

با حمایت صندوق نوآوری و شکوفایی و به
سفارش یک شرکت دانش بنیان منتشر می شود:

طراحی و تولید کیت استخراج مغناطیسی DNA ژنومیک از خون با بازده بالا



مهلت ارسال پروپوزال ها: ۱۴۰۲/۱۰/۱۶

در تحقیقات مولکولی، آزمایشات ژنتیکی و تست‌های تشخیص طبی، استخراج DNA از نمونه خون کامل و بافت، همواره از ضروری‌ترین تکنیک‌ها می‌باشد. با توجه به نیاز مراکز ژنتیک پزشکی متمرکز بر تشخیص اختلالات و بیماری‌های ژنتیکی به DNA استخراج شده با غلظت و خلوص بالا، بهینه‌سازی پروتکل کیت استخراج مغناطیسی DNA از نمونه خون ضرورت دارد. این مهم با انتخاب و تهیه نانوذرات مغناطیسی با پوشش و اندازه مناسب، دستیابی به فرمولاسیون، تولید بافرهای مورد نظر و در نهایت ساخت کیت کامل استخراج مغناطیسی DNA امکان‌پذیر می‌باشد.

آنچه در این پروژه مورد انتظار است، شامل: انتخاب نانوذرات مغناطیسی با پوشش سطحی مناسب، دستیابی به فرمولاسیون بافرهای مورد نیاز، بهینه‌سازی پروتکل جهت استخراج مغناطیسی DNA از نمونه خون کامل با غلظت بالا و با نسبت طیف‌های ۲۴۰ به ۲۸۰ و ۲۶۰ به ۲۳۰ نزدیک به ۲ و تکرار پذیری نتایج آزمون‌های کیفیت می‌باشد. همچنین دستیابی به ارتباط بالای ۹۵٪ در آزمون همبستگی، میزان بایاس کمتر از ۱۰٪ در آزمون خطی بودن، ضریب تغییرات کمتر از ۱۰٪، میزان واکنش کمتر از ۵٪ در آزمون واکنش متقاطع و دستیابی به میزان قابل قبول واکنش کمتر از ۵٪ در آزمون تداخل از جمله خروجی‌های این طرح می‌باشد.

- شرکت در این فراخوان تحقیقاتی و ارائه پروپوزال در قالب انفرادی، گروهی، شرکتی و سازمانی مجاز است
- پروپوزالی که بیشترین تناسب را با الزامات این نیاز تحقیقاتی داشته باشد انتخاب و به عنوان مجری به شرکت دانش بنیان معرفی خواهد شد



باسمه تعالی

صندوق نوآوری و شکوفایی به منظور تقویت توان توسعه فناوری شرکت‌های دانش‌بنیان با رویکرد نوآوری باز و همکاری فناورانه، خدمت جدیدی را طراحی و عرضه کرده است که در قالب آن، نیازهای تحقیقاتی و فناورانه شرکت‌ها و شتاب‌دهنده‌های دانش‌بنیان و متعاقباً، گروه‌های پژوهشی و فناور توانمند برای اجرای طرح‌های تحقیقاتی و توسعه فناوری‌های موردنیاز این شرکت‌ها و شتاب‌دهنده‌ها را شناسایی می‌نماید.

آنچه پیش‌رو دارید، نیاز تحقیقاتی/فناورانه یکی از شرکت‌های دانش‌بنیان متقاضی است که توسط صندوق نوآوری و شکوفایی شناسایی و در قالب فراخوان منتشر شده است. لطفاً به موارد زیر توجه فرمایید:

۱) شرکت در این فراخوان تحقیقاتی و ارائه پروپوزال در قالب انفرادی، گروهی، شرکتی یا سازمانی مجاز است. همه پژوهشگران، دانشجویان، دانش‌آموختگان و اعضای هیئت‌علمی دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی، شرکت‌های دانش‌بنیان و فناور و سایر علاقه‌مندان می‌توانند با تدوین و ارسال پروپوزال در این فراخوان شرکت کنند.

۲) پروپوزال‌ها صرفاً باید در چارچوب تدوین‌شده صندوق نوآوری و شکوفایی و **حداکثر تا تاریخ ۱۴۰۲/۱۰/۱۶** در قالب فایل word در سامانه ghazal.inif.ir به آدرس ارسال شوند. پروپوزال‌هایی که در چارچوبی غیراز آن، یا به روش‌های دیگر به دست صندوق برسند، وارد فرایند ارزیابی نخواهند شد.

۳) پس از اتمام مهلت ارسال پروپوزال‌ها، فرایند ارزیابی آن‌ها توسط صندوق نوآوری و شکوفایی آغاز خواهد شد. پروپوزالی که بیشترین تناسب را با الزامات این نیاز تحقیقاتی داشته باشد، انتخاب و به‌عنوان «مجری» برای مذاکرات تکمیلی به شرکت دانش‌بنیان متقاضی معرفی خواهد شد.

۴) در صورت توافق پروپوزال‌دهنده منتخب (مجری تحقیق) و شرکت دانش‌بنیان (متقاضی تحقیق)، قرارداد ۳ جانبه‌ای مابین «صندوق»، «متقاضی» و «مجری» منعقد خواهد شد. در قالب این قرارداد، صندوق نوآوری تا ۵۰ درصد هزینه اجرای طرح تحقیقاتی را به شکل بلاعوض به متقاضی خواهد پرداخت تا به‌طور مرحله‌ای و متناسب با پیشرفت اجرای طرح، در اختیار مجری قرار گیرد.

- ۵) گرچه در این فراخوان، گام‌های کلی برای اجرای تحقیق موردنظر پیش‌بینی و معرفی شده است، اما پیشنهاددهندگان می‌توانند افزون بر برنامه معرفی شده، از هر روش یا فناوری دلخواه و در قالب یک برنامه تحقیقاتی متفاوت برای حل این مسئله تحقیقاتی و دستیابی به اهداف آن استفاده کنند.
- ۶) تدوین و ارسال پروپوزال در قالب این فراخوان، به‌منزله بهره‌مندی از حمایت‌های صندوق نوآوری و شکوفایی نخواهد بود و برای فرستنده حقی ایجاد نمی‌کند. صندوق نوآوری و شکوفایی خود را ملزم به رعایت محرمانگی دانسته و مفاد کلیه طرح‌های ارسالی محرمانه نزد صندوق باقی خواهد ماند.
- ۷) هرگونه سؤال یا ابهام در خصوص این فرایند را با شرکت سامان صدرای دانش‌سرای به‌عنوان کارگزار صندوق در میان بگذارید. (شماره تماس: ۰۲۱-۸۸۴۸۶۴۹۸)



درباره شرکت متقاضی



این شرکت یک شرکت نوآور است که در سال ۱۳۹۷ به عنوان شرکت دانش بنیان مورد تأیید معاونت علمی فناوری ریاست جمهوری قرار گرفت. موضوع اصلی فعالیت شرکت، توسعه و تولید محصولات بر پایه دانش نانو می باشد. تمامی فعالیتها و پروژههای شرکت در حوزههای مواد پیشرفته و نانومواد، توسعه محصولات بر پایه نانوفناوری، تولید و توسعه محصولات بر پایه بیوتکنولوژی می باشد که منجر به خلق فناوری و تولید محصولات دانش بنیان شده است. این مجموعه اولین شرکت دانش بنیان ایرانی است که با بکارگیری توان و دانش بومی موفق به طراحی و تولید کیت های مغناطیسی استخراج نوکلئیک اسید شده است. در این کیت ها از نانوذرات مغناطیسی با پوشش اختصاصی که امکان استخراج نوکلئیک اسید از مایعات و بافت را فراهم می آورد، استفاده شده است. از برنامه های آتی این شرکت توسعه محصولات نانویی از جمله ساخت نانوذرات مغناطیسی با پوشش منحصر به استخراج DNA ژنومیک از نمونه خون کامل و بافت می باشد.

از این رو شرکت بر آن شده است که دانش فنی تولید نانوذرات اختصاصی مذکور را کسب کرده و برای ارتقا پایه های علمی و استفاده از روش های نوین و به روز در سیستم درمانی کشور بکوشد.



ضرورت مسئله

دئوکسی ریبونوکلیک اسید (DNA) نوعی اسید نوکلئیک است که حامل اطلاعات ژنتیکی لازم برای سنتز پروتئین‌ها در سلول‌های بیولوژیکی است و برای رشد و عملکرد طبیعی موجودات ضروری است. تجزیه و تحلیل DNA برای طیف گسترده‌ای از کاربردهای مرتبط با تشخیص بالینی، ژنومیک و ایمنی مواد غذایی به دلیل ویژگی ذاتی و قابلیت‌های فنی آن، حیاتی است. علاوه بر این، آسیب به ساختار اولیه DNA در طول استخراج اغلب منجر به کاهش حساسیت، تکرار پذیری ضعیف یا از دست دادن کامل کاربرد DNA در حوزه‌هایی از جمله تقویت و توالی‌یابی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) می‌شود. با توجه به پیچیدگی نمونه‌های بیولوژیکی و غلظت کم DNA در ماتریکس‌های بیولوژیکی، یک روش مناسب برای خالص‌سازی DNA ضروری است. بنابراین، بکارگیری بهترین روش استخراج DNA با کیفیت بالا ضروری است. تاکنون روش‌های مختلفی مانند استخراج فنل/کلروفرم، رسوب ایزوپروپانول و... برای استخراج DNA استفاده شده است. این روش‌های مرسوم معمولاً با سانتریفیوژ و فیلتراسیون همراه است که مراحل زمانی بوده و فرآیند استخراج را برای کاربر سنگین می‌کند. اخیراً تلاش‌ها برای توسعه روش‌های جدید با حذف چنین مرحله‌ای به جهت ارتقا استخراج DNA در اولویت تحقیقات می‌باشد. پژوهش‌ها نشان داده است، استخراج مغناطیسی DNA مبتنی بر نانومواد به طور گسترده‌تری نسبت به سایر روش‌های استخراج DNA در کاربردهای عملی پذیرفته شده است، زیرا به مصرف حلال آلی کمتری نیاز دارد، هزینه کمتری دارد، شامل مراحل ساده‌تری است و زمان پردازش سریعی دارد. در تحقیقات مولکولی، آزمایشات ژنتیکی و تست‌های تشخیص طبی، تکنیک استخراج DNA از نمونه خون کامل و بافت، همواره از ضروری‌ترین تکنیک‌ها می‌باشد و در حال حاضر در سراسر دنیا اغلب این تکنیک با یکی از روش‌های استفاده از نانوذرات مغناطیسی یا ستون‌های سیلیکایی انجام می‌شود. با توجه به فعالیت مراکز ژنتیک پزشکی که متمرکز بر تشخیص اختلالات و بیماری‌های ژنتیکی است و نیازمندی این حوزه فعالیت به DNA استخراج شده با غلظت و خلوص بالا است و بهره‌بری از شرایطی همچون عدم نیاز به خلاء و سانتریفیوژ و همچنین صرفه جویی در



مسئله اصلی تحقیق

(نیاز تحقیقاتی)

«طراحی و ساخت کیت

استخراج مغناطیسی

DNA ژنومیک از خون

با بازده بالا»



زمان، هزینه و نیروی انسانی از دیگر مزایای مورد استقبال این مراکز می‌باشد، با توجه به مزیت‌های مشهود استخراج به روش مغناطیسی نسبت به روش ستون سیلیکایی، بهینه‌سازی پروتکل کیت استخراج مغناطیسی DNA از نمونه خون همچنان ضرورت دارد. این امر مهم با انتخاب و تهیه نانوذرات مغناطیسی با پوشش و اندازه مناسب، دستیابی به فرمولاسیون، تولید بافرهای مورد نظر و در نهایت ساخت کیت کامل استخراج مغناطیسی DNA امکان‌پذیر می‌باشد.



در تحقیقات مولکولی، آزمایشات ژنتیکی و تست‌های تشخیصی طبی، استخراج DNA از نمونه خون کامل و بافت، همواره از ضروری‌ترین تکنیک‌ها می‌باشد. بطور کلی فرآیند استخراج ژن از سلول شامل ۴ مرحله تخریب دیواره سلول، استخراج DNA، شستشو و رهاسازی ژن استخراج شده می‌باشد. این فرآیند به شرح ذیل می‌باشد:

۱- **مرحله لیز کردن:** در این مرحله دیواره سلول یا بافت (به عبارتی پروتئین‌ها، لیپیدها و پلی‌ساکاریدهای ویروس) تخریب می‌شود که طی آن ماده ژنتیکی یا DNA آزاد شده و جهت استخراج در دسترس قرار می‌گیرد.

۲- **مرحله استخراج DNA:** استخراج DNA جهت آنالیز ژنتیکی برای اهداف علمی، پزشکی و ... الزامی است.

۳- **مرحله شستشو:** سایر اجزای سلول در این مرحله شسته و خارج می‌شود.

۴- **مرحله رهاسازی:** DNA استخراج شده برای تشخیص آماده‌سازی می‌شود.

در حال حاضر در سراسر دنیا اغلب این تکنیک با یکی از روش‌های استفاده از نانوذرات مغناطیسی یا ستون‌های سیلیکایی انجام می‌شود. در استخراج به روش ستون سیلیکا، آزادسازی و بازیابی DNA ژنومیک، طی فرآیند کروماتوگرافی از سلول انجام می‌شود. با وجود اینکه استفاده از روش ستونی در بین مراکز درمانی و تحقیقاتی پیشینه بیشتری دارد؛ اما همراه با معایبی نیز می‌باشد. از جمله این معایب اینکه اولاً استخراج با توجه به مراحل مختلفی که دارد زمانبر و خطاپذیر بوده و احتمال آلوده شدن نمونه بالاست، چرا که در تمامی مراحل با حضور پرسنل اجرا می‌شود و نیاز به دخالت و دقت آن فرد دارد. دوماً ستون‌ها و اقلام مصرفی نظیر کالکشن تیوب‌های مورد استفاده عمدتاً وارداتی هستند که در نتیجه خرید آن و خروج ارز از کشور و همچنین عدم ثبات قیمت ارز، همواره هزینه‌های سنگینی بر دوش مراکز تحقیقاتی و درمانی می‌باشد. سوماً DNA استخراج شده با روش سیلیکایی غلظت بالا و مطلوبی ندارد. لذا بسیاری از آزمایشگاه‌ها از تکنیک قدیمی‌تر و زمان‌برتر جداسازی با نمک استفاده می‌کنند.

اما در مقابل روش ستونی، جدیدترین و به روزترین روش استخراج یعنی استخراج مغناطیسی قرار دارد. این روش از نانوذرات سوپراپارامغناطیس استفاده می‌کند که طی سالیان اخیر توجه بسیاری از شرکت‌های بزرگ بین‌المللی را جهت استخراج و جداسازی آسان و موثر مولکول‌های زیستی جلب کرده است. با



استفاده از یک نانوذره مغناطیسی اختصاصی می‌تواند DNA ژنومیک را با غلظت و خلوص بالا از نمونه خون استخراج کرده و مورد بررسی و آزمایشات بعدی قرار داد. همچنین این نوع استخراج نیاز به خلاء و سانتریفیوژ را مرتفع می‌کند و منجر به کاهش تنش یا نیروهای برشی روی مولکول‌های DNA می‌شود و آن را به حداقل می‌رساند. استفاده از روش استخراج مغناطیسی از نظر صرفه‌جویی در وقت، هزینه و همچنین به کارگیری نیروی انسانی کمتر به مراتب نسبت به سایر روش‌های استخراج به صرفه‌تر است. نانوذرات مغناطیسی انواع مختلفی دارند. پوشش‌های سطحی و مواد شیمیایی مختلف روی هر نوع نانوذره، خاصیت اتصال خاص خود را می‌دهند که می‌توان از آن برای جداسازی و خالص‌سازی مغناطیسی اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها یا سایر مولکول‌های زیستی را به آسانی، مؤثر، مقیاس‌پذیر و البته اختصاصی استفاده کرد. این سهولت و گستردگی استفاده، نانوذرات مغناطیسی را به صورت خودکار و مناسب برای طیف وسیعی از آزمایش‌های کاربردی از جمله آماده‌سازی نمونه برای توالی‌یابی نسل بعدی (NGS)، PCR، تخلیص پروتئین، تشخیص مولکولی و ایمونولوژی و حتی مرتب‌سازی سلول‌های فعال مغناطیسی (MACS) در میان بسیاری دیگر مناسب می‌کند.

با توجه به نیاز مراکز تشخیص ژنتیک پزشکی به غلظت و خلوص بالای DNA استخراج شده، تهیه نانوذرات مغناطیسی با پوشش و اندازه مناسب و سپس ساخت کیت کامل استخراج مغناطیسی DNA ضروری می‌باشد.

گام‌های تحقیق

- ۱- مطالعه و تحقیق به منظور شناخت انواع نانوذرات مغناطیسی با پوشش‌ها و ویژگی‌های ساختاری متفاوت و بافرهای مربوطه و تهیه دستورالعمل استخراج
- ۲- جمع‌بندی فرآیند فرمولاسیون بافرها و دستیابی به بافرهای مورد نیاز
- ۳- خرید و تهیه مواد اولیه با کیفیت جهت تولید
- ۴- تولید کیت و بهینه‌سازی فرآیند استخراج DNA از خون با غلظت بالا
- ۵- آنالیز نتایج تا رسیدن به نتیجه مورد انتظار طرح
- ۶- آزمون و خطا و اصلاح پروتکل تا رسیدن به نتیجه تکرارپذیر
- ۷- ساخت نمونه اولیه کیت مغناطیسی استخراج DNA و ارائه آن به سازمان غذا و دارو
- ۸- تهیه مستندات، تدوین و ارائه گزارش عملیاتی اجرای طرح



سازمان آمار و گణایی

خروجی‌های مورد انتظار تحقیق



- ۱- انتخاب نانوذرات مغناطیسی مناسب برای استخراج DNA از نمونه خون با غلظت بالا
- ۲- دستیابی به فرمولاسیون و تولید بافرهای مورد نیاز جهت فرآیند استخراج DNA از خون
- ۳- بهینه‌سازی پروتکل کیت استخراج مغناطیسی DNA از نمونه خون با نسبت طیف‌های ۲۶۰ به ۲۸۰ و ۲۶۰ به ۲۳۰ نزدیک به ۲
- ۴- تکرار پذیری نتایج آزمون‌های کیفیت ذکر شده در بخش الزامات طرح و دستیابی به نتیجه قابل قبول مطابق با موارد زیر:
 - آزمون همبستگی از طریق تست آماری همبستگی با کیت مرجع انجام شود (میزان قابل قبول ارتباط بالای ۹۵ درصد است).
 - آزمون خطی بودن انجام شود، میزان قابل قبول Bias کمتر از ۱۰ درصد است.
 - آزمون‌های بررسی دقت سنجش انجام شود، میزان قابل قبول CV کمتر از ۱۰ درصد است.
 - آزمون واکنش متقاطع انجام شود، میزان قابل قبول واکنش کمتر از ۵ درصد است.
 - آزمون تداخل انجام شود، میزان قابل قبول واکنش کمتر از ۵ درصد است.

الزامات تحقیق



- ۱- تیم متخصص در زمینه زیست‌شناسی و بیوشیمی مسلط بر تست‌های مولکولی و شناسایی ویروس‌ها با توانایی عیب‌یابی فرآیندهای سنتز و بهینه‌سازی پروتکل و استفاده از روش‌های تخصصی استخراج گونه‌های زیستی
- ۲- دسترسی به دستگاه Real Time و دستگاه ناندراپ
- ۳- دسترسی به نمونه حقیقی انسان
- ۴- آزمایشگاه تحقیقاتی مجهز به تجهیزات و مواد موردنیاز جهت سنتز نانوذرات مغناطیسی و بافرها

گلوگاه‌های احتمالی

از چالش‌های این طرح می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- ۱- گزینش نانوذرات مغناطیسی با گروه‌عاملی سطحی مناسب جهت استخراج DNA از خون از بین نانوذرات مغناطیسی تولید شده
- ۲- بهینه‌سازی خصوصیات بافرهای مورد نیاز برای استخراج DNA از خون
- ۳- هماهنگی عملکردی بین نانوذرات مغناطیسی ساخته‌شده با بافرهای تولیدی جهت استخراج DNA از خون با غلظت بالا و نسبت طیفی ۲۶۰ به ۲۸۰ نزدیک به ۲

زیرساخت‌ها و تجهیزاتی که متقاضی می‌تواند در اختیار مجری قرار دهد

- ❖ نانوذرات مغناطیسی با پوشش‌های اختصاصی ویژه استخراج نوکلئیک‌اسید.
- ❖ بافرهای لازم با فرمولاسیون‌های مختلف جهت لیز، شستشو و رهایش نوکلئیک‌اسید
- ❖ رک مغناطیسی
- ❖ تجهیزات و مواد شیمیایی اولیه

معیارهای ارزیابی و انتخاب مجری

تیم متخصص متشکل از افراد با رشته و مقطع تحصیلی و مهارت‌های مختلف به شرح ذیل باشد:

- ۱- دکتری بیوشیمی مسلط بر استخراج گونه‌های زیستی و مایعات بدن
- ۲- دکتری ویروس‌شناسی مسلط بر استفاده از روش‌های تخصصی سرولوژی و مولکولی در مطالعه و شناسایی ویروس‌ها
- ۳- کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی مولکولی مسلط بر تست‌های مولکولی
- ۴- کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی/محض مسلط بر فعالیت‌ها و عملکرد بافرهای استخراج



تسهیم مالکیت فکری

- **مالکیت معنوی:** مجری در مالکیت معنوی ناشی از اجرای تحقیق سهیم خواهد بود و انتشار مقاله مشترک توسط مجری و متقاضی در ژورنال‌های داخلی و خارجی، ارائه مقاله در کنفرانس‌ها و سمینارها با موافقت و اشاره به نام همه دست‌اندرکاران مجاز خواهد بود.
- **مالکیت منافع مادی:** با توجه به مدل کسب‌وکار شرکت متقاضی، منافع مالی ناشی از توسعه این فناوری تماماً متعلق به شرکت متقاضی بوده و مجری صرفاً حق‌الزحمه اجرای پروژه تحقیقاتی را دریافت خواهد کرد.

ارسال پروپوزال

پروپوزال‌ها صرفاً باید در چارچوب موردنظر صندوق نوآوری و شکوفایی، تدوین و حداکثر تا **تاریخ ۱۴۰۲/۱۰/۱۶** در سامانه غزال صندوق نوآوری و شکوفایی به نشانی ghazal.inif.ir ثبت شوند. پروپوزال‌هایی که در چارچوبی غیراز آن، یا به روش‌های دیگر به دست صندوق نوآوری و شکوفایی برسند، وارد فرآیند ارزیابی نخواهند شد.



تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، خیابان پردیس،

زاینده‌رود شرقی، شماره ۲۴، مجتمع شکوفایی

شرکت‌های دانش‌بنیان

کدپستی: ۱۹۹۱۹۱۳۱۱۱

تلفن: ۰۲۱-۴۲۱۷۰۰۰۰

پست الکترونیکی: info@inif.ir



Challenge.ir

تهران، گیشا، خیابان سیزدهم، نبش خیابان کسروی،

پلاک ۹

تلفن: ۰۲۱۸۸۴۸۶۴۹۸

پست الکترونیکی: Info@Danasharifco.ir