

## Immunologie

# Immunzellen in Schwerelosigkeit: Zellkultursysteme für Parabelflüge

OLIVER ULLRICH<sup>1</sup>, KATRIN MERKER<sup>2</sup>, KARL-HEINRICH GROTE<sup>2</sup>, ANDRÉ HILLIGER<sup>2</sup> UND FRANK ENGELMANN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INSTITUT FÜR IMMUNOLOGIE, <sup>2</sup>INSTITUT FÜR MASCHINENKONSTRUKTION, OTTO-VON-GUERICKE-UNIVERSITÄT, MAGDEBURG

Seit Jahrzehnten ist bekannt, dass Zellen des Immunsystems in Schwerelosigkeit praktisch funktionsunfähig werden. Das kann bei Langzeitaufenthalten im Weltraum auf der Internationalen Raumstation (ISS), oder bei Flügen zum Mars, ein schwerwiegendes Problem darstellen.

■ Mittels Experimenten in Schwerelosigkeit auf der 8. Parabelflugkampagne des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR) vom 15.–27. Mai 2006 gingen wir der Frage nach dem zugrunde liegenden Mechanismus nach. Dazu musste eine Experimentier Vorrichtung konstruiert werden, mit der an Bord von Parabelflügen erstmalig Versuche mit lebenden Zellen durchgeführt werden können. Diese Experimente sollen auch die Frage beantworten, ob Menschen überhaupt in der Lage sind, längere Zeit in Schwe-

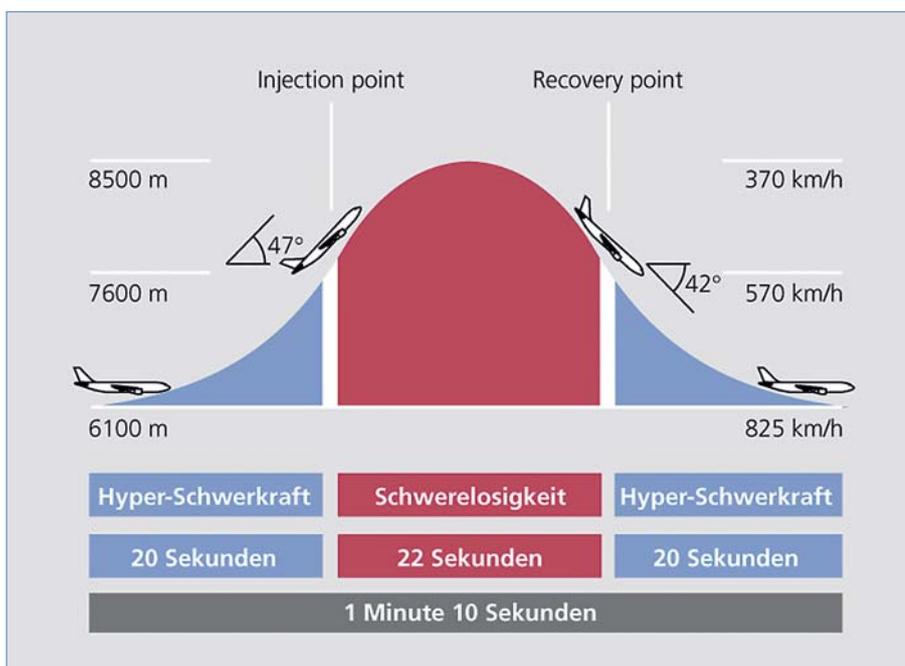
reelosigkeit zu leben. Auch können die Befunde für die Therapie von Krankheiten des Immunsystems auf der Erde nutzbar gemacht werden.

Alles Leben auf der Erde hat sich in Anwesenheit und unter dem konstanten Einfluss der Schwerkraft entwickelt. Konsequenterweise war daher die Schwerkraft auch bei der Entstehung signalübertragender Mechanismen ständig präsent, von der ersten Entstehung des Lebens auf der Erde bis heute. Es ist daher eine fundamentale biologische Frage,

ob die Schwerkraft notwendig war und ist, zelluläre Funktionen und Signalübertragung in Säugetierzellen aufrechtzuerhalten und auf welche Art und Weise die Schwerkraft durch intrazelluläre Mechanismen wahrgenommen werden kann.

Während gut bekannt ist, dass Schwerkraft durch Gravirezeptoren (Statozyten-ähnliche Organellen oder schwerkraftsensitive Ionenkanäle in der Zellmembran) in unizellulären Organismen wie Paramecium und Loxodes wahrgenommen werden kann<sup>[1, 2]</sup>, sind molekulare Mechanismen der Schwerkraftsensitivität in Säugetierzellen weitgehend unbekannt. Nach den Pionierarbeiten von Cogoli et al., der auf der ersten Spacelab-Mission vor mehr als 20 Jahren entdeckt hat, dass die proliferative Antwort von Lymphozyten nach mitogener Stimulation in Schwerelosigkeit massiv unterdrückt ist<sup>[3-5]</sup>, zeigten Follow-Up-Experimente zur Verifikation dieser Ergebnisse von Spacelab 1, dass tatsächlich andere Faktoren außerhalb der Schwerelosigkeit für diese Effekte weitgehend ausgeschlossen werden können<sup>[6]</sup>. Während das Phänomen der stark unterdrückten T-Zell-Antwort in Schwerelosigkeit gut beschrieben und in vielen Folgeexperimenten bestätigt worden ist<sup>[7-10]</sup>, sind die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen bis heute unbekannt.

In dem Projekt PROCASIS (effect of microgravity on membrane proximal and chromatin-associated signal transduction in cells of the immune system) soll nun der Einfluss der Schwerkraft auf die Steuerung von Signalwegen in Zellen des Immunsystems untersucht werden. Diese Untersuchungen könnten zur Entwicklung von Gegenstrategien gegen Probleme des Immunsystems auf Langzeit-Raumflügen (ISS, Missionen zum Mond oder zum Mars) führen, aber auch zur Identifikation neuer molekularer Zielstrukturen für immunmodulatorische Therapien auf der Erde. Die Experimente mit Zelllinien und mit lebenden T-Lymphozyten aus gesunden Blutspendern wurden in realer Schwerelosigkeit von Parabelflügen durchgeführt. Die primä-



▲ Abb. 1: Parabelmanöver: In der Parabel wird annähernde Schwerelosigkeit erreicht. (Quelle: DLR)

ren T-Zellen wurden durch Kopplung der zu separierenden Zellen an Antikörper-beladene magnetische Beads isoliert (BD Imag-Systems). Dank dieser Prozedur war eine problemlose Isolierung hochreiner Zellfraktionen mit hohen Ausbeuten vor Ort möglich. Bei den Flügen werden von einem Testflugzeug des Typs Airbus A300 ZERO-G an drei Flugtagen jeweils 31 Parabelmanöver geflogen, wobei das Flugzeug aus dem horizontalen Flug erst im 47 Grad-Winkel steil nach oben steigt und dann wieder in 47 Grad-Neigung abwärts stürzt, wobei jeweils 22 Sekunden annähernde Schwerelosigkeit entstehen (Abb. 1).

Die Entwicklung des Versuchsaufbaus für das oben beschriebene Experiment erfolgte durch Ingenieure des Institutes für Maschinenkonstruktion. Eine Hauptaufgabe war die Erfüllung spezieller Sicherheitsanforderungen für die speziellen Experimentbedingungen an Bord eines Experimentalflugzeugs und unter wechselnder Schwerkraft: So dürfen beispielsweise in Schwerelosigkeit keinerlei Mengen der eingesetzten Flüssigkeiten (u. a. toxische Substanzen wie Formaldehyd) die Experimentgeräte verlassen, da freie Flüssigkeiten in Schwerelosigkeit praktisch unkontrollierbar sind und ein Sicherheitsrisiko für die Elektrik des Flugzeugs darstellen könnten. Alle Flüssigkeiten berührende Teile mussten daher doppelwandig ausgelegt sein. Weitere Bedingungen bestanden in Einschränkungen bezüglich des Bauraums, der maximalen Masse, sowie bezüglich des Energieverbrauchs. Der Versuchsaufbau besteht aus drei Modulen (Abb. 2): (A) Einem Inkubator, der eine konstante Temperatur von 37 °C während des gesamten Fluges gewährleistet, (B) einer Kühlbox, in der die Zellgefäße nach der Durchführung der Experimente bei 4 °C aufbewahrt werden und (C) dem komplett flüssigkeitsdichten Arbeitsmodul für die Experimente. Module (A) und (B) können bis zu 60 Zellgefäße (D) aufnehmen und gegen unkontrollierte Bewegungen während der Schwerelosigkeit sichern. Das Arbeitsmodul (C) besteht aus drei Ebenen, wovon im mittleren je drei Zellgefäße gleichzeitig für die Dauer eines vollständigen Parabelmanövers angeschlossen werden. Die Zellgefäße werden über Infusionsnadeln und die entsprechenden Gegenports mit dem Arbeitsmodul verbunden und bestehen aus einem inneren Kunststoffbeutel und einer zweiten harten Kunststoffhülle (doppelwandige Konstruktion), gefertigt mittels eines neuen Rapid-Prototyping-Verfahrens. In der oberen



▲ **Abb. 2:** Experimentapparat aus drei Modulen in In-Flight-Konfiguration: A, Inkubator, B, Kühlmodul, C, Arbeitsmodul und D, doppelwandiges Zellgefäß.

Ebene befinden sich die Aktivator- und Kontrollflüssigkeiten und in der unteren Ebene die Stoppflüssigkeiten. Während des Experimentes und zum Spülen erfolgt der Flüssigkeitstransport über programmgesteuerte Schlauchpumpen. Nach den Vorbereitungen vor Start des Airbus A300 ZERO-G (Inbetriebnahme der Aggregate, Spülung und Installation der Lösungen und Zellgefäße in einer vorher definierten Reihenfolge) werden alle Module flüssigkeitsdicht verschlossen. Die Bedienung der Experimentapparat erfordert drei intensiv trainierte Personen, die alle Arbeiten für einen Experimentzyklus (Austausch der Zellkontainer, sichere Lagerung im Kühlmodul und Bedienung der Steuerungselektronik) innerhalb der 90 s dauernden 1 g-Phase zwischen den Parabeln sicher durchführen müssen. Zu Beginn der Schwerelosigkeit wird das Befüllen der Zellgefäße mit einem Aktivator ausgelöst, nach 20 Sekunden Schwerelosigkeit wird automatisch eine Stopp- bzw. Fixierlösung injiziert. Während eines Flugtages mit 30 Parabeln können so 18 Experimente mit je drei Zellkulturgefäßen in jeder gewünschten Schwerkraftsituation (0 g, 1 g oder 2 g) durchgeführt werden.

Diese Neuentwicklung hat vom 23.-25.05.2006 erfolgreich und ohne technische Probleme seinen Einsatz während 93 Parabelmanövern unter Beweis gestellt. Mittels dieses Gerätes ist es nun erstmals möglich, mit lebenden Zellen in Kultur an Bord von Parabelflügen biowissenschaftliche Experimente durchzuführen. ■

## Literatur

- [1] Hemmersbach, R., Häder, D. P. (1999): Gravitoresponses in unicellular organisms. *FASEB J.* 13: 69–75.
- [2] Häder, D. P., Hemmersbach, R., Lebert, M. (2005): Gravity and the behaviour of unicellular organisms. *Cambridge University Press* 2005.
- [3] Cogoli, A., Valluchi-Morf, M., Bohringer, H. R., Vanni, M. R., Muller, M. (1979): Effect of gravity on lymphocyte proliferation. *Life Sci. Space Res.* 17: 219–224.
- [4] Cogoli, A., Tschopp, A., Fuchs-Bislin, P. (1984): Cell sensitivity to gravity. *Science* 225: 228–230.
- [5] Cogoli, A. (1993): The effect of space flight on human cellular immunity. *Environ. Med.* 37: 107–116.
- [6] Cogoli, A., Bechler, A., Mueller, O., Hunzinger, E. (1985): Effects of microgravity on lymphocyte activation. *Exp. 30.01.1985, STS-61-A, Spacelab D1. Erasmus Experiment Archive.*
- [7] Cogoli, A. (1993): The effect of hypogravity and hypergravity on cells of the immune system. *J. Leukoc. Biol.* 54: 259–268.
- [8] Schwarzenberg, M., Pippia, P., Meloni, M. A., Cossu, G., Cogoli-Greuter, M., Cogoli, A. (1999): Signal transduction in T lymphocytes – a comparison of the data from space, the free fall machine and the random positioning machine. *Adv. Space Res.* 24: 793–800.
- [9] Walther, I., Pippia, P., Meloni, M.A., Turrini, F., Mannu, F., Cogoli, A. (1998): Simulated microgravity inhibits the genetic expression of interleukin-2 and its receptor in mitogen-activated T lymphocytes. *FEBS Lett.* 436: 115–118.
- [10] Hashemi, B. B., Penkala, J. E., Vens, C., Huls, H., Cubbage, M., Sams, C. F. (1999): T cell activation responses are differentially regulated during clinorotation and in spaceflight. *FASEB J.* 13: 2071–2082.



## Korrespondenzadresse:

Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat.  
Oliver Ullrich  
Stellv. Direktor  
Institut für Immunologie  
Medizinische Fakultät der  
Otto-von-Guericke-Universität  
Magdeburg  
Leipziger Straße 44  
D-39120 Magdeburg  
Tel.: 0391-67-15382  
Fax: 0391-67-15394  
oliver.ullrich@medizin.uni-  
magdeburg.de