

به نام خدا

برادر ارجمند جناب آقای دکتر طاووسی

مدیرکل محترم دفتر تخصصی پزشکی جهاددانشگاهی

با عرض سلام و آرزوی توفیق،

با سپاس از اعتماد جنابعالی در خصوص نظارت طرح « لاین سلولی CHO » ، ارزیابی اینجانب از گزارش ارایه شده در شهریورماه ۱۴۰۱ به شرح ذیل تقدیم می گردد:

طرح فناوریهای حاضر به ارائه ردهی سلولی تولیدکنندهی پروتئین نو ترکیب داربی پوئتین به عنوان یک جایگزین برای hrEPO می پردازد. ردهی سلولی انتخابی، سلول های CHO-DF44 که در ژن DHFR دارای جهش هستند و سازهی ژنی موردنظر که علاوه بر ژن پروتئین نو ترکیب، ژن DHFT را هم دارد، به انتخاب متابولیکی سلول های مطلوب کمک می کند. بعد از طراحی، ساخت و تایید سازهی ژن، حاوی توالی نوکلئوتیدی معادل توالی پروتئینی این دارو زیست، سلول های ردهی انتخابی با ناقل مناسب ترنسفکت شده اند و بعد از انتخاب کلون با بیشترین بیان این سازهی ژنی، تولید داربی پوئتین در سطح RNA و پروتئین سنجیده شد. به دنبال این مرحله سلول ها با سازهی حاوی ژن مورد نظر، EGFP و LoxP ترنسفکت شدند و مجدداً برای بررسی بیان پروتئین نو ترکیب (کیفی و کمی) مورد آزمایش قرار گرفتند.

در همهی مراحل مربوط به مهندسی ژنتیک، نتیجهی موردنظر انجام شده و گزارش ارایه شده (شهریورماه ۱۴۰۱) مورد تایید است. کنترل ها به درستی و در جای مناسب انتخاب شده اند.

پیشنهادهای:

با توجه به اینکه مجری محترم طرح در انتهای گزارش اشاره داشتند که تست های بررسی کمی و کیفی، مجدداً تکرار خواهد شد، پیشنهادی در جهت افزایش تاییدیه های بیشتر عنوان می شود، همچنین در نظر گرفته شود که زمان های مورد بررسی برای بیان در گزارش کنونی کوتاه است:

پیشنهاد می شود در جهت تایید دو مفهوم Productivity و production stability موارد زیر شامل viable cell densities (VCD) از روز ابتدایی تا روز ۸ ام (هر روز)، تیترا داربی پوئتین از روز ۳ ام تا روز ۸ ام (هر روز) و specific productivity از پایان هفته ی اول به مدت ۱۲ هفته (هر هفته) در pool های مختلف سنجیده شود. انجام این مسیر به انتخاب pool مناسب که تولید بالا را در طی یک زمان حفظ کرده است، کمک شایانی می کند.

اصلاحات:

تعداد تکرارها در متن گزارش نشده است و در مواردی در متن بعضی غلط‌های تایپی و جابه جایی اعداد بر روی شکل‌ها تصحیح شود. در تکرارهای بعد نیاز به عکس‌های با کیفیت از نتیجه‌ی تکنیک وسترن بلاتینگ است.

برند مواد مصرفی و منابع نیز در گزارش آورده شود.

پرسش:

در مورد یک مشاهده نیز، نیاز به توضیح مجری محترم است:

در مورد دو دسته‌ی جدا شده با FACS که ده درصد و سی درصد هستند، آیا دسته‌ی ده درصدی رنگ سبز بیشتری نسبت به دسته‌ی سی درصد نشان دادند؟ توجیه شما برای مشاهده‌ی بیان بیشتر mRNA و پروتئین در این دسته نسبت به دسته‌ی سی درصد چیست؟

در مورد ادامه‌ی روند کار نیز به غیر از توضیحات اندکی که ذکر شده، لطفاً بیشتر توضیح داده شود. به مراحل تخلیص و بررسی فعالیت بیولوژیک در پروپوزال فقط اشاره شده است.

با احترام



حمیدرضا بیدخوری

ناظر طرح

۲۶ شهریورماه ۱۴۰۱