

NPSsay

Ontwikkeling en implementatie van een receptor activatie assay voor nieuwe psychotrope substanties

DUUR
15/12/2016 - 15/03/2019

BUDGET
150 000 €

PROJECT BESCHRIJVING

CONTEXT

De laatste 10 jaar zijn er ongeveer 450 nieuwe psychoactieve substanties (NPS) op de wereldwijde drugsmarkt verschenen, waarvan de synthetische cannabinoïden de grootste klasse zijn. De grootste uitdaging voor de opsporing van deze nieuwe drugs is de continue chemische ontwikkeling van nieuwe substanties, wat het moeilijk maakt om up-to-date methoden te ontwikkelen voor de detectie van deze substanties in bulk materialen of biologische stalen. Momenteel werken de douane en toxicologische laboratoria met geavanceerde toestellen, zoals NMR (Nucleaire Magnetische Resonantie) en TOF (time-of flight) massa spectrometrische toestellen om de structuur van deze nieuwe substanties op te helderen of deze op te sporen. Deze technieken zijn echter tijdrovend en duur. Snelle, goedkope, high-throughput compatibele testen, die in staat zijn om de aanwezigheid van NPS te kunnen aantonen zouden de bevoegde instanties toelaten om snel te reageren op dit wereldwijd probleem. Hoewel momenteel sommige NPS kunnen gedetecteerd worden via snelle immunologische testen, zijn deze snel verouderd aangezien zij zich op de specifieke chemische structuur richten en zo niet kunnen volgen met de continue chemische evolutie in de NPS structuur. Bovendien missen ze vaak sensitiviteit. Bijgevolg lopen de bevoegde instanties achter de feiten aan. De ontwikkeling van high-throughput opsporingsmethoden, gebaseerd op de NPS activiteit in plaats van hun chemische structuur is van groot belang aangezien België binnenkort een generische wetgeving zal implementeren, wat een hele reeks van NPS illegaal zal maken.

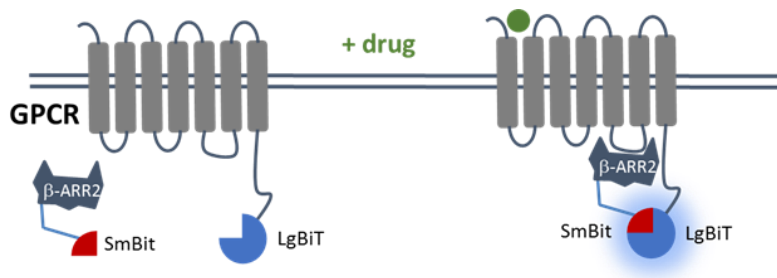
OBJECTIEVEN

Binnen dit project zullen er stabiele cel systemen voor nieuwe *in vitro* bio-assays worden gegenereerd en geïmplementeerd. Dit moet de opsporing van 'ongekende' NPS toelaten in bulk materialen en biologische stalen (e.g. urine, speeksel), via hun vermogen om G-proteïne gekoppelde receptoren (GPCRs) te activeren. De ontwikkelde techniek, een bio-assay, zal resulteren in een up-to-date opsporingsmethode voor verschillende instanties, wat niet alleen zal leiden tot een betere kennisdatabase, maar zal ook toelaten om een betere beoordeling te maken van de potentiële schade, die NPS kunnen veroorzaken.

METHODOLOGIE

Eerst zal er een bio-assay ontwikkeld worden voor de detectie van synthetische cannabinoïden. In een volgende stap zal de toepassing van de bio-assay uitgebreid worden naar andere opkomende synthetische drugs, zoals bijvoorbeeld synthetische opioïden. Uiteindelijk zal het NICC de toepasbaarheid en de toegevoegde waarde van de bio-assays evalueren in de context van een routine forensisch laboratorium.

De ontwikkelde bio-assay maakt gebruik van het concept van functionele complementatie, gebaseerd op de NanoLuc® Binary Technology (Promega). Deze maakt gebruik van twee inactieve subunits van het NanoLuc® Luciferase, het Large BiT (LgBiT) en het Small BiT (SmBiT). Deze twee subunits worden gekoppeld aan onze proteïnen van interesse, wat in ons geval de GPCR en het β -arrestin 2 proteïne (β arr2) zijn (Figuur 1). Beide fusieproteïnen komen tot expressie in de cel. Bij activatie van de GPCR zal het β arr2-fusie proteïne gerekruteerd worden naar de receptor wat leidt tot een functionele complementatie (i.e. re-associatie van SmBiT met LgBiT) van het NanoLuc® Luciferase. Dit proces kan eenvoudig gevolgd worden via luminescentie.



Figuur 1 : Voorbeeld van een opstelling van de ontwikkelde bio-assay.

NPSSay

IMPACT

Met de gekende beperkingen van de huidige structuur-gebaseerde methoden, lopen de bevoegde instanties achter de feiten aan. Het is moeilijk en duur om up-to-date, structuur-gebaseerde screeningsmethoden (via vloeistof chromatografie gekoppeld aan tandem of hoge resolutie massa spectrometrie) algemeen te implementeren. Daarom is het algemeen gekend dat er positieve stalen worden gemist. Met dit project zullen er stabiele cel systemen worden ontwikkeld en geïmplementeerd, wat opsporen van synthetische cannabinoïden en andere NPS in bulk materialen en biologische stalen in 96-well plaat, dus bijgevolg high-throughput compatibel, toelaat. Deze screening is gebaseerd op de activiteit van de substantie. Aangezien de opsporing van de drugs gebaseerd is op de activiteit, laat dit toe om alle NPS te detecteren, onafhankelijk of hun structuur gekend is. Zover wij weten is deze activiteit-gebaseerde techniek een nieuwe benadering dat nog nergens gebruikt wordt in een toxicologische/forensische setting.

De impact van dit project ligt in de toename in opsporingsmogelijkheden van NPS voor de douane, gezondheidszorg en forensische laboratoria. De up-to-date detectie zal resulteren in de mogelijkheid om gericht te reageren of om informatie te verzamelen voor verschillende instanties zoals de Departementen van Justitie, Gezondheidszorg, Financiën en Binnenlandse zaken. Omdat de opsporing van NPS een wereldwijd probleem is en aangezien de opsporing gebeurt op een nieuwe manier, zal de impact van het project waarschijnlijk niet enkel gelimiteerd blijven tot België alleen, maar ook op globaal niveau.

BESCHRIJVING VAN DE AFGEWERKTE PRODUCTEN VAN HET ONDERZOEK OP KORTE EN MIDDELLANGE TERMIJN.

De verkregen resultaten zullen gedeeld worden met nationale belanghebbenden zoals de Departementen van Justitie, Gezondheidszorg, Financiën (douane) en Binnenlandse Zaken en eveneens de internationale forensische gemeenschap.

- A. Publicaties in wetenschappelijke tijdschriften en presentaties van de resultaten op congressen.
- B. Deelname in workshops voor publieke instanties om de resultaten van het project te presenteren:
 - Deelname in workshop getiteld '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). (mondelinge presentatie voor een internationale groep van toxicologen).
- C. Implementatie in de NICC workflow voor in beslagname van bulk materialen en biologische stalen: voorzien in 2018-2019.

CONTACT INFORMATIE

Coördinator

Sarah Wille
NICC / Afdeling Toxicologie
Sarah.Wille@just.fgov.be

Partners

Christophe Stove
UGent/ Afdeling Toxicologie
Stove@UGent.be

Annelies Cannaert
NICC / Afdeling Toxicologie
Annelies.Cannaert@just.fgov.be
Annelies.Cannaert@UGent.be

LINKS

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