



Schlussbericht

BMBF-Forschungsvorhaben

Förderkennzeichen 01GI1104A

Verbundvorhaben

BIOMARKERS im Kompetenznetz Diabetes mellitus

Eberhard Karls Universität Tübingen

Medizinische Fakultät (Department Innere Medizin) und Mathematisch-
Naturwissenschaftliche Fakultät (Fachbereich Informatik)

Teilprojekt 10 (TP10):

„Metabolomics approaches to investigate pre-diabetic sub-phenotypes and their responsiveness to lifestyle interventions and central coordination of the non-targeted metabolomics platform“

Teilprojekt 12 (TP12):

„Detection of discriminative pre-diabetic features from mass spectrometry data using machine learning methods and bioinformatics“

Teilprojekt 13 (TP13):

„Computational Mass Spectrometry - Automated data processing and pathway analysis for pre-diabetic biomarker detection and identification“

Projektleiter T10:

Prof. Dr. Dr. hc Hans-Ulrich Häring

Projektleiter T12:

Prof. Dr. Andreas Zell

Projektleiter T13:

Prof. Dr. Oliver Kohlbacher

Laufzeit des Vorhabens:

01.10.2011 – 30.09.2014,
kostenneutral verlängert vom 01.10.2014 – 31.12.2014

Vorbemerkung

Unter dem Förderkennzeichen 01GI1104A wurden an der Universität Tübingen drei Teilvorhaben eines Forschungsverbunds gefördert der insgesamt aus vier Teilvorhaben bestand. Teilprojekt 10 (T10) war ein übergeordnetes zentrales Teilvorhaben das die Abläufe des gesamten Verbundes koordiniert hat. Teilprojekt 12 (TP 12) beinhaltete einen der beiden bioinformatischen Teile des Vorhabens mit dem Titel: Nachweis von diskriminativen prädiabetischen Features aus Massenspektrometriedaten mittels maschinellen Lernverfahren und bioinformatischen Methoden. Im zweiten bioinformatischen Teilprojekt wurden massenspektrometrische Rohdaten automatisch prozessiert und Ansätzen entwickelt diese Daten mit Hilfe von bioinformatischen Werkzeugen auf entsprechende metabolische Pathways abzubilden um prädiabetische Biomarker zu identifizieren. Durch die enge Vernetzung aller Teilvorhaben werden diese im nun folgenden Schlussbericht gemeinsam dargestellt.

I. Kurze Darstellung zu

1. Aufgabenstellung

In Deutschland gibt es ca. 8 Millionen Diabetes-Patienten. Die Anzahl der sogenannten Prä-Diabetiker, d.h. Menschen, bei denen aufgrund eines bereits veränderten Metabolismus die Glucosetoleranz gestört ist, beträgt nochmals ca. 8 Millionen Menschen. Berücksichtigt man hierbei noch Menschen mit Insulinresistenz, erhöht sich die Anzahl der Prä-Diabetiker auf ungefähr 15 Millionen (weltweit ca. 150 Millionen). Bisher gibt es kein einfaches diagnostisches Laborverfahren um den Prä-Diabetes zu diagnostizieren um durch eine frühzeitige Intervention die Manifestation des Diabetes zu verzögern oder zu verhindern. Ziel 1 der Projekte 10, 12 und 13 war die Identifizierung von Metabolit-Biomarkern in Plasma und Urin, die eine Identifizierung und Unterscheidung von Diabetes-Risikophänotypen (Prädiabetes-Subphänotypen) zu einem sehr frühen, prä-diabetischen Stadium der Erkrankung erlauben. In dem interdisziplinären Projekt „METABOLOMICS-BIOMARKER“, das sich aus vier sehr eng vernetzten Teilprojekten zusammensetzte (ein Projektpartner, Teilprojekt 11, war in München am Helmholtz-Zentrum angesiedelt und sendet einen

separaten Abschlussbericht ans DLR), wurden die Proben durch analytische „high-end“-Verfahren untersucht und ausgewertet. Für Diabetes-Risikophänotyp sollten durch eine Kombination von „Metabolomic Profiling“ und speziellen bioinformatischen Auswertungen spezifische Biomarker identifiziert werden. Ziel 2 war eine non-targeted Metabolomics-Plattform aufzubauen und mit der targeted Metabolomics-Plattform des Kompetenz-Netzwerk Adipositas zu fusionieren, so dass eine gemeinsame Plattform für targeted und non-targeted Metabolomicsuntersuchungen zur Nutzung durch die gesamten Netzwerke Diabetes und Adipositas zur Verfügung steht. Der Betrieb dieser gemeinsamen Plattform unter internationalen Qualitätsstandards im Rahmen von Kooperationen mit Partner aus dem Diabetes-Netzwerk und dem KKN Adipositas zur Identifizierung von Biomarkern und Aufklärung von Pathomechanismen in präklinischen und klinischen Projekten war ein weiteres wichtiges Ziel.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Vorhaben wurde im Rahmen des Kompetenznetzwerks Diabetes als ein Verbundprojekt mit vier Teilprojekten durchgeführt.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Planung und der Ablauf entsprachen den in den AZA-Anträgen enthaltenen Plänen und wurde im Zeitraum von 01.10.2011 – 31.12.2014, inklusive einer kostenneutralen Verlängerung ab 01.10.2014 durchgeführt.

4. wissenschaftlichem und technischem Stand, an den angeknüpft wurde

Die verwendete Fachliteratur entstammte ausschließlich hochaktuellen Veröffentlichungen in PubMed, Medline und Web of Science. Darüber hinausgehend wurden keine Informations- und Dokumentationsdienste in Anspruch genommen.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Es wurde mit Projektpartnern im Kompetenznetz Diabetes und im Kompetenznetz Adipositas zusammengearbeitet.

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen

Zu Beginn der Förderperiode im Oktober 2011 wurde die bereits in der vorhergehenden Förderphase begonnen interne Vernetzung des Verbund BIOMARKERS weiter intensiviert, ebenso die Vernetzung innerhalb des Kompetenznetzes. Als wichtige Grundvoraussetzung für robuste, reproduzierbare Bedingungen bei Analysen der non-targeted Metabolomics-Plattform wurden von allen Teilprojektpartner gemeinsam Standardarbeitsprozeduren (SOP) entwickelt, evaluiert und definiert. Insgesamt wurden vier SOPs durch die alle wichtigen Prozessschritte exakt festgeschrieben und reguliert wurden definiert. Im Einzelnen waren dies eine SOP für die prä-analytische Phase, eine SOP für die Umkehrphasen UPLC-MS, eine SOP für die Flussinjektions-ICR FT-Massenspektrometrie, sowie eine SOP für das Datenmanagement und die Datenprozessierung. Als weiterer Beitrag zur Optimierung der Abläufe des Gesamtprojekts, sowie zum weiteren Zusammenwachsen des gesamten Netzwerkes Diabetes wurde von uns ein zentraler Webservice zur Datenauswertung und Archivierung für den gesamten Verbund entwickelt und auch für alle Netzwerkpartner die die Metabolomicsplattform nutzen zugänglich gemacht. Im Dezember des Jahres 2011 wurden auch die Ergebnisse der non-targeted Metabolomics-Analysen an einen Partner außerhalb unseres Verbundes (Verbund OGIT aus dem KKN Adipositas; PI: Prof. Dr. Stephan Bischoff) übergeben.

Zu Beginn des Jahres 2012 erfolgte die Integration der gemeinsamen targeted und non-targeted Metabolomics-Plattform in das Labormedizinische Zentrum (LMZ) Diabetes des KKN Diabetes. Im Detail wurden, wie im Harmonisierungsmeeting der Metabolomics-Plattform des LMZ-Diabetes am 20.12.2011 am Helmholtz Zentrum München besprochen, gemeinsame SOPs definiert, sowie Preise für die Analysen und die Organisation der Probenverteilung auf die einzelnen Standorte festgelegt. Ebenso wurden einheitliche Kooperationsverträge für zukünftige Nutzer dieser Plattform entworfen und von den Rechtsabteilungen geprüft und genehmigt. In 2012 wurde eine Arbeit in einer international renommierten Fachzeitschrift veröffentlicht. Weiterhin liefen im Jahr 2012 die Experimenten zur Identifizierung von Biomarkern zur Beurteilung der Probenqualität von Biobankproben mit Hilfe der non-targeted

Metabolomics-Plattform auf Hochtouren. Hierin beinhaltet waren auf Wunsch des Kompetenznetzes Diabetes auch sehr wichtigen Untersuchungen um Empfehlungen zur Blutgewinnung unter klinischen Routinebedingungen für Metabolomicsuntersuchungen zu definieren. Darüber hinaus wurden die zentralen Webservices zur Datenauswertung und Archivierung für den gesamten Verbund weiter verbessert. Ein weiteres hochrelevantes Projekt das in diesem Jahr bearbeitet wurde war die Durchführung der Metabolomics-Analyse der metabolischen Fingerabdrücke von prädiabetischen Subphänotypen, d.h. insulinresistenten und – resistenten Individuen mit Leberverfettung sowie die komplexe bioinformatische Auswertung dieser Daten um ein Metabolitmuster zu erkennen durch das sich der prä-diabetische Subphänotyp mit maligner Leberverfettung von demjenigen mit metabolischer gesunder Fettleber unterscheiden ließ. Außerdem erarbeiteten wir ein weiteres dringend benötigtes Software Tool mzQuantML zur Analyse massenspektrometrischer Daten.

Im Jahr 2013 wurden insgesamt 6 Publikationen in hochrangigen internationalen Journalen veröffentlicht (siehe Liste eigener Publikationen). Der Gesamt-Impactfactor dieser Veröffentlichungen lag bei 38,8 Punkten. Neben der Akquirierung von Biobankproben waren die Entwicklung neuer innovativer präanalytischer Ansätze sowie die Organisation und das Management der Plattform und das Schreiben der interdisziplinären Manuskripte auch in 2013 Schwerpunkte im TP10. In enger Zusammenarbeit mit den anderen TPs wurde ein Manuskript verfaßt, das erstmals zeigen konnte dass bei einem bestimmten prädiabetischen Subphänotyp (insulinresistente Individuen mit nicht-alkoholinduzierter Fettleber) ein charakteristisches Metabolitmuster im Blut vorhanden ist. Weiterhin konnte in primären Myotubenkulturen der Beweis geführt werden, dass sich der metabolische Phänotyp des Spenders auch in Zellkultur widerspiegelt. Unter Beteiligung aller TPs wurde ein wichtiges Metabolomics-Softwaretool entwickelt und publiziert. Diese Entwicklung beinhaltet einen Workflow zur automatischen Quantifizierung von Metaboliten im Rahmen von Hochdurchsatzmessungen (siehe „Eigene Publikationen“). Das Hauptaugenmerk bei TP13 wurde anschließend auf die Entwicklung von effizienten Strategien zur Identifizierung der neu-quantifizierten Analyten gerichtet, da diese gerade bei metabolischem Profiling (untargeted metabolomics) den nächsten Flaschenhals im Hochdurchsatz darstellen. Es wurde ein Workflow entwickelt, der die automatische Annotation der quantifizierten Signale

erlaubt. Eine akkurate Massensuche gegen humane Metabolitdatenbanken (z.B. HMDB) liefert hierbei zu hochaufgelösten Daten eine Liste von Kandidaten, die durch orthogonale Filterkriterien (z.B. Vergleich der Isotopenmuster) weiter verfeinert wird. Zudem wurden von allen TPs gemeinsam Methoden zur Vorhersage des Retentionsverhaltens von Metaboliten in der Reversed-Phase-Flüssigkeitschromatographie entwickelt, welche ebenfalls der Filterung der wahrscheinlichsten Kandidaten dienen. Zur strukturellen Validierung der Metabolithypothesen wurden die MS/MS-Fragmentspektren gegen authentische Standards oder gegen öffentliche Fragmentspektrendatenbanken (z.B. MassBank) abgeglichen. Der Workflow zur Identifizierung von Metaboliten wurde innerhalb der Software OpenMS implementiert und ist somit auf allen gängigen Plattformen frei verfügbar. Darüber hinaus beschäftigte sich vor allem TP 12 mit dem Betrieb und der Instandhaltung sowie der Weiterentwicklung der Plattform zum Speichern der Rohdaten. Hierfür wurden hauptsächlich bioinformatische Analysen zur Auswertung der in TP13 vorprozessierten Daten durchgeführt. Dabei kamen sowohl etablierte multivariate statistische Verfahren wie z.B. PCA und OPLSDA, als auch eigens entwickelte Verfahren zur Feature-Selektion zum Einsatz (siehe auch „Eigene Publikationen“). Selbst wenn etablierte statistische Verfahren keine signifikanten Unterschiede detektierten, konnten die in TP 12 entwickelten Verfahren Gruppen von Metaboliten selektieren, die z.B. wichtig zur Unterscheidung von prädiabetischen Subphänotypen sind. Die Ergebnisse der Analysen mit statistischen Verfahren trugen maßgeblich zur Auswertung bei der Differenzierung der Menschen mit prädiabetischer Fettleber und metabolisch gesunder Fettleber bei.

Im Jahr 2014 lag einer der Hauptarbeitsschwerpunkte im gemeinsamen Schreiben von Manuskripten zur Veröffentlichung der Ergebnisse der im bisherigen Projekt durchgeführten Experimente und Untersuchungen. Wir konnten unter anderem zeigen, dass der mit dem höchsten Diabetesrisiko assoziierte SNIP (Punktmutation) TCF7L2 im menschlichen Plasma zu keinen Veränderungen des von uns untersuchten Metabolitmusters führt (siehe auch „Eigene Publikationen“). Darüber hinaus, ausgelöst durch einen Mangel an entsprechenden Software-Tools, wurde im Jahr 2014 auch ein weiterer sehr wichtiger Schritt bei der bioinformatischen Datenauswertung erarbeitet. Für die Pathway-basierten Visualisierung von Multi-omics-Daten inklusive Metabolomics wurde eine bioinformatische Strategie entwickelt und programmiert. Bis dato war das Problem, dass es kein frei

zugängliches Software-Tool gab mit dem man verschiedene omics-Daten gemeinsam auswerten konnte um eine umfassendere und damit wertvollere Aussage treffen zu können. Durch die Implementierung von Metabolomics in das InCroMAP-Tool konnten wir die gemeinsame Auswertung von Transkriptom-, Proteom-, Genom- und Metabolomicsdaten ermöglichen. Dies bedeutet, dass jetzt auch Metabolitdaten visualisiert werden können. Das Tool unterstützt das automatische Einlesen von Metabolitbezeichnern der gängigsten Metabolitdatenbanken (z.B. HMDB, PubChem, LIPIDMAPS). Die eingelesenen Daten werden anschließend auf KEGG-Pathways abgebildet und es wird eine Enrichment-Analyse zur Anreicherung von signifikant veränderten Pathways durchgeführt. 2014 wurden insgesamt 5 Manuskripte verfasst (Gesamtimpactfaktorpunkte: 22,6) von denen im selben Jahr auch vier publiziert wurden und die fünfte Veröffentlichung erschien nach Ende der Förderung im Jahr 2015.

2. Erfolgte Veröffentlichungen des Ergebnisses

Im dreijährigen Förderzeitraum wurden insgesamt 12 Arbeiten in international hochrangigen Journalen veröffentlicht. Alle Publikationen durchliefen einen „peer review“ Prozess. Die BMBF-Förderung sowie das Förderkennzeichen sind jeweils bei den Danksagungen genannt.

2014/15:	22,6 Impact Faktorpunkte
2013:	39,3
2012:	2,7

Gesamt-Impact Faktorpunkte: 64,6

Aiche S, Sachsenberg T, Kenar E, Walzer M, Wiswedel B, Kristl T, Boyles M, Duschl A, Huber CG, Berthold MR, Reinert K, Kohlbacher O.: Workflows for automated downstream data analysis and visualization in large-scale computational mass spectrometry. *Proteomics*. 15: 1443-1447; 2015. **(IF: 3.8)**

Kenar E., Franken H., Forcisi S., Wörmann K., Häring H.-U., Lehmann R., Schmitt-Kopplin P., Zell A., Kohlbacher O.: Automated label-free quantification of metabolites from LC-MS data. *Mol. Cell. Proteomics*, 13: 348-359 2014. **(IF: 7.3)**

Wagner R., Li J., Kenar E., Kohlbacher O., Machicao F., Häring H.-U., Fritsche A., Xu G., Lehmann R.: Clinical and non-targeted metabolomic profiling of homozygous carriers of *TCF7L2* variant rs7903146. *Sci. Reports*, 4:5296, 2014 **(IF: 5.6)**

Eichner J., Rosenbaum L., Wrzodek C., Häring H.-U., Zell A., Lehmann R.: Integrated enrichment analysis and pathway-centered visualization of metabolomics, proteomics, transcriptomics, and genomics data by using the InCroMAP software. *J. Chrom. B*, 966: 77-82, 2014. **(IF: 2.7)**

Gerasch A, Faber D, Küntzer J, Niermann P, Kohlbacher O, Lenhof HP, Kaufmann M.: BiNA: a visual analytics tool for biological network data. *PLoS One*. 13; 9(2):e87397; 2014. **(IF: 3.2)**

Li J., Hoene M., Zhao X., Chen S., We H., Häring H.-U., Lin X., Zeng Z., Weigert C., Lehmann R., Xu G.: Stable isotope-assisted lipidomics combined with non-targeted isotopomer filtering, a novel tool to unravel the complex dynamics of lipid metabolism. *Anal. Chem.*, 85: 4651-4657, 2013. **(IF: 5.6)**

Yin P., Peter A., Franken H., Zhao X., Neukamm S.S., Rosenbaum L., Lucio M., Zell A., Häring H.-U., Schleicher E.D., Xu G., Lehmann R.: Pre-analytical aspects and sample quality assessment in metabolomics studies of human blood. *Clin. Chem.*, 59:833-45, 2013. **(IF: 7.9)**

Chen S., Hoene M., Li J., Li Y., Zhao X., Häring H.-U., Schleicher E.D., Weigert C., Xu G., Lehmann R.: Simultaneous extraction of metabolome and lipidome with methyl tert-butyl ether from a single small tissue sample for the ultra-high performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Chrom. A*, 1298: 9-16, 2013. **(IF: 4.2)**

Walzer M, Qi D, Mayer G, Uszkoreit J, Eisenacher M, Sachsenberg T, Gonzalez-Galarza FF, Fan J, Bessant C, Deutsch EW, Reisinger F, Vizcaíno JA, Medina-Aunon JA, Albar JP, Kohlbacher O, Jones AR.: The mzQuantML data standard for mass spectrometry-based quantitative studies in proteomics. *Mol Cell Proteomics*. 12: 2332-2340; 2013. **(IF: 7.3)**

Lehmann R., Franken H., Dammeier S., Rosenbaum L., Kantartzis K., Peter A., Zell A., Adam P., Li J., Xu G., Königsrainer A., Machann J., Schick F., Hrabé de Angelis M., Schwab M., Staiger H., Schleicher E., Gastaldelli A., Fritsche A., Häring H.-U., Stefan N.: Circulating lyso-phosphatidylcholines are markers of a metabolically benign nonalcoholic fatty liver. *Diabetes Care*, 36: 2331-2338, 2013. **(IF: 8.1)**

Wolf M., Chen S., Zhao X., Scheler M., Irmeler M., Staiger H., Beckers J., Hrabé de Angelis M., Fritsche A., Häring H. U., Schleicher E.D., Xu G., Lehmann R., Weigert C.: Production and release of acylcarnitines by primary myotubes reflect the differences in fasting fat oxidation of the donors. *J. Clin. Endocr. Metabol.*, 98: E1137-42, 2013. **(IF: 6.2)**

Li X., Hansen J., Zhao X., Lu X., Weigert C., Häring H.-U., Pedersen B.K., Plomgaard P., Lehmann R.*, Xu G.: Independent component analysis in non-hypothesis driven metabolomics: improvement of pattern discovery and simplification of biological data interpretation demonstrated with plasma samples of exercising humans. *J. Chrom. B*, 910:156-62, 2012 **(IF: 2.7)**

Berichtsblatt Nr. 1

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel VERBUND "BIOMARKERS" im KKN Diabetes (insgesamt 4 Teilprojekte, eines davon am HMGU und drei in Tübingen) Teilprojekt 10 (TP10): „Metabolomics approaches to investigate pre-diabetic sub-phenotypes and their responsiveness to lifestyle interventions and central coordination of the non-targeted metabolomics platform“ Teilprojekt 12 (TP12): „Detection of discriminative pre-diabetic features from mass spectrometry data using machine learning methods and bioinformatics“ Teilprojekt 13 (TP13): „Computational Mass Spectrometry - Automated data processing and pathway analysis for pre-diabetic biomarker detection and identification“	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Projektleiter T10: Prof. Dr. Dr. hc Häring, Hans-Ulrich Projektleiter T12: Prof. Dr. Zell, Andreas Projektleiter T13: Prof. Dr. Kohlbacher, Oliver	5. Abschlussdatum des Vorhabens Dezember 2014
	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Eberhard Karls Universität Tübingen: Medizinische Fakultät (Department Innere Medizin) und Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät (Fachbereich Informatik)	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 01GI1104A
	11. Seitenzahl
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e. V. (DLR) Projektträger Gesundheitsforschung <u>Heinrich-Konen-Straße 1 53227 Bonn, 21.08.2015</u>	
18. Kurzfassung In Deutschland gibt es ca. 8 Millionen Diabetes-Patienten und darüber hinaus ungefähr 15 Millionen Prä-Diabetiker. Im interdisziplinären Verbund „METABOLOMICS-BIOMARKER“ des krankheitsassoziierten Kompetenznetzes (KKN) Diabetes, der sich aus vier sehr eng vernetzten Teilprojekten zusammensetzte, wurden einerseits prädiabetische wissenschaftliche Fragestellungen mittels analytischer „high-end“-Metabolomicsverfahren untersucht, andererseits eine Metabolomics-Plattform unter internationalen Qualitätsstandards zur qualitativ hochwertigen targeted und non-targeted Analyse von Metabolitprofilen von Zellkultur- bis humanen Proben zur Nutzung durch das gesamte KKN Diabetes aufgebaut. Hierfür wurden Standardarbeitsprozeduren (SOP) für die prä-analytische Phase, die Umkehrphasen UPLC-MS, die Flussinjektions-ICR FourierTransformations-Massenspektrometrie, sowie das Datenmanagement und die Datenprozessierung entwickelt, evaluiert und schließlich definiert. Ebenso wurde ein zentraler Webservice zur Datenauswertung und Archivierung für den gesamten Verbund und auch für alle Netzwerkpartner die die Metabolomicsplattform nutzen entwickelt und kontinuierlich gepflegt. Im Jahre 2012 erfolgte dann die Integration dieser targeted und non-targeted Metabolomics-Plattform in das Labormedizinische Zentrum (LMZ) Diabetes des KKN Diabetes. Im Rahmen der prädiabetischen wissenschaftlichen Arbeiten wurde unter anderem erstmals gezeigt dass bei einem bestimmten prädiabetischen Subphänotyp (insulinresistente Individuen mit nicht-alkoholinduzierter Fettleber) ein charakteristisches Metabolitmuster von Biomarkern im Blut vorhanden ist. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass der mit dem höchsten Diabetesrisiko assoziierte SNP (Punktmutation) TCF7L2 in den untersuchten Plasma-Metabolitmustern der homozygoten Mutationsträger zu keinen Veränderungen führt. Darüber hinaus gelang es im Rahmen der Standardisierungsarbeiten Biomarkern zur Beurteilung der Probenqualität von Biobankproben zu identifizieren und Empfehlungen zur Blutgewinnung unter klinischen Routinebedingungen für Metabolomicsuntersuchungen zu definieren. In primären Myotubenkulturen konnte der Beweis geführt werden, dass sich der metabolische Phänotyp des Spenders der Muskelbiopsie auch in Zellkultur widerspiegelt. Einer der bioinformatischen Projektteile befasste sich mit der Entwicklung und Programmierung einer bioinformatischen Strategie zur sehr wichtigen Pathway-basierten Visualisierung von Multi-omics-Daten inklusive Metabolomics. Insgesamt entstanden im dreijährigen Förderzeitraum 12 Arbeiten die in international hochrangigen Journalen veröffentlicht wurden (Gesamt-Impact Faktorpunkte: 64,6).	
19. Schlagwörter Metabolomics, Bioinformatik, Prädiabetes, Analysenplattform, Standardarbeitsanweisungen	
20. Verlag	21. Preis

Document Control Sheet N°1

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Final report
3. title Consortium "BIOMARKERS" within the KKN Diabetes (in total 4 subprojects, one at HMGU and three in Tuebingen) Subproject 10 (SP10): „Metabolomics approaches to investigate pre-diabetic sub-phenotypes and their responsiveness to lifestyle interventions and central coordination of the non-targeted metabolomics platform“ Subproject 12 (SP12): „Detection of discriminative pre-diabetic features from mass spectrometry data using machine learning methods and bioinformatics“ Subproject 13 (SP13): „Computational Mass Spectrometry - Automated data processing and pathway analysis for pre-diabetic biomarker detection and identification“	
4. author(s) (family name, first name(s)) PI T10: Prof. Dr. Dr. hc Häring, Hans-Ulrich PI T12: Prof. Dr. Zell, Andreas PI T13: Prof. Dr. Kohlbacher, Oliver	5. end of project December 2014
	6. publication date
	7. form of publication
8. performing organization(s) (name, address) Eberhard Karls Universität Tübingen: Medizinische Fakultät (Department Innere Medizin) und Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät (Fachbereich Informatik)	9. originator's report no.
	10. reference no. 01GI1104A
	11. no. of pages
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references
	14. no. of tables
	15. no. of figures
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date) Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e. V. (DLR) Projektträger Gesundheitsforschung <u>Heinrich-Konen-Straße 1 53227 Bonn, 21.08.2015</u>	
18. abstract In German around 8 million patients suffer from type 2 diabetes (T2D) and in addition another 15 million pre-diabetics exist. In the interdisciplinary consortia „METABOLOMICS-BIOMARKER“, which was built out of 4 subprojects, within the disease associated competence network (KKN) Diabetes pre-diabetic scientific issues using high-end metabolomics approaches were investigated, as well as a metabolomics-platform applying international quality standards for targeted and non-targeted analysis of metabolite pattern from cell culture to human samples was built up for the use of the entire network. For this purpose standard operating procedures (SOP) for the pre-analytical phase, the reversed-phase UPLC-mass spectrometry, the flow-injection-ICR Fourier Transformation-MS, as well as for data management and data processing were developed, evaluated, finally defined and applied. Likewise the development and continuous maintenance of a central webservice for the data evaluation and archiving for the consortium but also for the entire network partners who are using the metabolomics platform was realized. In 2012 this targeted and non-targeted metabolomics platform was integrated into the "Labormedizinische Zentrum (LMZ) Diabetes" of the KKN Diabetes. In the context of the pre-diabetic scientific projects the existence of a distinct metabolite pattern of biomarkers in blood of a specific pre-diabetic subphenotype (insulin resistant individuals with non-alcoholic fatty liver disease) was elucidated. Furthermore we could show that homocygous carrier of the TCF7L2 SNP (single nucleotide polymorphism), which is the SNP with the highest diabetes risk, led to no detectable alterations in the investigated metabolite pattern. In addition, in the context with the studies for the standardization of the pre-analytical conditions for the metabolomics platform we identified biomarkers reflecting the quality of biobank samples and developed and published recommendations for blood drawing and handling under daily clinical conditions for metabolomics investigations. In primary human myotubes we could show that the metabolic phenotype of the donor of the muscle biopsy is preserved in cell culture. One of our bioinformatics projects addressed in depth the development and programming of a strategy to eliminate one of the major bottlenecks in metabolomics studies, the visualization of pathway enrichment in multi-omics approaches. In the triennially funding period a total of 12 publications in international high ranking journals were published (total impact factor points: 64.6).	
19. keywords Metabolomics, Bioinformatics, pre-diabetes, analytical platform, standard operating procedure	
20. publisher	21. price