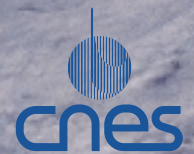


ICE-FIRST

OF WORMS AND MEN
DES VERS ET DES HOMMES



CENTRE NATIONAL D'ETUDES SPATIALES

OF WORMS AND MEN

As we move into the 21st century, travelling, working and living in space is now a reality.

Space stations have been in orbit around the Earth for 20 years providing a space platform for busy astronauts performing a range of activities from technical operations to science experiments.

With increasing numbers of people spending longer time in space,

it becomes more important to understand fully and provide countermeasures to the effects of the space environment on the human body. In addition, space provides a unique laboratory to study how life adapts and functions, from the cellular level to that of the whole organism, in the absence of the ubiquitous gravity.

It is known that the small round

worm, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) can mate, reproduce and develop during space flight (G. Nelson). How these fundamental processes in space differ from their terrestrial counterparts is the global question being addressed in the first International *C. elegans* Experiment (ICE-first). With the support of the European Space Agency and the Space Research

Organisation of the Netherlands, the French Space Agency has assembled a team of scientists from France, Canada, Japan and the United States of America to address this question. The international team working together to conduct science reflects the international, co-operative spirit of the International Space Station.



INTERNATIONAL PARTICIPATION

This experiment was made possible because of the good will of the Space Agencies and the reactivity of the scientists.

The organisation gathering the main Space agencies involved in Life science research on the International Space station, organized a symposium on the use of model organisms such as *C. elegans* to take in account the scarcity of the space mission, the limitation in the upload and download mass and to

foster the scientific return of space experiments.

Even this model flew already several times, most of the studies were focused on radiobiology effects. To standardize the use of such a model, a new methodology has to be developed and the use of the up to date analytical methods, will dramatically enhance the science return of this kind of experiment. CNES identified this model as the only one able to fit with the cons-

traits of the DELTA mission. Thus CNES developed this international cooperation with CSA, JAXA and NASA with the support of ESA and SRON. This cooperation was the only way to develop this supporting experiment in less than one year and the range of investigations which will be done demonstrate already the value of this model.

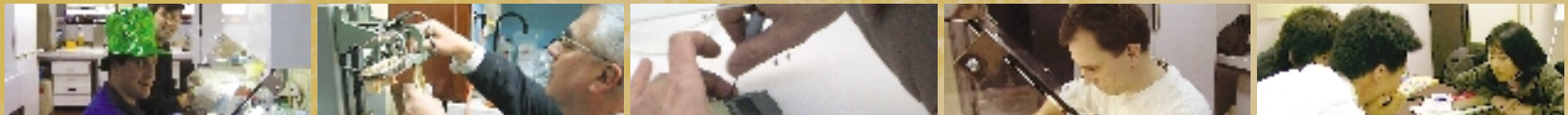
DES VERS ET DES HOMMES

En ce début de XIX^e siècle, les voyages, le travail et la vie dans l'espace sont devenus réalité. Depuis vingt ans, les stations orbitales fournissent une plateforme aux astronautes qui exercent toute une gamme d'activités allant d'opérations techniques diverses à des expériences scientifiques. Étant donné que le nombre et la durée des séjours dans l'espace augmentent, il est de plus en plus nécessaire de bien com-

prendre les effets de l'espace sur le corps humain et de prévoir des contre-mesures afin de limiter l'impact de ces effets. L'espace est par ailleurs un laboratoire unique pour l'étude des mécanismes d'adaptation et les fonctions biologiques en micropesanteur, que ce soit au niveau de la cellule ou d'un organisme entier. On sait que le petit ver rond appelé *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)

peut s'accoupler, se reproduire et se développer durant un vol spatial (G. Nelson). Ces processus sont-ils différents dans l'espace et sur Terre? C'est la question à laquelle tente de répondre la première expérience spatiale internationale menée sur les *C. elegans* (ICE-first). Avec l'appui de l'Agence spatiale européenne et du SRON, l'Organisme de recherche spatiale des Pays-Bas, le CNES a constitué une équipe de

scientifiques composée de chercheurs français, canadiens, japonais, et américains afin de répondre à cette question. L'effort concerté de cette équipe internationale de chercheurs témoigne de l'esprit de collaboration internationale qui anime le projet de Station spatiale internationale.



PARTICIPATION INTERNATIONALE

C'est grâce à la bonne volonté des agences spatiales et la réactivité des scientifiques que cette expérience a pu être conçue en laps de temps très restreint.

À l'origine de ce projet : un symposium scientifique au cours duquel les principales agences spatiales impliquées dans la recherche sur les sciences de la vie à bord de la Station spatiale internationale ont souligné l'intérêt que pourrait présenter l'utilisation d'organismes modèles tels que les *C. elegans*. La limitation du

poids des expériences montantes et descendantes ainsi que la rareté des opportunités de vol ont rendu nécessaire cette réflexion afin d'améliorer la moisson de résultats scientifiques. Le *C. elegans* a déjà volé à plusieurs reprises mais la plupart des expériences concernaient la radiobiologie. La mise au point de nouvelles technologies et l'utilisation de méthodes d'analyse moderne peuvent donc considérablement améliorer le retour scientifique de ce genre d'expérimentation.

Le CNES est à l'origine de cette coopération internationale impliquant les agences spatiales américaine, canadienne et japonaise, ainsi que l'Agence spatiale européenne et l'organisme de recherche spatiale des Pays-Bas, le SRON. Sans ce parti pris international une telle expérience de démonstration aurait difficilement pu être montée en moins d'un an. Le large éventail de participations scientifiques suscitées par ICE-first démontre d'ores et déjà la pertinence du modèle *C. elegans*.



Andreas Kuipers.

A MODEL

Caenorhabditis elegans: so different but so close

Caenorhabditis *elegans* is a round worm or nematode (Phylum Nematoda) measuring around 1mm and is found naturally in soil. Its body is composed of 959 cells and includes complete reproductive, nervous, muscular, and digestive systems. Its life span is about 2-3 weeks although in the liquid medium described here at 25°, the life cycle is around 5 days. The entire genome has been sequenced and consists of 97 million base pairs (compared to the 3,000 million found in the human genome) and around 20,000 genes (compared to the 30,000 that humans have) and an entire library of well-characterized mutants are available. *C. elegans* has been used as a model system for various medical pathologies and was the subject of the 2002 Nobel Prize in Medicine or Physiology because the process of programmed cell death or apoptosis was first discovered while studying *C. elegans* development.

Around the world, scientists are working full time investigating the biology of *C. elegans* because while it is a relatively simple organism, it nonetheless shares many essential biological characteristics with

humans. By understanding fundamental processes in *C. elegans*, we can better understand the human counterparts. The breakdown of these essential functions often results in disease and medical pathologies. Scientists use *C. elegans* to study embryogenesis, morphogenesis, development, nerve function, behavior and ageing. *C. elegans* reproduces quickly, is small, relatively easy to manipulate and well-characterized at the molecular and cellular level. Thus, it provides the researcher with the ideal compromise between complexity and flexibility.

Some specificities

C. elegans displays two genders, an hermaphrodite able of self fertilization. This allows the fast spreading of the mutations.

The other particularity is the life cycle which lasts few days depending on the temperature and in such a short period of time *C. elegans* has for larval stages before becoming an adult able to reproduce.

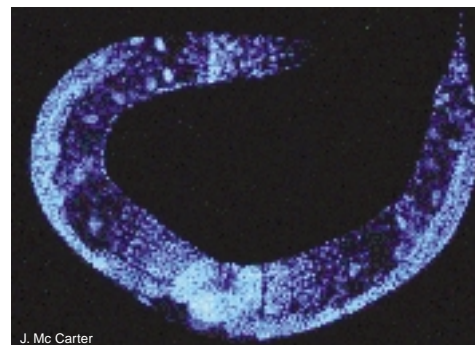
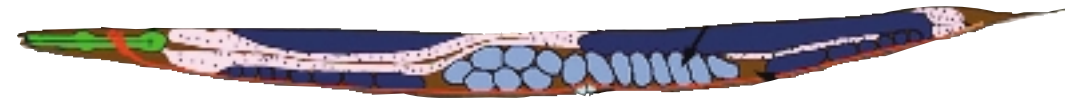
The worm: the hermaphrodite is able of self fertilisation.

The anatomy of the worm is detailed at www.wormatlas.org

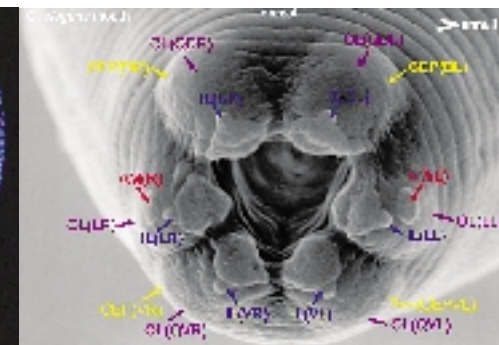
L'hermaphrodite est capable de s'auto-féconder.
Pour en savoir plus sur l'anatomie du ver : www.wormatlas.org



J. Berger & R. Sommer - Max Planck Institute
Y. Shibata & S. Takagi

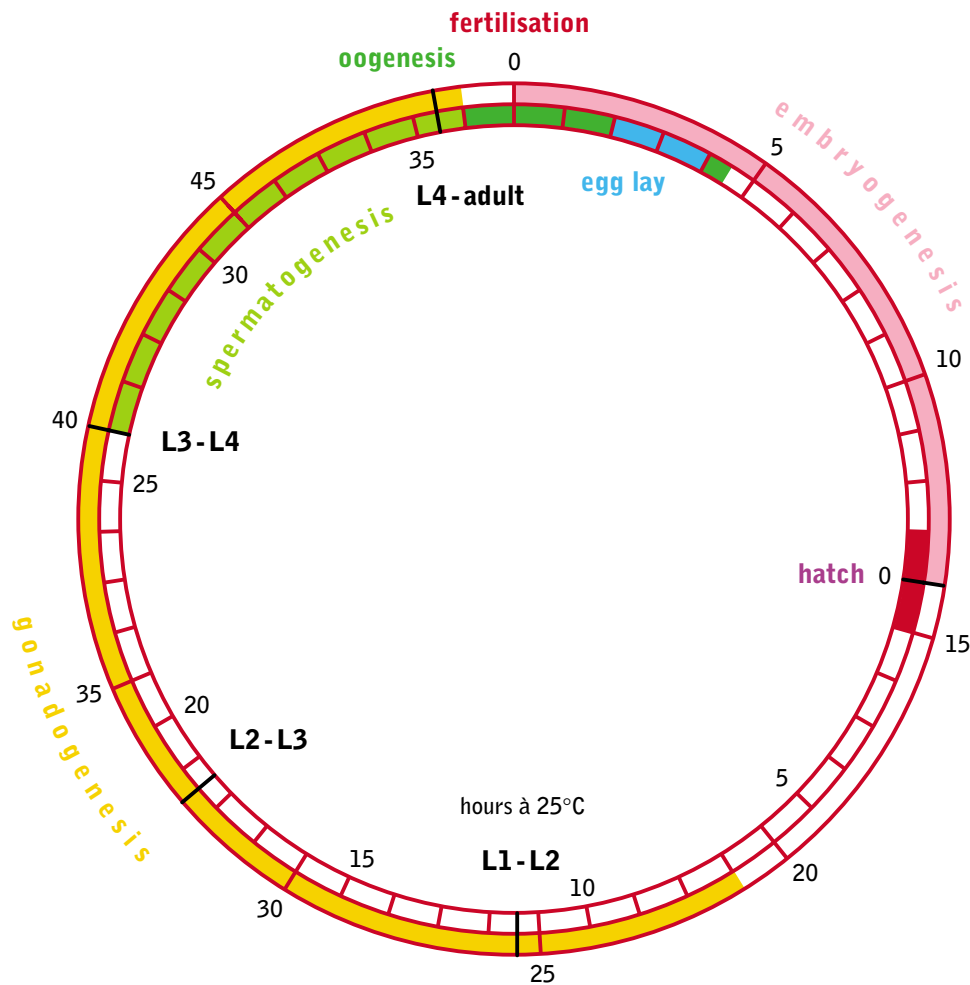


J. Mc Carter



UN MODÈLE AU TOP

Caenorhabditis elegans: si différent et si proche de nous



The life cycle of *C. elegans*.
Le cycle de vie du *C. elegans*.

Le *Caenorhabditis elegans* est un ver arrondi également appelé nématode (Phylum Nematoda). Mesurant 1 millimètre, il est naturellement présent dans le sol. Il se compose de 959 cellules et est doté d'un appareil reproducteur et digestif ainsi que d'un système nerveux et musculaire complets. Sa durée de vie est estimée à trois semaines, mais dans le milieu liquide à 25 °C utilisé pour ICE-first, il peut vivre environ cinq jours. Le génome complet de *C. elegans* a été séquencé et compte 97 millions de paires de bases (comparer aux 3 000 millions de paires du génome humain) et quelque 20 000 gènes (30 000 chez l'Homme). De plus, une génothèque complète de mutants bien caractérisés est disponible. *C. elegans* a été utilisé comme système modèle pour l'étude de plusieurs maladies. Ce petit ver a d'ailleurs valu le Prix Nobel de médecine ou de physiologie à trois chercheurs britannique et américain en 2002. Sydney Brenner, Hrobert Horvitz et John E. Sulston ont découvert le processus de mort cellulaire programmée, appelé apoptose, grâce à l'étude des *C. elegans*. Bien qu'il s'agisse d'un organisme relativement simple, *C. elegans* a de

nombreux points communs avec l'Homme. C'est pourquoi, dans le monde entier, de nombreux chercheurs consacrent la totalité de leurs travaux à ce petit ver, que ce soit pour étudier l'embryogenèse, la morphogenèse, certaines fonctions neurologiques ou encore le comportement et le vieillissement de l'être humain. Le *C. elegans* est un organisme de petite taille se reproduisant rapidement, relativement facile à manipuler et dont on connaît assez précisément ses caractéristiques moléculaires et cellulaires. Il offre donc aux chercheurs un compromis idéal entre complexité et souplesse d'utilisation.

Quelques spécificités

Il existe deux genres de *C. elegans* : un mâle et un hermaphrodite capable de s'autoféconder. Cette particularité permet de développer des mutations génétiques en un laps de temps très bref. La seconde spécificité concerne son cycle de vie. Selon la température du milieu celui-ci dure quelques jours pendant lesquels *C. elegans* traverse quatre phases larvaires avant d'atteindre l'âge adulte et d'être capable de se reproduire.



Something more than an incubator

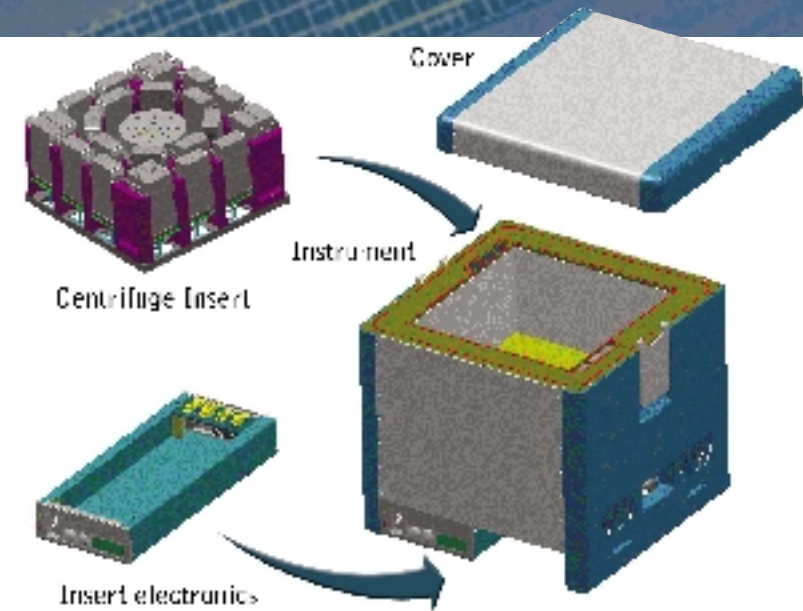
Kubik (cube in Russian) is a new instrument developed by ESA to perform biological experiment in the present flight conditions and waiting for the big facilities which will be operated by the time of the completion of the ISS.

This modular incubator is a cube with an edge of 390 mm, able to operate either in the Soyuz spacecraft as well as onboard the ISS. It is able to ensure a temperature from 06°C to 37°C by 1°C increment. The internal chamber is designed to welcome various inserts. In this DELTA mission, Two Kubiks will be uploaded: Kubik Amber with an insert with a microgravity plate and a centrifuge and Kubik Topaz with only a microgravity plate. In both instruments, the inserts are designed to hold a kind of standard experiment container: the biorack Experiment Container type 1 (EC-1). In the present design, Kubik Amber can hold with the centrifuge insert 24 EC-1 (16 in μ g and 8 at 1 g) and Kubik Topaz up to 35-40 EC-1.

The EC-1 is an aluminium box 90 x 58 x 24 mm which is able to handle a large variety of experimental units. They have been in use for space biology since about 20 years. Now some are even larger, some are with mechanical interfaces, some other are with an electric interface. These units are very versatile and easy to use. For ICE-first we will use two types of insert.

The vented EC-1 which allows the air exchange between the environment and the experiment was developed by Professor Eberhard Horn from Ulm Germany who kindly lend some of them to the project. These EC-1V will be filled up of culture bags from 2.5 to 5 ml each with the CeMM and the samples. Each EC-1V can hold up to 40 ml.

The culture chamber Andromeda like is an insert completely tight with a culture chamber of 10 ml communicating with an air reservoir of about 17 ml. Using a screw it is possible to activate a capsule containing formaldehyde and thus to stop the biological process and to retrieve a sample "fixed" in flight, ready to be studied while on the earth.



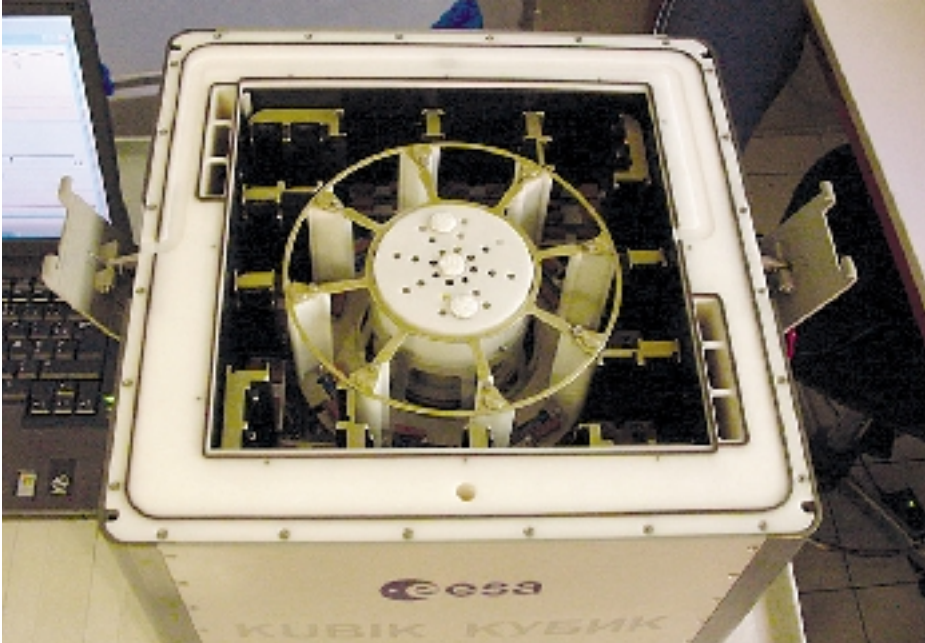
Kubik, a modular concept.
Kubik, un concept modulaire.

Kubik Amber and Kubik Topaz ready for flight.
Les containers Kubik Ambre et Kubik Topaz prêts pour le vol.



K U B I K

Plus qu'un simple incubateur

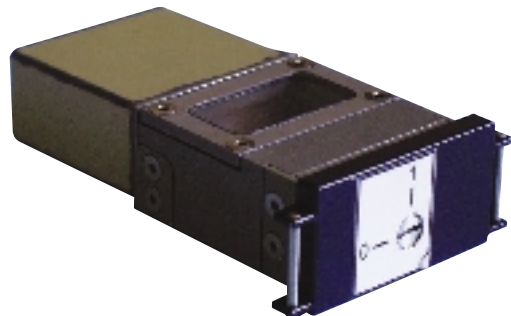


Kubik: view of the insert with the centrifuge in the qualification model.
Kubik : vue de l'insert avec la centrifugeuse dans le modèle de qualification.



A vented EC-1, you can see the holes drilled and protected by a semipermeable membrane of Goretex™.
L'EC-1 aéré percé d'orifices et protégé par une membrane semi-perméable de Goretex™.

The Culture Chamber Andromeda like (CCA) and the air reservoir.
La Chambre de Culture de type Andromède (CCA) avec son réservoir d'air.



Il est possible d'activer cet incubateur de 390 millimètres de côté dans le vaisseau Soyouz ainsi que dans l'ISS. Sa température peut être ajustée en fonction des besoins de l'expérience entre 6°C et 37°C avec une précision de 1°C. La chambre interne thermostatique peut accueillir différents inserts. Au cours de la mission Delta, deux instruments Kubik seront lancés : Kubik Ambre, comportant un insert composé d'un plateau "micropesanteur" et d'une centrifugeuse, et Kubik Topaze équipé du seul plateau "micropesanteur". Dans les deux instruments, les inserts sont conçus pour accueillir des cassettes expérimentales de type 1 (EC-1) conçue pour "Biorack". Dans sa configuration actuelle, Kubik Ambre peut recevoir vingt-quatre EC-1 : seize en micropesanteur et huit sur la centrifugeuse). Kubik Topaze peut en contenir de 35 à 40.

La cassette expérimentale de type 1 (EC-1) est une boîte d'aluminium anodisé (90 x 58 x 24 mm) pouvant contenir une grande variété d'unités expérimentales. Ce type d'instrument est utilisé depuis une vingtaine d'années. De nouvelles cassettes ont été fabriquées, certaines offrant un volume supplémentaire, d'autres possédant des connexions mécaniques ou

électriques. Au cours de l'expérience ICE-first, deux types d'EC-1 seront utilisées : l'EC-1 aéré et la Chambre de Culture de type Andromède (CCA). L'EC-1 aéré permet des échanges gazeux entre l'intérieur de la cassette et l'environnement extérieur tout en étant étanche aux liquides.

Ce container a été développé par le Professeur Eberhard Horn de l'université d'Ulme en Allemagne qui le met gracieusement à la disposition du projet ICE-first. Ce premier type de container sera rempli de petits sacs de culture en plastique contenant chacun 2,5 ml ou 5 ml de milieu liquide abritant les nématodes. Chaque EC-1 peut contenir jusqu'à 40 ml d'échantillon.

Quant à la Chambre de Culture de type Andromède (CCA), il s'agit d'une unité expérimentale composée d'une chambre de culture de 10 ml séparée par une membrane semi-perméable d'un réservoir d'air de 17 ml. Cet instrument permet de "fixer" les échantillons en vol, grâce à un simple tournevis. Une capsule libère alors du formaldéhyde dans le milieu, stoppant ainsi les processus biologiques et permettant de récupérer des échantillons prêts à être étudiés de retour sur Terre.

SCIENCE EXPERIMENTS

Radiobiology - Muscle proteins - Cells

Radiobiology

Studies on the genome stability
(Ann Rose, Canada)

It is known that radiation exposure is increased during space flight and that this can damage or mutate organisms (G. Nelson). In fact, radiation is seen as one of the greatest obstacles to human spaceflight. We will take advantage of the array of genetic tools available for *C. elegans* to look at this problem by analysing the distribution of a specific protein, the antigen mdf-2, which is essential for normal cell division. Alterations in the production of this antigen leads to myriad defects including chromosome abnormalities, X-chromosome non-disjunction or loss, problems in gonad development, and embryonic lethality (Kitagawa & Rose, 1999).

Another way to evaluate the biological effect of space radiation is to study the G-tracks which are present in the *C. elegans* genome. There are approximately 395 strings of DNA coding for 18 or more repeating units of the amino acid Glutamine, called glutamine series (G-tracks). One third of these G-tracks occur adjacent to known coding regions. The probability of one stretch of 18 Gs occurring by chance is 1 in 64 billion, thus, it seems unlikely that the presence and location of these strings is random. Ann Rose and her team have shown previously that the protein Dog-1 coded

for by the gene Dog-1 (standing for deletion of G) is required for the maintenance of G-tracks and that in the absence of Dog-1 function deletions occur spontaneously in genes containing G-Tracks. (Cheung et al. 2002). Dog-1 mutants show multiple genetic deletions as well as chromosomal abnormalities.

Ann Rose will compare space-flown normal and Dog-1 mutant strains of worms with comparable worms grown on Earth for alterations in the G-tracks. The hypothesis is that G-tracks play a key role in maintaining genome stability and that the dog-1 mutant could be used as a sensitive assay of genomic damage in response to radiation.

Muscle Proteins

Studies on muscle growth and survival
(Catharine Conley, USA and
Laurent Ségalat, France)

Microgravity has an important impact on muscle physiology and growth. The muscle atrophy experienced by astronauts while in space is well-documented. *C. elegans* has muscles which are analogous to vertebrates including humans. In this study, the focus is on two sets of genes coding for muscle function.

First, we will investigate the localization of Tropomodulin proteins and other contractile proteins of muscle. In mammals, Tropomodulins display

altered expression in response to muscle under- or over-loading. Worms have two Tropomodulin genes, thus the data obtained would provide preliminary results concerning the appropriateness of worms as a model for Tropomodulin involvement in muscle atrophy (Strain CC1). Second, we will analyse the phenotype of *C. elegans* mutant for genes encoding protein involved in muscle survival. One such protein is the Dystrophin, the product of the gene mutated in Duchêne Muscular Dystrophy, an inherited disease in which patients suffer from a progressive muscle necrosis. We will also study the effect of microgravity on other mutations affecting *C. elegans* muscle survival (including MyoD, perlecan, titin). Two mutants will be flown: LS541 and LS761. The effects of microgravity will be analysed by immunocytochemistry and microscopy.

Cells

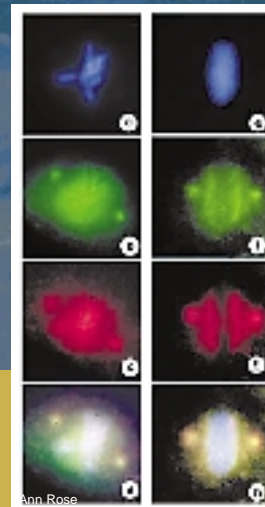
Effect of space flight on cell migration and muscle cell in *C. elegans* development. (Hiroaki Kagawa, Noriaki Ishioka, Japan)

C. elegans has two muscle tissues; pharynx for feeding and body wall muscle for locomotion. They correspond to heart and skeletal muscle of vertebrates. Recently we found that worms with defects in muscle filament genes have defects not only in



The Japanese team preparing the design of the experiment.
L'équipe japonaise prépare un protocole expérimental.

muscle function but also muscle development. Additionally, these mutants have abnormal distal tip cell migration during the worm development. Abnormal cell migration can easily be seen under the microscope. For this experiment, we will compare a normal worm with a thick filament abnormal mutant (*unc-15*) worm, which produces muscle filament but has decreased function and abnormal morphology of distal tip cells.



Studying the mitotic phase.
Étude de la mitose.

Ann Rose

EXPÉRIENCES SCIENTIFIQUES

Radiobiologie - Protéine du muscle - Cellules

Radiobiologie

La stabilité du génome
(Ann Rose, Canada)

On sait que l'exposition aux rayonnements ionisants est accrue au cours des vols spatiaux et que ces rayonnements peuvent être à l'origine de lésions ou de mutations organiques (G. Nelson). Ces rayonnements sont donc l'un des principaux obstacles aux vols habités. Nous exploiterons l'éventail des outils génétiques disponibles pour *C. elegans* afin d'analyser la distribution d'une protéine spécifique, soit l'antigène mdf-2, qui est indispensable à la division cellulaire normale. Lorsque la production de cet antigène est altérée, on peut observer toute une gamme de perturbations, dont plusieurs anomalies chromosomiques, la perte ou la non-disjonction du chromosome X, des anomalies du développement des gonades et une létalité embryonnaire (Kitagawa et Rose, 1999).

Une autre façon d'évaluer les effets biologiques des rayonnements ionisants dans l'espace consiste à étudier les

bandes G qui sont présentes dans le génome de *C. elegans*. Il existe environ 395 fils d'ADN codant au moins 18 unités récurrentes de l'acide aminé glutamine, appelés séries glutamine (bandes G). Le tiers de ces bandes G sont adjacentes aux régions codantes connues. La probabilité qu'une série de 18 G survienne par hasard est de 1 sur 64 milliards. Aussi semble-t-il improbable que la présence et l'emplacement de ces bandes soient des phénomènes aléatoires. Ann Rose et son équipe ont déjà démontré que la protéine Dog-1 codée par le gène Dog-1 (pour "deletion of G" : suppression de G) est indispensable au maintien des bandes G et qu'en l'absence de Dog-1, les suppressions de fonctions surviennent spontanément dans les gènes contenant les bandes G. (Cheung et al. 2002). Les mutants Dog-1 présentent de multiples suppressions génétiques ainsi que des anomalies chromosomiques. Afin de déterminer la présence d'altérations dans les bandes G, Ann Rose comparera les souches Dog-1 normales et mutantes de vers ayant séjourné dans l'espace à celles de vers comparables élevés sur Terre. L'hypothèse des chercheurs est que les bandes G jouent un rôle de premier plan dans le maintien de la stabilité du génome et que le mutant Dog-1 pourrait être utilisé comme épreuve sensible pour la mesure des dommages subis par le génome suite à l'exposition aux rayonnements ionisants.

Protéines du muscle

Étude de la croissance du muscle et de sa survie (Catharine Conley,

USA, et Laurent Ségalat, France)

La microgravité exerce un effet notable sur la physiologie et la croissance des muscles. L'atrophie musculaire observée chez les astronautes au cours d'un séjour dans l'espace est un phénomène bien documenté. *C. elegans* possède des muscles qui sont semblables à ceux des vertébrés, dont les humains, des points de vue de la composition et de l'organisation fondamentale. Cette étude s'intéressera tout particulièrement à deux ensembles de gènes codant la fonction musculaire.

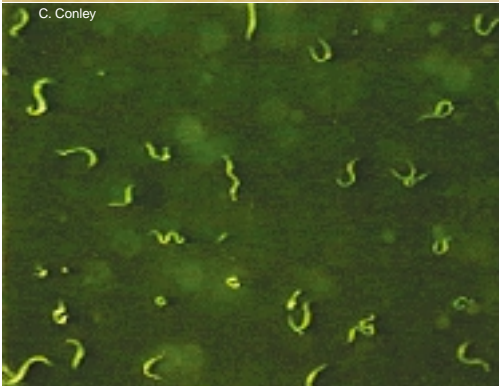
Nous tenterons d'abord d'isoler un type de protéines, les Tropomodulines, avant de nous intéresser à d'autres protéines contractiles des muscles. Chez les mammifères, l'expression des Tropomodulines se trouve altérée en réponse à une charge musculaire insuffisante ou excessive. Les vers comptent deux gènes de Tropomodulines. Par conséquent les résultats d'ICE-first permettront de mieux évaluer l'opportunité d'utiliser *C. elegans* en tant que modèle pour l'étude du rôle des tropomodulines dans l'atrophie musculaire (souche CC1). Deuxièmement, nous analyserons le phénotype de mutants de *C. elegans* pour déterminer la présence de gènes codant des protéines intervenant dans le maintien musculaire. L'une de ces protéines; la dystrophine, est l'une des protéines produites par le gène muté dans la dystrophie musculaire de Duchène, une maladie héréditaire qui se caractérise par une nécrose musculaire progressive. Nous étudierons aussi les effets de la microgravité sur d'autres mutations

affectant le maintien musculaire chez le *C. elegans*, notamment celles des gènes MyoD, du perlecan et de la titine). Dans l'espace, l'expérience portera sur deux mutants : LS541 et LS761. Les effets de la microgravité seront analysés par immunohistochimie et microscopie.

Cellules

Effet du vol spatial sur la migration cellulaire et les cellules du muscle au cours du développement (Hiroaki Kagawa et Noriaki Ishioka, Japon)

C. elegans est doté de deux organes musculaires, le pharynx qui sert à l'alimentation et les muscles des parois du corps utilisés pour la locomotion. Ils correspondent aux muscles cardiaques et squelettiques des vertébrés. Récemment, nous avons découvert qu'une anomalie des gènes des filaments musculaires, présente chez certaines souches, a des répercussions, non seulement sur la fonction musculaire mais aussi sur le développement. En outre, ces anomalies se traduisent aussi par une migration cellulaire anormale durant le développement. Celle-ci est facilement mise en évidence au microscope. Dans cette expérience, nous comparerons la souche standard avec un mutant anormal ayant des filaments épais (unc-15). Les filaments musculaires de ce mutant présentent une fonction perturbée qui modifie la morphologie des cellules de l'extrémité distale.



SCIENCE EXPERIMENTS

Genomic - Development - Apoptosis - Ageing

Genomics

Whole-genome microarray analysis of responses to spaceflight in *C. elegans* (Catharine Conley, Stuart Kim USA)

Spaceflight has been recognized to produce specific physiological responses, including radiation damage repair in response to cosmic radiation, and muscle atrophy in response to microgravity-induced unweighting. A number of additional physiological phenomena have been reported, such as immune dysfunction and altered ageing, that are not well understood at the cellular or molecular level. Microarray analysis is an excellent method of screening for both known and novel genes that show altered expression in response to a particular treatment. The proposed experiment involves performing RNA expression analysis using a microarray designed to probe for nearly every gene in the genome.

Two hypotheses that can be tested directly using microarray data obtained from space flown worms are a) that radiation-repair genes will be up-regulated, and b) that genes involved in muscle specification and contractility will be down-regulated. The analysis does not provide information concerning the specific role of any of these genes, but does confirm that genes we predict to show altered expression based on data from mammals are indeed responsive in worms. Additional hypotheses concerning worm 'immune' function and ageing can also

be tested, by determining the expression of genes known to be involved in those physiological processes. These results would provide excellent preliminary data for proposing follow-up spaceflight experiments to examine specific genes in detail. Whole-genome analyses provide a useful resource to the entire scientific community, as any researcher considering a particular line of study can check microarray data to determine whether their genes of interest respond to treatment.

For this ICE flight, we propose to obtain RNA from worms that have been exposed to spaceflight and returned to earth alive. This experiment will require samples for RNA analyses to be frozen within 1-2 hrs of the return to Earth. RNA will be analysed using the whole-genome microarray developed by Dr Kim's lab in the Stanford Genome Center. Data from the microarray analysis will be made publicly available in the Stanford Microarray Database. The worms will be prepared from a CC1 mixed stage population, kept at 18°C till the launch and after and which will be recovered alive for immediate treatment.

Ageing

Analysis of the ageing related protein aggregation and sarcomere integrity (Shuji & Yuko Honda, Noriaki Ishioka Japan)

To examine the effects of space on protein-folding homeostasis in muscle cells, we will analyze the

aggregation of polyglutamine (polyQ) in body wall muscle cells, using transgenic *C. elegans* (N2; Punc-54) expressing polyQ-YFP (yellow fluorescent protein) and also daf-2 (e1370) lifespan-extension mutant. We will also analyze sarcomere orientation in the muscle of transgenic *C. elegans* (N2; Punc-54) expressing GFP (green fluorescent protein) in body wall muscle cells.

Development

Morphometry of larval *C. elegans* development during spaceflight. (Catharine Conley, Beverly Girten, USA)

Spaceflight is thought to affect mammalian development at specific 'critical periods' during infancy. Although worm cultures have grown successfully during several previous spaceflights, it is not yet known whether spaceflight exerts non-lethal effects on worm development. In liquid CeMM, the media proposed for use in the ICE flight, larvae shed cuticles as they molt and progress to the next developmental stage. The length of the shed cuticles is indicative of the length of the larvae at the time when they molt, and thus can be used as a measure for larval development. For this experiment, we will measure the range of lengths exhibited by shed cuticles in media from cultures that have been returned alive. The distribution of length data will indicate the number and progression of larval moults during development in space.

The Conley's lab has already determined the normal progression of development in CeMM on Earth (manuscript in press), and this will be the first analysis of *C. elegans* development in space. The worms will be prepared from a mixed stage population, kept at 12°C till the launch and at 20°C after. They will be recovered alive for immediate treatment.

Apoptosis

Studies on germ line development including meiotic chromosomal dynamics and germ cell apoptosis under microgravity condition (Atsushi Higashitani, Noriaki Ishioka, Japan)

In *C. elegans*, the sequence of changes in chromosomal morphology during meiotic prophase 1, the oocyte maturation and the germ cell apoptosis can be observed, and the molecular mechanisms underlying these phenomena can be investigated with genetic approaches. We will analyze the effects of microgravity on these phenomena using the N2 wild-type and ced (cell death) mutant (ced-1) strain. This experiment will require 100 to 1000 animals in each strain at mixed developmental stages, in addition to 1G control of each sample in space fixed in flight for microscopic observations staining with DAPI and several antibodies.