

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Veröffentlichung der Ergebnisse von Forschungsvorhaben im BMBF-Programm

B I O L O G I E

Forschungsvorhaben: GABI-FUTURE-Verbundvorhaben: „Erschließung des genetischen Potentials von Roggen mittels Etablierung einer Ressource zur funktionellen Genomanalyse des exprimierten ('EXPRESSed') Anteils des Roggen-genoms (GABI-RYE EXPRESS)“ (Teilprojekt A)

Förderkennzeichen: 0315063 A

Zuwendungsempfänger: Technische Universität München

Ausführende Stelle: Technische Universität München - Wissenschaftszentrum Weihenstephan - Forschungsdepartment für Pflanzenwissenschaften – Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, 85354 Freising

Projektleitung: Dr. Eva Bauer

Laufzeit: 01.01.2008 – 30.06.2011

„Das diesem Bericht zugrundeliegende BMBF-Forschungsvorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0315063A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor“.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN geplant	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel a) Forschungsvorhaben: GABI-FUTURE-Verbundvorhaben: „Erschließung des genetischen Potentials von Roggen mittels Etablierung einer Ressource zur funktionellen Genomanalyse des exprimierten ('EXPRESSED') Anteils des Roggengenoms (GABI-RYE EXPRESS)“ (Teilprojekt A) b) From RNA-seq to large-scale genotyping – genomics resources for rye (<i>Secale cereale</i> L.)	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] a) Bauer, Eva; Haseneyer Grit	5. Abschlussdatum des Vorhabens Juni 2011
b) Haseneyer, Grit; Schmutzer, Thomas; Seidel, Michael; Zhou, Ruonan; Mascher, Martin; Schön, Chris-Carolin; Taudien, Stefan; Scholz, Uwe; Stein, Nils; Mayer, Klaus F. X.; Bauer, Eva	6. Veröffentlichungsdatum September 2011
	7. Form der Publikation Fachzeitschrift
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse)^ Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, Emil-Ramann-Str. 4, 85354 Freising Bioinformatik und Informationstechnologie, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Corrensstr. 3, 06466 Gatersleben Genomdiversität, IPK, Corrensstr. 3, 06466 Gatersleben MIPS/IBIS, Institut für Bioinformatik und Systembiologie, HelmholtzZentrum München, Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg	9. Ber. Nr. Durchführende Institution keine
	10. Förderkennzeichen 0315063A
	11. Seitenzahl a) 22 b) 13
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben 2
	14. Tabellen 3
	15. Abbildungen 8
16. Zusätzliche Angaben keine	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) nein	
18. Kurzfassung Zu Beginn des Projekts standen für Roggen etwas mehr als 9.000 EST Sequenzen in öffentlichen Datenbanken, ca. 200 PCR-basierte Marker und eine Handvoll genetischer Karten mit geringer Markerabdeckung zur Verfügung. Die Entwicklung zuverlässiger und kosteneffizienter Hochdurchsatz-Sequenziertechnologien und -Genotypisierungsplattformen ermöglichte die Untersuchung und Analyse eines Pflanzentranskriptoms in absehbarer Zeit und mit vertretbarem monetärem Aufwand. Hauptziel des Verbundprojekts GABI RYE-EXPRESS war es, grundlegende Ressourcen für die Genomanalyse in Roggen (<i>Secale cereale</i> L.) zu schaffen. Fünf Roggeninzuchtlinien wurden für die experimentellen Arbeiten herangezogen. Verschiedene RNA Proben je Inzuchtlinie lieferten eine diverse und umfangreiche Ansammlung von Roggentranskripten für die Sequenzierung. Die Sequenzierung von fünf Linien ermöglichte die Detektion von Sequenzpolymorphismen, auf deren Grundlage sich ein Genotypisierungsarray erstellen ließ. Nach der Assemblierung von 2.5 Mio. Sequenzreads aus der Roche 454 GS FLX Sequenzierung wurde eine umfangreiche Genomressource erstellt, die 115.400 EST Sequenzen, einen Genotypisierungsarray mit 5.234 SNPs sowie eine hochdichte Transkriptkarte mit 3.562 SNPs und 211 SSRs umfasst und der wissenschaftlichen Gemeinschaft frei zugänglich ist. Durch die Genotypisierung von Kartierungspopulationen mittels des SNP-Arrays konnte eine Transkriptkarte für Roggen erstellt werden. Die Ergebnisse aus dem GABI RYE-EXPRESS Projekt stellen für die weitere Forschung im Roggen eine fundamentale Grundlage dar und sind für die vergleichende Genomik der Triticeae von hohem Interesse. Mit der Sequenzressource und dem RYE5k-SNP Array wurden zudem molekulare Tools geschaffen, die nachfolgende Forschungsprojekte in Roggen erheblich voranbringen.	
19. Schlagwörter Roggen, Transkriptom, Sequenzierung, Ressource, Genotypisierung, SNP-Array	
20. Verlag BioMed Central, Floor 6, 236 Gray's Inn Road, London, UK	21. Preis 1.365,00 Euro

I. KURZDARSTELLUNG

1. Aufgabenstellung
2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde
3. Planung und Ablauf des Vorhabens
4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde
5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

II. EINGEHENDE DARSTELLUNG

1. Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse
2. Wichtige Positionen des zahlenmäßigen Nachweises
3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit
4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse
5. Bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen
6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

III. ERFOLGSKONTROLLBERICHT

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen
2. Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens, erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen
3. Fortschreibung des Verwertungsplans
4. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben
5. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer - z.B. Anwenderkonferenzen
6. Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

I. KURZDARSTELLUNG

1. Aufgabenstellung

Hauptziel des Verbundprojekts GABI RYE-EXPRESS war es, grundlegende Ressourcen für die Genomanalyse in Roggen (*Secale cereale* L.) zu schaffen. Fünf Roggeninzuchtlinien wurden für die experimentellen Arbeiten herangezogen. Verschiedene RNA Proben je Inzuchtlinie sollten eine diverse und umfangreiche Ansammlung von Roggentranskripten für die Sequenzierung liefern. Die Sequenzierung von fünf Linien ermöglicht die Detektion von Sequenzpolymorphismen, auf deren Grundlage sich ein Genotypisierungsarray erstellen lässt. Dieser Array kann für die Genotypisierung beliebig vieler Individuen verwendet werden. Durch die Genotypisierung von Kartierungspopulationen oder diverser Roggenpopulationen sollten eine Transkriptkarte für Roggen erstellt bzw. populationsgenetische Parameter und das genomweite Kopplungsphasenungleichgewicht im Roggen geschätzt werden. Durch die Erstellung umfangreicher genomischer Ressourcen in GABI RYE-EXPRESS kann Deutschlands Position in der Roggenforschung und -züchtung im weltweiten Wettbewerb gestärkt werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Der Bewilligungszeitraum von GABI RYE-EXPRESS fiel in eine Phase der schnelllebigen Entwicklung von Sequenzierungstechnologien und Genotypisierungsverfahren. Aufgrund des raschen Fortschritts in diesen Bereichen boten sich neue Möglichkeiten für die Erstellung einer umfangreichen Sequenz- und Genotypisierungsressource für Roggen. Dank der vorhandenen Expertise bei den Projektpartnern bezüglich Next-Generation-Sequencing (NGS), Genomanalyse, vergleichender Genomik und Bioinformatik wurden große Fortschritte für den Bereich Ressourcenentwicklung und Genomforschung im Roggen erwartet.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Innerhalb des Projektes sind Planung und Ablauf durch einen Balkenplan (Tab 1) beschrieben, aus dem die Aufgaben der Projektpartner IPK, HMGU und TUM während des Bewilligungszeitraums hervorgehen.

Tabelle 1 Planung des Projektablaufs

Arbeiten während des Bewilligungszeitraums sind in grün (IPK), gelb (HMGU) und blau (TUM), Arbeiten während der Projektverlängerung sind in hellgrün (IPK) und hellblau (TUM) dargestellt.

Milestone	Funding phase												Post-funding phase			
	Year		2008				2009				2010				2011	
	Quarter		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II
Generation of cDNAs from diverse rye genotypes																
Plant growth, stress treatments																
mRNA isolation, cDNA generation																
High-throughput sequencing of cDNAs																
Send samples to 454 Service Provider																
cDNA sequencing (subcontract)																
EST analysis																
Adaption of existing databases																
Evaluation and adaption of necessary analysis tools																
Sequence assembly																
Sequence assembly, training and support																
Unigene definition																
Sequence annotation																
Candidate gene identification																
In-silico mining for SNP or InDel polymorphisms																
Evaluation/adaptation of software tools for SNP mining																
In-silico mining for polymorphisms using HarVEST																
Experimental confirmation of 20 SNPs by resequencing																
SNP analysis, Illumina Golden Gate assay																
SNP array design																
DNA sample preparation and shipping																
SNP array analysis by Service Provider (subcontract)																
Generate high-density transcript map																
Assess allelic diversity in diversity panel																
Genome-wide association study (GABI RYE-FROST)																
Determination of chromosome-specific LD patterns																
LD-decay in dependence on map distance																
Validation of selected SNP markers																
Validate selected markers on alternative genotyping platforms																
Integration of EST data in a Triticeae genome comparison platform																
Develop reference genome databases																
Development of comparative viewer																
Integration of rye genomic resources																

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Zu Beginn des Projekts standen für Roggen etwas mehr als 9.000 EST Sequenzen in öffentlichen Datenbanken, ca. 200 PCR-basierte Marker und eine handvoll genetischer Karten mit geringer Markerabdeckung zur Verfügung. Die Entwicklung zuverlässiger und kosteneffizienter Hochdurchsatz-Sequenzieretechnologien und -Genotypisierungsplattformen ermöglichte die Untersuchung und Analyse eines Pflanzentranskriptoms in absehbarer Zeit und mit vertretbarem monetärem Aufwand. Die aus diesem Projekt erwarteten wissenschaftlichen Ergebnisse bilden die Grundlage für die Etablierung des Roggens als Modellpflanze u. a. zur Untersuchung der Toleranz gegenüber abiotischem Stress in Gräsern.