

## Transcriptomics

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

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

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

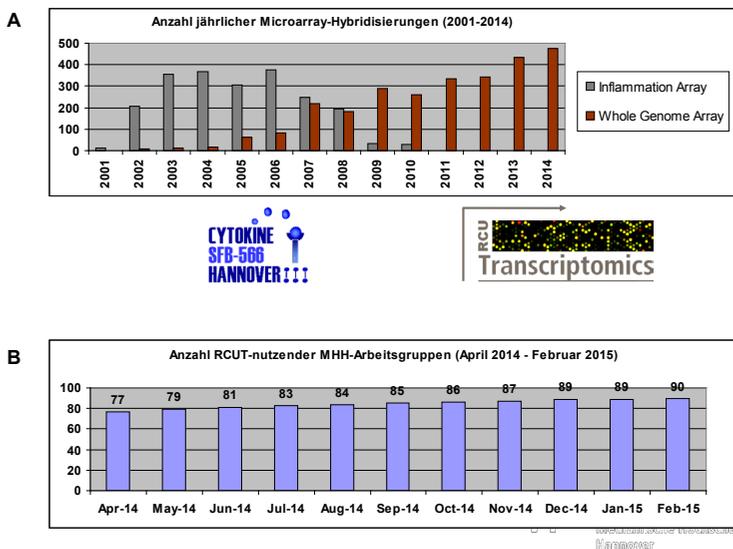
## Forschungsprofil

### Die Research Core Unit Transcriptomics (RCUT)

Die Research Core Unit Transcriptomics (RCUT) steht allen Kliniken und Instituten der MHH zur Durchführung Microarray-basierter Transkriptomanalytik offen. Die beteiligten MitarbeiterInnen verfügen über eine breite Erfahrung rund um Planung, methodische Durchführung, Auswertung und Veröffentlichung von mRNA-Expressionsstudien. Angeboten wird eine große Bandbreite an Microarray-Formaten zur Erfassung von mRNA- oder microRNA-Expression für verschiedene Organismen unter Einsatz der Technologie-Plattformen von Agilent Technologies oder Affymetrix. Ab 2015 wird das Angebotsspektrum von RCUT um RNA-Sequencing-Applikationen erweitert werden.

### RCUT-Nutzung

Seit Einrichtung von RCUT (Anfang 2012) hat sich der Nutzerkreis stetig vergrößert und die Anzahl durchgeführter Microarray-Experimente ist konstant angestiegen. Im Jahr 2014 wurden insgesamt 474 Microarray-Hybridisierungen durchgeführt. Die Zahl an MHH-Arbeitsgruppen, die die Services von RCUT nutzen, steigt seit Mai 2014 um durchschnittlich etwas mehr als 1 Arbeitsgruppe pro Monat. Eine Liste aller bisherigen RCUT-Nutzer finden Sie hier: <http://www.mh-hannover.de/28892.html>.



**Abb. 1:** Nutzung von RCUT.

A) Dargestellt ist die Anzahl jährlich durchgeführter Hybridisierungen seit Bestehen des Microarray-Labors an der MHH. Von 2001 bis 2011 wurde das Labor als Zentralprojekt des SFB566 betrieben. Ab Anfang 2012 wurde das Labor in die Zentrale Forschungseinrichtung Transcriptomics überführt.

B) Dargestellt ist die Anzahl MHH-interner Arbeitsgruppen, die seit Gründung des Microarray-Labors entsprechende Services (RNA-Qualitätskontrolle oder Microarray-Analysen) genutzt haben.

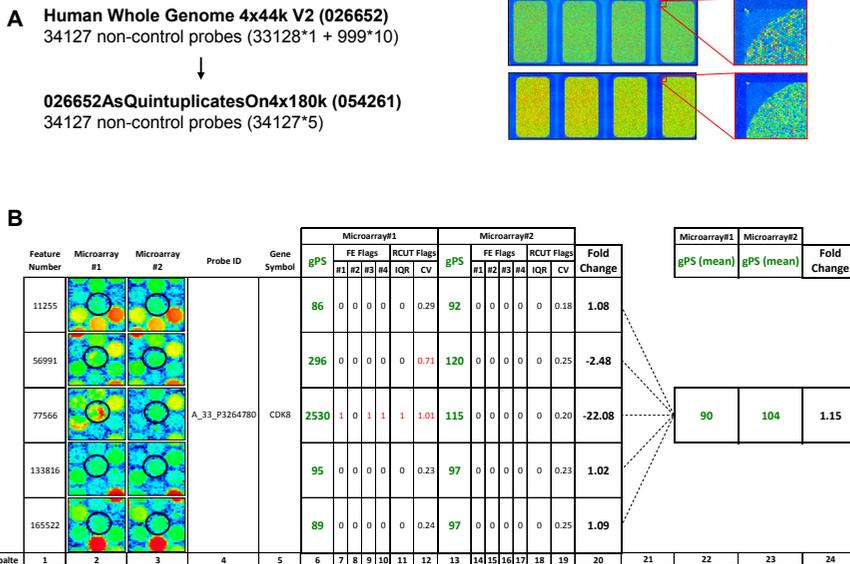
### **RCUTAS**

Im Juni 2014 wurde mit der Version 1.0 das erste offizielle Release der Datenanalyse-Software RCUTAS (Research Core Unit Transcriptomics Analysis Software) realisiert (zur Beschreibung der Software, siehe auch Forschungsbericht 2013). Seitdem sind eine Reihe zusätzlicher Funktionen implementiert worden, von denen anschließend die wichtigsten 4 kurz beschrieben sind.

1. Microarray-Daten können nach erfolgter Prozessierung in RCUTAS jetzt exportiert - und anschließend direkt in die durch RCUTAS bereit gestellten, kommerziellen Datenanalyse-Programme (Qlucore Omics Explorer, GeneSpring GX) reimportiert werden. Dieses Vorgehen hat den Vorteil, dass die Daten in RCUTAS und in den kommerziellen Analyse-Programmen in exakt identischer Weise prozessiert vorliegen.
2. Die „Baseline Transformation“ (eine wichtige weit verbreitete Transformation der Fluoreszenz-Intensitätswerte) wurde integriert.
3. Auf Basis einer T-Statistik (mit Multiplizitätsadjustierung) zum Vergleich zweier Klassen (experimenteller Bedingungen) wurde die Filterfunktion von RCUTAS erweitert.
4. Eine zusätzliche Erweiterung der Filterfunktion wurde durch die Möglichkeit geschaffen, durch die Anwahl einer spezifischen (vorfestgelegten) Genliste, die in der Liste enthaltenen Gene (bzw. deren Regulation) in Form einer Heatmap zu visualisieren. Durch diese Funktion kann zum Beispiel schnell geprüft werden, wie sich eine Gruppe von Genen, für die in einer Veröffentlichung eine bestimmte Regulation beschrieben worden ist, im eigenen (in RCUTAS analysierten) Datensatz „verhält“.

### **QuintQuad Microarrays**

Bereits Ende 2013 wurden von RCUTAS die sogenannten „QuintQuad-Microarrays“ entwickelt und evaluiert. Diese Microarrays stellen eine Weiterentwicklung auf der Basis der Katalog-Microarrays von Agilent Technologies dar und weisen eine erhöhte quantitative Messgenauigkeit auf (weitere Details finden Sie hier: [http://www.mh-hannover.de/fileadmin/zentrale\\_einrichtungen/transcriptomics/downloads/QuintQuadMicroarrays\\_update](http://www.mh-hannover.de/fileadmin/zentrale_einrichtungen/transcriptomics/downloads/QuintQuadMicroarrays_update)). In 2014 fanden die QuintQuad-Microarrays bereits weite Verbreitung bei MHH-internen Zusammenarbeiten. Entsprechend generierte Daten sind bereits in einige Publikationen in 2014 und 2015 eingeflossen.



**Abb. 2:** QuintQuad Microarrays.

A) Ausgehend von einem Microarray Katalog-Design der Firma Agilent Technologies (Design ID 026652) wurde ein optimierter Microarray entwickelt, bei dem alle auf dem Katalog-Array vorhandenen 34127 (nicht-Kontroll-) Sonden als Quintuplikate gedruckt wurden (Design ID 054261).

B) Dargestellt sind exemplarisch die Regionen rund um die Sonde für CDK8 (Probe ID: A\_33\_P3264780) für alle 5 Quintuplikate und basierend auf 2 Microarray-Hybridisierungen der identischen cRNA-Population (Spalten 2 und 3). Durch die Verfügbarkeit von 5 Messwerten für jede einzelne Sonde, können technisch bedingte „Ausreißer“ durch einen von RCUT entwickelten Algorithmus identifiziert und von der anschließend durchgeführten Mittelung der Messwerte ausgeschlossen werden. Hierdurch resultiert 1. eine generell erhöhte quantitative Messgenauigkeit insbesondere innerhalb niedriger Intensitätsbereiche, 2. eine weitgehende Unempfindlichkeit gegenüber (lokal auftretenden) Beeinträchtigungen der Hybridisierungs-Performance und 3. eine weitgehende Unempfindlichkeit gegenüber Microarray-Produktions-Artefakten.

### Gründung der Zentrale Forschungseinrichtung Next Generation Sequencing (NGS)

Im vierten Quartal des Jahres 2014 wurde, ausgehend aus einer Reihe bereits vorhandener Vorüberlegungen und konzeptioneller Vorarbeiten eine Initiative zur Gründung einer Zentralen Forschungseinrichtung Next Generation Sequencing auf den Weg gebracht. Das in diesem Zusammenhang erarbeitete Konzept basiert auf einer arbeits- und verantwortungsteiligen Leitungsgruppe, das den weiteren Aufbau der Core-Unit, ausgehend von einem infrastrukturellen Rahmen als Kristallisationskern, erarbeitet und zeitnah voran bringt. Die Core Unit soll als „echte Research Core Unit“, angelehnt an die bereits bestehenden, gut etablierten MHH Core Units, gemäß der Richtlinien der European Science Foundation zum Betrieb von Core Units und Großgerätezentren aufgebaut werden. Dies schließt ein, dass sich die strategische Ausrichtung (in Fragen zur Erweiterung) immer grundsätzlich am jeweiligen Bedarfsaufkommen für NGS-Analysen innerhalb der MHH orientieren wird. Die folgenden Teilbereiche (abgedeckt und vertreten durch die jeweiligen Mitglieder der Leitungsgruppe) wurden wie folgt festgelegt: Genomics (Dr. Lutz Wiehlmann), Epigenomics (Prof. Dr. Helge Frieling), Transcriptomics (Dr. Oliver Dittrich-Breiholz), Pathogenomics (Prof. Dr. Sebastian Suerbaum) und Clinical Specimens (Prof. Dr. Thomas Illig). Sprecher der neuen Forschungseinrichtung ist Dr. Oliver Dittrich-Breiholz.

Nähere Informationen finden Sie unter: <http://www.mh-hannover.de/ngs.html>.

**Publikationen unter Beteiligung von RCUT (Service-Leistungen ohne Koautorenschaft)**

Kempf et al: Controlling expansion and cardiomyogenic differentiation of human pluripotent stem cells in scalable suspension culture. *Stem Cell Reports*. 2014 Dec 9;3(6):1132-46. Beckert et al: cNMP-AMs mimic and dissect bacterial nucleotidyl cyclase toxin effects. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Sep 5;451(4):497-502.

Zhang et al: Age-dependent enterocyte invasion and microcolony formation by Salmonella. *PLoS Pathog*. 2014 Sep 11;10(9).

Stockinger et al: TRIF signaling drives homeostatic intestinal epithelial antimicrobial peptide expression. *J Immunol*. 2014 Oct 15;193(8):4223-34.

**Publikationen unter Beteiligung von RCUT (externe Kooperationen/Koautorenschaften)**

López et al: Thrombin selectively induces transcription of genes in human monocytes involved in inflammation and wound healing. *Thromb Haemost*. 2014 Nov;112(5):992-1001.

Oct;88(20):12087-97.

Zmora et al: DESC1 and MSPL activate influenza A viruses and emerging coronaviruses for host cell entry. *J Virol*. 2014

Li et al: Copper metabolism domain-containing 1 represses genes that promote inflammation and protects mice from colitis and colitis-associated cancer. *Gastroenterology*. 2014 Jul;147(1):184-195.e3.

**Publikationen unter Beteiligung von RCUT (MHH-interne Kooperationen/Koautorenschaften)**

Tran et al: THOC5 controls 3'end-processing of immediate early genes via interaction with polyadenylation specific factor 100 (CPSF100). *Nucleic Acids Res*. 2014 Oct 29;42(19):12249-60.

Günther et al: Identification of two forms of TNF tolerance in human monocytes: differential inhibition of NF- $\kappa$ B/AP-1- and PP1-associated signaling. *J Immunol*. 2014 Apr 1;192(7):3143-55.

Buettner et al: Stromal cells as trend-setters for cells migrating into the lymph node. *Mucosal Immunol*. 2014 Nov 5.