

РОССИЙСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: БУДУЩЕЕ СОЗДАЕТСЯ СЕГОДНЯ

Василевич Н.И., к.х.н., ООО "ЛабПро Медиа", nvasile2003@yahoo.com

29 января 2019 года на базе Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета (СПХФУ) был открыт современный научно-образовательный центр молекулярных и клеточных технологий (НОЦ МКТ), оснащенный передовым оборудованием международного уровня. Мероприятие приурочено к празднованию 100-летия Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета. На церемонии открытия присутствовали ректор ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России профессор Игорь Наркевич, директор УНЦ ИБХ РАН Александр Габибов, директор ФГБНУ ИЭМ Александр Дмитриев, директор департамента перспективных исследований компании BIOCAD Александр Карабельский, генеральный директор ООО "Сарториус Стедим РУС" Ирина Волкова, генеральный директор ООО "Сарториус РУС" Валерий Юнгкинд.

На церемонии открытия выступил ректор СПХФУ Игорь Наркевич, он рассказал о развитии биотехнологического направления в университете: "Наш университет, именуемый ранее Ленинградским химико-фармацевтическим институтом, был первым в Советском Союзе вузом, где начали преподавать биотехнологию как учебную дисциплину. В связи с необходимостью подготовки специалистов – инженеров-технологов для работы на производстве антибиотиков – в 1950 году была организована кафедра технологии антибиотиков, которая в 1988 году была переименована в кафедру биотехнологии. На сегодняшний день у нас существует несколько кафедр, которые занимаются развитием биотехнологии: кафедра биотехнологии, кафедра технологии рекомбинантных белков, которая находится на базе компании BIOCAD, кафедра иммунобиотехнологии в НИИ вакцин и сывороток. И вот теперь мы открываем еще одну новую общеобразовательную площадку для подготовки специалистов наших исследовательских институтов – научно-образовательный центр молекулярных и клеточных технологий".

В своем приветственном слове академик Александр Габибов, директор ИБХ РАН, подчеркнул, что создание нового научно-образовательного центра крайне важно для лекарственной независимости нашей страны. Биотехнология сегодня – это создание рекомбинантных антител, технология химерных антигенных рецепторов, производство отечественных антибиотиков. "Я считаю, что у отечественного биофармацевтического бизнеса есть очень большие перспективы, – отметил Габибов. – Ваш университет дает как фундаментальное, так и прикладное образование, в том числе поддержку трансляционных программ в области медицины. Создание нового структурного подразделения позволит подготовить еще больше высококлассных специалистов в этой области".

Директор Института экспериментальной медицины, профессор Александр Дмитриев, указал на важность объединения научной и образовательной составляющих в структуре нового центра. "Это абсолютно продуманное и хорошо организованное и структурированное подразделение, которое в своем названии несет два слова: "научный" и "образовательный", – отметил он. Сегодня невозможно заниматься наукой ради удовлетворения собственного любопытства, вариться в собственной каше и жить только наукой. Науку невозможно только делать – ей нужно делиться, в том числе с подрастающим поколением, с молодежью. Необходимо интегрировать научные данные в образовательный процесс, показывать результаты научных достижений аспирантам, магистрам, бакалаврам. С другой стороны, образовательный процесс невозможен без привлечения современных ученых, признанных во всем мире в каждой конкретной области. И новый центр – логичный и естественный агломерат, где объединены наука и образование. А молекулярные и клеточные технологии – это действительно то направление, без которого сегодня ни биотехнологии, ни фармацевтика, ни медицина, ни молекулярная биология развиваться просто не могут".

К поздравлениям присоединились и представители бизнес-сообщества – российская биотехнологическая компания BIOCAD и немецкий производитель биотехнологического оборудования – компания Sartorius. Эти компании принимали активное участие и оказывали финансовую поддержку в формировании и оснащении Центра.

Александр Карабельский, директор департамента перспективных исследований компании BIOCAD, еще раз подчеркнул важность объединения науки и образования: "Мне хотелось бы продолжить мысль коллеги по поводу связи научной и образовательной деятель-

ности. Если задуматься, учебное учреждение не может называться высшим, если у него нет науки, – иначе это будут просто курсы по повышению квалификации. С другой стороны, наука сама по себе невозможна без университетов, поскольку главным драйвером научных открытий являются молодые специалисты, молодые умы. Новый центр станет одной из площадок, где студенты смогут заниматься активной и реально прогрессивной научной деятельностью".

Генеральный директор ООО "Сарториус Стедим РУС" Ирина Волкова отметила: "Концерн Sartorius стремится поддерживать не только производство, но и R&D, научные исследования в области биофармацевтики и биотехнологий. Открытие центра является новым уровнем нашего сотрудничества. Очень важно, что студенты, будущие технологи фармпредприятий России, будут работать на самом современном оборудовании. Это позволит конечным потребителям лекарственных препаратов быть полностью уверенными в качестве готовой продукции и высокой культуре производства".

ЗАДАЧИ ЦЕНТРА

Директор НОЦ МКТ Ирина Янкелевич рассказала о задачах, которые стоят перед Центром.

"Основной идеей образования Центра стала интеграция науки, образования и бизнеса. Для реализации этого необходимы четкая ориентация научных проектов на внедрение, понимание потребностей, которые существуют у фармацевтического и биотехнологического бизнеса, и того, какие специалисты требуются на настоящем этапе. Научные исследования, которые планирует проводить Центр, должны быть нацелены на практический результат. Центр создан для решения широкого круга научных и образовательных задач в области биомедицинских исследований и биотехнологий. Среди них – поиск новых реше-



Рассказывает директор НОЦ МКТ Ирина Янкелевич

ний для фармацевтических субстанций, новых биологически активных соединений, проведение фундаментальных работ по изучению молекулярных механизмов патологических процессов и действия биологически активных молекул на молекулярном уровне, а также разработка лабораторных и промышленных технологий на их основе. В настоящий момент на базе НОЦ уже начаты работы по созданию сфероидных опухолевых клеточных моделей и клеточной модели диабета второго типа. Кроме того, среди научных интересов Центра – диагностические системы по определению биомаркеров различных патологий».

Центр будет задействован в базовых программах бакалавриата, магистратуры, аспирантуры, в частности, в этом году уже начата подготовка студентов по магистерской программе «Биомедицина и биоинженерия», разработанной совместно с компанией BIOCAD. Одной из важнейших





Система визуализации EVOS FLOID System с инвертированным флуоресцентным микроскопом

задач Центра в будущем является проведение программ дополнительного профессионального образования по направлениям: биохимические, иммунохимические и молекулярно-биологические методы в биомедицине и биотехнологии, клеточные модели и клеточные технологии, применение концепции "design of experiment" в биомедицине и биотехнологии. Большое внимание Центр будет уделять профориентации школьников 10–11 классов. Уже в этом году запланирован курс по молекулярной биологии и биотехнологии для старшеклассников.

ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материально-техническая база Центра предназначена для исследовательских задач, связанных с качественным и количественным анализом белковых молекул, в том числе протеомным анализом биологических жидкостей, выделением нуклеиновых кислот, определением экспрессии генов, генотипированием, изучением биологических образцов иммунохимическими методами. Кроме того, приборный парк НОЦ для культивирования как прокариотических, так и эукариотических биообъектов с их всесторонней характеристикой позволяет решать целый ряд практических задач в сфере биотехнологий.

Лаборатория Центра оборудована двумя боксами для работы с микробиологическими и клеточными биообъектами, в которых установлены современные ламинарные системы.

Клеточный бокс оснащен CO₂-инкубатором Certomat (Sartorius, Германия) и счетчиком клеток Bio-Rad TC20,

который подсчитывает клетки диаметром 6–50 мкм в диапазоне от 5×10⁴ до 1×10⁷ клеток/мл. Для исследования клеток установлен инвертированный флуоресцентный микроскоп с системой визуализации Evos Life technologies. Изображения клеток могут быть получены как в проходящем свете, так и с использованием трех флуоресцентных фильтров. Система позволяет сделать фотографию с экрана или наложить изображения со всех трех фильтров. Программное обеспечение содержит описание протоколов с примерами окрашивания. Таким образом, исследователь может видеть, как будет выглядеть культура клеток после окрашивания и что необходимо для этого сделать. Микроскоп содержит систему автоматического подсчета клеток, поэтому отпадает необходимость в использовании камеры Горяева. Вместо обычной ртутной лампы в микроскопе Evos используется светодиодный источник света, который имеет более короткий световой путь и обеспечивает лучшее детектирование флуоресцентных сигналов.

Микробиологический бокс оборудован поляризационным микроскопом «Биомед 5П», термостатом Binder BD 56 и термостатируемым шейкером-инкубатором ES-20 (Biosan) с универсальной платформой UP-12.

В лаборатории для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) установлен амплификатор в реальном времени новейшей серии Real-Time CFX96 Touch компании Bio-Rad. Главная особенность прибора – наличие шести независимых каналов, что позволяет одновременно использовать пять различных флуоресцентных меток и идентифицировать пять целевых продуктов в одной лунке. Возможно использование технологии диполь-дипольного (флуоресцентного резонансного) переноса энергии FRET. Запатентованная технология оптической системы «челнок» предназначена для считывания информации с



Амплификатор в реальном времени Real-Time CFX96 Touch

каждой отдельной лунки – с высокой точностью и без перекрестных помех. Использование температурного градиента на каждой стадии протокола помогает подобрать оптимальные условия реакции. В настоящее время амплификатор CFX96 Touch используется в исследовании влияния стресса на экспрессию некоторых генов, в частности, цитокинов и TRL-4-рецепторов.

Лаборатория оснащена необходимым вспомогательным оборудованием: ПЦР-боксом, центрифугами, холодильником, низкотемпературным морозильником и вытяжными системами.

Для работы с белковыми молекулами в лабораториях НОЦ МКТ установлены спектрофотометр Implen NanoPhotometer N, концентратор Concentrator plus Complete System, система для 2D-электрофореза с ячейкой MINI-PROTEAN и системой изоэлектрофокусирования PROTEAN i12 IEF Cell.

УЧЕБНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ SARTORIUS

Sartorius – лидирующий мировой производитель промышленного оборудования в области биотехнологий и лабораторного оборудования.

Материально-техническая база лаборатории Sartorius включает оборудование и приборы, используемые на различных стадиях биотехнологического процесса: систему тангенциальной фильтрации Sartoflow Smart, ферментер BIOSTAT A, макет производства сред Lonza, высокопроизводительный автоматизированный биореактор – ambr 250 modular.

В аналитических лабораториях и лабораториях контроля качества необходимо иметь не просто чистую, а максимально чистую воду. Система очистки воды arium® comfort I позволяет получать ультрачистую воду, качество которой соответствует стандарту ASTM. Кроме этого, можно получать чистую воду третьего типа, которая применяется в хроматографии, масс-спектрометрии, при анализе общего органического углерода, в фотометрии, для приготовления буферных растворов и др. Для очистки воды в системе используются адсорбция на сферическом активированном угле, катализ, обратный осмос, деионизация, УФ-окисление, оптимальная финальная стерильная фильтрация. В отличие от традиционных систем водоподготовки, arium® comfort I оптимизирует водопотребление с помощью встроенной интеллектуальной программы контроля iJust. Производительность системы при получении ультрачистой воды 1 типа составляет 120 л/ч, электропроводность получаемой воды – 0,055 мкСм/см, сопротивление – 18,2 МОм·см, содержание общего органического углерода – <2 мкг/л, а содержание микроорганизмов – <1 КОЕ/1000 мл. Используется инновационная технология хранения

воды в закрытой системе arium® bagtank, которая защищает воду от вторичных загрязнений.

Важная составляющая при работе с фармацевтическими субстанциями – подтверждение их микробиологической чистоты. В учебной лаборатории оборудован стол контроля микробиологического загрязнения. При подсчете микроорганизмов в жидкости используют метод мембранной фильтрации. Этот метод позволяет проводить точный подсчет бактериальных, дрожжевых и плесневых микроорганизмов в больших объемах проб. Для создания вакуума при фильтрации можно использовать компактный вакуумный насос Microsart eJet, создающий трансмембранное давление 600 мбар и скорость потока >3,5 нл/мин. Габаритные размеры такого насоса невелики, всего 120 × 170 × 190 мм, поэтому он легко может быть установлен в ламинарный шкаф.

Для оценки микробиологического загрязнения бактерии, оставшиеся на мембране после фильтрации, погружают в питательную среду и наблюдают за их ростом. Однако во время высвобождения фильтра из стерильной упаковки и его установки с рук оператора могут попасть бактерии, и чем больше дополнительных операций – тем выше вероятность контаминации. Для снижения риска контаминации используют диспенсер фильтров Microsart e.motion. Диспенсер высвобождает фильтры из их стерильной упаковки автоматически при нажатии кнопки, нажатии на педаль или даже без помощи рук: существует опция начала про-



Система очистки воды arium® comfort I



Диспенсер фильтров Microsart e.motion

цесса в момент, когда оптический датчик обнаруживает приближающийся пинцет. Оператору остается только взять фильтр пинцетом и аккуратно установить его. Скорость выдачи фильтров – через каждые 5 секунд. Мембранные фильтры для диспенсера могут отличаться размером пор, материалом мембраны и типом упаковки.

Часто в лабораториях, а особенно в производственных помещениях, необходимо контролировать уровень загрязнения воздуха не только частицами пыли, но и бактериями. Контроль за микробиологической чистотой воздуха осуществляют с использованием пробоотборника MD8 AirPort. Определение загрязненности проводят методом мембранной фильтрации с использованием желатиновых мембранных фильтров. Применение



Вакуумный насос Microsart e.jet

желатиновой мембраны предотвращает высыхание клеток микроорганизмов и сохраняет их жизнеспособность во время отбора пробы, а также препятствует инактивации вирусов. Желатиновые фильтры обладают высокой степенью задержания клеток микроорганизмов. Кроме желатиновых фильтров, могут применяться чашки с готовой питательной средой VASTAir. Скорость отбора воздуха составляет 30, 40, 50 или 125 л/мин. Пробоотборник имеет вес 2,5 кг и может работать не только от стационарной сети, но и от аккумулятора, что позволяет использовать его на месте.

Система SARTOFLOW Smart – это модульная настольная система тангенциальной фильтрации, оптимизированная для проведения ультрафильтрации и диафильтрации, которые используются в таких процессах, как очистка вакцин, моноклональных антител, рекомбинантных белков. Система подходит как для использования при лабораторной разработке процесса и клинических испытаниях, так и для работы в условиях, отвечающих требованиям GMP. Она позволяет разработать процесс фильтрации и масштабировать его до промышленного производства. В состав системы SARTOFLOW Smart входит держатель для кассет Sartocoon Slice 200, в который можно устанавливать кассеты с площадью мембраны от 200 см² до 0,14 м², однолитровый градуированный цилиндр из прозрачного полисульфона с герметичной крышкой, гасителем потока и якорем магнитной мешалки для эффективного перемешивания. Цилиндр помещен на весовую ячейку для контроля уровня жидкости. Три датчика давления на линии подачи раствора, ретентата (концентрата) и пермеата (фильтрата) позволяют задавать параметры процесса. Интерактивные подсказки выводятся на 7-дюймовый сенсорный экран. Система укомплектована модулем управления DCU-4, который при использовании программного обеспечения BioPAT SCADA и MFCS-4 позволяет осуществлять запись и перенос данных.

Биореактор/ферментер начального уровня BIOSTAT A предназначен для культивирования прокариотических или эукариотических клеток. Модель, представленная в лаборатории, предназначена для выращивания прокариотических клеток в небольшом масштабе. Система имеет интуитивно понятный интерфейс и возможность управления процессами со смартфона, что позволяет наблюдать за параметрами процесса как на рабочем месте, так и удаленно. При помощи программного обеспечения можно моделировать эксперимент, а также сопоставлять и анализировать полученные данные. Ферментация проходит в одноразовых или многоразовых культуральных сосудах объемом от 1 до 5 л. Температура реакции регулируется



Система тангенциальной фильтрации SARTOFLOW Smart



Ферментер BIOSTAT A

от 0 до 60°C, а интегрированная система аэрации обеспечивает непрерывный автоматический контроль потока для всех используемых газов. Ферментер BIOSTAT A оборудован тремя независимыми насосами и цифровыми датчиками pH и pO₂.

В лаборатории Sartorius установлена автоматизированная система микробиореакторов ambr 250 для отбора перспективных моноклональных линий и оптимизации условий культивирования. Основные операции, такие как заполнение средой, инокуляция, пробоотбор, транзитная трансфекция и подкормка, могут осуществляться с минимальным участием оператора в автоматическом режиме. Система использует одноразовые технологии и имеет очень удобный интерфейс. Одновременно могут

использоваться от 2 до 8 микробиореакторов с рабочим объемом от 100 до 250 мл. Культивирование может происходить при температуре 18–55°C и pH от 2 до 8, в среде кислорода, углекислого газа, азота или воздуха. Скорость перемешивания задается в диапазоне от 150 до 4500 об/мин. Подача жидкостей может осуществляться как с помощью наконечников (300 мкл и 10 мл), так и насосами, при этом для каждого реактора могут использоваться по 4 независимых насоса.

Современное вспомогательное лабораторное оборудование – механические дозаторы серий Proline Plus и Tasta и электронные дозаторы Picus и Picus NXT, а также модульные лабораторные весы серии Cubis, анализатор влажности MA160 и гиревая продукция российского предприятия "Сартогосм" – позволяет максимально повысить качество и эффективность проводимых исследований.

* * * *

Открытие Научно-образовательного центра молекулярных и клеточных технологий имеет большое значение для развития образования в сфере фармацевтики и биотехнологии. Сочетание высокого образовательного стандарта в традициях одного из старейших университетов страны, инновационных биотехнологических решений, которыми в полной мере владеет и готова делиться компания BIOCAD, и возможностей современной лаборатории, укомплектованной инновационным оборудованием лидирующего мирового производителя Sartorius, открывает новые перспективы для подготовки высококвалифицированных специалистов и ведения научной работы в тесном сотрудничестве с ведущими научными и образовательными организациями. ■



Система для культивирования клеток ambr 250