

Transcriptomics

■ **Verantwortlich:** Dr. Oliver Dittrich-Breiholz

Tel.: 0511/532-5814 • E-Mail: dittrich.oliver@mh-hannover.de • www.mh-hannover.de/Transcriptomics.html

Forschungsprofil



Neugründung der Zentralen Forschungseinrichtung Transcriptomics an der Medizinischen Hochschule Hannover

Seit Januar 2012 steht die Research Core Unit Transcriptomics (RCUT) allen Kliniken und Instituten der MHH zur Durchführung Microarray-basierter Transkriptomanalytik offen. Ausgehend von 11-jähriger Forschungstätigkeit im Zentralprojekt des ehemaligen SFB566, verfügen die beteiligten MitarbeiterInnen über eine breite Erfahrung rund um Planung, methodische Durchführung, Auswertung und Veröffentlichung von mRNA-Expressionsstudien.

Was sind Transkriptomanalysen?

Die RNA-Expressionsanalyse verfolgt das Ziel zu ermitteln, welche Gene in einem gegebenen Zelltyp, einem Gewebe oder unter ganz bestimmten physiologischen Bedingungen aktiv und inaktiv sind. Wird eine solche Analyse unter Einsatz genomweiter DNA-Microarrays durchgeführt, so kann in einem einzigen Experiment die Information zum Aktivierungszustand aller Gene einer Zelle gewonnen werden. Somit erhobene Daten liefern die optimale Grundlage dafür, zellbiologische Zustände oder Zustandsänderungen im globalen Zusammenspiel aller beteiligten Gene darzustellen, um damit physiologische oder auch pathophysiologische Prozesse besser verstehen zu lernen.

Welcher Service wird durch RCUT derzeit angeboten?

Der angebotene Service reicht von der Qualitätskontrolle eingereicherter RNA-Proben bis hin zur Übergabe qualitätskontrollierter, prozessierter Microarray-Daten in einem standardisierten, Excel-basierten Ausgabeformat. Dieses Format wird in Manuals detailliert beschrieben und kontinuierlich weiterentwickelt.

Einer der Schwerpunkte der Einrichtung zielt darauf ab, die Komplexität von Microarray-Daten zu reduzieren, um auch Nutzern ohne dezidierte Vorkenntnisse einen intuitiven Zugang zu Stärke und Umfang transkriptomweiter Veränderungen zu ermöglichen. Nur ein solcher „erster Eindruck“ schafft die Voraussetzung, weiterführende Entscheidungen zur betreffenden Studie sinnvoll und effizient treffen zu können.

Entscheidungen zu einer laufenden Microarray-Studie sind nicht nur zum Zeitpunkt der ersten Datendurchsicht zu treffen. Vielmehr gibt es innerhalb aller Arbeitsprozess-Schritte, von der Studienplanung bis hin zur Verarbeitung der Daten in Publikationen, eine enorme Bandbreite an alternativen Optionen unter denen jeweils ausgewählt werden kann und muss. Hier bringen die RCUT-MitarbeiterInnen ihre Erfahrung ein, um beratend an einer möglichst effizienten Ausschöpfung des Informationsgehaltes erzeugter Daten mitzuwirken.

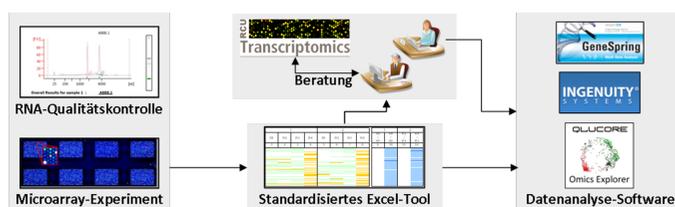


Abb. 2: Kernaufgaben der Research Core Unit Transcriptomics (RCUT): Neben der RNA-Qualitätskontrolle und der methodischen Durchführung von Microarray-Studien liegt ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit von RCUT darin, Beratung zu Studienplanung und finaler Datenauswertung anzubieten. Ab Frühjahr 2013 wird ein neues Release des von RCUT entwickelten Excel-Tools verfügbar sein. Reservierbare Nutzeraccounts für drei umfangreiche Datenanalyse-Programme werden ebenfalls in Kürze durch RCUT eingerichtet werden.

Welche Erweiterungen des Service sind für 2013 geplant?

Neues Release des Excel-basierten Auswerte-Tools:

Nachdem im Jahr 2012 die Grundlagen für eine aktualisierte Version des RCUT-Datenauswerte-Tools erarbeitet wurden, wird das neue Release ab Frühjahr 2013 verfügbar sein. Im Vergleich zur Vorgängerversion kann eine deutlich erhöhte Anzahl an Datensätzen (Einzelproben) verarbeitet werden. Das neue Tool besitzt umfangreiche Auswahloptionen, um neben den eigentlichen Messwerten Zusatzinformationen zu visualisieren (z.B. Gen-Annotationen, Qualitätsparameter, ...). Verhältniswerte zu vergleichender Proben (Ratios) können flexibel berechnet, formatiert und angeordnet werden. Weiterhin lassen sich komplexe Filterungen anhand selbst festgelegter Schwellenwerte durchführen und die Ergebnisse als farbkodierte Heatmap exportieren.

Bereitstellung von kommerzieller Datenauswerte-Software:

Neben dem oben beschriebenen Excel-Tool sind für eine tiefgehende inhaltliche Datenanalyse Programme mit weiterführenden Auswertefunktionalitäten erforderlich. Nach umfangreicher Testung wurde entschieden, für 2013 jeweils Einzelaccounts der drei Programme GeneSpring, Ingenuity Pathway Analysis und QluCore Omics Explorer anzuschaffen und MHH-MitarbeiterInnen Buchung und Nutzung dieser Programme über eine Online-Reservierung zu ermöglichen.

Etablierung von Deep-Sequencing-Applikationen zur Transkriptomanalyse:

Es ist geplant, die methodischen Grundlagen zur Realisierung von Deep-Sequencing Studien zu etablieren. Hierfür werden die Probenvorbereitung (Generierung von Nukleinsäure-Bibliotheken) und die finale Datenauswertung im RCUT-Labor an der MHH erfolgen und die Sequenzierungsprozesse vorerst ausgelagert werden.

Hinzuziehung der Affymetrix Microarray-Plattform:

Für Nutzer, die bereits auf der Affymetrix-Plattform begonnene Studien vervollständigen möchten oder die an der transkriptomweiten Erfassung der Gesamtheit aller bekannter Splice-Varianten im humanen System interessiert sind, wird in 2013 Probenprozessierung und Datenauswertung für die Affymetrix-Plattform im RCUT-Labor etabliert werden.

Etablierung von kleinen nutzerdefinierten Microarrays, die eine kostengünstige Erfassung von 4000 Transkripten ermöglichen:

In Zusammenarbeit mit einer Biotech-Firma wird derzeit an der Entwicklung von Microarrays gearbeitet, die eine zuverlässige mRNA-Expressionsanalyse für 4000 nutzerdefinierte Transkripte erlauben. Ziel ist, für Kosten von ca. 50€ pro Einzelprobe Untersuchungen für ausgewählte Gengruppen zu ermöglichen. Unter der Limitation, dass so nicht das gesamte Transkriptom, sondern nur die jeweils festgelegte Gruppe an Transkripten messbar ist, lässt sich hierdurch ein preisgünstiges Screening einer hohen Anzahl biologischer Proben realisieren, was unter Verwendung transkriptomweiter Microarrays (bei derzeitigen Kosten von 293€ pro Einzelprobe) sehr kostenintensiv ausfällt.

Aufbau einer mRNA-Expressionsdatenbank:

Als sehr informativ hat sich das über die Jahre angewachsene Datenarchiv heraus gestellt, das derzeit knapp 4000 Microarray-Hybridisierungen umfasst. Ein Teil dieser Daten soll über eine nutzerfreundliche Datenbank abrufbar gemacht werden. Damit ergeben sich umfangreiche neue Möglichkeiten, bei der Auswertung eigener Datensätze zusätzliche, auf der gleichen Plattform generierte Daten mit einzubeziehen (sofern diese vom jeweiligen Eigentümer freigegeben - bzw. bereits publiziert sind).

Publikationen unter Beteiligung der Zentralen Forschungseinrichtung Transcriptomics

Bala K, Bosco R, Gramolelli S, Haas DA, Kati S, Pietrek M, Hävemeier A, Yakushko Y, Singh VV, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Schulz TF. Kaposi's Sarcoma Herpesvirus K15 Protein Contributes to Virus-Induced Angiogenesis by Recruiting PLCgamma1 and Activating NFAT1-dependent RCAN1 Expression. *PLoS Pathog*; 2012;8(9):e1002927

Hansen B, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Windheim M. Regulation of NF-kappaB-dependent gene expression by ligand-induced endocytosis of the interleukin-1 receptor. *Cell Signal*; 2013;25(1):214-228

Li H, Wittwer T, Weber A, Schneider H, Moreno R, Maine GN, Kracht M, Schmitz ML, Burstein E. Regulation of NF-kappaB activity by competition between RelA acetylation and ubiquitination. *Oncogene*; 2012;31(5):611-623

Rehren F, Ritter B, Dittrich-Breiholz O, Henke A, Lam E, Kati S, Kracht M, Heim A. Induction of a broad spectrum of inflammation-related genes by Coxsackievirus B3 requires Interleukin-1 signaling. *Med Microbiol Immunol*; 2013;202(1):11-23

Zeitvogel J, Dalpke A, Eiz-Vesper B, Kracht M, Dittrich-Breiholz O, Werfel T, Wittmann M. Human primary keratinocytes show restricted ability to up-regulate suppressor of cytokine signaling (SOCS)3 protein compared with autologous macrophages. *J Biol Chem*; 2012;287(13):9923-9930

Ziesche E, Kettner-Buhrow D, Weber A, Wittwer T, Jurida L, Soelch J, Müller H, Newel D, Kronich P, Schneider H, Dittrich-Breiholz O, Bhaskara S, Hiebert SW, Hottiger MO, Li H, Burstein E, Schmitz ML, Kracht M. The coactivator role of histone deacetylase 3 in IL-1-signaling involves deacetylation of p65 NF-kappaB. *Nucleic Acids Res*; 2013;41(1):90-109