XXIII ПРЕМИЯ
ГОРОДА МОСКВЫ
В ОБЛАСТИ
МЕДИЦИНЫ

2026

# Технология ускоренного создания высокочувствительных молекулярно-генетических тестов для верификации социально значимых и особо опасных патогенов в условиях мегаполиса

**Акимкин В.Г.**

**Академик РАН, профессор, д.м.н.**

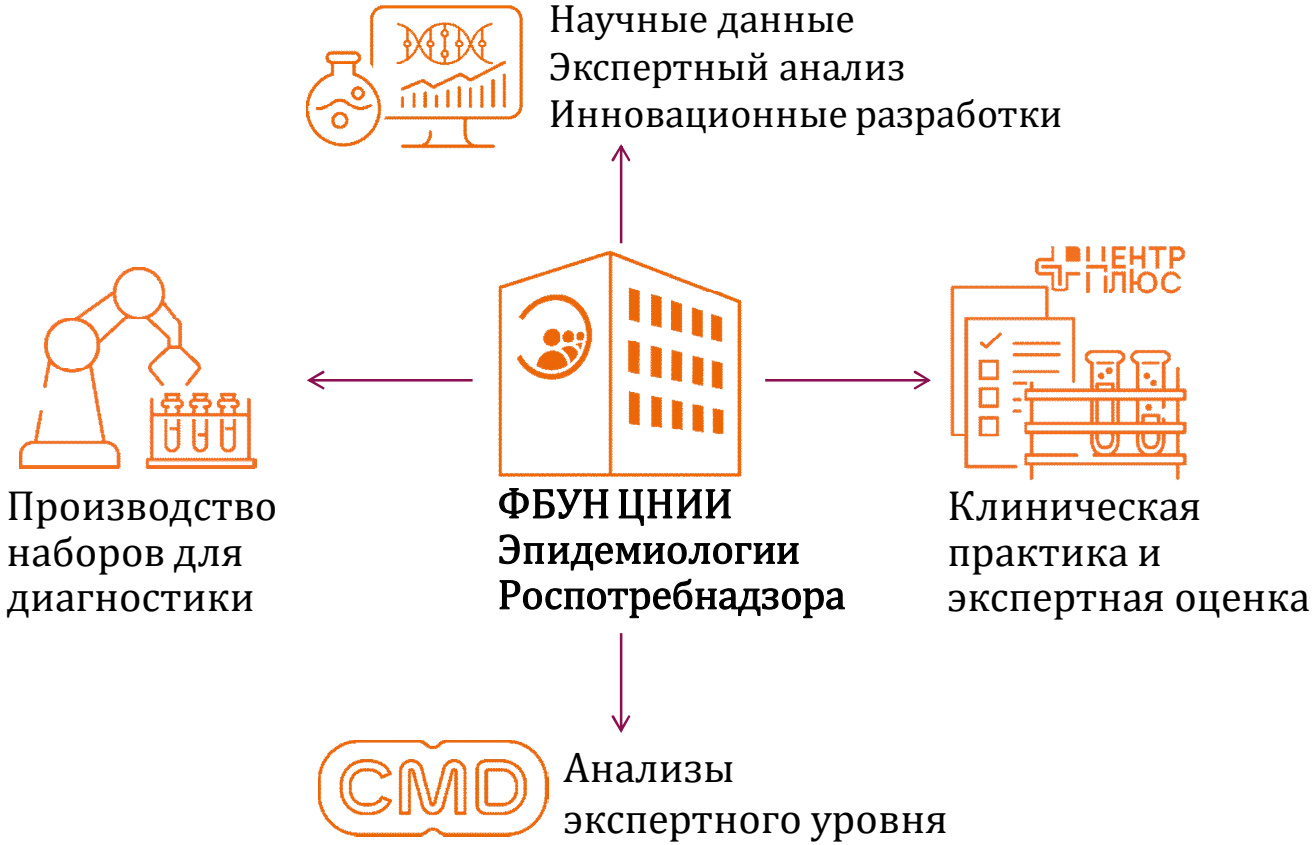
Морозкин Е.С., Борунова В.В., Блинова Е.А., Черкашин Е.А., Турашев А.Д., Замотаева Т.Л., Черкашина А.С., Соловьева Е.Д., Румянцева Н.П.

ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

18+

# Научно-технологическая экосистема ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

- 25 лет в области разработки и производства наборов для диагностики инфекций
- Серийное промышленное производство
- Полностью замкнутый цикл производства




НАУКА ФБУН ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА
ПРАКТИКА CMD анализы экспертного уровня ЦЕНТР ПЛЮС
ПРОИЗВОДСТВО AmpliSens

# Диагностика – первый шаг борьбы с эпидемиями

- **Крупный мегаполис:** высокая плотность и маятниковая миграция населения, колоссальные потоки внутренних и международных транспортных узлов, а также высокая концентрация организованных коллективов (образовательные учреждения, крупные предприятия, торговые центры) создают уникальную и крайне восприимчивую среду для стремительного распространения инфекционных патогенов.
- **Точная, надежная и быстрая диагностика** – основной инструмент выявления очагов заболеваемости, определения скорости распространения инфекции и оценки эффективности противоэпидемических мер.
- **Золотой стандарт молекулярной диагностики** – метод ПЦР позволяет оперативно выявлять нуклеиновые кислоты возбудителя в образцах, в том числе и у бессимптомных носителей, с высокой чувствительностью и специфичностью.
- **Метод ПЦР** – это надежный, недорогой, легко масштабируемый инструмент диагностики, оборудование для которого широко распространено практически во всех крупных клиниках и лабораториях.
- **Решающим фактором сдерживания масштабных эпидемических процессов** является наличие диагностических решений, научный потенциал для их быстрой разработки, а также возможность оперативного масштабирования производственных процессов.

# Отечественные инновационные разработки и локализация производства всех ключевых компонентов

**МАНК – методы амплификации нуклеиновых кислот**

- ПЦР
- LAMP
- NASBA

**Основные компоненты тест-системы на основе МАНК**

- Ферменты*
- Олигонуклеотиды*
- Контрольные образцы*
- Вспомогательные компоненты

**Комплекты для экстракции НК и вспомогательные реагенты**



*Ключевые компоненты

# Диагностика (МАНК) – быстрая разработка

## Основные этапы разработки – подводные камни и узкие места

- Данные о генетической последовательности
- Дизайн и синтез праймеров и зондов (уникальные компоненты тест-системы)
- Получение генно-инженерных контролей (уникальные компоненты тест-системы)
- Подбор ферментов и состава реакционной смеси
- Определение аналитических параметров тест-системы
- Внедрение на производство и масштабирование

## Способы ускорения разработки

- Геномный надзор за патогеном и собственные платформы генетических данных патогенов (VGARus) + вспомогательные биоинформатические инструменты
- Отдел олигосинтеза + разработка ускоренных протоколов твердофазного синтеза
- Платформенные биотехнологические решения для создания генно-инженерных контролей и ферментов
- Наличие коллекции ферментов для различных МАНК
- Собственное/локализованное производство ключевых компонентов

# Олигосинтез – ускоренные протоколы синтеза олигонуклеотидов



- Модернизирован протокол автоматического твердофазного синтеза праймеров и флуоресцентных зондов с последующей очисткой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)
- **Синтез длинных праймеров** для сборки генно-инженерных контролей:
  - сокращение времени синтеза с **2 дней** (стандартно) до **16 часов**
- **Синтез диагностических праймеров**
  - сокращение времени синтеза с **2 дней** (стандартно) до **14 часов**
- **Синтез диагностических зондов**
  - ограничение выбора флуорофоров: в случае **FAM** (для внутреннего контроля эффективности экстракции, ВКО) и **HEX** (для целевой мишени патогена) возможно сокращение времени синтеза с **3 дней** до **36 часов!**

# Схема создания контроля ПЦР (плазмида) – ускоренная схема

Сокращение времени получения генно-инженерных контрольных образцов стало возможно за счет использования быстрых протоколов клонирования, быстрорастущих штаммов клеток *E.coli*, детальной оптимизации всех процессов, а также применения принципа параллельности на всех возможных этапах клонирования.

## Стандартная схема

**5 дней**

- **1 день**
  - Сборка гена – **4 ч**
  - Форез – очистка ампликона – **2 ч**
  - Лигирование в вектор pGEM – **14 ч**
- **1 день**
  - Трансформация в клетки *E.coli* – **4 ч**
  - Высев на чашку Петри – **14 ч (ночь)**
- **1 день**
  - Скрининг колоний, выбор клонов (ПЦР) – **2 ч**
  - Наращивание биомассы – **14 ч (ночь)**
- **1 день**
  - Выделение плазмид – **3 ч**
  - Откапка, внесение в музей – **30 мин**
- **2 дня**
  - Секвенирование

## Ускоренная схема (работа в 2 смены)

**32 часа**

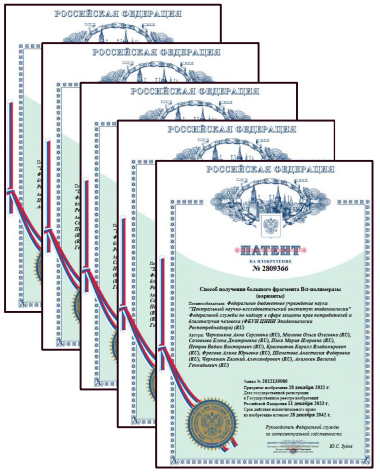
- **8 ч**
  - Сборка гена – **4 ч**
  - Форез – очистка ампликона – **2 ч**
  - Лигирование в вектор pGEM – **2 ч**
- **11 ч**
  - Трансформация в клетки *E.coli* – **3 ч**
  - Высев на чашку Петри – **ночь (8 ч)**
- **8 ч**
  - Скрининг колоний, выбор клонов – **2 ч**
  - Наращивание биомассы – **6 ч**
- **3,5 ч**
  - Выделение плазмид – **3 ч**
  - Откапка, внесение в музей – **30 мин**
- **12 ч**
  - Секвенирование – **24 образца – 12 ч**

ФБУН ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

# Ферменты – разработки ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

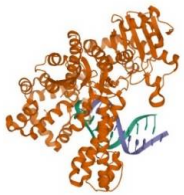
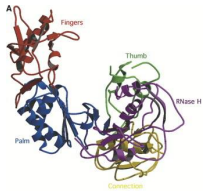
## Производится 5 различных типов ферментов и их модификации:

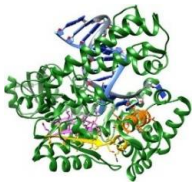
- **Taq-полимераза** – применяется в  ПЦР в режиме реального времени
- **Ревертаза (MMLV)** – применяется в ОТ-ПЦР
- **Bst-полимераза** – для петлевой изотермической амплификации (LAMP)
  - ✓ По уровню активности сопоставима с ферментом Bst 2.0 фирмы NEB (США), по цене – в 50 раз дешевле!
- **Урацил-ДНК-гликозилаза** - предотвращение контаминации лаборатории продуктами реакции амплификации
- **Протеиназа К** - используется в наборах для выделения нуклеиновых кислот




Производство ферментов обеспечивает выпуск до **1 млн. наборов реагентов в год**





# Этапы разработки ПЦР-набора для диагностики инфекционных заболеваний

## Четыре дня = 96 часов

Получение данных о геноме возбудителя и предоставление клинического материала !!!

(минимум 10 минут - максимум недели….)

| | |
|---|---|
| Подбор праймеров и зондов | 4-6 часов |
| Синтез пулов праймеров и зондов для ПЦР-набора<br>и для сборки контрольных образцов | 36 часов |
| Создание контролей для будущего набора:<br>сборка гена из праймеров, клонирование, наработка плазмид | 32 часа |
| Тестирование работы пулов олигонуклеотидов на контрольных образцах,<br>подбор ферментов и условий ПЦР,<br>принятие решения об окончательной «архитектуре тест-системы» | 14 часов |
| Подтверждение работы тест-системы на клиническом материале | 8 часов |

Итого: 96 часов

# Создание технологии быстрой разработки ПЦР-тестов для реагирования на вспышки инфекций

**Новизна:** Разработана биотехнологическая платформа, сокращающая **цикл создания ПЦР-тестов до 96-100 часов**, за счет интеграции экспресс-дизайна, ускоренного твердофазного олигосинтеза, коллекции собственных ферментов и протоколов быстрого получения генно-инженерных контролей.

**Результаты:**

- с использованием быстрых протоколов разработки созданы ПЦР-тесты для выявления **вирусов кори, эпидемического паротита и гепатита Е**, **филовирусов, включая Эбола Бундибуджио,** а также разработана **лабораторная методика определения вируса Andes**.
- технология получила международное признание: осуществлена экстренная отгрузка партий ПЦР-тестов для ликвидации вспышки лихорадки Эбола в Уганде.
- ПЦР-тест (филовирусы) проходит процедуру валидации ВОЗ для включения в перечень средств чрезвычайного реагирования.
- для кори и паротита доказана высокая эффективность детекции вирусов на бессимптомной стадии заболевания.

**Внедрение:** Технология разработки и наборы внедрены в практику ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Правительство Москвы

МОСКОВСКАЯ МЕДИЦИНА

СОВЕТ ГЛАВНЫХ ВРАЧЕЙ ДЗМ

НИИ ОРГАНИЗАЦИИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И МЕДИЦИНСКОГО МЕНЕДЖМЕНТА



# СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ПАРТНЕРЫ:

МОСКОВСКАЯ МЕДИЦИНА Cito

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ ЗДОРОВЬЕ МЕГАПОЛИСА

ВРАЧАМ МОСКОВСКАЯ МЕДИЦИНА

18+