0254-6124/2021/41(2)-286–07 *Chin. J. Space Sci.* 空间科学学报

YUAN Junxia, YIN Hong, MA Lingling, ZHANG Wende, ZHANG Qin, XU Kanyan. Research progress of space microbial experimental technologies (in Chinese). *Chin. J. Space Sci.*, 2021, **41**(2): 286-292. DOI:10.11728/cjss2021.02.286

空间微生物实验技术研究进展*

袁俊霞　印　红　马玲玲　张文德　张　秦　徐侃彦

(航天神舟生物科技集团有限公司　北京 100190)

(北京市空间生物工程技术研究中心　北京 100190)

(中国航天科技集团有限公司空间生物工程研究中心　北京 100190)

摘　要　微生物具有结构简单、生长周期短、繁殖快、便于搭载等优点, 被作为生物模型用于空间环境下的生命现象研究、地外生命探测以及开展以微生物为重点关注对象的行星保护任务研究. 随着中国空间站在轨建造任务的临近, 微生物空间实验技术开发以及相应的实验装置研制需要加快部署. 本文以已实现空间应用的微生物技术为基础, 从微生物空间培养、保存、检测技术及用于地外生命探测中的微生物识别技术等方面分析了空间微生物实验技术的发展现状与趋势, 提出了未来利用中国空间站开展空间微生物实验的技术发展建议.

关键词　空间环境, 微生物培养, 微生物检测, 地外生命探测

中图分类号　V 524.1, Q 939.99

Research Progress of Space Microbial Experimental Technologies

YUAN Junxia　YIN Hong　MA Lingling

ZHANG Wende　ZHANG Qin　XU Kanyan

(*Shenzhou Space Biotechnology Group, Beijing* 100190)

(*China Space Biology Research and Technology Center, Beijing* 100190)

(*China Space Biology Research and Development Center, China Aerospace Science and Technology Corporation Limited, Beijing* 100190)

Abstract　Microorganism is often used as biological model for space life research, extraterrestrial life detection and research on planetary protection due to its simple structure, short growth cycle, fast propagation and easy space loading. With the development of China's space station program, the demand for more advanced microbial space experimental device is becoming more and more urgent. In this study, the microbial techniques which have already been implemented in space environment were investigated, and the progress and trend of space microbial experimental techniques including microbial incubation, preservation, detection, analysis, as well as extraterrestrial life detection were also discussed. Finally, suggestions on the development of space microorganism experiments using

* 民用航天技术预先研究项目 (B0107) 和中国航天科技集团有限公司自主研发项目共同资助

2019-09-16 收到原稿, 2020-08-06 收到修定稿

E-mail: yuanjunxia@cast.cn

China's Space Station in the future are put forward in this paper.

Key words Space environment, Microbial culture, Microbial detection, Extraterrestrial life detection

0 引言

对地球生命体而言, 远离地球将面临多重因子组成的空间复杂环境. 空间微重力、复杂高能带电粒子辐射均是地面环境所不具备的, 低压、温度骤变、强紫外辐射、干燥、寡养等因素在外层空间中表现得比地面环境更极端 [1]. 微生物是地球上含量最丰富的生命形式, 具有结构简单、生长周期短、繁殖快、便于搭载等优点, 在半个多世纪的空间探索活动中, 微生物作为生物模型被广泛用于研究地球生命体在空间环境下的生命现象与适应性机制, 进行空间生命探测以及开展以微生物为重点关注对象的行星保护技术等研究 [1,2].

由于空间环境的特殊性, 上述研究在很大程度上依赖于高效、便捷、自动化的空间生物技术, 用于实现微生物在空间环境下从基因到个体甚至群落水平的遗传变化监测. 因此, 微生物空间实验技术及相应的实验装置也取得了高速发展. 受人类航天工程发展程度以及空间环境等多种因素的影响, 针对小卫星、空间站、火星等不同空间平台的微生物实验能力和技术储备也表现出一定差异 [3]. 当前与开展微生物空间研究密切相关的技术应用主要包括: 微生物空间培养、保存技术; 空间环境下分子生物学检测技术; 地外生命探测中的微生物识别技术等. 本文以现阶段已经实现空间应用的微生物技术为基础, 分析了空间环境下开展微生物实验的技术现状与发展趋势, 进而提出了未来在中国空间站开展空间微生物实验的技术发展思路.

1 微生物空间培养与样品保存

1.1 微生物空间培养技术

实现微生物培养是空间条件下开展微生物研究的重要前提. 由于空间微重力环境的特殊性, 微生物培养技术开发时应充分考虑微重力环境下物质的传热传质特性以及可操作性等因素 [4]. 微生物空间培养除了需要提供适宜的营养物质、温度、氧气等环境条件, 还需对微生物培养过程提供多样化的观察、监测、控制手段 [5]. 经过数十年的发展, 微生物空间培养技术从简单到复杂取得逐步完善和成熟, 实现了从简单生长环境到精密可控的生长环境, 从静态的批量培养到动态的连续灌流培养, 从单一容器培养到微型化和自动化的微流控芯片培养, 从静态图像采集到在线自动观测、显微观测等的技术升级 [6].

早期的微生物空间培养以简单无源培养为主. BRIC (Biological Research in Canisters) 是国际空间站上微生物无源培养装置的典型代表, 如图 1(a) 所示, 微生物样品加载至特制的培养皿后即启动培养, 枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、耐辐射真菌均利用 BRIC 实现了在轨培养 [7,8]. BioServe 公司开发的商业通用生物加工装置 (CGBA) 是一种有源的具有精确温度控制功能的空间实验平台, 可以提供适应多

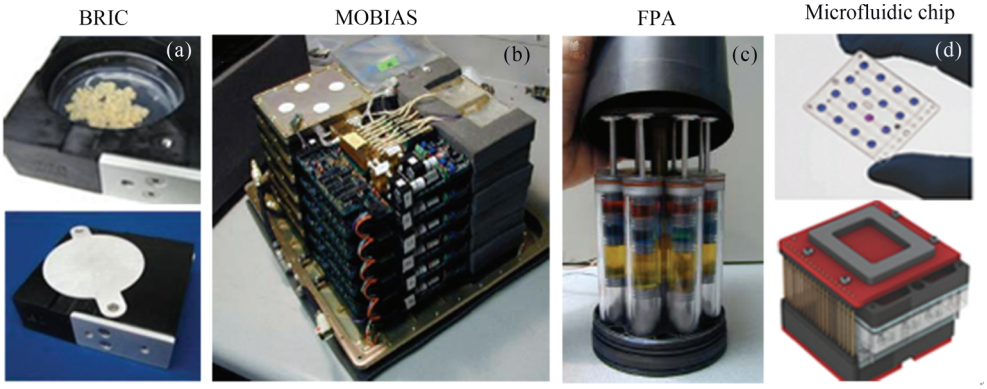

图 1 用于微生物空间培养的实验系统

Fig. 1 Biological facilities for microbial space culture

种类型微生物培养所需的环境条件. CGBA 装置还保留了定制实验硬件的接口, 例如子部件 MOBIAS (见图 1b) 实现了微生物的空间动态灌流培养, 子部件流体处理装置 (FPA, 见图 1c) 具备固定剂或其他化学试剂加注功能, 在培养完成后对生物样本进行固定剂加注, 支持返地开展以转录组水平为代表的分析研究 [9−11]. 微流控芯片克服了传统空间微生物培养实验载荷大、耗时长、成本高的局限性, 可以将生物培养与检测高度集成, 实现微生物实验的微量、快速、高效实施. 如图 1(d) 所示, 搭载于 Biosentinel 立方星的微流控芯片实现了空间微生物的动态培养, 芯片除提供适宜的气体和温度条件支撑酵母的生长外, 还具备通过三色 LED 检测系统对酵母的生长和代谢活动进行测量的能力 [12].

随着空间科学实验需求的多样化, 未来针对月球与火星环境的研究需要配置不同重力水平的培养系统, 以提供空间单因素及多因素试验条件. 基于此, 适用于空间环境的多重力水平培养系统也相继被开发. 当前, 国际空间站中由 ESA 研制的模块化培养系统 (EMCS) 中包含的离心机可提供 $10^{-3}g$∼$2g$ 的重力环境因子 [6,13]; Nanorack 公司研制的商业化多重力可变平台 MVP (Multi-use Variable-g Platform) 除提供可变的重力环境 ($\leqslant 2g$) 外, 还具备精确的温度 (14∼40°C) 和湿度 (50%∼80%RH) 以及气体环境控制能力 [14]. 基于 MVP 实验平台, 已经开展枯草芽孢杆菌在不同重力环境下的基因突变、环境选择和种群动态变化特征等研究.

针对微生物空间培养的实验需求, 当前微生物空间培养技术主要在国际空间站开展, 存在以下两方面的主要技术缺陷.

(1) 由于空间培养环境的局限性, 微生物培养过程中极易形成厌氧条件, 这种培养环境不但影响与地面环境的对照分析, 还限制了以长期微生物空间培养为需求的科学实验 [6]. 同时, 当前针对微生物空间培养物的快速检测技术能力相对单一, 未来以红外暗视仪为代表的成像监测功能将进一步提升空间实验的技术水平.

(2) 针对空间站舱外的培养技术能力不足问题, 以欧空局研制的暴露装置 EXPOSE 为代表的多个舱外实验平台提供了包括不同波段的 UV 辐射及气体控制等实验环境, 但已进行的实验多针对休眠态的微生物开展 [15,16]. 生物体/有机物暴露在轨道压力下 (O/OREOS), 纳米卫星是当前唯一具备在舱外进行微生物培养的系统, 实现了对枯草芽孢杆菌空间生长及生物活性和环境适应性的表征 [17].

1.2 微生物样品保存技术

在空间实验中, 有效保存样本用于飞行后分析至关重要. 当前在国际空间站主要有两种微生物样品保存方式, 即冷冻保存与样品固定液保存. 国际空间站上多种类型的低温冷冻系统基本满足不同类型实验的需求, 扩展了开展微生物空间实验的能力. 针对样品固定液保存, 在国际空间站上使用戊二醛、甲醛和 RNAlater 等化学试剂的能力已经显著增强. RNAlater 在空间环境中用于保持生物核酸的质量及完整性和实用性已经通过验证 [18]. 国际空间站大量的实验都依赖上述方式进行核酸样品保存与返地后分析. 然而即使使用固定剂, 复杂生物样品仍然会发生核酸降解. 在国际空间站开展的 Micro2 实验中, 铜绿假单胞菌在空间生长形成的生物膜影响了 RNAlater 保护核酸的能力, 导致核酸降解 [18,19]. 该案例说明, 目前在国际空间站进行样品固定及储存尚存在一定的技术缺陷, 并对未来在空间环境下处理复杂样品的技术紧迫性提出了需求.

2 微生物检测技术

在空间应用中, 针对微生物的检测技术多用于空间密闭环境中微生物检测与群落分析, 航天员疾病诊断和健康状况调查以及地外生命寻找等领域. 在过去的数十年中, 除依赖常规培养检测技术外, 核酸扩增和测序技术应用大大推动了空间微生物检测技术的发展.

2.1 微生物生理生化检测技术

对微生物在空间环境下生长的基本形态与特殊结构进行观察, 可以获得空间环境下微生物生命现象的第一手资料. 与地面实验室类似, 国际空间站配备的光学显微镜和 NanoRacks 公司研制的显微镜模块具有强大的样品识别能力, 可以实现对微生物细胞的观察与计数功能 [20].

长期以来, 对舱内密闭环境中的微生物群落检测主要通过对不同介质采样、培养、观察、统计进行. 载片实验室–便携检测系统 (LOCAD-PTS) 充分利用微生物的酶促反应自动化开展微生物水平检测, 通过螯试剂反应检测出特征生物分子的成分和含量,

从而快速获取微生物信息 [21,22]. 其基本工作原理是: 从耸血液里提取的酶注入测试管并烘干, 含有微生物的液体样本加入测试管后, 单个细菌细胞即可诱发酶恢复活性发生作用, 进而改变液体颜色, 颜色变化的程度与细菌的数量密切相关. 此外, NanoRacks 公司研制的微孔板读数仪 (Plate Reader) 通过检测放置在微孔板中样品的生理生化反应, 可以实现对包括吸光度、荧光强度及化学发光度的测定等在内的多种功能. 微孔板还配备有温控功能, 可以用于长期在轨孵育微生物样品, 同时测定微生物在空间的生长与基因表达变化. 此外, 微生物生长和监测细胞活力、DNA/RNA 定量、报告基因分析、蛋白质分析 (ELISA 和荧光蛋白) 和酶分析 (磷酸酶, 激酶和蛋白酶活性) 也可以利用微孔板读数仪实现 [20]. 值得注意的是, 在空间环境下开展上述实验要求航天员具备一定专业知识和操作能力, 未来应考虑空间环境下的自动化技术, 最大程度地降低航天员的参与依赖.

2.2 微生物核酸检测技术

聚合酶链式反应 (PCR) 是核酸检测不可或缺的技术. 空间环境中开展 PCR 反应需要首先完成生物样品在空间环境下的核酸提取及纯化和浓缩. 地面实验室中常见的核酸提取需要腐蚀性试剂以及离心等多个实验流程, 空间环境资源的有限性要求将实验流程高度集成, 因此核酸提取过程通常依赖于高度灵活的自动化系统. 在空间环境下, 核酸提取主要采用物理或化学方法将生物细胞裂解和核酸释放, 进而利用能够捕获 RNA 和/或 DNA 的磁珠或过滤柱实现核酸提取 [6,23]. 以 GEMM 模块 (Gene Expression Measurement Module) 为例, 在填充有磨蚀性金刚石屑的破碎腔内对微生物细胞破碎后, 利用二氧化硅树脂填料可以完成核酸自动化提取 [23]. 此外, 传统的 PCR 过程需要多个循环的核酸变性、复性和延伸, 功率消耗可达几十至几百瓦, 这与空间环境中有限的载荷和用电约束条件是不相容的. 近年来, 微流控技术的发展满足了空间核酸检测的应用需求. 在小型微流体装置上建立蛇形微通道, 通过对通道的几何形状和梯度的设计提升了核酸样品的相对加热和冷却速率, 将复杂的 PCR 反应缩小到芯片上进行, 该技术已经实现小型化, 并完成了空间环境下的技术验证 [24].

另外, 等温扩增技术通过恒定温度快速实现了目标 DNA 扩增, 在实际操作和仪器要求方面均比 PCR 技术更为简单方便. 在众多等温扩增技术中, 环介导等温扩增技术已经实现了空间验证 [25]. 由欧空局 (ESA) 和梅里埃公司开发的空间微生物检测系统 (MiDASS), 将核酸提取技术与等温扩增技术高度集成, 在 3 h 内可以快速检测空间密闭舱内空气、介质表面和水样中的细菌和真菌污染物 [26].

实时荧光定量核酸扩增 (RT-qPCR) 通过对荧光的检测实现对 DNA 靶标的高精度检测, 是生物样品中核酸定量分析的首选方法. 由于操作程序简单、灵敏度高, 其应用前景包括用于检测基因组中的核苷酸多态性, 空间辐照造成的 DNA 损伤监测, 环境介质中的微生物种类分析等 [27]. WetLab-2是利用 RT-qPCR 进行空间环境下基因表达定量分析的实验系统 (见图 2[28]), 其主要功能组件包含样品提取组件 (用于从介质中提取样本), 核酸制备组件 (用于实现微生物细胞裂解与 RNA 提取), 扩增反应组件 (用于实现 RNA 样品的转移、扩增和定量). WetLab-2 由地面商用设备改装, 并于 2016 年实现在国际空间站的应用, 运行性能良好 [28,29].

DNA 微阵列技术也被用于航天器舱内微生物检测与群落分析. 采用 PhyloChip 技术 (16SrRNA 基因芯片) 检测到的细菌类群数量与传统培养法相比增加了 70 倍 [30]. 利弗莫尔微生物检测阵列 (Livermore Microbial Detection Array, LMDA) 通过特异性探针识别能够在物种水平上快速检测和鉴定病毒与细菌, 并将检测时间缩短至 1 h, 被用于国际空间站部署的 Microbial Tracking 任务, 对舱内环境样本的细菌群落和毒力因子进行分析 [31].

与 PCR 和微阵列方法不同, 第三代测序技术未来在空间环境中的应用更具潜力, 用于监测国际空间站生命支持系统和机组人员的健康状况, 揭示生命体在空间环境下的基因表达变化以及对空间环境的遗传适应性等. 当前, 基于纳米孔的基因测序技术已经成功在国际空间站执行了 DNA 和 RNA 测序任务 [32,33]. Castro-Wallace 等利用纳米孔测序仪在国际空间站内对 λ 噬菌体、大肠杆菌 DNA 进行测序, 并对测序质量、通量、碱基识别等指标进行评估, 未发现纳米孔测序技术在空间环境下与地面对照存在明显差别 [33], 表明纳米孔测序仪适用于微生物空间测序. 2017 年 NASA 利用基因–3 (Genes in space-3) 实验, 首次在国际空间站完成了从微生物样品制备到纳米孔测序的完整微生物鉴定流程 [34]. 与其他测序

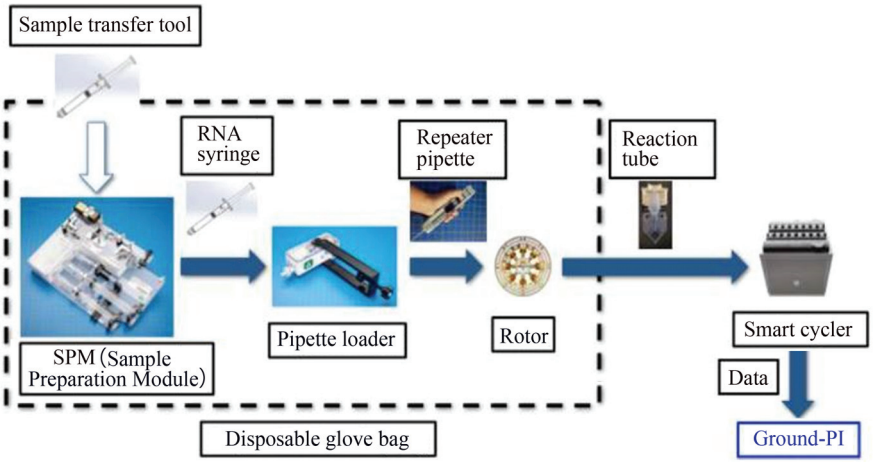

图 2 Wetlab-2 实验系统

Fig. 2 Wetlab-2 system

技术相比, 纳米孔测序技术具有下列优点: 无需进行扩增或标记即可对核酸分子进行检测, 样品制备时间短, 对温度敏感性低, 设备易于小型化. 纳米孔测序技术或将应用于未来火星及更远地外生命探测.

2.3 蛋白质检测

对细胞蛋白质的直接测定是对空间环境下微生物细胞活动和状态的最直接和准确描述. 在地面实验中, 通常采用质谱 (MS) 法鉴定来自细胞或组织的蛋白质, 包括蛋白质多肽分子量和氨基酸序列, 以及蛋白质的结合位点与翻译后修饰情况等 [35]. 当前, 蛋白质的质谱分析已经向高灵敏度、高分辨率、快速测定方向发展. 自海盗号着陆火星以来, 小型质谱仪一直是行星和空间科学任务的首选仪器, 火星科学实验室 (MSL) 搭载的气相色谱四极杆质谱仪用于检测火星表面的有机化合物 [36]. 尽管如此, 由于质谱样品制备与检测分析流程的复杂性, 以及地面质谱仪体积与结构功能复杂性等限制, 质谱仪小型化仍是影响其在国际空间站及深空探测应用的主要因素.

3 基于微生物的地外生命探测技术

地外生命探测是科学家长期关注的科学问题. 在太阳系的各大行星中, 火星是最类地的行星, 火星矿物质的沉积和生命体的快速矿化胶结, 能够使一些微生物或其他生命痕迹得以保存 [37], 如何从这些矿物质材料中检测出已经灭绝的生命形式是火星生命探测的难点.

生命迹象探测器 SOLID (Sign of Life Detector) 是用于原位检测和鉴定固体 (土壤、地面岩石或冰) 和液体样品中生物标记物和微生物的探测设备, 旨在验证火星地下或岩石内部可能存在微生物群落的假设. SOLID 由西班牙天体生物学中心设计和制造, 主要基于竞争免疫分析的抗体微阵列技术追踪化石、培养物等介质中的特定生物分子 [38]. 针对不同类型的大分子结构, 例如细胞外聚物、细胞壁组分等以及分离自不同极端环境中的细菌纯培养物, SOLID 制备了约 450 种抗体并制成微阵列抗体芯片. SOLID 生命迹象探测器主要分为两部分: 一是样品制备单元 (SPU), 用于土壤样品分配, 均质化处理; 二是样品分析单元 (SAU), 利用微阵列抗体芯片进行免疫测定. 该探测器的设计指标可以检测从氨基酸分子、肽、蛋白质到完整微生物细胞或有机体, 对生物分子的检测灵敏度为 1~2 ng·mL^{-1}, 对细胞的检测灵敏度为 10^4~10^5 mL^{-1} [39].

地外基因组探测器 SETG (Search for Extra-Terrestrial Genomes) 用于在火星上对核酸样品实现原位分离、检测和测序. SETG 的工作原理是: 从土壤、冰或液体的样品中提取和分离核酸样品, 对核酸样品进行洗脱和浓缩后, 利用基于纳米孔的单分子技术进行测序. 探测器的微流体模块集成了化学试剂储存和输送, 样品处理与制备, 核酸提取、纯化与测序等多项实验功能 [40]. SETG 探测器高度的集成性, 精确的流体控制和自动化操作在地外生命探测过程中显示出巨大的应用前景.

4 结论

自 20 世纪人类开启空间探索时代以来, 大量的空间生命科学研究都依赖于飞行后地面分析. 研究经验表明, 有限的空间飞行机会、实验进度缓慢、实验重复性不足、样本完整性差等原因都制约了空间生命科学的发展. 对微生物研究而言, 尽管在小卫星、空间站以及其他空间实验平台上配备了实验模块载荷, 但多以保证微生物维持自身生存为首要目标, 产生的生物学数据极为有限. 因此, 立足于空间微生物科学的研究需求, 有针对性地开发微生物空间实验技术, 最大化利用空间实验平台开展原位分析, 实现对微生物个体或其群落的形态、生理生化特征、核酸、蛋白质等层次的全方位检测, 是提升空间生命科学认知水平的重要途径.

与国外相比, 中国的航天事业起步较晚, 微生物的空间实验多以实现菌株的短期搭载、固体培养为主, 微生物空间连续多代培养技术差距较大, 制约了微生物空间实验的深入开展. 当前中国空间站在轨建造任务临近, 空间站内配备了多个生命生态、生物技术实验柜和舱外实验装置, 用于支持空间生命科学和技术实验. 保障空间站安全运营的微生物检测技术, 例如等温 PCR 扩增技术、激光光谱检测技术及相应的实验装置也在逐步开展地面和空间验证. 整体而言, 微生物实验技术的开发主要来自两个途径: 在充分考虑空间环境因素的前提下将地面成熟的技术应用于空间环境; 针对空间特殊环境开发新的空间技术. 同时, 空间生物装置的开发必须兼顾低功耗、微小型化、抗干扰及系统稳定等因素, 实现仪器的高度集成化与自动化, 最大限度降低航天员的参与. 在总结国外先进经验的基础上加快中国空间站部署, 建立完善的空间生物研究平台与体系, 对于提升中国空间生物学研究的总体水平具有重要意义.

参考文献

[1] BAQUE M, VERSEUX C, RABBOW E, *et al*. Detection of macromolecules in desert cyanobacteria mixed with a lunar mineral analogue after space simulations [J]. *Orig. Life. Evol. Biosph.*, 2014, **44**: 209-221

[2] FAJARDO-CAVAZOS P, LEEHAN J D, NICHOLSON W L. Alterations in the spectrum of spontaneous rifampicin-resistance mutations in the Bacillus subtilisrpoB gene after cultivation in the human spaceflight environment [J]. *Front. Microbiol.*, 2018, **9**: 192

[3] HORNECK G, MOELLER R, CADET J, *et al*. Resistance of bacterial endospores to outer space for planetary protection purposes-experiment PROTECT of the EXPOSE-E mission [J]. *Astrobiology*, 2012, **12**(5): 445-456

[4] BLABER E, DVOROCHKIN N, ALMEIDA E, *et al*. Bioculture system: expanding ISS space bioscience capabilities for fundamental stem cell research and space biosciences research and commercial applications [C]//40th COSPAR Scientific Assembly. Moscow: NASA, 2014

[5] SATO K Y, ALMEIDA E, AUSTIN E M. NASA Bioculture System: from Experiment Definition to Flight Payload [R]. NASA technical reports, ARC-E-DAA-TN16080, 2014

[6] KAROUIAF F, PEYVAN K, POHORILLE A. Toward biotechnology in space: high-throughput instruments for in situ biological research beyond earth [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2017, **35**: 905-932

[7] FAJARDO-CAVAZOS P, NICHOLSON W L. Cultivation of Staphylococcus epidermidis in the human spaceflight environment leads to alterations in the frequency and spectrum of spontaneous rifampicin-resistance mutations in the *rpoBgene* [J]. *Front. Microbiol.*, 2016, **7**: 999

[8] MORRISON M D, FAJARDO-CAVAZOS P, NICHOLSON W L. Cultivation in space flight produces minimal alterations in the susceptibility of bacillus subtiliscells to 72 different antibiotics and growth-inhibiting compounds [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2017, **83**(21). DOI: 10.1038/s41526-018-0061-0

[9] KLAUS D M, HOWARD H N. Antibiotic efficacy and microbial virulence during space flight [J]. *Trends Biotechnol.*, 2006, **24**(3): 131-136

[10] KIM W, TENGRA FK, YOUNG Z, *et al*. Spaceflight promotes biofilm formation by pseudomonas aeruginosa [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(4). DOI: 10.1371/journal.pone.0062-437

[11] CRABBE A, DE BOEVER P, VAN HOUDT R, *et al*. Use of the rotating wall vessel technology to study the effect of shear stress on growth behavior of pseudomonasaeruginosa PA01 [J]. *Environ. Microbiol.*, 2008, **10**(8): 2098-2110

[12] DALAL S, SANTA MARIA S R, LIDDELL L, *et al*. Biosentinel: improving desiccation tolerance of Yeast biosensors for deep-space missions [C]//33rd American Society for Gravitational and Space Research (ASGSR) Annual Meeting. Seattle: NASA, 2017

[13] BRILLOUET C, BRIGANTI L, SCHWARZWALDER A. ESA experiments with the European modular cultivation system (EMCS) [C]//Proceedings of the Life in Space for Life on Earth Symposium. Angers: ESA Publication Division, 2008

[14] EVERROAD C.Long-term multi-generational evolutionary studies of bacteria in the spaceflight environment (MVP-Cell-02) [R]. NASA technical reports, ARC-E-

DAA-TN65372, 2019

[15] NICHOLSON W L, MOELLEER R, HORNECK G. Transcriptomic responses of germinating *Bacillussubtilis* spores exposed to 1.5 years of space and simulated martian conditions on the EXPOSE-E experiment PROTECT [J]. *Astrobiology*, 2012, **12**(5): 469-486

[16] ONOFRI S, DE VERA J P, ZUCCONI L, *et al.* Survival of Antarctic cryptoendolithic fungi in simulated Martian conditions on board the international space station [J]. *Astrobiology*, 2015, **15**(12): 1052-1059

[17] MATTIODA A, COOK A, EHRENFREUND P, *et al.* The O/OREOS mission: first science data from the Space Environment Viability of Organics (SEVO) payload [J]. *Astrobiology*, 2012, **12**(9): 841-853

[18] PAUL A L, FERL R J. Using Green Fluorescent Protein (GFP) reporter genes in RNA Later fixed tissue [J]. *Gravit. Space Biol.*, 2011, **25**(1): 40-43

[19] KIMW, TENGRA F K, YOUNG Z, *et al.* Spaceflight promotes biofilm formation by pseudomonas aeruginosa [J]. *PLoS One*, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0062437

[20] JOHNSON M D. NanoRacks, LLC Commercial Contributions to the US ISS National Laboratory Biological Research Facilities [R]. Texas: NanoRacks LLC, 2011

[21] MORRIS H C, DAMON M, MAULE J, *et al.* Rapid culture-independent microbial analysis aboard the International Space Station (ISS) [J]. *Astrobiology*, 2012, **12**(9): 830-840

[22] DAS A P, KUMAN PS, SWAIN S. Recent advances in biosensor based endotoxin detection [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2013, **51**: 62-75

[23] KAROUIA F, PEYVAN K, RICCO A, *et al.* Biological validation of the Gene Expression Measurement Module (GEMM) for microbial gene expression in space [C]//Astrobiology Science Conference. Chicago: NASA, 2015

[24] CREWS N, WITTWER C, GALE B. Continuous-flow thermal gradient PCR [J]. *Biomed. Microdevices*, 2008, **10**(2): 187-195

[25] MABILAT C, ABAIBOU H, LINDNER R, *et al.* Current Progresses of Midass: the European project for an Automated Microbial Identification Instrument [R]. California: NASA'S AMES Research Center, 2015

[26] BECHY-LOIZEAU A L, FLANDROIS J P, ABAIBOU H. Assessment of polycarbonate filter in a molecular analytical system for the microbiological quality monitoring of recycled waters onboard ISS [J]. *Life Sci. Space Res.*, 2015, **6**: 29-35

[27] ADAMSKI M G, GUMANN P, BARID A E. A method for quantitative analysis of standard and high-throughput qPCR expression data based on input sample quantity [J]. *PLoS One*, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0103917

[28] PARRA M, SCHONFELD J. WetLab-2: Wet lab RNA Smart Cycler providing PCR capability on ISS [C]//Joint CSA/ESA/JAXA/NASA Increments 43 and 44 Science Symposium. California: NASA'S Ames Research Center, 2015

[29] OUBRE C M, BIRMELE M N, CASTRO V A, *et al.* Microbial monitoring of common opportunistic pathogens by comparing multiple Real-Time PCR platforms for potential space applications [C]//43rd International Conference on Environmental Systems. Colorado: NASA, 2013

[30] DUC MTL, OSMAN S, VAISHAMPAYAN P, *et al.* Comprehensive census of bacteria in clean rooms by using DNA microarray and cloning methods [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009, **75**(20): 6559-6567

[31] THISSEN J B, MCLOUGHLIN K, GARDNER S, *et al.* Analysis of sensitivity and rapid hybridization of a multiplexed microbial detection microarray [J]. *J. Virol. Methods*, 2014, **201**: 73-78

[32] MCINTYRE A B R, RIZZARDI L, YU A M, *et al.* Nanopore sequencing in microgravity [J]. *NpjMicrograv.*, 2016, **2**: 16035

[33] CASTRO-WALLACE S, CHIU C Y, JOHN K K, *et al.* Nanopore DNA sequencing and genome assembly on the international space station [J]. *Sci. Rep.*, 2017, **7**: 18022

[34] WANG Haiming. "Genes in Space-3" experiment succeeded in identification of microorganisms in ISS [J]. *Chin. J. Space Sci.*, 2018, **38**(2): 135-135

[35] WALTHER T C, MANN M. Mass spectrometry-based proteomics in cell biology [J]. *J. Cell Biol.*, 2010, **190**(4): 491-500

[36] FREISSINET C, GLAVIN D P, MAHAFFY P R, *et al.* Organic molecules in the Sheep bed mudstone, Gale Crater, Mars [J]. *J. Geophys. Res. Planet.*, 2015, **120**(3) 495-514

[37] SMITH S A, BENARDINI J N, AANDERL D, *et al.* Identification and characterization of early mission phase microorganisms residing on the Mars science laboratory and assessment of their potential to survive Mars-like conditions [J]. *Astrobiology*, 2017, **17**(3): 253-265

[38] PARRO V, DE DIEGO-CASTILLA G, MORENO-PZA M, *et al.* A microbial oasis in the hypersaline Atacama subsurface discovered by a life detector chip: implications for the search for life on Mars [J]. *Astrobiology*, 2011, **11**(10): 969-996

[39] PARRO V, DE DIEGO-CASTILLA G, RODRIGUEZ-MANFREDI J A, *et al.* SOLID3: a multiplex antibody microarray-based optical sensor instrument for in situ life detection in planetary exploration [J]. *Astrobiology*, 2011, **11**(1): 15-28

[40] CARR C E, MOJARRO A, TANI J, *et al.* Advancing the search for extra-terrestrial genomes [C]//IEEE Aerospace Conference. Montana: Institute of Electrical and Electronics Engineers, 2016