



Gestione di un programma educativo per le scuole secondarie di secondo grado relativo alle teorie e tecniche di realizzazione di esperimenti tecnico-scientifici nello spazio

Documento: DC-UVC-2021-006
Revisione: A
Data: 05/11/2021

Allegato C: Facilities ASI/ESA

BIOKON

Descrizione tecnica apparato

BIOKON è un laboratorio per l'esecuzione di esperimenti di scienze della vita, scienze fisiche e scienze dei materiali in microgravità. Il suo sviluppo è avvenuto per soddisfare l'esigenza di disporre di un laboratorio con interfacce *standard*, limitato in termini di dimensioni e massa, e semplice da installare nei volumi disponibili della piattaforma spaziale. BIOKON è qualificato per il volo sui vari lanciatori e piattaforme spaziali.

BIOKON Standard



Dimensioni (interne/esterne)	
Lunghezza (mm)	163 ^{+0/-0.5} / 180 ^{±0.2}
Altezza (mm)	95 ^{max} / 110 ^{±0.2}
Larghezza (mm)	128 ^{+0/-0.5} / 160 ^{±0.2}
Volume (ml)	1982 / 3168

Figura 1 BIOKON di dimensioni standard

Indicazioni aree di ricerca

Essendo essenzialmente un contenitore passivo, BIOKON può contenere al suo interno campioni sperimentali di qualsivoglia genere, per la ricerca nella seguenti aree:

- Biologia e biotecnologie, ad esempio studi degli effetti del volo spaziale su larve di insetti, uova di piccoli pesci, campioni biologici disseccati (i.e. microbiologia), molecole biologiche come DNA, proteine, etc...
- Nutraceutica, ad esempio stabilità di campioni fitoattivi, di interesse nutraceutico e nutrizionale
- Agraria, ad esempio studi sulla stabilità e germinabilità (una volta riportati a terra) di semi di piante, parti di piante (i.e. tralci, talee)
- Chimica e farmaceutica, studio sulla stabilità di molecole di interesse chimico e farmaceutico
- Tecnologie varie, del tipo test di dosimetri passivi, sensori passivi e quant'altro

Fattibilità sperimentale

A seconda dell'obiettivo della ricerca e del protocollo sperimentale, la fattibilità di esperimenti all'interno del BLOKON è particolarmente elevata. Il contenitore ben si presta a contenere campioni depositati all'interno di tubi conici, provette, piastre tipo Petri, o altro contenitore ad hoc. I campioni, all'interno dei contenitori di interesse, possono quindi essere assicurati all'interno del BLOKON mediante porta provette, porta piastre, velcro, o altro tipo di struttura commerciale o progettata e stampata in 3D.

Un tipico esperimento all'interno di un BLOKON passivo potrebbe avere come obiettivo l'analisi pre e post volo dei campioni in esso contenuti, con un confronto effettuato mediante test a terra, di campioni posti all'interno di un BLOKON da lasciare a terra. Inoltre il BLOKON può contenere sensori data logger di temperatura e/o dosimetri passivi.

Il grado di tossicità dei campioni biologici o chimici dovrà essere valutato da parte di NASA.

A seconda dell'esperimento da implementare, il BLOKON potrebbe essere integrato con i campioni sperimentali nel laboratorio dell'ente proponente, senza la necessità di portare il personale scientifico e dell'industria al sito di lancio.

Esperimenti passivi, nella maggior parte dei casi, non richiedono uno stretto controllo di temperatura, ma possono essere esposti a temperature tipiche dei vettori e della ISS.

BLOKON contenitore attivo (con pacco batterie)

Per l'esecuzione di esperimenti di biologia, talvolta, è necessaria l'iniezione di sostanze biologiche o chimiche a determinati istanti predefiniti. Questa capacità è stata realizzata nel BLOKON "contenitore attivo", dove il volume interno del BLOKON è utilizzato per l'accomodamento dell'hardware sperimentale.

Rispetto alla configurazione standard, questa configurazione ha un volume aggiuntivo, nella parte superiore del contenitore, che serve per ospitare un pacco batterie (l'altezza complessiva del BLOKON quindi è di 154.5 ± 0.2 mm anziché 110 ± 0.2 mm).



Figura 2 BLOKON contenitore attivo (con pacco batterie)

Indicazioni aree di ricerca

Il BLOKON contenitore attivo di solito contiene delle unità sperimentali (EU, tipo bioreattore o acquario), che supporta la sperimentazione su campioni biologici di diverso tipo. Le unità sperimentali accoppiabili con il contenitore BLOKON attivo sono riportate di seguito. L'accoppiata unità sperimentali e BLOKON attivo permette l'esecuzione di esperimenti più complessi rispetto agli esperimenti che è possibile effettuare nel BLOKON contenitore passivo. In questo caso, un

protocollo di iniezione o risciacqui di terreni di coltura, tamponi di lavaggio o fissativi chimici è possibile con tale set up.

Il generale, le aree di ricerca sono maggiormente associate all'area delle scienze della vita, biologia cellulare animale e vegetale, biotecnologie:

- Biologia e biotecnologie, in questo caso è possibile suddividere campioni biologici associati a minore complessità a livello di gestione dell'hardware sperimentale, tra cui esperimenti di microbiologia, piccoli animali come girini, nematodi *C. Elegans*, rotiferi, tardigradi, e campioni biologici associati a maggior complessità a livello di gestione dell'hardware, come ad esempio studi degli effetti del volo spaziale su linee cellulari di diverso genere cresciute in 2D su vetrino o in sospensione come cellule del sistema immunitario

- Agraria, ad esempio studi sulla stabilità e germinabilità di semi di piante, tropismi, etc.. parti di piante (i.e. tralci, talee).

Fattibilità sperimentale

A seconda dell'obiettivo della ricerca e del protocollo sperimentale, la fattibilità di esperimenti all'interno del BOKON è elevata, ma si dovrà tenere conto che la facility non è controllata termicamente, quindi il campione biologico dovrà essere in grado di sopravvivere alle temperature ambientali standard dei vettori e della ISS. L'attività dell'astronauta sul BOKON attivo è minima, l'astronauta deve solo alimentare o spegnere il BOKON attivo mediante l'interruttore presente sul BOKON stesso.

Un esperimento di controllo a terra è in genere eseguito post volo per ottenere un confronto dei dati sperimentali ottenuti in volo rispetto a quelli effettuati a terra.

Il BOKON può contenere sensori data logger di temperatura e/o dosimetri passivi.

Il grado di tossicità dei campioni biologici o chimici dovrà essere valutato da parte di NASA.

Sia il BOKON che le EU richiedono un refurbishment.

Unità sperimentali (Experiment Unit)

L'hardware sperimentale è costituito da bioreattori dedicati (Experiment Unit – EU) muniti di una elettronica di controllo e di alimentazione, al cui interno possono essere inseriti i campioni oggetto dello studio (per esempio cellule, semi, piante, batteri, piccoli animali).

Lo EU è un piccolo laboratorio capace di eseguire senza l'intervento dell'uomo degli esperimenti di biologia, realizzando una serie di operazioni che nel loro insieme costituiscono un protocollo scientifico. Lo EU contiene al suo interno un alloggiamento per il campione in esame, dei serbatoi e un percorso fluidico fatto di canali che consentono di dirigere verso il campione i nutrienti necessari per la sua crescita, il suo mantenimento, la sua "stimolazione" e il fissaggio chimico affinché sia possibile analizzarlo al suo rientro a terra.

Nella immagini sottostante è visibile l'unità sperimentale YING-B2 utilizzata per l'esperimento MULTI-TROP di germinazione di semi.



Figura 3 Unità sperimentale YING-B2

A seconda della tipologia, fino a un massimo di 6 EU di dimensione 20x40x80 mm (per esempio "STROMA") possono essere integrate all'interno del BLOKON.

Tra gli EU compatibili, i seguenti supportano esperimenti biologici di minore complessità nella gestione dell'hardware (ad esempio, possono essere integrati nel laboratorio dello sperimentatore):

- YING-B2, inizialmente progettato per lo studio di lieviti, può essere utilizzato anche per lo studio sulla germinabilità di semi o altro
- BIOROCK, tipicamente utilizzato per studi di microbiologia, con batteri inizialmente dissecati seminati su un substrato solido

I seguenti supportano esperimenti biologici di maggiore complessità nella gestione dell'hardware:

- STROMA, tipicamente utilizzato per lo studio di linee cellulari o cellule primarie in 2D, seminate su vetrino
- ROALD, tipicamente utilizzato per lo studio di linee cellulari o cellule primarie non aderenti, del tipo cellule immunitarie, o cellule seminate su microbeads.
- XENOPUS, un piccolo acquario utilizzato per studi su girini di *X. Laevis*

KUBIK

Quadro generale utilizzo del KUBIK

Le EU sopra elencate possono essere tutte utilizzate anche all'interno dell'incubatore KUBIK dell'ESA per eseguire l'esperimento in ambiente termicamente controllato e/o per avere gravità simulata. In tal caso il BLOKON non è necessario, ma sono necessari degli Experiment Container (EC) dedicati, anch'essi di proprietà ESA.

Il KUBIK è un piccolo incubatore a temperatura controllata (volume della camera termica circa nove litri) utilizzato per eseguire esperimenti biologici nello spazio. Dal 2019, KUBIK è stato migliorato aggiungendo capacità di comunicazione di dati e comandi, rendendolo una struttura più versatile per l'utente finale.

Il KUBIK permette l'esecuzione di diverse repliche sperimentali in quanto permette l'inserimento al suo interno fino a 24 EC del tipo KIC-SL, 16 esposte alla microgravità e 8 possibilmente esposte a gravità simulata terrestre, marziana o lunare. In caso di EC del tipo KIC-SL-E (con EU BIOROCK) è possibile l'inserimento fino a 11 EC. Altre configurazioni sono anche disponibili, ad esempio se viene rimossa la centrifuga è possibile inserire fino a 32 EU di dimensione standard o fino a 4 contenitori KIC-Magnum, dal volume di circa 1 litro.

Il KUBIK consente agli esperimenti di operare nell'intervallo da 6°C a 38°C ed in caso di utilizzo della centrifuga, è disponibile un livello di gravità impostabile tra 0,2 g e 2 g.

A seconda della natura dei campioni biologici utilizzati nei bioreattori, a termine dell'esperimento le EU possono essere poste in cold storage a 4°C, -20°C, o -80°C. Tale catena del freddo dovrà essere garantita fino all'arrivo dei campioni nel laboratorio del team scientifico

Facility	Prontezza all'implementazione	Presenza personale al sito di lancio	Cold storage
BIOKON passivo	Rapida	Non necessaria	A seconda del tipo di esperimento, potrebbe non essere necessario
BIOKON attivo con Unità sperimentali (EU)	Richiede il refurbishment delle EU, e training/supporto allo sperimentatore per definire e consolidare il protocollo scientifico	Necessaria a seconda del tipo di campione biologico.	A seconda del tipo di esperimento, potrebbe non essere necessario.
KUBIK	Richiede il refurbishment delle EU, e training/supporto allo sperimentatore per definire e consolidare il protocollo scientifico	Necessaria a seconda del tipo di campione biologico.	Può essere richiesto richiesto cold storage (4°C, -20°C, o -80°C).

STROMA

2.1 Introduction

The Experiment Units STROMA have been used to study the behavior in microgravity of human immune system cells, endothelial cells, mesenchymal stem cells, breast cancer cells and, rodents thyroid cells, muscular cells, osteoclasts and macrophages. The experimental procedures (cell culture, medium changes and cell lysis) on board of the ISS are conducted by the use of specific bioreactors (STROMA) designed by Kayser Italia taking advantage of incubator facilities on-board (KUBIK) or of the ASI BIOKON. The astronaut involvement is limited to the positioning of the bioreactors into the incubator.

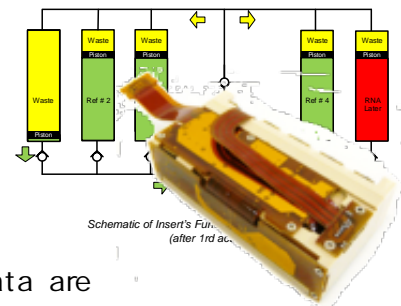
2.2 Description of the Experiment Units (EU)

a. Main Feature

The STROMA Experiment Unit is a device capable of performing automatic 2D cell culturing in microgravity. It is equipped with reservoirs for chemicals (culture medium, washing buffer, fixatives, about 1.3 ml of buffers) and a culture chamber allowing growth of adherent cells on a provided support for coverslips. A fluidic path connects reservoirs to the culture chamber allowing fluid injection. The experiment timeline of fully autonomous EU is electronically controlled. At the end of the experiment the STROMA Experiment Unit can be stowed at controlled temperatures, up to -80°C. After stowage and re-entry on Earth, 2D cell cultures can be analysed by microscopy techniques as well as molecular biology-based approaches for genomic, transcriptomic and proteomic studies.

b. Summary of function

Each Experiment Unit is made of a semicrystalline thermoplastic polymer with excellent mechanical and chemical resistance properties, biologically inert. Cross contamination among the chambers is avoided thanks to proper sealing gaskets. The EU itself provides one level of containment (LoC). The experiment is fully autonomous, all the actions are electrically controlled by a pre-defined timeline uploaded on the on board microcontroller. Housekeeping data are recorded during the mission and downloaded at re-entry. On the whole, the actions performed by the fluidic system are achieved by preloaded springs activated by Shape Memory Alloy (SMA) actuators. Such mechanism releases the plungers inward displacing the fluids (Activator or Fixative) contained into the chemicals reservoirs (Activator or Fixative reservoir) toward the Culture Chamber (CC). A manifold channel connects each reservoirs to the CCs so that cells are activated or fixed.



c. Previous mission

The Experiment Units STROMA have been executed on human cells and used in previous space mission, as shown in the following table:

Experiment	Description	Mission /Launch
STROMA	<i>Bone Marrow Stromal Cell Differentiation in Microgravity</i>	2003 with Shuttle STS-107
PITS	<i>Osteoclast cells</i>	2007 with Soyuz-U rocket Foton-M3 capsule
MYO	<i>Muscular cells</i>	2007 with Soyuz-U rocket Foton-M3
SPHINX	<i>Spaceflight of Huvec: an Integrated experiment</i>	2010 with Progress 40P
CYTOSPACE	<i>Microgravity and cells: morphotype and phenotype correlation</i>	2015 with Space X-6
NATO	<i>NANoparticles based countermeasures for Treatment of microgravity induced Osteoporosis</i>	2015 with Space X-6

ENDO	<i>Endothelial cells</i>	2015 Soyuz 44S/Soyuz 42S
SCD	<i>Stem Cell differentiation</i>	2015 with Soyuz 41S
CORM	<i>Retinal Lesion Study</i>	2017 with Space X- 12
NANOROS	<i>Oxidative Stress</i>	2017 with Space X- 12
MYOGRAVITY	<i>Muscle cells</i>	2017 with Space X- 12
NANO	<i>Nano Antioxidants</i>	2019 with Space X-17

ROALD

3.1 Introduction

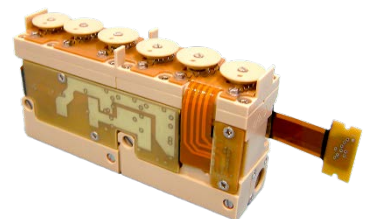
The Experiment Units ROALD have been used to study the role of apoptosis during human T-lymphocytes activation by mitogens in microgravity and human bone cells.

The experimental procedures (cell culture, culture medium, fixative) board of the ISS are conducted by the use of specific bioreactors (ROALD) designed by Kayser Italia taking advantage of incubator facilities on board (Kubik) or of the ASI BLOKON. The astronaut involvement is limited to the positioning of the bioreactors into the incubator.

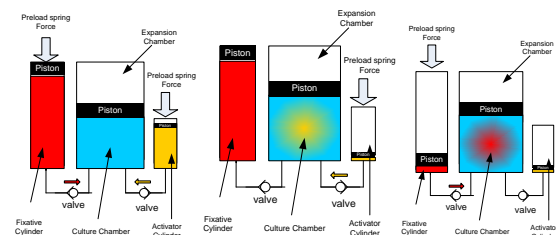
3.2 Description of the Experiment Units (EU)

a. Summary of Features

The ROALD Experiment Unit is a device capable of performing automatic cell culture of non-adherent cells (i.e. cells that grow in suspension) in microgravity. It is equipped with reservoirs for chemicals (culture medium, fixatives, about 2.0 ml) and a culture chamber allowing cell growth in suspension. The scientific protocol is led by the KEU-RO electronics following a predefined timeline. At the end of the experiment the ROALD Experiment Unit can be stowed at controlled temperatures, down to -80°C. After stowage and re-entry on Earth, cell cultures can be analyzed with molecular biology-based approaches for genomic, transcriptomic and proteomic studies or cytofluorimetry.



b. Summary of function



Schematic of Insert's Function

Each ROALD Experiment Unit (EU) is made of a semi-crystalline thermoplastic polymer with excellent mechanical and chemical resistance properties, biologically inert. Cross contamination among the fluids chambers are avoided due to proper sealing gaskets. The EU itself provides one *Level of Containment* (LoC) that is increased to two by using KIC-SL containers class. The experiment is fully autonomous; all the actions are electrically controlled by a predefined timeline uploaded into the on-board microcontroller. Housekeeping data are recorded during the mission and downloaded at reentry.

The typical fluidic concept carries out the KEU-RO experimental protocol which relies on three main steps, i.e. cell activation, incubation, fixation. On the whole, the actions performed by the fluidic system are led by preloaded spring actuators activated by the control electronics. Such mechanism pushes the pistons inward displacing the fluids (Activator or Fixative) contained into the chemicals reservoirs (Activator or Fixative reservoir) towards the Culture Chamber (CC). Each CC is provided with a floating piston to allow an expandable volume for fluid injections. Short channels connect independently the reservoirs to the CCs so that cells are activated or fixed (see figures below).

c. Previous mission

The Experiments Units ROALD have been executed and used in previous space mission, as shown in the following table:

<i>Experiment</i>	<i>Description</i>	<i>Mission /Launch</i>
ROALD	<i>ROle of Apoptosis in Lymphocyte Depression</i>	2008 with Soyuz 17S
RESLEM	<i>Role of Endocannabinoid System in human Lymphocytes Exposed to Microgravity</i>	2011 with Soyuz 29S
SERISM	<i>Reprogramming Stem Cells</i>	2017 with Space X-12
BioScience-3	<i>Spaceflight Effects on Vascular Endothelial and Smooth Muscle Cell Processes</i>	2019 with Space X-17