

## Next Generation Sequencing

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

■ **Ansprechpartner:** Dr. Lutz Wiehlmann

Tel.: 0511/532-5334 • E-Mail: rcu.ngs@mh-hannover.de •

■ Keywords: Next Generation Sequencing, NGS, Exom, Transkriptom, ChIP, Epigenetics, Biobank, Mikrobiom, Amplicon, Metagenom, Metagenomics, whole genome, Hochdurchsatzsequenzierung, Illumina, SOLiD

## Forschungsprofil

### Gründung und Aufbau

Die neu gegründete Research Core Unit Next Generation Sequencing (RCU-NGS) verfolgt das Ziel, allen an der MHH forschenden Kliniken und Instituten Zugang zur NGS-Technologie zu ermöglichen. Hierzu wurde im vierten Quartal des Jahres 2014 eine Initiative zur Gründung einer Zentralen Forschungseinrichtung Next Generation Sequencing gestartet. Das erarbeitete Konzept basiert auf einer arbeits- und verantwortungsteiligen Leitungsgruppe, um so die Expertise in Next Generation Sequencing an der MHH bündeln und hochschulweit Arbeitsgruppen ein uneingeschränktes Spektrum an NGS-Techniken anbieten zu können. Die Core Unit ist 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. Dies schließt ein, dass sich die strategische Ausrichtung (in Fragen zur Erweiterung) immer grundsätzlich am jeweiligen Bedarfsaufkommen für NGS-Analysen innerhalb der MHH orientiert.

Die Mitglieder der Leitungsgruppe vertreten jeweils einen Teilbereich des NGS-Spektrums (Dr. Lutz Wiehlmann (Genomics), Prof. Dr. Helge Frieling (Epigenomics), Dr. Oliver Dittrich-Breiholz (Transcriptomics), Prof. Dr. Sebastian Suerbaum (Pathogenomics), Prof. Dr. Thomas Illig (Clinical Specimens), Sprecher der RCU-NGS ist Dr. Oliver Dittrich-Breiholz.

### Die Leitungsgruppe hat sich insgesamt folgende Ziele gesetzt:

1. Bündelung und effiziente Ausnutzung der bislang an der MHH vorhandenen Expertise und dezentralen NGS-Geräteinfrastruktur.
2. Betreuung von NGS-Projektanfragen und Etablierung neuer NGS-Protokolle (Versuchsplanung, experimentelle Umsetzung, Kostenabwicklung, Datenauswertung, Antragsstellung).
3. Anschaffung und Betrieb eines leistungsstarken Sequencers der Firma Illumina.
4. Schrittweiser weiterer Ausbau der Einrichtung hin zu einer leistungsstarken, national und international konkurrenzfähigen Core Unit „Nukleinsäureanalytik und Bioinformatik“.

Zum weiteren Aufbau der Core Unit wurde hierzu von der Leitungsgruppe ein langfristiges Konzept entwickelt und dem Präsidenten zur Begutachtung vorgelegt (Abb. 1).

Am 20. März 2015 stellte sich die RCU-NGS hochschulöffentlich vor und ist seitdem als Partner in vielfältige NGS-Projekte eingebunden.

## Gesamtkonzept (2015 - 2018)

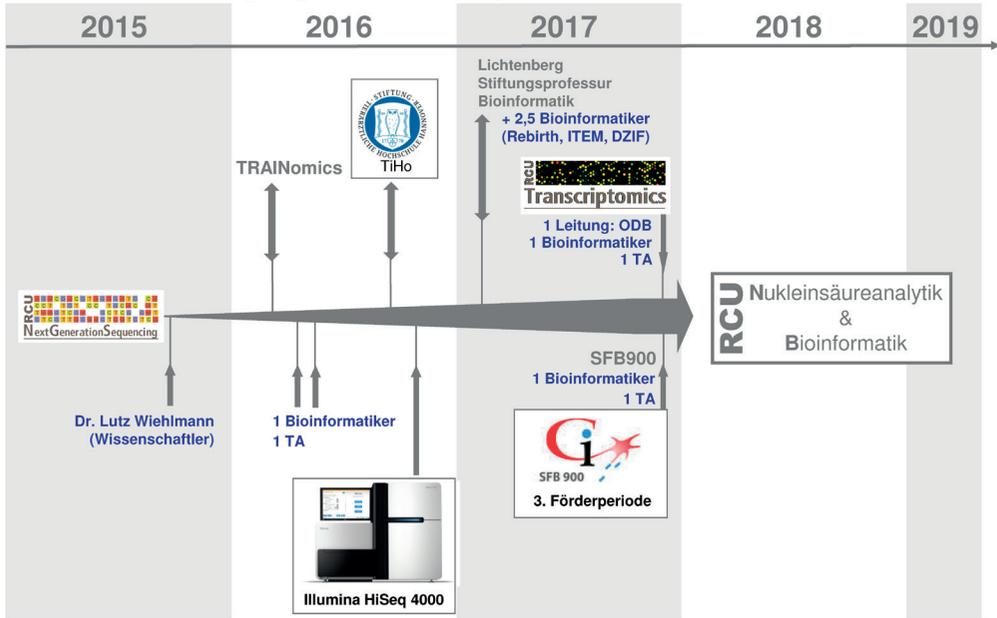


Abb. 1: Entwicklungsplan der RCU Next Generation Sequencing

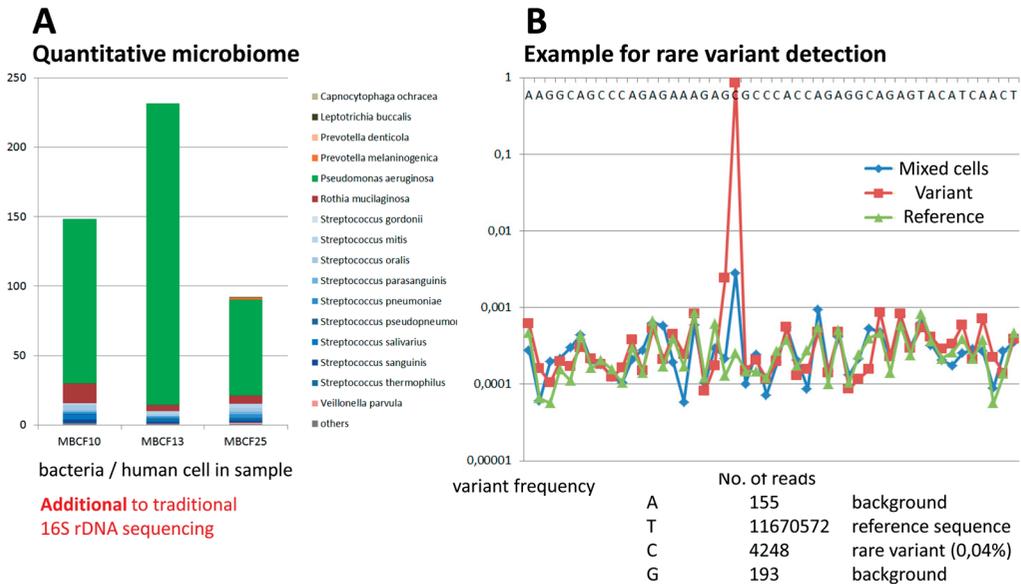


Abb. 2: **A)** Beispiel für eine quantitative Mikrobiom-/Metagenomanalyse aus dem Rachenabstrich eines CF-Patienten (in Kooperation mit AG Prof. Tümmler / BREATH). **B)** Beispiele für die Detektionsgrenzen seltener SNP- Varianten in iPS- Zelllinien (in Kooperation mit AG Prof. Martin / Rebirth)

### NGS- Projekte

Im Jahr 2015 wurden folgende NGS-Projekte durchgeführt:

12 humane Genome, 3 Rattengenome, 32 Exome, 9 ChIP-Seq, 8 CLP-Seq, 152 Metagenome, ca. 800 Amplicon-Sequenzierungen (mit durchschnittlich 10 PCR-Produkten/Seq.)

Im Rahmen dieser Arbeiten wurde in Kooperation mit den Bioinformatikern der AG Prof. Burkhard Tümmler (Pädiatrische Pneumologie, Deutsches Zentrum für Lungenforschung DZL/BREATH) ein neues Verfahren zur Metagenomanalyse aus Patientenmaterial entwickelt. Hierbei wurde durch Qualitätskontrolle und Standardisierung bei der Probennahme und Aufarbeitung der DNA sowie durch Kalibrierung in der anschließenden bioinformatischen Auswertung eine bisher unerreichte Qualität in der quantitativen Analyse von Mikrobiomen möglich. (Abb. 2A)

Zusammen mit Mitarbeitern und Bioinformatikern der AG Prof. Ulrich Martin (Rebirth) wurde ein Verfahren zur Detektion seltener klonaler Varianten in einer Zellpopulation entwickelt. Die hierbei optimierte Amplicon-Sequenzierung ermöglicht durch Nutzung eines SOLiD-Sequenzierers sogar die Detektion von 1 abweichenden in 1000 Zellen und ist anderen, international verfügbaren Verfahren um mehr als den Faktor 10 überlegen. (Abb. 2B)

### Bioinformatische Schulungen

Im Zuge der Projektbetreuung zeigte sich, dass hochschulweit ein großer Unterstützungsbedarf bei bioinformatischen Auswertungen von NGS-Daten besteht. Die RCU-NGS begegnet diesem Engpass mit der Ausrichtung von vierteljährlich angebotenen, dreitägigen Hands-on Kursen, bei denen die Teilnehmer in bioinformatischen Auswerteverfahren geschult werden. Der erste Kurs fand im September 2015 statt (Exom- und Whole Genome Sequencing), zwei Kurse zu RNA-Sequencing werden im März und April 2016 durchgeführt, weitere Kurse sind geplant. Mitarbeiter/innen der MHH können Ihren Bedarf zur Kursteilnahme über folgenden Link anmelden: <https://www.mh-hannover.de/32147.html>.

### Publikationen unter Beteiligung von RCU-NGS

Fischer S, Klockgether J, Losada PM, Chouvarine P, Cramer N, Davenport CF, Dethlefsen S, Dorda M, Goesmann A, Hilker R, Mielke S, Schönfelder T, Suerbaum S, Türk O, Woltemate S, Wiehlmann L, Tümmler B. Intracolonial genome diversity of the major *Pseudomonas aeruginosa* clones C and PA14. *Environ Microbiol Rep.* 2015 Dec 28. doi: 10.1111/1758-2229.12372.

Wiehlmann L, Cramer N, Tümmler B. Habitat-associated skew of clone abundance in the *Pseudomonas aeruginosa* population. *Environ Microbiol Rep.* 2015 Dec;7(6):955-60. doi: 10.1111/1758-2229.12340.