

آزمایشگاه در فضا

بایوراکتور پزشکی و کاربرد آن در تجهیزات آزمایشگاه‌های فضایی

حیوانات دو تا سه برابر کوتاه‌تر است که بنابراین منجر به استفاده از چرخش آهسته این دستگاه بر روی بیشتر حیوانات می‌شود. از چرخش سریع‌تر دستگاه کلینواستت می‌توان برای مطالعه ی بافت‌های سلولی و جنین حیوانات استفاده کرد. سرعت چرخش بهینه از طریق مقایسه ی پاسخ‌های واقعی موجودات زنده به بی‌وزنی در فضا به دست می‌آید که این زمان چیزی در حدود ۰/۳ تا ۳ دور بر دقیقه برای اکثر موجودات زنده است. نمونه ی ساده و یک‌بعدی دستگاه کلینواستت اولین بار برای آزمایش‌های شاتل STS-۱۰۷ به کار گرفته شد. اگر شتاب گرانش اجسام بیشتر از مقدار شتاب آن بر روی زمین باشد، به شبیه‌سازی نیروی جانب مرکز نیاز است و در این شرایط دستگاه کلینواستت تبدیل به یک دستگاه سانتریفوژ می‌شود. مقدار این نیرو به سرعت زاویه‌ای و شعاع دستگاه بستگی دارد.

ویژگی‌های کلینواستت

- ✓ انکوباتور CO₂ با دما و سطح کنترلی CO₂
- ✓ حالات مختلف عملیات: گردش تصادفی، چرخش، گرانش جزئی، سیکل عملیات متوالی برنامه ریزی شده همراه با شروع و توقف برنامه
- ✓ چک کننده شتاب سنج دو بعدی
- ✓ کسب داده ها و گزارش به صورت خودکار
- ✓ دو کاناله برای مایعات و یا گازهای فشار
- ✓ دسترسی به بی سیم و خدمات وب برای نظارت بر اهداف
- ✓ سیگنال‌های تصویری و صوتی (وضعیت دستگاه)

در شماره پیشین ماهنامه بیان کردیم که کلینواستت (clinostat) دستگاهی است که با استفاده از چرخش، اثرات کششی جاذبه را بر روی رشد (gravitropism) و توسعه جانداران (gravimorphism) ساکن زمین خنثی می‌کند. همچنین از این وسیله برای مطالعه اثرات بی‌وزنی بر بافت سلول‌ها و جنین حیوانات استفاده می‌شود. محور افقی کلینواستت شامل دیسکی است که به یک موتور متصل است. در گذشته این دیسک به صورت مکانیکی کار می‌کرد ولی امروزه برای چرخش آن از موتورهای الکتریکی استفاده می‌شود. در حالی که دیسک در وضعیت قائم قرار دارد، موتور به آرامی با سرعت یک دور بر دقیقه می‌گردد. یک موجود زنده به صورت افقی به این دیسک دوار متصل است. چرخش آرام دیسک منجر می‌شود که موجود زنده کشش جاذبه را درک نکند؛ به این ترتیب، محیطی بی‌وزن شبیه‌سازی می‌شود. همچنین، این دستگاه قادر است علاوه بر جاذبه، اثرات نورخورشید و دیگر محیط‌ها را نیز خنثی کند. برای شبیه‌سازی این نوع شرایط بی‌وزنی، دستگاه کلینواستت باید کاملاً افقی باشد. در صورتی که این دستگاه با افق زاویه‌ای بسازد، بردار جاذبه خالصی که مقدار آن متناسب با این زاویه است تولید می‌شود. به کمک همین ویژگی است که این دستگاه می‌تواند جاذبه سطح ماه را (که تقریباً یک ششم سطح زمین است) با ده درجه زاویه نسبت به افق ایجاد کند. موجودات زنده نسبت به جاذبه واکنش نشان می‌دهند مشروط به این که در یک بازه ی زمانی معین که به اصطلاح (حداقل زمان حضور) گفته می‌شود و برای موجودات مختلف متفاوت است، تحت نیروی جاذبه قرار گیرند. برای بسیاری از موجودات زنده این زمان حدود ۱۰ تا ۲۰۰ ثانیه است؛ بنابراین، دستگاه لازم است در مقیاس زمانی متناسب با وضعیت جاندار بچرخد تا از پاسخ رشد جاندار ممانعت به عمل آید. زمان حضور برای

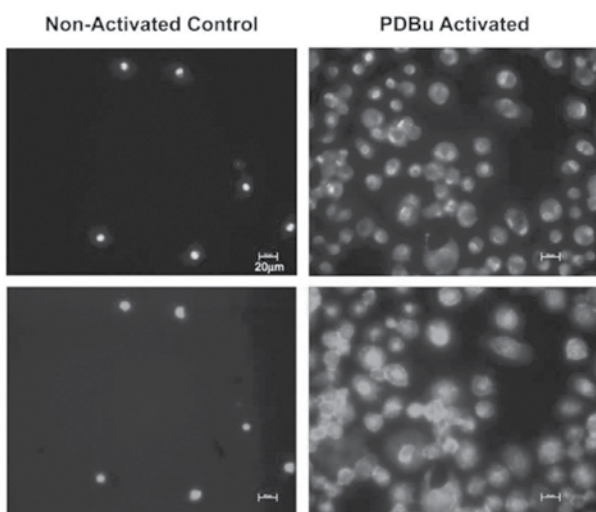
ضعف سیستم ایمنی در فضا



تصویر ۱. تصویری از سلول های بدن انسان "انگشت طلا" نام دارد که به نمایش یک مونوسیت سلول ایمنی به عنوان یک منظره شفاف به رنگ نارنجی سوخته با رگه هایی به رنگ سبز پرداخته است.

این تصویر در فضا با استفاده از دستگاه انکوباتور کوییک سازمان فضایی اروپا در شرایط شبیه سازی شده گرانش به ثبت رسیده که از یک سانتریفوژ برای تقلید گرانش در بی وزنی فضا استفاده می کند.

برای این کار، سلول های ایمنی بر روی اسلایدهای پوشیده شده از طلا درون انکوباتور قرار داده شدند. این سلول ها، طلا را از بین برده و محققان در زمین توانستند حرکات آن ها را در فضا اندازه گیری کنند. برای ثبت این تصویر، پادتن هایی که در زیر یک میکروسکوپ فلورسنت می درخشند به این سلول ها اضافه شد تا رنگ ها را نمایش داده و پروتئین های خاص را قابل شناسایی کند.



تصویر ۲. تصویر از مرکز تحقیقات ایمز (Ames) تفاوت مونوسیت در جاذبه طبیعی را نشان می دهد.

نمونه کامل تر دستگاه کلینواستت که برای شبیه سازی بی وزنی استفاده می شود دستگاه سقوط آزاد (FFM) نام دارد. در این دستگاه، نمونه های کوچک مانند مخلوط های معلق سلولی، تحت جاذبه از ارتفاع حدود یک متری سقوط آزاد می کنند و این سقوط در کسری از ثانیه اتفاق می افتد. سپس با استفاده از نیرویی در حدود ۲۰ برابر شتاب جاذبه طی مدت ۲۰ میلی ثانیه به بخش بالایی دستگاه منتقل می شود و دوباره برای سقوط آزاد رها می شوند و این عمل به دفعات تکرار می شود. قانون فیزیکی حاکم بر این دستگاه این است که بیشترین زمان سقوط آزاد در شتاب صفر به وقوع می پیوندد. فرض می شود مدت زمانی که طی آن انتقال تحت نیروی بزرگ تر از شتاب جاذبه رخ می دهد، آنقدر کوچک است که توسط مکانیسم های فیزیولوژیک درک نمی شود و از این رو، کل این زمان را می توان سقوط آزاد فرض کرد.

از مهم ترین کاربردهای دستگاه کلینواستت در زیست فناوری می توان به تغییر آرایش پروتئین ها در سلول ها و دانه های تولید شده در گیاهان پرورش داده شده در شرایط کم وزنی، تغییر بیان ژن ها در تک یاخته ها، سلول های گیاهی و جانوری، تغییر الگوهای رشد و تکثیر جانداران، و دگرگونی اثر عوامل ایجادکننده ی جهش ژنی (مانند تشعشع) برای ایجاد گونه هایی با جهش های مفید اشاره کرد. بنابراین، کاربرد این دستگاه در زیست فناوری موارد زیر را شامل می شود:

تغییر ساختار ماکرومولکول ها بدون تغییر محتوای ژنتیکی، مانند تغییر آرایش ساختار پروتئین ها در دانه های گیاهان تغییر محتوای ژنتیکی یا نحوه ی بروز صفات توارث یافته، مانند تغییر تأثیر عوامل جهش زا و همچنین تغییر بیان ژن ها ایجاد یک محیط کاملاً بسته ی قابل پایش (monitoring) و کنترل که این ویژگی به خصوص در زمینه ی باغبانی فضایی بسیار حائز اهمیت است، زیرا وجود حسگرهای ویژه در این محیط ها و ایجاد شرایط شبیه سازی شده ی فضا این امکان را برای محققان فراهم می کند تا تأثیر عوامل مختلف بر رشد، تکثیر و دانه سازی را به نحو جداگانه یا گروهی تجزیه و تحلیل کنند.

افزایش تکثیر سلول های بنیادی و تسهیل تمایز آن ها به بافت های مورد استفاده در پیوندهای بافتی به طور کلی باید در نظر داشت که امروزه زیست فناوری اساس و پایه ی رویکرد ها و تحقیقات صورت گرفته در زمینه ی تولید و ذخیره سازی غذا و انرژی در سفرهای فضایی است و دستگاه کلینواستت، شرایط لازم برای انجام این تحقیقات را فراهم می کند.

برخی سلول ها مانند سلول های موجود در ماهیچه ها یا سیستم ایمنی بدن متحرک بوده و سلول های دیگر مانند انواع موجود در استخوان ها ثابت هستند.

شناخت تأثیرات پرواز در فضا بر حرکت سلول های ایمنی بدن برای فضانوردان و طراحان مأموریت های فضایی اهمیت دارد. در زمین، حرکت سلول ها به یکپارچگی ساختار داخلی سلول موسوم به اسکلت سلولی بستگی دارد.

محققان گروه زیست شناسی فضایی موسسه فناوری فدرال سوئیس دریافتند که تغییرات اسکلت سلولی در بی وزنی منجر به کاهش تحرک سلول ها می شود. این فرآیند ممکن است یکی از دلایلی باشد که فضانوردان در زمان زندگی در فضا از ضعف سیستم ایمنی رنج می برند.



تصویر ۳. انکوباتور کوبیک سازمان فضایی اروپا

مأموریت های فضایی و استرس های فیزیولوژیکی، احساسی و روان شناختی ناشی از آن، منجر به کاهش سیستم ایمنی بدن و فعال شدن بسیاری بیماری ها از جمله عفونت های ویروسی می شود. تحقیقات نشان می دهد که در پروازهای فضایی بعضی از اجزای سیستم ایمنی دست خوش تغییر می شود، به طوری که ایمنی اولیه یا سد دفاعی اولیه بدن علیه عفونت ها و اجزای تخصصی ایمنی سلولی فضانوردان کاهش می یابد. برای حل این گونه مسائل و مشکلات و همچنین بررسی چگونگی رشد سلول ها در محیطی خارج از بدن انسان تحقیقات گسترده ای انجام و باعث ساخت وسیله ای به نام بیوراکتور شد. مطالعه وضعیت سلول ها در بدن انسان و یا حتی کشت سلول ها، امکان مطالعه ساختار سلول ها را در حالت دو بعدی مقدور می سازد و شاید نتایج دقیق و مکفی ارائه ندهد.

ناسا با ساخت و تولید این فناوری نوعی شبیه سازی از جاذبه کم را فراهم آورد که در این محیط، مطالعه پیرامون سلول ها و به ویژه تحقیق در سلول های ایمنی خون را راحت تر و دقیق تر کرد. زندگی سلول ها مانند حیات در یک شهر، وابسته به نوع

ارتباطات و مجاورت با یکدیگر است و از این طریق کنترل می شود. پیدایش بیماری هایی نظیر سوء تغذیه در ماهیچه ها، پیدایش تخریل در استخوان ها، کوری تدریجی، گسترش سلول های سرطان ساز در بدن حاصل از ارتباطات نادرستی است که ممکن است سلول ها با هم داشته باشند. بنابراین مطالعه بدن در شرایطی که تحت تاثیر جاذبه قرار دارد، امکان بررسی رشد سلول ها و مشارکت شان با یکدیگر در محیط کم جاذبه را مقدور نمی سازد. حال این که بیوراکتور، نوعی همکاری بین سلول ها را در محیط کم جاذبه ایجاد می نماید به گونه ای که سلول ها در یک محیط چرخان بسته رشد می کنند.

بیوراکتور، سامانه ای است که به منظور تحقیق و بررسی فعالیت های بیولوژیکی و زیستی سلول ها در محیط کم جاذبه ساخته شده است. این سامانه دارای محفظه ای است که در آن سلول ها همراه با فرایندهای شیمیایی اعمالی مانند فعالیت های زیست-شیمی مورد بررسی قرار می گیرند. این فرایندها شامل واکنش های هوازی و غیرهوازی است. شکل اصلی یک بیوراکتور استوانه ای و یا جعبه مانند است و معمولاً از جنس فولاد ضد زنگ ساخته می شود. از این وسیله برای رشد سلول ها و بافت ها استفاده می شود و به طور گسترده در مهندسی ژنتیک کاربرد دارد. طراحی و ساخت بیوراکتور دارای پیچیدگی های خاص مهندسی است.

در این وسیله میکروارگانیسم ها و سلول ها در یک شرایط بهینه قادر به عملکرد مطلوب ۱۰۰ درصد خواهند بود. در واقع این سامانه با ایجاد زمینه ای مناسب برای رشد سلول ها و بافت ها در محیطی مشابه با فضا، راهکارهایی به منظور کاهش رشد سلولی را در حالت غیرطبیعی ارائه می دهد. در تصویر (۴) و (۵) به ترتیب بیوراکتور و محفظه چرخنده نشان داده شده است.



تصویر ۴ و ۵

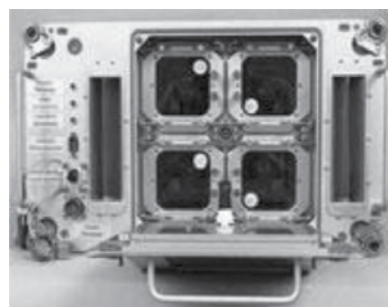
زیرسامانه های تشکیل دهنده بیوراکتور

در قلب اصلی این دستگاه کیسه ای پلاستیکی در ابعاد یک قوطی ننگه دارنده غذا است که در درون دیواره خود رگ ها را جای می دهد و می چرخاند. یک فیلتر سیلندری شکل در مرکز چرخنده قرار گرفته و باعث ورود اکسیژن و خروج دی اکسید کربن می شود.

بیوراکتور متشکل از ماژول الکترونیکی، ماژول تولید گاز و ماژول محفظه رشد سلول ها و سیستم های محافظتی، حسگرها و شبکه سامانه کنترل ۳ است. مواد غذایی و اکسیژن از محل کشت میکروب عبور می نماید. محفظه با سرعت چرخشی نیم دور در دقیقه می چرخد. برای جدایش ضایعات به وجود آمده، از صافی استفاده می شود که با سرعت ۱۱ دور بر دقیقه می چرخد. این عمل به طور مرتب تکرار می شود و مواد غذایی تازه به همراه اکسیژن جایگزین مواد زائد می شوند. زمانی که کیسه انبار مواد زائد پر شد، فضانوردان آن را خارج کرده و کیسه جدیدی را جایگزین می کنند. دریچه ها و تلمبه های تزریق به نوعی قرار گرفته اند که امکان حرکت اجزا و حتی رویت بخش ها مقدور نیست. رایانه های کنترل گر آزمایشی، این وسیله را تحت نظر قرار داده و شرایط موجود در محفظه ها را گزارش می دهند. نقص و یا خرابی با به صدا درآمدن زنگی اعلام می شود. اطلاعات از طریق صفحه نمایش گر نصب شده روی دستگاه ارائه می شود. نمایش نمودارهای گرافیکی که حاوی اطلاعات مفیدی است، کار با دستگاه را بسیار آسان کرده است. تصویر (۶ الف)، بیوراکتور و صفحه نمایشگر، تصویر

(۶ ب) بیوراکتور و

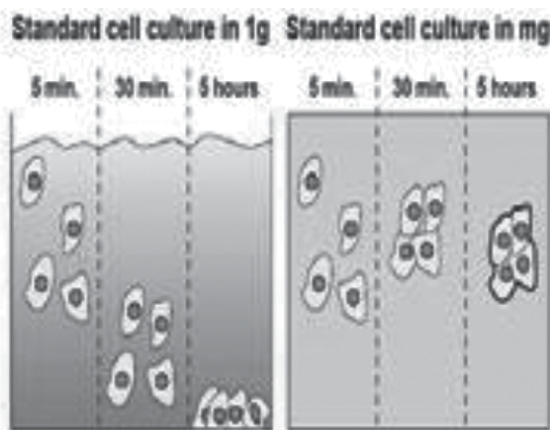
محفظه های رشد سلولی رانشان می دهند.



تصویر (۶ الف) - بیوراکتور و صفحه نمایشگر

در مرکز این نگهدارنده، فیلترهایی وجود دارد که مواد مغزی و اکسیژن وارد آن شده و دی اکسید کربن و مواد زائد از آن خارج می شود. چرخش بیوراکتور و سپس چرخیدن خون در این وسیله، باعث به وجود آمدن نیروهای برشی نمی شود. نیروی برشی به نوعی منجر به انهدام سلول ها خواهد شد. به عبارتی با چرخیدن دیواره، جاذبه به طور کامل از بین نمی رود و در واقع نوعی شبیه سازی از سقوط آزاد سلول ها است، همان تجربه ای که فضانوردان در فضا و محیط کم جاذبه احساس می کنند.

نرخ چرخش ۱۴ دور بر دقیقه که سرعت بسیار پایینی است، زمینه معلق ماندن سلول ها را در مدت سقوط آزاد ایجاد می کند. سلول های بدن در مدار زمین و یا در هر محیط کم جاذبه، به سمت زمین و یا نیروی گرانش جسمی که در مدار آن قرار گرفته اند، کشیده شده و سقوط می کنند. با استفاده از بیوراکتورها، سیستم ایمنی بدن را از کنترل هورمون ها خارج کرده و تاثیرات جاذبه کم در سلول های ایمنی بررسی می شوند. در تصویر (۷) تعلیق سلول ها در جاذبه زمین و جاذبه کم به خوبی نمایش داده شده است.



تصویر ۷. نمایش تعلیق سلول ها در جاذبه زمین و جاذبه کم

از کنترل کننده های دمایی به منظور تامین دمای مورد نیاز محفظه سلولی و دیگر ابزارهای دستگاه استفاده می شود. این کنترل کننده ها قادرند تا زمانی که سلول ها در بیوراکتورها می چرخند، آن ها را از لحاظ دمایی تحت کنترل قرار دهند. این بخش از بیوراکتور شامل چهار حفره تبرید ساز است که می تواند دمایی در حدود ۴- تا ۵۰- درجه سانتی گراد (دمایی نزدیک به انجماد سلول های بدن) را تعیین نماید. هر حفره خود دارای سه بخش است. درون هر بخش

تصویر (۶ ب) - بیوراکتور و محفظه های رشد سلولی رشد سلول ها توسط حفاظ و بدنه های شفاف موجود در دستگاه قابل رویت است.



کیسه های شفافی از جنس تفلون وجود دارد که نگهدارنده ۳۰ میلی متر مواد از جمله سلول ها است.

هر ۷ تا ۲۱ روز بسته به نرخ رشد سلول ها، فضانوردان با استفاده از سرنگ مقداری سلول را درون محفظه جابجا نموده و آن ها را به سمت محفظه ای با مواد تازه منتقل می کنند. سپس یک ماده تثبیت کننده را درون این محفظه های سلولی تزریق کرده تا سلول ها را در شرایط مناسب تر و حتی بعد از اتمام عملیات پروازی در روی زمین بررسی سلول ها نیز در زیر (zn) خون و رو pH، کنند. مقدار گلوکز و میکروسکوپ اندازه گیری می شوند. شرایط محیط در برگیرنده بیوراکتور مانند نرخ جریان گاز (هوا، اکسیژن، نیتروژن و دی اکسیدکربن)، دما، سرعت چرخش دورانی محفظه و بسیاری موارد دیگر باید به دقت، کنترل و بازبینی شود.

در ماژول فراهم کننده گاز که شامل چهار شیشه محتوی مخلوطی از هوا و دی اکسید کربن است، رشد بهینه سلول ها انجام خواهد شد. در این ماژول قابلیت شارژ مجدد پس از اتمام

مخلوط هوا و دی اکسیدکربن وجود دارد. در فرایندهای هوازی انتقال اکسیژن در حد مطلوب، شاید سخت ترین کار باشد. اکسیژن به طور ناچیز در آب حل شده و حتی کمتر از مقدار تخمیر سبزیجات حاصل می شود. در هوا نیز مقدار کمی از آن در حدود ۸/۲۰ درصد، موجود است. انتقال اکسیژن با هم زدن مقدور است که منجر به صرف انرژی زیادی خواهد شد. به طور معمول در صنایع ساخت بیوراکتور از باکتری و یا ارگانیزم های ساده ای استفاده می شود که در مقابل نیروی حاصل از تلاطم و بهم زدن، مقاوم است. سلول های نکه داری شده در این محیط که مواد مغذی نیز به آن ها تزریق می شود با آهنگ متحیر کننده ای رشد می کنند.

ادامه دارد...

منابع

1-<http://www.bultantnews.com>

2- <http://www.farsnews.com>

3-<http://www.ari.ac.ir>

۴- کتاب مهندسی پزشکی در فضا جلد اول.

مهندس رامین خادمی



در چهارمین کنگره پیشرفت های مهندسی بافت و پزشکی بازساختی ایران برگزار شد: کارگاهی با عنوان جداسازی و کشت سلول های بنیادی، بررسی سمیت و چسبندگی سلول های بنیادی

اندازه گیری می شود که مستقیماً با تعداد سلول های زنده متناسب بوده و ما را قادر به ارائه منحنی درصد بقای سلول ها برحسب غلظت ترکیب مورد مطالعه می سازد.

از کاربردهای مهم این روش می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- ✓ سنجنش میزان تکثیر سلولی در پاسخ به عوامل رشد، سایتوکاین ها، میتوزن ها و مواد مغذی
- ✓ ارائه تجزیه و تحلیل ترکیبات کشنده سلول یا متوقف کننده رشد سلول مانند داروهای ضد سرطان، سموم، آلاینده های محیط زیست و سایر عوامل دارویی
- ✓ شناسایی واسطه های فیزیولوژیک و آنتیبادیهای مهار کننده رشد سلولی
- ✓ کمک به یافتن داروی مناسب و نیز غربالگری داروهای سمی و ضد سرطان
- ✓ بررسی اتصالات سلولی
- ✓ انجام مطالعات سمیت شیمیایی

چسبندگی سلولهای بنیادی سرطانی بود. در قسمت نخست این کارگاه، مواد و لوازم کار (مانند: ساتریفیوژ، انکوباتور و ...) به صورت تئوری معرفی شد. در بخش دوم روش قطع نخاع، قربانی و کالبدشکافی یک موش آزمایشگاهی به صورت عملی تشریح شد. پس از آن شیوه نمونه گیری از بافت چربی و نیز سلولهای مغز استخوان آموزش داده شده و در انتها سنجنش تکثیر و بقای سلولی به روش MTT ارائه گردید.

گفتنی است که اساس این روش مبتنی بر فعالیت میتوکندری سلول های زنده می باشد که می تواند باعث احیاء رنگ تترازولیموم MTT در سلول های فعال (به لحاظ متابولیکی) شود. در واقع حلقه تترازولیموم توسط دهیدروژنازهای میتوکندریایی در سلولهای زنده شکسته شده و با تولید NADH و NADPH منجر به تشکیل رسوب نامحلول ارغوانی رنگی به نام فورمازان میشوند که میتواند توسط ایزوپروپانول یا دی متیل سولفوکسید حل شود. سپس شدت رنگ تولید شده، در طول موج ۵۴۰ تا ۶۳۰ نانومتر

همزمان با برگزاری چهارمین کنگره پیشرفت های مهندسی بافت و پزشکی بازساختی ایران در تاریخ ۲۶ تا ۲۸ آبان ماه در دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه ایران، کارگاه هایی نیز با موضوع هایی پیرامون همین محور (با عناوین زیر) به منظور ارتقاء سطح دانش علاقمندان تشکیل شد.

- ✓ میکروفلوئیدیک
- ✓ نمونه سازی سریع
- ✓ الکترووریسی
- ✓ ساخت داربست در مهندسی بافت
- ✓ Real time PCR and Primer Design
- ✓ بی سلول کردن بافت و ارگان
- ✓ کشت سلولی
- ✓ آنژیوژنز

آنچه در زیر می آید شرح مختصری از کارگاه کشت سلولی است که توسط آقای دکتر قلی پور در دانشکده پیراپزشکی این دانشگاه ارائه شده است. محورهای اصلی بحث در این کارگاه شامل جداسازی و کشت سلولهای بنیادی، بررسی سمیت و