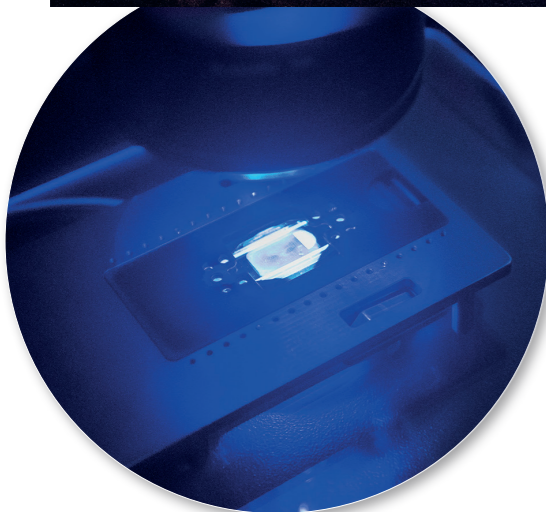


Onderzoeksassistent Margriet Roelse bekijkt met een stereo-fluorescentiemicroscopie een receptomics array.



Geur- en smaakstofmeting met 'tong- en neus-op-een-chip' in pilotfase

RECEPTOMICS:



Receptomics array onder de stereo-fluorescentiemicroscopie

'smaakpanel op een chip'

Onderzoekers uit Wageningen hebben een nieuwe 'omics'-technologie ontwikkeld om smaak- en geurstoffen te meten in voedingsmiddelen: 'Receptomics'. Dit is een soort combinatie van een 'tong-op-een-chip' en 'neus-op-een-chip'. De vinding is ook interessant voor klinische toepassingen.

Redactie: Els van den Brink | fotografie: Marco Vellinga

Producenten van voedingsmiddelen staan continu voor de uitdaging om de lekkerste producten te ontwikkelen. Maar hoe meet je nu precies of het ene product lekkerder is dan het andere? Welke is minder bitter of meer aromatisch? Veel bedrijven maken hiervoor gebruik van panels van proefpersonen. Het probleem met sensorische panels is echter dat je die niet teveel kan laten proeven. Bij het vijfde kopje koffie weten de meeste mensen niet meer hoe het eerste smaakte.

De nieuwe receptomics-technologie die onderzoekers uit

“We kunnen heel goed de ene koffiesoort vergelijken met de andere”

Wageningen hebben ontwikkeld, kan dit probleem mogelijk ondervangen. “We moeten het nog met smaakpanels valideren, maar we verwachten op grond van pilotexperimenten dat we hiermee een eerste selectie kunnen maken en bijvoorbeeld kunnen vaststellen welke koffiebonen het meest bitter zijn”, zegt Maarten Jongmsa, senior onderzoeker en themeleider receptomics bij de business unit Bioscience van Wageningen UR.

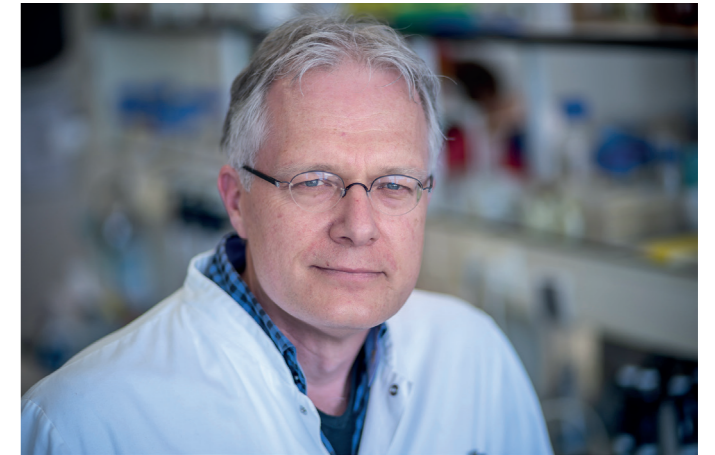
Array van receptoren

Zoals de naam al aangeeft, is de receptomics-technologie gebaseerd op de werking van receptoren. Welke receptor precies reageert op een voedingsmiddel en de mate waarin dat gebeurt, zegt iets over de geur en smaak van dat voedingsmiddel. “De receptoren die wij gebruiken zijn G-eiwit gekoppelde receptoren en ionenkanalen”, vertelt onderzoeksassistent Margriet Roelse. Wanneer deze receptoren en ionenkanalen een geur- of smaakstof herkennen, geven ze binnen de cel een signaal af dat uiteindelijk leidt tot een verhoogde calciumconcentratie. Dat kun je meten met behulp van een calciumsensor, een eiwit dat een fluorescerend signaal afgeeft bij een verhoogde calciumconcentratie.

Jongmsa en Roelse besloten om hun technologische platform niet te ontwerpen in de vorm van een ELISA (met 96-wells platen), maar in de vorm van een kleine flowcel van een vierkante centimeter met daarin een array van levende cellen met meer dan driehonderd verschillende spots. “Ons systeem heeft als voordeel dat je onbekende interacties kunt ontdekken, omdat je van een hele serie receptoren tegelijkertijd de respons meet”, beoogt Jongmsa.

Complexe data

Met zo veel verschillende receptoren was de data-analyse misschien wel grootste uitdaging. “Het lastige is dat elke chip weer net iets anders reageert. Bovendien heb je te maken met het feit dat de humane cellen zélf ook kunnen reageren op de voedingsmiddelen, vooral bij complexe mengsels zoals koffie of tomatensap. De natuurlijke celrespons is soms hoger dan de respons van de ingebrachte receptor. Bovendien kan de meting beïnvloed worden door de kleur van de voedingsmiddelen”, vertelt Jongmsa.



Maarten Jongmsa, senior onderzoeker en themeleider receptomics bij de business unit Bioscience van Wageningen UR.

Samen met zijn collega's is hij er wel een jaar of drie mee bezig geweest om de technologie zo ver te ontwikkelen dat ze ook daadwerkelijk kunnen meten aan een complex mengsel als koffie. Er bleek bijvoorbeeld speciale software nodig te zijn om de data goed te kunnen analyseren. “Wanneer we één soort koffie analyseren, kunnen we daar niet zo veel over zeggen, maar we kunnen wel heel goed de ene koffiesoort vergelijken met de andere. Het gaat dus vooral over de relatieve verschillen”, vertelt Jongmsa. “Voor de bedrijven waar we mee samenwerken is het gebruikelijk om over relatieve verschillen te praten. Dat zijn ze ook gewend bij proefpanels. Mensen vinden het vaak makkelijker om twee producten met elkaar te vergelijken, dan iets objectiefs te zeggen over slechts één product.”

IJkmethode

Jongmsa denkt de technologie ook kwantitatief te kunnen inzetten. “Het idee is om referenties te injecteren, waarmee we signalen kunnen vergelijken. Zo hopen we uiteindelijk een ijkmethode in het systeem te kunnen implementeren, die ook correspondeert met wat mensen proeven.” Daarnaast wil hij de meetmethode graag koppelen aan LC-MS. Door (smaak) componenten na scheiding met vloeistofchromatografie massaspectrometrisch te identificeren denkt hij bij complexe mengsels te kunnen achterhalen welke stoffen nu precies de respons veroorzaken bij de verschillende receptoren.

Chiptechnologie

De receptomics-technologie is te beschouwen als een speciale vorm van orgaan-op-een-chip technologie. Jongmsa en Roelse hebben bijvoorbeeld al een 'neus-op-een chip' en een 'tong-op-een-chip' gemaakt. De laatste is op dit moment beperkt tot de smaken zoet, umami, bitter, heet (peper) en koud (menthol). “Voor de smaken zoet en umami worden we voor industrieel onderzoek overigens wel gehinderd doordat de genen voor deze receptoren beschermd zijn door patenten. Bij zout- en zuur-receptoren is het probleem dat ze niet werken via calcium, maar onder andere via osmose en de pH. Er zijn wel mogelijkheden om dat te meten met behulp van speciale probes, maar dat werkt omslachtiger dan het huidige systeem en daar zijn we nog niet

in gedoken”, zegt Jongmsa.

Samen met andere onderzoeksgroepen van Wageningen UR gebruiken Jongmsa en zijn collega's de technologie ook al voor een 'darm-op-een-chip' project in het kader van synthetische biologie. Hierbij wordt een chip met darmcellen gekoppeld aan een chip met hormoon- en cytokinereceptoren. Zo konden de onderzoekers bijvoorbeeld al meten dat darmcellen een aantal verzadigingshormonen en cytokines uitscheiden.

Ook voor dopingtesten

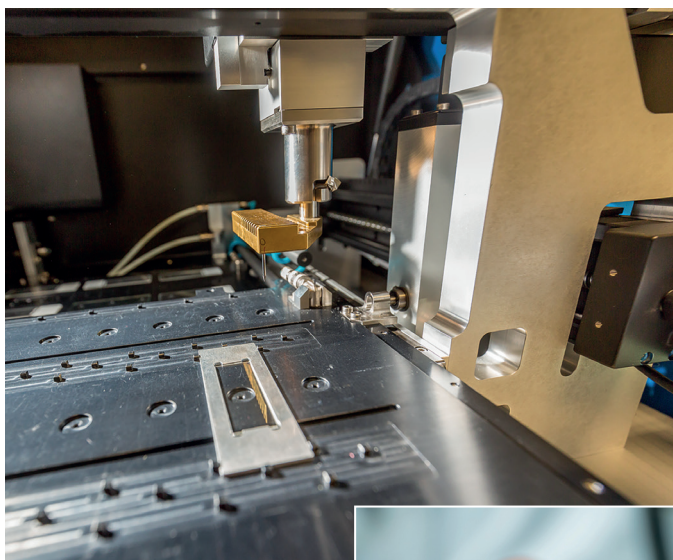
Ook voor medisch onderzoek blijkt de receptomics-technologie interessante mogelijkheden te bieden. Het zou een alternatief kunnen zijn bepaalde klassieke, klinisch-chemische analyses, waarbij receptoren in lichaamsreacties een rol spelen. “Je kunt hiermee bijvoorbeeld in bloedplasma of urinemonsters specifieke

“Ons systeem meet van een hele serie receptoren tegelijkertijd de respons”

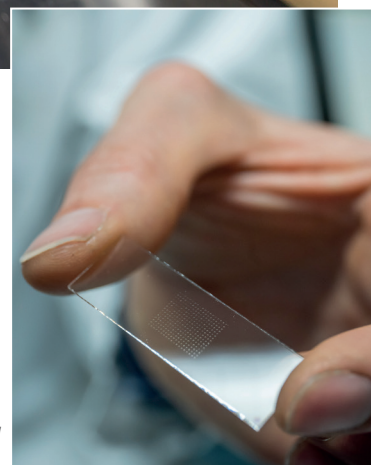
interacties meten. We hebben dit uitgetest met bloedplasma, waar de ligand [ion of molecuul dat bindt met een metaalatom via een covalente binding, *red.*] voor de neurokinine-pijnreceptor aan toe was gevoegd. Dat bleek goed te werken”, vertelt Roelse. “In veel gevallen kan het voordeel bieden om receptor-based te werken in plaats van chemical-based”, vult Jongmsa aan. “Dopingtesten zijn daar een goed voorbeeld van. Een chemische dopingtest kan iemand vaak omzeilen door een net iets andere chemische stof te gebruiken. Maar uiteindelijk werkt die stof wel op dezelfde receptor.”

Chinese kruidengeneeskunde

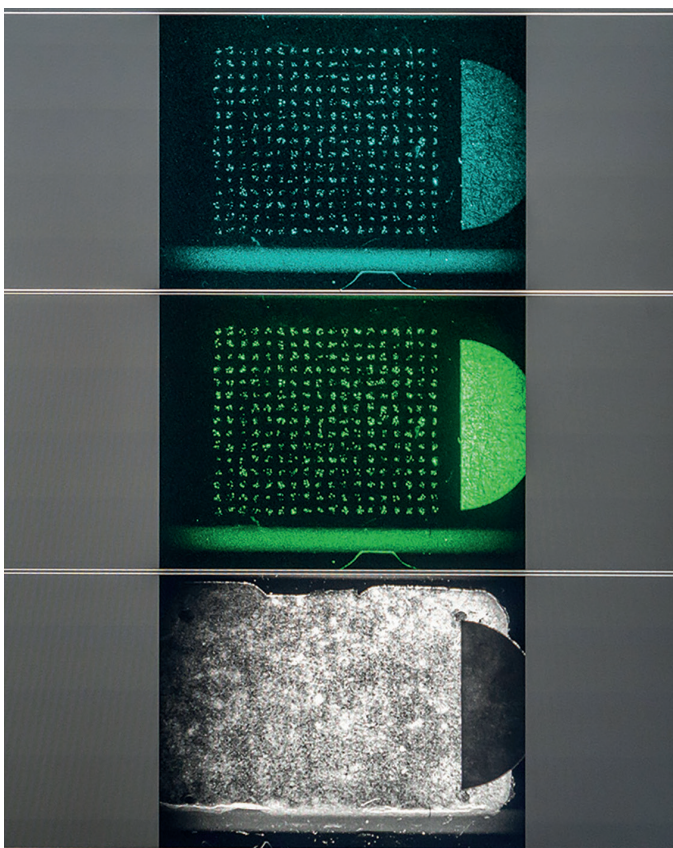
Onderzoekers van de Universiteit Leiden zijn geïnteresseerd in de technologie voor onderzoek naar de medicinale werking van plantenextracten, met name binnen de Chinese kruidengeneeskunde. Jongmsa vertelt: “Veel plantenextracten hebben geen effect meer zodra de stoffen worden opgezuiverd. Waarschijnlijk zijn er verschillende componenten in het extract die met meerdere receptoren complexe interacties aangaan, alleen is nog niet bekend hoe en wat. De Leidse onderzoekers willen ons systeem gebruiken om die complexe interacties in beeld te krijgen. Iets dergelijks zien we bij voeding ook. Daar is bijvoorbeeld bekend dat verschillende bitterstoffen soms elkaars bitterheid op receptor-niveau kunnen opheffen of juist versterken. Het is nog niet bekend hoe dat precies werkt. Met ons systeem hopen we daar meer over te kunnen leren.” **L**



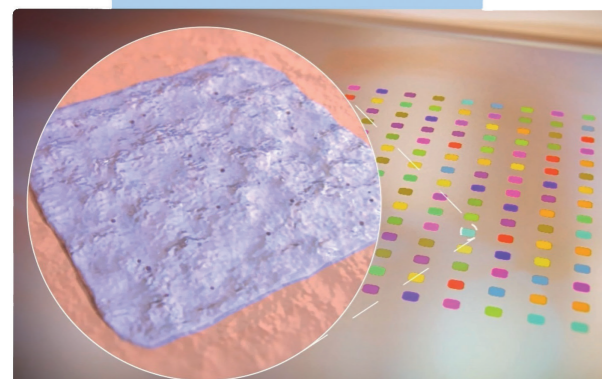
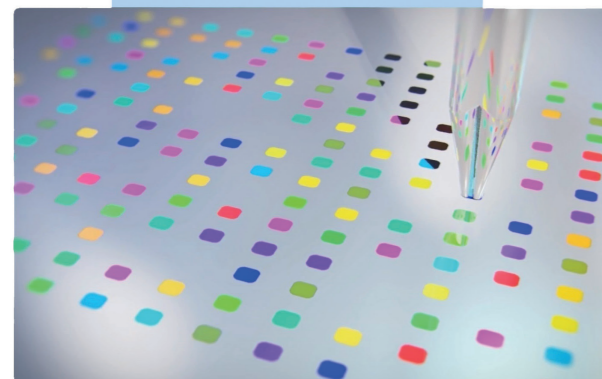
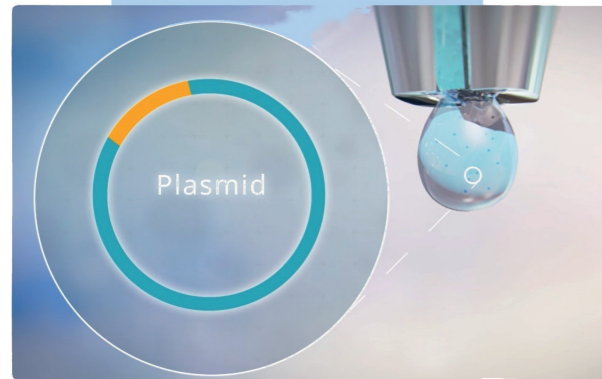
Boven:
Microgrid DNA-
printer voor
receptomics.



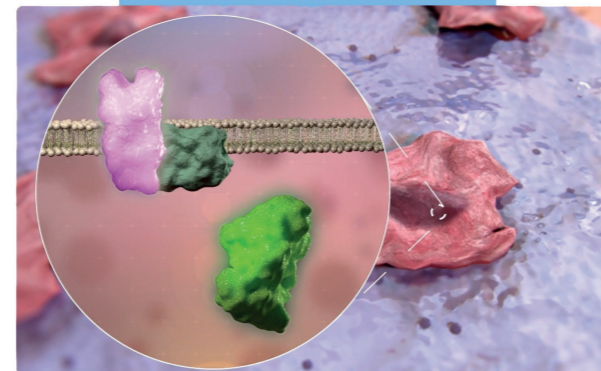
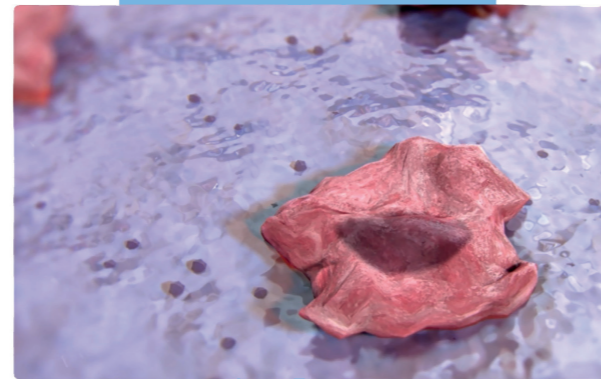
Rechts:
Receptomics-array
met geprinte DNA-
spots, voordat de
cellen erop gezaaid
worden.



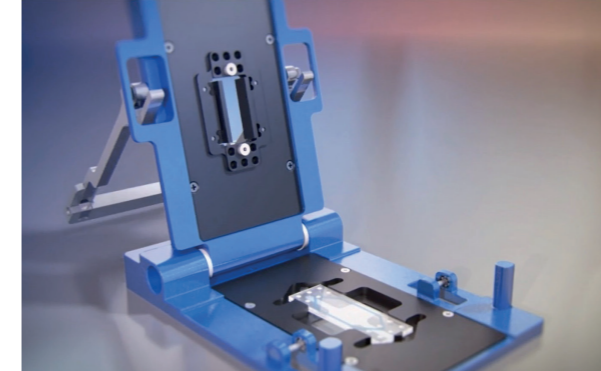
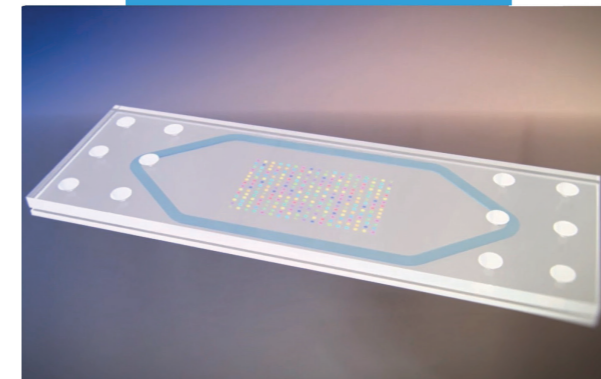
Beeld van de stereo-fluorescentiemicroscoop met blauw en groen fluorescerend gelabeld calcium-sensor eiwit. In grijs het contrastbeeld van de uniform gegroeide cellaag.

Stap 1

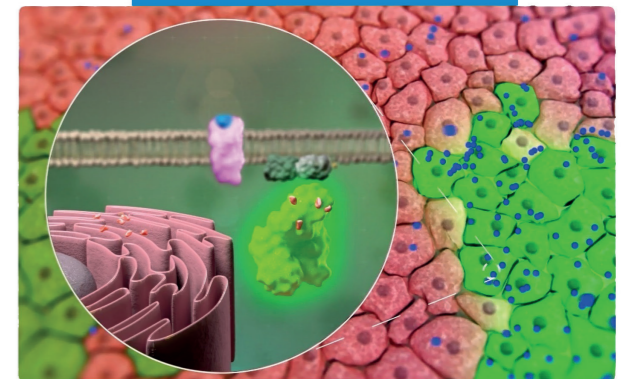
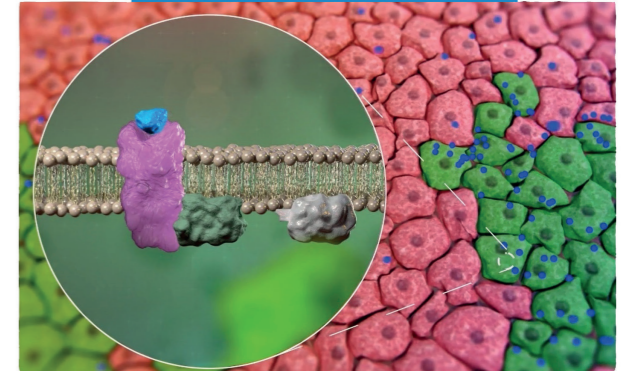
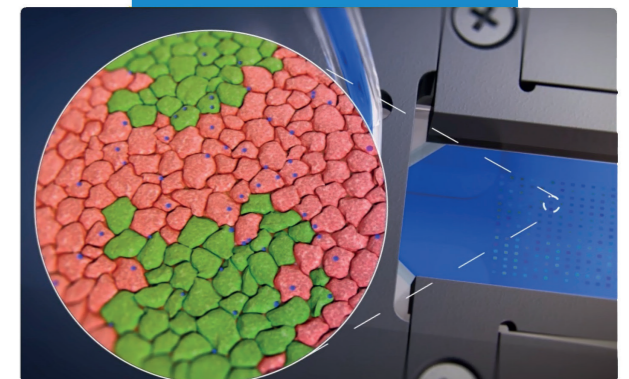
Printen van de array en bedekken met transfectie-middel

Stap 2

Zaaien van cellen en expressie van coderende DNA

Stap 3

Aansluiten van de flowcel en injecteren van een monster

Stap 4

Fluorescentie-meting na blootstelling van een monster

Het maken van een tong-op-een-chip

Om een receptor array te maken, wordt eerst het DNA van een serie verschillende receptoren in een rasterpatroon geprint op een glasplaatje. Elk druppeltje bevat DNA van een andere receptor gecombineerd met DNA van een calciumsensor. Het hele glasplaatje wordt vervolgens bedekt met humane cellen. Een transfectie-reagens zorgt ervoor dat het geprinte DNA in de cellen

wordt opgenomen en tot expressie wordt gebracht. Zijn de cellen eenmaal volgroeid, dan kan de daadwerkelijke test gaan beginnen. De onderzoekers laten in een flowcel vloeistoffen over de cellen stromen en bekijken met een microscoop waar precies fluorescentie ontstaat. Door de cellen telkens tussentijds te wassen, kan één array gebruikt worden voor een hele serie metingen. **L**