили в своих обзорах современные знания об изменениях роста и вторичного метаболизма микроорганизмов в ответ на космический полет и его аналоги, обсудили разнообразные и противоречивые результаты. В настоящее время известно, что бактерии, выращенные в космосе, проявляют ряд отличий от клеток, культивируемых в земных условиях. Для суспензионных культур неподвижных микроорганизмов, в частности, сообщается о сокращении лаг-фазы и увеличении конечной плотности популяции [11]. В других экспериментах выявлены такие изменения, как ускоренное образование биопленок [11–14], более высокая удельная продуктивность

вторичных метаболитов [15]. В то же время имеются данные об отсутствии изменений у микроорганизмов и их повышенной чувствительности к антибиотикам в условиях микрогравитации [16–18]. Другие исследователи, наоборот, сообщают об увеличении вирулентности и устойчивости микроорганизмов к антибиотикам в космических экспериментах, что вызывает особую озабоченность [19–23], так как в сочетании с ослабленным иммунным ответом у космонавтов существует повышенный риск оппортунистических бактериальных инфекций [24].

В настоящее время во всем мире идет поиск альтернативных подходов к терапии инфекционных заболеваний. Одним из перспективных направлений в борьбе с инфекциями является применение бактериофагов (вирусов бактерий) и их компонентов. Фаговая терапия небезуспешно применялась для борьбы с инфекционными заболеваниями практически сразу после открытия этих вирусов. С наступлением эры антибиотиков большинство западных ученых отказались от использования бактериофагов из-за плохой воспроизводимости результатов. В то же время в СССР, а потом в России, Грузии и Польше использование бактериофагов в медицине не прекращалось и после открытия антибиотиков [25]. С углублением наших знаний о взаимодействии вирус-бактерия, полученных с помощью современных молекулярно-генетических методов анализа, интерес к бактериофагам как альтернативе в борьбе с устойчивыми к антибиотикам бактериальными инфекциями во всем мире резко возрос. Антибактериальный эффект обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса клеток бактериофаги повторно инфицируют и лизируют новые бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенных бактерий в очаге воспаления. Бактериофаги способны убивать устойчивые к антибиотикам бактерии, проявляют высокую специфичность, не нарушая нормальную микрофлору, и низкую токсичность. Продемонстрирована эффективность фагов в борьбе с инфекционными заболеваниями у животных и людей, в том числе вызванных антибиотико-устойчивыми бактериями [25–30]. Бактериофаги легко выращивать; можно использовать в небольших дозах, потому что они являются “живыми лекарствами”, размножаясь среди целевой бактериальной популяции. Эти вирусы могут размножаться только в бактериях, не повреждая клетки человека. С уничтожением целевого патогена количество бактериофага быстро сокращается.

Исследования, проведенные в рамках реализации космического эксперимента (КЭ) “Бактериофаг” на МКС с различными штаммами бактериофагов, показали возможность использования их в качестве перспективных лекарственных средств

для антибактериальной терапии космонавтов. Лечебные фаги и готовые лекарственные формы, приготовленные на их основе, могут транспортироваться и сохраняться на МКС в условиях космического полета не менее полутора лет без утраты своих биологических свойств, строения и потери специфической активности [31]. Однако данных по влиянию ФКП на взаимодействие бактериофагов с бактериальной клеткой, фактически, не имеется.

Начиная с 2016 г., на МКС проводился космический эксперимент “Микровир”, целью которого было изучение влияния факторов космического полета на взаимодействие бактерий с бактериофагами, в том числе на скорость литического (разрушающего) действия бактериофагов на бактерии.

МЕТОДИКА

Объекты исследования. В качестве биологических объектов для изучения взаимодействия вирусов с клеткой-хозяином использовали лабораторный штамм непатогенных бактерий *Escherichia coli* K12 и бактериофаг T7 *E. coli*.

Питательные среды. В качестве питательной среды для выращивания клеток *E. coli* и бактериофага T7 использовали жидкую питательную среду NZCYM (“Difco”, США) следующего состава (г/л): казеиновый пептон (расщепленный ферментами поджелудочной железы) – 10; казеиновые кислоты – 1; дрожжевой экстракт – 5; NaCl – 5; MgSO₄ – 0,98; феноловый красный – 0,000002. Значение pH среды после стерилизации – 7,0.

Для определения концентрации клеток и бактериофага использовали агаризованную среду LB следующего состава (г/л): триптон – 10; дрожжевой экстракт – 5; NaCl – 10; агар-агар – 15. Значение pH среды после стерилизации – 7,0.

В качестве дополнительного компонента питательной среды для активации роста клеток использовали 20%-ный раствор глюкозы в солевом буфере (г/л): глюкоза – 200; MgSO₄ – 1,1; трис – 1,2, pH 7,5.

Для регистрации изменений pH среды в результате роста микроорганизмов использовали индикатор pH феноловый красный.

Получение суспензии клеток для заправки научной аппаратуры. В работе использовали чистую культуру бактериальных клеток *E. coli* K12, выращенную из отдельной колонии в среде LB без аэрации при 37°C в течение ночи. Ночную культуру клеток вносили в пробирки со средой NZCYM в соотношении 1 : 100 и выращивали в пробирках при 37°C в течение 18 ч. Концентрации клеток, выращенных в таких условиях, составляла 6–8 × 10⁸ КОЕ/мл.

Получение препарата бактериофага T7. Для наращивания бактериофага T7 ночную культуру клеток *E. coli* K12 вносили в среду LB в соотношении

1 : 100, выращивали при аэрации при 37°C до ОП₆₀₀ 0.4–0.5 и добавляли бактериофаг Т7 в расчете 1–2 фаговых частиц на клетку. После полного лизиса клеток добавляли хлороформ до концентрации 0.5% и оставляли при 4°C на 4 ч, после чего центрифугировали при 8000 об./мин в течение 30 мин для освобождения от клеточного дебриса. Надосадочную жидкость отбирали и фильтровали через стерильный мембранный фильтр с размером пор 0.22 мкм (“Merck” Германия). Перед экспериментом препарат бактериофага проверяли на стерильность высевом в чашки Петри с питательным агаром и на активность — титрованием.

Определение концентрации бактериальных клеток.

Концентрацию бактериальных клеток определяли: 1) измерением оптической плотности суспензии клеток при 600 нм (ОП₆₀₀) с последующим определением концентрации клеток по калибровочной кривой, предварительно построенной для клеток *E. coli* экспериментально; 2) в соответствии с общепринятой методикой определения жизнеспособных клеток посредством посева соответствующих десятикратных серийных разведений исследуемых суспензий бактерий на агаризованную питательную среду в чашки Петри с последующим выращиванием при оптимальной для используемых бактерий температуре в течение 24 ч и подсчетом выросших колоний. Результаты выражали в КОЕ/мл, где КОЕ — колониеобразующие единицы.

Определение концентрации бактериофага. Определение концентрации бактериофага проводилось общепринятым методом титрования с использованием двойных агаровых слоев по Грациа.

Схема проведения эксперимента. Эксперимент проводили в научной аппаратуре (НА) “Микровир”, разработанной и изготовленной НПП

“БиоТехСис” (Россия). Укладка “Микровир” состояла из четырех кассет (рис. 1а). Внешний вид кассеты представлен на рис. 1б. Каждая кассета содержала три экспериментальные ячейки, соединенные между собой в единую сборку. Экспериментальная ячейка представляла конструкцию, состоящую из двух емкостей объемом 5 мл, между которыми сформирован канал для перекачивания содержимого верхней ячейки в нижнюю. Канал в нерабочем состоянии перекрывался клапаном.

После стерилизации НА заправляли для проведения космического и параллельного наземного экспериментов. В верхние емкости ячеек вносили 4.7 мл суспензии клеток *E. coli*. Для активации роста клеток во все нижние емкости ячеек вносили по 0.2 мл 20%-ного раствора глюкозы в солевом буфере. В нижние емкости опытных ячеек дополнительно вносили 0.1 мл бактериофага Т7. Заправленную укладку “Микровир” до начала эксперимента хранили при температуре 4°C, за исключением времени доставки со стартовой площадки космодрома Байконур на МКС. На МКС эксперименты выполняли в 2 этапа. Первый этап с двумя кассетами проводили на следующий день после доставки НА на МКС. Второй этап с двумя другими кассетами проводили на следующие сутки после первого. Время проведения каждого этапа составило 8–24 ч. При проведении экспериментов космонавты извлекали кассеты из укладки, находившейся в термостате при 4°C, размещали их на панели российского сегмента МКС на 1 ч для выравнивания температуры, после чего проводили перекачивание содержимого верхних ячеек в нижние. Эксперимент выполняли при температуре $23 \pm 1^\circ\text{C}$. На всем протяжении эксперимента космонавты проводили фотосъемку содержимого

(а)

(б)



Рис. 1. Укладка НА “Микровир” в открытом виде с установленными кассетами (а), внешний вид кассеты “Микровир” (б).

кассет в ручном и автоматическом режимах согласно циклограмме. О взаимодействии бактериофага с клетками судили по проявлению индикаторных полосок на обратной стороне ячеек. При размножении бактериофага клетки разрушались, в результате чего мутность содержимого опытных ячеек снижалась и индикаторные полоски становились видимыми. После завершения эксперимента кассеты возвращали в укладку и содержали при 4°C до перемещения в спускаемый аппарат.

Определение чувствительности клеток к бактериофагу. Для определения чувствительности клеток *E. coli* к бактериофагу Т7 после завершения космического и наземного экспериментов отбирали по 1 мл содержимого ячеек НА в 1.5-мл пробирки, клетки осаждали при 10000 об./мин в течение 5 мин в настольной центрифуге ("Eppendorf", Германия). Осадок клеток суспендировали в 1 мл свежей питательной среды, 200 мкл суспензии после замены среды помещали в ячейки 96-луночного планшета с низкой сорбцией (Costar 96 Well Plate Ultra-Low Attachment Surface, "Corning", США), в которые предварительно было добавлено по 15 мкл бактериофага Т7 с глюкозой. Инкубацию проводили при температуре 23–25°C с периодическим встряхиванием и определением ОП₆₀₀ через каждые 10 мин в течение не менее 4 ч в планшетном анализаторе "Wallac 1420" ("PerkinElmer", Финляндия).

Определение pH. Определение значений pH содержимого ячеек НА проводили с помощью микроэлектрода "Biotrode" ("Metrohm", Швейцария), подключенного к pH-метру "Эксперт-001" ("Эконикс-Эксперт", Россия). Изучение pH проводили непосредственно в микропробирках (1.5 мл) после уравнивания испытуемых образцов при комнатной температуре ($n = 3$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние факторов космического полета на скорость лизиса клеток *E. coli* бактериофагом Т7. Был проведен анализ фотоснимков кассет, сделанных космонавтами при проведении экспериментов на МКС, в сравнении с результатами параллельных наземных экспериментов (НЭ). Из-за большого количества мелких пузырьков в ячейках научной аппаратуры в КЭ определение начальных точек лизиса было затруднено. Под скоростью лизиса клеток подразумевали время, в течение которого происходило разрушение клеток бактериофагом, мутность содержимого ячеек снижалась, и четко проявлялись индикаторные полоски на задних стенках ячеек. На рис. 2 представлены фотографии кассет, сделанные в момент заражения и после лизиса клеток вирусом.

Результаты анализа по определению лизиса клеток *E. coli* бактериофагом Т7 представлены в табл. 1. Как видно из данных таблицы, лизис

Таблица 1. Скорость лизиса клеток *E. coli* бактериофагом Т7

БОЕ/ клетку	Время лизиса клеток, мин		<i>p</i>
	КЭ	НЭ	
1–10	290 ± 35 ($n = 17$)	342 ± 45 ($n = 11$)	<0.05
0.2–0.5	293 ± 27 ($n = 7$)	426 ± 40 ($n = 10$)	<0.001

клеток бактериофагом в КЭ проходил быстрее, чем в НЭ. В экспериментах, в которых множественность заражения — количество вирусных частиц на одну клетку — (БОЕ/клетку) была больше 1 (от 1 до 10), клетки лизировались бактериофагом в КЭ на 40 мин раньше, чем в НЭ. Для повышения степени достоверности результатов при проведении КЭ и НЭ была снижена концентрация бактериофага, используемая для инфицирования клеток. При уменьшении множественности заражения для достижения полного лизиса должно пройти несколько циклов размножения вирусных частиц, поэтому при различии в скорости разница должна возрасти кратно количеству циклов. Анализ результатов показал, что при снижении множественности инфицирования до 0.2–0.5 БОЕ/клетку лизис *E. coli* бактериофагом Т7 на МКС наступал на 2 ч раньше, чем в НЭ. В условиях действия ФКП клетки лизировались в 1.5 раза быстрее, чем в наземных условиях. Использование множественности заражения <0.2 БОЕ/клетку оказалось невозможным из-за трудности выявления точек лизиса.

Влияние ФКП на рост клеток *E. coli*. После завершения эксперимента измеряли ОП₆₀₀ содержимого каждой ячейки, а также определяли концентрацию жизнеспособных клеток общепринятым методом титрования. В табл. 2 представлены результаты таких измерений для контрольных ячеек в параллельных космических и наземных экспериментах, продолжительность которых была одинаковой.

Из табл. 2 видно, что скорость размножения клеток на МКС была выше: ОП₆₀₀ была в 1.2 ± 0.1 раза, а концентрация клеток *E. coli* в 1.5 ± 0.3 раза больше в КЭ по сравнению с параллельными наземными. При измерении pH среды в контрольных ячейках также выявлена разница. Значение pH было на 0.2–0.3 единицы ниже в контрольных ячейках КЭ и составляло 4.7 и 5.0. В контрольных ячейках параллельных НЭ значение pH было 4.9 и 5.3 соответственно. Более низкий уровень pH в КЭ, вероятно, был обусловлен более высокой интенсивностью метаболизма глюкозы клетками. Совокупность этих данных может свидетельствовать о более высокой скорости размножения клеток в условиях микрогравитации. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей об

Таблица 2. ОП₆₀₀ и концентрация клеток *E. coli* в контрольных ячейках после завершения экспериментов “Микровир”

№ п/п	ОП ₆₀₀		Концентрации клеток, ×10 ⁸ КОЕ/мл	
	КЭ	НЭ	КЭ	НЭ
1	0.408	0.377	4.2	2.6
2	0.404	0.366	4.2	3.3
3	0.572	—	9.3	—
4	0.532	0.397	6.8	2.0
5	0.818	0.680	9.3	4.5
6	0.874	0.700	8.5	6.1
7	0.560	0.458	11	7.7
8	0.571	0.442	10	6.7
Средние значения	0.59 ± 0.17	0.49 ± 0.14	7.9 ± 2.6	4.7 ± 2.2

увеличении скорости роста бактерий в результате воздействия ФКП [10, 11, 19]. Кроме того, в литературе имеются данные о том, что при увеличении скорости размножения бактерии-хозяина скорость размножения бактериофага возрастает [32], что, в свою очередь, согласуется с нашими данными по увеличению скорости размножения бактериофага в условиях МКС.

Снижение чувствительности клеток *E. coli* к бактериофагу Т7 в результате адаптации к факторам космического полета. При сравнении фотоснимков, сделанных космонавтами на борту МКС, было замечено, что во всех случаях лизис клеток бактериофагом во второй день эксперимента был значительно меньше, наблюдалось только незначительное снижение мутности в опытных ячейках по сравнению с

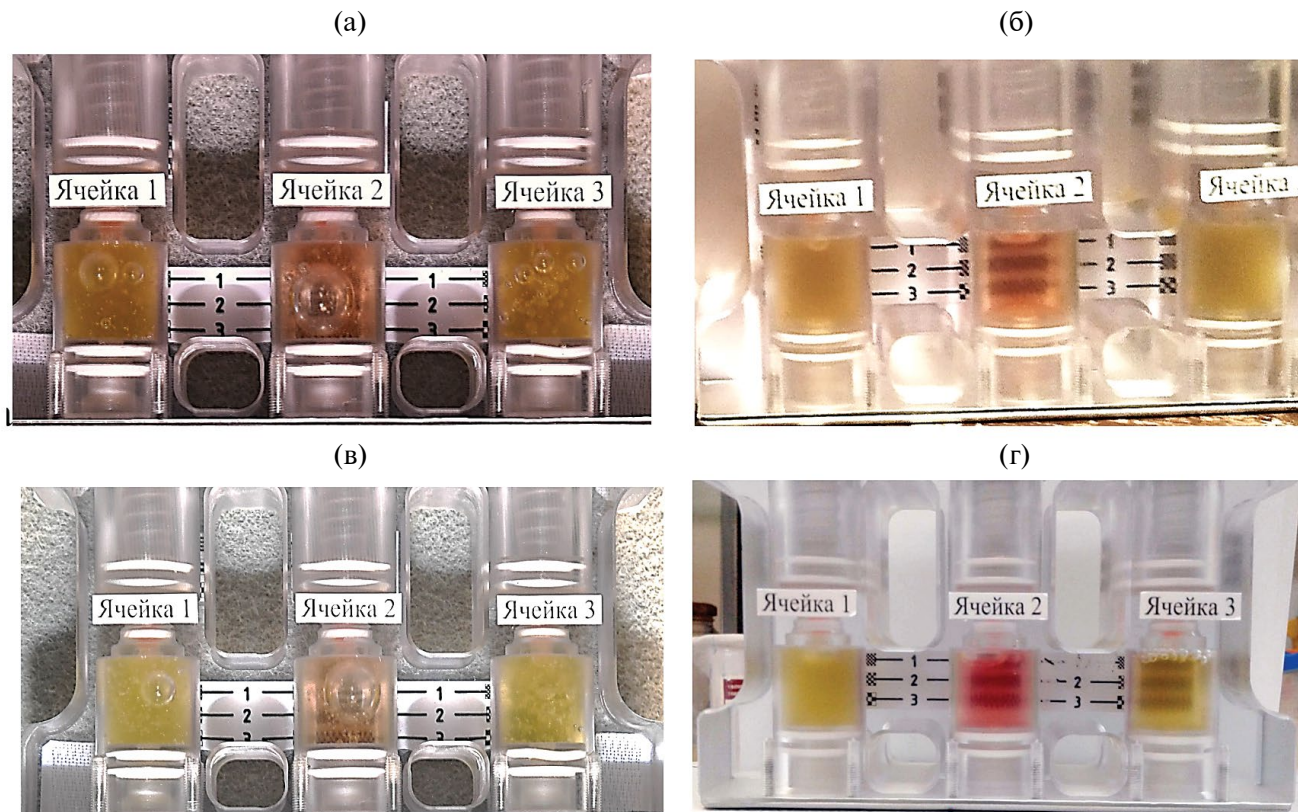


Рис. 2. Фотографии кассет НА “Микровир” сразу после перемещения содержимого верхних ячеек в нижние в КЭ (а) и НЭ (б). Фотографии кассет НА “Микровир” после завершения лизиса клеток в КЭ (в) и НЭ (г).

контрольными, после чего мутность начинала увеличиваться. При этом фоновая мутность была выше в экспериментах, в которых клетки находились в невесомости более 48 ч. В НЭ такой зависимости не было обнаружено. Определение ОП₆₀₀ и концентрации жизнеспособных клеток во всех случаях выявляло снижение этих параметров в ячейках с бактериофагом по сравнению с контрольными ячейками. При этом концентрация клеток в опытных ячейках параллельных НЭ была более, чем в 10 раз ниже концентрации клеток в КЭ. Тем не менее, сравнение этих концентраций не представляется достаточно корректным. Известно, что при инфицировании клеток бактериофагом в небольшом количестве образуются устойчивые к нему клетки, которые начинают размножаться. При анализе фотоснимков отмечено, что после лизиса мутность в ячейках со временем начинала увеличиваться. НЭ останавливали через 8–9 ч инфицирования, когда вторичный рост клеток еще не начинался, в то время как эксперименты на МКС проводили в соответствии с циклограммой. К окончанию КЭ наблюдался значительный рост устойчивых к бактериофагу клеток.

Результаты определения концентрации бактериофага после возвращения научной аппаратуры с МКС также не позволили выявить достоверную разницу в накоплении вируса в первые и вторые сут КЭ, а также при сравнении этих данных с наземными. Во всех опытных ячейках наблюдалось увеличение титра фага по сравнению с исходным. Концентрация бактериофага во всех опытных образцах находилась в пределах 10^9 – 10^{10} БОЕ/мл. Однако адсорбция фаговых частиц на поверхности ячеек, значительное снижение pH среды в КЭ (4.7–5.1) в процессе роста клеток – факторы, вызывающие снижение титра бактериофага Т7, находившегося в неблагоприятных условиях не менее 14 сут, которые не позволили оценить реальное накопление вируса.

Были проведены дополнительные исследования по изучению чувствительности клеток к бактериофагу после завершения экспериментов. Клетки как в КЭ, так и НЭ, отобранные из контрольных ячеек после завершения экспериментов, не взаимодействовали с бактериофагом даже после добавления глюкозы. Для того чтобы исключить влияние продуктов метаболизма на результаты взаимодействия клеток с вирусом, из каждой ячейки отбирали по 1 мл образца в стерильные пробирки и проводили замену питательной среды. После этого оценивали чувствительность клеток к бактериофагу по изменению ОП₆₀₀ в планшетном анализаторе, как описано в Методике. Чувствительность клеток к вирусу проверяли, начиная с первых суток после возвращения аппаратуры с МКС, а также в последующие 5 сут. До начала каждого исследования суспензии клеток, отобранные из ячеек научной аппаратуры, хранили в отдельных полностью заполненных пробирках при 4°C. Замену среды проводили в день эксперимента.

На рис. 3 представлены результаты определения чувствительности контрольных клеток *E. coli* к бактериофагу Т7 после завершения экспериментов. Как видно из рис. 3а, первые двое суток после возвращения с МКС контрольные клетки КЭ не взаимодействовали с бактериофагом, не наблюдалось снижения ОП₆₀₀ после добавления клеток к вирусу (линии 1 и 2). Чувствительность к бактериофагу клеток КЭ начинала восстанавливаться на 3 сут после возвращения на Землю (линии 3 и 4), и к 5 сут она была сравнима с исходной (линии 5 и 6). Нужно отметить, что чувствительность клеток из второго этапа КЭ восстанавливалась медленнее (линии 4 и 6). В то же время, клетки из НЭ сохраняли чувствительность к бактериофагу (рис. 3б).

Таким образом, чувствительность клеток *E. coli* к бактериофагу Т7 в жидкой среде при температуре $23 \pm 1^\circ\text{C}$ и в условиях дефицита кислорода снижалась

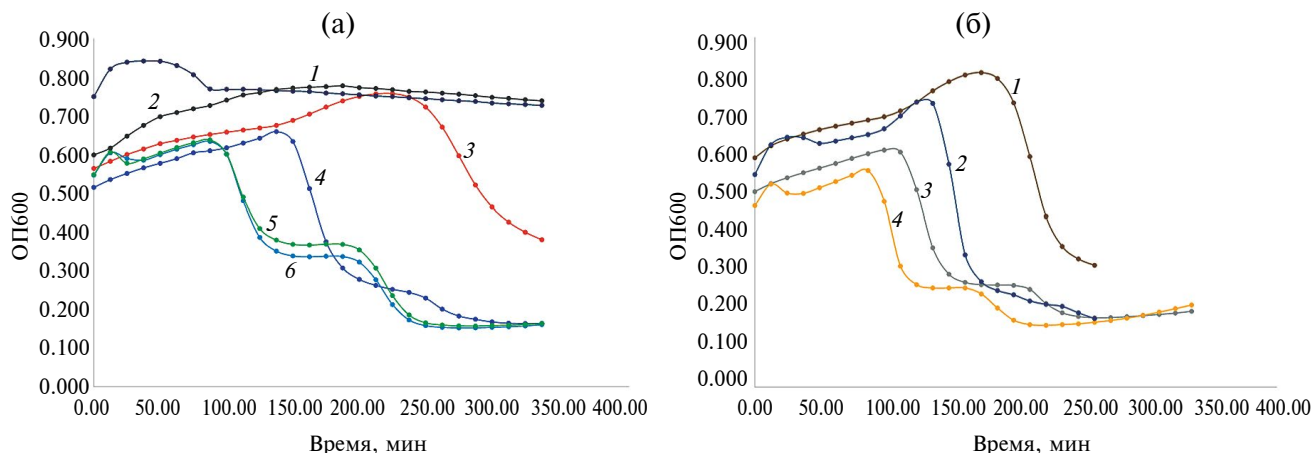


Рис. 3. Чувствительность контрольных клеток *E. coli* из КЭ к бактериофагу Т7 после возвращения НА “Микровир” с МКС (а): 1 – 1 сут, 2 – 2 сут, 3 – 3 сут (эксперимент второго дня), 4 – 3 сут (эксперимент первого дня), 5 – 5 сут (эксперимент второго дня), 6 – 5 сут (эксперимент первого дня). Чувствительность контрольных клеток *E. coli* из НЭ к бактериофагу Т7 после завершения эксперимента (б): 1 – 1 сут, 2 – 1 сут, 3 – 3 сут, 4 – 5 сут.

в процессе их адаптации к факторам космического полета. В условиях космоса бактерии в организме человека также могут адаптироваться к микрогравитации и приобретать устойчивость к бактериофагу. В таком случае возможность использования бактериофагов в качестве готовых лекарственных препаратов в условиях космоса становится ограниченной. Тем не менее, нельзя автоматически переносить результаты влияния ФКП на взаимодействие бактериофага T7 с клетками *E. coli* на другие системы бактерия-вирус из-за различий размножения бактериофагов в своей клетке-хозяине. Считается также, что причиной изменения кинетики роста неподвижных бактерий во время космического полета являются нарушения внеклеточного транспорта питательных веществ и побочных продуктов. Различия в диффузии и других химических изменениях клеточного микроокружения могут играть значительную роль в изменении микробных метаболических реакций в условиях микрогравитации, однако для подвижных микроорганизмов эти различия нивелируются [24]. В ряде работ сообщается, что повышенная устойчивость к антибиотикам, наблюдаемая у микробов во время космического полета, не сохранялась после возвращения на Землю. В работе У. Уилсон с соавт. [23] удалось показать изменения в экспрессии бактериальных генов и вирулентности *Salmonella typhimurium* при исследовании образцов через 2.5 ч после приземления. В настоящей работе показано, что результаты экспериментов зависели от сроков проведения исследований после доставки научной аппаратуры на МКС и после возвращения на Землю. Клетки *E. coli* сохраняли приобретенную в процессе адаптации к факторам космического полета устойчивость к бактериофагу T7 двое суток после возвращения на Землю. В последующие сутки чувствительность клеток к бактериофагу восстанавливалась. Известно, что биологические эксперименты в космосе требуют больших затрат и специальной аппаратуры, должны вписываться в график работы космонавтов. Способность бактерий сохранять приобретенные в космическом полете свойства первые сутки после возвращения на Землю может оказаться полезной для проведения предварительных исследований по поиску антимикробных препаратов.

Таким образом, впервые исследовано взаимодействие бактерий с бактериофагом на модельной системе клетки *E. coli* – бактериофаг T7 в условиях космического полета. Результаты взаимодействия зависели от продолжительности воздействия на систему ФКП. Скорость размножения вируса на МКС была выше по сравнению с наземными условиями в первые 2 сут воздействия микрогравитации. В дальнейшем происходила адаптация клеток к условиям космического полета, и они приобретали устойчивость к бактериофагу, которая сохранялась в течение 2 сут после возвращения на Землю. В течение последующих 3 сут чувствительность клеток *E. coli* к бактериофагу T7 восстанавливалась до исходного уровня.

Авторы благодарят Валентина Ивановича Евстигнеева, исполнявшего обязанности председателя подсекции “Космическая биотехнология” КНТС Роскосмоса, первого заместителя генерального директора ОАО “Биопрепарат”, инициировавшего данные исследования, космонавтов А.И. Борисенко, А.А. Мисуркина, А.Н. Шаплерова, С.В. Прокопьева, А.Н. Овчинина, И.В. Вагнера, О.Г. Артемьева, П.В. Дуброва и С.В. Кудь-Сверчкова, выполнявших эксперименты на МКС, сотрудника РКК “Энергия” А.В. Прохорову, принимавшую активное участие в подготовке эксперимента в лаборатории филиала “Байконур”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ. Работа поддержана Государственной корпорацией по космической деятельности “Роскосмос” в рамках Государственного контракта от 8.09.2016 г. № 851-8619/16/98, идентификатор государственного контракта – 4770238802716000051.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАР-ТОВ. Настоящая работа выполнена без привлечения людей или животных в качестве объектов исследований.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Novikova N.D. // Microb. Ecol. 2004. V. 47. №. 2. P. 127–132.
2. Novikova N., De Boever P., Poddubko S., Deshevaya E., Polikarpov N., Rakova N. et al. // Res. Microbiol. 2006. V. 157. № 1. P. 5–12.
3. Zhang Y., Zhang L.T., Li Z.D., Xin C.X., Li X.Q., Wang X., Deng Y.L. // Microb. Ecol. 2019. V. 78. № 3. P. 631–650.
4. Checinska Sielaff A., Urbaniak C., Mohan G.B.M., Stepanov V.G., Tran Q., Wood J.M. et al. // Microbiome. 2019. V. 7(1): 50. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0666-x>
5. Ichijo T., Yamaguchi N., Tanigaki F., Shirakawa M., Nasu M. // NPJ Microgravity. 2016. V. 2. 16007. <https://doi.org/10.1038/npjmgrav.2016.7>
6. Crucian B., Babiak-Vazquez A., Johnston S., Pierson D.L., Ott C.M., Sams C. // Int. J. Gen. Med. 2016. № 9. P. 383–391.
7. Gray G.W., Sargsyan A.E., Davis J.R. // Aviat. Space Environ. Med. 2010. V. 81. №. 12. P. 1128–1132.
8. Nickerson C.A., Ott C.M., Wilson J.W., Ramamurthy R., Pierson D.L. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2004. V. 68. № 2. P. 345–361.
9. Senatore G., Mastroleo F., Leys N., Mauriello G. // Future Microbiol. 2018. № 13. P. 831–847.
10. Huang B., Li D.G., Huang Y., Liu C.T. // Mil. Med. Res. 2018. V. 5. № 1 :18. <https://doi.org/10.1186/s40779-018-0162-9>
11. Horneck G., Klaus D.M., Mancinelli R.L. // Microbio l. Mol. Biol. Rev. 2010. V. 74. P. 121–156.

12. Kim W., Tengra F.K., Young Z., Shong J., Marchand N., Chan H.K., // PloS One. 2013. V. 8. № 4. e62437. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062437>
13. McLean R.J., Cassanto J.M., Barnes M.B., Koo J.H. // FEMS Microbiol. Lett. 2001. V. 195. № 2. P. 115–119.
14. Рыбальченко О.В., Орлова О.Г., Вишневская О.Н., Капустина В.В., Потокин И.Л., Лаврикова В.В. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. Т. 93. № 6. С. 3–10.
15. Benoit M.R., Li W., Stodieck L.S., Lam K.S., Winther C.L., Roane T.M., Klaus D.M. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006. V.70. №. 4. P. 403–411.
16. Morrison M.D., Fajardo-Cavazos P., Nicholson W.L. // Appl Environ Microbiol. 2017. V. 83. № 21. e01584–17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01584-17>
17. Leys N.M., Hendrickx L., De Boever P., Baatout S., Mergeay M. // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 2004. V. 18. № 2. P. 193–199.
18. Padgen M.R., Lera M.P., Parra M.P., Ricco A.J., Chin M., Chinn T.N. et al. // Life Sci. Space Res. (Amst). 2020. V. 18. № 24. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2019.10.00719>
19. Zea L., Prasad N., Levy S.E., Stodieck L., Jones A., Shrestha S., Klaus D. A. // PLoS One. 2016. №. 11: e0164359. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164359>
20. Aunins T.R., Erickson K.E., Prasad N., Levy S.E., Jones A., Shrestha S. et al. // Front Microbiol. 2018. V. 9. №. 310. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00310>
21. Zea L., Larsen M., Estante F., Qvortrup K., Moeller R., Dias de Oliveira S., et al. // Front Microbiol. 2017. V. 8. 1598. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01598>
22. Urbaniak C., Sielaff A.C., Frey K.G., Allen J.E., Singh N., Jaing C., Wheeler K., Venkateswaran K. // Sci. Rep. 2018. №.8 (814). P. 1–23.
23. Wilson J.W., Ott C.M., Höner zu Bentrup K., Ramamurthy R., Quick L., Porwollik S. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2007. V. 104. № 41. P. 16299–16304.
24. Taylor P. // Infect Drug Resist. 2015. №. 8. P. 249–262.
25. Kutter E.M., Kuhl S.J., Abedon S.T. // Future Microbiology. 2015. V. 10. №. 5. P. 685–688.
26. Bourdin G., Navarro A., Sarker S.A., Pittet A.C., Qadri F., Sultana S. et al. // Microb Biotechnol. 2014. № 7(2). P. 165–176. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12113>
27. Kropinski A.M. // Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. 2006. V. 17. № 5. P. 297–306.
28. Donlan R.M. // Trends Microbiol. 2009. № 17. P. 66–72.
29. Latz S., Wahida A., Arif A., Hafner H., Hoss M., Ritter K., Horz H.P. // J. Basic Microbiol. 2016. V. 56. № 10. P. 1117–1123.
30. Крылов С.В., Кропински А.М., Плетенева Е.А., Шабурова О.В., Буркальцева М.В., Мирошников К.А., Крылов В.Н. // Генетика. 2012. Т. 48. № 9. С. 1057–1067.
31. Aleshkin A., Rubalsky E., Popova F., Bogun A., Evstigneev V., Pchelintsev S. et al. // EMBO Conference on Viruses of Microbes. Цюрих, Швейцария, 2014.
32. Nabergoj D., Modic P., Podgornik A. // Microbiology Open. 2018. V. 7. № 2. e00558. <https://doi.org/10.1002/mbo3.558>

The Effect of Space Flight Factors on the Interaction of *Escherichia coli* with Bacteriophage T7

N. N. Sykilinda^{a,*}, A. A. Lukianova^a, V. V. Lavrikova^b, I. V. Kutnik^c, N. V. Panin^d,
N. A. Staritsyn^b, and K. A. Miroshnikov^a

^aShemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences,
Moscow, 117997 Russia

^bJSC “BIOHIMMASH”, Moscow, 127299 Russia

^cYu. A. Gagarin Research and Test Cosmonaut Training Center, Star City, Moscow region, 141160 Russia

^dLomonosov Moscow State University, Research Belozersky Institute of Physical and Chemical Biology,
Moscow, 119991 Russia

*e-mail: sykilinda@mail.ru

For the first time, the interaction between bacteria and bacteriophage was studied under space conditions. The model system of *E. coli* and bacteriophage T7 was used. The results of the interaction depended on the duration of exposure of the system to space flight factors. During the first 2 days of microgravity exposure the virus replication rate in Space was higher than on Earth. The bacteria then have adapted to space conditions and acquired resistance to the bacteriophage, which persisted for 2 days after return to Earth. Over the next three days, the sensitivity of the *E. coli* to the T7 bacteriophage returned to its original level.

Keywords: *E. coli* cells, bacteriophage T7, lysis, space flight factors