

NPSsay

Développement et implémentation d'un test d'activation de récepteurs aux nouvelles substances psychoactives

DUREE
15/12/2016 - 15/03/2019

BUDGET
150 000 €

DESCRIPTION DU PROJET

CONTEXTE

Environ 450 nouvelles drogues psychoactives (NPS), la majeure partie étant des cannabinoïdes de synthèse (SCs) sont apparues sur le marché mondial des drogues cette dernière décennie. Le challenge principal réside dans le développement continu des NPS, rendant difficile l'obtention de techniques à jour pour le monitoring de ces substances en vrac ou dans des échantillons biologiques. Actuellement, les services douaniers et les laboratoires de toxicologie travaillent avec des équipements sophistiqués tels que la spectrométrie par résonance magnétique nucléaire et la spectrométrie de masse (time-of-flight) afin d'élucider la structure des NPS ou pour détecter ces derniers. Toutefois, ces techniques nécessitent beaucoup de temps, sont fastidieuses et onéreuses. Des tests compatibles rapides, peu onéreux et à haut rendement capables de révéler la présence de NPS augmenteraient la capacité des organisations publiques pour répondre rapidement à ce problème mondial. Bien qu'actuellement certains NPS connus puissent être détectés via des tests immunologiques rapides, ces derniers sont rapidement dépassés sachant qu'ils ciblent une structure chimique et ne peuvent donc répondre à l'évolution continue de la structure des NPS. De plus ces tests manquent parfois de sensibilité. Il en résulte que les organisations publiques sont toujours dépassées. Le développement de techniques de criblage de haut rendement ciblant l'activité des NPS et non leur structure chimique est d'importance majeure vu que la Belgique publiera sous peu une législation générique, rendant un grand nombre de NPS illégaux.

OBJECTIFS

Dans ce projet, un système cellulaire stable pour un nouveau bio-essai *in vitro* sera développé et mis en œuvre, permettant la détection de NPS 'inconnus' dans des matériaux en vrac ou dans des matrices biologiques (e.a. l'urine, la salive). Le projet est basé sur la propriétés qu'ont les NPS d'activer les récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs). La technique développée, un bio-essai, aidera à assurer une détection à jour pour plusieurs organisations publiques. Il en résultera non seulement une meilleure banque de données de connaissances mais aussi une meilleure évaluation de la dangerosité potentielle des NPS.

METHODOLOGIE

Un bio-essai détectant les SCs sera développé en premier lieu. Le criblage basé sur l'activité sera étendu en second lieu à d'autres drogues synthétiques apparues récemment, tels que les opiacés synthétiques. L'INCC évaluera finalement l'applicabilité du test et sa valeur ajoutée dans le contexte d'un laboratoire forensique de routine. Le bio-essai qui sera développé utilise le concept de complémentation fonctionnelle, basé sur la NanoLuc® Binary Technology (Promega), qui utilise des sous-unités de la Luciferase NanoLuc®, Large BiT (LgBiT) et Small BiT (SmBiT). Ces deux sous-unités seront couplées aux deux protéines d'intérêt, d'une part la GPCR et d'autre part la β -arrestine 2 (β arr2) (Figure 1). Ces deux protéines de fusion seront exprimées dans la cellule. Après activation de la GPCR, la protéine β arr2-fusion se lie au récepteur, avec pour résultat une complémentation fonctionnelle (c'est-à-dire la re-association de SmBiT avec LgBiT) de la Luciferase NanoLuc®, cette dernière pouvant facilement être contrôlée par luminescence.

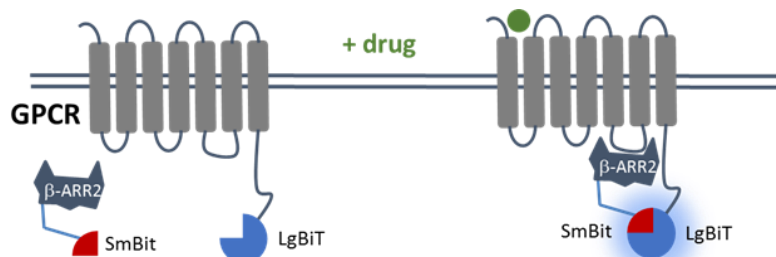


Figure 1 : Exemple d'une configuration du bio-essai développé.

IMPACT

Connaissant les limitations connues des méthodes de reconnaissance structurales actuelles et l'implémentation de ces mêmes méthodes, il apparaît que les organisations publiques sont toujours dépassées. Il est difficile et coûteux d'étendre et de tenir à jour les méthodes de criblage basées sur la reconnaissance structurale (par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse de haute résolution en tandem). Par conséquent, il est connu que des cas positifs ne sont pas détectés. Dans le présent projet, un système cellulaire stable sera développé et mis en œuvre, permettant le criblage dans un format à 96 puits (donc compatible avec un rendement élevé) de SCs dans des matériaux en vrac ou dans des matrices biologiques, basé sur leur capacité à activer les récepteurs CB. Sachant que le criblage est basé sur l'activité plutôt que sur la structure chimique, ceci permettrait la détection de tous les SCs quand-bien-même leurs structures sont inconnues. A notre connaissance, l'utilisation de criblage 'basés sur l'activité' est une nouvelle approche n'ayant encore jamais été utilisée jusqu'à présent au monde dans un cadre toxicologie/forensique.

L'impact de ce projet réside clairement dans l'augmentation des capacités de détection des NPS pour les douanes, la santé publique et les laboratoires forensiques. La détection, mise à jour, des NPS aboutira à la possibilité de diriger l'action ou la collecte d'information pour plusieurs organisations publiques telles que le Ministère de Justice, la Santé Publique, les Finances et les Affaires Intérieures. Sachant que la détection des NPS est un problème mondial, et vu le caractère novateur de l'approche proposée, les retombées du projet ne resteront probablement pas limitées à la Belgique, mais pourront être étendues à l'échelle mondiale.

DESCRIPTION DU PRODUIT FINI DE RECHERCHE A COURT ET MOYEN TERME.

Les résultats obtenus seront partagés avec les parties prenantes nationales telles que le Ministère de la Justice, la Santé Publique, les Finances (douanes) et les Affaires Intérieures ainsi qu'avec la communauté forensique internationale.

- A. Publications dans des revues scientifiques et présentation des résultats lors de conférences.
- B. Participation à des ateliers pour les organismes publics pour présenter les résultats du projet:
 - Participation in the workshop 'Strategies for the Detection of Synthetic Cannabinoids in Biological Specimens' hosted at the 55th Annual meeting of International conference of The International Association of Forensic Toxicology (TIAFT), joint meeting with the Society of Forensic Toxicologists (SOFT), Boca Raton, Florida, US, 06/01/2018. Bioassay-based screening of synthetic cannabinoids: adding a new spice to the toxicologist's palette. (Cannaert A).
- C. Mise en œuvre dans le flux de travail de l'INCC pour les échantillons biologiques: prévue en 2018-2019.

COORDONNEES

Coordinateur

Sarah Wille
INCC / Département Toxicologie
Sarah.Wille@just.fgov.be

Partenaires

Christophe Stove
UGent/ Afdeling Toxicologie
Stove@UGent.be

Annelies Cannaert
INCC / Département Toxicologie
Annelies.Cannaert@just.fgov.be
Annelies.Cannaert@UGent.be

LIENS

<https://nicc.fgov.be/>