

Современные технологии, помогающие бороться со вспышкой нового коронавируса 2019-nCoV

О первых случаях заболевания атипичной пневмонией нового вида в китайском городе Ухань стало известно в конце декабря 2019 года, а уже 5-го января 2020 года последовательность генома коронавируса 2019-nCoV, ставшего причиной этой вспышки, была размещена в базе данных GeneBank под названием «Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1».

Столь эффективная и быстрая работа по изоляции и секвенированию полного генома вируса позволила столь же быстро начать разрабатывать и внедрять в клиническую диагностику тест-системы для обнаружения возбудителя.

Безусловно, добиться подобного прогресса в понимании причин заболевания и поиске диагностических средств было бы невозможно без современных технологий. И наши партнёры принимают активное участие в решении этой проблемы.

Oxford Nanopore Technologies

Компактный и портативный нанопоровый секвенатор **MinION** от компании Oxford Nanopore Technologies позволяет буквально за один день и в полевых условиях провести полноценное секвенирование вирусного генома. Во время предыдущих вспышек лихорадок Эбола, Зика и др. эта технология внесла существенный вклад в борьбу с инфекцией.

Для понимания того, насколько быстро вирус мутирует и относятся ли возбудители заболевания в разных очагах к одному и тому же штамму, необходимо секвенировать разные изоляты.

24 января 2020 года в New England Journal of Medicine вышло краткое сообщение о новом коронавирусе «A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019», в котором нанопоровое секвенирование упоминается как использованный в работе метод.

В этот же день журнал The Lancet опубликовал исследование, в ходе которого авторы подтвердили возможность передачи инфекции от человека к человеку. Полногеномное секвенирование изолятов вирусов от пациентов они выполняли на платформе MinION и методом Сэнгера.

В нескольких своих сообщениях Центр по контролю и профилактике заболеваний Китая подчеркивал вклад технологии нанопорового секвенирования в изучение нового штамма коронавируса.

В конце января в New England Journal of Medicine появилось сообщение о первом случае заболевания 2019-nCoV пневмонией в США. Его авторы также использовали MinION для секвенирования генома вируса, инфицировавшего 35-летнего пациента.

19 Февраля 2020 года Китайская компания Darui Biotechnology начала разработку протокола «быстрого секвенирования» основанного на технологии ONT для быстрой и эффективной диагностики COVID-19.



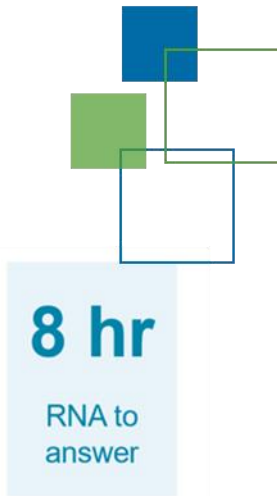
С начала марта еще несколько стран, таких как Бразилия, Португалия, Новая Зеландия, Австралия, Германия и др., внедряют в клиническую диагностику использование протокола ARCTIC на системе MinION для быстрой диагностики нового коронавируса.

Использование системы MinION позволяет сделать полное секвенирование генома за 8-10 часов и скрининговое исследование за рекордные 30 минут.

В России 19 марта 2020 года был получен первый секвенированный геном коронавируса нового типа на базе НИИ гриппа им А. А. Смородинцева также с использованием технологии Oxford Nanopore Technologies

Техническая поддержка Oxford Nanopore Technologies находится в постоянном контакте с исследователями нового возбудителя, помогает оптимизировать протоколы и обработку данных.





Протокол для быстрого и точного секвенирования РНК нового коронавируса с использованием MinION

Протокол, разработанный международной научной сетью ARTIC занимает не более 8 часов от начала работы до получения результатов секвенирования. В процессе разработки протокола учитывался опыт работы с вирусом Эбола в период эпидемии 2013-2016 гг.

Протокол доступен для скачивания всем пользователям в Nanopore Community (протокол PCR tiling of COVID-19 virus).

Для реализации протокола требуются праймеры к COVID-19, набор SQK-LSK109, а также ферменты для проведения реакций пробоподготовки. Анализ полученных результатов осуществляется в режиме реального времени с помощью программного обеспечения RAMPART.

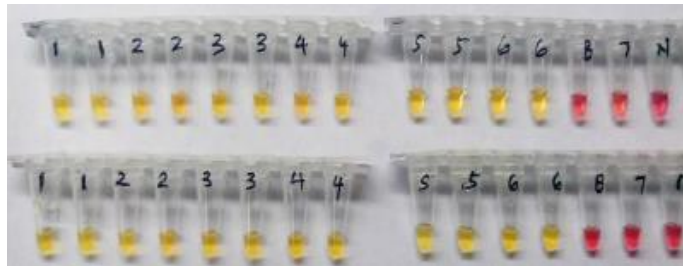
Для амплификации генома вируса используется самая точная в мире полимеразы Q5 от компании New England Biolabs.

New England Biolabs

Компания New England Biolabs также заняла активную позицию в борьбе со вспышкой COVID-19. Являясь мировым лидером в разработке реагентов для всех видов молекулярно-биологических исследований, компания New England Biolabs поддерживает ученых по всему миру, занимающихся как разработкой диагностических тест систем для детекции коронавируса нового типа, так и непосредственными исследованиями штамма SARS-CoV-2.

Совместно с Институтом вирусологии г. Ухань, ученые компании New England Biolabs разработали быстрый колориметрический метод детекции нового коронавируса COVID-19.

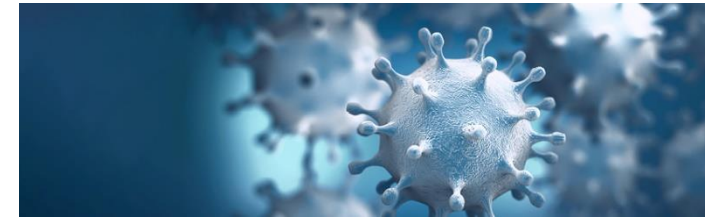
Метод основан на технологии **петлевой изотермической амплификации (LAMP)** с последующей визуальной детекцией продуктов амплификации с помощью цветных красителей (см. рисунок ниже).



Данный метод показал свою высокую эффективность в международной программе World Mosquito Program, в рамках которой ведется борьба с такими заболеваниями, как малярия, вирус Зика и др.

Уникальность и простота этого метода позволяет успешно использовать его в отдаленных регионах Африки, Австралии, Южной Америки и пр., где мобильность и простота проведения диагностических мероприятий является решающим фактором.

Использование технологии «быстрой детекции COVID-2019» с помощью метода петлевой изотермической амплификации (LAMP) делает возможным проведение диагностики не только в рамках лаборатории, но и в «полевых условиях», например аэропортах, вокзалах и т.д.



Для реализации такой реакции потребуется набор праймеров (описанных в статье Zhang, Odiwuor и др.) комплементарных двум участкам генома SARS-CoV-2, набор WarmStart Colorimetric Lamp 2X Master Mix, содержащий красители для визуальной детекции и обычный термостат или водяная баня.

Эффективность реакции была подтверждена при проведении параллельного тестирования с коммерчески доступными наборами для ПЦР в режиме реального времени COVID-19 RT-PCR kit (Jienuo Inc, Shanghai, China).

Помимо LAMP, компания New England Biolabs предоставляет для своих пользователей целую линейку продукции для диагностических и научных задач, связанных со вспышкой COVID-19, например:

- **Q5® Hot Start HF ДНК-полимераза**, признанная самой точной в мире и используемая во всех протоколах Oxford Nanopore Technologies
- **NEBNext Ultra II RNA Library Prep Kit for Illumina** – набор предназначенный для ультраэффективного секвенирования малых количеств РНК
- **Luna® Universal Probe One-Step RT-qPCR Kit** – универсальный набор для qPCR с интеркалирующим красителем SybrGreen

Диагностика COVID-2019

Как было отмечено ранее, важным способом борьбы с распространением инфекционного заболевания является его ранняя диагностика и идентификация возбудителя.

Технологически протокол детекции вируса состоит из трех этапов:

- Забор биоматериала
- Выделение НК
- Постановка ПЦР

Эффективность и скорость проведения тестирования порой играют решающую роль при выборе диагностических методов и инструментов.

Например, в случае с выделением нуклеиновых кислот, исследователи предпочитают использовать методы, позволяющие в максимально короткие сроки получить максимальный выход НК.

Такими методами, надежно зарекомендовавшими себя на рынке, являются технологии выделения нуклеиновых кислот, основанные на спин-колонках.

Преимущества колоночного метода выделения заключаются в повышенной чистоте и хорошем качестве выделенных нуклеиновых кислот, высокой воспроизводимости и скорости (в среднем протокол экстракции занимает не более 25 минут).

Помимо этого, компании-производители стараются усовершенствовать методы колоночного выделения, путем оптимизации химического состава реагентов.



Например в основе всех наборов для выделения нуклеиновых кислот от немецкой компании Analytik Jena лежит уникальная разработка компании - запатентованная технология DC-Technology® (от англ. "Dual Chemistry"). Для эффективного связывания ДНК/РНК с минеральной твердой фазой в состав реагентов включают не высокосолевые буферы, а буферы, содержащие хаотропные и нехаотропные соли в определенной комбинации.

Уникальность и высокая эффективность выделения РНК наборами линейки innuPREP положительно зарекомендовала себя в лабораториях в Германии и других странах Европы.

В настоящее время в линейном ряду компании есть два набора, оптимизированных для работы с материалом от пациентов, предположительно инфицированных COVID-19: **innuPREP Virus RNA Kit** (предназначен для выделения вирусной РНК) и **innuPREP Virus DNA/RNA Kit** (предназначен для выделения вирусных оцДНК, дцДНК и РНК).

Третьим по очереди и одним из самых важных этапов диагностики является этап постановки ПЦР.

Одним из самых популярных приборов для ПЦР в режиме реального времени в Китае, где вспышка COVID-19 распространялась с огромной скоростью, оказалась система **Mic** от Австралийской компании Bio Molecular Systems.

Mic будучи самым быстрым прибором такого типа в мире, существенно ускорил протоколы ПЦР, позволяя сократить время затраченное на ПЦР-диагностику, а автоматизированная система для дозирования реакционных смесей **Myra** от компании Bio Molecular Systems упростила этап подготовки реакционных смесей.



Помимо этого, благодаря компактности приборов, в значительной степени была улучшена оптимизация рабочего пространства в лабораториях, в которых поток анализов увеличился в десятки тысяч раз. Уникальные характеристики и компактность систем Mic и Myra позволили этим системам внести весомый вклад в увеличение эффективности и скорости диагностики COVID-19 в Китае, Австралии и в странах Европы.



Общелабораторное оборудование и расходные материалы для лаборатории

Помимо высокотехнологичного оборудования в нашем портфеле есть все необходимое для оснащения молекулярно-биологических лабораторий: от хранения образцов до автоматизации лабораторных исследований.

Гомогенизация и подготовка к выделению НК:



SpeedMill PLUS – прибор предназначенный для гомогенизации тканей человека/животных, образцов растений, бактерий и дрожжей. Пропускная способность до 20 образцов за запуск

Оценка эффективности выделения НК:

ScanDrop 2 – это универсальный, надёжный, эффективный и удобный в использовании спектрофотометр. Прибор имеет сменные адаптеры для работы с различными образцами



Автоматическое дозирование жидкостей и экстракция НК:



Станция **CyBio Felix**

- До 96 образцов за запуск
- Любой исходный материал (зависит от используемого набора)
- Полностью автоматический процесс выделения

- Создание собственных протоколов

Общелабораторное оборудование:

Термошейкер Biometra TSC предназначен для одновременного нагрева или охлаждения и перемешивания образцов. Он имеет 5 съёмных взаимозаменяемых модулей под различные пробирки (на 0,2 мл, 0,5 мл, 1,5 мл, 2 мл и 96-лу ночный ПЦР-планшет).



Вортекс-миксер AD-VM2

- Max. скорость: 3 000 об/мин
- Включение: прикосновение или кнопка
- Дополнительные насадки: платформа, ребристая, для планшетов

Мини-шейкеры орбитальные D-SO

- U-образные движения
- 3 модели: D-SO1, D-SO2, D-SO3
- Max: 350 об/мин
- Нагрузка: до 4 л, до 8 л, до 16 л
- Дополнительные платформы для разных емкостей
- 20 кг, 28 кг, 40 кг



Biometra TAdvanced – высокопроизводительный

амплификатор с возможностью быстрой замены нагревательного блока. Прибор совместим с 12 различными блоками на 0,2 мл, 0,5 мл пробирки или плашки и 384-луночные планшеты.



Хранение образцов:

Вертикальные низкотемпературные морозильники Hanil Scientific

- Объем от 82л до 714 л
- Диапазон температур от -95°C до -65 °C
- Один или два независимых компрессора
- Автоматическая или ручная система открытия двери



Микроцентрифуги и Высокоскоростные центрифуги:

Микроцентрифуга Smart 13

- **Есть на складе!**
- 3 угловых ротора: 12x1,5/2,0 мл, 4 ПЦР-стрипа, 6x5мл
- Max RPM: 13 500 об/мин
- Max RCF: 12 032 g
- Регулировка времени и RPM
- Режимы: короткий и продолжительный (15 мин)



Smart R17 Plus

- **Охлаждаемая: -10 °C**
- 4 угловых ротора: 18x1,5/2,0 мл, 24x1,5/2,0мл, 4 ПЦР-стрипа, 12x5мл
- Max RPM: 17 000 об/мин
- Max RCF: 23 005 g
- LCD-панель управления
- Датчик разбалансировки

