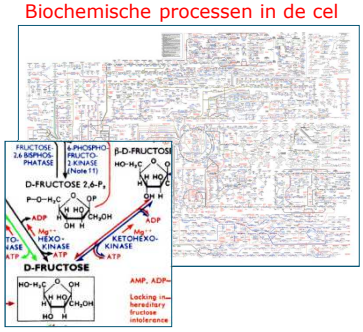
Zoektocht naar functionele diervoedingscomponenten (Marcel Hulst; VDI 4 *in-vitro modellen*)

Hoe kunnen we "Genomics" data gebruiken om nieuwe of verbeterde diervoedingscomponenten te vinden ?

LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

Zoektocht naar functionele diervoedingscomponenten

Biochemische processen in de cel



- "Genomics" data van interventie studies

(in-vitro , ex-vivo, in-situ, in-vivo studies)

Wat doen we ermee ?

- Bioinformatica-analyse en Datamining

Wat kan dat opleveren ?

("Kandidaat" verbeterde of alternatieve functionele diervoedingscomponenten ?)

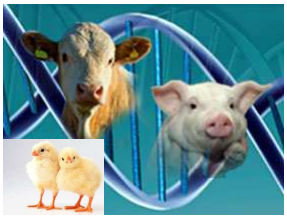
- Voorbeeld; "van Data-set naar Kandidaat"

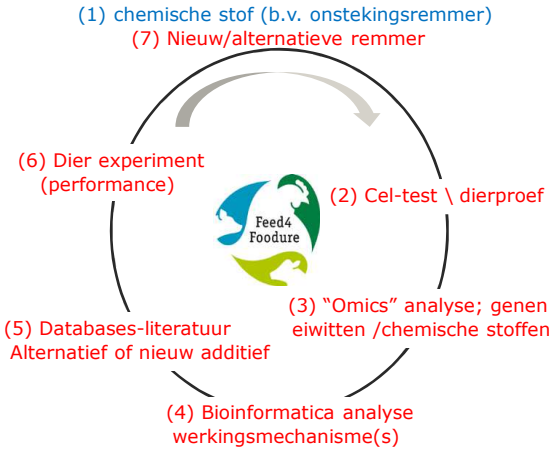
LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

"Genomics" data van interventie studies

Wat doen we ermee ?

Gezondheid probleem; is er een betaalbaar (alternatief) voer-additief om het probleem op te lossen of te reduceren.

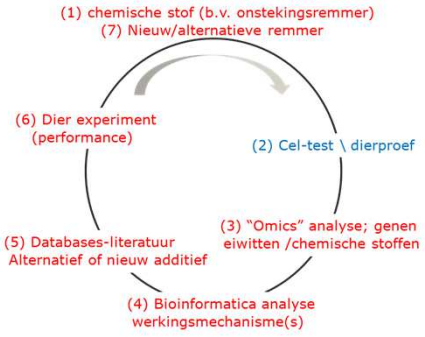


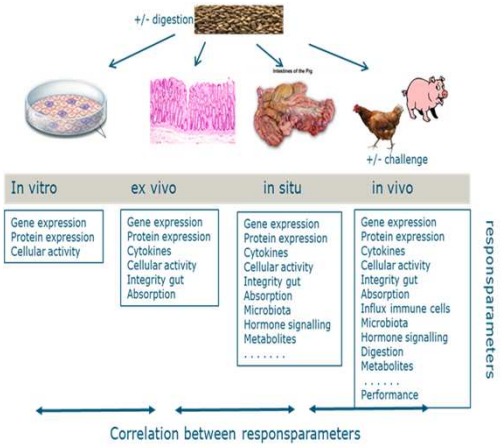


LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

(2) Cel-test / Dierproef > lijst met response genen/eiwitten

Testen van interventies/additieven in de VDI pijplijn





LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

VDI-4 *In-vitro* modellen (2013)

"Varkensenterocyten cellijn IPEC-J2" met en zonder Salmonella-challenge

Stoffen [concentratie range]

→ 2, 4, 6, of 20 uur groei → RNA / QRT-PCR / Microarray

-Respons (ontsteking) genen/eiwitten in varkens-darmepitheel cellen op de additieven.

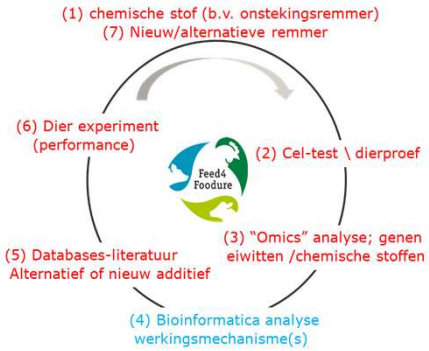
VDI-4 2013;
testen stoffen die in de interventie-dierproeven van VDI-2,3 en 5 worden getest dit jaar.

1) Octaciline (VDI-3 neonataal vleeskuikens)
2) Paraciline amoxiciline (VDI-2 maternaal varken)
4) 75% ZNO B2264 (VDI-5 in-vivo modellen biggenproef)
5) Korte keten fructose's (VDI-3 neonataal varkens)
6) Lange keten fructose's (VDI-3 neonataal varkens)
7) Rogge (VDI-5 vleeskuikens)

planning 2014 ; ditto test met kip en rund enterocyten cellijnen

LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

(4) Bioinformatica analyse programma's; werkingsmechanismen



Het voorspellen werkingsmechanisme(s), relaties tussen genen/eiwitten onderling, en hun gezamenlijk functioneren in een biologisch systeem (cel/orgaan/organisme).

Web-programma's zoals....

DAVID –GeneDecks –STRING/STITCH-GNCPro

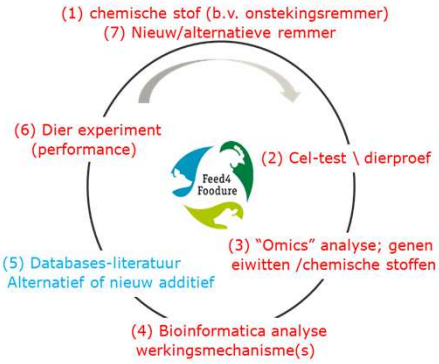
Input; lijsten met genen/eiwitten
(b.v. van een microarray experiment)

Output;
clustering genen/eiwitten in groepen en netwerken.

-pathways (metabolisch en immunologisch)
-expressie in specifieke cellen/organen
-biologische processen (b.v. opname in cellen)
-interactie met metabolieten
-betrokkenheid bij ziektes
-etc..

LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

(5) Databases-literatuur; welke genen zijn de key-players ?



LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

Databases-literatuur (bulk humaan-muis-rat)

Functie genen (Entrez-Genecards-KEGG)

-Genexpressie datasets; lijsten met respons-genen van andere onderzoeksgroepen (GEO-ArrayExpress)

-Relaties tussen chemische stoffen en genen (PubChem - Comparative Toxicogenomics Database)

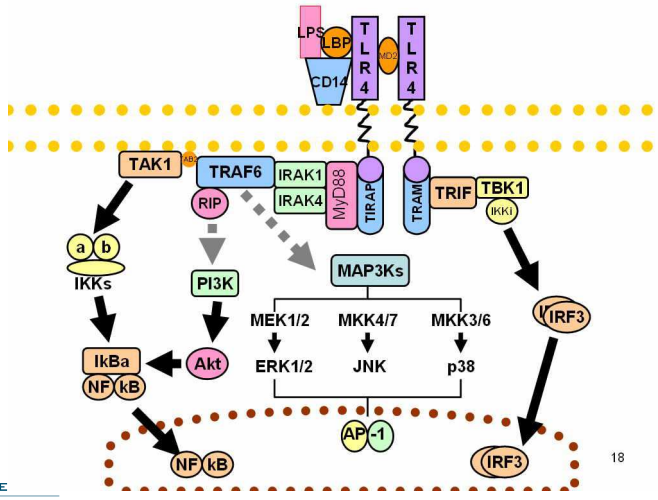
-genen en ziektes (ONIM; denk aan het BRCA1 gen)

-enzymen, substraten en enzymproducten (metabolieten) (Brenda-KEGG)

-relevante literatuur (PubMed, Scholar, etc..).

-pathways – schema's van de wisselwerking en interactie tussen genen-eiwitten in metabolische en biologische processen. (KEGG-Reactome)

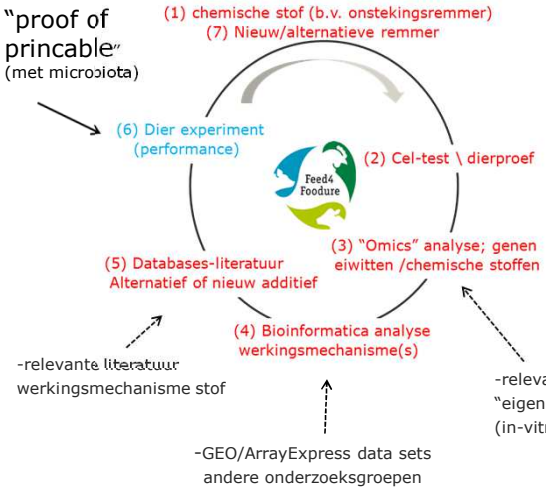
-pathways – schema van de wisselwerking en interactie tussen genen-eiwitten in metabolische en biologische processen. (KEGG-Reactome)



18

LIVESTOCK RESE WAGENINGEN UR

(6) Dier proef / meten performance



"proof of princable"
conventionele dierproef met betaalbare alternatieve diervoedingscomponenten

Performance
-kortere diarree periode.
-voerconversie
-groeisnelheid
-etc....
> EFSA claim

--------> Overal instappen

LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

Casus; herhaalde orale toediening van probiotica bij varkens

Table S1 Comparision between *L. plantarum v299* and PBS treated pigs.

Differential expressed probes (Oligo-ID) were selected when their ratio of expression, L. plantarum over PBS, was 2-fold higher (FC >2) or 2-fold lower (FC < 0.5). The reader may retrieve lists of gene-symbols representing up- or down-regulated genes by sorting using the up/down header.

Oligo-ID	Description	Gene Symbol	FC *L. plantarum* over PBS	up / down
Ssc.10460.2.S	GENE ID: 629 CFB | complement factor B [Homo sapiens]	CFB	0.47	down
Ssc.11992.1.A	complement cytolysis inhibitor	CLU	2.21	up
Ssc.27446.1.S	XP_514854.1 PREDICTED: similar to ubiquitin specific protease 16 isoform a; ubiqui	USP21	2.14	up
Ssc.16955.1.S	NP_115612.3 ubiquitin specific protease 48; ubiquitin specific protease 31 [Homo s	USP48	2.49	up
Ssc.27407.1.A	GENE ID: 8204 NRIP1 | nuclear receptor interacting protein 1 [Homo sapiens]	NRIP1	2.71	up
Ssc.14475.3.S	peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2	PPARG	0.32	down

NRIP1=nuclear receptor interacting protein 1

PPARG=peroxisome proliferator-activated receptor gamma

(3) "Omics" analyse; gen-expressie (microarray)

Een lijst met respons-genen in het jejunum

Regulatie ontstekingsgenen

Ontstekingsremmers!

(4) Bioinformatica analyse programma's ; clustering respons genen in groepen

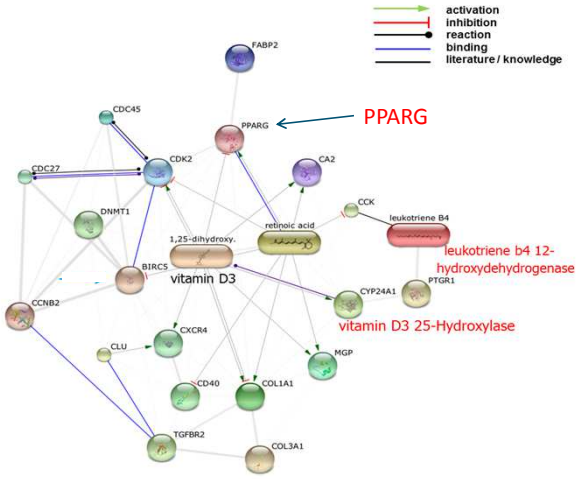
Term*	# genes	%	*p*-value	genes[a]
Pathway**				
hsa04672:Intestinal immune network for IgA production	5	1.4	3.1E-02	CXCR4, TNFRSF17, PIGR, CD40, CCL28
hsa04810:Regulation of actin cytoskeleton	10	2.8	8.1E-02	PFN1, ROCK1, TIAM1, PIKFYVE, CYFIP2, PPP1R12A, ARPC4, VAV1, PIK3R1, MYH10
hsa00230:Purine metabolism	8	2.2	8.2E-02	ENPP3, RRM2, AK1, PRIM2, GUCY1B3, RRM2B, PAPSS2, ADA
hsa04115:p53 signaling pathway	5	1.4	8.5E-02	CCNB2, RRM2, RRM2B, ATR, CDK2
hsa03320:PPAR signaling pathway	5	1.4	8.9E-02	HMGCS2, APOC3, PPARG, FABP2, MMP1
Compound**				
pge2	11	2.7	2.4E-07	AGT, BIRC5, CA2, CCK, CD40, CDK2, COL1A1, CXCR4, GPX4, PPARG, TGFBR2
vitamin d	10	2.5	5.2E-08	CDK2, CLU, COL1A1, DNMT1, FABP2, MGP, PPARG, SLC13A1, TGFBR2, TRPV6
retinoic acid	32	7.9	1.0E-16	ADA, ALDH1A1, APOC3, ARL6IP5, BCL6, BIRC5, BPI, CA2, CCK, CD40, CDK2, CLU, COL1A1, CXCR4, DES, DNMT1, FABP2, GATA4, GPRC5A, HCK, HELLS, HOXB7, MGP, NRIP1, PENK, PI3, PIGR, PPARG, RBP2, SOAT1, TGFBR2, VAV1

pathways

Associatie met metabolieten

Casus netwerk; associatie respons genen met metabolieten

STITCH program



PPARG=peroxisome proliferator-activated receptor gamma

(4) Bioinformatica analyse programma's

Interactief netwerk

Klikken op verbindingslijnen > rechtstreeks naar data in database en literatuur

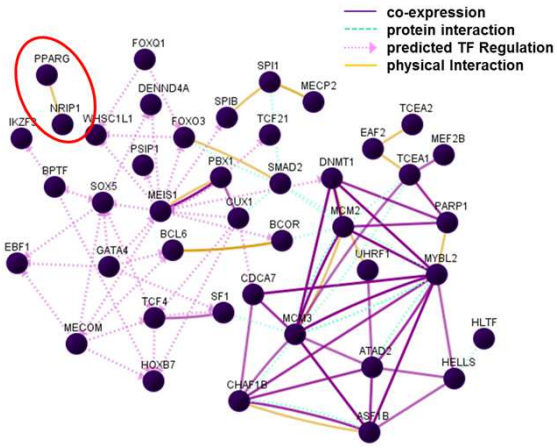
(5) Databases-literatuur

Bestuderen en interpreteren

PPARG key-player

Transcriptie netwerk

genen die de expressie van mRNA's en eiwitten regelen



(4) Bioinformatica analyse programma's

Interactief netwerk

Klikken op verbindingslijnen > rechtstreeks naar data in database en literatuur

(5) Databases-literatuur

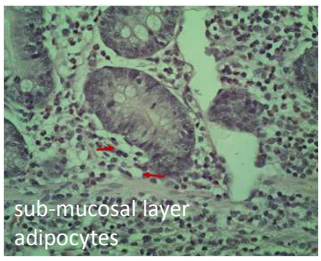
Bestuderen-interpreteren

Lagere expressie PPARG door up-regulate NRIP1 ?

LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

NRIP1=nuclear receptor interacting protein 1

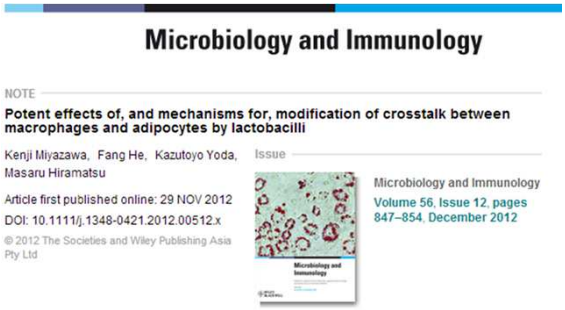
Casus ; voorspelling in welke cellen de genen acteren !



(4) Bioinformatica analyse programma's

DAVID; clustering genen
In welk celtype komen deze genen tot expressie

Adipocyten/Macrofagen



Microbiology and Immunology

NOTE

Potent effects of, and mechanisms for, modification of crosstalk between macrophages and adipocytes by lactobacilli

Kenji Miyazawa, Fang He, Kazutoyo Yoda, Masaru Hiramatsu

Issue

Article first published online: 29 NOV 2012
DOI: 10.1111/j.1348-0421.2012.00512.x
© 2012 The Societies and Wiley Publishing Asia Pty Ltd

Microbiology and Immunology
Volume 56, Issue 12, pages 847–854, December 2012

(5) Databases-literatuur

Bestuderen-interpreteren

Hypothese >

Cross-talk tussen adipocyten en Macrofagen (ontwikkeling chronische ontsteking in de darm)

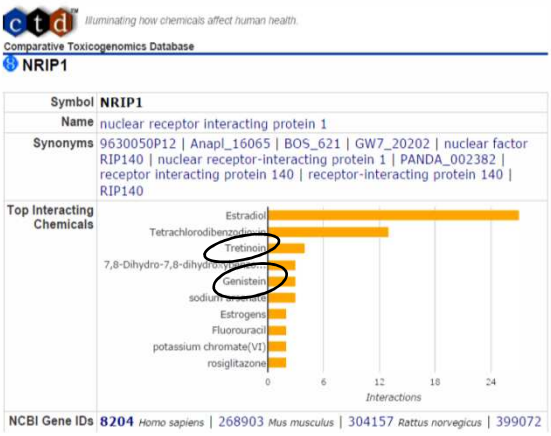
PPARG / NRIP1

Vitamine D3 /Leukotrine B4

Casus ; Cross-talk tussen key-genen en metabolieten !

NRIP1 up-regulatie

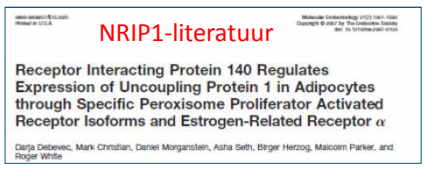
CTD.website



(5) Databases-literatuur

CTD; Welke stoffen kunnen een effect hebben op NRIP1 expressie; o.a.
Genistein (Isoflavonoid)

vitamine A (Tretinoin)



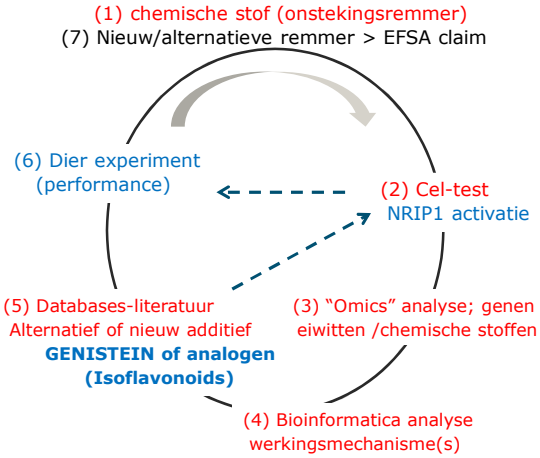
NRIP1-literatuur

Receptor Interacting Protein 140 Regulates Expression of Uncoupling Protein 1 in Adipocytes through Specific Peroxisome Proliferator Activated Receptor Isoforms and Estrogen-Related Receptor α

Darja Debevec, Mark Christian, Daniel Morganstein, Asha Seth, Birger Herzog, Malcolm Parker, and Roger White

LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR

"proof of princable"; conventionele dierproef met nieuw of alternatief "betaalbare" diervoedingscomponent.



Genistein (analogen)

Folic acid (Vitamine B9)

Methionine

Choline (component lecithin)

dihydroxy-vitamine D3

Tretinoin (vitamine A)

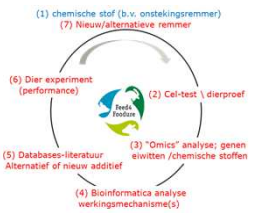
(2) Cel-test; b.v. *in-vitro* test met adipocyten en macrofagen om effect **GENISTEIN analogen** op NRIP1-PPARG expressie te meten)

LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

Zoektocht functionele diervoedingscomponenten (cirkeltje rond maken) ; Conclusie

Gezondheid probleem; is er een betaalbaar (alternatief) voer-additief om het probleem op te lossen of te reduceren ?

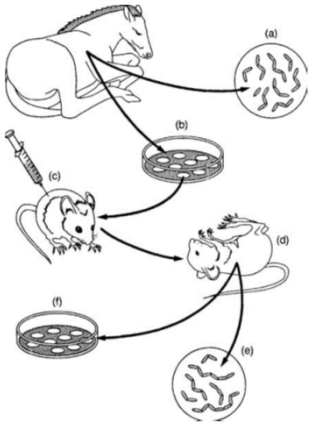
Integratie van bestaande en eigen "Genomics" data...
> Gerichtere interventie-studies
> Kosten besparen (minder dierproeven)
> De ontwikkeling van alternatieve additieven versnellen

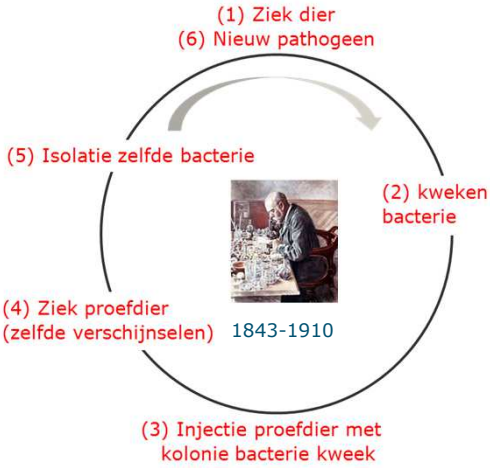


LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

Postulaten van KOCH (cirkeltje rond maken)

- Infectie ziekte; wordt het ziektebeeld daadwerkelijk veroorzaakt door de geïsoleerde bacterie?





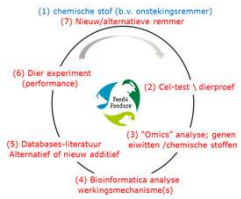
LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR

Zoektocht functionele diervoedingscomponenten

(cirkeltje rond maken) ; Vragen ?

Vraag / discussie

- Hoe wordt er nu in de voerindustrie “ge-datamined”?
- Wat is er uit het oogpunt van de voerindustrie tevens essentieel om onze zoektocht tot een resultaat te brengen?



LIVESTOCK RESEARCH WAGENINGEN UR