

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

فراخوان

۱۵

مهندسی سویه‌ی نو ترکیب بیان کننده‌ی آنزیم‌های هیدانتوئیناز و کربامویلاز



مهلت ارسال پروپوزال‌ها:

۱۳۹۹/۱۱/۰۸

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 متقاضی معرفی خواهد شد.



هدف اصلی انجام این پروژه، طراحی یک سیستم آنزیمی است که در آن یک سویه باکتریایی نو ترکیب صنعتی بتواند با ترشح آنزیم، پیش ماده هیدانتوئین را به پاراهیدروکسی فنیل گلیسین تبدیل کند. انتظار می‌رود:

در فاز اول این پروژه تحقیقاتی، تیم مجری با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک، ژن‌های رمزکننده دو آنزیم هیدانتوئیناز و کربامویلاز را به ژنوم میزبان مناسب اضافه کرده و یک سویه نو ترکیب فعال ایجاد کند.

در فاز دوم پروژه، تیم مجری شرایط رشد سویه نو ترکیب و تولید آنزیم توسط این سویه را در محیط کشت صنعتی، بهینه‌سازی کند.



بسمه 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 شرکت‌های دانش‌بنیان و متعاقباً، گروه‌های پژوهشی و فناور توانمند برای اجرای طرح‌های تحقیقاتی و توسعه فناوری‌های مورد نیاز این شرکت‌ها را شناسایی می‌نماید.

آنچه پیش رو 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 فرمائید:

- 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 علاقمندان می‌توانند با تدوین و ارسال پروپوزال در این فراخوان شرکت کنند.
- پروپوزال‌ها صرفاً باید در چارچوب تدوین شده صندوق نوآوری و شکوفایی و حداکثر تا تاریخ ۸ بهمن ماه ۱۳۹۹ در قالب Word در سامانه غزال به آدرس <https://ghazal.inif.ir/grant> ارسال شوند. پروپوزال‌هایی که در چارچوبی غیر از آن، یا به روش‌های دیگر به دست صندوق برسند، وارد فرایند ارزیابی نخواهند شد.
- 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 به عنوان «مجری» برای مذاکرات تکمیلی به شرکت دانش‌بنیان متقاضی معرفی خواهد شد.
- در صورت توافق پروپوزال دهنده 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 ۷۰ درصد هزینه اجرای طرح تحقیقاتی را به شکل بلاعوض به متقاضی خواهد پرداخت تا به طور مرحله‌ای و متناسب با پیشرفت اجرای طرح، در اختیار مجری قرار گیرد.
- گرچه در این فراخوان، گام‌های کلی برای اجرای تحقیق موردنظر پیش‌بینی و معرفی شده است، اما پیشنهاددهندگان می‌توانند 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.
- تدوین و ارسال پروپوزال در قالب این فراخوان، به منزله 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.
- هرگونه سؤال یا ابهام در خصوص این فرایند را با شرکت ارزیابان فناوری امیرکبیر به عنوان کارگزار صندوق در میان بگذارید (شماره‌های تماس: ۰۹۹۱۲۳۲۴۷۶۲، ۰۹۹۱۲۳۲۴۷۶۲ و ۰۹۹۱۲۳۲۴۷۶۲-۸۶۰۱۳۸۶۲-۰۲۱).

درباره شرکت دانش بنیان متقاضی

این فراخوان به درخواست یک شرکت دانش بنیان تولیدی نوع ۲ تدوین شده است. این شرکت به صورت رسمی در سال ۱۳۹۴ با هدف تولید انواع حلال های شیمیایی و انتقال تکنولوژی در صنایع شیمیایی و دارویی تشکیل شده است. شرکت پس از شروع به فعالیت خود با تولید حلال سبز از خانواده استال ها موفق به کسب مجوز دانش بنیانی شده است و در حال حاضر تولیدکننده طیف متنوعی از حلال ها و مواد شیمیایی جهت مصرف در صنایع دارویی، غذایی و شیمیایی است.

ضرورت مسئله

اسیدهای آمینه فعال نوری بصورت گسترده‌ای بعنوان مواد واسطه‌ی دارویی برای تولید انتی‌بیوتیک‌های نیمه‌سنتزی، پپتیدها، هورمون‌ها و حشره‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. از بین این اسیدهای آمینه، پاراهیدروکسی فنیل گلايسين (D-p-HPG) بعنوان زنجیره جانبی برای پنی‌سیلین‌های نیمه‌سنتزی و سفالوسپورین‌هایی مثل آمپی‌سیسلین و آموکسی‌سیلین استفاده می‌شود.

یکی از روش‌های تولید این ماده، تبدیل پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین (D-p-HPH) به مخلوط راسیمیک پاراهیدروکسی فنیل گلايسين (از طریق فرآیند هیدرولیز) است که لازم است به اسید آمینه‌های خالص نوری تفکیک شوند که فرآیند دشوار و هزینه‌بری به شمار می‌آید. در مقابل این فرایند، تولید آنزیمی پاراهیدروکسی فنیل گلايسين از پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین بشدت مورد توجه قرار گرفته است. در فرایند تولید آنزیمی، ابتدا پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین بصورت انتخابی توسط آنزیم هیدانتوئیناز-d (باشماره شناسه بین‌المللی ۲,۲,۵,۳.E.C) هیدرولیز شده و سپس برای حذف کربامویل و تولید پاراهیدروکسی فنیل گلايسين با آنزیم کربامویلاز بیشتر هیدرولیز می‌شود. مزیت عمده‌ی این سیستم این است که راسیمیزاسیون ساختار L به D در پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین بصورت خودبخودی تحت شرایط قلیایی انجام شده و بازدهی تئوری ۵۰ درصدی روش شیمیایی را به بازدهی ۱۰۰ درصدی تبدیل می‌کند. مشکل اساسی این روش هزینه‌ی بالای تولید یا تهیه آنزیم خالص موردنیاز فرایند تبدیل است.

برای حل این مشکل طی دو دهه‌ی اخیر تلاش‌های زیادی توسط تولیدکنندگان صنعتی انتی‌بیوتیک‌ها انجام شده است تا با استفاده از میکروارگانیزم‌های صنعتی یا دستکاری ژنتیکی شده که قابلیت تولید این دو آنزیم را داشته و بدون نیاز به خالص‌سازی آنها در طی فرایند رشد، خود این آنزیم‌ها مستقیماً بتوانند با محیط کشت و فرایند ارزان قیمت، پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین را به پاراهیدروکسی فنیل گلايسين تبدیل کنند. بیشتر میکروارگانیزم‌هایی که برای این منظور جداسازی شده‌اند بومی بوده و کمتر در دسترس برای خرید یا استفاده تجاری هستند. اخیراً گزارش‌های محدودی در رابطه با ساخت سویه‌های نو ترکیب بر پایه باکتری /شریشیا کلی^۱ گزارش شده که به واسطه برخورداری از بیان بالای ژن‌های هر دو آنزیم، می‌توانند پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین را به پاراهیدروکسی فنیل گلايسين تبدیل کنند. پاراهیدروکسی فنیل گلايسين حاصل از این فرآیند آنزیمی، در ادامه

مسئله اصلی تحقیق

(نیاز تحقیقاتی):

مسئله این تحقیق عبارت است از «مهندسی سویه نو ترکیب بیان‌کننده آنزیم‌های هیدانتوئیناز و کربامویلاز مورد استفاده در سنتز ماده اولیه آموکسی‌سیلین»

1- *Escherichia coli*

«مهندسی سوییچ نو ترکیب بیان کننده ی آرزیم های هیدانتوئیناز و کربامویلاز»

به پراهایدروکسی فنیل گلایسین متیل استر تبدیل شده که پیش ماده تولید آموکسی سیلین است. در حال حاضر برای تکمیل زنجیره تولید آنتی بیوتیک هایی همچون آموکسی سیلین در کشور، پیش ماده پراهایدروکسی فنیل گلایسین متیل استر از طریق واردات تامین می شود. طبق اطلاعات به دست آمده از گمرک کشور سالانه ۱۲۵ تن پراهایدروکسی فنیل گلایسین متیل استر به ارزش ۱.۸ میلیون دلار وارد کشور می شود که در صورت دستیابی به دانش فنی تولید آرزیمی، نیاز وارداتی کشور به این ماده اولیه برطرف می شود.



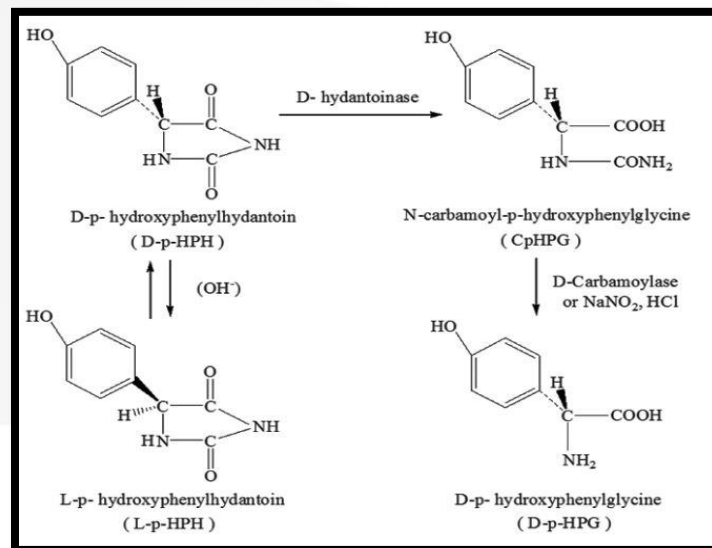
نمودار ۱. نمای شماتیک مسیر چند مرحله ای تولید آموکسی سیلین

مشروح مسئله تحقیقاتی

برای طراحی یک سیستم آنزیمی مبتنی بر سویه میکروبی نو ترکیب که بتواند هیدانتوئین را به پاراهیدروکسی فنیل گلايسین تبدیل کند باید دو فاز پژوهشی در نظر گرفته شود:

فاز اول: این فاز شامل دستیابی به سویه نو ترکیب است که در آن تیم مجری در اولین مرحله باید توالی ژن بیان‌کننده دو آنزیم هیدانتوئیناز و کربامویلراز را در سویه‌های با بیان بالا شناسایی کند. در مرحله بعد تیم مجری ژن‌ها را از ژنوم باکتری‌های مربوطه جدا کرده و به وکتورهای بیانی منتقل می‌کند. آخرین مرحله از فاز اول نیز، وارد کردن وکتورهای بیانی به میزبان میکروبی مناسب و تایید بیان ژن در این باکتری، توسط تیم مجری است.

فاز دوم: این فاز شامل بهینه‌سازی رشد و فعالیت آنزیمی سویه نو ترکیب در محیط حاوی هیدانتوئین است که در طی آن تیم مجری باید با بررسی شرایط مختلف، شرایط رشد و فعالیت سویه نو ترکیب را جهت تولید محصول با راندمان و خلوص مناسب بهینه‌سازی کند.



شکل (۱): مسیر شیمیایی واکنش تولید پاراهیدروکسی فنیل گلايسین از پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین

در مجموع، هدف اصلی این پروژه، ساخت یک سویه میکروبی نو ترکیب حاوی دو آنزیم هیدانتوئیناز و کربامویلراز و سپس بهینه‌سازی شرایط رشد و فعالیت سویه در حضور هیدانتوئین و تولید پاراهیدروکسی فنیل گلايسین با خلوص ۹۹ درصدی است.

گلوگاه‌های احتمالی پروژه

- به نظر می‌رسد چالش احتمالی در اجرای این طرح تحقیقاتی عبارت است از:
 - دسترسی به سویه‌های وحشی تولیدکننده دو آنزیم هیدانتوئیناز و کربامویلاز

راه‌حل‌ها و پیشنهادهای غیر جذاب

- به دلایل مختلف راه‌حل زیر جذاب و قابل پذیرش نمی‌باشد:
 - استفاده از سویه‌های غیرنو ترکیب برای انجام واکنش آنزیمی



خروجی‌های مورد انتظار تحقیق

- دستیابی به سویه میکروبی نو ترکیب، برای تولید انبوه و صنعتی دو آنزیم مورد نیاز فرایند تبدیل پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین به پاراهیدروکسی فنیل گلیسین
- دستیابی به شرایط بهینه تولید پاراهیدروکسی فنیل گلیسین از پاراهیدروکسی فنیل هیدانتوئین در مقیاس آزمایشگاه (فرمانتور آزمایشگاهی) با قابلیت ارتقا به مقیاس صنعتی
- تخلیص پاراهیدروکسی فنیل گلیسین از سیستم آنزیمی به صورت پودر



الزامات تحقیق

- شرایط و محدودیت‌های مربوط به ساخت یک سویه میکروبی نو ترکیب حاوی دو آنزیم هیدانتوئیناز و کربامویلاز عبارت است از:
 - خلوص ۹۹ درصدی پاراهیدروکسی فنیل گلیسین

معیارهای ارزیابی و انتخاب مجری

- تحصیلات و سوابق پژوهشی تیم تحقیقاتی و تناسب آن با مساله
- دسترسی به تجهیزات آزمایشگاهی استاندارد و سایر الزامات اجرای تحقیق
- زمان و هزینه‌های اجرای تحقیق



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 دست اندرکاران مجاز خواهد بود.
- **مالکیت منافع مادی:** با توجه به مدل کسب و کار شرکت متقاضی، منافع مالی ناشی از توسعه این فناوری به طور کامل متعلق به شرکت متقاضی بوده و مجری صرفاً حق الزحمه اجرای پروژه تحقیقاتی را دریافت خواهد کرد.

ارسال پروپوزال

پروپوزال‌ها صرفاً باید در چارچوب مورد نظر صندوق نوآوری و شکوفایی، تدوین و حداکثر تا تاریخ ۸ بهمن ماه ۱۳۹۹ در سامانه غزال به آدرس <https://ghazal.inif.ir/grant> ارسال شوند. پروپوزال‌هایی که در چارچوبی غیر از آن، یا به روش‌های دیگر به دست صندوق برسند، وارد فرایند ارزیابی نخواهند شد.



تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، خیابان پردیس، زاینده رود
شرقی، شماره ۲۴، مجتمع شکوفایی شرکت های دانش بنیان
کد پستی: ۱۹۹۱۹۱۳۱۱۱
تلفن: ۰۲۱-۴۲۱۷۰۰۰۰
پست الکترونیک: info@inif.ir



www.afzatech.ir

۰۲۱-۸۶۰۱۳۸۵۹-۸۶۰۱۳۸۶۲

آدرس: شهرآرا، خیابان پاتریس لومومبا، نبش کوچه
برادران شهید آبشوری (هفدهم)، ساختمان پارس،
پلاک ۱۶۸، طبقه ۲، واحد ۳