

ЛАБОРАТОРИЯ КОМПАНИИ MERCK ПЕРЕДОВЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ РОССИЙСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

С.Жохов, К.Х.Н, К.Гордеев, К.Х.Н

В сентябре 2015 года научно-технологическая корпорация Merck в рамках новой стратегии развития на российском рынке открыла в Москве собственную лабораторию "Лайф Сайнс".

Основные задачи лаборатории – поддержка исследований в области наук о жизни, тестирование образцов заказчиков и обучение работе на инновационном оборудовании компании Merck. Лабораторию также предполагается использовать как базу для демонстрации новых технологий, используемых в фармакологических и биотехнологических исследованиях.

В первую очередь, лаборатория предназначена для сотрудников российских исследовательских центров, работающих в области фармацевтики, биотехнологий, молекулярной биологии, цитологии, микробиологии, а также лабораторий по контролю качества биотехнологической продукции, охраны окружающей среды, ветеринарных и санитарно-эпидемиологических.

Открытие компанией Merck в Москве тестовой лаборатории "Лайф Сайнс" – шаг навстречу ее российским партнерам и клиентам, число которых постоянно растет. И совершенно неслучайно генеральный директор российского подразделения компании Merck Юрген Кёниг дал определение новой лаборатории как открывающей доступ к наукам о жизни – "Life Science Access Laboratory".

Важнейшим принципом конструкции приборов компании Merck является максимальная легкость управления ими. Поэтому они просты в настройке, эксплуатации, сервисном обслуживании. Многие приборы запускаются вообще нажатием одной клавиши. И это соответствует действующим в фармацевтике требованиям GMP, по которым количество ручных операций должно быть сокращено до минимума, чтобы снизить риск ошибок из-за человеческого фактора.

Приборы Merck разрабатываются с учетом специфических особенностей, конкретных задач

и нормативных документов той отрасли, где они будут применяться. Это касается рабочих режимов, дизайна, возможности автономной работы в течение какого-либо времени, диапазонов определяемых значений концентраций и т.п.

Открывшаяся лаборатория компании Merck рассчитана на проведение исследовательских работ в области наук о жизни с использованием следующих методов и процедур:

- контроля стерильности (Стеритест), предназначенного для производителей лекарственных средств как неотъемлемой части системы контроля качества последних;
- проточной цитометрии, применяемой в сфере иммунологии, клеточной биологии, онкологии и генетики;
- ультрафильтрации и микрофильтрации для очистки и выделения целевого вещества, востребованных в биотехнологии и фармацевтике;
- работы с фотометрическим оборудованием и системами мембранной фильтрации в аналитических исследованиях, при подготовке проб и анализах воды в различных областях промышленности.

О возможностях приборов компании Merck, представленных в новой лаборатории, нам рассказали сотрудники компании: **Павел Савкин**, руководитель отдела "Биопроцесс", **Павел Калашни-**



П.Савкин

ков, ведущий специалист отдела "Биопроцесс" и Артем Харченко, руководитель отдела "Лабораторные Технологии – Восток".

ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ БИОМОНИТОРИНГА

Процедуры контроля стерильности обязательны при производстве лекарственных средств, продуктов питания, напитков, а также в клинических и микробиологических лабораториях. Значительная часть рынка оборудования, решающего данные задачи, принадлежит компании Merck.

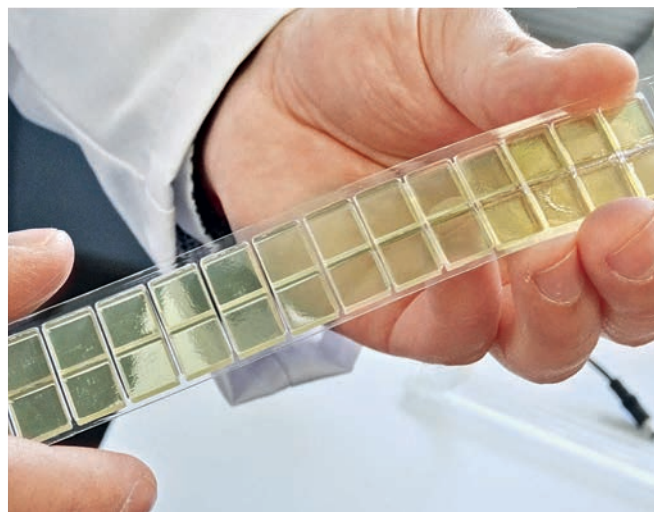
П.Савкин: "Портативный пробоотборник воздуха для контроля микробиологической чистоты RCS High Flow Touch, как и другие пробоотборники этой серии, предназначен для рутинного ежедневного контроля аттестованных помещений (чистых комнат и изоляторов), ламинарных шкафов и т.п. В инструкциях и аттестационных паспортах обозначаются все точки отбора проб и периодичность контроля в каждой из них.

Принцип действия прибора включает забор образцов воздуха объемом до 1000 л со скоростью 100 л/мин. При этом содержащиеся там микроорганизмы попадают на полоски с агаризованной питательной средой NYCON Agar Strips, размещенные по периметру ротора пробоотборника. Затем эти полоски помещаются в инкубатор, где микроорганизмы образуют колонии. Полоски разделены на квадраты – это позволяет избежать повреждений среды при установке в ротор прибора, а также облегчает подсчет колоний.

Компания Merck предлагает для использования в таких пробоотборниках широкий ассортимент стандартизованных агаровых сред



Пробоотборник воздуха RCS High Flow Touch



Полоски с агаризованной бактериальной средой NYCON Agar Strips



П.Калашников

NYCON Agar Strips, предназначенных для общего (неспецифического) подсчета колоний, а также селективные среды для дрожжей и плесени, кокиформных организмов и стафилококков. Для мониторинга воздуха в особо контролируемых чистых помещениях полоски с агаризованной средой выпускаются гамма-облученными и в двойной стерильной упаковке. Использование стандартизованных агаровых сред NYCON Agar Strips в системе RCS полностью соответствует стандарту ISO 14698-1 / 2".

П.Калашников: "Фильтрационный вакуумный насос Milliflex Plus Vacuum Pump, АТФ-анализатор мембранных фильтров Milliflex Quantum и раздатчик мембран – сенсорный диспенсер EZ-Pak Dispenser Curve – это комплексное решение Merck для экспресс-анализа микробиологической загрязненности жидких образцов.

Система экспресс-анализа включает в себя быстрое концентрирование микроорганизмов, содержащихся в жидкой среде с помощью вакуумной фильтрации, устройство стерильной раздачи мембранных фильтров и биолюминисцентный АТФ-метрический анализатор.

Компактный прибор Milliflex PLUS Vacuum Pump обеспечивает высокую скорость фильтрации жидких образцов (от полутора до двух минут на фильтрацию стандартного образца),

предельно прост в обращении, поддерживает стерильность эксплуатации рабочих компонентов системы. Встроенные в прибор весы позволяют стандартизировать отбор проб в пределах серии тестирований, а подключение к компьютеру или принтеру – автоматически документировать данные о фильтрации. Для увеличения производительности отбора проб установка может включать до трех насосов Milliflex PLUS.

Для обеспечения стерильности мембранных фильтров, используемых в процессе вакуумной фильтрации, предлагается применять сенсорный диспенсер EZ-Pak Dispenser Curve. Стерильные упакованные мембраны в кассетах по 150 шт. помещаются в камеру диспенсера и выдаются поштучно. Прибор управляется бесконтактно (инфракрасный датчик). Чтобы извлечь мембрану, оператору достаточно лишь провести рукой в направлении датчика прибора. Мембрана автоматически выходит из диспенсера и готова для последующего переноса пинцетом в фильтрационную установку.

Хотя фильтрационный вакуумный насос Milliflex Plus Vacuum Pump поддерживает модульную комплектацию и приспособлен для переноса содержимого фильтров на предлагаемые среды для культивирования и видового определения микроорганизмов, однако для экспресс-анализов более подходит система быстрого определения содержания микроорганизмов Milliflex Quantum Rapid Detection System. Она основана на используемом в "быстрой микробиологии" методе биолюминисцентной АТФ-метрии.

После фильтрации и инкубации мембрана, содержащая любые живые и культивируемые микроорганизмы, обрабатывается флуоресцентным маркером, который, вступая во взаимодействие с клеточной АТФ, расщепляется специфическим ферментом и высвобождает флуорохром. Накопление последнего детектируется в Milliflex Quantum.

Метод отличается высокой чувствительностью к наличию микробиологического загрязнения (до 1 CFU/образец*) и неспецифичностью. Впоследствии в случае необходимости видовая специфичность бактериального загрязнителя может быть выяснена последующим пересевом на специфических средах. Время анализа с учетом пробоподготовки занимает от 30 мин до

* CFU – colony forming units – колониеобразующая единица.



Фильтрационный вакуумный насос Milliflex Plus Vacuum Pump



Сенсорный диспенсер EZ-Pak Dispenser Curve

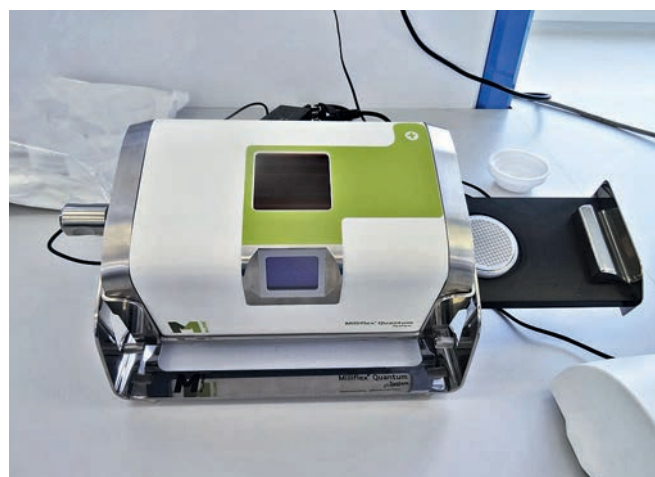
нескольких часов, в то время как определение наличия микрофлоры традиционными микробиологическими методами требует от суток и более.

Поэтому основным преимуществом использования Milliflex Quantum является возможность раннего установления наличия микробиологического загрязнения, что помогает избежать остановки производственных линий, ускоряет отгрузку продуктов на рынок и снижает затраты на их хранение. Кроме того, данное решение обеспечивает оперативность контроля производственного процесса на каждой его стадии.

Предложенное комплексное решение для экспресс-анализа микробиологической загрязненности жидких образцов может успешно применяться для анализа воды для инъекций, жидких лекарственных форм, питьевой воды и напитков, косметических средств и т.п."

ПРИБОРЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Основная задача этих приборов – создание и отработка методик выделения, очистки, концентрирования биомолекул. Эти проблемы актуальны для производителей лекарственных средств, в особенности тех, которые содержат



АТФ-анализатор мембранных фильтров Milliflex Quantum

активные субстанции белковой природы. К их числу относятся, в частности, вакцины и ряд противоопухолевых препаратов.

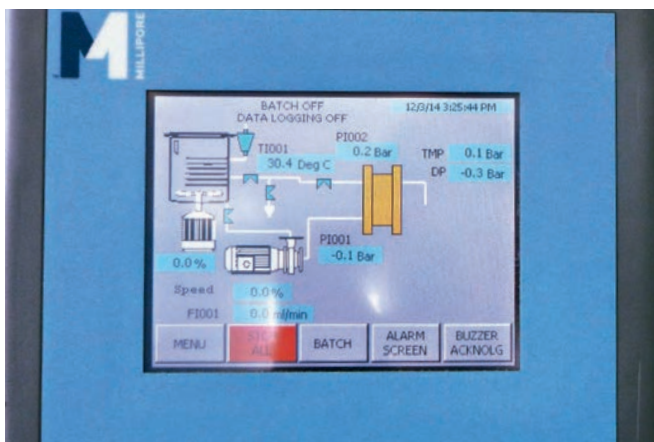
П.Савкин: "Установка для тангенциальной фильтрации Cogent μ Scale предназначена для очистки биомолекул и разделения жидких смесей методом ультрафильтрации и диалфильтрации в поперечном (тангенциальном) потоке. Ее использование можно включать в методики очистки и концентрирования рекомбинант-

ных белков, моноклональных антител, вакцин, олигонуклеотидов, компонентов сыворотки крови, алкалоидов и в ряде случаев даже живых клеток.

Cogent μ Scale представляет собой полуавтоматическое устройство для ежедневного использования, удобный инструмент в биофармацевтических исследованиях. Эта установка для тангенциальной фильтрации работает при давлениях до 5,5 бар с низким уровнем колебаний (менее 0,2 бар) на кассетах Pellicon XL (50–150 см²) или Pellicon 3 (88–264 см²).



Установка для тангенциальной фильтрации Cogent μ Scale



Сенсорный экран Cogent μ Scale



А.Харченко

Обладая небольшими размерами (объем резервуара составляет 1 л), она позволяет моделировать крупномасштабные промышленные процессы. Методики, отработанные на ней для малых количеств веществ, масштабируются и переносятся на более крупные промышленные установки. Кроме того, скорость подпитки до 330 мл/мин позволяет применять Cogent μ Scale также для подготовки материалов клинических испытаний и для производства небольших партий сырья и полупродуктов.

Задача отработки методики состоит прежде всего в подборе оптимальных значений скорости фильтрации и давления, при котором выход целевых биомолекул максимальный. Порог отсеивания молекулярной массы зависит от установленной мембраны. Компания Merck предлагает широкий выбор мембран различных типов и материалов, с различными порогами отсеивания в пределах от 5 до 1000 килодальтон. Для удобства работы мониторинг и управление процессом фильтрации выведены на сенсорный экран".

ПРИБОРЫ ДЛЯ РАБОТЫ С КЛЕТОЧНЫМИ ОБРАЗЦАМИ

Работа с клетками является в основном инструментом научных исследований в области клеточной биологии, генетики, онкологии, иммунологии, цитологии и других направлений. В открывшейся лаборатории Merck представлены портативные малогабаритные приборы для подсчета числа клеток, анализа их жизнеспособности и ряда других



**Миниатюрный клеточный анализатор
Muse Cell Analyzer**

параметров. Эти решения предназначены для быстрых анализов, по типу "здесь и сейчас", когда нет времени ждать очереди на доступ к стационарным установкам в центрах коллективного пользования.

А.Харченко: "Клеточный анализатор Muse Cell Analyzer – прибор для быстрого подсчета клеток (пропускная способность менее 2 мин на образец), определения их жизнеспособности, признаков апоптоза и некроза, маркеров окислительного стресса, фаз клеточного цикла. Он имеет очень компактные размеры (20×25 см) и применим для анализа как суспензионных, так и адгезионных клеточных культур, как гомогенных, так и гетерогенных, с диаметром клеток в диапазоне 2–60 мкм.

При подсчете клеток в культуре с помощью Muse Cell Analyzer не требуется никакой пробоподготовки. Достаточно добавить в культуру необходимые реагенты и запустить работу прибора по соответствующему протоколу. Клетки загружаются в прибор в обычной центрифужной пробирке объемом 1,5 мл. Это стало возможным благодаря конструкции автоматического загрузчика.

Прибор использует микрокапиллярную технологию в сочетании с флуоресцентным детектированием: подсчет и анализ клеток происходит в кварцевой капиллярной ячейке с диаметром канала



Кварцевая ячейка прибора Muse Cell Analyzer



**Загрузка культуры клеток
в анализатор Muse Cell Analyzer**

100 мкм. Это позволяет обеспечить высокую точность количественных клеточных анализов при меньшей погрешности по сравнению с другими аналитическими методиками, использующими как ручную гемоцитометрию, так и автоматизированный анализ, связанный с визуализацией.

Обнаружение флуоресценции каждого индивидуального объекта проводится с помощью лазера. При этом измеряется до трех клеточных параметров. Флуоресценция, испускаемая мечеными объектами, регистрируется в виде импульсов напряжения, которые пропорциональны интенсивности флуоресценции.

В большинстве случаев этот миниатюрный анализатор способен заменить проточный цитометр. Исключение составляют идентификация клеточных культур или работы со смешанными культурами, когда требуется определение клеточных типов".



Системы очистки воды в лаборатории Merck

СИСТЕМЫ ОЧИСТКИ ВОДЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРИЙ

Очищенная вода как один из основных реагентов требуется для работы любой лаборатории, относящейся к сфере наук о жизни. Корпорация Millipore еще задолго до слияния с Merck разработала системы, использующие целый набор технологий для многостадийной очистки воды от примесей различных видов. Системы Milli-Q, Elix уже

не одно десятилетие используются повсеместно, а само название Milli-Q стало синонимом идеально очищенной воды.

Системы очистки воды, используемые в этих устройствах, включают методы специфической и неспецифической предварительной фильтрации, обратного осмоса, электродеионизации, облучения ультрафиолетом. Подробно о системах Milli-Q, Elix, а также о современных технологиях очистки воды вы можете прочитать в предыдущих номерах журнала "Аналитика".

В последние годы сотрудничество Merck с российскими исследователями в области наук о жизни выходит на совершенно новый качественный уровень. Инновационные технологии, используемые в лабораторном оборудовании Merck, делают его востребованным, как в научных подразделениях, так и на современном биотехнологическом производстве. Хочется выразить надежду, что открытая компанией "Life Science Access Laboratory" станет площадкой плодотворного взаимодействия глобального бизнеса и модернизирующейся российской биофармацевтической промышленности. **α**

* Жохов С., Шахнович О. Всероссийский симпозиум "Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии" // Аналитика. 2015. № 1. С. 33–36;
Шестаков С. Вода – Важный химический реагент в современной аналитической лаборатории // Аналитика. 2015. № 2. С. 110–116.

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС "KOST-2015" ПО ХИМИИ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Международный конгресс "KOST-2015" по химии гетероциклических соединений прошел в октябре 2015 года в Москве в МГУ им. М.В.Ломоносова.

Гетероциклические соединения составляют значительную часть природных и синтетических биологически активных веществ, а российская школа химиков является одной из ведущих в мире. Поэтому прошедший международный форум, посвященный 100-летию А.Н.Коста, одного из наиболее ярких представителей этой школы, собрал около 400 участников из многих регионов России, США, стран Европы и Азии. Среди выступивших на нем авторов докладов были Albert Padwa

(Atlanta, USA), Vladimir Gevorgyan (Chicago, USA), Valery Charushin (Yekaterinburg, Russia), Irina Beletskaya (Moscow, Russia), Antonio Togni (Zürich, Switzerland), Igor Alabugin (Tallahassee, USA), Valentine Ananikov (Moscow, Russia), Valery Fokin (La Jolla, USA), Andrei Kutateladze (Denver, USA), Nagatoshi Nishiwaki (Kochi, Japan), Jiaxi Xu (Beijing, China) и др.

На конгрессе были представлены доклады по направлениям — фундаментальные вопросы химии гетероциклических соединений; новые синтетические методы в химии гетероциклических соединений; современные каталитические методы синтеза гетероциклических соединений; стереохимические

аспекты химии гетероциклических соединений; перегруппировки и трансформации гетероциклических соединений; применение гетероциклов в медицине и сельском хозяйстве; гетероциклические катализаторы и материалы; sustainable synthesis of heterocycles from biomass and natural feedstock; физико-химические методы исследования структуры и свойств гетероциклических соединений.

Международный конгресс позволил специалистам из разных городов и стран обменяться опытом исследований, способствовал установлению и развитию связей между коллегами.

www.kost2015.ru