

В.С. Топорков, Т.С. Бакиров, В.М. Генералов, А.С. Сафатов

ОТБОР БИОЛОГИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ В ВЕРХНИХ СЛОЯХ АТМОСФЕРЫ И КОСМИЧЕСКОМ ПРОСТРАНСТВЕ

НИИ азробиологии ГНЦ ВБ, «Вектор», Новосибирской обл.

Поступила в редакцию 03.03.99 г.

Принята к печати 30.03.99 г.

Посвящена разработке щадящего пробоотборника биологических частиц (осуществляющего отбор с малыми скоростями движения частиц) в верхних слоях атмосферы и космическом пространстве. Столкновение биологической частицы со стенкой обычного пробоотборника может не только инактивировать биологические частицы, но даже испарить ее. Другими словами, прежде чем захватить биочастицы, их необходимо замедлить. Пробоотборник сформирован в системе четвертьволновых высокочастотных резонаторов ускорителя нейтральных частиц, которые используют для замедления биологических частиц. Разработка основана на экспериментальном материале поведения биологических частиц (бактерий, клеток, вирусов) в высокочастотном неоднородном переменном электрическом поле.

Введение

Зарождение жизни на Земле составляет одну из самых интригующих загадок современности. Многие современные теории рассматривают общие вопросы самоорганизации неорганической материи в целом, привязывая условия зарождения жизни к тем, которые существовали на Земле миллиарды лет назад [1, 2]. Другой гипотезой возникновения жизни на Земле является ее возникновение где-то во Вселенной с дальнейшим «заносом» из космического пространства [3]. Действительно, литературные данные по обезвоживанию и хранению различных биологических объектов (белков, генетического материала, их фрагментов, а также целых микроорганизмов) показывают, что они могут сохраняться в условиях космоса (низких температур и низких давлений) многие годы. Это касается не только макромолекул [4, 5], но и живых микроорганизмов: различных вирусов [5–7], бактерий и грибов [5, 8, 9].

Естественно, поскольку в верхних слоях атмосферы и особенно в космическом пространстве высок радиационный фон, то жизнеспособность биологических объектов будет снижаться [8, 10, 11]. Необходимо, однако, заметить, что некоторые микроорганизмы довольно устойчивы к действию радиации [11] и, кроме того, сами по себе биологические объекты никогда не встречаются в «чистом» виде, а только с окружающими их другими молекулами. Они играют роль «защитных добавок», препятствующих инактивации (гибели) микроорганизмов под действием тех или иных факторов [12, 13]. Кроме того, макромолекулы и микроорганизмы зачастую адсорбированы на частицах пыли [14, 15], которые также в значительной мере могут экранировать радиацию.

Таким образом, есть все основания считать, что биологические объекты могут служить источниками зарождения жизни, заносимыми из космического пространства. Однако прямым подтверждением возможности осуществления «заноса» жизни из космического пространства явилось бы обнаружение живых микроорганизмов (или биологических макромолекул) в самых верхних слоях земной атмосферы или непосредственно в космическом пространстве.

Для этой цели становится актуальной задача отбора проб биологических частиц, находящихся в условиях сильно разреженной атмосферы или космоса, и их дальнейшей идентификации.

Естественно предположить, что «занос» живых микроорганизмов или их генетического материала на Землю происходит непрерывно (с точки зрения масштабов времени Вселенной). Данное обстоятельство, вероятно, может привести к самым непредсказуемым последствиям в развитии цивилизации или даже к ее биологической катастрофе [3], что еще раз подчеркивает необходимость мониторинга биологической составляющей частиц в верхних слоях атмосферы и в космическом пространстве.

Следует отметить, что для выявления именно «живых» биологических объектов необходимо осуществлять «щадящий» пробоотбор (пробоотбор частиц с малыми относительно пробоотборника скоростями движения), иначе при столкновении частицы, быстро движущейся в верхней атмосфере или в космическом пространстве [16], со стенкой пробоотборника может не только инактивироваться биологический объект, но и испариться сама частица. Иными словами, прежде чем улавливать частицы, их необходимо затормозить.

В настоящее время накоплен значительный теоретический и экспериментальный материал, который показывает, что в условиях неоднородного электрического поля даже электрически нейтральные биологические частицы (клетки, бактерии, грибы, вирусы) испытывают направленное поступательное движение относительно электродов и оседают на их гранях [17–19]. Этот эффект лег в основу создания пробоотборника нового типа, позволяющего тормозить и улавливать биологические частицы.

Описание устройства для торможения нейтральных частиц

Прежде всего остановимся на проблеме «щадящего пробоотбора». Для торможения электрически нейтральных биологических частиц целесообразно воспользоваться тем обстоятельством, что амплитудно-частотные зависимости

поляризации биологических и неорганических частиц во внешнем высокочастотном электрическом поле принципиально отличаются. Электрический компонент стоячей электромагнитной волны, сформированной в системе четвертьволновых резонаторов ускорителя нейтральных частиц, индуцирует поляризационный ток в биологических частицах. В результате взаимодействия поляризационного тока частицы с магнитным полем электромагнитной волны возникает сила, способная ускорить их до линейных скоростей 10^3 – 10^5 м/с [20]. Эти скорости соизмеримы со скоростями движения частиц в верхних слоях атмосферы и космосе.

Использование ускорителя нейтральных частиц для торможения биологических частиц позволяет плавно затормозить их и осадить на коллектор с малой относительной скоростью. Для этого достаточно изменить направление силы ускорения. Однако при таком торможении частицы нагреваются за счет омических потерь, вызываемых поляризационным током. Чтобы избежать омических потерь, в устройстве для торможения биологических частиц устанавливаются дополнительные электроды, формирующие эллиптическую поляризованную волну.

Под действием дополнительного электрического поля, перпендикулярно направленного электрической компоненте поля стоячей электромагнитной волны, поляризованные биочастицы вращаются вокруг своей оси, синхронно с изменением электрического и магнитного полей. В результате указанных взаимодействий биочастица не нагревается и на нее действует сила торможения, направленная всегда в одну сторону, противоположную движению частиц. Другие нейтральные частицы неорганической природы слабо взаимодействуют с электромагнитным полем и пролетают через камеру четвертьволнового резонатора. Схема устройства для торможения биологических частиц представлена на рис. 1.

Для торможения (осаждения) биочастиц в резонаторе 1 с помощью высокочастотного генератора 6 и элемента связи 7 возбуждают стоячую электромагнитную волну, электрический и магнитный компоненты которой вблизи продольной оси резонатора, проходящей через центры окон 2 и 3, перпендикулярны направлению торможения биочастиц. Вдоль оси торможения частиц, проходящей через центры окон 2 и 3, возбуждается вращающееся электрическое поле с помощью дополнительных электродов 8 и 9. Подлежащие осаждению (отбору) биочастицы, например споры, вирусы, бактерии, попадают (вместе с другими частицами) в полость резонатора 1 через окно 2 ортогонально электрическому и магнитному полям резонатора и тормозятся благодаря взаимодействию наведенного дипольного момента с магнитным полем.

В лабораторной установке используется инжектор биологических частиц 4 и коллектор 5. Работа СВЧ-генератора осуществляется в импульсном режиме: длительность импульсов $(1-2) \cdot 10^{-6}$ с, частота следования импульсов 50 Гц, импульсная мощность $500 \cdot 10^3$ Вт, средняя мощность 50 Вт. В результате осуществляются пробоотбор, селективное торможение биологических частиц и их концентрирование на центральном токоведущем электроде, а остальные частицы с малым дипольным моментом проскакивают. Темп торможения составляет $5 \cdot 10^5$ м/с² для биологических частиц размером 10^{-7} м, что достаточно для торможения биочастиц от скорости 10^3 м/с до нуля на длине 1 м.

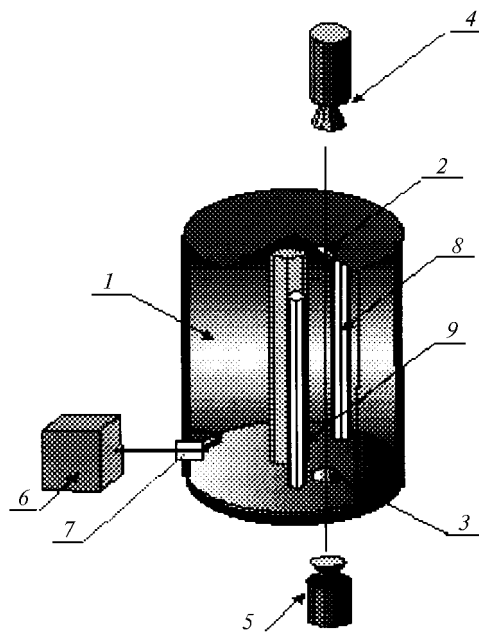


Рис. 1. Схема устройства для торможения биологических частиц

Предлагаемая конструкция пока не опробована в экспериментах. Однако, исходя из опыта работы в области разработки и эксплуатации ускорителей нейтральных частиц, авторы считают, что техническое решение предлагаемой конструкции, по сути, аналогично (хотя и со знаком «минус») ускорителю частиц, описанному в [20]. Данные обстоятельства позволяют быть уверенными в работоспособности предложенной конструкции пробоотборника в верхних слоях атмосферы и космосе.

Проблема идентификации живых микроорганизмов

В настоящее время существует ряд физических (инструментальных) и микробиологических методов, которые хорошо себя зарекомендовали и широко используются в практике для идентификации микроорганизмов. Указанные методы, как правило, дополняют друг друга. Совокупность данных, полученных с помощью указанных методов, позволяет наиболее полно описать свойства микроорганизмов.

Анализ существующих методов [21] показывает, что обнаружение микроорганизмов осуществляется, как правило, по отдельному их физико-химическому или биологическому свойству. Такой подход оправдывает себя при поиске и идентификации заранее известных микроорганизмов и продуктов их метаболизма.

Физические методы позволяют охарактеризовать микроорганизм по ряду его параметров (размеру, массе, плотности, концентрации, электрическому заряду, поляризуемости, светорассеянию и т.д.). Эти методы хорошо автоматизированы (накопление и анализ информации осуществляются в компьютере), требуют незначительного времени для проведения анализа и получения результатов, могут проводиться без участия человека.

Биологические методы обладают высокой селективной чувствительностью, но требуют определенных условий проведения, как правило, участия человека; связаны с использованием качественных расходных материалов; не-

достаточно автоматизированы; временные затраты при использовании биологических методов нередко составляют часы или даже не одни сутки.

Перечисленные достоинства и недостатки указывают на то, что физические методы более предпочтительны.

Одними из наиболее общих физических характеристик биологической частицы являются ее дипольный момент и поляризуемость в переменном электрическом поле [22]. Эти характеристики зависят от размеров биочастицы; строения ее оболочки, ядра; химического состава и величины электрического заряда биочастицы и отдельных ее частей; диэлектрической проницаемости биочастицы в различных частях спектра внешнего переменного электрического поля. Таким образом, измерения поляризуемости биологических частиц на нескольких частотах позволят судить о ее внутреннем строении и дадут большой объем информации, необходимой для ее идентификации.

В настоящее время хорошо известно, что в неоднородном переменном электрическом поле отдельная биологическая частица (клетка, бактерия) поляризуется, т.е. в ней наводится дипольный момент d , пропорциональный коэффициенту поляризуемости частицы α и величине напряженности электрического поля E :

$$D = \alpha E. \quad (1)$$

На частицу с дипольным моментом d со стороны неоднородного электрического поля действует сила F , пропорциональная градиенту напряженности электрического поля:

$$F = (d \nabla) E = \alpha \text{grad}(E^2)/2. \quad (2)$$

Со стороны жидкости с вязкостью η на движущуюся со скоростью v частицу радиусом r действует сила вязкого трения F_{St} – сила Стокса:

$$F_{St} = 6\pi\eta vr. \quad (3)$$

В установившемся режиме равновесие сил приводит к движению частицы с постоянной скоростью

$$v = \alpha E \text{grad}(E^2)/3\pi\eta r. \quad (4)$$

Для определения величины поляризуемости частицы можно использовать измерения величины скорости движения частицы в суспензии:

$$\alpha = 3\pi\eta vr/\text{grad}(E^2)/2. \quad (5)$$

На основе данного подхода разработан способ определения поляризационных характеристик частиц неоднородного переменного электрического поля и проведены измерения для ряда биологических частиц [22–24]. Этот способ может быть применен для решения широкого класса задач, связанных с идентификацией и разделением живых клеток, а также механических проводящих и диэлектрических частиц.

Устройство, позволяющее применить неоднородное переменное электрическое поле для разделения биологических частиц по поляризуемости и их идентификации, представлено на рис. 2. Оно состоит из двух частей. Верхняя, разделительная, часть состоит из нескольких каналов, сформированных наклонными электродами. Они предназначены для того, чтобы биологические час-

тицы отталкивались от электродов и двигались в потоке вдоль электродов. Вторая, измерительная, или счетная часть предназначена для подсчета числа прошедших частиц в каждом канале разделительного устройства.

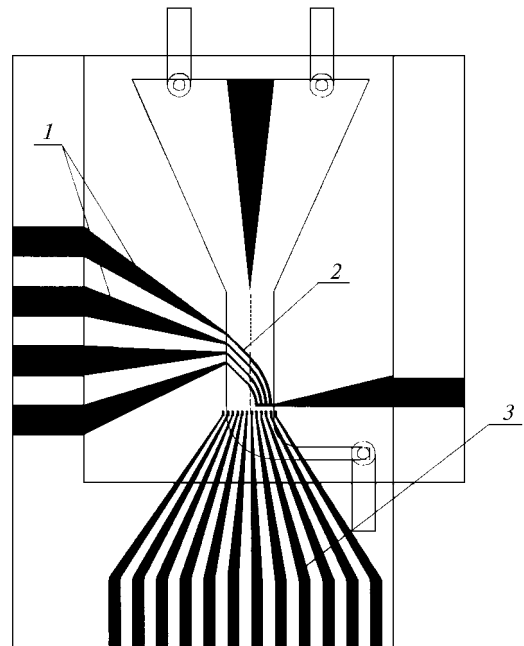


Рис. 2. Схема устройства для разделения биологических частиц по поляризуемости и их идентификации: 1 – разделительные электроды; 2 – область разделительной камеры; 3 – измерительные электроды

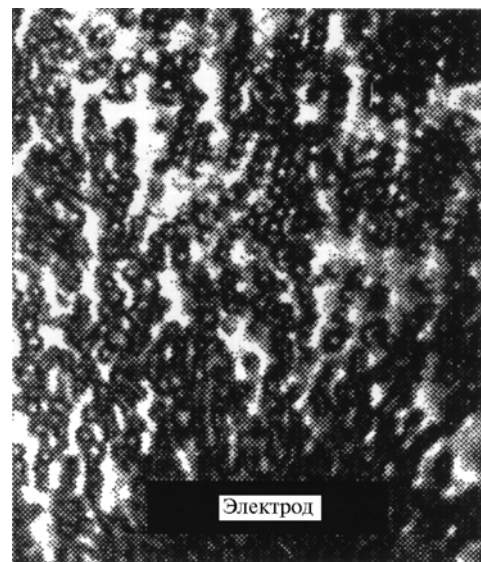


Рис. 3. Вирус ядерного полиэдроса в неоднородном переменном электрическом поле

Наряду с концентрированием жизнеспособных клеток на первом электроде можно концентрировать различные биологические частицы на остальных, ступенчато изменяя частоту и напряжение на последовательности электродов. При этом биологические частицы разного вида будут концентрироваться каждый в своем канале и отводиться в сторону под действием силы трения потока

и тормозящего действия со стороны электродов. В конце каждого канала установлены электроды, обеспечивающие подсчет определенного вида биологических частиц, выделенных в каждом канале с помощью подачи анализирующего сигнала. Этим будет обеспечена работа устройства для подсчета широкого спектра различных биологических частиц.

Проведенные нами исследования показали, что в электрическом поле поляризуются не только клетки, бактерии, но также и вирусы (рис. 3).

Итак, разработано и опробовано устройство, позволяющее сепарировать биологические объекты по их поляризуемости и, следовательно, проводить идентификацию микроорганизмов по этому параметру или использовать другие методики [21] для уже более узкого спектра микроорганизмов.

Выводы

1. Предложена конструкция узла пробоотборного устройства, позволяющего в щадящем режиме тормозить частицы биологической природы, отделив их от частиц неорганической природы, с дальнейшим улавливанием и анализом биологической компоненты аэрозоля.

2. Накопленный экспериментальный материал, связанный с исследованиями поляризации биологических частиц, указывает, что использование неоднородного переменного электрического поля является перспективным в решении задач как сепарирования биологических частиц, так и их идентификации.

3. Объединение этих двух методов в одном пробоотборном устройстве позволит осуществить анализ присутствия биологических частиц в верхних слоях атмосферы и в космосе и провести дальнейшую идентификацию биологических частиц.

1. Фокс Р. Энергия и эволюция жизни на Земле. М.: Мир, 1992. 216 с.

V.S. Toporkov, T.S. Bakirov, V.M. Generalov, A.S. Safatov. Selection of Biological Particles in High Layers of the Atmosphere and Space.

New sparing sampler (sampling with small velocities of particles motion) of biological particles and living microorganisms from upper atmosphere and space is designed. A collision of a biological particle with a wall of a sampler in space can not only inactivate them, but also to evaporate the particle. So, before to catch particles, it is necessary to decelerate them. The sampler is designed on the basis of a system of high-frequency resonators of neutral particles accelerator used for deceleration of biological particles. The sampler is based on our theoretical and experimental data on the biological particles (bacteria, cells, and viruses) behaviour in high frequency electromagnetic field.

2. Shapiro R. Origins: A Sceptic Guide to the Creation of Life in the Earth. N.Y.: University Press, 1986.
3. Burch C.W. // Airborne Microbes. 17 Symp. Soc. Gen. Microbiol. Cambridge University Press. 1967. P. 345–374.
4. Fagain C.O. // Methods Mol. Biol. 1996. V. 59. P. 339–356.
5. Никитин Е.Е., Звягин Н.В. Замораживание и высушивание биологических препаратов. М.: Колос, 1971. 343 с.
6. Harris R.J. // Biological Application of Freezing and Drying. N.Y.: Academic Press, 1954. P. 201–214.
7. Greif D. // Recent research in freezing and drying / Ed. A.A. Parkes, A.U. Smith. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1960. P. 167–187.
8. Mitscherlich E., Marth E.H. Microbiological survival in the environment bacteria and rickettsiae important in human and animal health. Berlin; Heidelberg; N.Y.; Tokyo Verlag, 1984. 802 p.
9. Strange R.E., Cox C.S. // Symp. Soc. Gen. Microbiol. 1976. V. 26. P. 111–154.
10. Sullivan R., Fassolitis A.C., Tarkin E.P., Reed R.L., Peeler J.T. // Appl. Microbiol. 1971. V. 22. N 1. P. 61–65.
11. Назим А., Джеймс А. // Жизнь микробов в экстремальных условиях / Под ред. Д. Кашнера. М.: Мир, 1981. С. 470–504.
12. Furnier J.M. L'immunization collective par aerosols d'antigenes lyophilises: Technologie, resultats, elude des mecanismes fondamentaux d'acquisition de l'immunité. Lyon, 1975. 283 p.
13. Barlow D.F. // J. gen. Virol. 1972. V. 17. Part 3. P. 281–288.
14. Lidwell O.M., Lowbury E.J. // J. Hyg. 1950. V. 48. N 1. P. 6–43.
15. Frolov V.G., Gusev Yu.M., Ryzhikov A.B., Safatov A.S. // J. Aerosol Med. V. 8. N 1. P. 112.
16. Кейл П. Твердые частицы в атмосфере и космосе. М.: Мир, 1969. 284 с.
17. Pohl H.A. // Methods of cells separation. 1977. V. 1. N V. Plenum press. P. 167–169.
18. Бакиров Т.С., Чепурнов А.А., Тюнников Г.И., Генералов В.М. // Биотехнология, 1997. N 4. С. 47–54.
19. Пат. 2105815 RU МКИ. 6С12Q1/00.
20. Пат. 625559 RU МКИ. H05H7/00.
21. Snyder A.P., Shoff D.B., Eiceman G.A., Blyth D.A., Parsons J.A. // Anal. Chem. 1991. V. 63. P. 526–529.
22. Бакиров Т.С., Генералов В.М., Топорков В.С. // Биотехнология. 1998. N 2. С. 73–82.
23. Пат. 1642353 RU МКИ. G01N27/22.
24. Пат. 1712856 RU МКИ. G01N27/26.