

POL-OPENSSCREEN 2.0 – konkurs : „bony na badania”

Przewodnik po wniosku aplikacyjnym o przyznanie bonu na badania w ramach infrastruktury POL-OPENSSCREEN 2.0.

1. Cel konkursu

Konkurs ma na celu sfinansowanie i zaoferowanie darmowej usługi pilotażowej dla użytkowników infrastruktury POL-OPENSSCREEN z całej Polski.

Bony są skierowane do użytkowników z całej Polski ze szczególnym uwzględnieniem osób na wczesnym etapie kariery i/lub małych firm biotechnologicznych (małe i mikroprzedsiębiorstwa).

Celem jest możliwość wykonanie badań wstępnych, takich jak uzyskanie białka rekombinowanego o pożądanej aktywności lub opracowanie testu skringowego dla potencjalnych inhibitorów tego białka. W praktyce umożliwi to użytkownikom zapoznania się z jakością i szerokim zasięgiem usług konsorcjum bez finansowego ryzyka po stronie użytkownika. Użytkownik wygeneruje dane, które może wykorzystać jako badania wstępne do ubiegania się o zewnętrzne finansowanie.

2. Zakres konkursu

Bony na otrzymanie białek rekombinowanych w systemie ekspresyjnym *Escherichia coli*, zbadanie ich aktywności lub opracowanie warunków testu skringowego pozwalającego na selekcję ich inhibitorów.

Usługa:

1. Ekspresja i oczyszczanie białka rekombinowanego w systemie *E. coli*

- a) W razie potrzeby (odmienna od *E. coli* zawartość par GC oraz codon usage) gen kodujący badane białko zostanie przystosowany do systemu ekspresyjnego *E. coli* poprzez właściwy dobór kodonów oraz wprowadzenie żądanych mutacji.
- b) Przygotowany zostanie konstrukt w wektorze ekspresyjnym pozwalającym na N lub C-terminalną fuzję z metką HIS o długości 6-13 reszt histydynowych.
- c) Oceniony zostanie poziom ekspresji oraz rozpuszczalność rekombinowanego białka w różnych komórkach ekspresyjnych *E. coli*:
BL21(DE3) Novagen
BL21(DE3) pLysS Novagen
BL21(DE) Rosseta Novagen
BL21 (DE3) Arctic Express Novagen
BL21 (DE3) Lemo NEB
BL21 Star (DE3)pLysS Invitrogen
OverExpress™ C41(DE3) pLysS Sigma-Aldrich
- d) Dobrany zostanie optymalny:
Czas indukcji
Sposób indukcji (IPTG, skład podłoża, zawartość glukozy/laktozy)
Temperatura
- e) Przeprowadzony zostanie proces ekspresji rekombinowanego białka w skali 2L hodowli bakteryjnej
- f) Rekombinowane białko zostanie oczyszczone z wykorzystaniem chromatografii powinowactwa na złożu agarozowym wysyconym jonami niklu lub kobaltu oraz

- oceniona zostanie jego czystość (SDS PAGE) wraz ze stężeniem metodą MICRO BCA i na spektrofotometrze Denovix przy długości fali 280 nm
- g) Przeprowadzony zostanie proces dodatkowego oczyszczenia preparatu białkowego z wykorzystaniem filtracji żelowej lub chromatografii jonowymiennej i ponownie zostanie określona jego czystość (SDS PAGE) oraz stężenie metodą MICRO BCA i na spektrofotometrze Denovix przy długości fali 280 nm
 - h) Przygotowany zostanie szczegółowy protokół oczyszczania białka, a także przekazany zostanie rekombinowany wektor i szczep ekspresyjny
 - i) Zbadana zostanie aktywność białka (jeśli dotyczy)
-

2. Opracowanie testu skринingowego dla inhibitorów badanego białka

- a) Opracowanie metod detekcji aktywności enzymatycznej:
 - Wybór substratu specyficznego dla enzymu
 - Optymalizacja metody pomiaru produktu reakcji (fluorescencja, absorbancja, luminescencja)
 - Walidacja specyficzności testu
- b) Miniaturyzacja i dostosowanie do formatów MTS (Midium-Throughput Screening):
 - Adaptacja do formatów płytek wielodołkowych (96)
 - Optymalizacja objętości reakcji
 - Walidacja stabilności odczynników
- c) Optymalizacja warunków testu:
 - Ustalenie optymalnego pH, temperatury, stężeń jonów
 - Określenie stabilności enzymu w warunkach testu
 - Optymalizacja czasu inkubacji
- d) Walidacja testu:
 - Określenie parametrów statystycznych (Z' , S/B, CV%)
 - Testowanie powtarzalności i odtwarzalności
 - Testy z użyciem znanych inhibitorów (jeśli dostępne) jako kontroli pozytywnych

W ramach bonu możliwe jest wykonanie usługi 1 lub 2. Możliwe jest również wykonanie obu usług w sytuacji zapewnienia dodatkowego finansowania przez zamawiającego. Realizacja usługi będzie ograniczona wysokością środków finansowych przeznaczonych w ramach bonu.

3. Kto może aplikować o bon

Osobami uprawnionymi do udziału w konkursie są osoby realizujące badania w polskich jednostkach naukowych (spoza IBM PAN oraz konsorcjum POL-OPENSREEN), znajdujące się na wczesnych etapach kariery naukowej (będące uczestnikami szkół doktorskich, lub posiadające stopień doktora uzyskany nie wcześniej niż w 2023 roku) oraz firmy biotechnologiczne zarejestrowane w Polsce, spełniające definicję małych lub mikroprzedsiębiorstw.

Każda osoba może składać aplikację na jeden bon, przedstawiając pomysł badawczy wraz z uzasadnieniem.

4. Zasady przyznawania bonów

Do przyznania jest 1 bon na usługi o wartości 20 tys. złotych.

Dokładny zakres usługi zależy od dyskusji z użytkownikiem, jego potrzeb i możliwości wykonania usługi na infrastrukturze – możliwe jest także wykonanie większej usługi, przy czym koszt powyżej 20 tys. złotych musi być sfinansowany przez użytkownika.

Aplikacje przygotowane na załączonej formatce można składać na adres sekretariat@cbm.pan.pl z dopiskiem **konkurs-usługa** do dnia **16 czerwca 2025 roku**. **Rozstrzygnięcie konkursu nastąpi 20 czerwca 2025 roku**. Aplikacje, które nie zostaną wybrane w bieżącej edycji konkursu będą mogły zostać ponownie złożone w kolejnym roku.

Do oceny wniosków zostanie powołana 4 osobowa komisja, w tym przynajmniej jedna osoba z administracji IBM PAN. Każda aplikacja będzie oceniana w systemie punktowym, a punktacja i decyzja zostanie przesłana mailowo do użytkownika.

Aby złożyć aplikację należy wypełnić poszczególne punkty:

Tytuł projektu: (max 250 znaków)

Imię i nazwisko:

Nazwa Instytucji:

Adres e-mail:

Krótki plan badawczy + wybór jednej z opcji (**Usługa 1 lub 2**): (max 2000 znaków) 10 PKT

Potencjał aplikacyjny projektu: (max 1500 znaków) 10 PKT

Sposób wykorzystania uzyskanych wyników: (max 1500 znaków) 10 PKT

Wskazanie czy projekt będzie wspomagany przez dodatkowe – zewnętrzne finansowanie, jeśli tak to jakie? (max 2000 znaków) 5 PKT

Maksymalna ilość punktów do zdobycia to 35 PKT

Aby uzyskać bon należy zdobyć min. 70% (24,5 PKT)

Tytuł projektu: (max 250 znaków)

Imię i nazwisko:

Nazwa Instytucji:

Adres e-mail:

Krótki plan badawczy (Usługa 1 lub Usługa 2): (max 2000 znaków)

Potencjał aplikacyjny projektu: (max 1500 znaków)

Sposób wykorzystania uzyskanych wyników: (max 1500 znaków)

Wskazanie czy projekt będzie wspomagany przez dodatkowe finansowanie, jeśli tak to jakie? (max 1000 znaków)