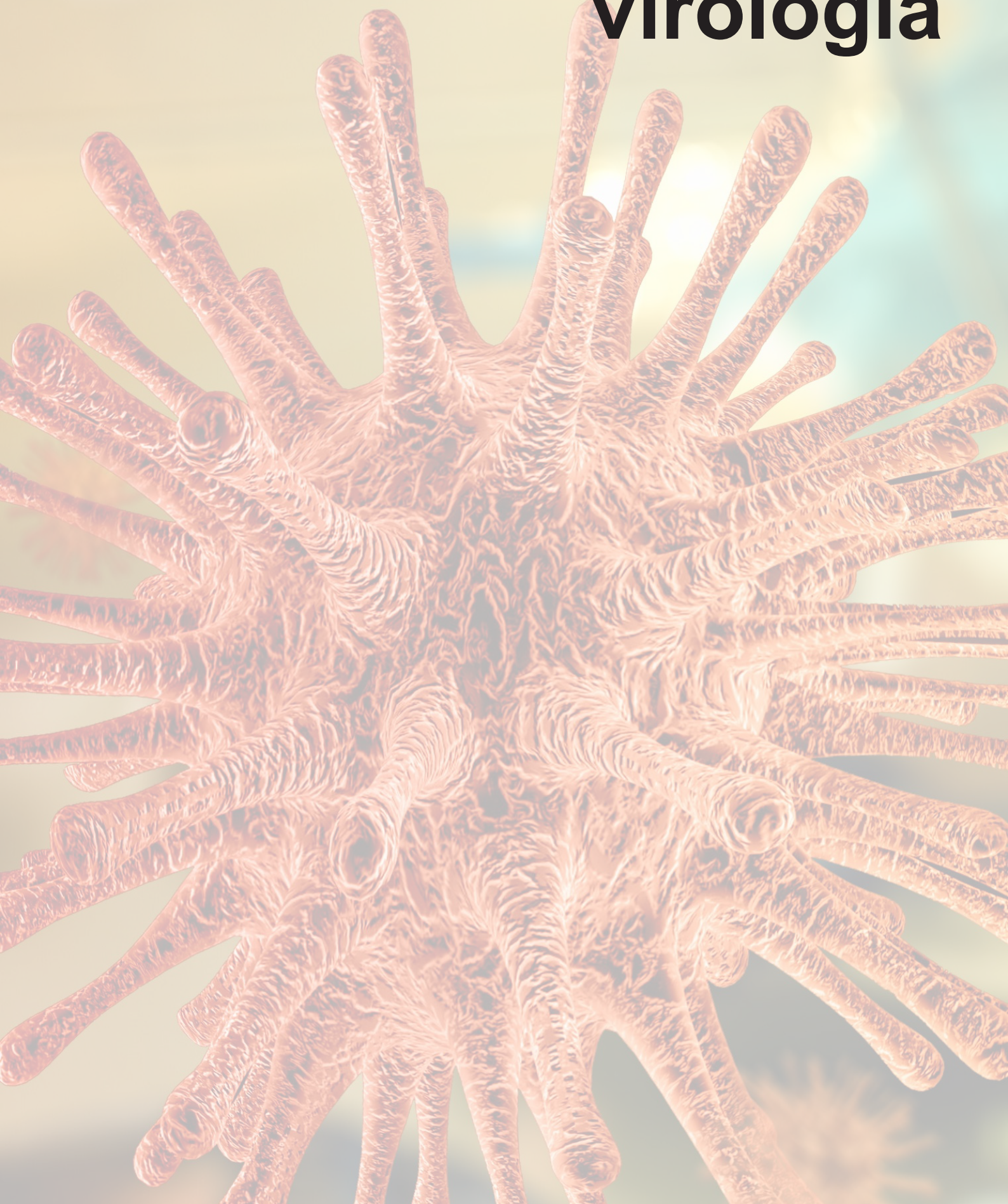




**Izasa
Scientific**

A Werfen Company

Soluciones Tecnológicas en virología



CARTA DEL DIRECTOR

Como es bien conocido, todos estamos en primera línea de la batalla contra el coronavirus COVID-19.

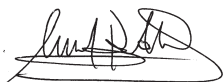
Antes que nada, les queremos animar, felicitar y dar las gracias por el esfuerzo que están realizando para incrementar en un tiempo récord el conocimiento de este virus, para poder superar este periodo tan complejo que nos está tocando vivir.

Por nuestra parte, desde Izasa Scientific, nos gustaría respaldar su labor con las soluciones tecnológicas para investigación y pruebas diagnósticas de las que disponemos en este momento, así como aquellas aportaciones de tecnología frontera de reciente aparición internacional que estamos siguiendo, relacionadas con la investigación en virología.

Entre otras, áreas como vacunas, anticuerpos, genotipado de variedades, automatización y robotización de manejo de muestras líquidas, etc.

Esperando sea de su interés la información que les presentamos, les reitero nuestro agradecimiento a su esfuerzo en estos días.

Atentamente



Carlos Arribas
Director General
Izasa Scientific

INTRODUCCIÓN

En el contexto de la emergencia global provocada por la pandemia debida al SARS-CoV-2 (Covid-19), se están desarrollando dos grandes vías de actuación:

- Contención y control de la expansión del virus para evitar el colapso de los Sistemas de Salud.
- Desarrollo de soluciones preventivas o terapéuticas a corto y medio plazo.

Estas dos estrategias requieren el desarrollo en paralelo de una serie de líneas de actuación:

- **EPIDEMIOLOGICAS:** Conocimiento de la dinámica de la expansión del virus. Donde se encuadra el testado masivo de la población y el estudio de las dinámicas de población de las diferentes cepas o estirpes del virus.
- **FARMACOLÓGICAS:** Partiendo de la “reutilización” de fármacos ya testados en otros virus para tratar de mitigar la severidad de los efectos clínicos la mortalidad. Posteriormente, el desarrollo de fármacos específicos. Como estrategia alternativa, el desarrollo de inmunoterapias (MoAbs) de desarrollo rápido, encaminadas a bloquear el virus.
- **PREVENTIVAS:** Desarrollo de vacunas eficaces incluso en una potencial situación de alta variabilidad (como sucede con algunos de los virus de RNA).
- **CONOCIMIENTO DEL VIRUS:** Investigación básica de la estructura y biología del virus, así como de los aspectos asociados como la dinámica de poblaciones, y los factores de susceptibilidad o resistencia a la infección.
- **BIOBANCO:** Los trabajos masivos que se están desarrollando requerirán la gestión de una gran cantidad de muestras biológicas que han de ser gestionadas en entorno de Bioseguridad y trazabilidad.

En todos los casos, disponemos de tecnología de primera línea, que pueden permitir a la comunidad científica y sanitaria avanzar más deprisa en estas líneas de actuación.

Estrategias Epidemiológicas

Ante la necesidad de incrementar significativamente el número de secuencias del genoma del SARS-CoV-2 para establecer un estudio epidemiológico que permita llegar a conclusiones sobre la morbilidad y mortalidad de las diferentes variantes del virus.

Proponemos:

Plataforma Fluidigm: Juno- Biomark. Los beneficios que aportan son:

- **Suficiente resolución** para estudios epidemiológicos: podemos multiplexar desde 24 a 96 genotipos diferentes en cada muestra.
- **Alta productividad:** más de 6.000 muestras al día por cada unidad Biomark, para 24 variantes génicas.
- **Alto nivel de automatización:** con una cantidad de intervención manual mínima y sencilla.
- **Facilidad de análisis de resultados:** evita la necesidad de un potente equipo de bio-informáticos para obtener conclusiones.
- **Bajo coste por ensayo:** y lo que es más importante, un bajo volumen de reactivos, factor es crítico, en un entorno donde la disponibilidad mundial de ciertos reactivos es compleja.
- **Flexibilidad:** tecnología idónea para el estudio de patógenos de rápida evolución, puesto que los paneles de expresión génica son personalizables. Durante los ensayos, los biomarcadores a analizar pueden ser modificados en muy pocos días, e incluso permite la inclusión, de forma directa, de nuevos genotipos emergentes.
- **Versatilidad:** la misma plataforma Juno-Biomark, sin necesidad de modificación, puede emplearse para la generación de librerías para NGS, de una forma más rápida, económica y con menos requerimientos de intervención manual, lo que permite a su vez seguir la estrategia de Secuenciación Masiva, en paralelo.



Biomark™ HD

- Gene expression
- Genotyping
- Copy number analysis
- Digital PCR

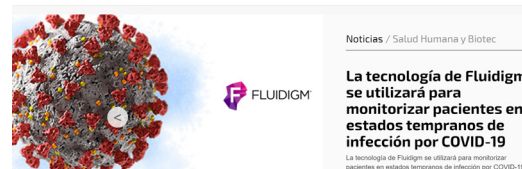


En resumen, con un número limitado de plataformas, se podría hacer en poco más de una semana el análisis de un número masivo de infectados, permitiendo tener datos significativos a cerca de la morbilidad / mortalidad de las diferentes estirpes del virus, si es que hay realmente asociación (como existe en otros virus de RNA). Y esto se podría hacer con un coste mínimo y con bajos requerimientos de recursos humanos.

Estrategias Epidemiológicas

A medio plazo, además del estudio de los factores intrínsecos al virus, hay que considerar un segundo estudio epidemiológico, orientado a conocer el porqué de la respuesta tan diferente que presentan los pacientes, con independencia de criterios de género, edad o etnia.

En este sentido, **Fluidigm** ha lanzado un proyecto cooperativo con centros mundiales de primer nivel, que está abierto a propuestas de colaboración



Helios, citometría de masas Fluidigm. Permite de forma rápida la identificación de posibles biomarcadores que definen la respuesta de un individuo. Esta tecnología permite hacer el estudio de las subpoblaciones del sistema inmune con un elevado grado de complejidad.

La combinación de estudios de subpoblaciones con técnicas como la separación celular por Sorting y la secuenciación de célula única, combinando equipos como el **SH de Sony** y el **C1 de Fluidigm**, permiten avanzar rápidamente en la definición de los paneles moleculares, a incorporar posteriormente en la **plataforma Biomark**, para el screening masivo a nivel de población, e incluso su posterior incorporación en paneles de uso pronóstico para el triaje de pacientes, la identificación de poblaciones de riesgo, o incluso las composiciones de las potenciales vacunas a emplear.

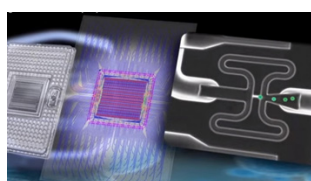
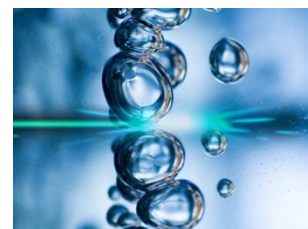
Fluidigm dispone ya de paneles listos para usar, con análisis automático de monitorización de respuesta inmune para la plataforma **Helios**, de las que existen dos unidades instaladas en España.

Gracias a sus 30 anticuerpos, MaxPar Direct Immune Profiling Assay permite caracterizar 37 poblaciones del sistema inmune del paciente a través de simplemente una muestra de sangre. El análisis se realiza de manera automática utilizando el software específico MaxPar PathSetter

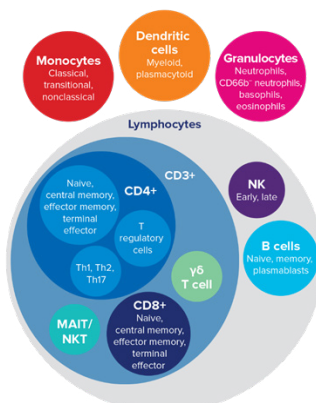


Helios CyTOF - MaxPar Direct Immune Profiling Assay (DIPA) Panel

SONY



Fluidigm C1 Platform
Aislamiento de célula única mediante microfluidica



SONY SH800 Cell Sorter
Aislamiento de célula única
mediante fluorescencia

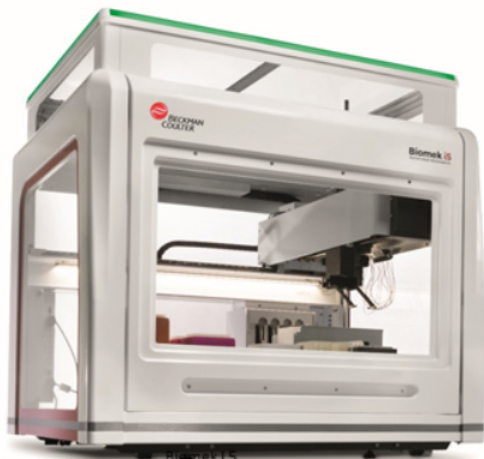
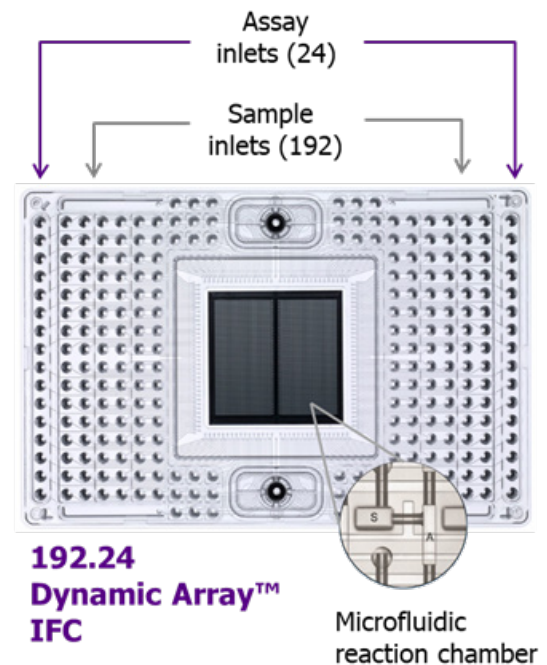
Estrategias Epidemiológicas

Automatización de Procesos

Plataforma de manejo de muestras

Biomek, series i5/i7 de Beckman Coulter. Automatizan el procesamiento de un elevado número de muestras garantizando la trazabilidad de los procesos de extracción y manipulación de muestras.

Plataforma BK400 de Fluidigm. Automatizan el manejo de los sistemas microfluídicos (placas IFC) de **Fluidigm**, pero también pueden utilizarse para plataformas abiertas de PCR clásicas, como parte de la estrategia de diagnóstico masivo



Beckman Coulter ofrece una solución completa para la extracción del RNA viral del COVID-19, con el **Biomek i5-M** y el **kit RNAdvance Viral**, incluyendo protocolo automatizado testado y validado para el RNA viral del COVID-19.

Con capacidad de procesamiento de 2 placas DeepWell, un total de 192 muestras de extracción RNA Viral COVID-19, el Biomek i5-MC alícuota el reactivo y las muestras, realiza la lisis de la muestra inicial, la captura, lavado y elución de RNA viral, en un proceso totalmente automático sin intervención del usuario.

El proceso completo de extracción se puede realizar en el Biomek i5-MC en aproximadamente 2 horas (1h si la lisis se hace fuera del robot), para dos placas de 96 pocillos simultáneamente. La solución incluye el método automatizado validado y el soporte para su puesta en marcha.



Farmacología Clásica

Fase I: análisis “in vitro”

Plataforma **Cytation de Biotek**. Soluciones para el cribado “in vitro” masivo (HTS) mediante la automatización de ensayos tanto moleculares, como celulares.

En todos los casos, la solución pasa por la integración de:

- Sistemas de manipulación de muestras de **Beckman Coulter (series i5/i7)**.
- Detectores especializados en HTS a nivel molecular, como **Biotek Synergy Neo2**.
- Ensayos de citotoxicidad (tanto toxicidad de fármaco, como efecto citopático mediado por virus) para lo que se integra la plataforma de análisis celular masivo **Biotek Cytation**.

También hay que tener en cuenta que **Biotek** proporciona también todos los sistemas auxiliares de estas grandes plataformas, como son las series de **lavadores y otros lectores**.



Lector HTS **Synergy NEO2**, la plataforma ideal para ensayos avanzados de fluorescencia con elevado procesamiento de muestras, como ensayos de afinidad en célula viva, incluyendo control de gases e inyectores



Lector **Cytation5** multimodo con módulo de Imagen Celular, Cytation5, incluyendo control de gases e inyectores para realizar con eficiencia trabajos en célula viva, su módulo de microscopia Widefield automatizada y sus funciones como espectrofluorímetro, le permiten ser la plataforma más eficiente del mercado para el desarrollo de ensayos de citotoxicidad en célula viva



Plataforma robótica de manejo de líquidos, **Biomek i5**, pudiendo tener un brazo con cabezal de 8 puntas expandibles o con cabezal multicanal de 96 puntas, o de 384 puntas, y con sus 25 posiciones de trabajo tiene capacidad para una producción de 7 placas de AMPureXP ó 2 placas de RNAdvance sin intervención del usuario



Plataforma robótica de manejo de líquidos, **Biomek i7** híbrido, con cabezal multicanal de 96 puntas, cabezal de 8 puntas expandibles entre si, y gripper en cada brazo. Con 35 posiciones de trabajo es capaz de una producción de 10 placas de AMPureXP ó 4 placas de RNAdvance sin intervención del usuario

Farmacología Clásica

Fase II: análisis de los mecanismos de acción

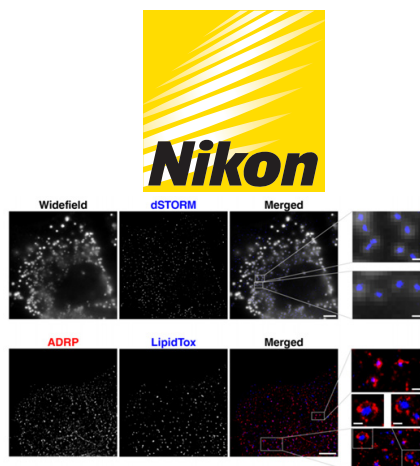
El empleo de cualquier fármaco “convencional”, en terapia antiviral, está dirigido básicamente a atacar tres frentes:

- **Bloqueo del proceso de “adsorción del virus”**, es decir, evitar que penetre en las células para proseguir su ciclo de replicación.
- **Bloquear la producción intracelular de virus**, bien sea bloqueando la replicación del genoma, bloqueando la producción de ciertas proteínas víricas o bien sea impidiendo el ensamblaje de las subunidades virales, impidiendo así la generación de nuevos virus con capacidad infectiva.
- **Bloquear aspectos de la respuesta normal del organismo frente a la infección**, que puede dar lugar a cuadros clínicos peligrosos. En el caso concreto de SARS- CoV-2, es la respuesta inflamatoria a nivel pulmonar.

Microscopía de Super Resolución STED Abberior-Nikon. Permite observar cómo interacciona un virus con su célula diana, se requieren técnicas de Microscopia de Super Resolución, especialmente en muestras vivas, en las cuales se pueden seguir los procesos de ensamblaje de las subunidades del virus (En el ejemplo, se muestra la reorganización de las proteínas del HIV para la generación de una nueva partícula viral con capacidad infecciosa.

Microscopía Super Resolución STORM de Nikon. Proporciona la mejor resolución posible en muestras fijadas.

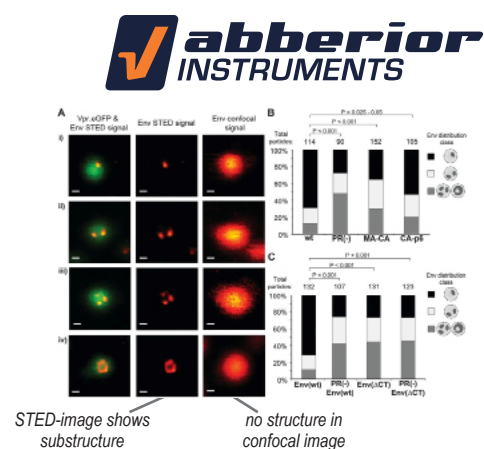
Ambas técnicas nos permiten seguir la dinámica de adsorción, internalización y producción de nuevas partículas virales.



Visualización de “lipid droplets” con dSTORM

Analizan la colocalización de “lipid droplet” y proteínas de la cápside viral en células infectadas con el virus de la hepatitis C

Dennis Eggert et al., PLOS One. July 2014 Vol9:Issue7:e102511.



Agrupación de Proteínas virales Env tras la maduración del HIV descrita utilizando microscopía STED

J. Chojnacki et al., Science. Oct 2012 26;338(6106):524-8.

Farmacología Clásica

Fase II: análisis de los mecanismos de acción

Microscopía Electrónica de Transmisión TEM de Jeol, que aportan la mayor resolución para la visualización de estructuras víricas en el interior de las células infectadas.

Recientemente dos estudios por Criomicroscopía electrónica han determinado la estructura de la proteína S (proteína viral responsable de la adsorción e internalización) unida a la proteína ACE-2 (receptor celular del virus).

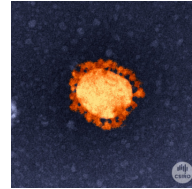


Imagen tomada con TEM Jeol 1400



JEM-F200 field emission transmission electron microscope

Farmacología Clásica

Fase III: análisis “in vivo” en modelos animales

Como paso previo a los estudios clínicos en humanos, se requiere el análisis en modelos animales, que permitan evaluar la efectividad del tratamiento y tener una aproximación a los posibles aspectos adversos del mismo.

Se pueden establecer tres grandes categorías:

- 1. Efectos a nivel de organismo:** Típicamente perfiles bioquímicos de afectación de ciertos órganos (Perfil hepático, cardíaco, renal...). En segundo lugar, estado general del sistema inmune, así como de las respuestas pro o antiinflamatorias.
- 2. Seguimiento de la progresión de la infección:** Habitualmente, carga viral y desarrollo de la respuesta inmune.
- 3. Efectos a nivel tisular:** Ensayos de Anatomía Patológica clásica, combinada con nuevas técnicas de mayor resolución, como la inmunohistoquímica con alto nivel de multiplexado, o técnicas de microscopía de alta resolución para estudios a nivel celular de la presencia de virus intracelular en sus diferentes estadios.

En los tres niveles, disponemos de soluciones tecnológicas tanto convencionales como avanzadas:

- Citometría analítica Acea y Sony
- Biomark de Fluidigm para carga viral
- NanoView R100 para recuento de virus en plasma
- Citometría de Masas Helios de Fluidigm
- Microscopía clásica directa y fluorescencia Nikon
- Microscopía confocal de spinning de Andor
- Super resolución STED Abberior
- Microscopía de masas Hyperion de Fluidigm

Farmacología Clásica

Fase III: análisis “in vivo” en modelos animales

1.- Efectos a nivel de organismo

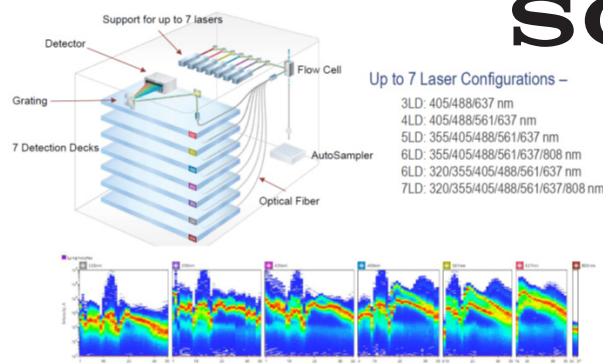
Plataformas para monitorizar la respuesta inmune, 3 niveles para abordarlo:

Citometría clásica de Acea, equipos que además son aptos para instalarse en zonas restringidas de animalario, tanto por su pequeño tamaño, como por la facilidad de mantenimiento.



La gama de citómetros de flujo de ACEA, los Novocyte Advanteon y Novocyte Quanteon, son equipos potentes (analizan desde 4 hasta 25 parámetros) a la vez que compactos (pequeño tamaño para inclusión en cabina). Disponen de un cargador automático, lo que lo hace idóneo para dar soporte continuo en servicios centrales de centros de investigación u hospitales.

Citómetro espectral SA3800 de Sony con alto nivel de multiplexado, idealmente pensado para poder obtener perfiles complejos de poblaciones, en muestras escasas. Especialmente cuando se combinan con sistemas de automatización de placa micro-titer, para poder hacer análisis de poblaciones en ensayos sobre modelos animales, con números significativos.



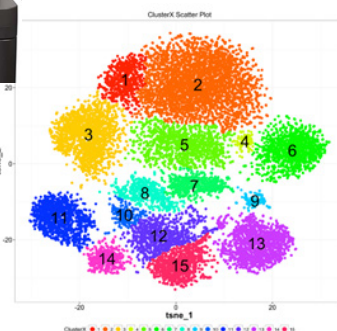
SONY

La nueva serie de citómetros espectrales ID7000 de SONY, albergan hasta 7 láseres y 186 detectores, siendo así capaz de detectar el espectro de fluorescencia de todos los fluoróforos disponibles en el mercado.

Citómetro de masas Helios de Fluidigm de muy alto nivel de multiplexado, cuando se dispone de poca cantidad de muestra, como es el caso del trabajo con animales de laboratorio (tipo ratón) el incremento del multiplexado ayuda a definir los conjuntos de poblaciones con un incremento exponencial de la complejidad. Los equipos de Fluidigm permiten el nivel más alto de complejidad existente en la actualidad. Además, es compatible con un módulo de imagen, que permite extender esta tecnología a muestras “sólidas” para el análisis complejo, a nivel celular, de cortes de tejido de anatomía patológica.



Helios, es la plataforma de citometría de masas de Fluidigm, que permite un altísimo multiplexado del análisis de marcadores biológicos de manera simultánea, como se puede ver en el histograma, en el que se lleva a cabo un análisis de 15 biomarcadores.



2.- Seguimiento de la progresión de la infección

A este nivel, disponemos de dos tecnologías diferenciales:

- **Plataforma Biomark de Fluidigm.** Valoración de la “carga viral” por métodos de biología molecular. Puede abordar ensayos de un número grande de individuos y es directamente automatizable en **Biomek**.



Biomark™ HD

- Gene expression
- Genotyping
- Copy number analysis
- Digital PCR

Qualitative (present/absent)



Quantitative (viral load)



El sistema Biomark de Fluidigm permite mediante ensayos de expresión génica llevar a cabo una rápida detección del virus, así como la cuantificación de la carga viral en la muestra del paciente, lo que puede de gran ayuda en la determinación de un pronóstico clínico

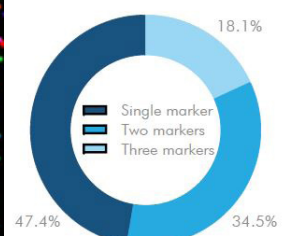
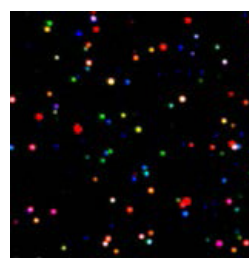
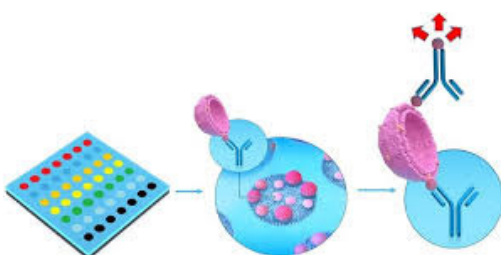


Plataforma robótica de manejo de líquidos, **Biomek 4000**, ideal para una automatización sencilla, robusta y versátil de preparación de placas para PCR/RT-PCR ó qPCR en formato de placas de 96 o 384 pocillos, o incluso para trabajo con placas IFC de sistemas Fluidigm. Pudiendo procesar en automático, incluyendo preparación Master mix, 2 placas de 384 pocillos en menos de 30 minutos, es decir más de 1500 preparaciones de PCR por hora. Incluye protocolos Wizard para PCR set-up, guiando al usuario de manera sencilla en la construcción de su protocolo personalizado



- **Exoview R100 de Nanoview.** Permite el recuento absoluto de Partículas Virales de hasta 50nm, haciendo posible, desde muy recientemente, aportar la resolución necesaria para detectar y cuantificar nano-micropartículas, con la especificidad que proporciona el empleo de MoAbs específicos del virus, para diferenciar estos de otras estructuras presentes en el plasma de individuos infectados.

La plataforma Nanoview permite la detección, cuantificación y fenotipado de nano-partículas presentes en nuestras muestras biológicas (con resolución hasta 50 nm) de manera automática, en minutos, lo que puede representar una poderosa herramienta en el diagnóstico de enfermedades virales



Farmacología Clásica

Fase III: análisis “in vivo” en modelos animales

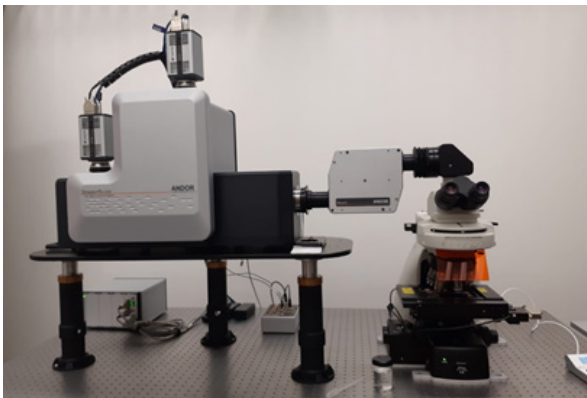
3- Efectos a nivel tisular

El estudio de los daños producidos por el virus en los diferentes órganos y tejidos es fundamental para evaluar los efectos de un tratamiento médico. Incluso la posibilidad de identificar la presencia de virus en los diferentes tejidos es un dato de especial interés.

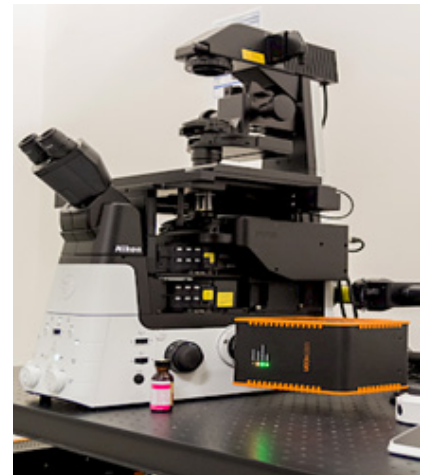
Nuestra oferta combina los ensayos clásicos de AP, con la posibilidad de hacer estudios de alta resolución con diferentes equipos [Nikon](#), o de “muy alto multiplexado” con [Fluidigm](#).



ANDOR
an Oxford Instruments company



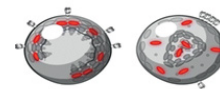
DragonFly 202 de Andor con un microscopio directo de Ni-U de Nikon



STEDYCON de Abberior con un microscopio invertido Ti2E de Nikon

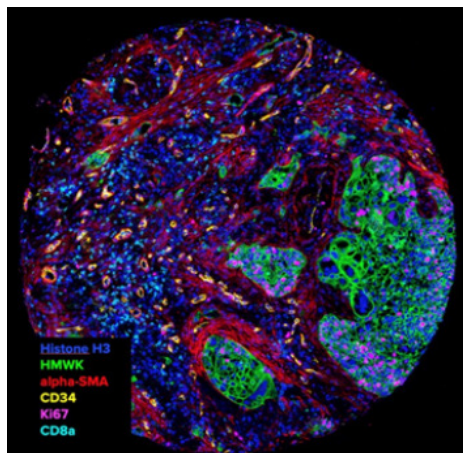


HIV
MATURATION



Maduración HIV-1 observada con microscopía STED
J. Hanne et al., ACS Nano 2016 10 (9), 8215-8222

Imagen del sistema Hyperion de Fluidigm, en el que se muestra la respuesta inmunológica anti-tumoral en biopsias tomadas de pacientes. La imagen muestra de manera simultánea 6 de los 25 biomarcadores analizados en este experimento, analizados mediante el software HystoCat



Farmacología II: Inmunoterapia

Desarrollo de Anticuerpos Monoclonales

Una variante “farmacológica”, encuadrada dentro de la inmunoterapia, es el **desarrollo de Anticuerpos Monoclonales (MoAbs) con capacidad bloqueante**, para evitar la progresión de la infección vírica.

Tiene ventajas como estrategia rápida, como son la alta especificidad, la rapidez en la generación de numerosas variantes activas, y en general, una elevada tolerancia, con baja toxicidad (no necesariamente nula) de las versiones “humanizadas” de estos anticuerpos monoclonales.

Existen múltiples vías para generar estos anticuerpos:

- Inmunización de ratones, posterior generación de clones de fusión y posterior ingeniería genética para su humanización. Es un método clásico.
- Desarrollo directo de versiones humanizadas por técnicas como pueden ser “Phage Display”. Técnicas más novedosas.

Todas tienen sus pros y contras, pero todas comparten ciertas fases y técnicas necesarias para su desarrollo. De hecho, varias de las fases de ensayo son semejantes a las que se emplean en fármacos clásicos, con las correspondientes adaptaciones, pero con tecnologías básicamente semejantes.

Cultivos celulares:

Tanto para la generación, como para la expansión de clones, se requiere de instalaciones de cultivo celular de seguridad biológica.

En ciertos casos, como es Phage Display, se requiere una instalación individualizada para cada variante a fabricar, en el caso de los hibridomas clásicos se pueden compartir instalaciones más fácilmente, pero en ambos casos se requiere de entornos de cultivo de seguridad biológica.

Podemos ofrecer la mayoría de la instrumentación: [cabinas de seguridad](#), [refrigeradores y congeladores Haier](#), [microscopios Nikon](#), [centrifugas Beckman Coulter](#), etc.

Farmacología II: Inmunoterapia

Desarrollo de Anticuerpos Monoclonales

Para las actividades de:

- Desarrollo de Anticuerpos Monoclonales (MoAbs) con capacidad bloqueante.
- Cultivos celulares.

Podemos ofrecer la mayoría de la instrumentación: **cabinas de seguridad, refrigeradores y congeladores Haier, microscopios Nikon, centrifugas Beckman Coulter, etc.**



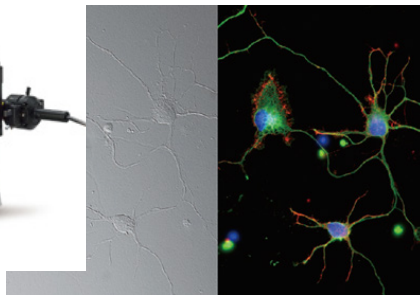
Ultracongelador DW-86L828BP serie
Variable Drive Control Technology
Haier Biomedical

Cabina Seg. Biológica serie
HR1200-IIA2 Haier Biomedical

Haier



Imágenes de neuronas adquiridas con las técnicas DIC y Epi-fluorescencia tomadas con un microscopio Ti2E de campo 25mm

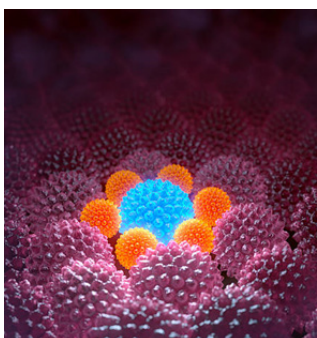


**BECKMAN
COULTER**
We're better together

Cultivos celulares Centrifuga de Sobremesa modelo
AVANTI J-15R

Sorting SH de Sony, para el caso de clonado de hibridomas. Nuestra solución permite el clonado de célula única y opera en modo automático en condiciones de bioseguridad.

Este equipo por su automatismo dimensiones y facilidad de utilización (no requiere personal específico), puede instalarse directamente en el entorno del cuarto de cultivos. Además, el diseño, basado en elementos desechables, puede incorporarse directamente en entornos GMP.



SONY

SONY SH800 Cell Sorter. Con las plataformas de cell sorting de SONY, se pueden aislar células únicas mediante fluorescencia, acelerando la purificación de hibridomas y la subsecuente producción de anticuerpos y vacunas

Farmacología II: Inmunoterapia

Desarrollo de Anticuerpos Monoclonales

Ensayos de Afinidad

Durante la fase de selección, se genera un enorme número de diferentes especies moleculares (anticuerpos con diferentes afinidades), que deben ser cribados (HTS) y ensayados por su afinidad frente al virus entero, o frente a las diferentes proteínas de la cápside viral.

La carga de trabajo de este proceso es elevada, y la automatización del proceso, no solo acorta los tiempos, también evita los errores y las contaminaciones cruzadas.

Plataformas robóticas de Beckman Coulter que permiten la automatización de estos ensayos, en conjunción con equipos HTS como **Synergy de Biotek**, así como otros equipos accesorios y automatizables como los lavadores Biotek.



Lavador de microplacas 405LS y Synergy HTX con inyectores, instrumentación para desarrollar ensayos ELISA con lecturas de absorbancia o fluorescencia, un primer paso de automatización

Incubador con gripper BioSpa8, con 8 cámaras de incubación, con la integración de un Lector Cytation5 y de un Dispensador/Lavador de microplacas EL406. Instrumentación completa para el desarrollo de cualquier ensayo ELISA avanzado o de ensayos de citotoxicidad, pudiendo llevar 8 experimentos en paralelo, y desarrollando ensayos de lapso de tiempo sin intervención del usuario



Plataforma robótica de manejo de líquidos, **Biomek i5**, pudiendo tener un brazo con cabezal de 8 puntas expandibles o con cabezal multicanal de 96 puntas, o de 384 puntas, y con sus 25 posiciones de trabajo tiene capacidad para una producción de 7 placas de AMPureXP ó 2 placas de RNAadvance sin intervención del usuario



Plataforma robótica de manejo de líquidos, **Biomek i7** híbrido, con cabezal multicanal de 96 puntas, cabezal de 8 puntas expandibles entre si, y gripper en cada brazo. Con 35 posiciones de trabajo es capaz de una producción de 10 placas de AMPureXP ó 4 placas de RNAadvance sin intervención del usuario

Estrategia Preventiva

Diseño y producción de Vacunas

Partiendo de los datos epidemiológicos, la situación ideal es el desarrollo de una vacuna, que evite situaciones de posibles pandemias actuales o futuras.

Tanto desde el empleo de virus atenuados o inactivados, hasta los más novedosos, basados en construcciones sintéticas de virus, a los que se les retira parte del genoma, para evitar su reproducción (otra variante de virus inactivado) se debe realizar en instalaciones y condiciones de seguridad biológica donde podemos ofrecer equipos tales como:

- Vicell Blu de BC
- ExoView R100 de NanoView
- Jeol JEM-F200
- Beckman Ultra Serie Optima (80/100)
- Beckman Alta velocidad (J26)
- ASKION C-line HS200
- Haier Cabina Seguridad
- Invertido de Rutina Nikon TS2
- Centrifuga sobremesa Avanti J-15R



Microscopio Ts2R-FL dentro de una cabina de flujo laminar



Haier

Ultracongelador, cabina de seguridad biológica y refrigeradores de laboratorio



Centrifugación y Ultracentrifugación



 **BECKMAN
COULTER**
We're better together



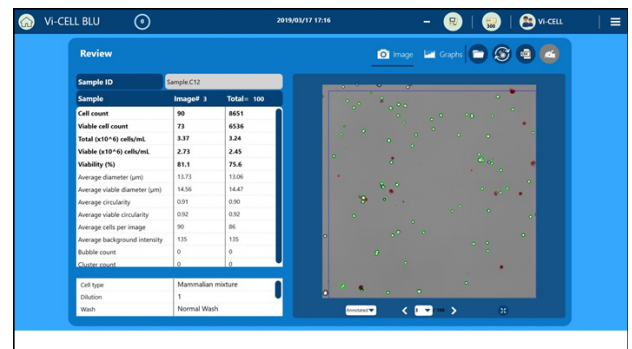
Estrategia Preventiva

Diseño y producción de Vacunas

Una vez establecidos los cultivos y antes de empezar los ensayos, tanto in vitro como in vivo, hay que pasar por la fase de producción escalable de virus, en cantidad suficiente para realizar estos ensayos.

El primer paso es el control de calidad del proceso de producción en cultivo. Se hace a dos niveles:

- Seguimiento de los cultivos (valorando el efecto citopático) previo al proceso de purificación.
 - **Vicell-Blu de Beckman Coulter**. El estándar internacional para estos controles.
 - **ExoView R100 de Nanoview**, recientemente ya permite cuantificar las partículas virales en el sobrenadante de cultivo y hacer el recuento absoluto de partículas virales, frente a los ensayos moleculares, que solo nos dan el número de copias del genoma del virus, pero no si éste forma parte de virus maduros.



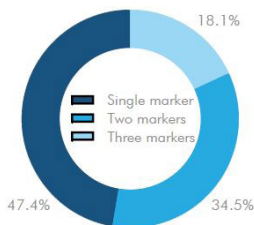
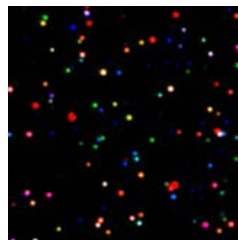
Analizador de viabilidad de cultivos celulares y contador de células automático Vi-Cell BLU de Beckman Coulter

El Vi-CELL Blu automatiza el método ampliamente aceptado de tinción con azul tripán para determinación de viabilidad de células, empleando tecnología de análisis de imagen. El proceso es completamente automático y los resultados se obtienen en minutos. El instrumento se controla totalmente desde una interfaz de software avanzada pero fácil de usar, diseñada para una máxima productividad.

Se trata de un instrumento ideal para el seguimiento de la viabilidad de los cultivos celulares empleados en procesos de transducción, siendo un factor clave para controlar la eficiencia en la producción del agente biológico final.



Detección, cuantificación y fenotipado de nanopartículas presentes en nuestras muestras biológicas (con resolución hasta 50 nm) con la plataforma Exoview R100 de Nanoview.



- Control de calidad, hay que recurrir a la **Microscopía Electrónica de Trasmisión (TEM) de Jeol**, como método de comprobación de la integridad estructural de los virus o viriones a emplear.

JEM-F200 field emission transmission electron microscope

Estrategia Preventiva

Diseño y producción de Vacunas

Producción de virus, o partículas virales para su uso en vacunas, se emplean las **ultracentrífugas de Beckman Coulter**, especialmente con los **rotores Ti70 y SW40**, para separar purificar y preparar tanto virus intactos, como viriones, o en los casos en los que es posible, subunidades víricas con capacidad inmunogénica.

El proceso de ultracentrifugación preparativa, incluso a escala de producción comercial, es uno de los procesos más delicados, no solo por el rendimiento del proceso (perder un porcentaje de la producción puede ser económicamente muy costoso), y la pureza de las fracciones aisladas, sino también es fundamental poder realizar este proceso en condiciones de bioseguridad.



Ultra modelo OPTIMA XPN-100



Rotor W 40Ti



Rotor 70Ti



Almacenamiento y gestión de muestras. Todo este proceso genera una gran cantidad de muestras, tanto de variedades de virus, como de líneas celulares, stock de virus, o incluso virus producidos en el proceso. Independientemente de la cantidad de viales a gestionar, todos ellos tienen dos características: en primer lugar, tratarse de muestras Bio-peligrosas, en segundo lugar, es material dedicado a la producción de vacunas de uso terapéutico, por lo cual están sometidos a procedimientos GMP.



ASKION C-line® hermetic storage HS200 M/L

Equipo de crio-almacenaje de muestras disponible en distintos formatos S, M o L dependiendo de las necesidades.

Las unidades pueden combinarse de manera modular para formar una entera estación de almacenaje para diferentes muestras como viales, bolsas de sangre y goblets.

La temperatura de almacenaje alcanza hasta los -185°C y en los equipos de más capacidad es posible almacenar hasta 1.000.000 de muestras por unidad.

La **línea c-line de Askion** ofrece equipos de crio-preservación para cualquier tipo de muestra biológica y permite tener en todo momento el control de cada actividad efectuada con el equipo. Gracias a la estación de control C-line, responsable de generar toda la documentación necesaria para hacer seguimiento continuo del proceso, se ofrece una opción totalmente automatizada para los sistemas de biobanco.

https://www.youtube.com/watch?time_continue=7&v=AVtwJHeB3rM&feature=emb_logo

Conocimiento del virus

Plataforma Juno Biomark de Fluidigm. Permite abordar y automatizar los procesos del estudio epidemiológico, el seguimiento de nuevas variantes, y el estudio de los factores de riesgo de la población.



Biomark HD



GENE EXPRESSION



GENOTYPING



PROTEIN EXPRESSION



DIGITAL PCR



SAMPLE IDENTIFICATION

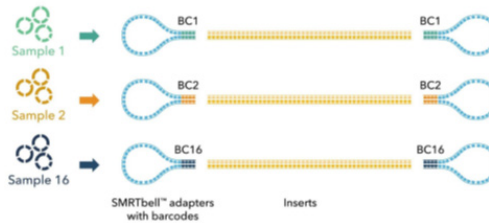
Las plataformas Juno y Biomark, de Fluidigm, son potentes herramientas de análisis genéticos, incluyendo detección de mutaciones, PCR cuantitativa o secuenciación dirigida. Estas técnicas pueden ser de gran utilidad en el estudio de la evolución de infecciones virales y clasificación de nuevas variantes



Plataforma de ultrasecuenciación de PacBio. Desde el punto de vista del conocimiento de la genética del virus, permite profundizar más en los mecanismos de replicación, variaciones y modificaciones epigenéticas, así como detalles de expresión génica, y síntesis de subunidades del virus.



La plataforma de ultra-secuenciación Sequel II de Pacific Biosystems, es una potente herramienta en aplicaciones de virología, especialmente en la secuenciación de nuevas variantes virales mediante NGS y la detección de mutaciones en gran cantidad de muestras simultáneamente



Citometría espectral con alto nivel de multiplexado de Sony, permite el conocimiento de la respuesta inmune a la infección, tanto en los aspectos referentes a la capacidad de los individuos para neutralizar al virus, como las posibles reacciones inflamatorias no controladas, responsables de algunos de los cuadros más severos de neumonía, es la base para el diseño de estrategias de prevención o de tratamientos farmacológicos.

SONY



ID7000 Spectral Analyzer

Citometría de masas de la gama Helios de Fluidigm.

Esta última dispone de paneles estandarizados, listos para usar, que permiten el nivel de definición más elevado que se puede conseguir en la identificación de poblaciones respondedoras y no respondedoras.



Helios™ system

Panel Categories	Human	Mouse
Immunophenotyping	✓	✓
Cytokines	✓	✓
Signaling pathways	✓	✓
Cell cycle analysis	✓	✓
Checkpoint markers	✓	✓
T cell (four options)	✓	✓
B cell	✓	✓
Myeloid cell	✓	✓

Maxpar Panel Kits



Maxpar Direct Immune Profiling Assay



Conocimiento del virus

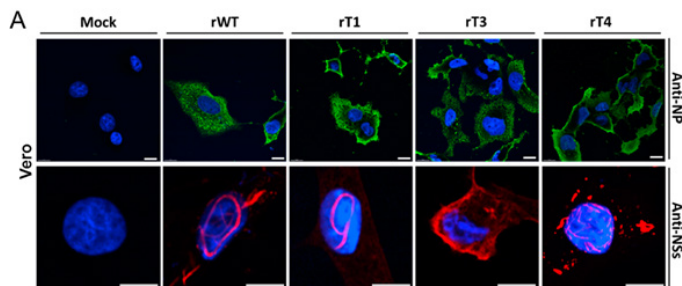
Desde el punto de vista de la biología de la infección, a nivel celular, los requerimientos de las técnicas microscópicas van a ser muy exigentes

- Sistema confocal Nikon y super resolución STORM de Nikon en célula fijada.
- Sistema confocal de spinning Andor, o super resolución STED de Abberior para célula viva .

Las distintas técnicas presentan diferencias en el nivel de resolución, en su capacidad para obtener imágenes con mayor velocidad, o la posibilidad de trabajar con muestras frescas o vivas. En muchos casos son complementarias, en otros la elección dependerá de los aspectos particulares de cada investigación.

En este grupo de análisis se encuadran también, en cierto modo, los estudios estructurales del virus y sus receptores, en los que la técnica más potente en este momento es la **Crio-Microscopia Electrónica Jeol**, para conocer las estructuras proteicas a un nivel de resolución sin precedentes.

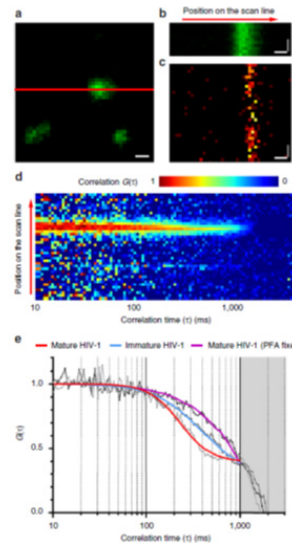
ANDOR
an Oxford Instruments company



Gracias a la tecnología spinning disk de Andor se ha descrito la formación de filamentos NSs (en rojo) en células infectadas por el virus RVFV (Rift Valley Fever Virus).

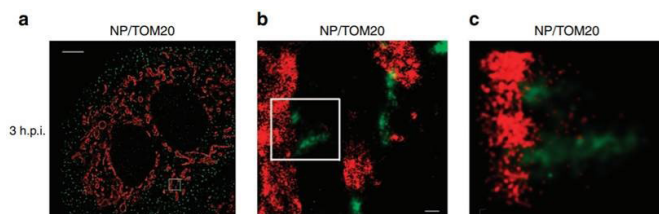
Shufen Li et al., Viruses, 11, 834

abberior
INSTRUMENTS



Mediciones de STED-FCS measurements de proteínas Env en partículas individuales de VIH

J. Chojnacki et al., Nature Communications volume 8, Article number: 545 (2017)



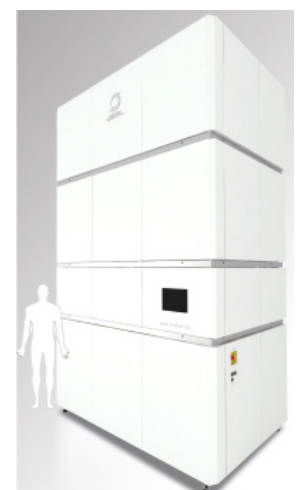
Utilizando la técnica STORM se ha descrito la cercana localización de ribonucleoproteínas virales pertenecientes al del virus de la gripe A (en verde) con la membrana mitocondrial de la célula infectada (en rojo)



Swantje Liedmann, et al. Nature Communications (2014) 5:5645

JEOL
Solutions for Innovation

ARM™ 300
Field Emission
Cryo-electron
Microscope



Conocimiento del virus

Desde el punto de vista de la experimentación animal, se requieren equipos específicos para pequeño animal, de modo que se pueda hacer el seguimiento “in vivo” del proceso de infección.

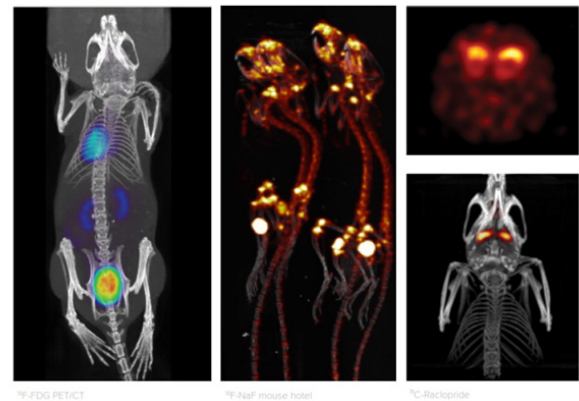
Sistemas TAC o PET de Molecubes para pequeño animal.



MOLECUBES
MODULAR
BENCHTOP
IMAGING



IN-VIVO SCANS

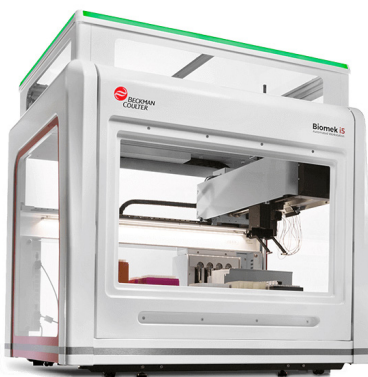


Lo sistemas de imagen molecular Molecubes ofrecen equipos con tecnología de última generación para diagnóstico preclínico. Todos los equipos se ajustan a las mesas de laboratorio estándar y son portátiles. Permiten el diagnóstico en pequeño animal de laboratorio ofreciendo un análisis de imagen muy preciso a dosis extremadamente bajas y excelente contraste tisular.

Lo equipos son modulares y pueden funcionar de manera individual o combinarse entre sí para realizar diferentes tipos de screening:

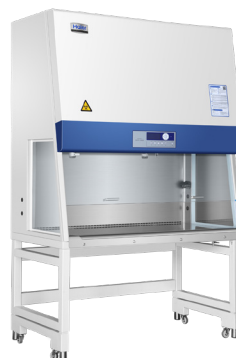
- x-cube: tecnología CT.
- β -cube: tecnología PET
- γ -cube: tecnología SPECT

Y algo que no podemos olvidar, todos estos trabajos deben realizarse con el mayor nivel de **automatización posible**, y en un entorno de Bioseguridad.



Plataforma robótica de manejo de líquidos,
Biomek i5

Haier



Cabina Seg . Biológica serie **HR1200-IIA2**



Biobancos y Gestión de Muestras

En el entorno de la virología se produce la necesidad de gestionar un muy importante número de muestras biológicas de alto valor y potencial peligrosidad como virus, muestras de pacientes, líneas celulares o muestras de material genético.

Biobancos criogénicos de Askion.

- Basados en N₂ líquido-vapor, ofreciendo la mayor seguridad para la integridad de las colecciones.
- Sistema totalmente automático y sellado, garantiza la inaccesibilidad al almacenamiento criogénico. La manipulación de cualquier vial se hace sin intervención humana.
- Seguro frente a accidentes, como fallo eléctrico, sin comprometer la integridad de las muestras.

Trazabilidad garantizada, siendo recomendable adicionalmente para ciertos Ácidos Nucleicos que no necesitarían, en principio, para su estabilidad, su almacenamiento en N₂, pero que por seguridad no se deberían almacenar de otro modo.



HS200-L HS200-S HS200-M

Estos sistemas ofrecen una solución óptima para los biobancos, donde el almacenaje de muestras es de gran importancia para la correcta preservación del material biológico.

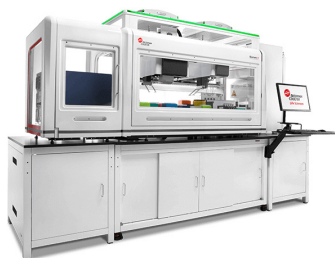
Dependiendo de la demanda de capacidad de almacenamiento, el usuario puede elegir entre tres versiones diferentes del HS200: S / M / L. Las tres versiones son completamente compatibles entre sí y pueden interconectarse mediante un sistema externo para construir un biobanco totalmente automatizado.

Los sistemas de almacenaje C-line permiten almacenar distintos formatos de muestras biológicas que van desde tejidos, viales hasta bolsas de sangre. El almacenamiento tiene lugar en la fase gaseosa del nitrógeno líquido. Se garantiza una calidad de muestra máxima durante décadas debido al almacenamiento en temperaturas muy bajas y a las temperaturas de manipulación de las muestras por debajo de -130 ° C.

Biobancos y Gestión de Muestras

Plataformas i-Series Beckman Coulter. Además, durante la fase de preparación de muestras, para su envío al Biobanco, hay que procurar maximizar a **automatización** de los procesos, con dos finalidades:

- Reducir el riesgo de error humano.
- Reducir el riesgo de los manipuladores a la exposición a agentes patógenos.



Plataforma robótica de manejo de líquidos, **Biomek i7** con integraciones de Lector de microplacas, filtros HEPA con flujo laminar e incubador de células

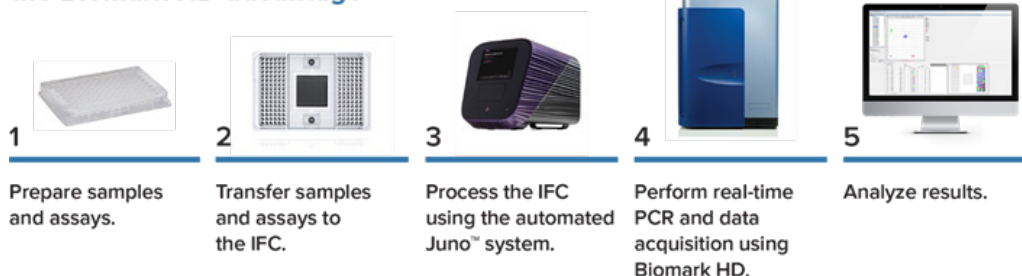


En cualquier caso, durante algunas fases del proceso de preparación y posterior extracción para su uso, no es posible evitar el error humano al 100%. De ahí, la necesidad de verificar la identidad de las muestras antes de su almacenamiento y posteriormente durante su utilización a la salida del Biobanco.

Basado en la plataforma **Biomark de Fluidigm**, disponemos de un panel de marcadores, que permite la identificación positiva de las muestras, así como en el caso de muestras de DNA, verificar la integridad y calidad de éstas.



Advanta Sample ID workflow and the Biomark HD advantage



El Advanta Sample ID Genotyping panel es un panel constituido por 96 SNPs diseñado para generar una huella genética y de calidad, específica para cada una de las muestras que procesan o almacenan laboratorios y biobancos.

Potente – Permite monitorizar la identidad y la calidad de cada muestra con el uso de 96 SNPs: 10 SNPs para calidad de muestra, 6 para género, 40 para población y 40 altamente polimórficos.

Flexible – Permite ser personalizado añadiendo o modificando SNPs para poblaciones específicas de muestras dependiendo de la aplicación o patología a estudiar.

Eficiente – Fácilmente automatizable, minimiza los costes debido a que las reacciones se hacen en volúmenes de nanolitros y reduce reacciones extras para testar la calidad de las muestras.

