

# ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КВЕСТ: ПО СЛЕДАМ РАЗРАБОТКИ ПЛАТФОРМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## БИО- РАСПРЕДЕЛЕНИЯ



В 2019 году команда группы исследования биораспределения силами всего трех человек разработала новую высокопроизводительную технологическую платформу, которая позволит значительно сократить сроки и повысить качество проведения оценки биораспределения препаратов на основе аденоассоциированных вирусов в тканях животных. Результаты этого исследования критически важны для оценки безопасности генно-терапевтических лекарственных препаратов на этапе доклинических исследований. В этой статье отправимся по следам разработки новой технологической платформы.



**АЛЕКСЕЙ КОЗЛОВ**  
Старший научный сотрудник,  
группа исследования  
биораспределения, отдел  
генетической инженерии

Перед командой группы исследования биораспределения стояла цель — научиться достоверно определять, в каких органах накапливаются вирусные частицы, как их количество изменяется с течением времени и какой уровень экспрессии терапевтического гена интереса при этом наблюдается. Сами по себе обе эти методики — исследование копийности вируса и анализ уровня экспрессии методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени — известные и рутинные процедуры, которые давно и успешно применяются в BIOCAD. Но в нашем случае необходимо было эти методики адаптировать к колоссальным объемам работы — научиться в короткие сроки анализировать сотни и тысячи образцов тканей животных.

Эту задачу нам помогли решить роботы. Специально для исследования были разработаны алгоритмы роботизации с интеграцией автоматических станций KingFisher Flex и Tecan Freedom Evo. Первая служит для высокопроизводительного выделения нуклеиновых кислот, вторая — для измерения и выравнивания их концентраций, а также нанесения ПЦР-смесей в 384-луночные планшеты (рис. 1).

Следующим шагом стала настройка роботов. Нам удалось настроить параметры работы станции Tecan таким образом, чтобы добиться высокоточного раскапывания ПЦР-смесей и анализируемых образцов. В результате мы получили практически невероятную точность — погрешность при нанесении

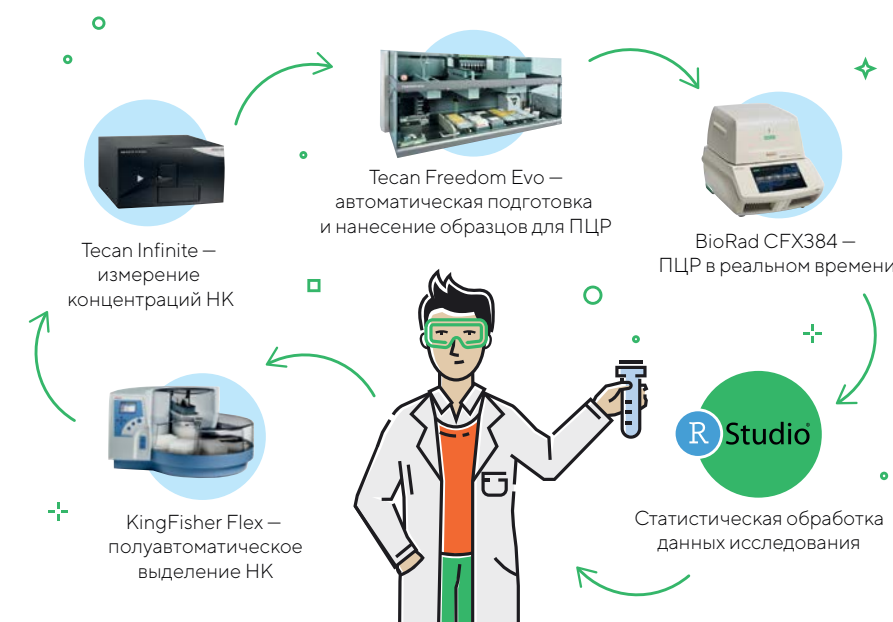


Рис. 1. Роботизация исследования биораспределения

образцов на ПЦР-планшет составляет всего около 0,2 мкл. Такие показатели вместе с высокой скоростью работы и воспроизводимостью повысили эффективность и пропускную способность подразделения.

Затем для более простого и точного обчета данных в программное обеспечение станции Tecan была интегрирована надстройка Normalization Wizard, благодаря которой робот автоматически выравнивает концентрации выделенных образцов. Применение такого программного обеспечения более чем в 3 раза сократило время подготовки образцов для ПЦР-анализа. Так, если сотруднику в среднем требуется около 3 часов на приготовление 96 образцов с одинаковой концентрацией, то робот

справляется с этой задачей всего за 45 минут и при этом еще и исключает фактор человеческой ошибки!

Также для корректного сбора, форматирования, обчета и статистической обработки больших массивов данных (тысячи и тысячи образцов) мы применили язык программирования R. Он был специально создан для статистической обработки и визуализации больших массивов данных, при этом его важным достоинством является относительная простота в изучении и использовании. Это позволило нам освоить и применить его в исследованиях в кратчайшие сроки.

В итоге месяцы кропотливой работы не прошли даром! Запуск и настройка оборудования, тщательный подбор реактивов, оптимизация методик и написание программ для автоматической обработки данных — все это позволило создать новую высокопроизводительную систему роботизированного скрининга биологических образцов и обработки полученных данных. Текущая производительность анализа составляет до 200 образцов в неделю с учетом использования всех необходимых повторностей, стандартов и контролей для получения достоверных данных. При этом общая производительность платформы составляет 1100 реакций в неделю. И это не предел! Уже сейчас команда отдела генетической инженерии разрабатывает новые способы оптимизации процессов и скрипты для роботов, что в перспективе позволит существенно сократить время анализа и довести количество реакций до 1500-2000 в неделю.



**Месяцы кропотливой работы не прошли даром! Новая система роботизированного скрининга биологических образцов и обработки полученных данных показывает высокую производительность и значительно сокращает время проведения исследования.**



**АННА ШКЛЯЕВА**

Младший научный сотрудник, группа исследования биораспределения, отдел генетической инженерии

В начале работы над проектом я и предположить не могла, сколько всего сложного и интересного нас ждет впереди. На раннем этапе разработки новой технологической платформы мы проанализировали огромный пласт статей и публикаций, нормативных документов и провели отработку методик. Думаю, что именно благодаря такому детальному изучению вопроса сейчас все условия и параметры процесса кажутся нам такими очевидно понятными и знакомыми. Однако так было не всегда. В ходе работы мы исследовали и изучали все, что только возможно: от стратегии нанесения образцов, их оптимальной концентрации и объема реакционной смеси до количества необходимых контрольных точек и повторностей в анализе. Мы даже оценили, как размер образца исследуемой ткани может влиять на последующую экстракцию ДНК или РНК. На этом этапе все работы и аналитика проводились вручную — мы кропотливо раскапывали реакционные смеси по 384-луночным ПЦР-планшетам, ставили реакции, собирали данные.

Все это требовало огромного количества времени и сил. Но в один прекрасный день в нашу лабораторию привезли роботизированную систему Тесап, которая позволила в разы повысить нашу производительность и точность разработанных методик анализа образцов. Результаты нашего последнего эксперимента подтверждают — мы на правильном пути, и вся проведенная нами работа может считаться успешной.

**1100**  
реакций в неделю — общая производительность платформы

**КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ КОЛИЧЕСТВОМ ВИРУСНОЙ ДНК И ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА FIX В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ**

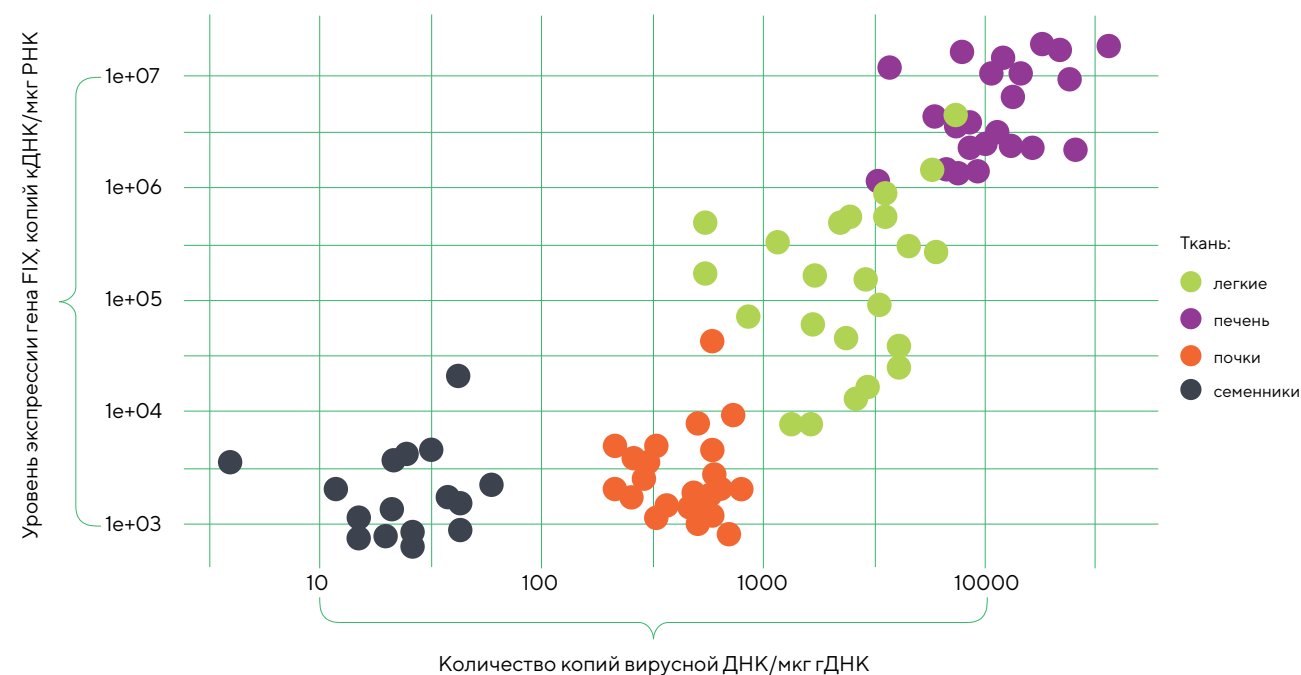


Рис. 2. Пример визуализации данных исследования биораспределения с применением алгоритмов языка программирования R



**ВЛАДИСЛАВ ВОДОДОХОВ**

Младший научный сотрудник, группа исследования биораспределения, отдел генетической инженерии

Я присоединился к команде группы исследования биораспределения чуть больше 3 месяцев назад, в сентябре 2019 года. Ознакомившись с методиками исследования биораспределения, которые применяются в лаборатории, уже со второй недели вместе с коллегами я полностью погрузился в работу. Мы проводили анализ уникальных образцов по проекту разработки препарата для терапии гемофилии В (AAV5-FIX, ANB-2), и надо сказать, что масштаб работы был впечатляющим — почти 1000 образцов тканей для оценки. Справиться с такой задачей нам помогла автоматизация процесса — новая платформа на базе роботов Тесап не только продемонстрировала свою эффективность, но и позволила нам завершить анализ образцов в относительно короткие сроки. Следующим этапом работы стала обработка и интерпретация данных, полученных с приборов. Такой массив информации из «сырых» данных качественно проанализировать в «ручном» режиме практически невозможно. Тут нам на помощь пришли алгоритмы с использованием языка программирования R, которые позволили провести статистический анализ и визуализировать результат (см. рис. 2). Применение

этих алгоритмов дало нам первые плоды — данные были успешно собраны, обработаны и интерпретированы, а все сроки соблюдены. В перспективе мы планируем начать разработку интерактивных приложений, которые сделают алгоритмы универсальными и в разы ускорят обработку большого количества данных. При этом пользователю для проведения анализа с помощью приложения не нужно будет иметь опыта в программировании.

“  
Для обработки больших массивов информации мы применили алгоритмы с использованием языка программирования R. А в перспективе планируем начать разработку интерактивных приложений, которые в разы ускорят обработку данных, полученных в ходе исследования.”



**ЮРИЙ БАСОВСКИЙ**

Руководитель отдела генетической инженерии

Созданная группой исследования биораспределения новая платформа уже сейчас позволяет BIOCAD выйти на новый уровень качества в разработке генно-терапевтических препаратов на основе аденоассоциированных вирусных векторов в рамках направления GeneNext. Благодаря масштабной работе по квалификации и оптимизации методик, рациональному подходу к выбору оборудования и производительней реактивов технологическая платформа демонстрирует высокую производительность и позволяет проводить исследования огромного количества образцов по разумной стоимости. За этой разработкой стоит огромная работа людей, которые ежедневно вкладывали силы и душу в проект. Сотрудники группы исследования биораспределения просто молодцы! Силами всего трех человек, один из которых присоединился к команде всего несколько месяцев назад, они создали по-настоящему прорывную технологию. Особый вклад в достижение такого успеха внес Алексей Козлов — он и главный разработчик платформы, и идейный вдохновитель, и основной исполнитель в одном лице. Конечно, не обошлось и без поддержки наших коллег из кросс-функциональных

подразделений — без них трудно было бы даже рассчитывать на успех. Александр Грачев, вице-президент по производству и техническому обеспечению, поддержал разработку и практически молниеносно согласовал закупку ключевого оборудования. Команда технического департамента, а именно инженеры по лабораторному оборудованию Дмитрий Шутько и Дмитрий Иванов отвечали за наших роботов: от их пуска и наладки до ежедневного обслуживания и контроля. Несмотря на достигнутые успехи, впереди у нас еще очень много работы. Критическая важность исследования биораспределения предполагает его проведение по стандартам GxP. Это новый и очень серьезный вызов: нам предстоит провести полномасштабную валидацию технологической платформы, квалифицировать оборудование, доработать и зафиксировать все процедуры и шаблоны протоколов, обеспечить целостность и прослеживаемость данных. И мы уже в начале этого длинного и трудного пути, на котором очень надеемся на помощь и сотрудничество коллег из отдела закупок, технического департамента, департамента качества и ИТ. Верю, что вместе у нас точно все получится!

**12**

месяцев на разработку технологической платформы для оценки биораспределения

**x3**

более чем в 3 раза сократилось время подготовки образцов для анализа полимеразной цепной реакции