طرح‌های دکتری و پسادکتری

در این بخش هر یک از طرح‌های دکتری و پسادکتری به صورت مختصر توضیح داده شده‌اند. برای اطلاعات بیشتر ذیل هر عنوان به فایل" احصاء اولویت‌های پژوهشی حوزه داروهای مبتنی بر نوکلئیک اسید و ژن‌درمانی" مراجعه شود.

۱. توسعه پلت‌فرم‌های جدید دست‌ورزی ژنتیکی

اهمیت پروژه:

در حالیکه فراورده‌های نسل اول ژن درمانی بیشتر بر مکانیسم افزودن یک ژن درمانگر استوارند، نسل بعدی ژن درمانی بر مهندسی و ویرایش دقیق ژنوم متمرکز است. تحقیقات این حوزه با شتاب بالایی در حال توسعه است به طوریکه اولین بار فراورده‌های مبتنی بر ویرایش ژنوم در سال ۲۰۱۰ با مطالعه‌ای پیرامون ویروس HIV وارد آزمایشات بالینی شدند. مطالعه مذکور، مربوط به مهندسی سلول‌های T آلوده به ویروس HIV برای درمان این عفونت در مبتلایان به ایدز بود. اولین مثال ورود به بازار در درمان بیماری‌های مونوژنیک نیز فراورده دارویی مبتنی بر کریسپر برای درمان کم خونی داسی شکل و بتا تالاسمی بود که توانست مجوز سازمان‌های نظارتی را در اواخر سال ۲۰۲۳ کسب نماید.

به طور کلی فناوری‌های نوین برای اصلاحات دقیق ژنی با کارایی بالا و off-target کم از طریق روش‌های مختلفی چون سیستم‌های مبتنی بر نوکلئاز مانند CRISPR-Cas، ZFN و TALEN، ویرایشگرهای بازی، پرایم ادیتورها و ترنسپوزون‌های مرتبط با کریسپر از حوزه‌های مهم تحقیقات مهندسی ژنتیک محسوب می‌شوند که توسعه آن‌ها و رفع نواقص و چالش‌های موجود برای افزایش دقت و نیز بهره‌وری در فراورده‌های ژن درمانی ضروری است.

روش‌های مختلفی توسط دانشمندان این حوزه برای بهبود فناوری‌های مذکور در حال انجام است. برای مثال برای کاهش میزان off-target در سیستم‌های مبتنی بر کریسپر بر مهندسی پروتئین Cas از طرق متفاوتی چون روش‌های تکامل جهت‌دار استفاده شده است. همچنین برای رفع محدودیت‌های ناشی از لزوم وجود توالی PAM برای هدفگیری ناحیه موردنظر در ژنوم، بر روی گسترده کردن توالی‌هایPAM قابل شناسایی توسط این پروتئین مطالعاتی انجام شده است. چالش مهم این سیستم کاهش کارایی به هنگام افزایش اختصاصیت نوکلئازی است. محققان در حال تلاش برای حفظ بازدهی برش در عین افزایش اختصاصیت در سیستم CRISPR-Cas هستند.

از طرفی فناوری‌های ویرایش مبتنی بر باز ادیتورها و پرایم ادیتورها نیز هنوز در ابتدای مسیر خود هستند و با چالش‌های متفاوتی همراهند. در برخی مطالعات از روش‌های مبتنی بر یادگیری ماشین برای افزایش کارایی این سیستم‌ها استفاده شده است. به طور کلی امکان ویرایش دقیق یک ناحیه ژنی در کروموزوم یکی از اهداف ایده آل در ژن درمانی محسوب می‌شود که دستیابی به این هدف مستلزم توسعه پلت‌فرم‌های جدید دست‌ورزی ژنتیکی و رفع چالش‌های سیستم‌های موجود است.

علاوه بر فناوری‌های ویرایش دقیق ژنوم، امروزه استفاده از دیگر پلت‌فرم‌های دست‌ورزی ژنتیکی با هدف تولید یک محصول ژن درمانی در سطح گسترده‌ای رواج یافته است. طراحی وکتورهای جدید برای مهندسی ژنتیک سلول هدف از این جمله است. توسعه وکتورهای ویروسی یوکاریوتی نسل جدید که زیست ایمنی افزایش یافته‌ای دارند یکی از این موارد است که چالش‌هایی چون خطر ابتلا به سرطان در اثر درج تصادفی توالی ویروسی در ژنوم سلول هدف را کاهش داده است. نسل جدید لنتی‌ویروس‌ها و رتروویروس‌های SIN از این قبیل هستند. علاوه بر وکتورهای ویروسی یوکاریوتی، استفاده از باکتریوفاژها به عنوان وکتور در ژن درمانی سالها تحت تحقیق و توسعه بوده است. باکتریوفاژها تا مدت‌ها تنها به عنوان عوامل عفونی که میزبان باکتریایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، در نظر گرفته می‌شدند. با این حال، مطالعات اخیر شواهد قانع‌کننده‌ای ارائه می‌کنند که نشان می‌دهد این ویروس‌ها می‌توانند با موفقیت با سلول‌های یوکاریوتی در اتصال، ورود و بیان ژن‌های خود تعامل داشته باشند. در حال حاضر، باکتریوفاژها به طور گسترده در زمینه‌های مختلف بیوتکنولوژی و پزشکی استفاده می‌شوند. مطالعات زیادی وجود دارد که اثربخشی و ایمنی استفاده از ناقل‌های مبتنی بر فاژ را به عنوان یک وسیله انتقال سیستمیک ژن‌های درمانی و داروها در درمان بیماری‌های مختلف از جمله سرطان تایید می‌کند. باکتریوفاژهای مهندسی شده، و همچنین ویروس‌های یوکاریوتی، کارایی بسیار بیشتری را در انتقال و بیان ژن در سلول‌های سرطانی در مقایسه با روش‌های انتقال ژن غیر ویروسی نشان می‌دهند.

در عین حال، ناقل‌های مبتنی بر فاژ، بر خلاف ناقل‌های مبتنی بر ویروس‌های یوکاریوتی، هیچ تروپیسم طبیعی برای سلول‌های پستانداران ندارند. بنابراین، چیزی که فاژ را از سایر ناقل‌های انتقال ژن ویروسی متمایز می‌کند، ایمنی آنها برای استفاده انسانی و نیز سهولت نسبی بیان مولکول‌های خارجی بر سطح بیرونی فاژ است که تحویل هدفمند ژن را ساده‌تر می‌نماید. ویژگی دوم همچنین فاژ را به یک انتخاب محبوب برای کشف اهداف ژن‌درمانی از طریق تکامل هدایت شده تبدیل می‌کند. با این حال استفاده از فاژ در ژن‌درمانی همچنان با چالش‌های مختلفی همراه است که قابل توجه ترین آن‌ها راندمان کمتر در تحویل ژن در مقایسه با ویروس‌های حیوانی، پایداری ناقل، و تحریک ایمنی نامطلوب است.

هدف این پروژه حمایت از پژوهشگرانی است که به طور کلی بر توسعه پلت‌فرم‌های جدید دست ورزی ژنتیکی با هدف تولید یک محصول ژن درمانی تمرکز دارند.

۲. طراحی و بررسی تست‌های in- vitro و in-vivo جهت بررسی کارایی و ایمنی کاندیدهای ژن درمانی و نیز جهت بررسی صحت توالی‌های تغییر یافته و میزان off-target در فرایندهای ویرایش ژنوم

اهمیت پروژه:

در فرایند تولید فراورده‌های ژن درمانی و داروهای نوکلئیک اسید استفاده از آزمایشات مختلف جهت اطمینان از کارایی (potency) و نیز ایمن بودن فراورده دارویی اهمیت بالایی دارد. برای مثال اطمینان از نبود ناخالصی‌های مختلف از جمله ویروس‌های وحشی، DNA باقی مانده و ... از موارد مهم گرفتن تاییدیه جهت استفاده از کاندید دارویی در مطالعات بالینی است. ایجاد و طراحی یک تست potency می‌تواند کاری زمانبر باشد. مطالعات مختلفی در این حوزه در حال انجام است. برای مثال در یک مطالعه نوعی تست in-vitro مبتنی بر سلول را با استفاده از بررسی انواع رده‌های سلولی مختلف ارزیابی نموده و به سیستمی با بهترین عملکرد از لحاظ صحت، حساسیت و تکرارپذیری دست یافته‌اند. علاوه بر این در مواردی که از سیستم‌های ویرایش ژنوم مانند سیستم CRISPR /Cas یا سایر ویرایشگرهای بازی یا پرایم ادیتورها در ژن درمانی استفاده می‌شود، احتمال بروز برش‌ها یا جهش‌های ناخواسته در مکان‌های تصادفی روی ژنوم وجود دارد. برررسی این موارد اولا جهت اطمینان از صحت توالی در فراورده تولیدی و ثانیا جهت بررسی میزان خطای احتمالی در سیستم ویرایشگر استفاده شده و امکان مقایسه سیستم‌های مختلف و انتخاب کم‌خطاترین آن‌ها را فراهم می‌نماید. استفاده از روش‌های توالی‌یابی نسل جدید کاربرد زیادی در این بخش دارد. هر چند در برخی مطالعات طراحی تست‌هایی مبتنی بر مدل‌های سلولی یوکاریوت یا پروکاریوت و یا روش‌های اپتیکی نقشه برداری ژنوم نیز دیده می‌شود.

هدف این پروژه حمایت از پژوهشگرانی است که بر روی طراحی و مقایسه تست‌های لازم با کاربردهای مذکور با هدف رفع خلاها و انتخاب روش‌های نوین با حساسیت، تکرارپذیری و نیز صرفه اقتصادی با توجه به امکانات داخل کشور فعالیت دارند.

۳. طراحی سیستم‌های انتقال ژن با قابلیت القای کنترل شده

اهمیت پروژه:

سیستم‌های تحویل ژن نقش مهمی در انتقال مواد ژنتیکی به سلول‌های هدف دارند و به محققان اجازه می‌دهند بیان ژن را برای اهداف مختلف دستکاری کنند. به طور کلی سیستم‌های انتقال ژن را از حیث نحوه بیان ژن درمانگر به دو دسته سیستم‌های بیان پایدار ژن و سیستم‌های بیان القایی ژن می‌توان تقسیم نمود.

سیستم‌های بیان القایی ژن نسبت به سیستم‌های بیان پایدار در طیف گسترده‌ای از حوزه‌های تحقیقاتی پایه و کاربردی، از جمله ژنومیکس کاربردی، ژن درمانی، مهندسی بافت، تولید زیست‌داروهای پروتئینی و کشف دارو ترجیح داده می‌شوند. برتری این سیستم‌ها به این دلیل است که عمدتاً برگشت پذیر و قابل کنترل هستند؛ بنابراین برای استفاده انعطاف پذیرتر خواهند بود. علاوه بر این، در مقایسه با سیستم‌های بیان پایدار، به طور کلی کارایی بالاتری دارند و عوارض جانبی کمتری مانند مرگ سلولی و تاخیر در رشد یا تمایز، و یا عملکرد خارج از هدف خواهند

داشت. مثال‌های مختلفی برای سیستم‌های با قابلیت القای بیان در سلول‌های پستانداران برای ژن درمانی وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به پروموترهای مبتنی بر تتراسایکلین اشاره نمود.

با توسعه این نوع روش‌ها محققان امکان طراحی سیستم‌های چند ژنی با قابلیت القای هر ژن به صورت کنترل‌شده را برای دستیابی به اهداف مختلف در ژن درمانی خواهند داشت. هدف این پروژه حمایت از پژوهشگرانی است که با بررسی سیستم‌های مختلف القای بیان کنترل شده و نیز توسعه و رفع چالش‌های موجود، از این ابزار برای تحقیقات مربوط در ژن درمانی استفاده کنند.

٤. روش‌های انتقال ژن در مهندسی بافت برای تمایز سلولی

اهمیت پروژه:

یکی از حوزه‌های علمی مشاهده شده در فرایند علم‌سنجی ژن درمانی، استفاده از روش‌های مختلف انتقال ژن در مهندسی بافت می‌باشد. به طور کلی، در مهندسی بافت، انتقال ژن‌ها به سلول‌های بنیادی جهت تمایز آن‌ها به سلول‌های تخصصی یکی از موضوعات مهم است. برای مثال انتقال هسته سلولی سوماتیک و برنامه‌ریزی مجدد ژنتیکی دو روش کلی در این حوزه محسوب می‌شوند. در روش اول، هسته یک سلول تمایز یافته (سلول بالغ) به سلول تخمک بدون هسته منتقل می‌شود. از این روش در فرایندهای شبیه سازی استفاده شده است. در روش دوم ژن‌های مصنوعی به سلول‌های بنیادی وارد می‌شوند. این ژن‌ها می‌توانند فاکتورهای رونویسی مانند Oct3/4، Sox2 و Nanog باشند و یا اسیدنوکلئیک‌هایی باشند که توانایی تنظیم و تغییر بیان ژن‌های مختلف دخیل در فرایند تمایز سلولی را دارند. برای مثال در برخی مطالعات از انتقال MicroRNAها برای این مهم استفاده شده است. این تغییرات ژنتیکی باعث تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های تخصصی می‌شود. در برخی مواقع نیز هدف انتقال فاکتورهای مناسب مانند ژن‌های کدکننده برخی هورمون‌های رشد به بافت آسیب‌دیده برای ترمیم مجدد بافت می‌باشد.

علاوه بر استفاده از سیستم‌های دلیوری غیر ویروسی در مهندسی بافت در برخی مطالعات بالینی استفاده از وکتورهای ویروسی حاوی هورمون‌های رشد برای اهداف مختلفی مانند ترمیم زخم نیز دیده می‌شود.

به طور کلی انتخاب فاکتور ژنتیکی مناسب، روش دلیوری صحیح، داربستی با ویژگی‌های زیستی و فیزیک وشیمیایی مناسب و... اهمیت بالایی در دستیابی به هدف نهایی در مهندسی بافت دارد. در این پروژه از پژوهشگرانی که با استفاده از روش‌های نوآورانه در حال فعالیت در این حوزه هستند حمایت خواهد شد.

٥. مهندسی کپسید و گلیکوپروتئین‌های غشایی وکتورهای ویروسی با قابلیت استفاده بالینی در ژن درمانی برای بهبود عملکرد، فرار از سیستم ایمنی بدن و تحویل هدفمند

اهمیت پروژه:

در حال حاضر پس از دهه‌ها توسعه، استفاده از وکتورهای ویروسی برای کاربردهای ژن درمانی بسیار رواج یافته است. هرچند همچنان چالش‌های مختلفی در وجود ایمنی قبلی، تغییر تروپیسم طبیعی ویروس و عبور از سد خونی مغزی برای درمان بیماری‌های مربوط به نواحی مغزی وجود دارد. ترانسداکشن انتخابی ویروس‌ها و تروپیسم طبیعی آن‌ها به یک بافت خاص باعث کاهش بازدهی درمان‌های مبتنی بر وکتورهای ویروسی در بافت‌های دیگر می‌شود. برای مثال بسیاری از سویه‌های مختلف ویروس AAV تمایل طبیعی به بافت کبد دارند. به این خاطر برای دستیابی به بازدهی بالاتر معمولا از دوز بالاتری از ویروس برای تزریق سیستمیک استفاده می‌شود که این رویکرد خود احتمال بروز عوارض جانبی و خطرات ایمنی را افزایش می‌دهد. با استفاده از روش‌های طراحی منطقی، تولید کتابخانه‌ای از کپسیدهای مختلف و انتخاب بهترین کاندید و نیز روش‌های پیش‌بینی کاندید مناسب با استفاده از الگوریتم‌های شبکه عصبی و ماشین لرنینگ می‌توان وکتور ویروسی با تروپیسم مورد نظر را تولید نمود.

ایجاد جهش در لوپ‌های متغیر سطحی در کپسید ویروسی، بررسی و انتخاب آنتی‌بادی مناسب جهت اتصال به پروتئین سطحی خاص سلول هدف و اتصال کوالان آن به کپسید ویروس مورد نظر، تولید کتابخانه‌ای از توالی‌های مختلف از کپسید ویروس و بررسی قدرت اتصال آن‌ها به پروتئین‌های سطحی سلول هدف، تغییر گلیکوپروتئین‌های غشایی ویروس و استفاده از گلیکوپروتئین‌های جدید مثال‌هایی از روش‌های استفاده شده در مطالعات این حوزه برای تغییر تروپیسم طبیعی ویروس و تحویل هدفمند کاندید ژن‌درمانی به بافت مورد نظر می‌باشد. از این طریق می‌توان بازدهی داروی تولیدی را افزایش داد که منجر به کاهش دوز ویروسی استفاده شده در تزریق سیستماتیک و به تبع آن کاهش احتمال بروز عوارض جانبی خواهد شد.

مساله دیگر وجود ایمنی قبلی در بدن افراد گیرنده این نوع درمان‌ها می‌باشد. برای مثال افراد بسیاری نسبت به برخی از سویه‌های ویروس‌های مختلف مواجه قبلی داشته و علیه آن‌ها آنتی‌بادی دارند. استفاده از سویه‌های ویروسی دیگر، مهندسی کپسید و یا گلیکوپروتئین غشایی ویروس‌ها، تولید وکتورهای کایمر یا موزاییک و ویروس‌های سودوتایپ از راه‌های فرار از ایمنی قبلی و افزایش اثربخشی محصول درمانی است.

هدف این پروژه طراحی منطقی و مهندسی وکتورهای ویروسی با استفاده از روش‌های نوین جهت تحویل هدفمند به بافت مورد نظر و یا جهت فرار از پاسخ‌های ایمنی قبلی موجود در بدن بیمار کاندید ژن‌درمانی می‌باشد.

٦. طراحی و تولید داروهای نوکلئیک اسیدی (آنتی سنس الیگو نوکلئوتیدها، si-RNAها و اپتامرهای متصل به دارو و ...) با هدف استفاده در ژن درمانی

اهمیت پروژه:

بر اساس گزارش موسسه جهانی مکنزی داروهای مبتنی بر نوکلئیک اسید یکی از شش فناوری موثر بر انقلاب زیستی در آینده جهان به شمار می‌آیند. داروهای مبتنی بر اسیدهای نوکلئیک امروزه به عنوان سومین شکل مهم دارو بعد از مولکول‌های کوچک و پروتئین‌های نوترکیب شناخته می‌شوند. داروهای نوکلئیک اسیدی را بر اساس ماهیت مولکول موثره می‌توان به کلاس‌های مختلفی از جمله DNA پلاسمیدی، mRNA، miRNA، siRNA، الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس، اپتامر و ریبوزایم و ... دسته‌بندی نمود. از میان تمام ساختارهای موجود که بالقوه می‌توانند به عنوان داروهای نوکلئیک اسیدی استفاده شوند، تاکنون ASO، siRNA، اپتامرها و پلاسمید حاوی ژن درمانگر توانسته‌اند برای بیماری‌های مختلف ژنتیکی و غیر ژنتیکی تاییدیه نهادهای نظارتی در کشورهای مختلف جهان را دریافت کنند. در مجموع تاکنون ۲۰ داروی مبتنی بر نوکلئیک اسید موفق به کسب مجوز استفاده در بالین شده‌اند که برای درمان بیماری‌های مختلفی از جمله دیستروفی عضلانی دوشن (DMD) و آتروفی عضلانی نخاعی (SMA) کاربرد دارند (واکسن‌ها در این آمار لحاظ نشده‌اند). از میان ۲۰ داروی مجوزدار، ۱۰ دارو الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس و ۵ دارو مبتنی بر پلتفرم siRNA هستند. از میان ۲۰ داروی ذکر شده، ۴ دارو برای دیستروفی عضلانی دوشن و ۳ دارو برای بیماری آمیلوئیدوز hATTR استفاده می‌شوند.

با وجود پیشرفت‌های فوق در این دسته داروها، تحقیقات بر روی اصلاحات و تغییرات شیمیایی این مولکول‌های دارویی با هدف افزایش پایداری دارو حین تزریق سیستماتیک و نیز افزایش اختصاصیت و تحویل هدفمند به بافت مورد نظر همچنان ادامه دارد. هدف این پروژه حمایت از پژوهشگران صاحب ایده در این حوزه جهت طراحی و ساخت نمونه آزمایشگاهی اولیه می‌باشد.

۷. توسعه ابزارهای دلیوری غیر ویروسی و تحویل هدفمند برای انتقال ژن

اهمیت پروژه:

سیستم‌های مختلفی برای انتقال ژن خارجی به سلول هدف وجود دارد. به طور کلی می‌توان سیستم‌های انتقال ژن را به سه دسته فیزیکی، شیمیایی و یا استفاده از وکتورهای ویروسی تقسیم‌بندی کرد. انتقال ژن می‌تواند به کمک وکتور باشد و یا نوکلئیک‌اسید برهنه (بدون هیچ ناقلی) را به صورت مستقیم به سلول هدف وارد کرد. معیارهای مختلفی برای انتخاب وکتور مناسب برای ژن‌درمانی وجود دارد؛ از جمله اندازه ژن درمانگر، کارایی انتقال، قابلیت القاء پاسخ ایمنی و پایداری.

سیستم‌های انتقال ژن فیزیکی و شیمیایی و حامل‌های غیر ویروسی، دارای مزایای خاصی نسبت به روش‌های ویروسی هستند؛ مانند قابلیت تولید در مقیاس زیاد، ایمنی‌زایی پایین و نیز عدم وجود ایمنی قبلی در بدن میزبان. با این حال روش‌های غیر ویروسی، سطوح پایین‌تری از ترانسفکشن و بیان ژن و در نتیجه اثربخشی درمانی کمتری را از خود نشان می‌دهند. هرچند فناوری‌های جدیدتر، با افزایش دقت در هدف قراردادن سلول و بافت مورد نظر و کنترل ترافیک درون سلولی، نوید حل این مشکلات را می‌دهند. الکتروپوریشن، سونوپوریشن، تفنگ ژنی، مگنتوفکشن، نانوذرات لیپیدی، اگزوزوم‌ها و نانوذرات شیمیایی مثال‌هایی از روش‌های دلیوری غیر ویروسی به شمار می‌روند.

بازار جهانی فناوری‌های تحویل ژن طیف گسترده‌ای از رویکردها و پلت فرم‌هایی را ارائه می‌کند که به منظور انتقال ایمن و مؤثر مواد ژنتیکی به موجودات زنده طراحی شده‌اند. فناوری‌های انتقال ژن یک رکن مهم در ژن‌تراپی به شمار می‌روند و ارزش بازار این بخش به تنهایی در سال ۲۰۲۲ چهار میلیارد دلار ارزیابی شده و پیش‌بینی می‌شود با نرخ سود سالانه ۱۵/۹٪ در بازه زمانی ۲۰۲۳ تا ۲۰۳۲ رشد کرده و به ارزش ۱۷ میلیارد دلار در سال ۲۰۳۲ برسد.

با توجه به اهمیت توسعه ابزارهای دلیوری غیرویروسی و نیز تحویل هدفمند سازه ژنی، هدف این پروژه حمایت از پژوهشگرانی است که بر روی توسعه این ابزارها برای استفاده در تولید فراورده‌های ژن‌درمانی فعالیت می‌کنند. پژوهشگران محترمی که برای این عنوان درخواست خود را ثبت می‌کنند لازم است حداقل یکی از سه شرط زیر را به عنوان خروجی نهایی پروژه در نظر گیرند و در پروپوزال خود ذکر نمایند:

۱- فناوری استفاده شده جهت انتقال ژن در سلول‌های primary مانند سلول عصبی یا سلول بنیادی هماتوپویتیک آزمایش شود.

۲- اثربخشی فناوری استفاده شده در مطالعات in-vivo آزمایش و اثبات گردد.

۳- فناوری انتخاب شده در یکی از محصولات ژن‌درمانی که مجوز استفاده در بالین را گرفته‌اند و یا در مطالعات بالینی هستند استفاده شده باشد (نام محصول به همراه رفرنس علمی ذکر گردد).

۸. داروهای ژن درمانی مبتنی بر ویروس با هدف درمان بیماری

اهمیت پروژه:

وکتورهای ویروسی به دلیل مزایای برجسته‌ای که دارند از جمله راندمان بالای انتقال ژن و القاء بیان طولانی مدت ژن درمانگر از زمره وکتورهایی هستند که به صورت گسترده در مطالعات پیش‌بالینی و بالین مورد استفاده قرار گرفته‌اند. محصولات ژن‌درمانی مبتنی بر ویروس در نتیجه‌ی چند دهه مطالعه و توسعه به نتایج بالینی نویدبخشی از جمله چندین محصول تایید شده برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله انواع مختلف سرطان، بیماری‌های مونوژنیک، متابولیک، عصبی، چشمی و شنوایی دست یافته‌اند.

استفاده بالینی از ژن‌درمانی‌های مبتنی بر ویروس در سال‌های اخیر به سرعت در حال رشد است. علاوه بر این در حال حاضر تعداد زیادی کارآزمایی بالینی برای بهره‌گیری بیشتر از پتانسیل این وکتورها در دست انجام است. AAV، آدنوویروس‌ها و لنتی‌ویروس‌ها سه نوع کلیدی از وکتورهای ویروسی مورد استفاده در ژن‌درمانی هستند. مطالعات علم‌سنجی و بررسی روند انتشار مقالات نشان می‌دهد که پلت‌فرم‌های مبتنی برترووویروس و آدنوویروس روندی نزولی را در مقالات منتشره حوزه ژن درمانی تا حدود سال ۲۰۱۶ طی کرده‌اند و از آن پس مجددا افزایش یافته‌اند. پتنت‌های این دو حوزه نیز روند مشابهی را نشان می‌دهند. از طرف دیگر بررسی‌های علم‌سنجی، مطالعات بازار، پایپ‌لاین شرکت‌ها و کارآزمایی‌های بالینی نشان می‌دهد که ویروس AAV یکی از فناوری‌های خوش آتیه در توسعه‌ی فرآورده‌های نوین درمانی است. در بین محصولات مجوزدار حوزه ژن‌درمانی در سراسر جهان، این پلت‌فرم ویروسی دومین فناوری رایج استفاده شده است به طوریکه از میان ۲۲ داروی ژن‌درمانی، ۷ دارو مبتنی بر AAV، و سه داروی دیگر مبتنی بر رتروویروس، آدنوویروس و ویروس هرپس سیمپلکس بوده‌اند. لازم به ذکر است ویروس‌های استفاده شده بعنوان ویروس انکولاتیک یا واکسن در این آمار لحاظ نشده‌اند. تنها ۳ داروی مبتنی بر این ویروس در سال ۲۰۲۳ مجوز استفاده در بالین را برای بیماری‌های دیستروفی عضلانی دوشن، هموفیلی آ و ب دریافت نموده‌اند. همچنین بررسی کارآزمایی‌های بالینی ژن درمانی نشان می‌دهد ویروس AAV، لنتی ویروس، رتروویروس و آدنوویروس به ترتیب ۴۲٪، ۲۰٪، ۱۷٪ و ۱۶٪ از این مطالعات را تشکیل می‌دهند. نرخ رشد سالانه این ویروس حدود ۲۴٪ پیش بینی شده است. برخی تراکنش‌های مالی بزرگ شرکت‌های فناور حوزه ژن درمانی نیز در قالب سرمایه گذاری بر روی این پلت فرم ویروسی بوده است که می‌تواند تاییدی بر ادعای فوق باشد. برای مثال شرکت‌های Roche، Bayer و نوارتیس، که از شرکت‌های برتر حوزه دارو و درمان هستند، بین سال‌های ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۰ مجموعا به مبلغ ۱۷ میلیارد دلار بر روی شرکت‌های فناور مبتنی بر این ویروس سرمایه گذاری کرده‌اند. تعدد استفاده از ویروس AAV به علت اندیکاسیون‌های متعدد استفاده از این فناوری در تعداد زیادی از بیماری‌هاست. با این وجود با در نظر گرفتن بازار ویروس‌های استفاده شده در درمان‌های انکولایتیک، تولید واکسن و یا سلول درمانی، لزوم توسعه پلت‌فرم‌های ویروسی دیگری چون آدنوویروس و لنتی ویروس در کشور نیز اثبات می‌گردد.

علی رغم پیشرفت‌های گسترده، استفاده از این فناوری‌ها همچنان با چالش‌هایی رو به رو است. وجود ایمنی قبلی در بدن افراد، ظرفیت پایین برای ژن خارجی در ویروس AAV، دست‌یابی به رده سلولی مناسب تولیدکننده ویروس (producer cell line)، و نیز فرایندهای پایین دستی بخشی از چالش‌های این پلت‌فرم‌های درمانی است. هدف این پروژه حمایت از پژوهشگرانی است که در قالب رساله دکتری یا پژوهش پسادکتری برای رفع چالش‌های موجود و با هدف غایی تولید یک کاندید درمانی مبتنی بر ویروس برای یک بیماری مشخص فعالیت نمایند. لازم به ذکر است که محققان محترم لازم است قیود زیر را در ثبت پروپوزال لحاظ نمایند:

۱- خروجی مطالعه حداقل در سطح in-vivo آزمایش شود.

۲- فناوری انتخاب شده متناسب با نیازهای بومی کشور باشد.

۳- فناوری انتخاب شده مشابه یکی از فناوری‌های موجود در لیست محصولات مجوز دار ژن درمانی، یا محصولات وارد شده به مطالعات بالینی باشد.

۹. فرایندهای پایین دستی تولید وکتورهای ویروسی

اهمیت پروژه:

ژن درمانی با کمک وکتورهای ویرسی در طول دهه گذشته پیشرفت کرده است تا امروزه به سطح امیدوار کننده‌ای از درمان‌هایی تبدیل شود که قادر به درمان بیماری‌های صعب العلاج هستند. با این حال ایجاد یک پلت فرم ویروسی به عنوان یک محصول دارویی که به خوبی

مشخصه یابی شده باشد یک چالش بزرگ است. این امر به علت هتروژنیتی این گونه محصولات می باشد که ناشی از حضور کپسیدها یا غشاهای کامل، نیمه پر و یا خالی و همچنین اگریگه‌ها، فرگمنت‌ها و ناخالصی‌های مرتبط با فرایند تولید ویروس می‌باشد. برای مثال افزایش حضور کپسیدهای خالی در فراورده دارویی AAV ممکن است باعث مشکلات ایمنی نامطلوب شود و سطح آن باید برای اطمینان از ایمنی بیمار کنترل شود. بنابراین یکی از اهداف مهم و اصلی تحقیقات در زمینه فرایندهای پایین دستی تولید ویروس، طراحی پروسه‌های خالص سازی و نیز تغلیظ ویروس جهت دست یابی به تیتر مناسب استفاده در تولید دیگر محصولات ژن درمانی مانند سلول‌های تغییر یافته ژنتیکی و یا استفاده مستقیم به عنوان محصول ژن درمانی مبتنی بر ویروس در بالین می‌باشد.

به حداکثر رساندن بازده فرایند از طریق بهینه سازی فرایند خالص سازی شامل تعیین بهترین رزین، شرایط الوشن، رویکرد کروماتوگرافی و نوع فیلتر از دیگر حوزه‌های تحقیقات در زمینه فرایندهای پایین دستی تولید ویروس می باشد.

همچنین با توجه به اینکه مرحله اولترافیلتراسیون / دیافیلتراسیون (UF/DF) بخش مهمی از فرایند تخلیص پایین دستی جهت تغلیظ، تعویض بافر و کاهش ناخالصی‌ها در پروسه تولید وکتورهای ویروسی می‌باشد، بهینه سازی این مرحله نیز از موضوعات مورد پژوهش در این زمینه است. همچنین تخلیص پلاسمیدهای استفاده شده برای تولید وکتورهای ویروسی نیز از دیگر موضوعات است.

فرایندهای پایین دستی برای تخلیص و تغلیظ فراورده‌های ویروسی به طور کلی از چالش‌های تولید وکتورهای ویروسی مانند لنتی ویروس، رترو ویروس، آدنو ویروس و ویروس AAV که از موارد مهم در محصولات ژن درمانی هستند می‌باشد. هدف این پروژه حمایت از پژوهشگران فعال در این حوزه برای رفع چالش‌های مذکور است. لازم به ذکر است که رفع چالش‌های این حوزه همکاری بین رشته‌ای از پژوهشگران رشته‌های مختلف زیستی، شیمیایی و مهندسی را می‌طلبد.

۱۰. سایر تحقیقات مرتبط با ژن درمانی

اهمیت پروژه:

۱- طراحی و شناسایی پنل‌های تشخیصی برای تشخیص بیماری‌های ژنتیکی:

با توسعه فناوری‌های جدید برای درک دقیق‌تر ژنوم و شناسایی کاندیدهای ژن‌درمانی بالقوه، تشخیص جهش‌ها نقش محوری فزاینده‌ای را در حوزه‌های مختلف تشخیص ژنتیکی از جمله تشخیص ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی (PGD)، تشخیص قبل از تولد (PND)، آزمایش‌های پیش‌علامتی، تشخیص هویت و پزشکی قانونی ایفا می‌کنند. دو گروه آزمایش مولکولی و سیتوژنتیک در سندرم‌های ژنتیکی استفاده می‌شود. به طور کلی، جهش‌های تک جفت باز با روش‌های توالی‌یابی مستقیم، هیبریداسیون DNA و یا روش‌های سنتی هضم آنزیمی شناسایی می‌شوند. امروزه با کاهش قیمت روش‌های توالی‌یابی نسل جدید، و بهبود دقت و عمق فناوری‌های توالی‌یابی، این ابزارها جایگزین بالقوه مناسب‌تری برای تست‌های تشخیصی هستند. هرچند انبوه اطلاعات خروجی از توالی‌یابی اگزوم یا توالی‌یابی ژنوم نیاز به تحلیل و آنالیز قوی اطلاعات دارد و در بسیاری از موارد دستیابی به چند گزینه قطعی به عنوان مارکر تشخیصی کار دشواری است.

به طور کلی دو رویکرد برای تشخیص ژنتیکی وجود دارد. رویکرد غیرمستقیم به نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل پیوند ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای DNA مانند نشانگرهای STR (تکرار پشت سر هم کوتاه) یا VNTR (تکرار پشت سر هم با تعداد متغیر) در کنار یا درون ناحیه ژنی بستگی دارد. رویکرد مستقیم برای تشخیص اساساً به تشخیص تغییرات ژنتیکی که مسئول بیماری هستند می‌پردازد.

تشخیص زودهنگام بیماری‌های ژنتیکی و نیز جهش‌های مسئول در بیماری، به ترتیب اهمیت بالایی در پیشگیری از تولد بیماران مبتلا به بیماری‌های ژنتیکی و ایجاد کاندیدهای مناسب ژن درمانی با قابلیت هدفگیری جهش‌های مسئول بیماری دارد. هدف این پروژه حمایت از پژوهشگران برای طراحی پنل‌های تشخیصی مناسب برای تشخیص بیماری‌های ژنتیکی شایع در قومیت‌های مختلف ایرانی و نیز شناسایی جهش‌ها و مارکرهای این بیماری‌ها با استفاده از روش‌های نوآورانه و با صرفه اقتصادی می‌باشد.

۲- مشخصه‌یابی نواحی تاریک ژنوم:

علاوه بر ژن‌هایی که به طور مستقیم موجب بیماری زایی می‌شوند، درصد زیادی از ژنوم انسان حاوی ژن‌های غیر کدشونده است که می‌توانند به صورت غیر مستقیم بر فرایند ایجاد بیماری یا کنترل آن موثر باشند. نقش تنظیمی این نواحی ژنوم باعث شده است که بتوان

به طور بالقوه حتی برای درمان برخی بیماری‌های ژنتیکی نیز از آن‌ها بهره جست. برای مثال برخی از داروهای مجوز گرفته ژن درمانی به جای هدفگیری ژن بیماریزا یک ناحیه رگولاتوری در اطراف آن را هدف گرفته‌اند.

کنسرسیوم NIH Encode حدود ۲ میلیون عنصر رگولاتوری ژنتیکی را بر روی ژنوم انسان نقشه‌برداری کرده که تنها عمکرد تعداد کمی از آن‌ها تاکنون شناخته شده است. با توجه به نقش مهم این مناطق ناشناخته، یک حوزه بسیار مهم در تحقیقات ژن درمانی شناسایی این مناطق و حاشیه نویسی نقاط تاریک ژنوم است. برای دستیابی به این هدف می‌توان از ابزارهای گوناگونی مانند کریسپر نیز استفاده نمود.

۳- درمان با استفاده از جایگزینی میتوکندریایی (Mitochondrial Replacement Therapy):MRT یک روش لقاح آزمایشگاهی (IVF) است که شامل حذف nDNA مادر مورد نظر از تخمک یا زیگوت او که حاوی mtDNA جهش یافته است و انتقال آن به تخمک یا زیگوت ارائه دهنده که حاوی mtDNA غیر بیماری زا است و nDNA از آن خارج شده است، می باشد. این روش درمانی در شرایطی که مادر دارای بیماری میتوکندریایی شدید باشد در برخی کشورها از جمله انگلیس و استرالیا مجوز استفاده در شرایطی خاص را دریافت نموده است. سه روش کلی برای انجام این دستکاری ژنتیکی وجود دارد که عبارتند از:آ) MST (Maternal Spindle Transfer)ب) PNT (Pronuclear Transfer)ج) PBD (Polar Body Transfer)هرچند با انتقال هسته سلول مادر به سلول دهنده میتوکندری با میتوکندری سالم احتمال ابتلای کودک به بیماری میتوکندریایی از بین می‌رود، اما همچنان این فناوری می‌تواند با ریسک‌هایی همراه باشد؛ از جمله: ریسک‌های مربوط به فرایند انجام MST، PNT و PBD، ریسک‌های مربوط به فرایند PGS، PGD برای تشخیص عدم وجود بیماری ژنتکی در سلول دستکاری شده و نیز رپسک‌های خود IVF. مطالعات ناکافی بر روی حیوانات مدل بزرگ و نیز مطالعات طولانی مدت برای بررسی اثرات بلند مدت این فناوری بر نوزاد متولد شده، و نیز بحث‌های اخلاقی دستکاری سلول جنینی از دیگر چالش‌های این حوزه است.

توجه: علاوه بر موارد مذکور، تحقیقات دیگری که پژوهشگران محترم حوزه ژن‌درمانی و داروهای مبتنی بر نوکلئیک اسید در دست اجرا دارند نیز در صورت تشخیص به عنوان فناوری‌های خوش‌آتیه و نیز موثر در توسعه تجاری‌سازی رویکردهای ژن‌درمانی جهت حمایت در این فراخوان مورد بررسی قرار خواهد گرفت.