

YUAN Shuqi, LIANG Zheng, CHEN Yuqing, LIU Yuanyuan, YANG Qianqian, CHANG Wenbo, ZHONG Runtao, WANG Wei, SUN Yeqing. Developing Standardized Protocol for the Preparation of *Caenorhabditis elegans* Samples Suitable for Microfluidic Chip Loading (in Chinese). *Chinese Journal of Space Science*, 2026, 46(1): 131–141. CSTR:32142.14.cjss.2025–0008. DOI:10.11728/cjss2026.01.2025–0008

微流控芯片加载的秀丽隐杆线虫 样品制备流程*

元姝棋 梁 正 陈宇晴 刘缘缘 杨倩倩
常文博 钟润涛 王 巍 孙野青

(大连海事大学环境科学与工程学院 大连 116026)

摘 要 随着中国空间站舱外辐射暴露平台的逐步应用, 空间辐射造成的长期生物损伤是空间生命科学亟待研究的方向. 秀丽隐杆线虫作为空间飞行实验的模式生物, 其辐射效应研究能够为人类深空辐射风险评估和防护提供重要依据. 为实现长期空间飞行下线虫的发育分析, 需依托微流控芯片液体培养系统进行搭载与观测. 为明确微流控芯片线虫样品的发育制备要求和加载方案, 研究采用灼烧法对野生型、DNA 损伤修复蛋白 (RAD-51, CEP-1) 和肌肉运动蛋白 (UNC-54) 荧光品系在不同扩繁周期和发育时间进行群体体宽测量, 确定不同品系最适的扩繁和发育时长, 弥补芯片加载时样品同步性不足的问题. 利用上述流程制备的四种线虫加载于神舟十六飞船任务的线虫芯片, 样品体宽范围为 27.71~28.02 μm , 符合芯片加载要求 (24~29 μm), 保证了芯片内个体状态的一致性. 本研究建立了线虫扩繁—同步化—体宽控制—芯片加载的实验流程, 为空间站液体培养线虫搭载和观测提出“质控”要求.

关键词 秀丽隐杆线虫, 液体无菌培养, 微流控, 发育

中图分类号 V524

Developing Standardized Protocol for the Preparation of *Caenorhabditis elegans* Samples Suitable for Microfluidic Chip Loading

YUAN Shuqi LIANG Zheng CHEN Yuqing
LIU Yuanyuan YANG Qianqian CHANG Wenbo
ZHONG Runtao WANG Wei SUN Yeqing

(College of Environmental Science and Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026)

Abstract As space biology experiments transition from short-term post-flight observations to long-

* 空间站工程空间应用系统第三批科学实验项目 (SCP03-01-03) 和载人航天空间应用系统重点领域科研项目 (TGMTYY2201) 共同资助

2025-01-08 收到原稿, 2025-06-03 收到修定稿

©The Author(s) 2026. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

term in-orbit monitoring, particularly with the application of the extravehicular radiation exposure platform on the Chinese Space Station, understanding the long-term biological effects of space radiation has emerged as an urgent research direction in space life sciences. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), which shares 60%~80% of homologous genes with humans, serves as a model organism for studying radiation effects in spaceflight experiments, providing essential insights for assessing and mitigating radiation risks in deep-space exploration. To enable long-term analysis of *C. elegans* development both inside and outside the spacecraft, a microfluidic chip-based liquid culture system can be utilized for single-individual worm loading and observation. Microfluidic chips regulate the number of nematodes entering the culture chamber by controlling the inner diameter of the channels. Therefore, the preparation and loading of chip samples impose precise requirements on the body width of nematodes, which is directly related to their developmental stage. To clarify the developmental requirements and loading protocols for nematode samples in microfluidic chips, this study measured the body width of wild-type (N2), DNA damage repair proteins (RAD-51, CEP-1), and muscle motility proteins (UNC-54) fluorescent strains of nematodes during different population proliferation cycles and larval development using the heat-shock method. This approach determined the optimal proliferation duration and developmental period for different nematode strains, addressing the issue of insufficient sample synchronization during microfluidic chip loading. After preparation using the aforementioned protocol, four types of nematodes were loaded onto the nematode chip for the Shenzhou 16 mission. The body width of the samples ranged from 27.71 μm to 28.02 μm , which meets the chip loading requirement of 24 μm to 29 μm and ensures consistency in the individual states within the chip. This finding validates the feasibility of the preparation protocol. This study established an experimental workflow for nematode “proliferation-synchronization-body width control-chip loading”, and proposed “quality control” requirements for nematode cultivation and observation in liquid culture systems aboard space stations.

Key words *Caenorhabditis elegans*, Liquid sterile culture, Microfluidic, Development

0 引言

空间辐射已成为威胁长期在轨飞行与深空探测任务中航天员健康和生命安全的首要因素,逐渐成为载人航天工程进一步发展的瓶颈. 利用与人类基因组同源性较高的一系列模式生物如秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 进行空间试验,是当前应用最为广泛的研究手段之一. 秀丽隐杆线虫^[1-4]个体小,其成虫体长仅 1 mm,通体透明,全身细胞不足 1000 个,性别为雌雄同体或雄性,繁殖周期较短^[5];其既可以在固体线虫生长培养基^[6](NGM)中培养,也可以在无菌的液体培养基 (CeMM)^[7,8]中生长. 线虫卵孵化后会经历四个幼虫期,依次为 L1~L4 期. L1 阶段大约耗时 16 h,其余阶段 (L2~L4) 则耗时 12 h. 在液体培养基中卵发育至成虫需 7~10 d^[9]. 线虫在空间环境中具有耐受性好、生保需求少、样品收集简单、易于观察等优点,由此可见,秀丽隐杆线虫是用来研究空间生物学效应的一种理想的模式生物^[10,11].

从 1992 年的航天飞行计划 (STS)^[12]到 2022 年的 SpaceX 任务,再到近年来的神舟八号^[13,14]、实践十号^[15]及神舟十五号^[16]飞行任务,已经开展过多次线虫搭载实验. 这些研究主要集中在辐射、微重力以及其协同效应对线虫的生殖发育^[17]、细胞凋亡^[18]、基因组稳定性等方面的影响,多采用组学技术对线虫样品进行分析^[19-21]. 这些研究多为短期舱内实验,仅对线虫某一生长阶段的空间环境效应进行分析,尚未实现覆盖线虫发育生长全周期的长期在轨研究,且多数研究是对返回后的群体混合样品进行组学测序分析,针对线虫个体的在轨观测研究较为缺乏.

为实现对个体线虫在轨培养和生长发育的观测,本团队利用微流控芯片^[22]设计了线虫自动化无菌液体在轨培养的方案,并进行了在轨观测实验. 在神舟十五号飞行任务中,搭载的线虫采用该芯片完成了 30 d 的连续观测,并且建立了线虫液体驯化^[23]、指标测量^[9]及荧光成像^[24,25]方案,主要针对肌肉运动损伤和氧化应激损伤进行研究^[16]. 芯片加载时需将不同种

类的线虫分别装载至各个培养池中, 形成相互分离的线虫阵列, 在轨实验时, 可定期使培养液流经线虫分析通道, 从而实现培养液的定期更新及废液的清除, 以保证线虫长期存活, 培养池中的线虫可随着培养液流动进入锥形通道, 并被捕获, 进行荧光显微成像. 由于芯片对线虫的体宽有严格的限制 (例如神舟十六搭载的芯片对线虫体宽的限制范围为 $24\sim 29\ \mu\text{m}$), 因此需要对同步化后的卵的发育过程进行跟踪测量, 以满足在限定的体宽范围内. 同步化即使用碱性裂解液裂解产卵期的母体线虫, 释放体内虫卵, 获得统一发育的线虫样本. 前期研究从卵发育开始, 多以 24 h 为节点采集体宽数据, 且采集位置为咽泵处, 但线虫腹部随生殖腺的发育而增大, 而成为线虫身体最宽处. 野生型线虫由 L3 进入 L4 期, 再进入成虫期, 在固体培养中仅需 16 h^[26], 其在液体中培养也小于 24 h^[8]. 在线虫生长发育过程中, 若不能精确控制其发育时间, 线虫体宽过大将增加芯片堵塞风险. 为提高加样效率, 需以小时为单位研究线虫同步化发育流程. 此外, 同步化时还需要保证适中的亲代种群密度, 过高或过低均会影响线虫同步化的效果.

线虫研究除野生型 N2 外, 还有各种通过基因工程技术构建的突变或荧光标记品系 (例如 *hus-1*^[27-30], *rad-51*^[31], *cep-1*^[32], *egl-1*^[33-35] 等 DNA 损伤修复与细胞凋亡通路关键基因), 这些与人类基因同源的线虫基因, 通过对其在空间环境下的动态表达特征进行分析, 可为阐明长期空间暴露条件下生物机体的辐射损伤修复机制提供实验依据. 微重力的协同效应可加剧生物机体辐射应激响应, 因此引入肌肉运动基因相关品系可评估双因素对线虫的复合影响. 基因修饰后的线虫在液体培养中的发育速度比野生型慢^[25], 但芯片加载需要不同品系线虫体宽保持一致, 因此需确认各品系线虫的扩繁时间、发育到符合芯片加样要求的体宽所需时间, 并调整同步化裂解的开始时机, 以确保不同品系线虫在芯片加样时同时生长至符合通道要求的体宽范围.

本研究采用灼烧法对不同品系线虫不同扩繁时间和幼虫发育阶段的不同时间点进行体腹宽度测量, 确定不同品系线虫满足芯片加样需求的适宜的扩繁时间与和最适发育时间点. 同时, 通过对搭载于神舟十六飞船上的微流控芯片加样前后的样品状态进行确认, 验证加样效果, 最终建立线虫“扩繁—同步化—

体宽控制—芯片加载”的实验流程.

1 材料方法

1.1 材料

秀丽隐杆线虫野生型 N2, AM141, SSM264, TG11 均购自美国线虫遗传中心 (CGC), 在本实验室内通过 CeMM 培养液培养驯化.

1.2 CeMM 培养基配制

CeMM 是多次用于国际空间站进行线虫培养和观察的标准培养基, 无菌无嗅, 含有线虫生长所需的全部营养元素, 主要包括水溶性组分、TEA 可溶性组分、盐溶液组分、必需氨基酸组分、非必需氨基酸组分和核酸取代物组分. 培养基 pH 为 5.9 ± 0.1 . 其配制方法见文献 [8].

1.3 CeMM 培养线虫的驯化、扩繁及同步化

为得到适应 CeMM 液体生存环境的线虫, 需从 NGM 上将线虫转移至 CeMM 液体中进行驯化. 主要步骤包括: 同步化得到虫卵、小体系 CeMM 培养、获取初代成虫, 并多次连续同步化, 直至线虫在无菌培养体系中发育过程稳定. 当获取到驯化成功的线虫后, 可使用 CeMM 进行大体系培养. 线虫同步化采用氢氧化钠/次氯酸钠裂解法, 本研究中各品系的裂解时间为 N2 约 3 min, AM141 约 4 min, SSM264 约 3 min, TG11 约 4 min. 具体线虫的驯化、扩繁及同步化方法见文献 [23].

1.4 灼烧固定法

将待测线虫样品使用 M9 缓冲液冲洗后, 吸取滴加至载玻片上, 使用明火快速灼烧液滴下的载玻片底部 1~2 s, 使线虫出现短暂热休克状态.

1.5 线虫取样分析设置

液体培养线虫发育周期分析. 线虫同步化后, 得到 L1 期幼虫并分装培养, 每 24 h 随机选取线虫进行体宽测量, 测量时将线虫吸取至载玻片上, 使用灼烧法固定并测量腹部体宽. 跟踪至线虫发育为成虫, 每组 N 值不小于 15.

线虫同步化后精确发育体宽分析. 线虫同步化后, 得到 L1 期幼虫并分装培养, 野生型线虫在发育至 90 h 后进行体宽测量, AM141 在发育至 84 h 后进行体宽测量, SSM264 和 TG11 在发育至 132 h 后进行体宽测量, 此后每 6 h 进行一次测量, 每种品系各测量 5 次, 随机选取线虫进行体宽测量, 测量时, 将线

虫吸取至载玻片上,使用灼烧法固定,使用 PUBLIC 进行拍摄,放大倍数为 100 倍,每组 N 值不小于 100.

1.6 线虫体宽测量与数据分析

将线虫离心后,从底部吸取 5 μL 虫液滴加至载玻片上,使用灼烧法进行固定,使用 Image View 软件的直线工具测量视野内全部可见线虫的身体最宽处(线虫腹部垂直于体壁的直线距离).在相同时间节点下的不同扩繁周数线虫的体宽数据进行比较,采用双样本独立样本 t 检验,数据以平均值 $\pm$ 标准差表示.组间数值比较采用单因素方差分析,其中 $p<0.05$ 具有显著性差异, $p<0.01$ 具有极显著性差异,绘图及分析使用 Origin 2023 和 GraphPad Prism 9.

2 结果

2.1 液体培养线虫发育周期测定

针对空间站在轨线虫发育的辐射效应分析,除了野生型线虫外,还可以利用辐射或微重力感受关键基因荧光标记的品系进行效应的观测.

利用线虫进行辐射损伤效应研究主要集中于 DNA 损伤、细胞凋亡、基因组突变等方面.通过对参与以上通路的十几种关键基因的荧光标记线虫进行筛选(全身或局部组织能检测到荧光),并经 CeMM 液体培养基的长期驯化(>4 个月),选定了两种参与辐射响应通路的关键分子(*rad-51* 和 *cep-1*)标记 GFP (Green Fluorescent Protein) 荧光的线虫 SSM264 和 TG11 (线虫特征见表 1).为分析辐射与微重力的协同效应,本研究选用肌球蛋白重链(*unc-54*)标记 YFP (Yellow Fluorescent Protein) 荧光的线虫 AM141,作为同步化发育条件分析的初步样品.

为了获得可在 CeMM 液体培养基中正常存活的

三种品系,应用 Then 等^[20] 的线虫驯化方案,对固体培养的线虫进行液体驯化.驯化稳定后,对线虫发育过程中的体宽变化进行测量,直至线虫生长至成虫状态.结果发现,三种荧光线虫在发育前期即 L1~L3 期(120 h 前)与野生型线虫的体宽无明显差距,但在发育后期(120 h 后)SSM264 的体宽较野生型有较大差异,如图 1 所示;而且三种荧光线虫的发育进程均慢于野生型.该数据作为下一步确认线虫达到最适体宽的发育时间实验的数据输入,野生型和 AM141 品系则应用 Lu^[25] 论文中已有数据,数据显示,线虫发育至体宽 20 μm 以上,SSM264 和 TG11 需 5~7 d;AM141 和野生型需 4~6 d.

2.2 不同品系线虫扩繁周期验证

2.1 节实验结果以 24 h 为节点,测量间隔过长,线虫体宽变化剧烈,因此在各品系线虫平均体宽为 24~29 μm 的发育节点前后,进一步设置了以 6 h 为取样间隔进行群体的体宽测量,如图 2 (a) 所示.在线虫驯化过程中,研究发现不同的扩繁周期对线虫同步化后群体的发育速度有影响,本节对同种线虫不同的扩繁周期(2~4 周)后的发育效率也进行了分析.实际测量过程中需对液滴内可见的线虫进行全部测量,其个体的分布和测量方法如图 2(b) 所示.

四种线虫不同扩繁周期的体宽测量结果对比如图 3 所示,*表示 $p<0.05$ 具有显著性差异,**表示 $p<0.01$ 具有非常显著差异,***表示 $p<0.001$ 具有极显著差异, $N>100$. N2 线虫在相同的发育时间节点,其扩繁 3 周的样品平均体宽均显著大于扩繁 2 周的样品,说明扩繁 3 周的 N2 样品同步化得到的群体生长发育更快.其他品系中,AM141 线虫扩繁 3 周的样品发育速率快于扩繁 4 周;SSM264 线虫扩繁 4 周、

表 1 荧光标记线虫特征
Table 1 Fluorescently labeled nematode characteristics

线虫品系	TG11	SSM264	AM141
基因型	<i>cep-1 (lg12501) I</i> , <i>unc-119 (ed4) III</i> , <i>gtEx2</i>	<i>rad-51 (iow53[GFP::rad-51])</i> <i>IV/nT1[qIs51] (IV,V)</i>	<i>rmIs133 [unc-54 p::Q40::YFP]</i>
荧光标记 基因位点	GFP绿色荧光标记 <i>cep-1</i> (DDR诱 导的细胞凋亡检查点基因)	GFP绿色荧光标记 <i>rad-51</i> (DBS引发HR修复招募蛋白基因, 编码RecA 重组酶)	YFP黄色荧光标记 <i>unc-54</i> (肌球 蛋白重链蛋白基因)
特点	L4期后20~40 h在生殖腺表达荧 光,咽泵也有荧光	群体中存在咽部荧光和非咽部 荧光的线虫,需选择非咽部荧光的 <i>rad-51</i> 纯合子	在体壁肌细胞中显示绿色荧光, 多聚谷氨酰胺聚集
荧光位置	生殖腺荧光	咽部和生殖腺荧光	体壁荧光

TG11 线虫扩繁 4 周后同步化发育更优.

线虫随着代数的增多, 虫数也以几何倍数上涨, 因此线虫扩繁后需繁育 2~3 代以保证进行同步化时处于产卵期个体占多数、衰老期个体占少数的状态, 以保证获得卵的效率. N2 线虫从孵化到成虫产卵的时间约为 7~8 d, 所以在扩繁达到 3 周 (21 d) 时, 线虫样品繁育至第 3 代, 第 3 代线虫处于产卵期内, 并高于扩繁 2 周 (14 d) 的样品数量; AM141 线虫从孵化到产卵的时间约为 8~9 d, 若使线虫繁育至第 3 代, 需扩繁天数达到 24 d; SSM264 线虫发育至产卵期的时间约为 10~11 d, 若使线虫繁育至第 3 代, 需扩繁天数达到 30 d; TG11 线虫发育至产卵期的时间约为 10~11 d, 若使线虫繁育至第 3 代, 需扩繁天

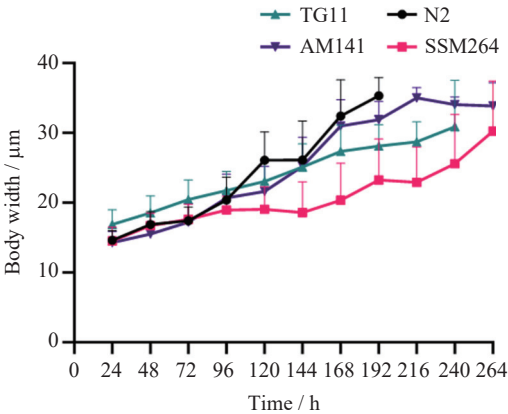


图 1 四种线虫发育过程中每 24 h 体宽变化
Fig. 1 Variation of body width per 24 h during the development of four nematodes

数达到 30 d. 因此扩繁周期确认为 N2 和 AM141 线虫扩繁 3 周, SSM264 和 TG11 扩繁 4 周.

2.3 满足芯片加载要求的线虫发育时间分析

通过 2.1 节对四种线虫幼虫发育的体宽对比, 不同线虫达到相同体宽所需发育时间均不相同. 确定扩繁时间后, 本研究需进一步对四种线虫达到芯片加样的要求体宽的最适发育时间进行确认, 对每个精确时间点线虫体宽分布进行数据统计. 芯片加样要求为线虫体宽均值不超过 29 μm ; 同时 24~29 μm 线虫占比大, 即两部分的数量比值 $N_{24\sim29\mu\text{m}}/N_{>29\mu\text{m}} > 2$. 按最佳扩繁周期同步化各品系线虫的幼虫发育至成虫的体宽分布如图 4 所示 ($N > 100$), 四种线虫在相邻 6 h 的各个时间点内的群体体宽呈正态分布, 并且随着时间点的推移, 群体的峰值逐渐向右移动.

对 N2 线虫群体进行分析, 线虫同步化后各发育时间体宽分布见表 2. 以芯片加样要求 (体宽均值在 24~29 μm 之间, $N_{24\sim29\mu\text{m}}/N_{>29\mu\text{m}} > 2$) 为标准, 分析最佳同步化后取样加载时间. 由表 2 可知, 取样加载时间选择 104 h 或 110 h 均可, 为芯片加样留存充足的时间可选用同步化后发育 104 h 的 N2 样品.

对 AM141 线虫群体进行分析, 线虫同步化后各发育时间体宽分布见表 3. 以芯片加样要求为标准可知, 取样加载时间为 96 h 的, 在该群体中无体宽 > 29 μm 的样本, 且 24~29 μm 样本比例较多.

对 SSM264 线虫群体进行分析, 线虫同步化后各发育时间体宽分布见表 4. 以芯片加样要求为标准可

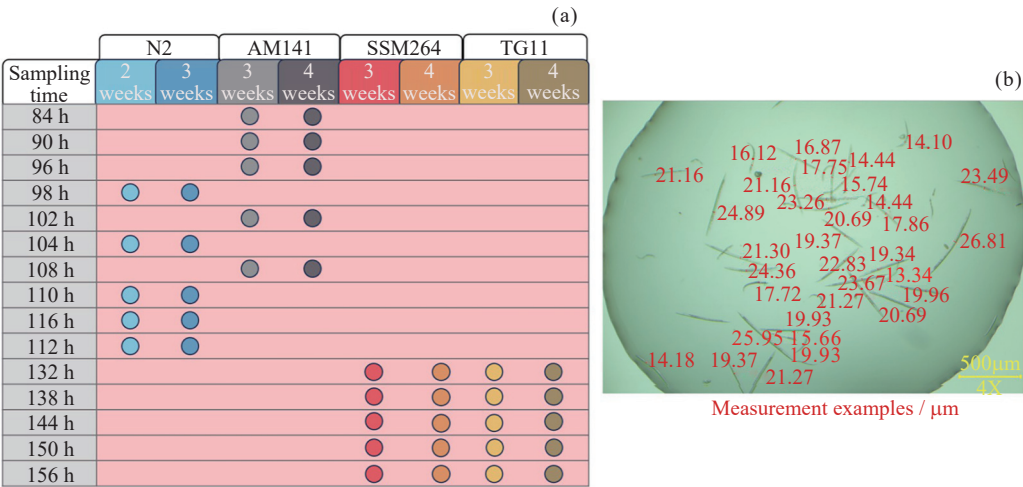


图 2 各品系不同扩繁周期取样时间 (a) 与测量示例 (b)
Fig. 2 Sampling time points (a) and measurement examples (b) for each strain after different expansion cycles

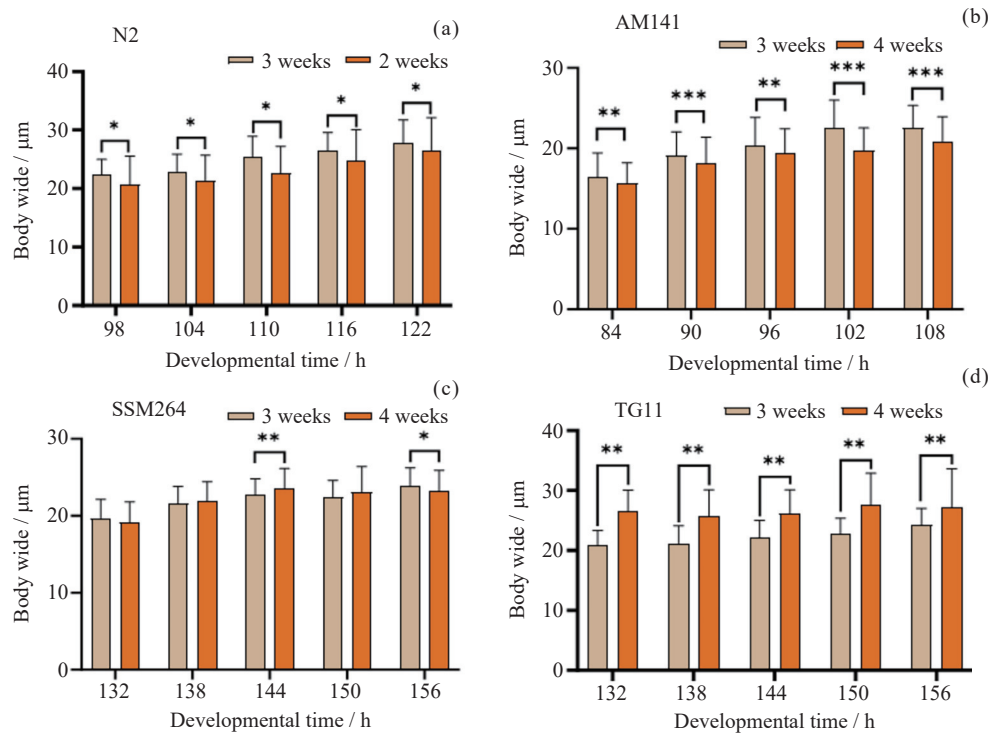


图3 四种线虫体宽对比

Fig. 3 Comparison of body widths of the four nematodes

知, 取样加载时间为 144 h.

对 TG11 线虫群体进行分析, 线虫同步化后各发育时间体宽分布见表 5. 以芯片加样要求为标准可知, 取样加载时间也为 144 h.

2.4 空间搭载线虫芯片验证

根据 2.2 和 2.3 节的实验结果, 确认了符合芯片加样要求的线虫最佳扩繁周期和同步化后发育时间. 在神舟十六任务中, 使用验证芯片完成了 4 种液体线虫加样验证. 在芯片加样之前, 需对线虫群体的体宽分布进行评估, 体宽 24~29 μm 与体宽 >29 μm 的线虫数量比值须 >2. 表 6 给出了验证芯片加样时线虫群体状态, 可以看出, 4 组线虫均符合芯片加样要求.

在芯片加载过程中, 线虫所处的实验环境温度为 20℃, 加样时间约为 12 h, 随后在从实验室转移至飞船的过程中环境温度为 12℃, 目的是减缓线虫发育, 以保证样品在发射前处于 L4 期. 装船前对芯片内线虫状态进行检验, 结果列于表 7. 加载线虫存活率均为 100% (见图 5), 其体宽分布均匀, 体宽变异系数均低于 7%, 证明加入芯片的样本群体均一性良好.

研究建立的液体培养线虫制备方法, 针对微流控芯片加载对线虫体宽的精准需求, 系统性整合了扩繁

代际控制及各发育时间体宽监测分析的流程. 传统体宽测量多为咽泵位^[8], 而线虫腹部与生殖腺发育直接与线虫身体最宽处相关, 本文明确了芯片加载前线虫体宽测量标准, 即从腹部垂直体壁测量距离. 不同品系线虫发育过程中体宽分布存在差异, 常规体宽测量以 24 h 为间隔^[9], 无法捕捉 L3~L4 期关键发育跃变 (16 h 内体宽变化达 4 μm), 导致误差范围达 ±5 μm (见图 1). 本研究以 6 h 为间隔采样 (见图 2), 精准锁定线虫进入 L4 期的时间窗 (例如 N2 在 104 h 体宽为 25.41 μm), 将误差降至 ±2 μm (见表 2~5), 显著降低了由于体宽过大而增加芯片通道堵塞的风险.

本文选用不同的线虫品系包括野生型、P53 通路介导细胞凋亡关键分子 CEP-1 荧光品系、DNA 损伤修复关键基因 RAD-51 荧光品系和肌球蛋白重链 UNC-54 荧光品系, 以深入分析空间辐射/微重力的响应敏感度. 常规扩繁周期和同步化裂解时间多针对野生型线虫, 而荧光标记品系或因代谢提前或延迟需单独分别确认. 分析可知, N2 和 AM141 线虫需扩繁 3 周后取样, 而 SSM264 和 TG11 线虫需扩繁 4 周后取样. 同步化碱性裂解时间中, N2 约 3 min, AM141 约 4 min, SSM264 约 3 min, TG11 约 4 min.

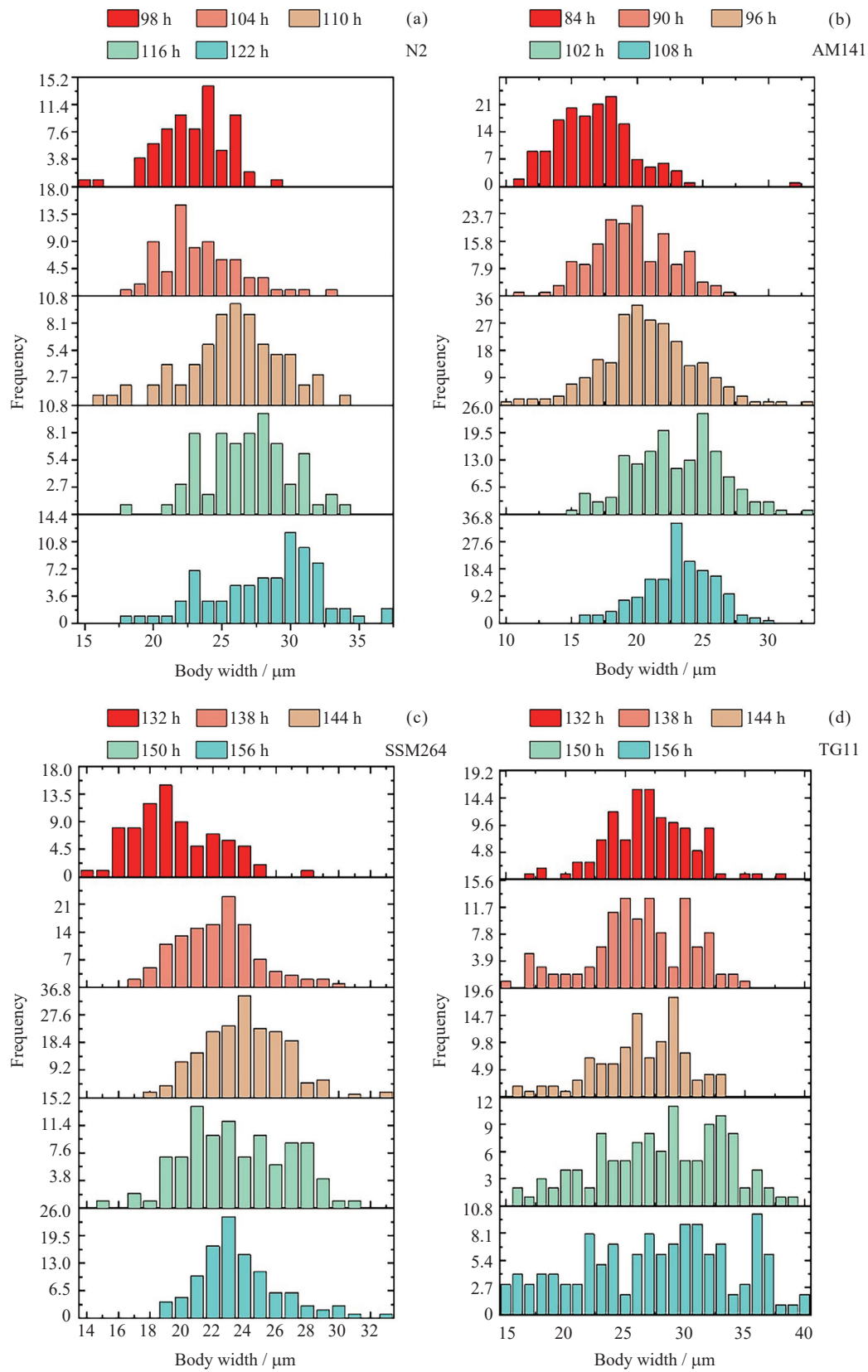


图 4 四种线虫体宽分布
Fig. 4 Width distributions of four nematodes

表 2 N2 线虫同步化后各发育时间体宽分布

Table 2 Width distribution of N2 after synchronization

同步化后 发育时间/h	均值/ μm	24~29 μm 占比/(%)	$N_{24\sim 29\mu\text{m}}/$ $N_{>29\mu\text{m}}$
98	22.42	25.71	∞
104	22.93	27.14	6.33
110	25.41	54.17	3.55
116	26.41	58.82	3.08
122	27.72	31.65	0.68

表 3 AM141 线虫同步化后各发育时间体宽分布

Table 3 Width distribution of AM141 after synchronization

同步化后 发育时间/h	均值/ μm	24~29 μm 占比/(%)	$N_{24\sim 29\mu\text{m}}/$ $N_{>29\mu\text{m}}$
84	16.36	0.00	∞
90	19.12	5.65	∞
96	20.26	8.28	∞
102	22.55	5.88	∞
108	22.57	17.02	40.00

表 4 SSM264 线虫同步化后各发育时间体宽分布

Table 4 Width distribution of SSM264 after synchronization

同步化后 发育时间/h	均值/ μm	24~29 μm 占比/(%)	$N_{24\sim 29\mu\text{m}}/$ $N_{>29\mu\text{m}}$
132	19.13	3.75	∞
138	21.84	15.00	18.00
144	23.51	39.27	25.00
150	23.05	37.62	19.00
156	23.20	25.93	5.60

研究提出的覆盖了线虫“扩繁—同步化—体宽控制—芯片加载”的制备流程,已成功支持神舟十六号科学实验任务中芯片的加载,提供了高均一性的样本,通过依据各线虫品系的发育参数和筛选标准(例如两部分的数量比值 $N_{24\sim 29\mu\text{m}}/N_{>29\mu\text{m}}$),确保了加样结果的可重复性.该制备与分析流程也可适配其他微流控芯片搭载的模式生物.

未来可结合微流控自动分选技术与 AI 图像分析,有望实现体宽动态监测与自适应加载,进一步减

表 5 TG11 线虫同步化后各发育时间体宽分布

Table 5 Width distribution of TG11 after synchronization

同步化后 发育时间/h	均值/ μm	24~29 μm 占比/(%)	$N_{24\sim 29\mu\text{m}}/$ $N_{>29\mu\text{m}}$
132	26.48	51.72	2.22
138	25.76	41.23	1.47
144	26.17	54.63	2.46
150	27.54	40.87	1.27
156	27.18	22.48	0.52

表 6 验证芯片加样时线虫群体状态

Table 6 Population status of the nematodes at the chip loading time

品种	发育 时间/h	线虫 总数	24~29 μm 线虫总数	24~29 μm 线虫占比/ (%)	$N_{24\sim 29\mu\text{m}}/$ $N_{>29\mu\text{m}}$
N2	104	93860	3677	3.91	∞
AM141	96	51730	11639	22.50	∞
SSM264	144	47997	19047	39.68	6.25
TG11	144	31465	7404	23.53	4.00

表 7 发射前线虫状态检验

Table 7 Nematodes status before launch

品种	平均体 宽/ μm	变异 系数/(%)	线虫个数	存活率/ (%)
N2	28.02	6.1	36	100
AM141	27.76	5.4	40	100
SSM264	27.85	5.2	33	100
TG11	27.71	5.4	35	100

少人工干预.如需使用不同结构的芯片加样,也可根据通道结构的要求选择不同的发育时间.待 SSM264 和 TG11 的在轨发育数据下传后,可以研究 DNA 损伤响应过程的动态变化,特别是观察与人类基因高度同源的与 DNA 修复相关的基因在生长发育过程中的表达,不但可以揭示损伤修复和凋亡的生物学效应机制,也可以发现修复相关的靶分子,为进一步防护提供支持.

3 结论

研究基于中国空间站微流控芯片培养线虫的需

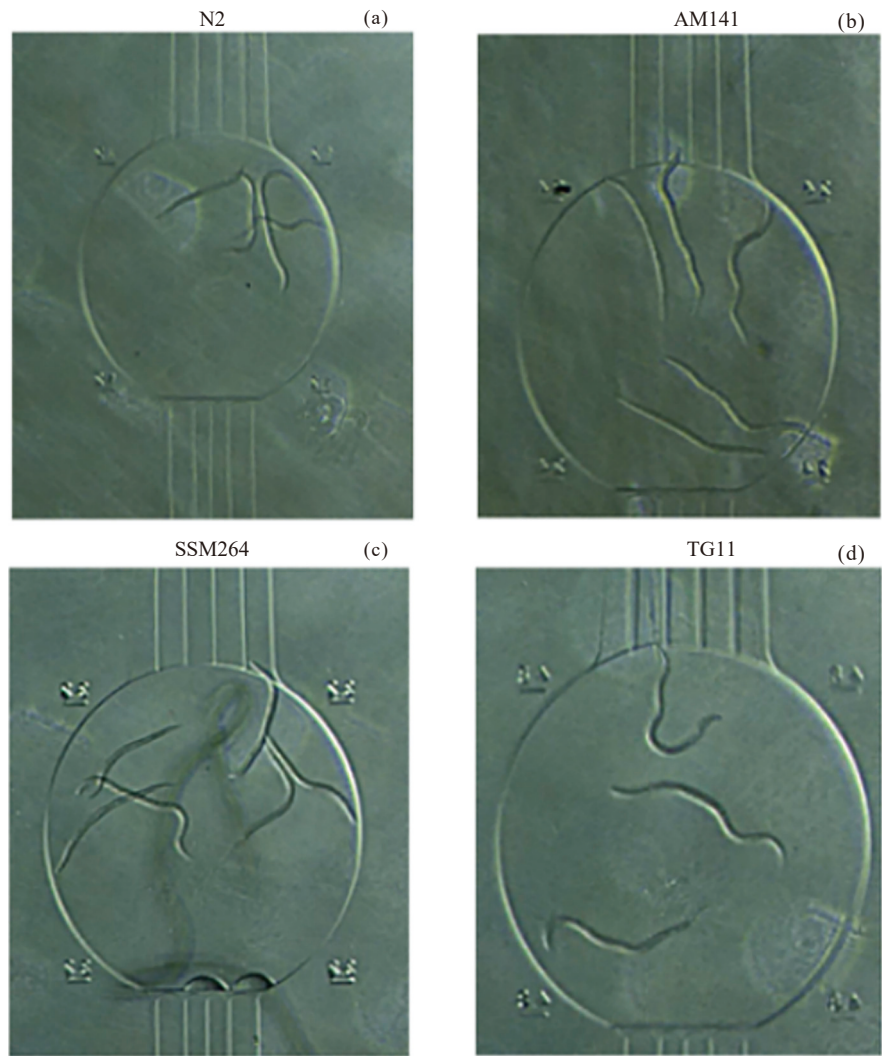


图 5 芯片内线虫状态

Fig. 5 Nematode status in the chip chambers

求, 筛选代表性的荧光标记线虫, 采用灼烧法对不同品系线虫不同扩繁时间、不同幼虫发育时间点进行体腹宽度测量, 确定满足芯片加样需求的适宜扩繁周期和最适发育时间点, 建立线虫“扩繁—同步化—体宽控制—芯片加载”的全流程, 提高样品状态的均一性, 弥补了微流控芯片加载时样品同步性不足的问题.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突.

参考文献

[1] RUTTER L, BARKER R, BEZDAN D, *et al.* A new era for space life science: International Standards for Space Omics Processing[J]. *Patterns*, 2020, **1**(9): 100148

[2] NIKONOROVA I A, DESRANLEAU E, JACOBS K C, *et al.* Polycystins recruit cargo to distinct ciliary extracellu-

lar vesicle subtypes in *C. elegans*[J]. *Nature Communications*, 2025, **16**(1): 2899

[3] ZHU S H, ZHANG R S, YAO L X, *et al.* De novo NAD⁺ synthesis is ineffective for NAD⁺ supply in axenically cultured *Caenorhabditis elegans*[J]. *Communications Biology*, 2025, **8**(1): 545

[4] QUACH K T, HUGHES G A, CHALASANI S H. Interdependence between SEB-3 receptor and NLP-49 peptides shifts across predator-induced defensive behavioral modes in *Caenorhabditis elegans*[J]. *eLife*, 2025, **13**: RP98262

[5] MARKAKI M, TAVERNARAKIS N. *Caenorhabditis elegans* as a model system for human diseases[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, **63**: 118-125

[6] GARDEA E A, DENICOLA D, FREITAS S, *et al.* Long-term culture and monitoring of isolated *Caenorhabditis elegans* on solid media in multi-well devices[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2022(190): e64681

- [7] LEV I, BRIL R, LIU Y N, *et al.* Inter-generational consequences for growing *Caenorhabditis elegans* in liquid[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2019, **374**(1770): 20180125
- [8] SZEWCZYK N J, KOZAK E, CONLEY C A. Chemically defined medium and *Caenorhabditis elegans*[J]. *BMC Biotechnology*, 2003, **3**(1): 19
- [9] ZHANG Pu, WANG Wei, LU Yingyu, *et al.* Study on key parameters of *Caenorhabditis elegans* liquid culture and monitoring[J]. *Manned Spaceflight*, 2020, **26**(3): 284-290 (张普, 王巍, 卢盈宇, 等. 线虫液体培养和监测过程关键参数的实验研究 [J]. *载人航天*, 2020, **26**(3): 284-290)
- [10] SCOTT A, WILLIS C R G, MURATANI M, *et al.* *Caenorhabditis elegans* in microgravity: an omics perspective[J]. *iScience*, 2023, **26**(7): 107189
- [11] SONI P, ANUPOM T, LESANPEZESHKI L, *et al.* Microfluidics-integrated spaceflight hardware for measuring muscle strength of *Caenorhabditis elegans* on the International Space Station[J]. *NPJ Microgravity*, 2022, **8**(1): 50
- [12] NELSON G A, SCHUBERT W W, KAZARIANS G A, *et al.* Radiation effects in nematodes: results from IML-1 experiments[J]. *Advances in Space Research*, 1994, **14**(10): 87-91
- [13] GAO Y, XU D, ZHAO L, *et al.* The DNA damage response of *C. elegans* affected by gravity sensing and radio-sensitivity during the Shenzhou-8 spaceflight[J]. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2017, **795**: 15-26
- [14] QIAO L, LUO S, LIU Y D, *et al.* Reproductive and locomotory capacities of *Caenorhabditis elegans* were not affected by simulated variable gravities and spaceflight during the Shenzhou-8 mission[J]. *Astrobiology*, 2013, **13**(7): 617-625
- [15] LUO Yajing. Regulatory Mechanism of Space Microgravity on Muscle Movement of *C. Elegans*[D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2018 (罗雅婧. 空间微重力对线虫肌肉运动调控机制的分析 [D]. 大连: 大连海事大学, 2018)
- [16] YANG Q Q, ZHONG R T, CHANG W B, *et al.* Worm-Space μ -TAS enabling automated on-chip multi-strain culturing and multi-function imaging of *Caenorhabditis elegans* at the single-worm level on the China Space Station[J]. *Lab on a Chip*, 2024, **24**(14): 3388-3402
- [17] HIGASHIBATA A, SZEWCZYK N J, CONLEY C A, *et al.* Decreased expression of myogenic transcription factors and myosin heavy chains in *Caenorhabditis elegans* muscles developed during spaceflight[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2006, **209**(16): 3209-3218
- [18] HIGASHITANI A, HIGASHIBATA A, SASAGAWA Y, *et al.* Checkpoint and physiological apoptosis in germ cells proceeds normally in spaceflown *Caenorhabditis elegans*[J]. *Apoptosis*, 2005, **10**(5): 949-954
- [19] HARADA S, HASHIZUME T, NEMOTO K, *et al.* Fluid dynamics alter *Caenorhabditis elegans* body length via TGF- β /DBL-1 neuromuscular signaling[J]. *npj Microgravity*, 2016, **2**(1): 16006
- [20] THEN S M, JUSOH N F, HARUN R, *et al.* Multi-generational culture of *C. elegans* on a long-term space flight revealed changes in expression of genes involved in longevity, DNA repair, and locomotion[J]. *Asia-Pacific Journal of Molecular Medicine*, 2014, **4**(2): 1
- [21] HARTMAN P S, HLAVACEK A, WILDE H, *et al.* A comparison of mutations induced by accelerated iron particles versus those induced by low earth orbit space radiation in the *FEM-3* gene of *Caenorhabditis elegans*[J]. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2001, **474**(1/2): 47-55
- [22] PAN P, QIN Z, SUN W, *et al.* A spiral microfluidic device for rapid sorting, trapping, and long-term live imaging of *Caenorhabditis elegans* embryos[J]. *Microsystems & Nano-engineering*, 2023, **9**: 45
- [23] ZHANG Pu. The Study of Experimental Method for *C. elegans* Space in-Orbit Culture[D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2020 (张普. 秀丽隐杆线虫空间在轨培养实验方法的研究 [D]. 大连: 大连海事大学, 2020)
- [24] WANG Wei, YUAN Shuqi, QIU Hui, *et al.* Research on key parameters of fluorescence observation in *Caenorhabditis Elegans* on-orbit liquid cultivation[J]. *Manned Spaceflight*, 2022, **28**(5): 637-645 (王巍, 元姝棋, 邱辉, 等. 线虫在轨液体培养荧光观测关键参数研究 [J]. *载人航天*, 2022, **28**(5): 637-645)
- [25] LU Yingyu. Establishment of On-orbit Cultivation and Monitoring Methods for Fluorescently Labeled Nematodes in Space Station[D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2021 (卢盈宇. 空间站荧光标记线虫在轨培养及监测方法建立 [D]. 大连: 大连海事大学, 2021)
- [26] WIGHTMAN B, CORSI A K, CHALFIE M. A transparent window into biology: a primer on *Caenorhabditis elegans*[J]. *Genetics*, 2015, **200**(2): 387-407
- [27] YU Y J, HUA X, CHEN H B, *et al.* Tetrachlorobisphenol a mediates reproductive toxicity in *Caenorhabditis elegans* via DNA damage-induced apoptosis[J]. *Chemosphere*, 2022, **300**: 134588
- [28] LI C Y, WANG Z, SONG B B, *et al.* Arsenolipid-induced reproductive toxicity in *Caenorhabditis elegans*: elucidating the mechanism through the *HUS-1-CEP-1-EGL-1-CED-9-CED-4-CED-3* signaling pathway[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2025, **200**: 115340
- [29] HUA X, FENG X, HUA Y S, *et al.* Paeoniflorin attenuates polystyrene nanoparticle-induced reduction in reproductive capacity and increase in germline apoptosis through suppressing DNA damage checkpoints in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, **871**: 162189
- [30] LIU Z Y, BIAN Q, WANG D Y. Exposure to 6-PPD quinone causes ferroptosis activation associated with induc-

- tion of reproductive toxicity in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, **471**: 134356
- [31] ODIBA A S, EZECHUKWU C S, LIAO G Y, *et al*. SMC-5/6 complex subunit NSE-1 plays a crucial role in meiosis and DNA repair in *Caenorhabditis elegans*[J]. *DNA Repair*, 2024, **137**: 103669
- [32] GODTHI A, MIN S, DAS S, *et al*. Neuronal IL-17 controls *Caenorhabditis elegans* developmental diapause through CEP-1/p53[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2024, **121**(12): e2315248121
- [33] SHAO Y T, LI Y H, WANG D Y. Polylactic acid microplastics cause transgenerational reproductive toxicity associated with activation of insulin and hedgehog ligands in *C. elegans*[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, **942**: 173746
- [34] REZA R N, SERRA N D, DETWILER A C, *et al*. Noncanonical necrosis in 2 different cell types in a *Caenorhabditis elegans* NAD⁺ salvage pathway mutant[J]. *G3 Genes Genomes Genetics*, 2022, **12**(4): jkac033
- [35] WU Z, CARDONA E A, COHN J A, *et al*. Nonapoptotic role of EGL-1 in exopher production and neuronal health in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2025, **122**(2): e2407909122

作者简介



元姝棋 女, 1996 年 10 月出生于天津市, 大连海事大学环境科学与工程学院环境科学与工程专业博士生. 主要研究方向为空间辐射生物学, 具体研究内容为空间辐射对线虫 DNA 损伤修复的作用机制.

E-mail: 931794600@qq.com



王 巍 (通信作者) 女, 1981 年 10 月出生, 辽宁人, 现为大连海事大学环境科学与工程学院副教授, 硕士生导师. 主要研究方向为空间辐射生物发育及微重力协调效应研究、空间疾病预测等.

E-mail: wangweidlm@dlmu.edu.cn



孙野青 (通信作者) 女, 1959 年 5 月出生, 黑龙江人, 现为大连海事大学环境科学与工程学院教授, 博士生导师, 学科带头人. 主要研究方向为空间生物学效应, 空间辐射剂量评估, 小型自动化空间实验单元设计和研制等.

E-mail: yqsun@dlmu.edu.cn