

# Honderden tests tegelijkertijd

# in luttele minuten

Dankzij razendsnelle ontwikkelingen in het DNA-onderzoek en een steeds verdergaande miniaturisering van testapparatuur kunnen we allerlei reacties in de cel volgen, van molecuul tot molecuul. De reageerbuis maakt plaats voor de testchip.

**H**et onderzoek naar opbouw en samenstelling van ons DNA heeft de ontwikkeling van nieuwe meetmethoden en -technieken in een stroomversnelling gebracht. Beroemde voorbeelden zijn de nieuwe sequencing methoden en de DNA-chip technologie. Dit leidde tot een doorbraak in (de snelheid van) de decoding van het menselijk genoom, dat in februari vorig jaar een legendarische mijlpaal bereikte: alle 30.000 miljard bouwstenen van ons DNA zijn bekend. De ontrafeling van het genoom leverde ook de ontvullende vaststelling op dat het aantal genen van de mens slechts anderhalf maal zo groot is als dat van de rondworm, maar hiermee was ook in één keer duidelijk dat een organisme meer is dan een optelsom van genen. Wij staan nu voor de geweldige uitdaging om functies van genen en relaties tussen genen onderling en met hun omgeving op te helderen. En nog een stapje verder: de relatie tussen moleculaire stoornissen in onze genen en functionele stoornissen in de cel te ontdekken. Tim Kievits, directeur van PamGene, vergelijkt het met een woordenboek: "als we alle woorden in een woordenboek kennen, betekent dat nog niet dat we de taal meester zijn. We moeten ook nog leren met die woorden zinnen te maken." Kennis van de DNA-bouwstenen en de genen vormt slechts een pril begin van een lange weg. Om vooruitgang te boeken, is voortdurende vernieuwing en aanpassing van technologie vereist. Kievits: "En dat niet alleen, want aan een theoretisch concept *an sich* heb je niets; het concept moet worden vertaald in een product, in praktische toepasbare tests." PamGene



Foto: PamGene

De testchip verpakt in handzame apparatuur voor gebruik in de praktijk. In de onzichtbare duizenden microreactoren worden de moleculen op de voet gevolgd en zichtbaar gemaakt met behulp van de fluorescentie-microscoop.

stapte twee jaar geleden in dit zogeheten post-genomics onderzoek en werkt hard aan de tweede generatie testchips.

**Microreactortjes**  
Testchips zijn gebaseerd op de micro-array technologie, een technologie die de laatste jaren snel is uitgegroeid tot één van de belangrijkste analysetechnieken in het moleculair biologische onderzoek. Inmiddels welbekend zijn de DNA-chips die worden gebruikt om DNA te decoderen en genen te typeren. Extreem kleine hoeveelheden DNA, waarvan de code bekend is, worden op een microscoopglasje gebracht. Dit proces heet 'spotten' en resulteert in een zogenaamde DNA micro-array van 'probes'. Omdat elke probe nauwkeurig bekend is, kunnen met zo'n micro-array onbekende DNA-moleculen (targets) in het monster worden geïdentificeerd. Als het target-DNA 'matched' met het DNA op de chip, dat wil

zeggen dat probe en target elkaars complementen zijn, treedt hybridisatie op. Een gehybridiseerd 'DNA-paar' geeft lichtsignalen (fluorescentie) die met behulp van een speciale microscoop zichtbaar worden gemaakt. Op deze manier kunnen in één run duizenden DNA-moleculen tegelijkertijd worden geïdentificeerd. "Deze micro-array technologie is ook de basis van onze PamChip, maar één van de grote verschillen is de analysetijd: die is gereduceerd van uren naar minuten. Dat betekent dus duizenden tests in enkele minuten. En niet alleen DNA-tests. Zo kan bijvoorbeeld bekeken worden hoe cellen reageren op het toedienen van een bepaald medicijn en in de toekomst verwacht ik dat het mogelijk wordt tijdens de operatie de toestand en/of het functioneren van organen en weefsel te testen om een diagnose te stellen," zo voorspelt Kievits. Het geheim van de PamChip (Pam staat voor poly analyte measurement) is dat de probes niet op glas worden gebracht, maar in een poreus materiaal, aluminiumoxide. Kievits: "Het bijzondere van poreus materiaal is dat het bestaat uit duizenden microkanaaltjes (capillairen) naast elkaar, ieder een paar millimeter lang. De probes worden gespot op de wanden van de capillairs." Kievits legt de grote voordelen uit van zo'n driedimensionaal systeem met duizenden microreactortjes: "Op de eerste plaats ontstaat er een veel groter reactieoppervlak omdat ook de wanden van de microkanaaltjes worden benut. Op de tweede plaats functioneren de capillairen als doorstroomkanaaltjes. Door

Van patent tot product

## Snelle opsporing infectieuze organismen

het monster door de capillairen te pompen, stromen de target-moleculen in deze kanaaltjes vlak langs de probes, waardoor geen tijd aan diffusie (transport van target naar probe) verloren gaat en de hybridisatie veel sneller verloopt.”

Kievits kocht het patent op de doorstroom-micro-array van Akzo Nobel dochter Organon Teknika, waarvoor hij zelf jarenlang werkte als productontwikkelaar. Samen met uitvinder Henk van Damme en nog vier collega's, verliet hij Organon Teknika en richtte PamGene op, om het patent te ontwikkelen tot commerciële testapparatuur. De kracht van het bedrijf is de combinatie van rijke industriële ervaring en grote wetenschappelijke deskundigheid en Kievits legt uit waarom: “Dankzij die combinatie blijft onze vinding niet steken in het laboratorium-stadium, maar slagen wij erin de vinding door te ontwikkelen tot produceerbare commerciële apparatuur met praktische toepassingen.”

**Succesvolle toepassingen**  
Voorlopig zal het bedrijf zich richten op het post-genomics onderzoek dat wil zeggen verdere opheldering van de functies en variaties van genen (functional genomics) en de functies van eiwitten (proteomics). De PamChip is bijvoorbeeld succesvol toegepast om variaties in het HLA-gen te typeren dat betrokken is bij het moleculaire afweersysteem. Dit gen blijkt verschillende variaties te kennen en afhankelijk van de variatie worden bepaalde antistoffen wel of niet gevormd. Dit is van cruciaal

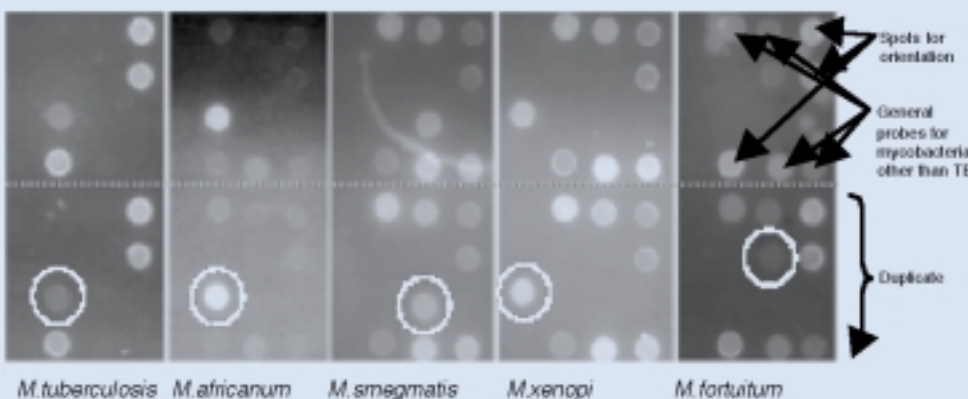
belang bij transplantaties, want de aanwezigheid van specifieke antistoffen bepaalt of het donor-materiaal door de ontvanger al dan niet wordt afgestoten. Dit type onderzoek, genotypering geheten, leidt tot nieuwe mogelijkheden voor behandeling van ziekten. “Door vooraf te weten of een patiënt positief reageert op een geneesmiddel of therapie gaan we in de richting van ‘farmacotherapie op maat’. Genotypering is daarbij onmisbaar en de PamChip is een prima tool gebleken,” zo licht Kievits toe. Een tweede succesvolle toepassing is het opsporen van infectieuze organismen. Ook hiervan heeft Kievits een illustratief voorbeeld: “Het is alom bekend dat de tuberculose bacterie een gevaarlijke, zelfs levensbedreigende infectie kan veroorzaken. Als de bacterie echter tijdig wordt ontdekt, is een goede behandeling mogelijk. Met de PamChip, ontwikkeld in samenwerking met het Koninklijk Instituut voor de Tropen, blijkt het niet alleen mogelijk deze tuberculosebacterie op te sporen, maar in één en dezelfde ‘run’ wordt ook de aanwezigheid van andere mycobacteriesoorten, al dan niet pathogeen, opgespoord. En hiermee is een zeer waardevolle diagnostische test voor infectieuze organismen voorhanden.” Kievits geeft twee voorbeelden

van recente partnerships die in de nabije toekomst naar nog meer toepassingen zullen leiden. In juli vorig jaar is een vierjarig research programma gestart samen met de Erasmus Universiteit. Onderzoekers willen de PamChip inzetten om de genetische oorsprong van afwijkingen in bot- en kraakbeen te achterhalen. Men hoopt hiermee nieuwe diagnostische markers te ontdekken voor opsporing van osteoporose en nieuwe therapieën te ontwikkelen voor de behandeling van deze ziekte. Het tweede voorbeeld is een samenwerking met Plant Research International. Kievits: “Met de PamChip kan een plantenmonster gemakkelijk en snel worden onderzocht op vele verschillende ziekten en plagen zoals schimmels, bacteriën, virussen. Daarmee is de techniek aantrekkelijk voor gebruik bij noodzakelijke tests in de export of voor telers om vroegtijdig maatregelen te nemen tegen ziekteverwekkers.”

**Kosten-effectief en robuust**  
In de komende jaren zal de technologie beschikbaar komen in de vorm van kosten-effectieve, robuuste en snelle multi-parameter tests gebaseerd op immuno-assays of nucleïnezuurdetectie. PamGene is zeker van plan in de toekomst de potentiële toepassingen van de PamChip uit te breiden naar bijvoorbeeld de diagnosticamarkt. Zo kan de technologie wellicht worden ingezet in kankeronderzoek om tumoren op te sporen, te karakteriseren en de effecten van een eventuele behandeling te voorspellen. Kievits benadrukt echter nog eens hoe PamGene ernaar streeft alleen nieuwe markten aan te boren in samenwerking met gespecialiseerde partners: “PamGene is de drijvende kracht achter de technologie- en productontwikkeling, maar zoekt naar gespecialiseerde partners die hun markt goed kennen en bijvoorbeeld ook op de hoogte zijn van vereiste registratieprocedures en kwaliteitscriteria.” ●

Marian van Opstal

Testresultaat opsporing tuberculosebacteriën



In één ‘run’ worden de verschillende tuberculosebacteriesoorten, al dan niet pathogeen, opgespoord. En hiermee is een zeer waardevolle diagnostische test voor infectieuze organismen voorhanden.

Bron: PamGene