

ABSCHLUSSBERICHT

Verbund „Zentrum für Genkartierung“:

Genotypisierungseinheit und Einheit für Bioinformatik und Labormanagement

Förderkennzeichen: 01KW9967

1. Aufgabenstellung

Die Identifizierung von krankheitsrelevanten Genen ist über ihre Kartierung im Genom auf der Grundlage des Vererbungsmusters der zugehörigen Phänotypen möglich. Dieses überaus bewährte Prinzip der positionellen Klonierung setzt die Möglichkeit der effizienten Genotypisierung von vielen Individuen voraus. Das Mikrosatellitenzentrum am MDC war ursprünglich dafür konzipiert, überschaubare Genotypisierungsleistungen zur Kartierung monogen bedingter Erkrankungen zu erbringen. Für die verstärkte Anwendung des gleichen Forschungsansatzes auf komplexe Erkrankungen war der Ausbau der Einrichtung zu einem leistungsfähigen Genkartierungszentrum mit entsprechend erweitertem Labordaten-Management vorzunehmen. Komplexe Erkrankungen machen die Untersuchung wesentlich größerer Studienkollektive erforderlich und setzen eine umfangreiche und qualifizierte Betreuung auf den Gebieten der genetische Epidemiologie und statistische Genetik voraus. Neben der Hochdurchsatz-Genotypisierung von Mikrosatelliten sollten Analyseverfahren für Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) eingeführt werden. Genomweite hochdichte Markersätze für das Humangenom und auch verschiedene Tiermodelle waren zu erstellen und in Kooperationsprojekten anzuwenden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Mikrosatellitenzentrum war bereits zu Beginn der Förderung eine gut funktionierende Struktureinheit, die ihre Kompetenz auf dem Gebiet der Genkartierung schon eindrucksvoll unter Beweis gestellt hatte. Allerdings war bis dahin vor allem die Analyse monogen bedingter Erkrankungen vorgenommen worden. Für die verstärkte Bearbeitung von Projekten, die die Analyse multi-

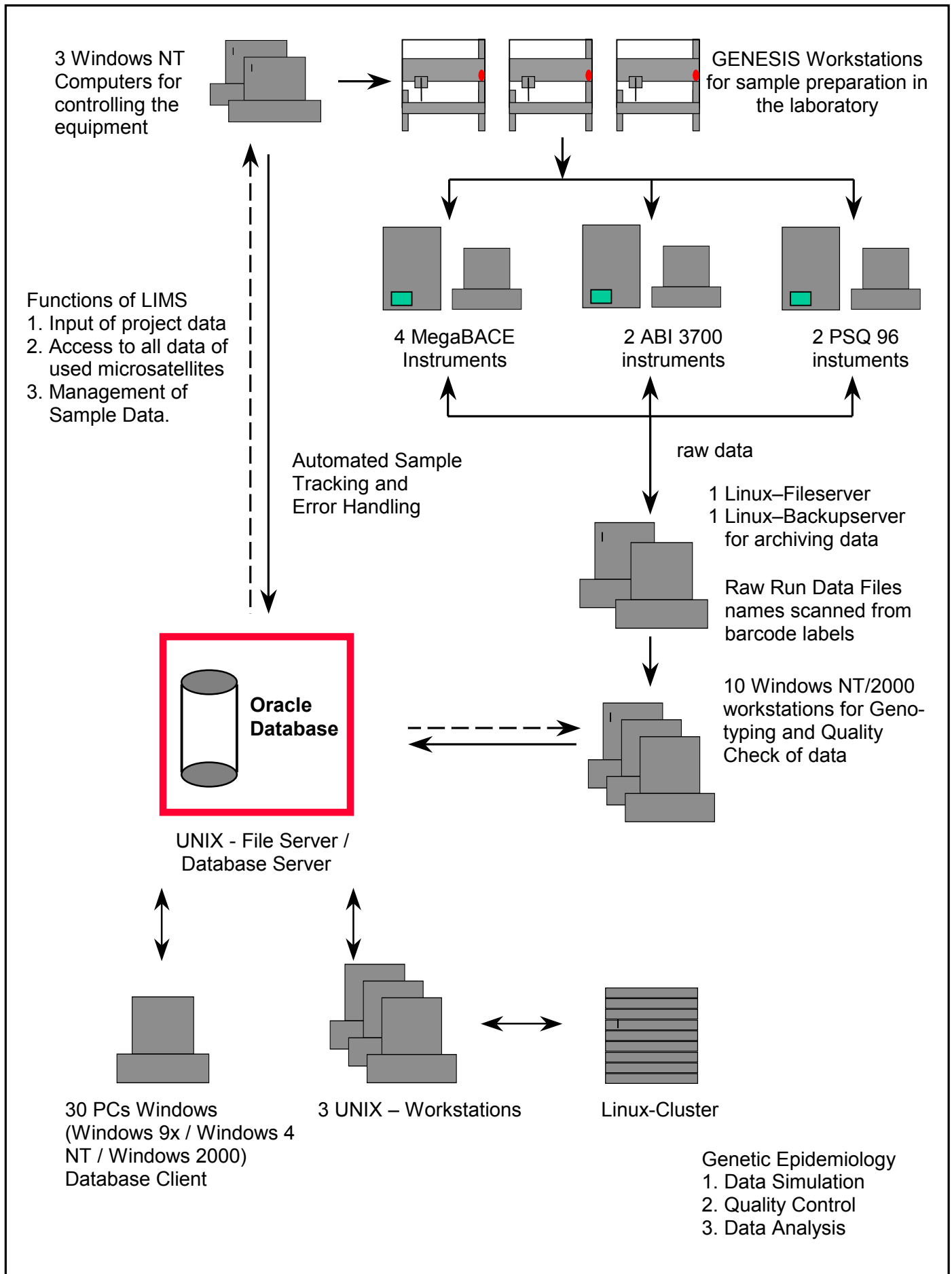
faktorieller Erkrankungen zum Inhalt hatten, war eine drastische Erweiterung der Genotypisierungskapazitäten sowie ein Einbeziehen von SNP-Markern in das Untersuchungsprogramm erforderlich. Die Diversifizierung und Erweiterung der Genotypisierung bei laufendem Betrieb stellte erheblich höhere Anforderungen an das Labordatenmanagement und den gesamten bioinformatischen Support als zuvor.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

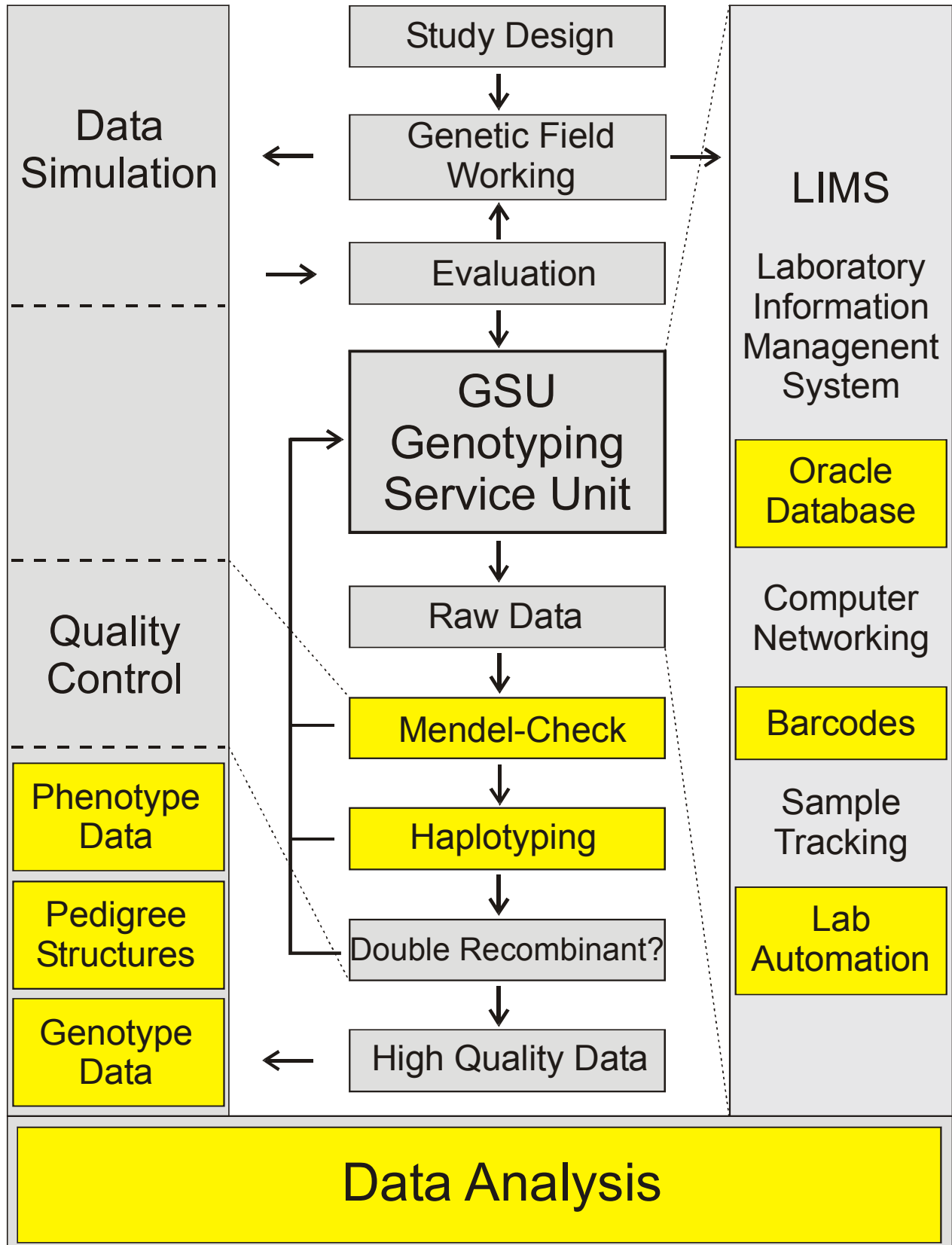
Zunächst galt es, die Kapazität und den Durchsatz der Genotypisierung für Mikrosatellitenmarker zu steigern. Die Typisierung von Mikrosatelliten-Markern wurde im Zeitraum der Förderung von Platten-Sequenzierautomaten komplett auf Kapillar-Sequenzierer umgestellt und damit eine erhebliche Steigerung der Arbeitsproduktivität erzielt. Ferner wurde die Kapazität der Plattform durch die Einführung des 384er Mikrotiterplatten-Formats sowohl auf der PCR- als auch auf der Pipettierroboterstrecke stark erweitert. Kleinere Projekte können nach wie vor parallel im 96er Format bearbeitet werden, wodurch die hohe Flexibilität der Plattform gewährleistet blieb. Neben der Erweiterung und Optimierung der Typisierung von Mikrosatelliten wurde die Typisierung von SNP-Markern im mittleren Durchsatz etabliert. Nach eingehender Testung verschiedener Verfahren wurden bevorzugt das Pyrosequencing™ und die 5'-Exonuklease-Methode mit Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) -Detektion (TaqMan™) eingesetzt. Diese Techniken bieten eine große Flexibilität beim Einsatz der SNP-Typisierung für unterschiedliche Fragestellungen, u.a. wurde eine neue Anwendung des Pyrosequencing™ zur Analyse von Methyl-SNPs ausgearbeitet.

Das „Laboratory Information Management System“ (LIMS) wurde schrittweise ausgebaut und an die steigenden Anforderungen angepasst. Zur Verbesserung der Auswertung wurden die neuesten Analyseprogramme implementiert und eigene Routinen zur Verbesserung des Datenflusses und zur Vereinfachung der Auswertung geschrieben. Parallel zur Etablierungs- und Optimierungsarbeit wurde die Bearbeitung von zahlreichen Projekten vorgenommen.

Laboratory Information Management System (LIMS) of the Gene Mapping Center (GMC)



Activities of the Statistical Service Unit at the Gene Mapping Center



4. wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Mikrosatelliten-Marker-Panel lagen bereits von Généthon und CHLC (Marshfield) vor. Diese wurden in modifizierter Form etabliert und dabei an die speziellen Bedürfnisse des GMC angepasst. Ferner wurden Markersätze für das Maus- und Rattengenom etabliert.

Sets of microsatellite markers at GMC

- >1000 human markers, no gaps >5.5 cM
(GMC set + weber9 set + additional markers)
- >300 mouse markers
- >200 rat markers

Im Zusammenhang mit der Erforschung komplexer Erkrankungen sind die SNP-Marker ins Zentrum des Interesses gerückt. Sie sind wesentlich häufiger im Genom anzutreffen (1/200-600 bp) und lassen daher eine feinere Kartierung zu, mittels Kopplungsungleichgewichtskartierung (LD-Mapping).

