

Schlussbericht

Nationales Genomforschungsnetz II

Systematisch-Methodische Plattform „DNA“ – Nationale Genotypisierungsplattform .1

Standort CCG (Köln)

Förderkennzeichen: 01GR0416
Teilprojekt PDN-S24T04
Projektleiter: Prof. Dr. Peter Nürnberg
Universitätsklinikum der Universität zu Köln
Cologne Center for Genomics (CCG)
Zülpicher Straße 47
50674 Kiel

I. Kurze Darstellung zu

1. Aufgabenstellung

Das Hauptziel der Plattform am Standort Köln lag in der Durchführung von Genomscans auf der Basis von Hochdurchsatz-Mikrosatellitentypisierungen und Affymetrix SNP Arrays für Kopplungsanalysen und Assoziationsstudien aus den Krankheitsnetzen.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Während der ersten Förderperiode des NGFN fungierte die Arbeitsgruppe von Prof. Nürnberg als Mikrosatelliten-Zentrum am MDC mit entsprechendem Hochdurchsatz. Ferner konnten erste methodische Erfahrungen bei der Einführung der Affymetrix SNP-Genotypisierungs-Arrays gesammelt werden. Mit dem Umzug nach Köln wurde die entsprechende Kompetenz und Kapazität am CCG neu etabliert.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Es erfolgte ein Ausbau der Infrastruktur auf der Grundlage von Berufungsmitteln und Strukturhilfemaßnahmen des Landes Nordrhein-Westfalen.

4. wissenschaftlichem und technischem Stand, an den angeknüpft wurde

Die Umstellung von genomweiten Kopplungsstudien auf Assoziationsstudien erforderte eine massive Erweiterung des Durchsatzes. Ursächlich hierfür war der ansteigende Bedarf an SNP-Typisierungen sowie die Ablösung familienbasierter Studien durch das Fall-Kontroll-Studiendesign mit hohen Fallzahlen. Gegen Ende der Laufzeit der ersten NGFN Förderperiode standen erste Sequenzier- (Sanger, 3730xl) und Genotypisierungsmethoden (Pyrosequencing, TaqMan) mit niedrigem Durchsatz zur Verfügung. Ein Grundgerüst für die Verwaltung und Auswertung der Daten war vorhanden. Im letzten Abschnitt der Förderperiode kamen die ersten SNP-Chips auf den Markt. Diese ermöglichten eine zeitgleiche Genotypisierung von mehr als 100,000SNPs.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Kooperationen mit: Projektleiter der krankheitsbezogenen Teilprojekte
M. Krawczak/M. Nothnagel (NUW S23T15) [Statistische und epidemiologische Beratung]
Popgen, KORA [Kontrollproben und -daten]
S. Sauer, MPIMG [Methodenentwicklung]
GEM Bonn (T. Wienker) [Qualitätskontrolle]
Diverse internationale Kooperationspartner, v.a. USA, UK, Niederlande, Italien, Dänemark, Türkei, Israel.

II. Eingehende Darstellung

1. der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Das Cologne Center for Genomics ist erst 2005 gegründet worden und hat sich in der kurzen Zeit seiner Existenz zu einem der führenden Genotypisierungszentren Deutschlands entwickelt. Das angebotene Methodenspektrum erlaubt die komplette Bearbeitung von Positionsklonierungsprojekten zur Aufklärung der genetischen Ursachen komplexer Erkrankungen. Neben den beiden wichtigsten Array-Technologien, Affymetrix und Illumina, werden diverse flexible SNP-Typisierungstechnologien, wie SNPstream, TaqMan und Pyrosequencing eingesetzt. Daneben ist das CCG als einziges Zentrum in der Lage, auch Mikrosatelliten-Scans insbesondere für Modellorganismen anzubieten. Die Produktivität und Leistungsfähigkeit des Zentrums spiegelt sich in den Zahlen für die prozessierten Arrays (>20.000), erstellten Genotypen (> 5 Milliarden) und Publikation wider, die mit wesentlicher Unterstützung des CCG seit 2005 erschienen sind. Hierunter befinden sich >10 Arbeiten in Nature Genetics und zahlreiche andere in Journalen mit einem Impact Factor > 10. Als Leitzentrum der Nationalen Genotypisierungsplattform ist das CCG gemeinsam mit dem GEM Bonn für die Durchführung der NGFN-Ringversuche zur Qualitätssicherung in der Genotypisierung verantwortlich. Kürzlich wurde die Sequenzierungsplattform um ein Gerät der neuen Sequenzierergeneration erweitert (Illumina GAI).

Die Genotypisierungs- und Sequenzierplattform des CCG wurden bzw. werden auch im Rahmen zahlreicher wissenschaftlicher, akademischer Kollaborationen außerhalb des NGFN genutzt. Dieses erfolgt sowohl auf nationaler als auch auf internationaler Ebene.

2. der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Im Rahmen der Zuwendung wurde lediglich Geld für ein(e) Technische(n) MitarbeiterIn bereitgestellt, die/der in das Team (4 Mitarbeiter insgesamt) für den Betrieb der Hochdurchsatz-Affymetrix-Plattform integriert wurde.

Die bereitgestellten Verbrauchsmittel wurden für Etablierungs- und Optimierungsexperimente sowie zur Qualitätssicherung eingesetzt.

3. der Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Mit Hilfe der Plattform wurde die technischen Grundlagen zur Durchführung verschiedenster genetischer Hochdurchsatzexperimente gelegt. Damit wurde eine wesentliche Basis für die Erreichung der Antragsziele bereitgestellt.

4. des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans,

Im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans ist der Nutzen der erzielten Ergebnisse wie folgt zu bewerten:

- 1) Wichtiger Beitrag zur Durchführung komplexer genetischer Experimente für die Teilprojekte, z.B. Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS), komplette Nachverfolgung einer GWAS. Möglichkeit der Bearbeitung von Replikationsstudien, Feinkartierungen und Mutationsdetektionen im Hochdurchsatz-Maßstab.
- 2) Etablierung einer international sichtbaren „Core Facility“ (z.B. potenteste Affymetrix-Plattform in Europa)
- 3) Steigerung der Vernetzung: Durchführung zahlreicher Pilotprojekte mit (inter-)nationalen Kollaborationspartnern.
- 4) Entwicklung und Erweiterung technologischen/methodischen Know-Hows. Hierdurch Vereinfachung der Etablierung neuester state-of-the-art Technologien.

5. des während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Die ursprüngliche Fokussierung auf „common variants“ bei der Erforschung der genetischen Ursachen komplexer Erkrankungen hat sich als zu kurz gegriffen erwiesen. Die Genotypisierungszentren haben daher neue methodische Ansätze neben der genomweiten SNP-Analyse in ihr Programm aufnehmen müssen. Diese umfassen die „copy

number“-Analyse zur Erfassung sogenannter „copy number variants“ (CNVs) als auch das ultraparallele „medical resequencing“ mit den Sequenziermethoden der neuen Generation, um auch die in bestimmten Genen gehäuft auftretenden seltenen Mutationen zu erfassen („mutational burden“).

6. der erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 6, wenn zur Wahrung berechtigter Interessen des ZE oder Dritter oder aus anderen sachlichen Gesichtspunkten bestimmte Einzelheiten aus dem Bericht vertraulich zu behandeln sind (z.B. zur Wahrung der Priorität bei Schutzrechtsanmeldungen), so hat der ZE den ZG ausdrücklich darauf hinzuweisen.

Der Abschlussbericht unterliegt keinen Geheimhaltungen

7. Publikationen

Als methodische Plattform ist das CCG an zahlreichen Projekten aus den Krankheitsnetzen beteiligt. Darüber hinaus wurden auch methodische Weiterentwicklungen und Bewertungen von Methoden in unabhängigen Fachartikeln veröffentlicht. Desweiteren wurden mehrere Softwareentwicklungen veröffentlicht und anderen Benutzern als „open source“ Projekte zur Verfügung gestellt:

1. Heinz-Erian P, Müller T, Krabichler B, Schranz M, Becker C, Rüschemdorf F, **Nürnberg P**, Rossier B, Vujic M, Booth IW, Holmberg C, Wijmenga C, Grigellioniene G, Kneepkens CM, Rosipal S, Mistrik M, Kappler M, Michaud L, Dóczy LC, Siu VM, Krantz M, Zoller H, Utermann G, Janecke AR. (2009) Mutations in SPINT2 Cause a Syndromic Form of Congenital Sodium Diarrhea. *Am J Hum Genet.* 2009 Jan 28. [Epub ahead of print]
2. Hansen L, Mikkelsen A, **Nürnberg P**, Nürnberg G, Anjum I, Eiberg H, Rosenberg T. (2009) Comprehensive mutational screening in a cohort of Danish families with hereditary congenital cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009 Jan 31. [Epub ahead of print]
3. Chung BD, Kayserili H, Ai M, Freudenberg J, Uzümcü A, Uyguner O, Bartels CF, Höning S, Ramirez A, Hanisch FG, Nürnberg G, **Nürnberg P**, Warman ML, Wollnik B, Kubisch C, Netzer C. (2009) A mutation in the signal sequence of LRP5 in a family with an osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG)-like phenotype indicates a novel disease mechanism for trinucleotide repeats. *Hum Mutat.* 2009 Jan 28. [Epub ahead of print]
4. Hildebrandt F, Heeringa SF, Rüschemdorf F, Attanasio M, Nürnberg G, Becker C, Seelow D, Huebner N, Chernin G, Vlangos CN, Zhou W, O'Toole JF, Hoskins BE, Wolf MT, Hinkes BG, Chaib H, Ashraf S, Allen SJ, Vega-Warner V, Wise E, Harville HM, Lyons RH, Washburn J, Macdonald J, **Nürnberg P**, Otto EA. (2009) A systematic approach to mapping recessive disease genes in individuals from outbred populations. *PLoS Genet.* 2009 Jan;5(1):e1000353. Epub 2009 Jan 23.
5. Lu TT, Lao O, Nothnagel M, Junge O, Freitag-Wolf S, Caliebe A, Balascakova M, Bertranpetit J, Bindoff LA, Comas D, Holmlund G, Kouvatsi A, Macek M, Mollet I, Nielsen F, Parson W, Palo J, Ploski R, Sajantila A, Tagliabracci A, Gether U, Werge T, Rivadeneira F, Hofman A, Uitterlinden AG, Gieger C, Wichmann HE, Ruether A, Schreiber S, Becker C, **Nürnberg P**, Nelson MR, Kayser M, Krawczak M. (2009) An evaluation of the genetic-matched pair study design using genome-wide SNP data from the European population. *Eur J Hum Genet.* 2009 Jan 21. [Epub ahead of print]
6. Todt U, Netzer C, Toliat M, Heinze A, Goebel I, **Nürnberg P**, Göbel H, Freudenberg J, Kubisch C. (2009) New genetic evidence for involvement of the dopamine system in migraine with aura. *Hum Genet.* 2009 Jan 17. [Epub ahead of print]
7. Vormfelde SV, Toliat MR, **Nürnberg P**, Brockmüller J. (2009) Atrial natriuretic peptide polymorphisms, hydrochlorothiazide and urinary potassium excretion. *Int J Cardiol.* 2009 Jan 11. [Epub ahead of print]
8. Rakovic A, Stiller B, Djarmati A, Flaquer A, Freudenberg J, Toliat MR, Linnebank M, Kostic V, Lohmann K, Paus S, **Nürnberg P**, Kubisch C, Klein C, Wüllner U, Ramirez A. (2009) Genetic association study of the P-type ATPase ATP13A2 in late-onset Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2008 Dec 18. [Epub ahead of print]

9. Helbig I, Mefford HC, Sharp AJ, Guipponi M, Fichera M, Franke A, Muhle H, de Kovel C, Baker C, von Spiczak S, Kron KL, Steinich I, Kleefuß-Lie AA, Leu C, Gaus V, Schmitz B, Kein KM, Reif PS, Rosenow F, Weber Y, Lerche H, Zimprich F, Urak L, Fuchs K, Feucht M, Genton P, Thomas P, Visscher1 F, de Haan GJ, Møller RS, Hjalgrim H, Luciano D, Wittig M, Nothnagel M, Elger CE, **Nürnberg P**, Romano C, Malafosse A, Koeleman BPC, Lindhout D, Stephani U, Schreiber S, Eichler EE, Sander T (2009) 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Nature Genetics* 41, 160-162.
10. Rutsch,F., Gailus,S., Miousse,I.R., Suormala,T., Sagné,C., Toliat,M.R., Nürnberg,G., Wittkampf,T., Buers,I., Sharifi,A., Stucki,M., Becker,C., Baumgartner,M., Robenek,H., Marquardt,T., Höhne,W., Gasnier,B., Rosenblatt,D.S., Fowler,B., **Nürnberg,P.** (2009) Identification of a putative lysosomal cobalamin exporter altered in the cblF defect of vitamin B(12) metabolism. *Nature Genetics* 41, 234-239.
11. Bergmann,C., Fliegau,M., Bruchle,N.O., Frank,V., Olbrich,H., Kirschner,J., Schermer,B., Schmedding,I., Kispert,A., Kranzlin,B., Nürnberg,G., Becker,C., Grimm,T., Girschick,G., Lynch,S.A., Kelehan,P., Senderek,J., Neuhaus,T.J., Stallmach,T., Zentgraf,H., **Nürnberg,P.**, Gretz,N., Lo,C., Lienkamp,S., Schafer,T., Walz,G., Benzing,T., Zerres,K., and Omran,H. (2008). Loss of nephrocystin-3 function can cause embryonic lethality, meckel-gruber-like syndrome, situs inversus, and renal-hepatic-pancreatic dysplasia. *American Journal of Human Genetics* 82, 959-970.
12. Boulouiz,R., Li,Y., Soualhine,H., Abidi,O., Chafik,A., Nürnberg,G., Becker,C., **Nürnberg,P.**, Kubisch,C., Wollnik,B., and Barakat,A. (2008). A novel mutation in the Espin gene causes autosomal recessive nonsyndromic hearing loss but no apparent vestibular dysfunction in a Moroccan family. *Am. J. Med. Genet. A* 146A, 3086-3089.
13. Budde,B.S., Namavar,Y., Barth,P.G., Poll-The,B., Nürnberg,G., Becker,C., van Ruissen,F., Weterman,M.A.J., Fluiter,K., Beek,E.T.T., Aronica,E., van der Knaap,M.S., Hohne,W., Toliat,M.R., Crow,Y.J., Steinlin,M., Voit,T., Roelens,F., Brussel,W., Brockmann,K., Kyllerman,M., Boltshauser,E., Hammersen,G., Willemsen,M., Basel-Vanagaite,L., Krageloh-Mann,I., de Vries,L.S., Sztriha,L., Muntoni,F., Ferrie,C.D., Battini,R., Hennekam,R.C.M., Grillo,E., Beemer,F.A., Stoets,L.M.E., Wollnik,B., **Nürnberg,P.**, and Baas,F. (2008). tRNA splicing endonuclease mutations cause pontocerebellar hypoplasia. *Nature Genetics* 40, 1113-1118.
14. Ebermann,I., Elsayed,S.M., bdel-Ghaffar,T.Y., Nürnberg,G., **Nürnberg,P.**, Elsobky,E., and Bolz,H.J. (2008). Double homozygosity for mutations of AGL and SCN9A mimicking neurohepatopathy syndrome. *Neurology* 70, 2343-2344.
15. Frank,V., den Hollander,A.I., Bruchle,N.O., Zonneveld,M.N., Nürnberg,G., Becker,C., Du Bois,G., Kendziorra,H., Roosing,S., Senderek,J., **Nürnberg,P.**, Cremers,F.P.M., Zerres,K., and Bergmann,C. (2008). Mutations of the CEP290 gene encoding a centrosomal protein cause Meckel-Gruber syndrome. *Human Mutation* 29, 45-52.
16. Franke,A., Fischer,A., Nothnagel,M., Becker,C., Grabe,N., Till,A., Lu,T., Muller-Quernheim,J., Wittig,M., Hermann,A., Balschun,T., Hofmann,S., Niemiec,R., Schulz,S., Hampe,J., Nikolaus,S., **Nürnberg,P.**, Krawczak,M., Schurmann,M., Rosenstiel,P., Nebel,A., and Schreiber,S. (2008). Genome-wide association analysis in sarcoidosis and Crohn's disease unravels a common susceptibility locus on 10p12.2. *Gastroenterology* 135, 1207-1215.
17. Geier,C., Gehmlich,K., Ehler,E., Hassfeld,S., Perrot,A., Hayess,K., Cardim,N., Wenzel,K., Erdmann,B., Krackhardt,F., Posch,M.G., Bublak,A., Nagele,H., Scheffold,T., Dietz,R., Chien,K.R., Spuler,S., Furst,D.O., **Nürnberg,P.**, and Ozcelik,C. (2008). Beyond the sarcomere: CSRP3 mutations cause hypertrophic cardiomyopathy. *Hum. Mol. Genet.* 17, 2753-2765.
18. Hennies,H.C., Kornak,U., Zhang,H., Egerer,J., Zhang,X., Seifert,W., Kuhnisch,J., Budde,B., Natebus,M., Brancati,F., Wilcox,W.R., Muller,D., Kaplan,P.B., Rajab,A., Zampino,G., Fodale,V., Dallapiccola,B., Newman,W., Metcalfe,K., Clayton-Smith,J., Tassabehji,M., Steinmann,B., Barr,F.A., **Nürnberg,P.**, Wieacker,P., and Mundlos,S. (2008). Geroderma osteodysplastica is caused by mutations in SCYL1BP1, a Rab-6 interacting golgin. *Nat. Genet.* 40, 1410-1412.

19. Huyghe,J.R., Van Laer,L., Hendrickx,J.J., Fransen,E., Demeester,K., Topsakal,V., Kunst,S., Manninen,M., Jensen,M., Bonaconsa,A., Mazzoli,M., Baur,M., Hannula,S., Maki-Torkko,E., Espeso,A., Van Eyken,E., Flaquer,A., Becker,C., Stephens,D., Sorri,M., Orzan,E., Bille,M., Parving,A., Pyykko,I., Cremers,C.W.R.J., Kremer,H., Van de Heyning,P.H., Wienker,T.E., **Nürnberg,P.**, Pfister,M., and Van Camp,G. (2008). Genome-wide SNP-based linkage scan identifies a locus on 8q24 for an age-related hearing impairment trait. *American Journal of Human Genetics* 83, 401-407.
20. Janke,D., Mehralivand,S., Strand,D., Gotel-Armbrust,U., Habermeier,A., Gradhand,U., Fischer,C., Toliat,M.R., Fritz,P., Zanger,U.M., Schwab,M., Fromm,M.F., **Nürnberg,P.**, Wojnowski,L., Closs,E.I., and Lang,T. (2008). 6-mercaptopurine and 9-(2-phosphonyl-methoxyethyl) adenine (PMEA) transport altered by two missense mutations in the drug transporter gene ABCC4. *Human Mutation* 29, 659-669.
21. Kayser,M., Lao,O., Saar,K., Brauer,S., Wang,X.Y., **Nürnberg,P.**, Trent,R.J., and Stoneking,M. (2008). Genomewide analysis indicates more Asian than melanesian ancestry of polynesians. *American Journal of Human Genetics* 82, 194-198.
22. Kloeckener-Gruissem,B., Vandekerckhove,K., Nürnberg,G., Neidhardt,J., Zeitz,C., **Nuernberg,P.**, Schipper,I., and Berger,W. (2008). Mutation of solute carrier SLC16A12 associates with a syndrome combining juvenile cataract with microcornea and renal glucosuria. *American Journal of Human Genetics* 82, 772-779.
23. Kornak,U., Reynders,E., Dimopoulou,A., van Reeuwijk,J., Fischer,B., Rajab,A., Budde,B., **Nürnberg,P.**, Foulquier,F., Lefeber,D., Urban,Z., Gruenewald,S., Annaert,W., Brunner,H.G., van Bokhoven,H., Wevers,R., Morava,E., Matthijs,G., Van Maldergem,L., and Mundlos,S. (2008). Impaired glycosylation and cutis laxa caused by mutations in the vesicular H⁺-ATPase subunit ATP6V0A2. *Nature Genetics* 40, 32-34.
24. Kuhl,A., Melberg,A., Meinel,E., Nürnberg,G., **Nürnberg,P.**, Kehrer-Sawatzki,H., and Jenne,D.E. (2008). Myofibrillar myopathy with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy 7: corroboration and narrowing of the critical region on 10q22.3. *European Journal of Human Genetics* 16, 367-373.
25. Lao,O., Lu,T.T., Nothnagel,M., Junge,O., Freitag-Wolf,S., Caliebe,A., Balasakova,M., Bertranpetit,J., Bindoff,L.A., Comas,D., Holmlund,G., Kouvatsi,A., Macek,M., Mollet,I., Parson,W., Palo,J., Ploski,R., Sajantila,A., Tagliabracci,A., Gether,U., Werge,T., Rivadeneira,F., Hofman,A., Uitterlinden,A.G., Gieger,C., Wichmann,H.E., Ruther,A., Schreiber,S., Becker,C., **Nürnberg,P.**, Nelson,M.R., Krawczak,M., and Kayser,M. (2008). Correlation between Genetic and Geographic Structure in Europe. *Curr. Biol.* 18, 1241-1248.
26. Marschenz,S., Brinckmann,A., **Nuernberg,P.**, Kruger,D.H., Gunther,S., and Meisel,H. (2008). Co-replication analyses of naturally occurring defective hepatitis B virus variants with wild-type. *Virology* 372, 247-259.
27. Neidhardt,J., Glaus,E., Lorenz,B., Netzer,C., Li,Y., Schambeck,M., Wittmer,M., Feil,S., Kirschner-Schwabe,R., Rosenberg,T., Cremers,F.P.M., Bergen,A.A.B., Barthelmes,D., Baraki,H., Schmid,F., Tanner,G., Fleischhauer,J., Orth,U., Becker,C., Wegscheider,E., Nürnberg,G., **Nürnberg,P.**, Bolz,H.J., Gal,A., and Berger,W. (2008). Identification of novel mutations in X-linked retinitis pigmentosa families and implications for diagnostic testing. *Molecular Vision* 14, 1081-1093.
28. Netzer,C., Freudenberg,J., Toliat,M.R., Heinze,A., Heinze-Kuhn,K., Thiele,H., Goebel,I., **Nürnberg,P.**, Ptacek,L.J., Gobel,H., Todt,U., and Kubisch,C. (2008). Genetic association studies of the chromosome 15 GABA-A receptor cluster in migraine with aura. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 147B, 37-41.
29. Nürnberg,G., Jacobi,F.K., Broghammer,M., Becker,C., Blin,N., **Nürnberg,P.**, Stephani,U., and Pusch,C.M. (2008). Refinement of the MYP3 locus on human chromosome 12 in a German family with Mendelian autosomal dominant high-grade myopia by SNP array mapping. *International Journal of Molecular Medicine* 21, 429-438.
30. Pasternack,S.M., von Kugelgen,I., Al Aboud,K., Lee,Y.A., Ruschendorf,F., Voss,K., Hillmer,A.M., Molderings,G.J., Franz,T., Ramirez,A., **Nuernberg,P.**, Nothen,M.M., and Betz,R.C. (2008). G protein-coupled receptor P2Y5 and its ligand LPA are involved in maintenance of human hair growth. *Nature Genetics* 40, 329-334.