

Basenparen voor nop?

Bedrijven die nu grootschalig DNA op microchips maken beloven een revolutie in de biotechnologie. De bestaande leveranciers van synthetisch DNA zijn nog niet overtuigd.

MARIANNE HESELMANS

Synthetisch DNA is nu nog te duur voor grootschalige experimenten met complete, 'herschreven' genomen of andere lange stukken DNA. Een synthetisch stuk DNA met twintig genen en veertig regulerende DNA-stukjes voor een verbeterde fotosynthese zou een laboratorium bijvoorbeeld nog duizenden euro's kosten. Het genoom van de bacterie *Mycoplasma mycoides* dat Craig Venter in 2010 synthetiseerde, heeft zijn bedrijf 40 miljoen dollar gekost. Een synthetisch gemaakt menselijk genoom zou, als je het zou kunnen maken, 2 miljard euro kosten.

PRINTEN

Wat als de DNA-synthese straks misschien net zo goedkoop is als het sequensen – drie miljoen letters voor 1 euro? Dan kunnen we levende organismen gaan printen zoals we nu kunststof voorwerpen printen, schetst ceo Austin Heinz op de promotievideo van het jonge biotechnologiebedrijf Cambrian Genetics in San Francisco. Je kan volledige genomen laten maken. Werkt de code dan niet, dan laat je gewoon een nieuw genoom synthetiseren. Heinz: 'Zulke experimenten worden dan betaalbaar.'

Uitgestorven soorten weer tot leven wekken is een van de mooie toekomst-

beelden van Cambrian Genetics. Dit bedrijf profileert zich nu met geautomatiseerde, parallelle synthese van duizenden DNA-strengtjes tegelijkertijd op microchips. Tot de voorlopers in dit veld behoort ook Geng uit Cambridge, opgericht door de bekende synthetisch biologen George Church en Drew Andy. Ter promotie van hun idee dat met goedkopere DNA-synthese ook de dataopslag betaalbaar wordt, heeft Church het boek dat hij vorig jaar schreef geheel in DNA-code opgeslagen. Cambrian Genomics

'Bij een groot volume krijgt de klant korting'

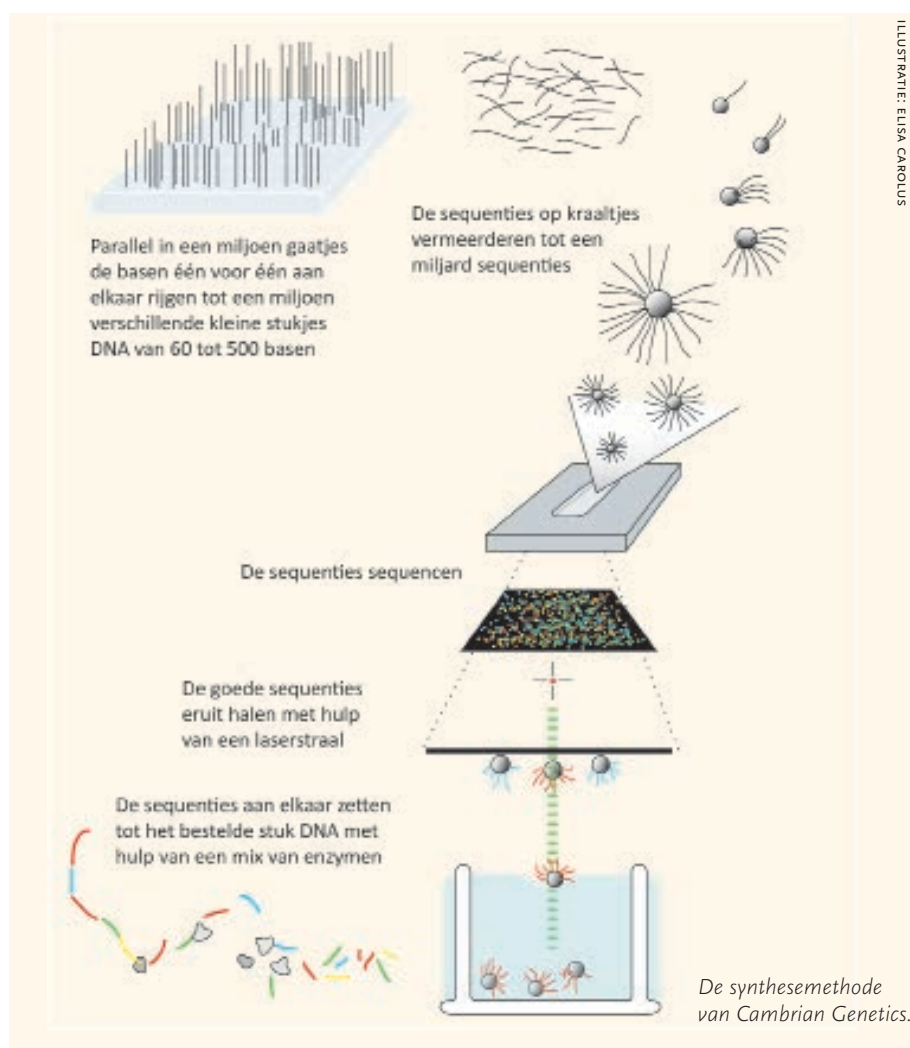
en Geng onderscheiden zich van de al langer bestaande DNA-leveranciers als BioLegio en Integrated DNA Technologies (IDT). Deze maken hun DNA niet parallel op microchips, maar streng voor streng in losse buisjes of op platen met 96 gaatjes. Dit doen ze volgens een chemische koppelingstechniek die 60 jaar geleden is ontwikkeld door de Schotse Nobelprijswinnaar Alexander Todd en sindsdien steeds verder is verbeterd en geautomatiseerd.

De beloftes die Geng en Cambrian Genomics doen zijn immens, maar volgens Danny Duijsings van DNA-

leverancier Baseclear in Leiden zal het nog zeker 5 tot 10 jaar duren voor ze echt zo goedkoop synthetisch DNA kunnen gaan leveren, als dat al gaat lukken. "Het is het allemaal nog net niet. De microchips leveren wel spotgoedkoop een hele pool verschillende oligo's (kleine strengtjes tot 60 nucleïnezuren, red.), maar er ontstaan gemakkelijk fouten in de codes. En het corrigeren hiervan is nog duur." In ieder geval betreft Baseclear zijn synthetisch gemaakte stukjes DNA nog van conventionele bedrijven. Voor de laboratoria die de genen bestellen zet Baseclear de ingekochte oligo's in de juiste volgordes en controleert het de codes met de klassieke Sangersequencing. Het gen, bijvoorbeeld voor een verbeterd enzym voor wasmiddelen of celluloseafbraak, krijgt de klant in een bacterievectoor toe gestuurd.

OPLOSSINGEN

Afgaande op de prijs van Geng, heeft dit bedrijf al een paar oplossingen voor het corrigeren gevonden. De perswoordvoerder van Geng mailt dat zijn bedrijf nu 20 dollarcent per basenpaar vraagt. "En bij een groot volume krijgt de klant korting." Ter vergelijking: bij de 'klassieke' DNA-leveranciers betalen klanten nu 28 tot 40 dollarcent per basenpaar, afhankelijk van het volume en de lengte van het gen. Nu is ook 20 cent per ba-



senpaar nog te veel om met hele genomen te gaan experimenteren. Maar, zo schrijft Martin Goldberg van Geng in *Industrial Biotechnology* van februari 2013, 'We kunnen voor DNA-synthese net zo'n logaritmische prijsdaling verwachten als we zagen bij het sequensen.' In 2003 kon je voor 1 dollar nog maar 1 basenpaar sequensen. Nu, 10 jaar later, is dat aantal al toegenomen tot meer dan 3 miljoen.

SEQUENSEN

Kenmerkend voor de nieuwe DNA-synthese is de enorme hoeveelheid DNA die moet worden gesequencet. Een microchip bevat een miljoen gaatjes per vierkante centimeter. In al die gaatjes worden parallel nucleïnezuren aan elkaar geregen tot een miljoen verschillende DNA strengetjes – zogenoemde oligonucleotiden – die daarna ook weer parallel met enzymen worden vermeerderd. Vervolgens laat Geng over die strengetjes kopieën gaan. Alleen de redelijk aan elkaar geregen strengetjes plakken aan elkaar vast en worden eruit gevist. Maar

die zijn nog steeds onzuiver. Het bedrijf moet ze dus nog allemaal sequensen om er de goede uit te halen.

Bij Cambrian Genetics worden de miljoen parallel gemaakte oligo's op microkraaltjes vermeerderd tot een miljard

'Veel klanten hechten erg aan zuiverheid'

strengetjes, die allemaal parallel worden gesequencet. Met een laserstraal worden de juiste strengetjes eruit gepikt en fouten hersteld. Vervolgens moeten de oligonucleotiden nog aan elkaar worden gezet tot genen en langere stukken DNA. Dat gebeurt met gepatenteerde mixen van verbeterde enzymen. Ook tijdens dit aan elkaar zetten moeten de bedrijven blijven sequensen om zo min mogelijk fouten te krijgen.

Duijssings vreest dat bedrijven zich bij steeds langere stukken 'suf moeten gaan sequensen'. Bij de conventionele aanpak is de efficiëntie van het koppelen van ba-

sen aan elkaar 99 procent, merkt hij op, bij chiptechnologie is de foutenmarge vaak hoger dan 1 op de 50. Dit komt ondermeer omdat er nog gemakkelijk DNA van het ene gaatje in het andere belandt.

Ook Johan Vanderhoeven van Integrated DNA Technologies (IDT) in Leuven schat in dat de nieuwkomers in zijn branche nog wel 10 jaar nodig hebben voordat ze kunnen concurreren, als het al lukt. Zijn bedrijf heeft Geng onlangs bezocht, maar stapt voorlopig nog niet over op microchips.

IDT stuurt elke dag zo'n 40.000 a 50.000 unieke sequenties naar bedrijfslaboratoria, universiteiten en ziekenhuizen. Niet meer in een bacterievector, maar als een gedroogde pellet in een tubetje van 2 a 3 centimeter. "Veel klanten hechten erg aan zuiverheid", vertelt Vanderhoeven. "Voor bijvoorbeeld diagnostische testen is een zuiverheid nodig van 85 tot 90 procent. Dat lijkt niet zo zuiver, maar die andere 5 tot 15 procent is een mix van allemaal verschillende typen sequenties die allemaal weer andere basen missen. Omdat ze allemaal verschillend zijn, storen ze een test niet. Bij DNA van microchips is het nog heel duur om zo'n zuiverheid te krijgen."

FENTOMOL

Microchips, zo weet Vanderhoeven, leveren ook maar een paar femtomol DNA, terwijl sommige klanten vragen om 10 gram. Dan moeten wel heel veel vermeerderingsstappen worden gedaan. En, zo merkt hij ook op, IDT kan een gevraagde sequentie binnen een dag leveren – belangrijk voor ziekenhuizen die snel een diagnose willen stellen, bijvoorbeeld voor een bepaalde genetische vorm van kanker. Met chiptechnologie duurt het hele proces nog één week tot een paar weken.

De nieuwe leveranciers zeggen wel op prijs, snelheid en zuiverheid te kunnen gaan concurreren. Geng kondigde onlangs aan dat het in 2013 capaciteit wil hebben opgebouwd voor de helft van de DNA-wereldmarkt. In 2014 wil het voldoende kunnen maken voor de hele wereldmarkt, die volgens het bedrijf dan ook nog eens met 25 procent zal zijn gegroeid. Ook Austin Heinz schetst een rooskleurig beeld. 'We hebben een DNA-printer gemaakt. En die gaat ervoor zorgen dat straks een groot deel van het leven om ons heen synthetisch is, en beter.'

Bekijk het filmpje van Austin Heinz: <http://goo.gl/e2RK3>