

TRAINomics-Treffen am 09.05.2016



TRAIN *omics*

Translationsallianz in Niedersachsen



Medizinische Hochschule
Hannover

Agenda

TWINCORE, Konferenzraum (Raum 0030 im EG)

Montag, 9. Mai 2016, 13:00 bis 16:50 Uhr

Zeit	Vortragende(r)	Omics-Bereich	Standort
13:00 – 13:10	Ulrich Kalinke	Einleitung (Teil 1)	Twincore
13:10 – 13:20	Thomas Illig	Einleitung (Teil 2)	MHH
13:20 – 13:35	Oliver Dittrich-Breiholz *	Transcriptomics + Genomics	MHH
13:35 – 13:45	Monika Niehof	Transcriptomics	Fraunhofer
13:45 – 14:00	Robert Geffers *	Transcriptomics + Genomics	HZI
14:00 – 14:15	Ottmar Distl *	Transcriptomics + Genomics	TiHo
14:15 – 14:25	Boyke Bunk	Genomics	DSMZ
14:25 – 14:35	Pause		
14:35 – 14:45	Lothar Jänsch	Proteomics	HZI
14:45 – 14:55	Andreas Pich	Proteomics	MHH
14:55 – 15:05	Susanne Engelmann	Proteomics	TU BS
15:05 – 15:15	Volkhard Kaefer	Metabolomics	MHH
15:15 – 15:25	Sven Schuchardt	Metabolomics	Fraunhofer

Vorträge:

7 Minuten + 3 Minuten Diskussion (*10 Minuten + 5 Minuten Diskussion)

15:25 – 16:05 Diskussion zu Bestandsaufnahme und Strategiekonzept, grobe Terminierung des nächsten großen TRAINomics-Treffens, Bildung von Subgruppen

16:05 – 16:15 Pause

16:15 – 16:45 Diskussion innerhalb der Subgruppen, Terminfindung für erste Arbeitstreffen der Subgruppen

16:45 Verabschiedung durch die Initiativgruppe (Oliver Dittrich-Breiholz)

Allgemeine Hinweise zu den Kurzvorträgen

Für die Kurzvorträge wird auf eine formale Einheitlichkeit verzichtet. Es geht zuallererst um eine erste Bestandsaufnahme der vorhandenen Omics-Technologien und –Einrichtungen.

In Anlehnung an unser vorgeschlagenes Konzept möchten wir dazu anregen, die Vortragsgliederung gegebenenfalls schon an den 3 auf den folgenden Folien genannten „Hauptaspekten“ auszurichten und auf die gelisteten Unterpunkte Bezug zu nehmen. Dieses Vorgehen wird dabei helfen, die anschließende Diskussion gut einzuleiten und bereits sehr konkrete Informationen und Einschätzungen aus „Sicht“ jeder einzelnen „Omics-Einrichtung“ zusammenzutragen.

Aufgrund des sehr engen Zeitfensters bis zur Veranstaltung kann eine solche Gliederung der Vorträge allenfalls als Anregung verstanden werden. Es steht den Vortragenden selbstverständlich frei, Ihren Vortrag abweichend zu gestalten. Wie bereits oben erwähnt, sollte der Aspekt 1 „Versorgungssicherheit“ (Bestandsaufnahme) eindeutig im Fokus der Kurzvorträge stehen.

In jedem Fall möchten wir aber dazu anregen, anhand der von uns definierten Unterpunkte auch zu den weiteren „Hauptaspekten“ (Innovation, Konzeption) (siehe nachfolgende Folien) eigene Einschätzungen und Stellungnahmen vorzubereiten (gegebenenfalls bereits in Ihren Vortrag integriert, sehr gerne aber auch im Hinblick auf die anschließende Diskussion).

Auf „Danksagungen“ am Ende der Vorträge sollte zum jetzigen Stadium aus Zeitgründen verzichtet werden.

Die Initiativgruppe

1) Versorgungssicherheit

- primär Service oder Forschungsgruppe?
- verfügbare Geräte
- Personal
- Leistungsspektrum
- Core-Unit Infrastrukturen vorhanden?
- momentaner „Versorgungsradius“, „Auftragslage“, „Nutzerzahl“?
- bereits angebaute Erweiterungen
- dringlichste Investitionsbedarfe (Geräte, Infrastruktur, Personal,...)

Die Vortragenden (Anwesenden) werden gebeten darauf einzugehen, inwieweit die eigene Omics-Plattform bereits „Service“ anbietet, eine Core-Unit-ähnliche Struktur aufweist oder dies zukünftig (ggbfs. im Rahmen der TRAINomics-Initiative) anstrebt. Auch „passive Aussagen“ hinsichtlich reiner „Versorgungsbedarfe“ von Standorten für einzelne Omics-Technologien sind willkommen und hilfreich.

*Der Aspekt „**Versorgungssicherheit**“ bezieht sich auf die mittelfristig angestrebte Versorgung der Gesamtregion Hannover-Braunschweig mit Omics-Technologien in entsprechend hochwertiger, international wettbewerbsfähiger Form.*

Hierbei steht primär der „Service-Charakter“ der Technologie-Bereitstellung im Vordergrund, unabhängig von den jeweiligen Forschungsinhalten.

2) Innovation

- inhaltliche Schwerpunktsetzung (des Standortes)
- besonderes Know-how (des Standortes)
- innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative

Die Vortragenden (Anwesenden) werden gebeten, auf ihre individuellen Forschungsinteressen, spezielle Stärken und inhaltliche Zielrichtungen einzugehen und Ideen zur Stärkung des Innovationsgrades von TRAINomics zu formulieren (gerne auch in noch nicht komplett ausgereifter Form).

*Der Aspekt „**Innovation**“ stellt für uns den Rahmen dar, innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative zusammen zu tragen. Ebenfalls unter diesen Aspekt fällt die Frage der „inhaltlichen Klammer“ über die beteiligten Standorte hinweg und möglicher inhaltlicher „Alleinstellungsmerkmale“ die im Rahmen der Initiative weiter ausgearbeitet werden können/sollten.*

Da eine wesentliche „Triebfeder“ von TRAINomics die Vorbereitung auf potentielle Ausschreibungen des Bundes zum Technologiesektor „Omics“ ist, wird es sehr darauf ankommen, wie der inhaltliche Bezug kenntlich gemacht wird und sich die Region über den reinen „Versorgungsaspekt“ hinaus gegenüber der nationalen Konkurrenz positioniert.

Bei allen diesbezüglichen Überlegungen sollte die grundsätzliche TRAIN-Ausrichtung (von der Grundlagenforschung in die klinische Anwendung) nicht „vergessen“ werden.

3) Konzeption

- Bildung von Omics-Subgruppen
- Entscheidungsfindung, Organisationsstruktur, Informationsaustausch
- Voraussetzungen für „echte“ Zusammenarbeit
- Transparenz und vertrauensvolle Zusammenarbeit versus Konkurrenz
- kurzfristige versus längerfristige Ziele (Strategiekonzept der nächsten 5-10 Jahre)
- (enge) inhaltliche „Klammer“ (überhaupt) möglich?

Die Vortragenden (Anwesenden) werden gebeten, aus ihrer persönlichen Sicht und den Erfordernissen ihres Standortes kritisch und konstruktiv zu den oben genannten Stichpunkten Bezug zu nehmen, sowie Chancen und Herausforderungen der Initiative aus ihrer Sicht zu thematisieren.

*Dem Aspekt „**Konzeption**“ gilt innerhalb unseres ersten Treffens eine hohe Bedeutung. Der hierzu von der Initiativgruppe erarbeitete Vorschlag soll im Rahmen des ersten Treffens diskutiert – und im Zuge der weiteren Entwicklung sukzessive ausgearbeitet werden.*

Die Bemühung der Initiativgruppe war hierbei, bereits eine „kritische Masse“ konzeptioneller Vorarbeiten einzubringen und offensichtliche Herausforderungen aufzuzeigen (um Treffen und Diskussion effizient zu gestalten). Gleichzeitig war und ist es unser Anliegen, alle Beteiligten zur offenen gestalterischen Mitarbeit anzuregen sowie ein hinreichendes Maß an Offenheit und Kooperationsbereitschaft aufzubringen und einzufordern (ohne die ein solches Vorhaben kaum in der erforderlichen Güte umsetzbar sein wird).

Ulrich Kalinke

(Einleitung Teil 1)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover



Niedersächsisches Ministerium
für Wissenschaft und Kultur



Translationsallianz in Niedersachsen

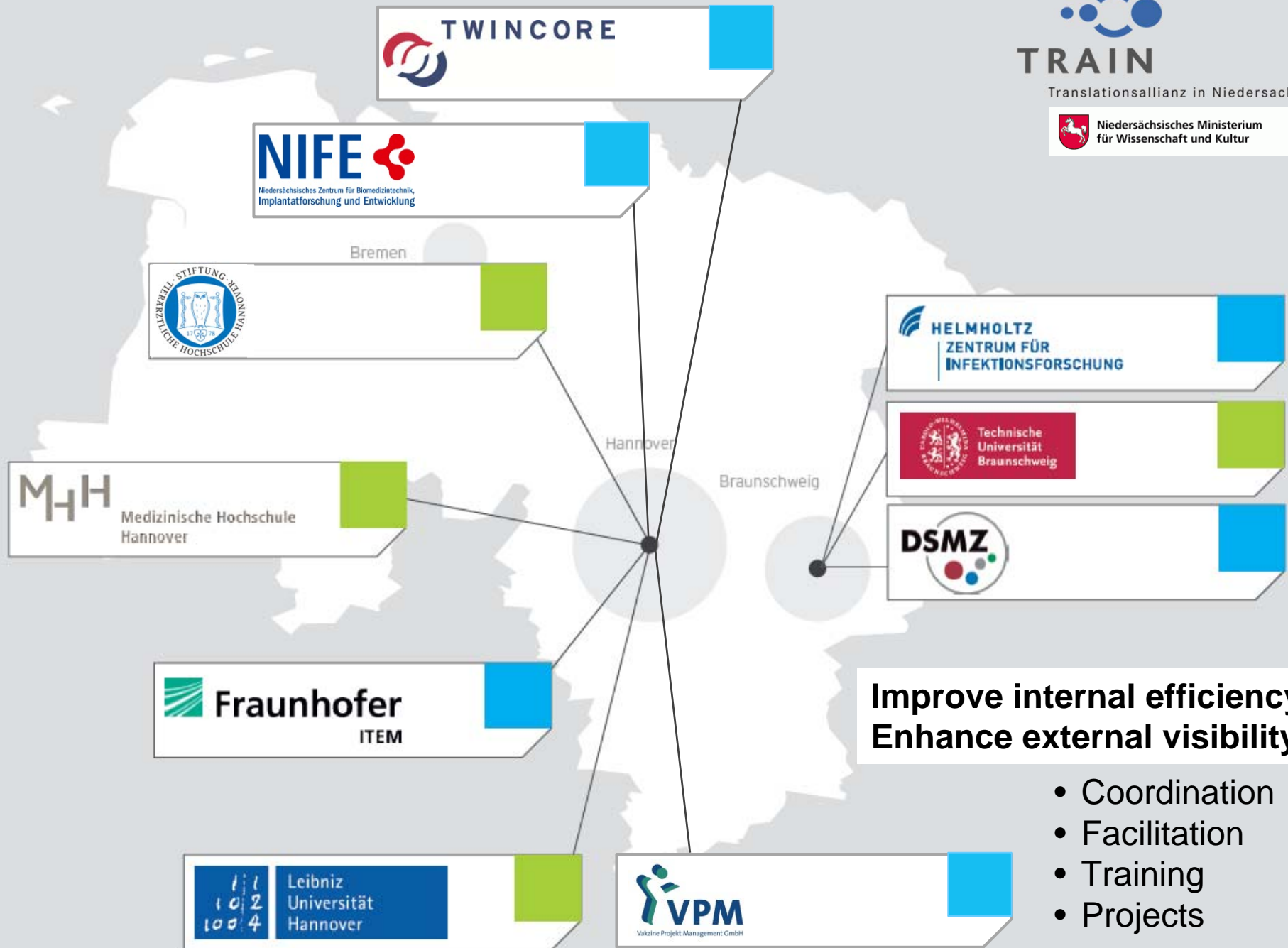


TRAIN – the Translational Alliance in Lower Saxony

TRAINomics Initiative

Prof. Dr. Ulrich Kalinke
Executive Director TWINCORE
Head of TRAIN office





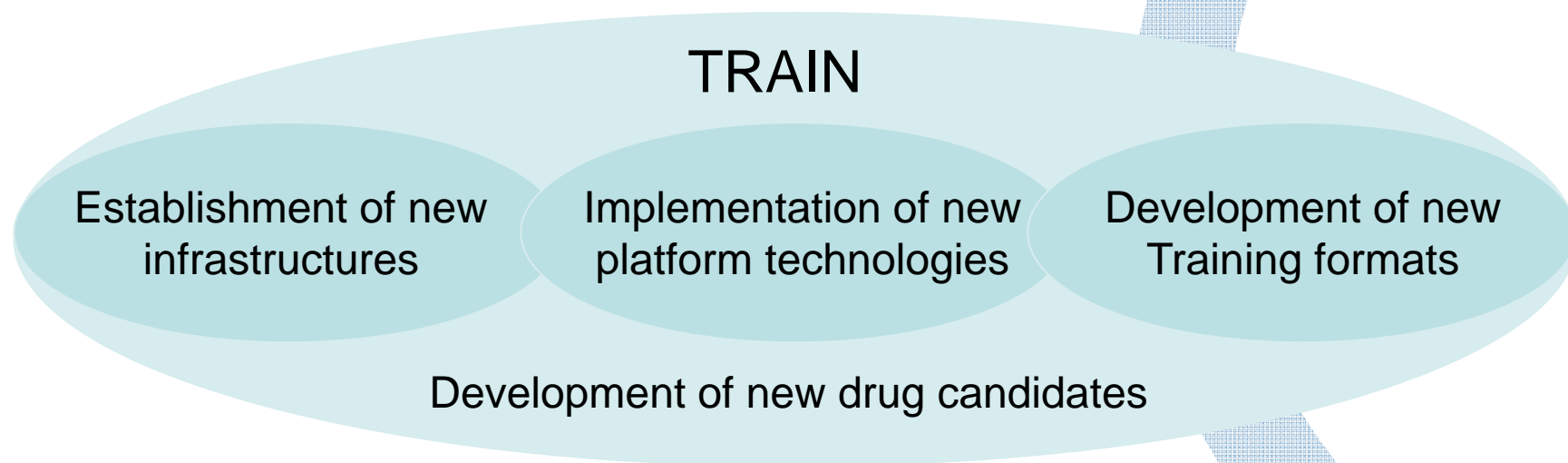
Improve internal efficiency
Enhance external visibility

- Coordination
- Facilitation
- Training
- Projects



Mission:

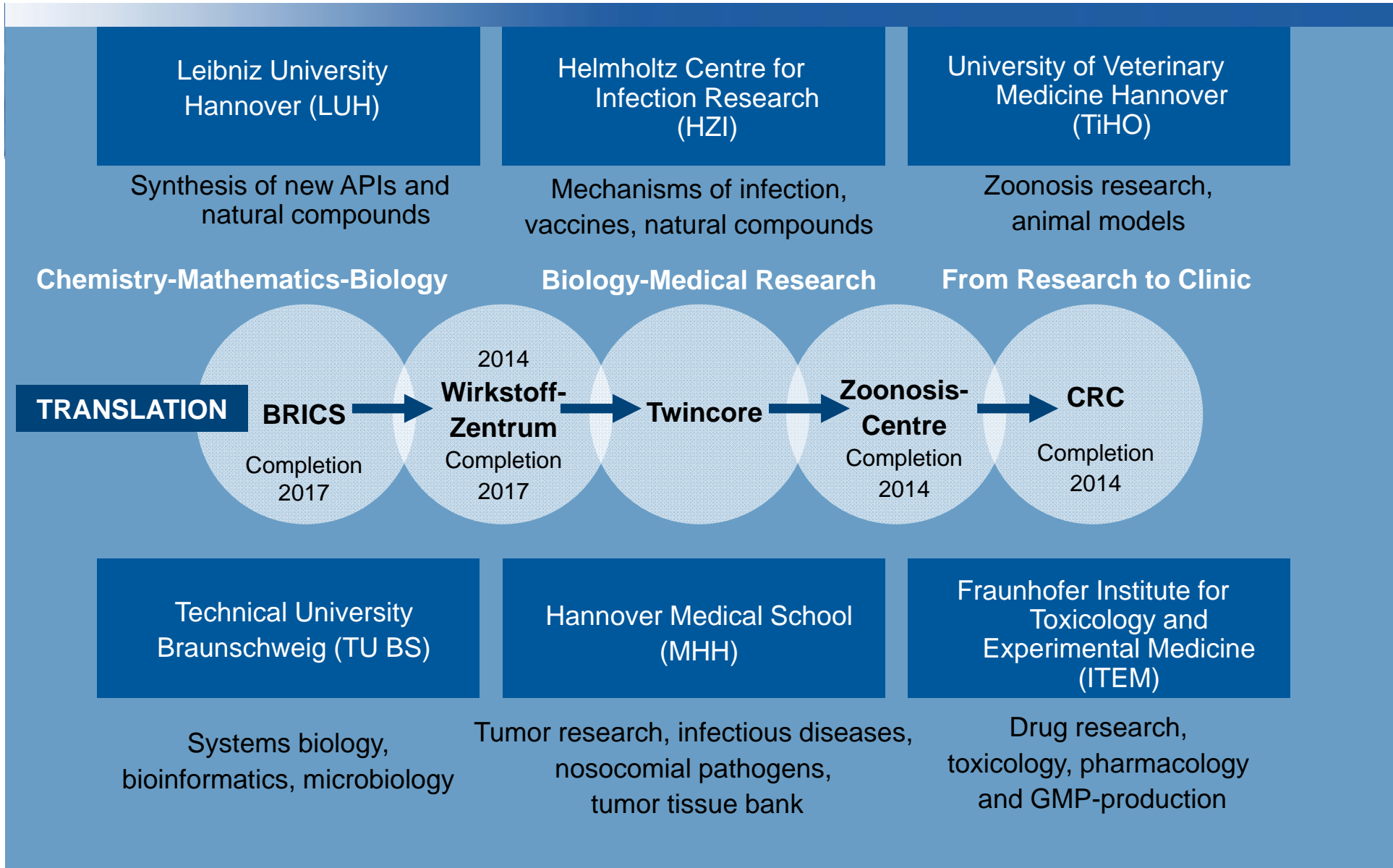
- TRAIN is the biomedical translational alliance of Lower Saxony
- TRAIN bundles know-how and infrastructure of universities and non-university research institutions to accelerate drug development (initiated 12/2008)



TRAIN partners co-operate to establish state-of-the-art facilities



Translationsallianz in Niedersachsen



Status of Current Infrastructure Projects



Translationalallianz in Niedersachsen



- **CRC** – Clinical Research Centre
Early clinical studies (ITEM, MHH, HZI), operative in 2014, official inauguration on **September 8, 2014**



- **BMWZ Biomolekulares Wirkstoffzentrum** – Connection of chemical biology and medicinal chemistry (LUH, HZI), development of new drug candidates, operative in 2014, official inauguration on **September 11, 2014**



- **RIZ** - Research Center for Emerging Infections and Zoonoses (TiHo)
Mechanisms of host pathogen interactions as well as new prevention strategies and therapies of zoonotic diseases, fully operative in 2015, official inauguration of the S2 laboratory building on **September 23, 2014**



- **BRICS** – Braunschweig Integrated Centre for Systems Biology (TU BS, HZI)
Biologists, mathematicians, IT scientists and engineers jointly develop complex biological processes, operative in ~2017; topping out ceremony on **September 9, 2014**

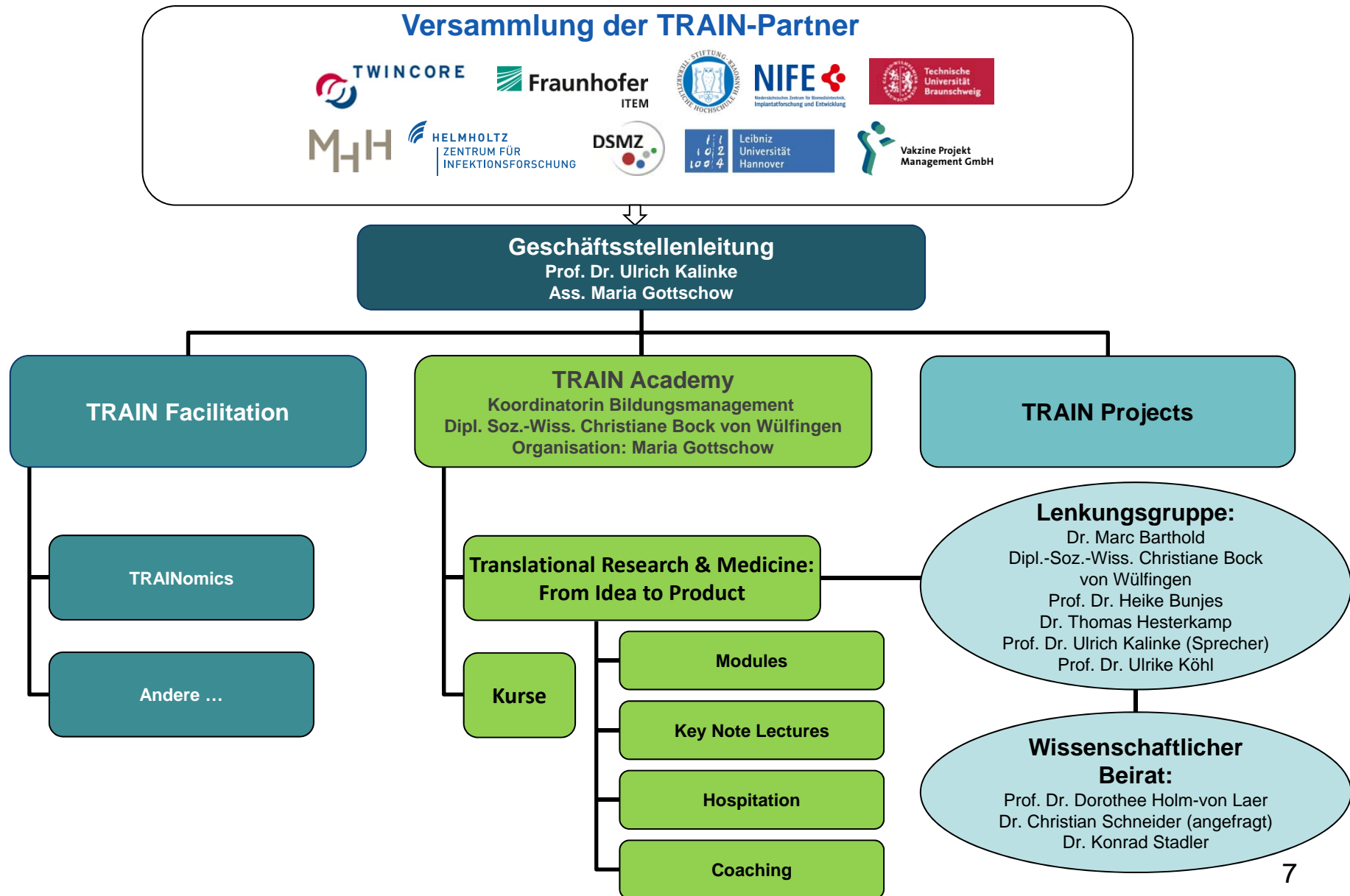


- **DRFG - Drug Research and Functional Genomics Center** - Using the natural product collection for the development of new drug candidates, operative in ~2017

Organigramm der Translationsallianz in Niedersachsen (TRAIN)



Organigramm der Translationsallianz in Niedersachsen (TRAIN)





Niedersächsisches Ministerium
für Wissenschaft und Kultur



Translationsallianz in Niedersachsen



Thank you for your attention!

TRAIN Office
c/o TWINCORE GmbH
Feodor-Lynen-Str. 7
30625 Hannover

Prof. Dr. Ulrich Kalinke
ulrich.kalinke@twincore.de

Maria Gottschow
train@twincore.de



Thomas Illig

(Einleitung Teil 2)

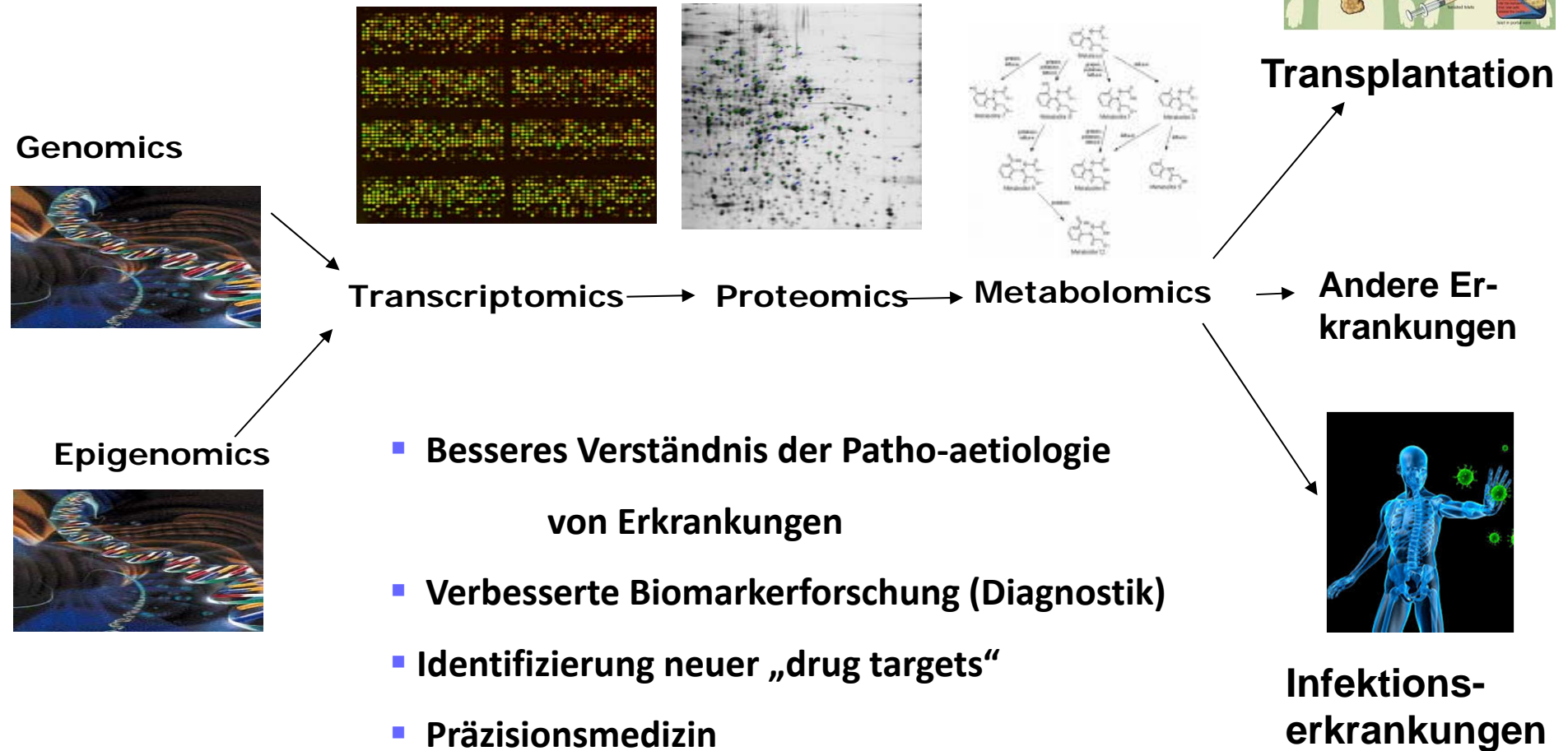


Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

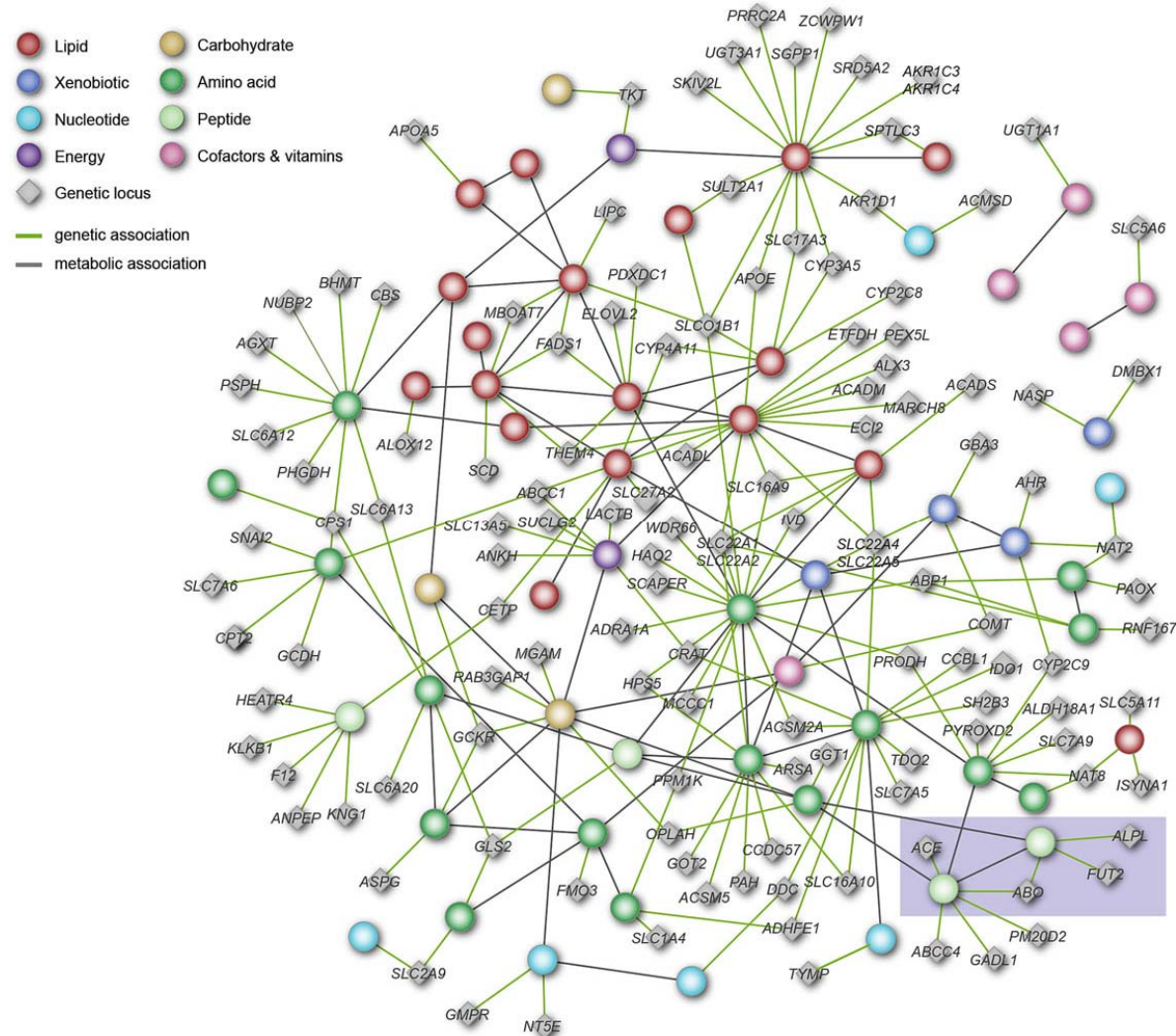
Omics und „big data“ Herausforderungen und Möglichkeiten



Eigene Vorstellung

- 20 Jahre Erfahrung im Bereich omics
- Betrieb einer Genomics Plattform am Helmholtz München
- Leiter Biobank MHH
- Stellvertretender Direktor Institut für Humangenetik (Head of Research)
- Mitglied Leitungsteam RCU-NGS der MHH

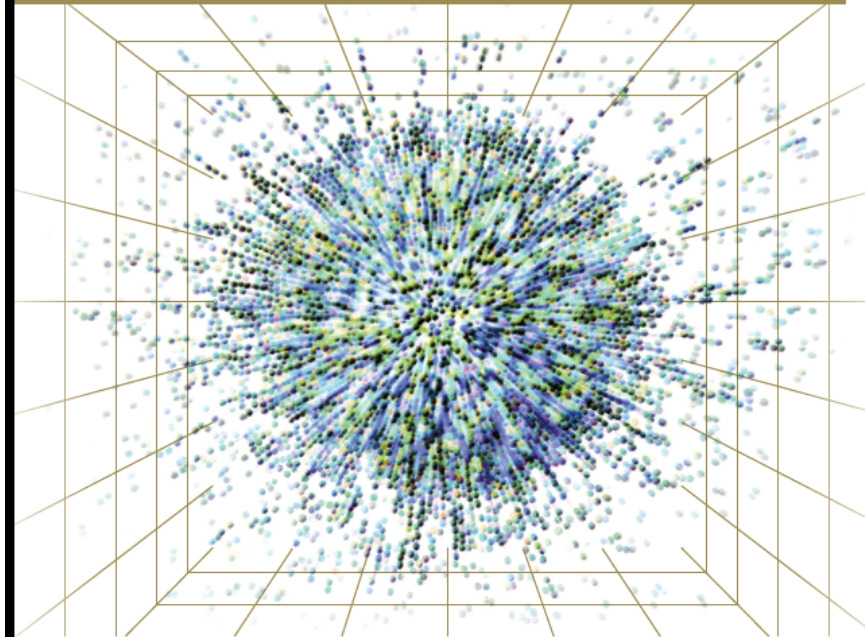
Bioinformatische Auswertung im Omics Bereich am Beispiel Genomics - Metabolomics





Leopoldina
Nationale Akademie
der Wissenschaften

Zukunftsreport Wissenschaft



Lebenswissenschaften im Umbruch

Herausforderungen der Omics-Technologien für
Deutschlands Infrastrukturen in Forschung und Lehre

Zusammenfassung und Empfehlungen

RCU
AGACGACGTAAGATGCA
CCTTGTCC TGCACAT
TAAGTGGA GCTCGGAT
GTCGTTAGAAATAATGTC
NextGenerationSequencing

M_HH

Medizinische Hochschule
Hannover

Empfehlungen der Leopoldina bzgl. Aufbau einer Omics und IT-Infrastruktur

- Strategischer Aufbau einer nationalen Omics- und IT-Infrastruktur notwendig
- Stärkere Verknüpfung der im Netzwerk teilnehmenden Universitäten und außeruniversitären Einrichtungen
- Massiver Ausbau der IT- und bioinformatischen Infrastruktur notwendig
- Finanzierung muss durch Bundesmittel gesichert werden
- Ausbildung sollte Schwerpunkte auf Omics-Technologien bereits in einer frühen Phase des Studiums setzen

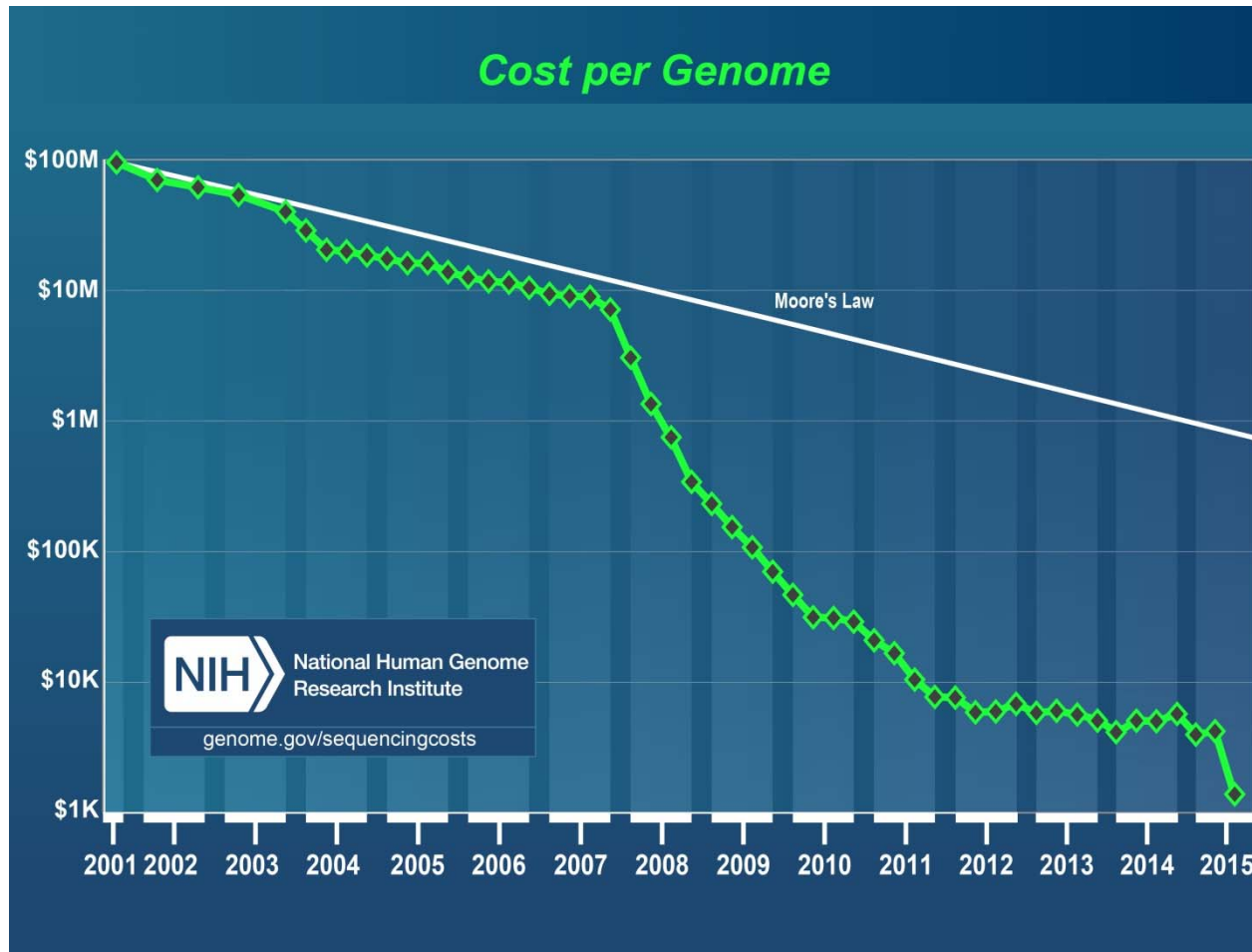
Geplante Umsetzung

- Arbeitsgruppe Infrastrukturen in den Lebenswissenschaften des Forums Gesundheitsforschung eingesetzt (Leitung: Kroemer MFT, Wess HGF, 12 Mitglieder u.a. Susanne Häußler HZI)
- Wo ist nationale Koordination erforderlich?
- Welche Aktivitäten gibt es hierzu bereits?
- Wie können Modelle für den Betrieb und die offene Nutzung von Infrastrukturen aussehen?

Geplante Umsetzung

- Wie können die vorhandenen Finanzierungsinstrumente für Infrastrukturen effizient genutzt werden?
- Wie könnten aber auch neue Finanzierungsmodelle aussehen? (Deutsche Omics-Exzellenz-Zentren)
- Wie ist die Ausbildungssituation in Deutschland?
- Welche Studiengängen und Curriculae existieren, welche fehlen?

Herausforderungen der Omics Technologien am Beispiel des Next Generation Sequencing (NGS)



Laborinfrastruktur

- Rapide Entwicklung der Sequenziertechniken und der damit verbundenen Infrastruktur
- Wahrscheinlich **zu teuer für eine Institution**, vor allem wenn man alle Omics Technologien und die damit verbundene Bioinformatik einbezieht
- **Vorschlag einer TRAINOMICs Initiative zur Bündelung der vorhandener Expertise und Infrastruktur im Bereich Labor und Bioinformatik**

Bioinformatik

- Produktion von riesigen Datenmengen im Labor wird immer einfacher und geht immer schneller
- Bioinformatik, IT und Statistische Analyse rückt immer mehr in den Mittelpunkt der medizinischen Forschung
- Diskussion in TrainOmics Folgemeeting

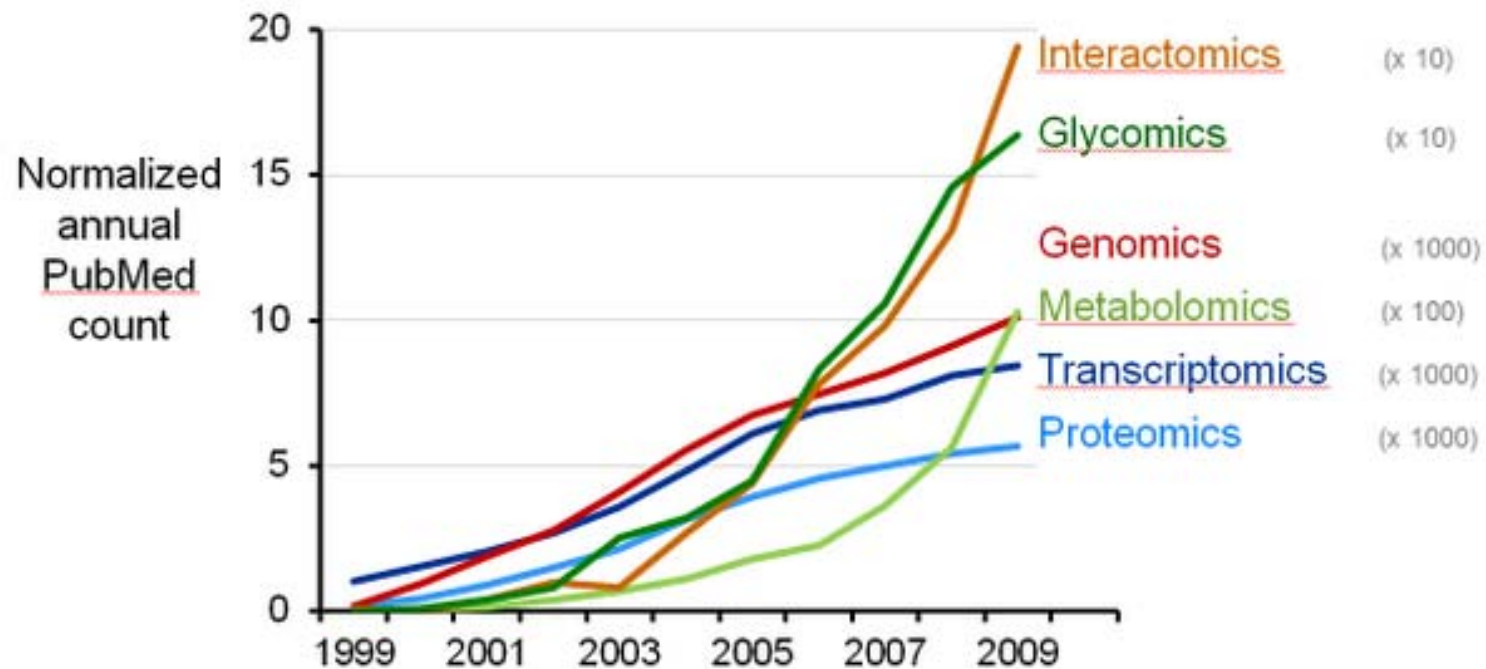
Vorteile

- TRAIN Institutionen entwickeln Kernexpertise in bestimmten (aber nicht allen) Omics-Techniken weiter (Schwerpunktsetzung)
- Ressourcenschonung pro Institution
- TRAIN stimmt Schwerpunkte aufeinander ab, so dass wenn möglich alle Omics Bereiche exzellent abgedeckt sind
- Gemeinsame Bewerbung der Region bei nationaler Omics Ausschreibung durch BMBF („Omics“-Exzellenzzentren)
- Jede TRAIN Institution kann Omics Expertise der gesamten TRAINOMICS Zentren bei Anträgen oder Projekten einbeziehen

Erstes Treffen der TrainOmics Spezialisten

- Ziele des ersten Treffens:
 - **Bestandsaufnahme Infrastrukturen und Expertisen (Labor und Bioinformatik)**
 - **Versorgungssicherheit**
 - **Innovation**
 - **Konzeption (Subgruppenbildung)**

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit



Oliver Dittrich-Breiholz
(Transcriptomics+Genomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

TRAINomics-Treffen (9. Mai 2016)

RCU 
Transcriptomics

RCU

A	G	A	C	G	A	C	G	T	A	G	A	G	A	T	G	C	A	
C	C	T	T	G	T	C	C	T	G	C	A	C	A	T				
T	A	A	G	T	C	G	A			G	C	T	C	G	G	A	T	
G	T	C	G	T	T	A	G	A	A	G	T	A	A	T	G	T	C	A

Next Generation Sequencing

RCU

A	G	A	C	G	A	C	G	T	A	G	A	G	A	T	G	C	A	
C	C	T	T	G	T	C	C	T	G	C	A	C	A	T				
T	A	A	G	T	C	G	A			G	C	T	C	G	G	A	T	
G	T	C	G	T	T	A	G	A	A	G	T	A	A	T	G	T	C	A

Nucleic Acids & Bioinformatics

Oliver Dittrich-Breiholz
9. Mai 2016

Research Core Unit Transcriptomics (RCUT)

- Startup at MHH in January 2012
- 15 years of experience with microarray-based mRNA expression analyses



Heike Schneider
Technician



Dr. rer. nat. Oliver Dittrich-Breiholz
Institute for Physiological Chemistry (OE4310)
Building I03, level 01, room 1300
Phone: +49 511 532 5814
E-mail: dittrich.oliver@mh-hannover.de

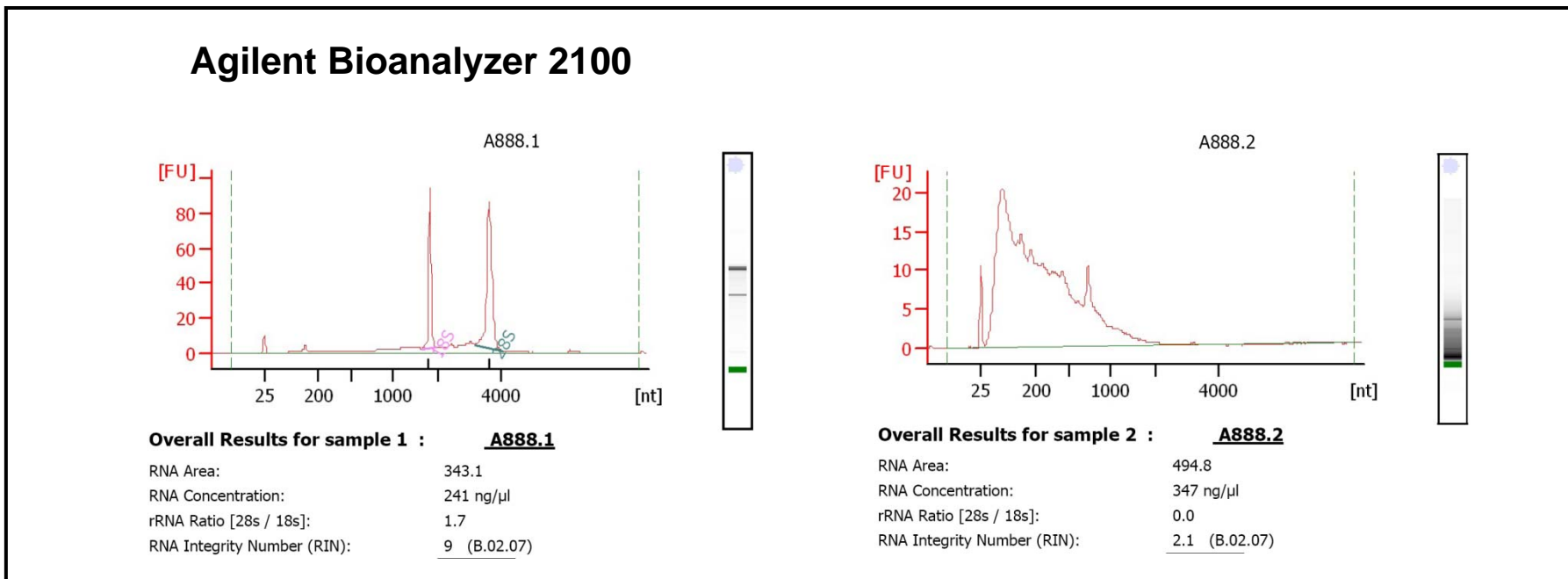


Torsten Glomb
Bioinformatician

Homepage: www.mh-hannover.de/Transcriptomics.html

RCUT (Service)

- RNA quality control

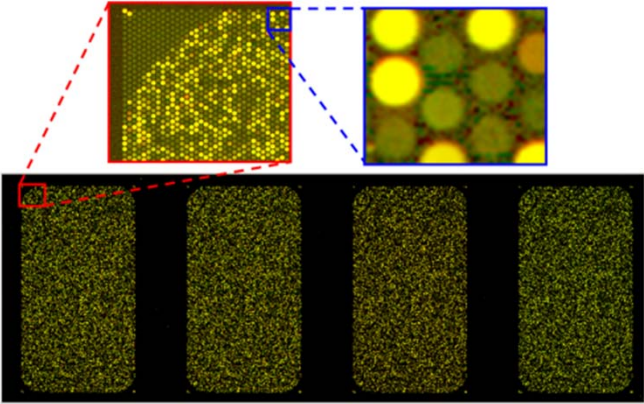


RCUT (Service)

- RNA quality control
- Microarray based mRNA expression analysis (standard microarrays)

Agilent Technologies

Whole Mouse Genome Oligo Microarray
4x44K



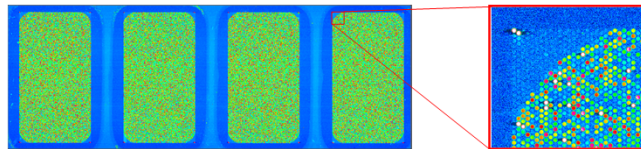
- 45000 Probes
- 28000 Transcripts
- Human, Mouse, Rat
- Various model organisms
- Various microarray formats
- Customized microarray formats

RCUT (Service)

- RNA quality control
- Microarray based mRNA expression analysis (standard microarrays)
- Microarray based mRNA expression analysis (improved designs)

Catalog Array 4x44k V2 (026652)

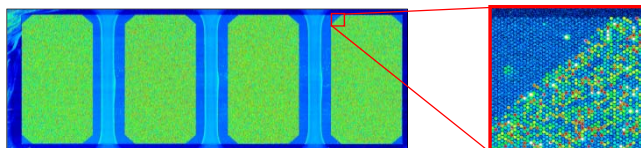
34127 non-control probes (33128*1 + 999*10)



340 €

054261On1M (066335)

34127 non-control probes (34127*5)



296 €

254 € (modified protocol!)

QM Microarrays

- Improved quantitative accuracy
- Less susceptible to hybridization artifacts
- Less susceptible to manufacturing artifacts
- Reduced costs

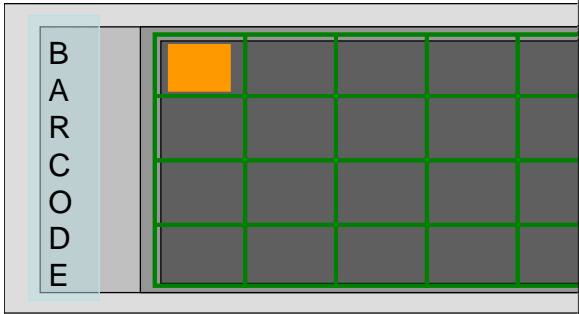
RCUT (Service)

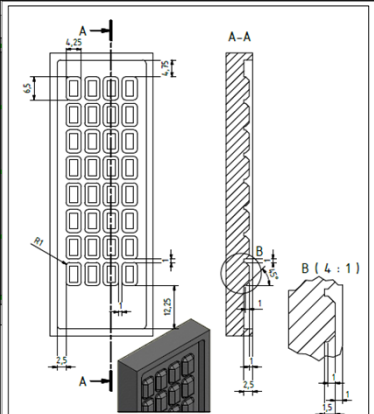
- RNA quality control
- Microarray based mRNA expression analysis (standard microarrays)
- Microarray based mRNA expression analysis (improved designs)

2) Innovation

- innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative

32-plex Microarrays





Das Foto	Überfläche	Maßstab	2:1 (4:1)	Menge	
Hersteller		Material	Material: PVC		
Datum	Neu	Benennung	Giesplatte_vers3		
Gezeichnet		Gezeichnet			
Geprüft		Geprüft			
M H H		Auftrag-Nr.	1/		
Forschungszentrum					
M H H					
Forschungszentrum					

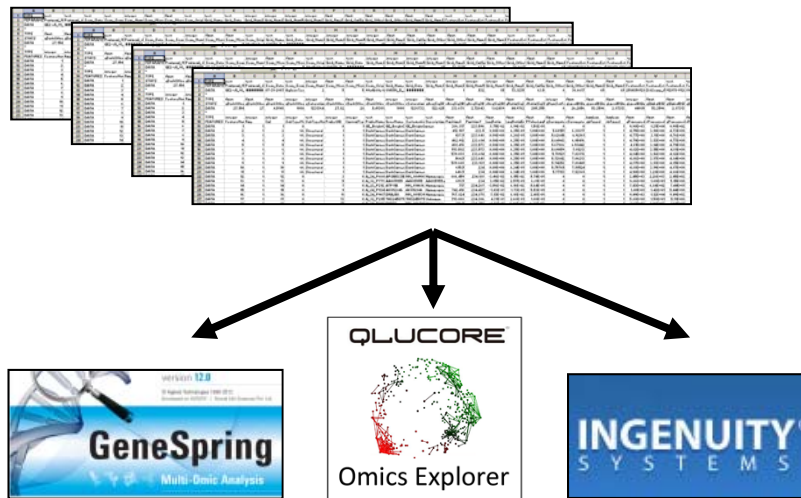
Stefan Haskamp (Master Biochemistry)
Prof. Dr. Christine Falk (Cooperation partner)
Dr. Frank Stahl (Cooperation partner)
Dipl. Ing. Jörg Viering (Research Devices)

- customized array design
- 2500 transcripts + 500 housekeepings
- on-chip quadruplicates
- 50,- Euro / biological sample
- 1600,- Euro / 32 biological samples

RCUT (Service)

- RNA quality control
- Microarray based mRNA expression analysis (standard microarrays)
- Microarray based mRNA expression analysis (improved designs)
- Data Analysis Solutions

RCUT-supported analysis programs

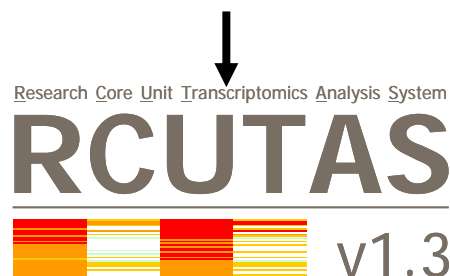
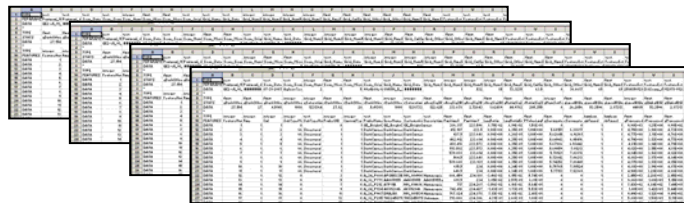


- Outlook scheduler
- Cost-efficient usage (20€/ h)
- Flexible use of State of the art programs
- Diverse analysis options
- Diverse visualization options

RCUT (Service)

- RNA quality control
- Microarray based mRNA expression analysis (standard microarrays)
- Microarray based mRNA expression analysis (improved designs)
- Data Analysis Solutions

RCUT Analysis System (RCUTAS)

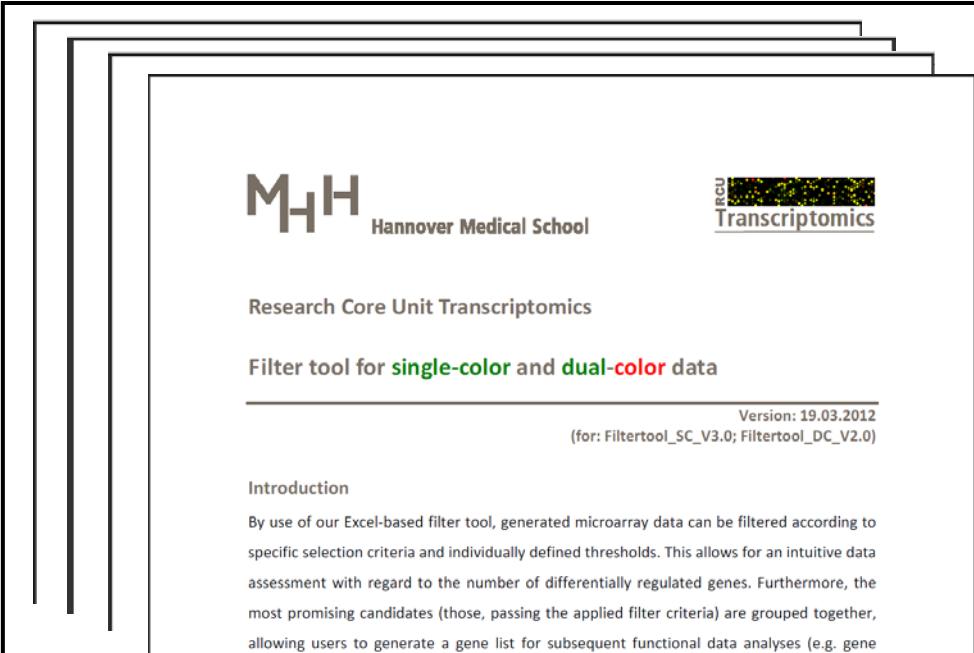


2) Innovation

- innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative
 - Flexible Handling of Raw Data
 - Normalization
 - Transformation
 - Annotation
 - Ratio definition
 - Filtering
 - (Simple) Statistics
 - Visualization (Heatmaps – Bargraphs)

RCUT (Service)

- RNA quality control
- Microarray based mRNA expression analysis (standard microarrays)
- Microarray based mRNA expression analysis (improved designs)
- Data Analysis Solutions
- General Support



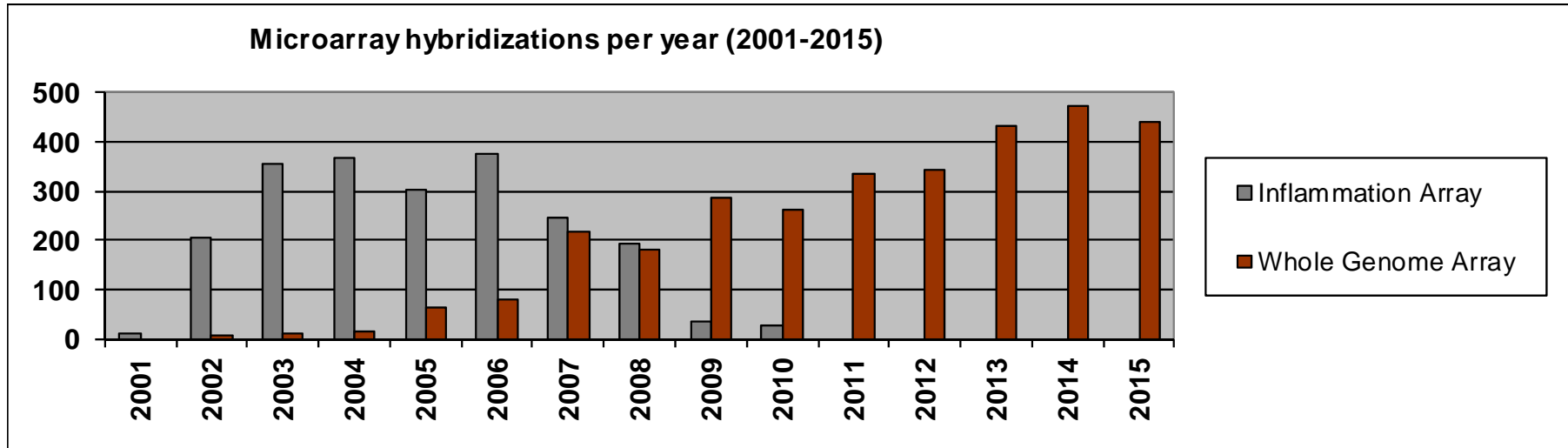
The screenshot shows the RCUT Filter tool interface. At the top left is the MHH Hannover Medical School logo. At the top right is the RCUT Transcriptomics logo, which includes a colorful microarray spot pattern. Below the logos, the text reads: "Research Core Unit Transcriptomics", "Filter tool for single-color and dual-color data", and "Version: 19.03.2012 (for: Filtertool_SC_V3.0; Filtertool_DC_V2.0)". An "Introduction" section follows, explaining that the tool is an Excel-based filter for microarray data, allowing for selection based on criteria and thresholds to identify differentially regulated genes.

- Manuals
- Workshops
- Advisory discussions
- Support (final visualizations)
- Support (methods texts)
- Support (proposals)

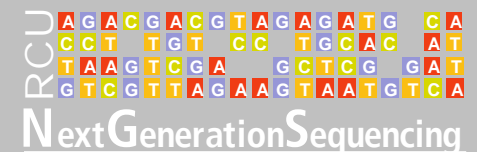
RCUT (Service)

2) Innovation

- innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative



Medizinische Hochschule
Hannover



RCUT (MHH-internal user: 103 AGs from 44 departments; January 2016)

Abteilung	Arbeitsgruppe	Microarrays / RNA QC	MHH angehörig
Biologie des Bewegungsapparates	AG Hoffmann	Microarrays	aktuell
Dermatologie	AG Werfel	Microarrays	aktuell
Experimentelle Hämatologie	AG Moritz	Microarrays	aktuell
	AG Schambach	Microarrays	aktuell
Funktionelle / Angewandte Anatomie	AG Bode	Microarrays	ehemals
	AG Cantz	Microarrays	aktuell
	AG Greten	Microarrays	aktuell
	AG Ott	Microarrays	aktuell
	AG Seidler (Daniela)	Microarrays	aktuell
	AG Sharma	Microarrays	aktuell
	AG Trautwein	Microarrays	ehemals
	AG Vogel	RNA QC	aktuell
	AG von Hahn	Microarrays	aktuell
	AG Wirth	Microarrays	aktuell
Gastroenterologie	AG Woller	Microarrays	aktuell
	AG Dörk-Bousset	RNA QC	aktuell
	AG Hass	Microarrays	aktuell
	AG Scherr	Microarrays	aktuell
	AG Warnecke	RNA QC	aktuell
Hämатologie / Onkologie	AG Wissel	RNA QC	aktuell
	AG Schubert	Microarrays	aktuell
HNO Heilkunde	AG Weber	Microarrays	aktuell
	AG Bernhardt	Microarrays	aktuell
Humangenetik	AG Förster	Microarrays	aktuell
	AG Krüger	RNA QC	aktuell
	AG Pabst	Microarrays	ehemals
Immunologie	AG Prinz	Microarrays	aktuell
	AG Heiken	Microarrays	ehemals
	AG Jacobs	Microarrays	aktuell
	AG Meyer-Olson	Microarrays	aktuell
Immunologie / Rheumatologie	AG Witte	Microarrays	aktuell
	AG Bavendiek	Microarrays	aktuell
	AG Schieffer	Microarrays	ehemals
Kardiologie	AG Naujok	Microarrays	aktuell
Klinische Biochemie	AG Brand	Microarrays	aktuell
Klinische Chemie	AG Lee	Microarrays	aktuell
	AG Hilfiker-Kleiner	Microarrays	aktuell
Kardiologie / Angiologie	AG Sedding	Microarrays	aktuell
	AG Tongers	Microarrays	aktuell
	AG Wollert	Microarrays	aktuell
Klinische Psychiatrie	AG Frieling	Microarrays	aktuell
	AG Gruh	Microarrays	aktuell
LEBAO	AG Martin	Microarrays	aktuell
	AG Olmer	Microarrays	aktuell
	AG Zweigerdt	Microarrays	aktuell
	AG Bange	RNA QC	aktuell
Mikrobiologie	AG Hornef	Microarrays	aktuell
	AG Josenhans	Microarrays	aktuell
	AG Kios	Microarrays	aktuell
MKG Chirurgie	AG Kampmann	RNA QC	aktuell
Molekularbiologie	AG Gossler	Microarrays	aktuell
	AG Kispert	Microarrays	aktuell

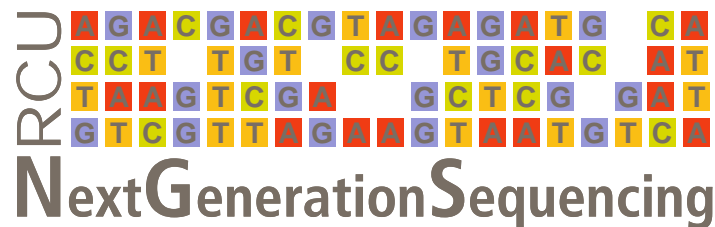
Abteilung	Arbeitsgruppe	Microarrays / RNA QC	MHH angehörig
Mol. und Translationale Therapiestrategie	AG Thum	Microarrays	aktuell
	AG Meißner	Microarrays	aktuell
Molekular-/Zellphysiologie	AG Dumler	Microarrays	aktuell
	AG Einecke	RNA QC	aktuell
	AG Haller	Microarrays	aktuell
	AG Limbourg	Microarrays	aktuell
	AG Schiffer	Microarrays	aktuell
Nephrologie	AG Schmitt	RNA QC	aktuell
	AG Claus	Microarrays	aktuell
Neuroanatomie	AG Petri	RNA QC	aktuell
Neurologie	AG Stangel	Microarrays	aktuell
	AG Länger	RNA QC	aktuell
Pathologie	AG Vieten	Microarrays	aktuell
Pädiatrische Chirurgie	AG Klein	Microarrays	ehemals
	AG Klusmann	RNA QC	aktuell
Pädiatrische Hämatologie / Onkologie	AG Reinhardt	Microarrays	aktuell
	AG Welte	Microarrays	aktuell
	AG Hansmann	RNA QC	aktuell
Pädiatrische Kardiologie	AG Hansen	Microarrays	aktuell
Pädiatrische Pneumologie	AG Pessler	RNA QC	aktuell
	AG Kloth	Microarrays	aktuell
Pharmakologie	AG Kracht	Microarrays	ehemals
	AG Neumann	Microarrays	aktuell
	AG Nourbakhsh	Microarrays	ehemals
	AG Seifert	Microarrays	aktuell
	AG Holtmann	Microarrays	aktuell
Physiologische Chemie	AG Kotlyarov/Gaestel	Microarrays	aktuell
	AG Niedenthal	Microarrays	aktuell
	AG Scheibe	Microarrays	aktuell
	AG Tamura	Microarrays	aktuell
	AG Windheim	Microarrays	aktuell
	AG Prasse	RNA QC	aktuell
Pneumologie	AG Pöpperl	Microarrays	aktuell
Strukturanalyse	AG Gerhard	Microarrays	aktuell
	AG Just	Microarrays	aktuell
Toxikologie	AG Eiz-Vesper	Microarrays	aktuell
	AG Figueiredo	Microarrays	aktuell
	AG Huyton	Microarrays	aktuell
	AG Müller	Microarrays	aktuell
Transfusionsmedizin	AG Serth	Microarrays	aktuell
	AG Wedekind	RNA QC	aktuell
Urologie	AG Heim	Microarrays	aktuell
Versuchstierkunde	AG Messerle	Microarrays	aktuell
	AG Schulz	Microarrays	aktuell
	AG Wölk	RNA QC	aktuell
	AG Schwitzer	Microarrays	aktuell
Viszeralchirurgie	AG Dillschneider	RNA QC	aktuell
	AG Eberhardt	Microarrays	aktuell
	AG Ballmaier	Microarrays	aktuell
Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde	AG Gerardy-Schahn	Microarrays	aktuell
Zellsorter	AG Bleich	Microarrays	aktuell
Zelluläre Chemie			
Zentrales Tierlabor			

New RCUT-Service: RNA-Sequencing

- RNA-Sequencing
 - mRNA-Seq
 - totalRNA-Seq
 - smallRNA-Seq
 - mRNA-Seq from low input amounts (1ng total RNA)
- RNA-Sequencing data analysis courses
 - 3 days, 8 participants, 3 courses per year

Research Core Unit Next Generation Sequencing (RCU NGS)

founded: 20th of March 2015



RCU NGS

- 5 Teilgebiete
 - Genomics, Transcriptomics, Epigenomics, Pathogenomics, Clinical Specimens
- 5 Mitglieder der Leitungsgruppe arbeitsteilig, verantwortungsteilig
 - L. Wiehlmann, O. Dittrich-Breiholz., H. Frieling, S. Suerbaum, T. Illig
- 1 Sprecher
 - O. Dittrich-Breiholz
- Arbeitsplan (2015-2016)
 - Infrastrukturrahmen
 - Abfrage zur Mitnutzung von Dezentralen Sequencern
 - Abfrage zum konkreten Bedarf an NGS-Datenauswertekursen
 - Planung und Durchführung von Bioinformatik-Kursen
 - Betreuung- und Durchführung von NGS-Projekten

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- primär Service oder Forschungsgruppe?
 - Service-Aspekt ist zentral (echte Core Unit – European Science Foundation!)
 - Ausrichtung primär am Bedarfsaufkommen innerhalb der MHH
 - Steuerung durch Leitungsgruppe
 - Qualitätssicherung
 - Integration und Bündelung von Expertise
 - Wachsende Expertise (Vermeidung von „Wissensdiffusion“)

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- Core-Unit Infrastrukturen vorhanden?
 - ja, angelehnt an RCU Transcriptomics und für RCU NGS weiter ausgebaut!

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- Core-Unit Infrastrukturen vorhanden?

The screenshot shows the website of the Medizinische Hochschule Hannover (MHH). The page is titled 'Projektanfragen' and is part of the 'Next Generation Sequencing' section. It contains a navigation menu, a sidebar with links like 'Home', 'Aktuelles', and 'Feedback', and a main content area with a description of the NGS facility, a list of seven questions for project inquiries, and a form with fields for Name, Abteilung, Email, and a dropdown for 'Applikationsbereich'. The 'Applikationsbereich' dropdown is currently set to 'Epigenomics'. A 'Projektbeschreibung:' text area and an 'Absenden' button are also visible.

MHH Medizinische Hochschule Hannover

Intranet Sitemap Impressum Datenschutzerklärung deutsch english

Überblick/Service | Studium | Forschung | Kliniken/Institute | Organisation | Karriere/Ausbildung | Presse | International

Startseite > Kliniken/Institute > Zentrale Einrichtungen > Zentrale Forschungseinrichtung Next Generation Sequencing > Projektanfragen_ab 23.3.2015

Next Generation Sequencing

Projektanfragen

Die Zentrale Forschungseinrichtung Next Generation Sequencing befindet sich zurzeit im Aufbau. Die Einrichtung soll MHH-Mitarbeiter(innen) bei Planung und Durchführung von NGS-Projekten mit Beratung, Sequenzierung (im Haus oder als Auftragsarbeit) und bei der bioinformatischen Auswertung unterstützen.

Sind Sie daran interessiert, ein Projekt unter Einsatz der NGS-Technologie durchzuführen, dann senden Sie uns gerne eine NGS-Projektanfrage.

Je nach NGS-Applikation und Forschungsgebiet, wird ein Mitglied der Leitungsgruppe ihre Anfrage betreuen und sich zur genaueren Projektbesprechung mit Ihnen in Verbindung setzen. Die unten einzugebende Projektbeschreibung sollte daher nicht ausführlich - sondern kurz und stichpunktartig sein (unter Bezug auf die folgenden Fragen 1 - 7).

1. Geht es in Ihrem Projekt um die Sequenzierung kompletter Genome, Transcriptome, Exome oder sind Sie an einzelnen Abschnitten (Loc, Gene, Promotoren) interessiert?
2. Steht die konkrete Umsetzung des NGS-Projektes unmittelbar bevor oder dient Ihre Anfrage der mittelfristigen Planung (z. B. für Antragstellung)?
3. Welcher (Modell-)Organismus soll untersucht werden?
4. Welchen Umfang wird die Studie in etwa haben (Probenanzahl)?
5. Liegen bereits Vorerfahrungen zu NGS-Applikationen in Ihrer Arbeitsgruppe vor?
6. Mit welcher Technologie-Plattform und bei welchem Anbieter wurden Ihre bisherigen NGS-Daten erhoben (die in Zusammenhang mit dieser Projektanfrage stehen oder ähnlich generiert werden sollen)?
7. In wessen Verantwortungsbereich (siehe RCU-NGS Leitungsgruppe) würden Sie Ihr Projekt am besten aufgehoben sehen?

Name:

Abteilung:

Email:

Applikationsbereich (Mehrfachauswahl möglich):

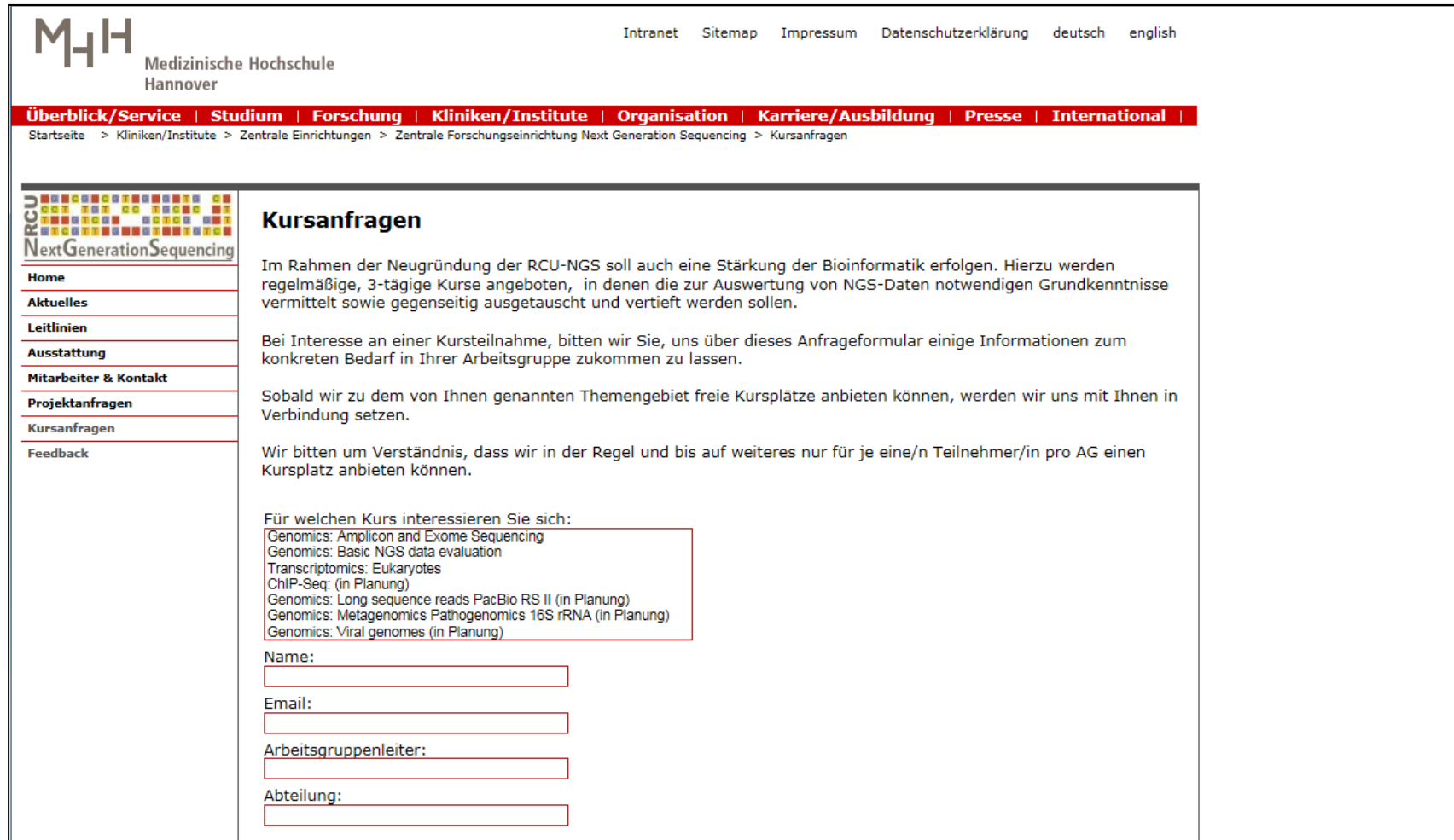
- Epigenomics
- Exom-Seq
- RNA-Seq
- Whole Genome Seq
- ChIP-Seq
- Amplikon-Seq

Projektbeschreibung:

Absenden

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- Core-Unit Infrastrukturen vorhanden?



The screenshot shows the website for the RCU NGS (Next Generation Sequencing) at the Medizinische Hochschule Hannover. The page is titled "Kursanfragen" (Course Inquiries). It provides information about the course structure and a form for inquiries.

MHH Medizinische Hochschule Hannover

Intranet | Sitemap | Impressum | Datenschutzerklärung | deutsch | english

Überblick/Service | Studium | Forschung | Kliniken/Institute | Organisation | Karriere/Ausbildung | Presse | International

Startseite > Kliniken/Institute > Zentrale Einrichtungen > Zentrale Forschungseinrichtung Next Generation Sequencing > Kursanfragen

RCU NextGenerationSequencing

- Home
- Aktuelles
- Leitlinien
- Ausstattung
- Mitarbeiter & Kontakt
- Projektanfragen
- Kursanfragen
- Feedback

Kursanfragen

Im Rahmen der Neugründung der RCU-NGS soll auch eine Stärkung der Bioinformatik erfolgen. Hierzu werden regelmäßige, 3-tägige Kurse angeboten, in denen die zur Auswertung von NGS-Daten notwendigen Grundkenntnisse vermittelt sowie gegenseitig ausgetauscht und vertieft werden sollen.

Bei Interesse an einer Kursteilnahme, bitten wir Sie, uns über dieses Anfrageformular einige Informationen zum konkreten Bedarf in Ihrer Arbeitsgruppe zukommen zu lassen.

Sobald wir zu dem von Ihnen genannten Themengebiet freie Kursplätze anbieten können, werden wir uns mit Ihnen in Verbindung setzen.

Wir bitten um Verständnis, dass wir in der Regel und bis auf weiteres nur für je eine/n Teilnehmer/in pro AG einen Kursplatz anbieten können.

Für welchen Kurs interessieren Sie sich:

- Genomics: Amplicon and Exome Sequencing
- Genomics: Basic NGS data evaluation
- Transcriptomics: Eukaryotes
- ChIP-Seq: (in Planung)
- Genomics: Long sequence reads PacBio RS II (in Planung)
- Genomics: Metagenomics Pathogenomics 16S rRNA (in Planung)
- Genomics: Viral genomes (in Planung)

Name:

Email:

Arbeitsgruppenleiter:

Abteilung:

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- Leistungsspektrum

Bibliothekerstellung:

Durchführung oder Unterstützung

Nukleinsäurefragmentierung
Größenselektion
DNA Bibliotheken
Target Enrichment
Bisulfitkonvertierung

Durchführung

mRNA Anreicherung
rRNA Depletion
RNA-basierte Bibliotheken

Spektrum der Technologien/Applikationen:

Gesamtgenom

Exom

Target Enrichment

Amplicon-Seq

ChIP-Seq

mRNA-Seq

RNA-Seq

RNA-Seq (low input amounts)

smallRNA-Seq

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- momentaner „Versorgungsradius“, „Auftragslage“, „Nutzerzahl“?

im ersten Jahr RCU NGS abgeschlossene Experimente (Genomics)

Durchführung oder Unterstützung:

18 (Säuger-) Genome

122 Exome

8 ChIP-Seq Experimente

220 Metagenome

1400 Amplicon-Seq. (mit durchschnittlich 10 PCR-Produkten/Seq.)

seit Januar 2016 durchgeführte Experimente (Transcriptomics)

Durchführung:

1 totalRNA-Seq-Experiment 3 Samples

1 mRNA-Seq-Experiment 6 Samples

1 mRNA-Seq-Experiment 12 Samples

1 mRNA-Seq-Experiment (low input amounts) 13 Samples

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- verfügbare Geräte

Geräteplattform	Gerätebezeichnung	Gerätetyp	Sequencer-Kategorie	Mitnutzung durch RCU-NGS (-)
Applied Biosystems	3130 XL Genetic Analyzer	Kapillar-Sequencer		20%
Applied Biosystems	3730 24 Kapillarsequencer			40%
LifeTechnologies	SOLiD 5500	NGS-Sequencer	"dezentrale" Sequencer	50%
LifeTechnologies	SOLiD 5500			50%
LifeTechnologies	IonTorrent (PGM)			30%
Roche	Roche 454 GS-FLX			40%
Roche	Roche 454 GS Junior			100%
Roche	Roche 454 GS Junior			50%
Pacific Biosciences	PacBio Sequel			
Illumina	NextSeq 500			20%
Illumina	MiSeq			5%
Illumina	MiSeq			70%
Illumina	MiSeq			?

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- bereits angebaute Erweiterungen

HiSeq 4000

Großgeräteantrag: 9.2.2016 an das MWK

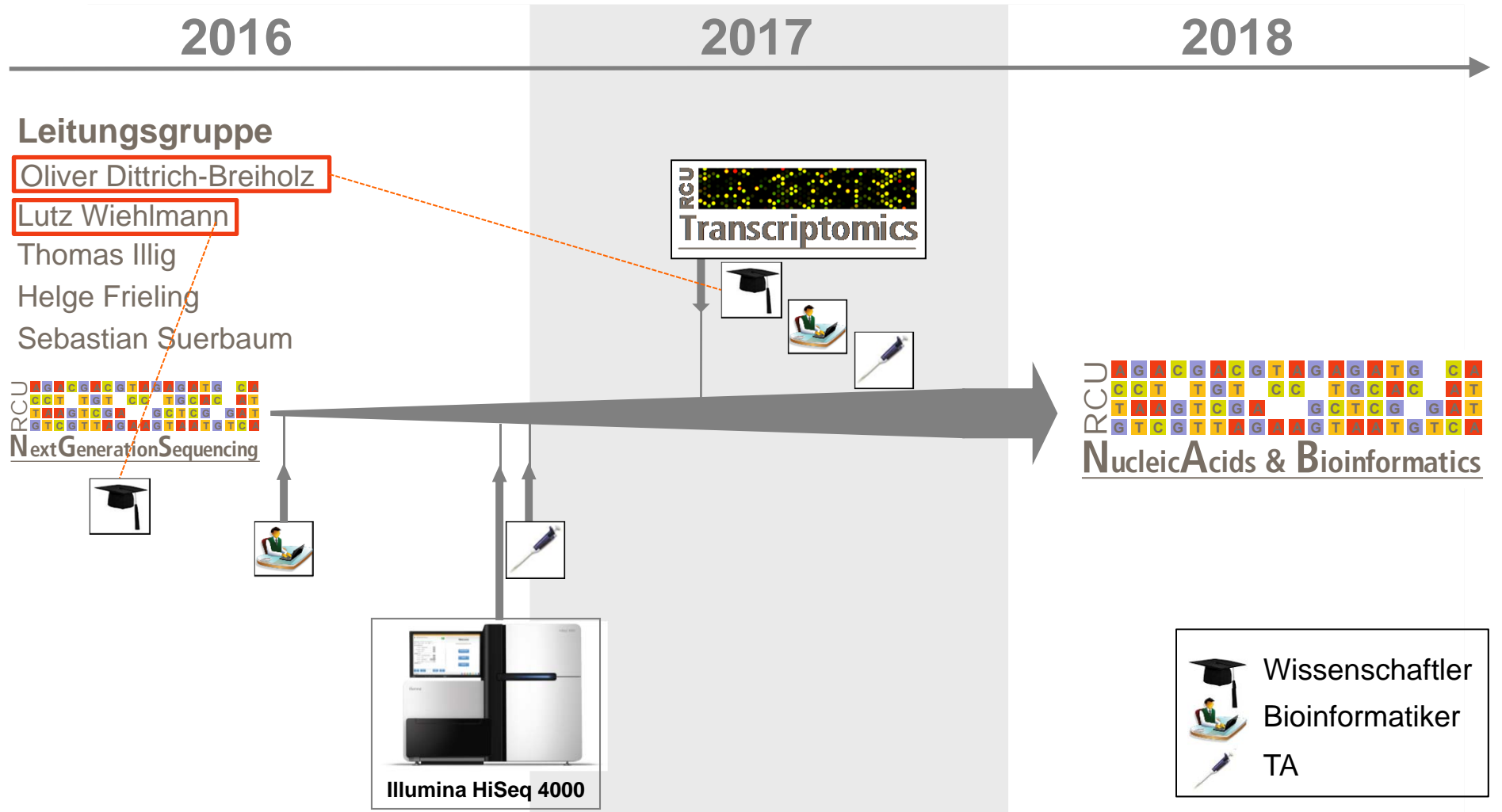


Table 1: Performance Parameters of the HiSeq 3000/4000 Systems.^a

	HiSeq 3000 System	HiSeq 4000 System
Number of Flow Cells per Run	1	1 or 2
Output ^b		
2 × 150 bp	630–750 Gb	1300–1500 Gb
2 × 75 bp	315–375 Gb	650–750 Gb
1 × 50 bp	105–125 Gb	215–250 Gb
Clusters Passing Filter (Single Reads)	2.1–2.5 billion	4.3–5 billion
Quality Scores	≥ 75% of bases above Q30 at 2 × 150 bp	≥ 75% of bases above Q30 at 2 × 150 bp
Daily Throughput	> 200 Gb	> 400 Gb
Run Time	< 1–3.5 days	< 1–3.5 days
Human Genomes per Run ^c	up to 6	up to 12
Exomes per Run ^d	up to 90	up to 180
Transcriptomes per Run ^e	up to 50	up to 100
Supported Library Prep Kits	DNA: TruSeq [®] Nano DNA, TruSeq PCR-Free DNA RNA: TruSeq RNA v2, TruSeq mRNA Stranded, TruSeq Total RNA Stranded, TruSeq RNA Access Exome: Nextera [®] Rapid Capture Exome	

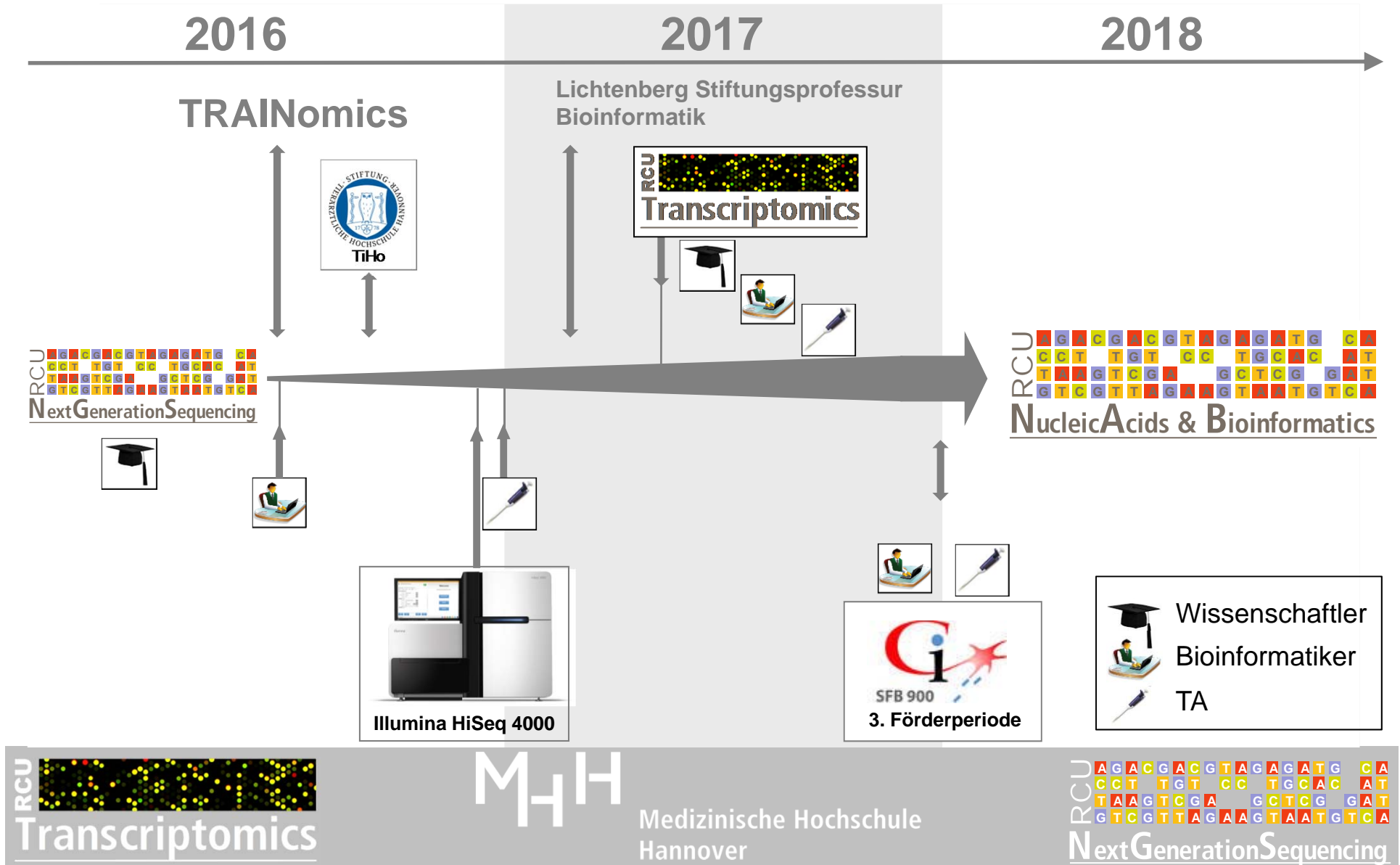
1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- Personal



1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

- Personal



2016

TRAINomics



RCU
Next Generation Sequencing



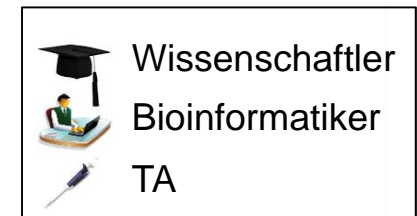
2017

Lichtenberg Stiftungsprofessur
Bioinformatik



2018

RCU
NucleicAcids & Bioinformatik



RCU
Transcriptomics

MHH

Medizinische Hochschule
Hannover

RCU
Next Generation Sequencing

1) Versorgungssicherheit (RCU NGS)

MHH-Arbeitsgruppen

Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung /-Entwicklung
 Finale inhaltliche Auswertung

AG Tümmler MHH

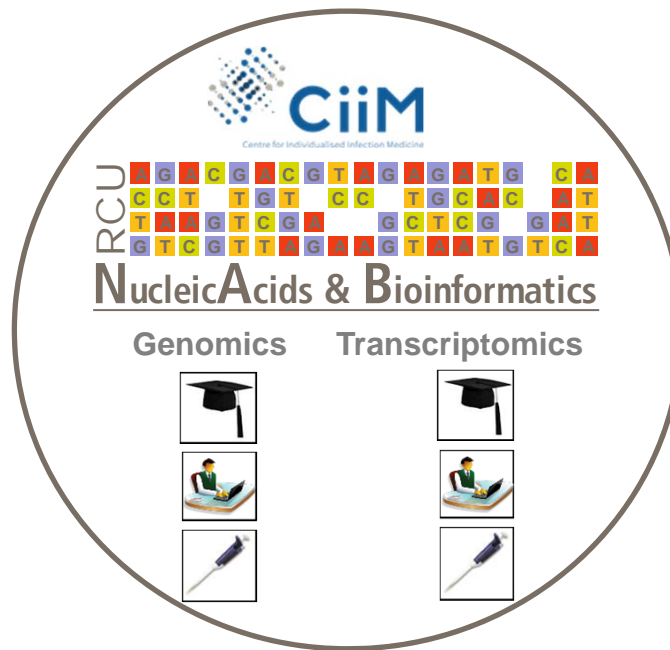
Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung /-Entwicklung
 Finale inhaltliche Auswertung

Humangenetik MHH

Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung /-Entwicklung
 Finale inhaltliche Auswertung
 TA „Backup“ (HiSeq4000)

SFB900 (Chronische Infektionen)

Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung / -Entwicklung
 Finale inhaltliche Auswertung



NucleicAcids & Bioinformatics

Genomics



Transcriptomics



Core Unit Service (100%)

Standard-Applikationen

Standard Pipelines

Technologische Infrastruktur

IT Infrastruktur

Standard-Software

Anträge

Beratung

Schulung

Methodenoptimierung / -Entwicklung

Lichtenberg Stiftungsprofessur Bioinformatik

Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung /-Entwicklung
 (Bioinformatik)

BREATH / DZL

Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung /-Entwicklung
 Finale inhaltliche Auswertung

REBIRTH

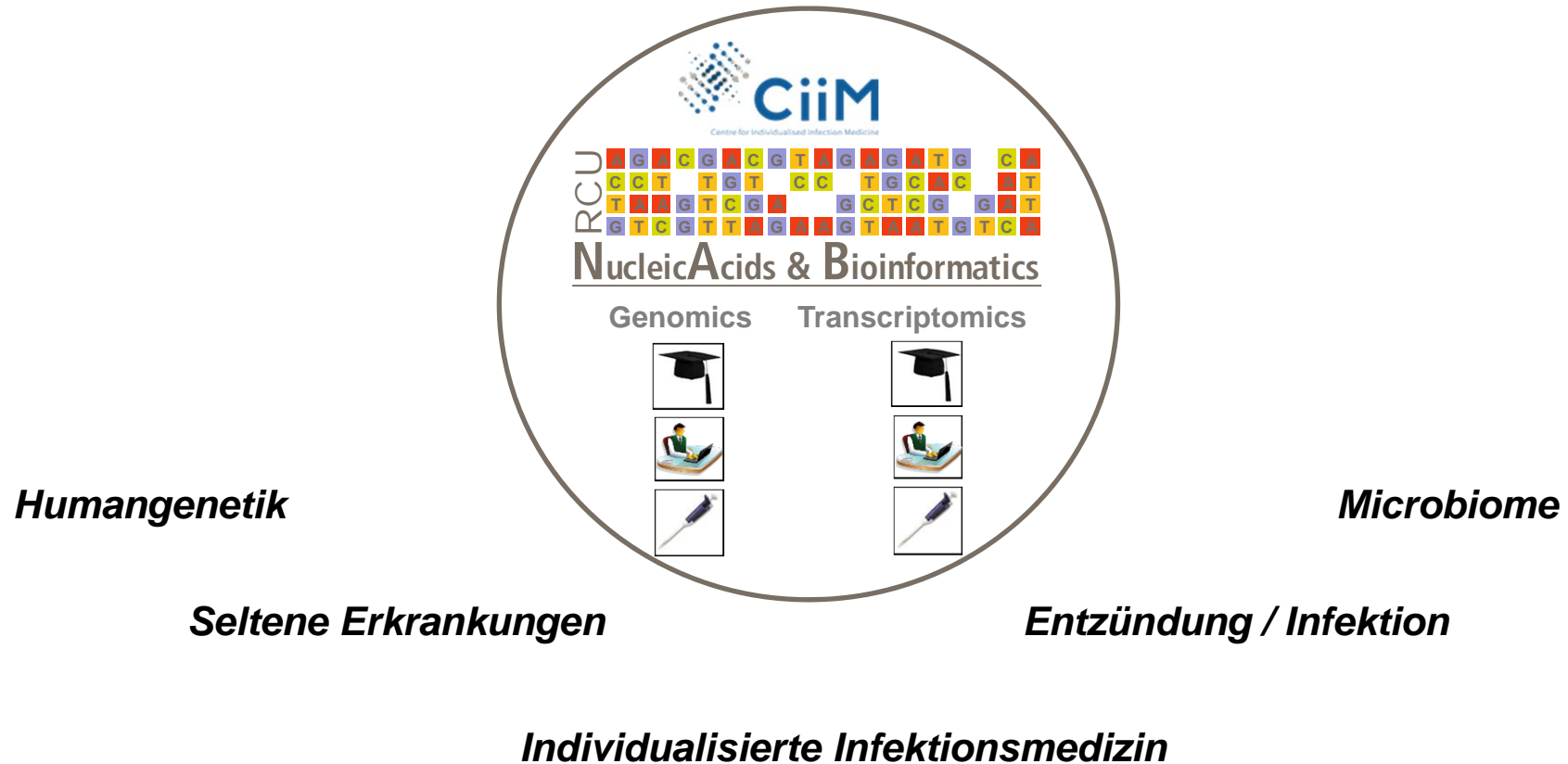
Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung /-Entwicklung
 Finale inhaltliche Auswertung

Fraunhofer ITEM

Wissenschaftliche Fragestellungen
 Methodenoptimierung /-Entwicklung
 Finale inhaltliche Auswertung

2) Innovation

- inhaltliche Schwerpunktsetzung (des Standortes)



- innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative
 - RCUTAS – TRAINomics Datenanalyse-Tool
 - 32-plex diagnostische Microarrays
 - TRAINomics Datenbank
 - NGS-basierte (schnelle) CF-Diagnostik

Monika Niehof (Transcriptomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

Fraunhofer ITEM / Transcriptomics

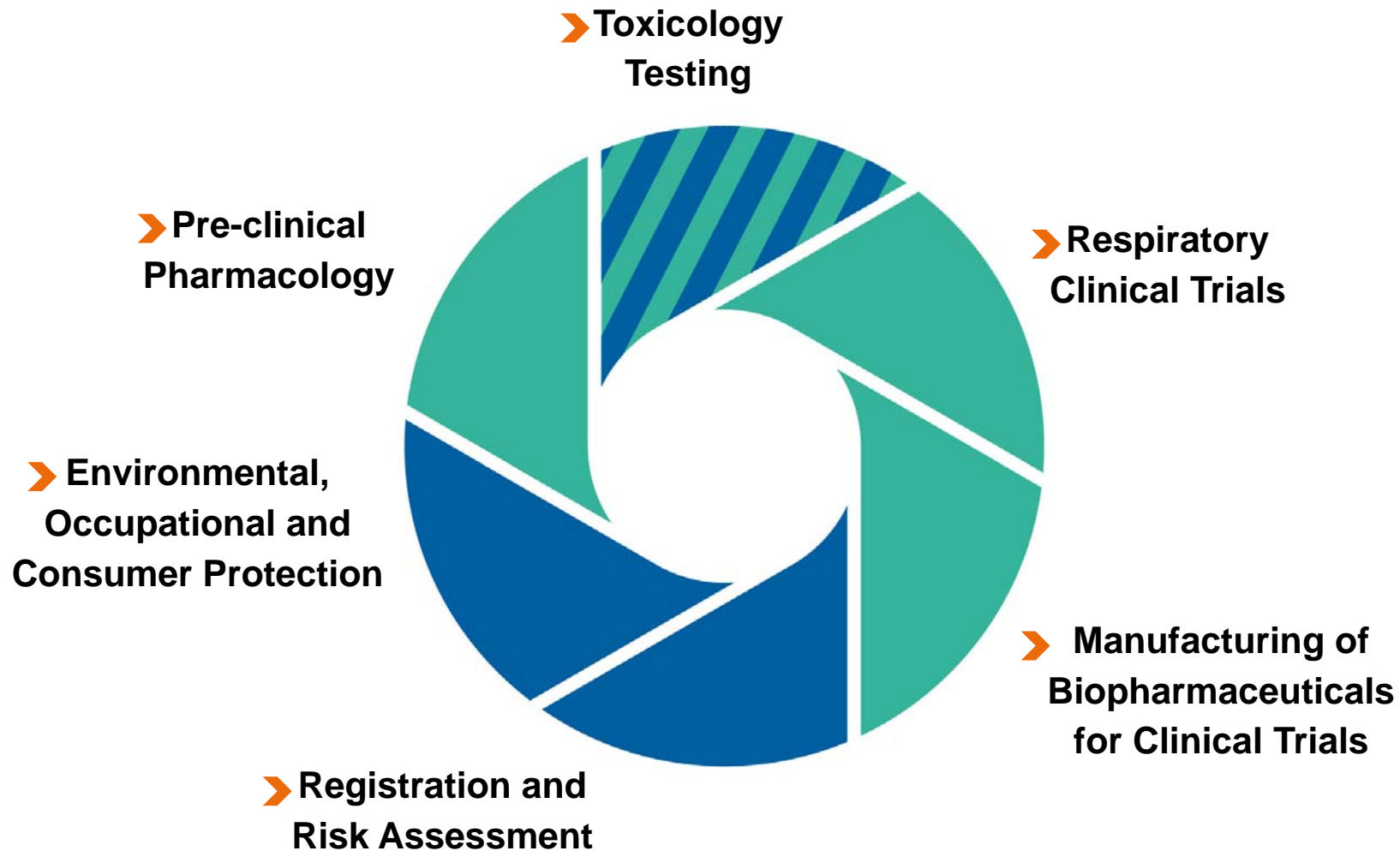
Fraunhofer ITEM
Department In Vitro and Mechanistic Toxicology (IVMT)
Team Molecular Toxicology and Pharmacology

Dr. Monika Niehof
Nikolai-Fuchs-Str. 1
30625 Hannover
Phone +49 511 5350-570
monika.niehof@item.fraunhofer.de

Institute facts and figures 2014

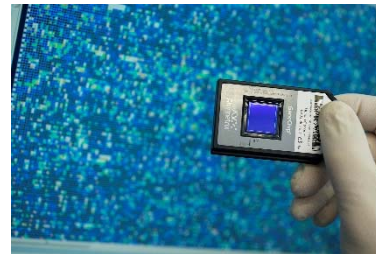


The six business units of the Fraunhofer ITEM



Transcriptomics mRNA / miRNA

- GeneChip® Arrays
Affymetrix
Gene Chip® Scanner 3000 7G



Affymetrix GeneChip® Arrays



■ mRNA

■ GeneChip® Human Transcriptome Array (HTA) 2.0

“Next generation expression profiling studies”: Detection of all known transcript isoforms
Including non-coding transcripts

Array content	Protein coding content	Non-protein coding content
Genes (transcript clusters)	44,699	22,829
Transcripts	245,349	40,914
Exons	560,472	109,930

■ Human Gene ST Arrays

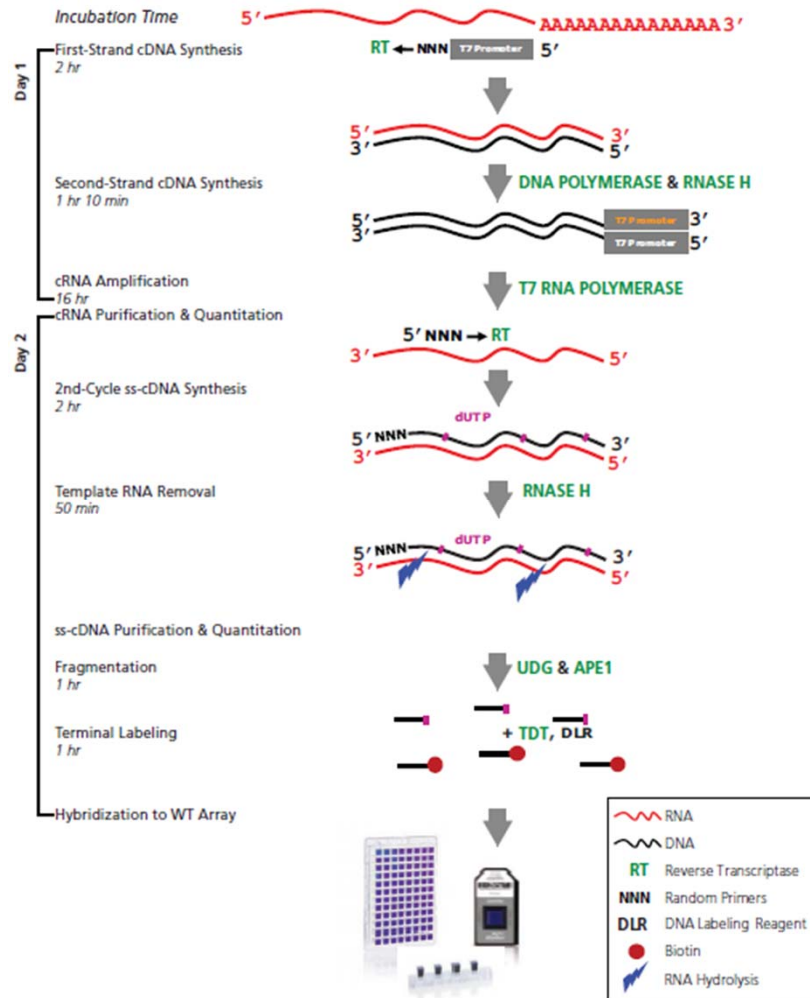
■ Human Genome U133 Plus2.0 Arrays

■ miRNA

■ GeneChip® miRNA 4.0 Array

+ Different other species

Assay Workflow HTA arrays



Equipment



Gene Chip®
Hybridization Oven 640



Gene Chip®
Fluidics Station 450



Gene Chip®
Scanner 3000 7G

Data output

CEL Files

Data Analysis

Affymetrix® Expression Console™ Software

ArrayTrack™ (FDA)

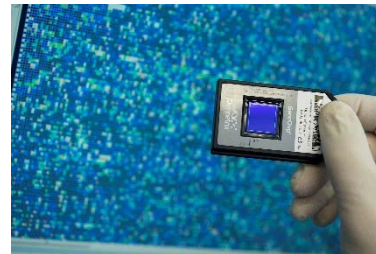
Ingenuity® Pathway Analysis

CLC Genomics Workbench

DNASTAR

Transcriptomics mRNA / miRNA

- GeneChip® Arrays
Affymetrix
Gene Chip® Scanner 3000 7G

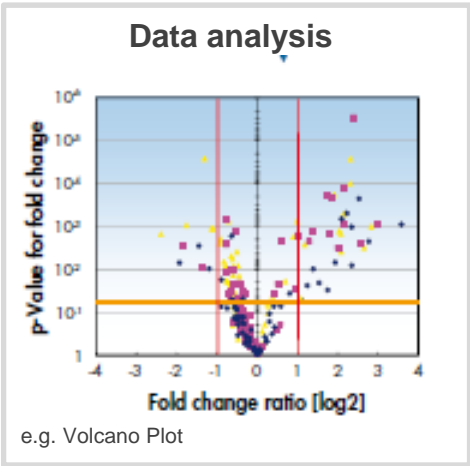
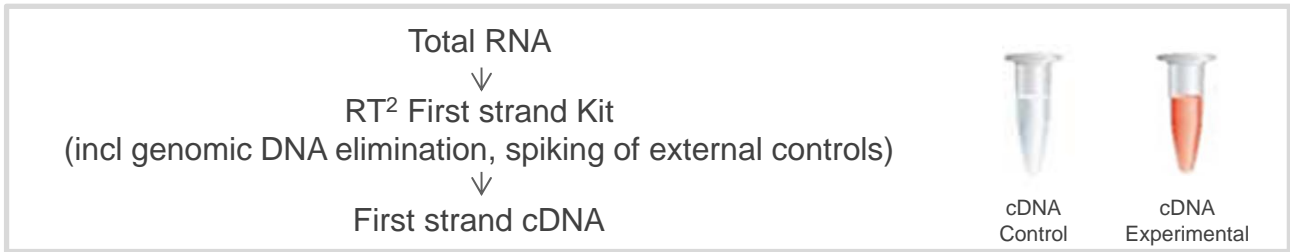


- qPCR Profiler Arrays
SABiosciences/Qiagen
Applied Biosystems® ViiA™7
384-well Format

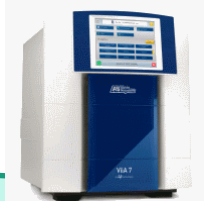
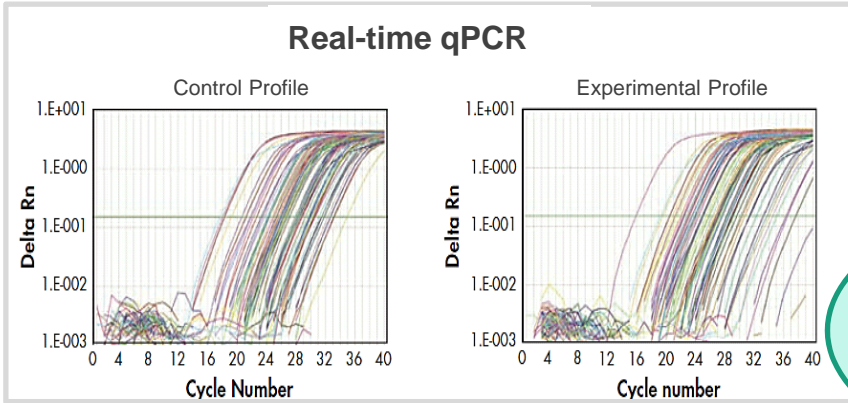


Workflow RT² Profiler Arrays

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
B	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
C	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
D	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
E	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
F	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72
G	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
H	HK1	HK2	HK3	HK4	HK5	GDC	ETC	ETC	ETC	PPC	PPC	PPC



SABiosciences PCR Array Data Analysis Web portal

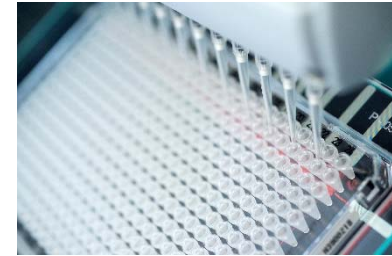


Equipment
 Real-Time PCR Systems,
 Applied Biosystems® ViiA™7
 -> 384-Well Format
 MIQE Guideline konform

www.SABiosciences.com/pcrarraydataanalysis.php

qPCR Arrays

SABiosciences/Qiagen



■ Gene or miRNA Expression

- RT² PCR Arrays -> **mRNA**
 - Cataloged (pathway specific)
 - Custom selected
- miScript miRNA PCR Arrays -> **miRNA**
 - Cataloged (pathway specific)
 - Custom selected

■ Epigenetic Analysis

- EpiTect Methyl qPCR Arrays -> **Methylation analysis**
 - Cataloged (pathway specific)
 - Custom selected
- EpiTect ChIP qPCR Arrays -> **Histone modification, Validation of ChIP-seq and ChIP-on-chip results**
 - Cataloged (pathway specific)
 - Custom selected

Projekte – Fokus Toxikologie Lunge/Leber



- Acronym: ExITox (Explain Inhalation Toxicity)
Development of an integrated testing strategy for the prediction of toxicity after repeated dose inhalation exposure, a proof of concept.
A collaborative project funded by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) in the funding program "e:ToP – Innovative Toxikologie zur Reduzierung von Tierversuchen"

ExITox

- *In vitro* / *ex vivo* Modelle der Leber zur Prädiktion der idiosynkratischen arzneimittelinduzierten Hepatotoxizität

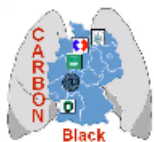
Projekte – Fokus Nanopartikel



GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

- **CarbonBlack** - Prädiktion humantoxikologischer Wirkung synthetischer Carbon Black Nanopartikel
- **CarboTox** - Entwicklung von Screening-Verfahren zur Untersuchung eines möglichen kanzerogenen Potentials von Carbon Nanotubes
- **Inhalt-90** - 90-Tage Inhalationstest mit CeO₂ bei der Ratte und anschließender Analyse von Genexpressionsprofilen zur frühen Erkennung toxischer/kanzerogener Wirkungen
- **CaNTser** - Erforschung des toxischen Potentials von Carbon NanoTubes nach Langzeitinhalation
- **NanoCOLT** - Langzeitwirkung modifizierter Carbon Black Nanopartikel auf gesunde und vorgeschädigte Lungen

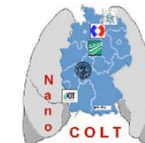


CarboTox

Inhalt-90



CaNTser



Bestandsaufnahme Fraunhofer ITEM

■ Primär Service oder Forschungsgruppe?

- Auftragsforschung als Dienstleistung + Arbeit in öffentlichen Projekten

■ Verfügbare Geräte

- Affymetrix Technologie (Gene Chip® Scanner 3000 7G, Gene Chip® Hybridization Oven 640, Gene Chip® Fluidics Station 450)
- Real-Time qPCR Systems
Applied Biosystems® 7500 und ViiA™7 (96- und 384-well Format)

■ Personal

- Aufgaben auch außerhalb Transcriptomics

■ Leistungsspektrum

- Durchführung von Affymetrixarrays (mRNA, miRNA)
- Bioinformatische Auswertungen nach Absprache
- qPCR Analysen, Pathway oder Customized Profiler Arrays (384-well Format, MIQE-conform)

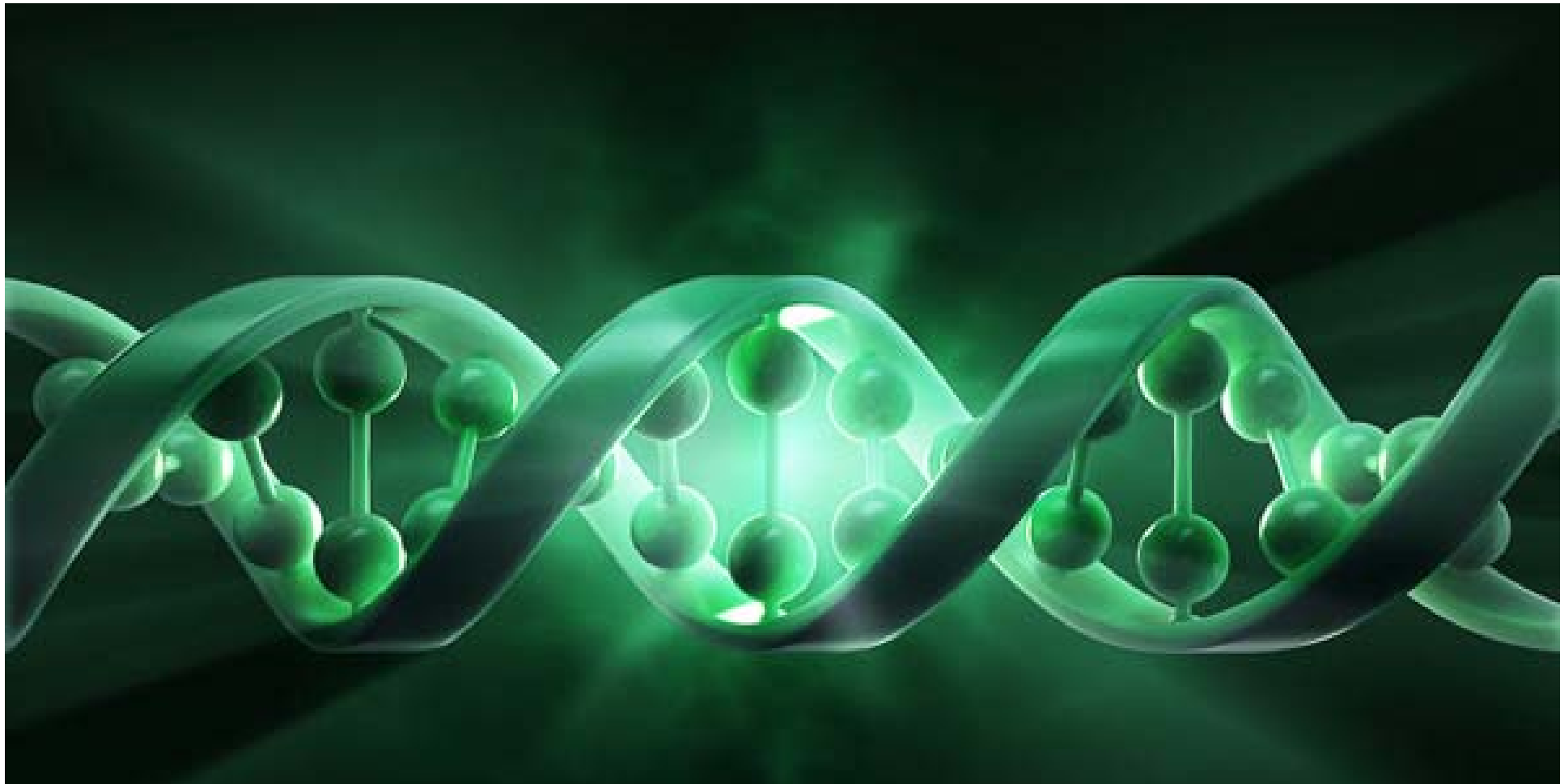
Robert Geffers
(Transcriptomics+Genomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover



TRAINomics Treffen Genome and Transcriptome Sequencing

Hannover, 09.05.2016

Robert Geffers, robert.geffers@helmholtz-hzi.de



Evolution of high-throughput sequencing platforms



First Generation :
SANGER Sequencing

NGS Synonym is : **High-throughput Sequencing (HTS)**

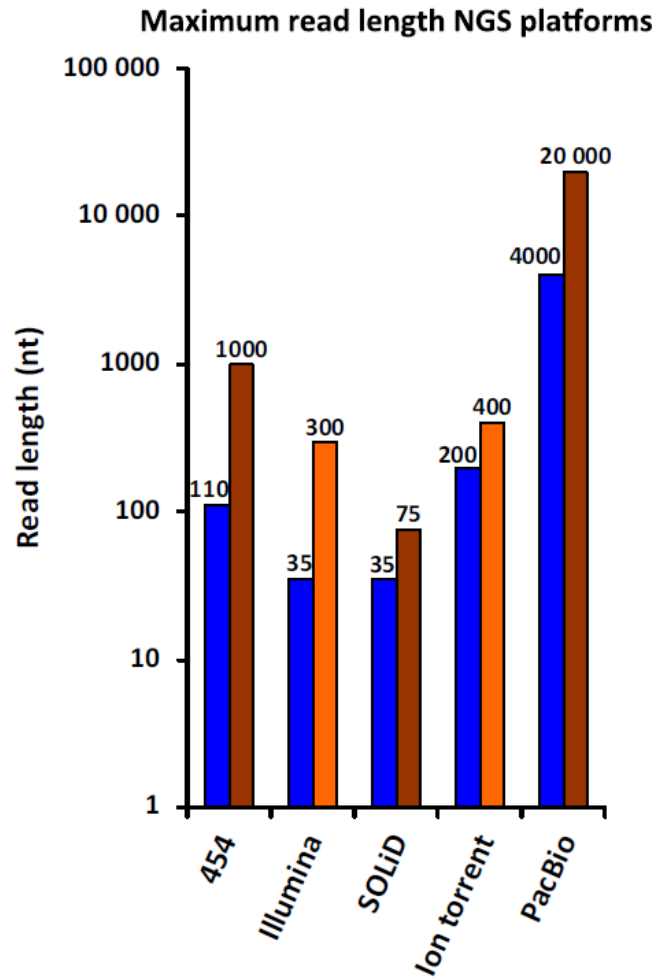


Second Generation :
NGS = Massively
Parallel Sequencing

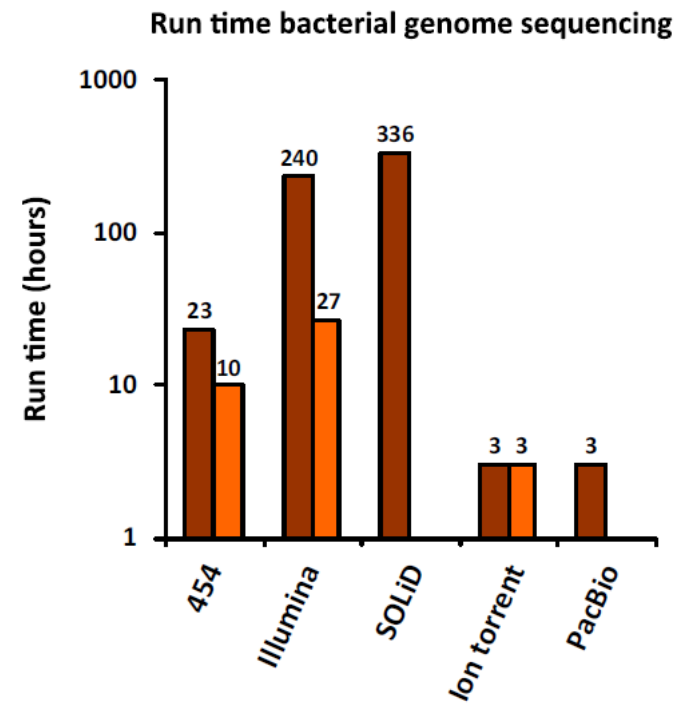


Third Generation :
NGS = HTS, Single
Molecule Sequencing

Evolution of high-throughput sequencing platforms

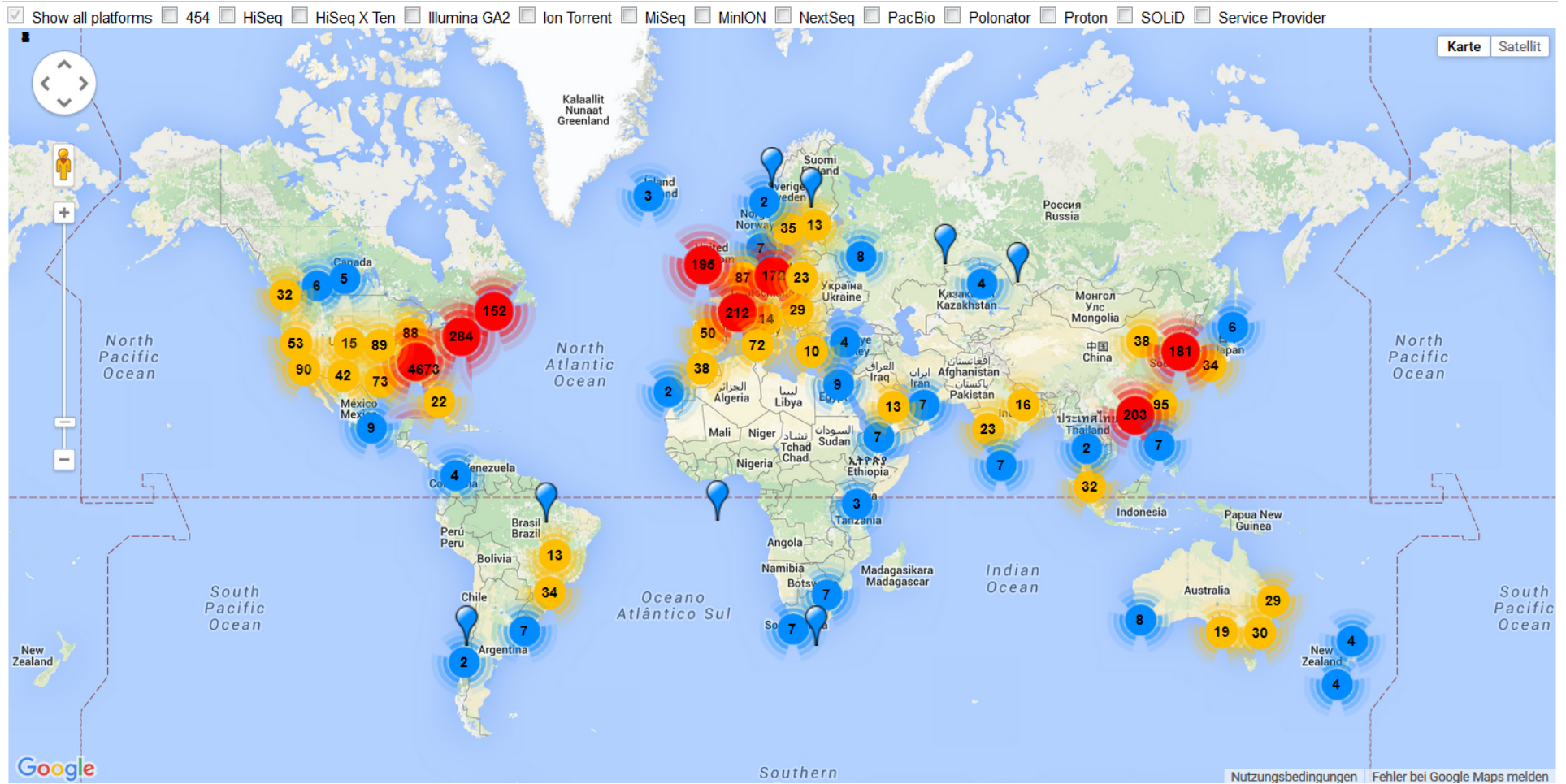


Evolution of high-throughput sequencing platforms

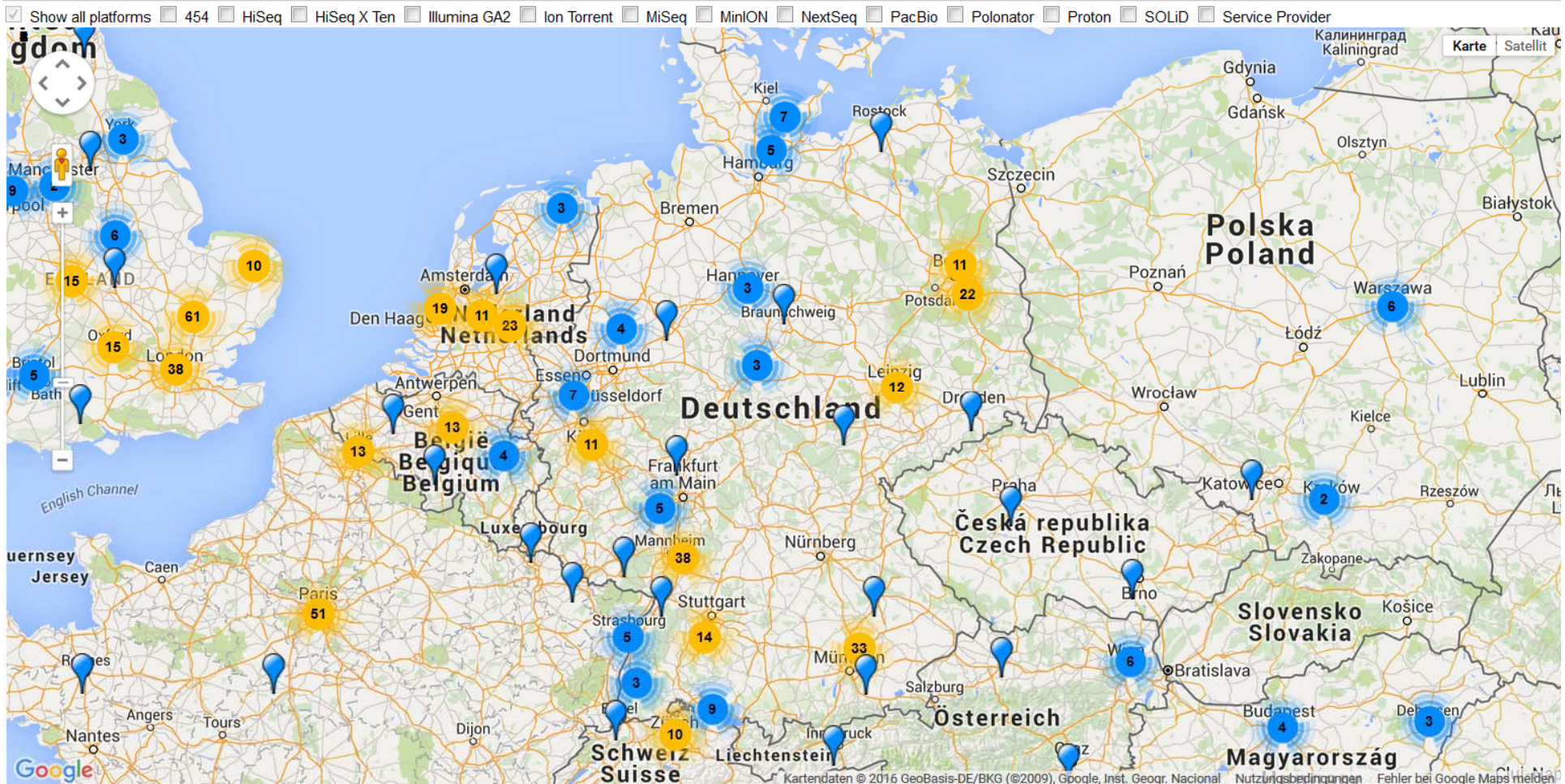


TRENDS in Genetics

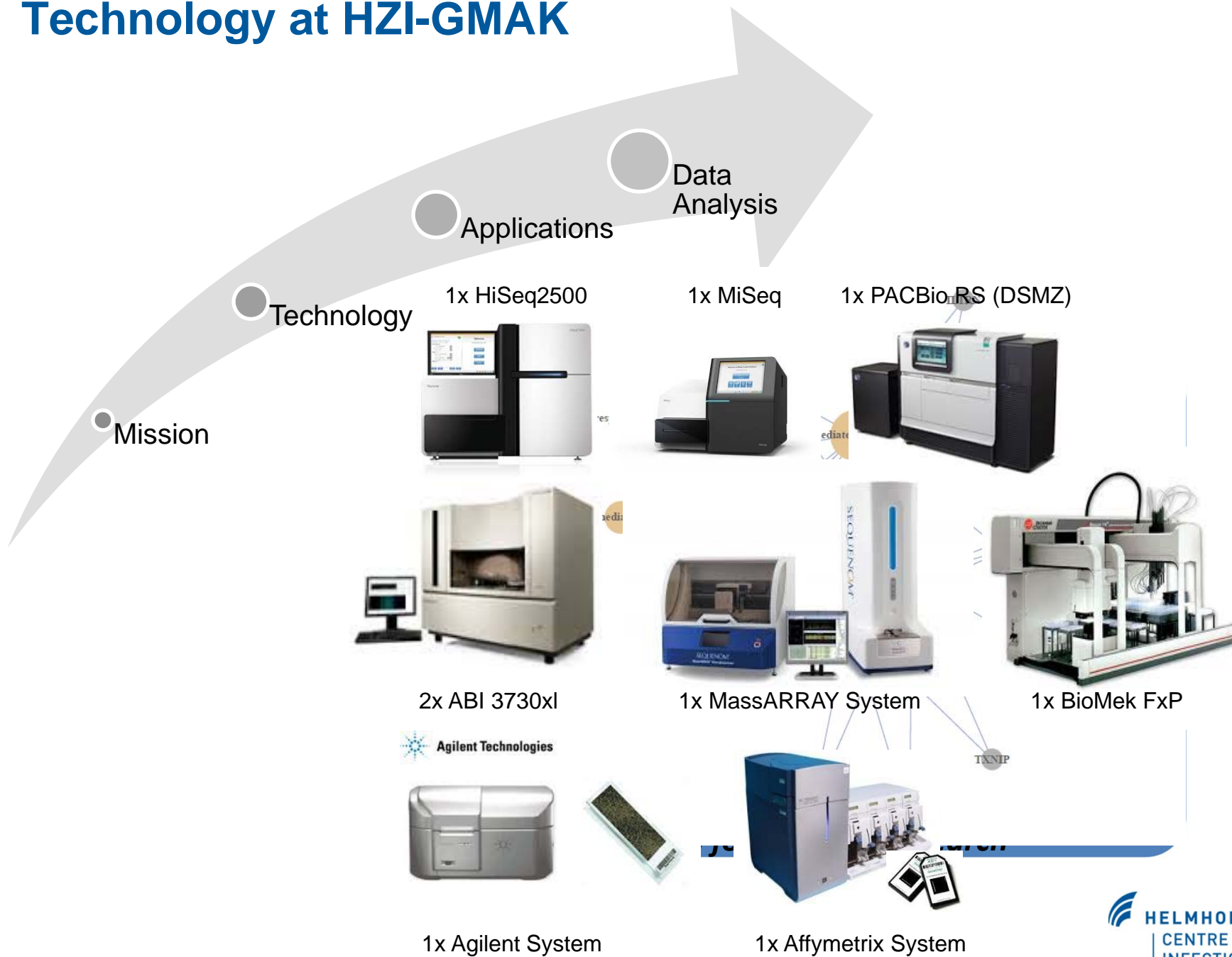
Next Generation Genomics: World Map of High-throughput Sequencers



Next Generation Genomics: German Map of High-throughput Sequencers



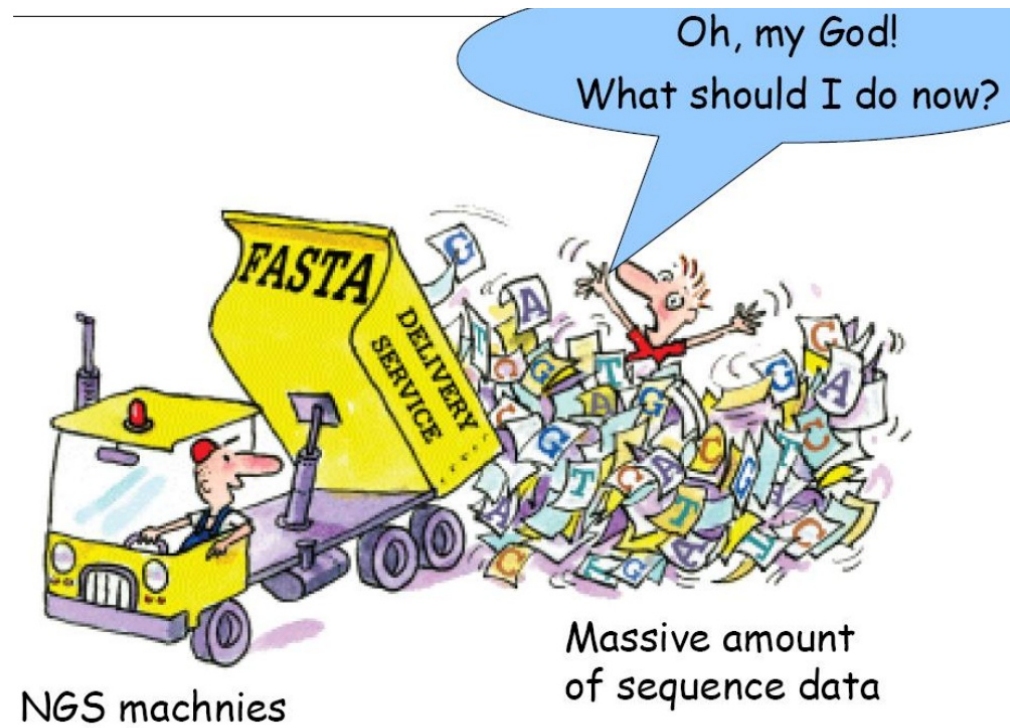
Technology at HZI-GMAK



Fully Automated Library Preparation

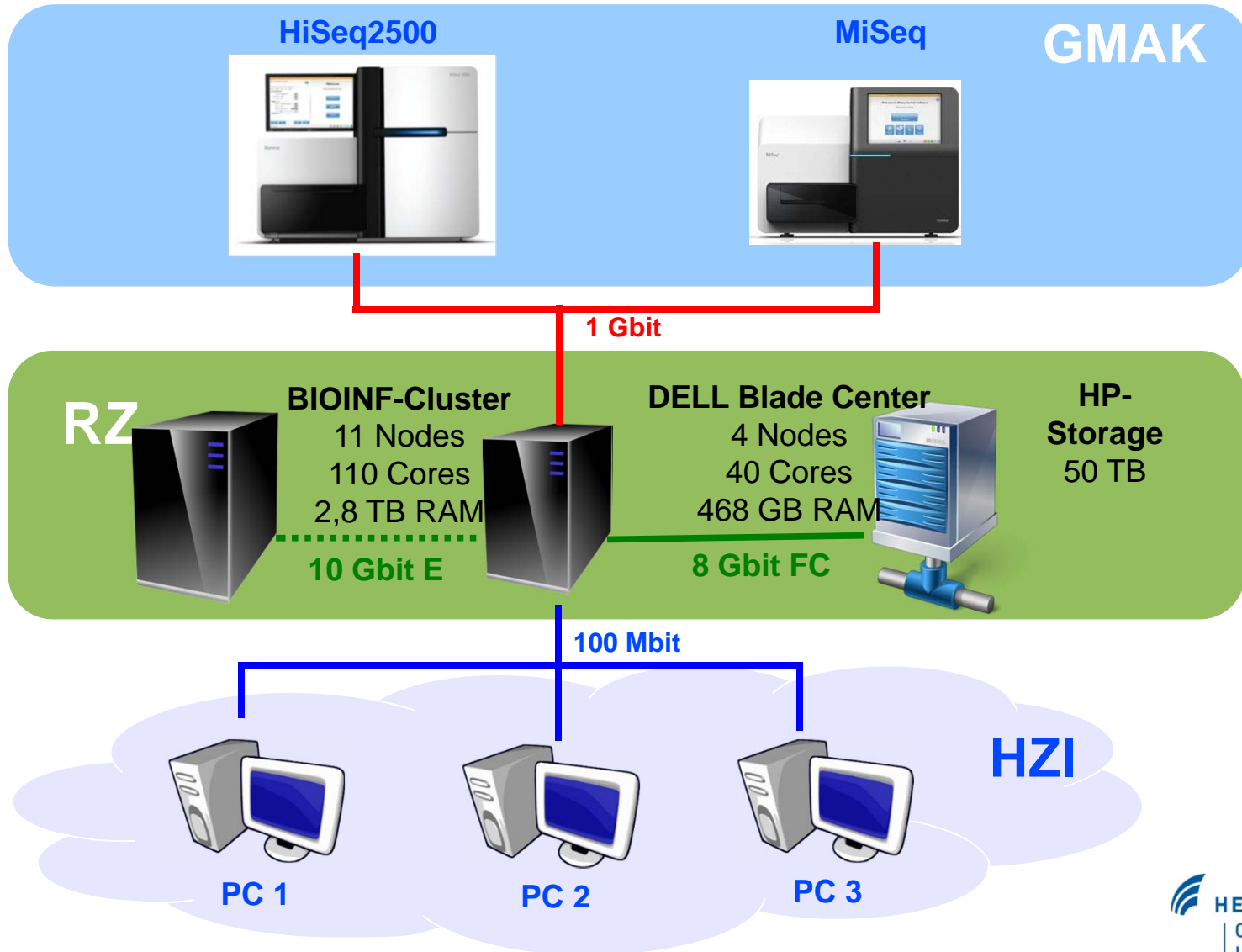


- DNA Shotgun(96 samples in 4.5h):
 - NEBNext® Ultra DNA
- RNA Sequencing (96 samples in 9.5h):
 - Illumina TruSeq® Stranded mRNA
 - Illumina TruSeq® Stranded Total RNA
 - Epicentre ScriptSeq® Complete Gold Low Input
- Amplicon Sequencing (384 samples in 12h):
 - 16S_V3_4 Amplicon



IT INFRASTRUCTURE

Instrument-Computing-Storage Infrastructure



LIMS-Miso



Username

Password

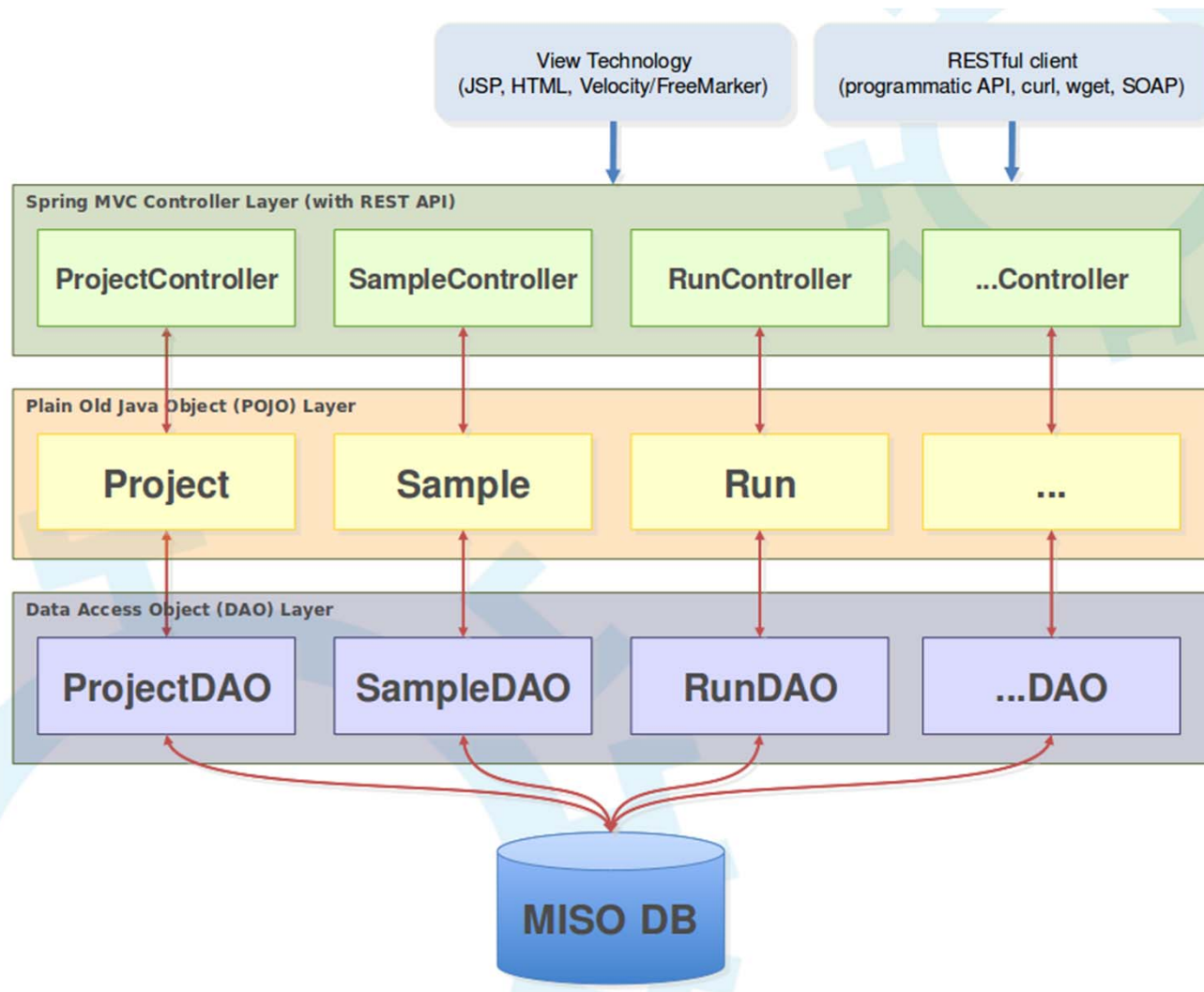
Stay logged in

Login »

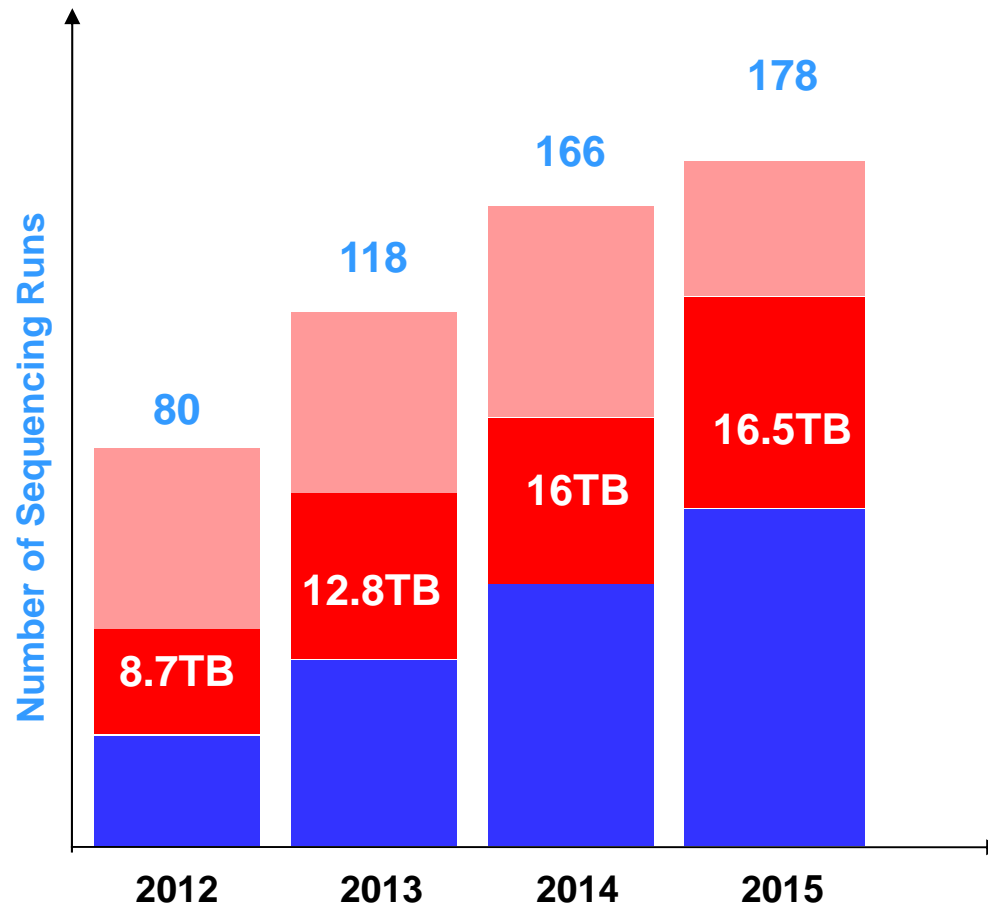
© 2010 - 2016 Brought to you by [The Genome Analysis Centre](#) and the element [sodium](#) | Version: 0.2.1-SNAPSHOT



LIMS

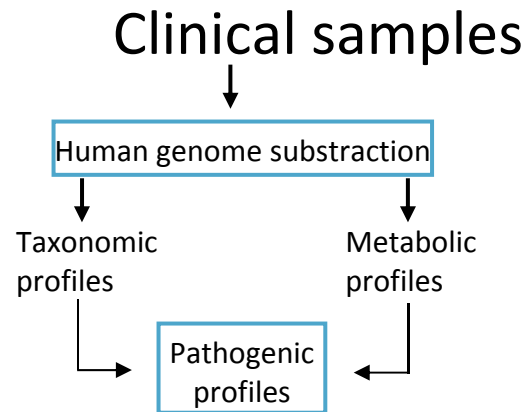


Sequencing Runs / Data Production



Research Activities: HZI

Metagenomics



Microbiome:

- **Nasal**
- **Oral**
- **Gut**

Genomics

Viral/Microbial Genomics

Family-based exome-sequencing

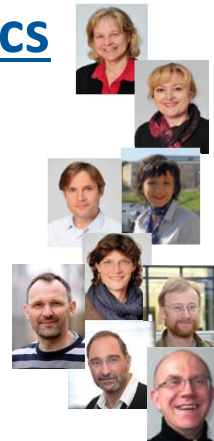
Population-based exome-sequencing

Genome-wide bis-Sequencing



Transcriptomics

- Expression profiles
- Regulatory networks
- Small RNAs



Genetic determinants of antimicrobial drug resistance



Genetic Biomarkers for rare diseases



RSV children cohort: Genetic markers for susceptibility



T-cell methylome



Identification of novel virulence factors

Pathogen subversion of host defense mechanisms

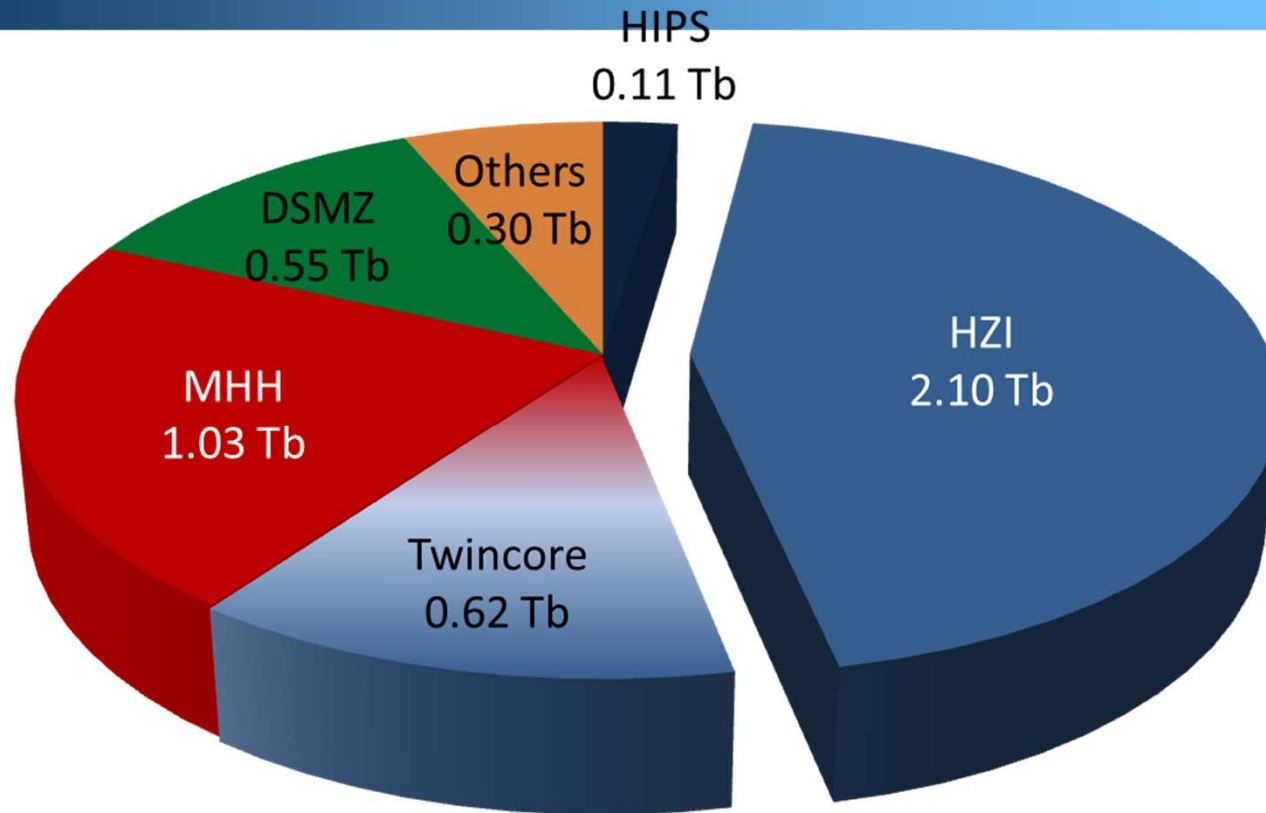
Characterisation of regulatory networks controlling virulence

Mechanisms of biofilm formation

Biomarker for Vaccination

Host Defense mechanism after HCV infection

Distribution of sequences generated at GMAK per Institution

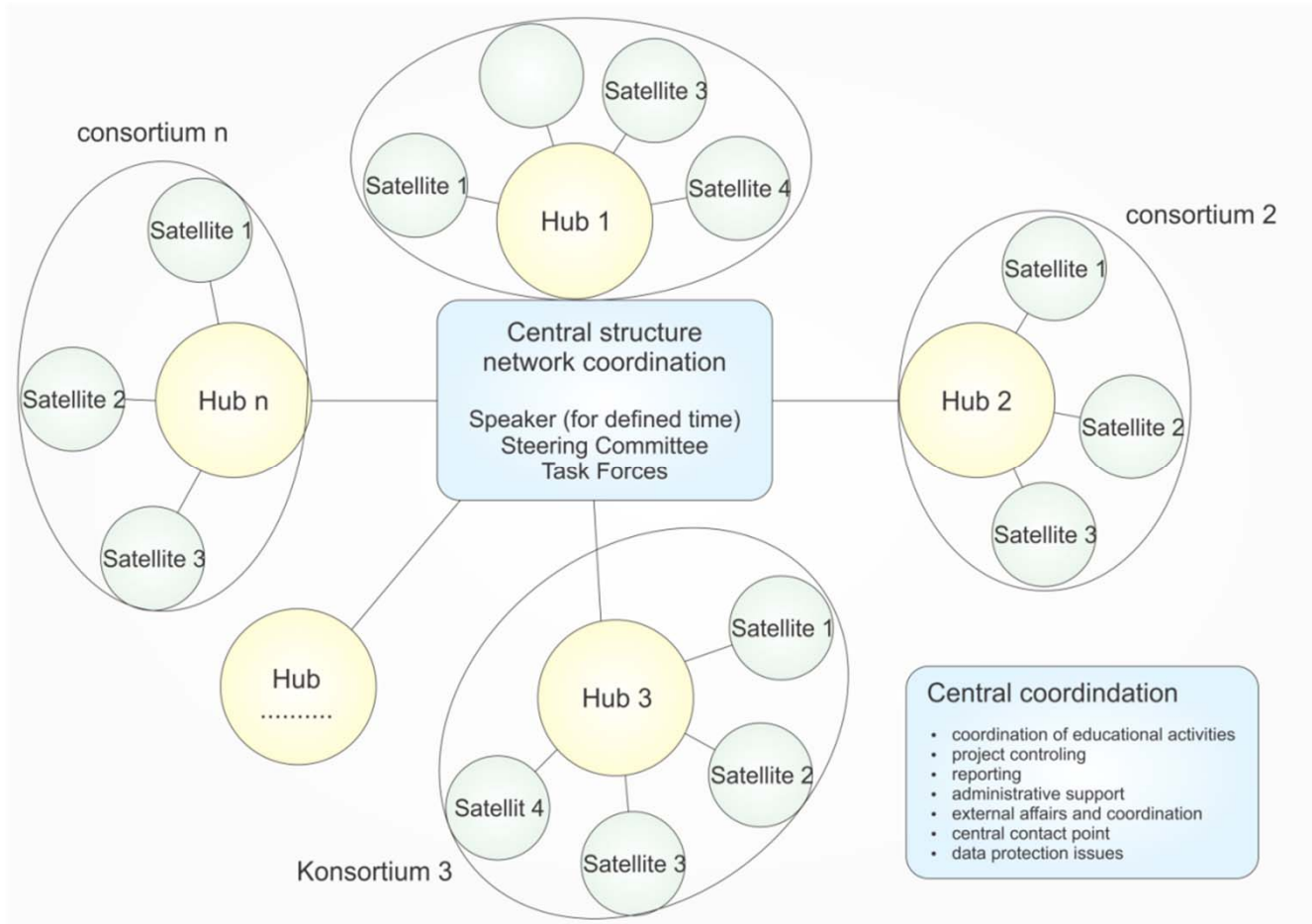


4.7 Terrabase of annual data

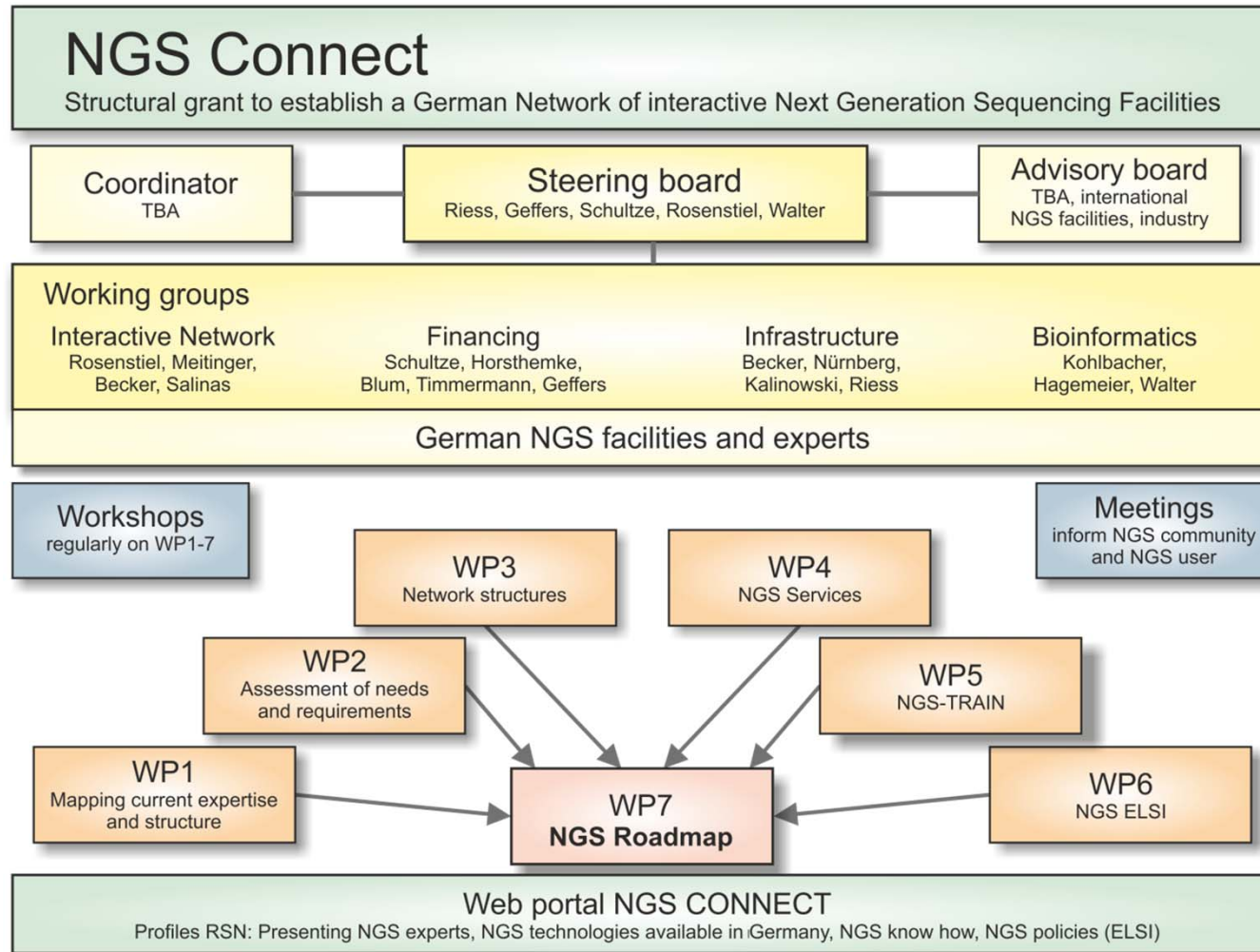


NGS-CONNECT

A future network structure on NGS



DFG (Structural Grant)



Criteria for Competence centre

Critical mass of ..

- innovative technology
- scientific projects
- Know how (as unique selling point...)
- Personnel (permanent positions in core units)
- Infrastructure (administration, IT etc.)
- ...

Ottmar Distl
(Transcriptomics+Genomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation



TRAINomics - Treffen

TWINCORE

9. Mai 2016

Ottmar Distl

Institute for Animal Breeding and Genetics

TRAINomics-Twincore

(1) Versorgungssicherheit

- Service und Forschungsgruppe
Service für TiHo und RIZ
Service für andere VetMed Einrichtungen und Wildtierforschung
- Verfügbare NGS-Geräte
MiSeq und NextSeq 500



TRAINomics-Twincore



(1) Versorgungssicherheit

- Verfügbare weitere Geräte
ABI-GA 3500, LI-COR 4300, Bioanalyzer, Qubit, Nanodrop
- Personal
 - C4-Professur Tierzucht und Vererbungsforschung (Direktor)
 - W2-Professur Genomics and Bioinformatics
 - Wissenschaftliche Mitarbeiter (Zeitverträge)
 - Bioinformatik und Statistik (1)
 - Molekulargenetik (1)
 - Technisches Personal
 - Bioinformatik (1 Mitarbeiter)
 - Labor (3 Mitarbeiter)

TRAINomics-Twincore

(1) Versorgungssicherheit

- Leistungsspektrum
 - Beratung der Versuchsanlage (Statistik)
 - Beratung der Versuchsanlage (Probengewinnung/-lagerung)
 - Biobank, Probenaufbereitung
 - Library-Erstellung für DNaseq und RNAseq
 - DNaseq und RNAseq
 - Mapping, Variant-Calling, Filtering, Viewing, Storing
 - Association for Common and Rare Variants
 - Imputation, ROHs, Ne, Coalescent Time, ...
 - De-Novo-Mapping (+ additional approaches)
 - Detection of non-host sequences
 - Transcription level, Gene models
 - SRA-Archive (Deposition and retrieving)

- Support in publication process

TRAINomics-Twincore

(1) Versorgungssicherheit

- Core-Unit Infrastrukturen vorhanden?
 - Laborausbau momentan – Abschluss September 2016
- ✓ Geräte und Serviceverträge für Geräte
- ✓ NGS-Labor
- ✓ IT-Hardware – im Aufbau
- ✓ HLRN – Benutzerantrag
- ✓ Bioinformatik
- ✓ Beratungskapazität – noch ausbaubar
- ✓ Bisulfit-Sequenzierung – noch keine eigene Erfahrung
- ✓ CHIP-Analysen – noch keine eigene Erfahrung

TRAINomics-Twincore

(1) Versorgungssicherheit

- momentaner „Versorgungsradius“, „Auftragslage“, „Nutzerzahl“?

TiHo und RIZ

Gartenbauwissenschaften - Pflanzenzucht?

VetMed Fakultäten (Gießen,)

- bereits angebahnte Erweiterungen
Laborausbau
- dringlichste Investitionsbedarfe (Geräte, Infrastruktur, Personal,...)
Ausbau der IT-Struktur

TRAINomics-Twincore

2) Innovation

- inhaltliche Schwerpunktsetzung (des Standortes) und besonderes Know-how und innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative

Haustiere – Rassen - klinische Erkrankungen - komplexe Merkmale

Wildtiere

„alte DNA“

Biobanken

Versuchstiere (Nutztiere)

Populationsgenetik (Erbgänge, genetische Parameter, Züchtung)

DNaseq und RNAseq

De-novo: Kombination mit optical-maps und Hi-C-maps

Functional Animal Genome Annotation (FAANG-Initiative)

TRAINomics-Twincore

2) Innovation

DNA Sequencing

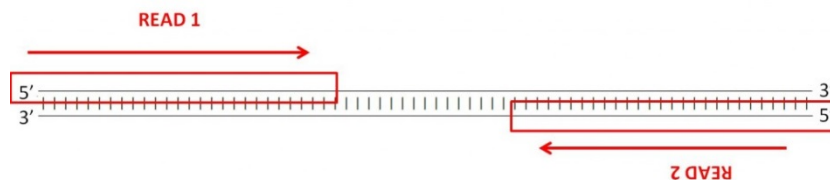
Large Whole-Genome Sequencing (>5Mb)

Small Whole-Genome Sequencing (≤ 5 Mb)

De Novo Sequencing

Targeted Sequencing

Paired end:



Short Insert Paired End Reads

+

Long Insert Paired End Reads (Mate Pair)

Exome

Amplicon Seq (2 - 650 kb)

Targeted Enrichment (0.5 – 15 Mb)

TRAINomics-Twincore

2) Innovation

RNA Sequencing

mRNA Sequencing

- known and novel transcript isoforms
- allele-specific expression

Total RNA Sequencing

- coding RNA
- multiple forms of noncoding RNA
- long-non-coding RNA;
- no rRNA

Small RNA Sequencing

- miRNA (micro)
- piRNA (piwi-interacting)
- siRNA (small interfering)
- snRNA (small nuclear)
- snoRNA (small nucleolar)
- tnRNA (tiny noncoding)

Targeted RNA Sequencing

- specific transcripts of interest

TRAINomics-Twincore

3) Konzeption

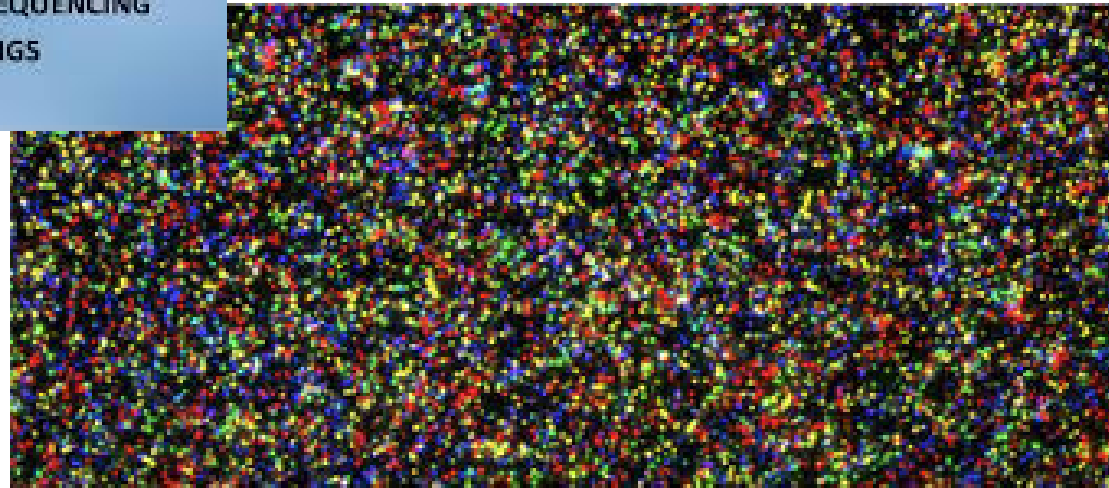
- Bildung von Omics-Subgruppen
Netzwerk zwischen Subgruppen
- Entscheidungsfindung, Organisationsstruktur, Informationsaustausch
Workshop an TiHo 16. März 2016
weitere Workshop geplant
- Voraussetzungen für „echte“ Zusammenarbeit
gemeinsame Anträge
- Transparenz und vertrauensvolle Zusammenarbeit versus Konkurrenz
gemeinsame Publikationen versus Acknowledgement
- kurzfristige versus längerfristige Ziele (Strategiekonzept der nächsten 5-10 Jahre)
Vetomics
- (enge) inhaltliche „Klammer“ (überhaupt) möglich?
Methoden universell – Mensch-Tier (Zoonosen, Lebensbedingungen)

TRAINomics-Twincore

3) Konzeption



Mehr Forscher für OMICS
begeistern und einbinden



Boyke Bunk (Genomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover



Omics-Technologies & Bioinformatics

Status and Future Perspectives

Boyke Bunk

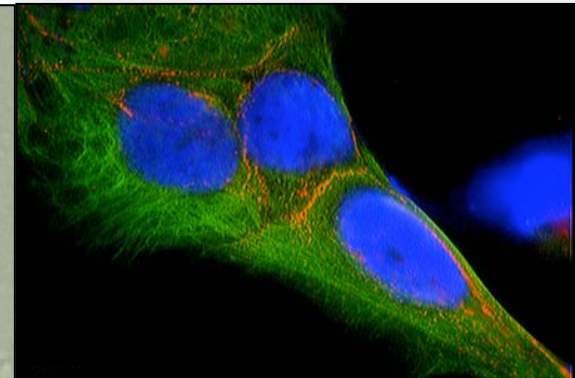
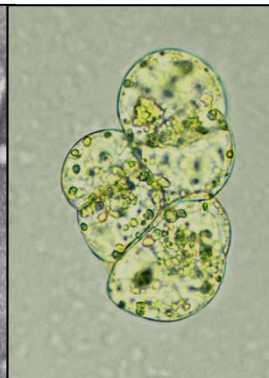
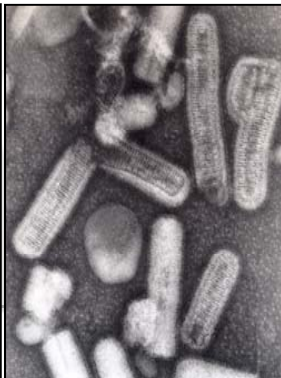


Leibniz-Institut • DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

The Leibniz-Institute DSMZ – German Collection for Microorganisms and Cell Cultures



- Founded in 1969
- 7 microbiological plus 3 newly founded collections
- Distribute 40,000 biological resources p.a. to 86 countries
- Research infrastructure with basic & applied research
- ~185 employees
- <http://www.dsmz.de/>



Improving the coverage of diversity and genetic space

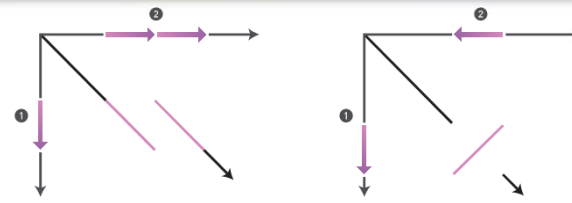
3rd Gen. SMRT Sequencing

Pacific Bioscience RSII



Median read length > 10,000 nt
Maximum read length = 50,000 nt
50,000 sequence reads per SMRTCell
500 Mbp per SMRTCell
Sequencing speed = 3 nt s⁻¹
4-6h per SMRTCell
1 SMRTCell per 5 Mbp of genome
methylation patterns (direct)

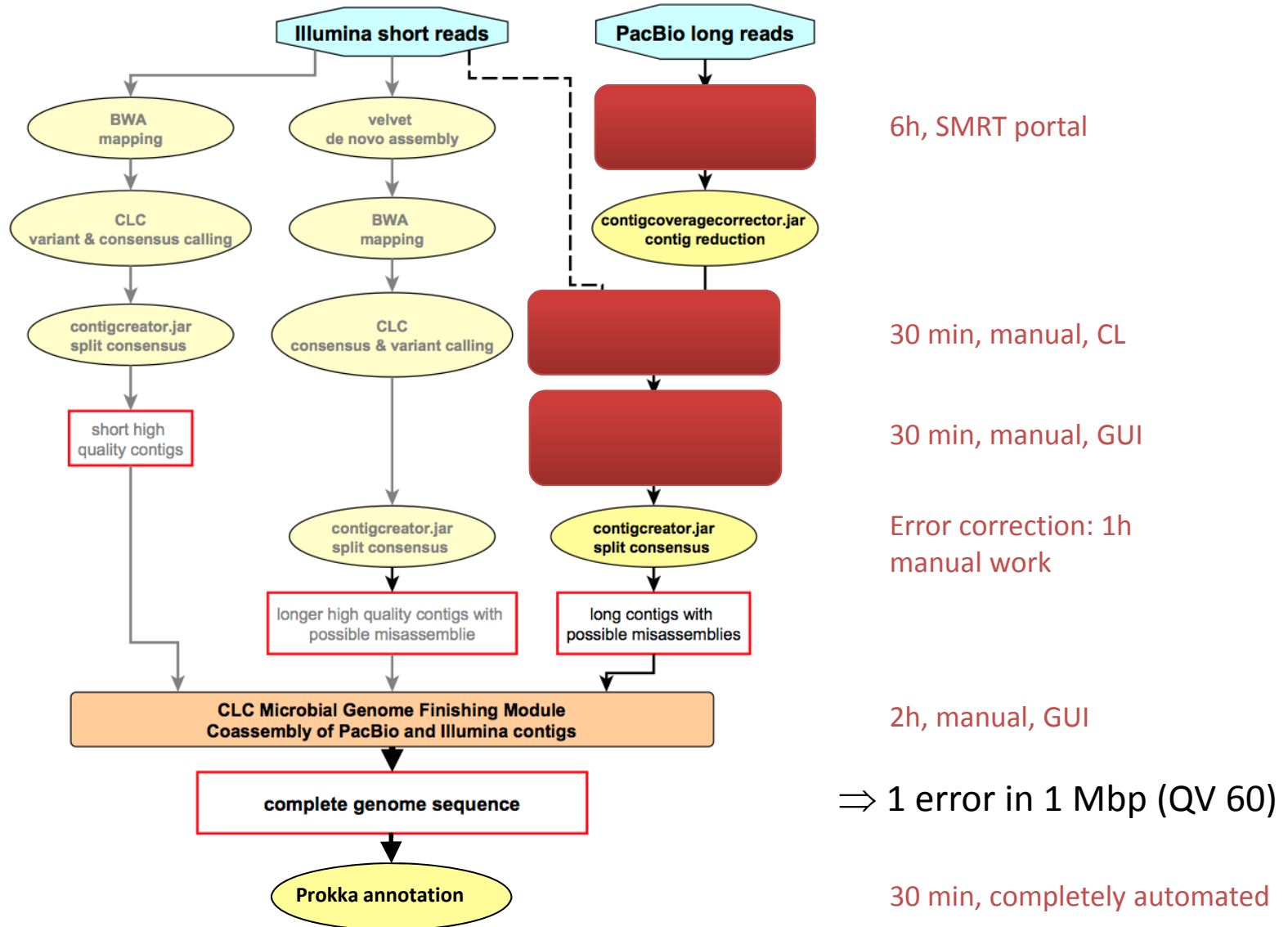
⇒ ≥ 4 Gbp × d⁻¹



- ⇒ resolve (tandem) repeats
- ⇒ resolve inversions
- ⇒ resolve rRNA-Operons
ca. 5000 bp



Improving the coverage of diversity and genetic space



Generating value: mobilization & analysis of metadata

- portal offered by DSMZ
- supplying taxon-associated metadata for 53,978 strains of 10,247 species
- novel server structure (SMP and HPC Server Clusters, HPC storage)
- Combinatorial queries (400 data fields)
- online since April 2012
- <http://bacdive.dsmz.de>

The screenshot displays the BacDive web interface for the strain *Chondromyces crocatus*. The search bar at the top contains the strain name. The main content area is divided into sections: 'Name and taxonomic classification', 'Morphology and physiology', and 'References'. The taxonomic classification lists the domain (Bacteria), phylum (Proteobacteria), class (Deltaproteobacteria), order (Myxococcales), family (Polyangiaceae), genus (Chondromyces), and species (*Chondromyces crocatus*). The morphology section includes a multimedia content area with a micrograph of the organism, labeled with reference #18281. The references section lists several publications, including one from the Leibniz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH.

Chondromyces crocatus Search

SEARCH ADVANCED SEARCH DOWNLOAD SELECTION FAQ / HELP NEWS IMPRINT / CONTACT

« Browse strain by BacDive ID »

Exclude text mining derived information

Print strain view as

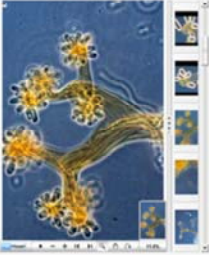
Download selection

Name and taxonomic classification

Domain: Bacteria
Phylum: Proteobacteria
Class: Deltaproteobacteria
Order: Myxococcales
Family: Polyangiaceae
Genus: Chondromyces
Species: *Chondromyces crocatus*
Full Scientific Name: *Chondromyces crocatus* Berkeley and Curtis 1874
Strain Designation: Cm c2

Morphology and physiology

Multimedia content:

[Ref.: #18281] 

Caption: Cm c2, DSM 14606
License/Copyright: [Ref.: #18281] (C) Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
Intellectual property rights: [Ref.: #18281] Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung GmbH
Multicellular complex forming ability: [Ref.: #18281] yes
Multicellular complex name: [Ref.: #18281] fructing body

References

#5406 Leibniz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH; Curators of the DSMZ; [DSMZ 14606](#)
Reichenbach, H.: Collection description and documentation of myxobacteria by H. Reichenbach, HZI (formerly GBF);
#18281 Collection curr. located at the DSMZ. Leibniz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

* These References are textmined



Status

- Sequencing equipment: PacBio *RSII* (3rd Gen.), Illumina MiSeq (2nd Gen.)
- Personnel for **Sequencing and Bioinformatics**: 2 FTE scientists, 2.5 FTE technicians
- Complementary to Illumina High Throughput Sequencing platform at HZI
- Pipeline for coassembly PacBio – Illumina data fully established
- Strong focus on microbial genomics
- Unique facility for bacterial methylome sequencing
- No. of Genomes sequenced increased to 314 in 2015, 12h per genome incl. closure/annotation



Future perspectives

- Additional investments in 2016: PacBio Sequel, Illumina NextSeq500
- Investments in server and storage infrastructure (2016: +448 CPU Cores, +2 PB Storage)
- Complementary increase in sequencing capacity Illumina HiSeq4000 necessary
- DSMZ is involved in DFG initiative "Omics-Technologien in Deutschland"
- DSMZ has initiated the formation of a regional cluster "Microbial Genomics", also involving Göttingen and Bielefeld
- DSMZ leads the build up of a *Leibniz Omics Network* (LiON) as part of the Leibniz-Roadmap of Research Infrastructures



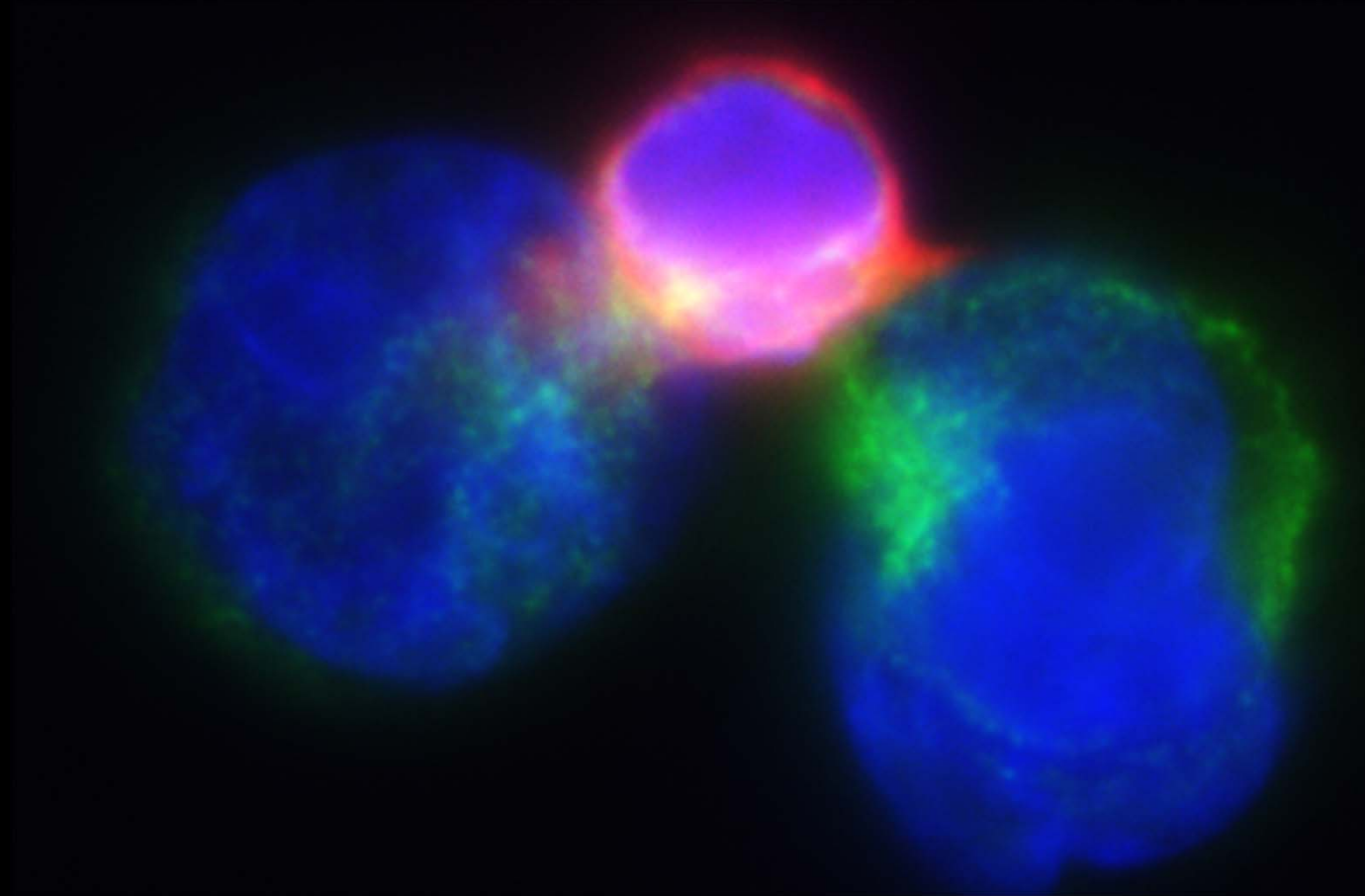
Lothar Jänsch (Proteomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

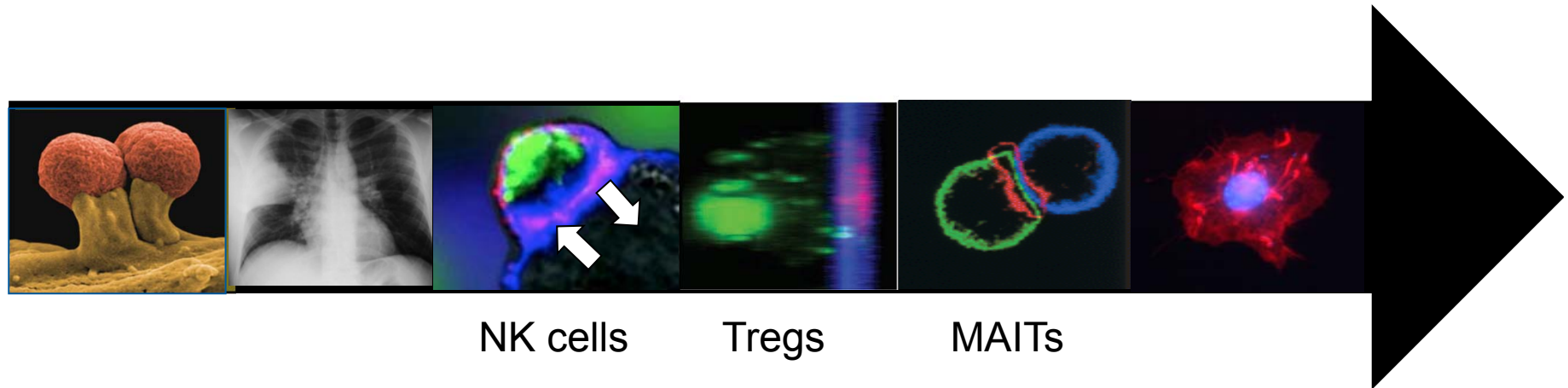


Proteomik – Lothar Jänsch

9. Mai 2016

TrainOmics Meeting

Novel Mechanism of immune cell activation



NK cells

Tregs

MAITs

Signaling & response at immunological synapses

Sepsis ICU MD
(iMed initiative)
SFB854



EBV
Delecluse



HCV (NK)
Wedemeyer



HSV
Sodeik

HIV (NK56neg, MAIT)
Sandberg, Eller



Cdiff

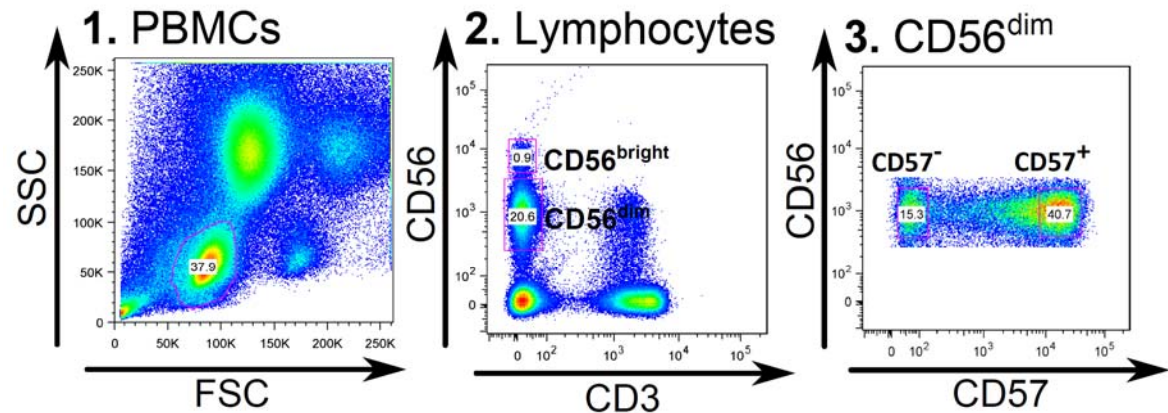
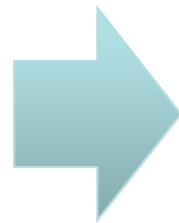
Epidemiology and
systems biology of
Clostridium difficile



Medizinische Hochschule
Hannover

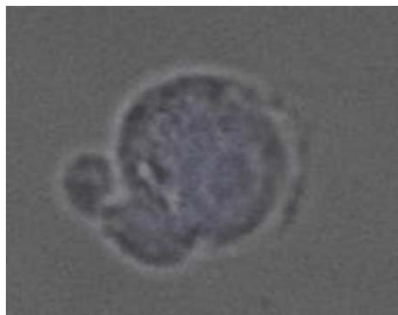
Primary human immune subsets (only)

weekly (n=1-20)



MACS or Sorting

Klinikum-BS, DRK
(MHH, MD, US, SE)



Functional Studies

Ex vivo
labeling



MHH

Medizinische Hochschule
Hannover

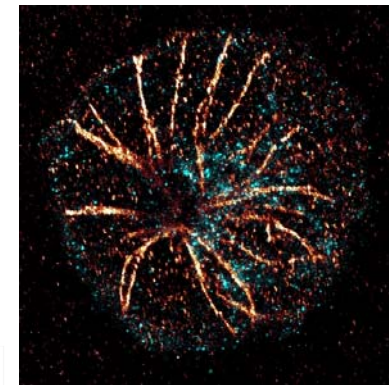
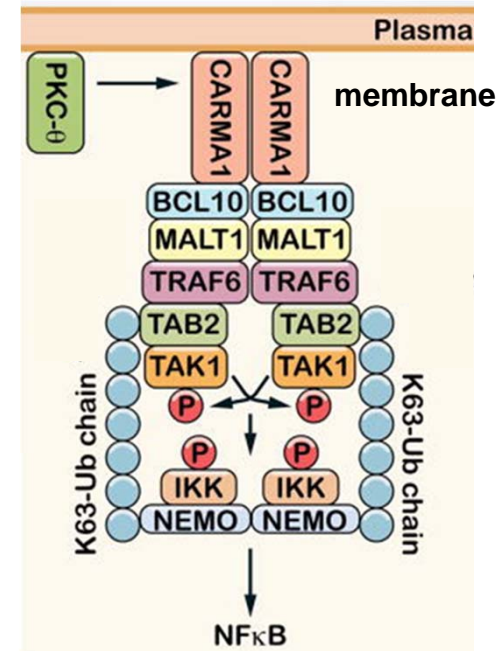
Technologies and expertises

- **Proteome approaches**
(Signal network analyses;
post-translational mechanisms;
phosphorylation & ubiquitination;
BN-PAGE of protein complexes)

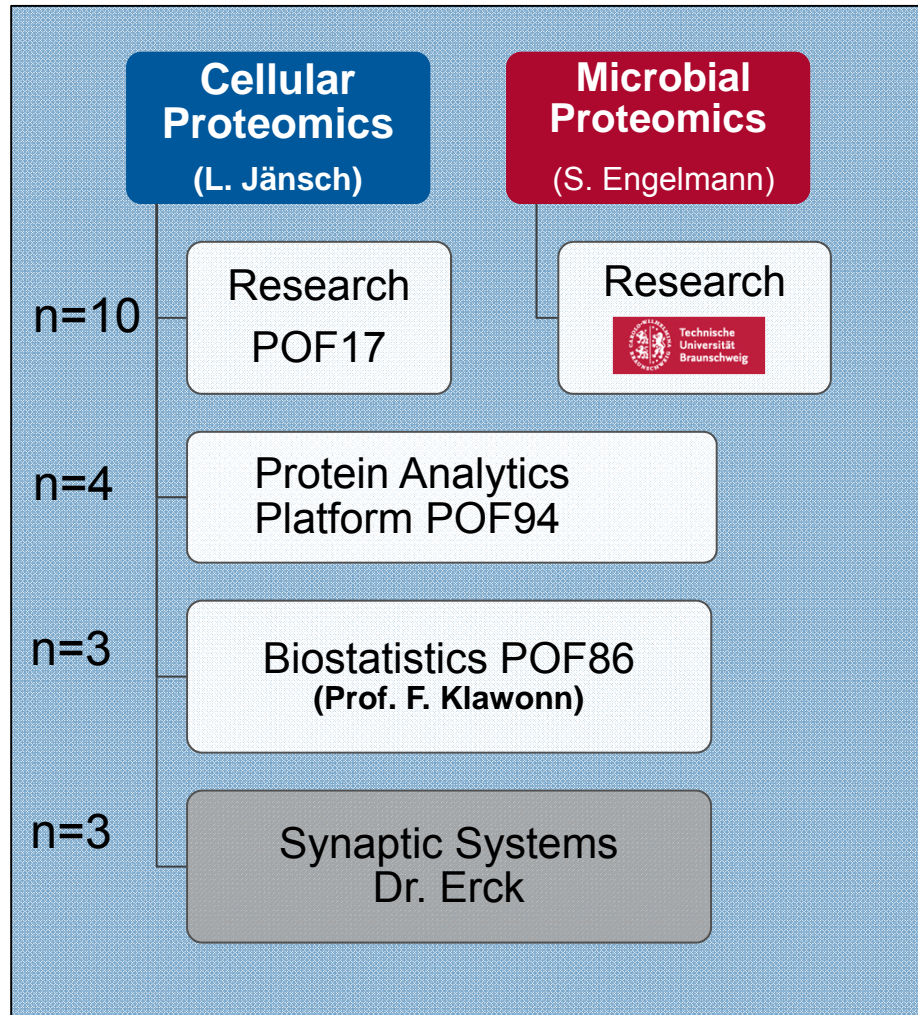
- **Flow Cytometry**
(Sorting & single cell
activities/responses)

- **Microscopy**
(protein localization
& co-localization,
live cell imaging,
single molecule analyses,
laser dissection)

- **CRISPR/Cas9... / mice models**



Organization Proteomics HZI



Founding member

Long-term aim of Cellular Proteomics:

Systems medicine

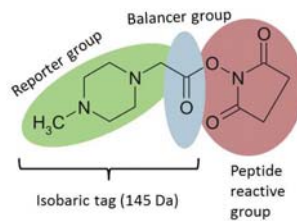
Platform Personal

Dr. J. Wissing, Dr. M. Nimtz, Prof. Dr. F. Klawonn

+ 2 Technicians (A. Meier, A. Abrahamik)

+ Group Scientist (on demand)

Biochemistry



Mass spectrometry



Biostatistics



Sample generation
(cells, tissue, fluids)

Data acquisition

Data mining

Instrumentation & Activity

25 % of POF projects
10-20 collaborative projects (TU, Twincore, MHH)
5000-7000 processed MS samples / year



Focussing on selected core studies
Strengthening translation
Trainings & Courses & Development
Hosting external scientists



GC-MS



MALDI-MS



Orbitrap Velos-MS



ETD Orbitrap Fusion

Instrumentation & Activity

25 % of POF projects

10-20 collaborative projects (TU, Twincore, MHH)

5000-7000 processed MS samples / year



Focussing on selected core studies

Strengthening translation

*Trainings & **C**ourses & **D**evelopment*

Hosting external scientists

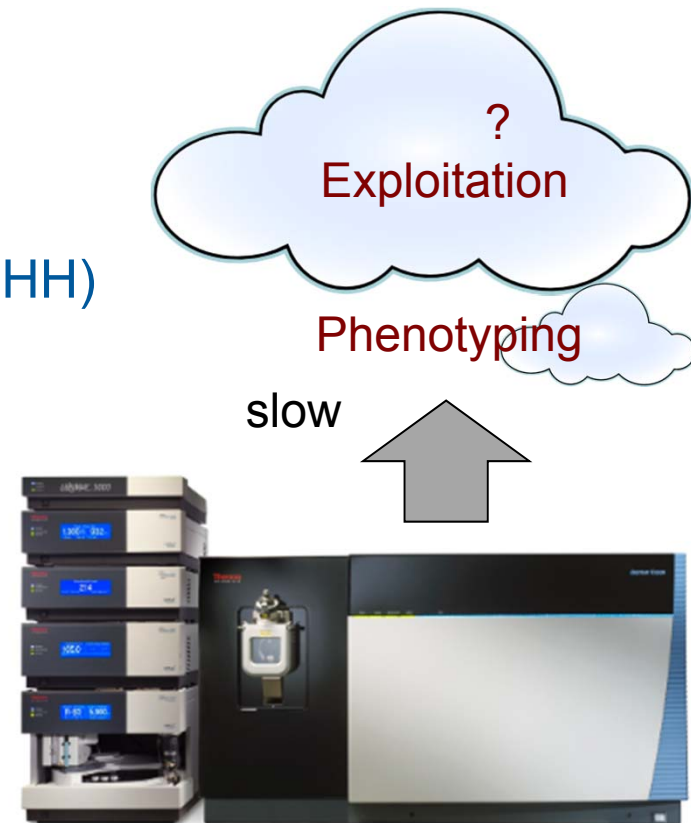
Investment & partnership:

Biobanking & Ethics

HZI-DB (data sharing platform)

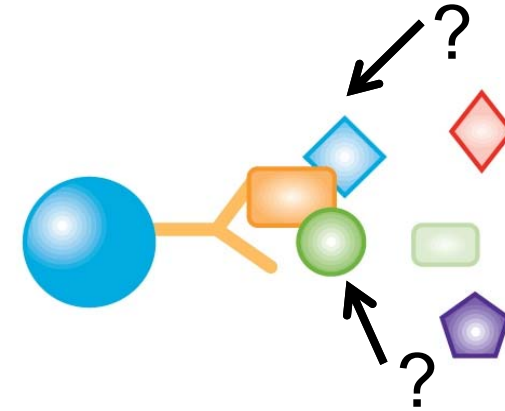
Pathway analyses software licences

(IPA joint seet with UFZ-Leipzig, Prof. van Bergen)



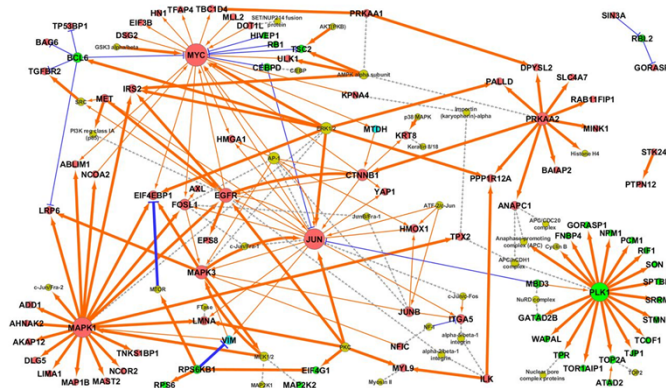
Capacity for

Interactomics (AB-, Tag-, BirA-based)
National, routinely / „ad hoc“



Signal network studies

TCR-Treg from 600 mice (SFB854)
EVOTEC (TMT MultiNotch MS3)
National & industrial partners
A few slots per year



Phenotypings (Biomarker detection)

Secretomes & microvesicles
(e.g. profiling 1000 exosome samples scheduled;
3-4 month MS data acquisition time in 2016)

Networking with DGfI & Transfusion Medicine

A proteome platform for the definition of primary immune cell subsets



J. Wissing¹, M. Nimitz¹, L. Gröbe², F. Klawonn^{1,2},
J. Hühn³, L. Jänsch¹

¹Research Group Cellular Proteomics, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany
²Department of Experimental Immunology, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany
³Department of Computer Science, Ostfalia University of Applied Sciences, Wolfenbüttel, Germany

Helmholtz Centre for Infection Research
Inhoffenstraße 7
38124 Braunschweig | Germany
Lothar.Jaensch@helmholtz-hzi.de

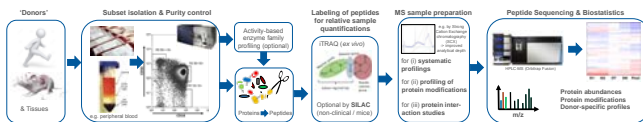
INTRODUCTION

Proteins play a pivotal role for the discrimination of immune cell subsets and are prime drug targets for the development of immune-modulatory therapies. For both aspects knowledge about the exclusive or joint features of protein networks in distinct immune cell subsets is mandatory. Significant progress in this regard was made in the last decade on the basis of cell lines, which support functional characterizations and demonstrated the feasibility of proteomics in molecular immunology. However, translationally relevant information can hardly be realized exclusively using cell lines.

Here, we now introduce a platform allowing the state-of-the-art definition of primary immune cells at the protein level. Isolated and sorted cells are directly analyzed (without expansion) by means of a highly accurate quantitative proteomic workflow.

OBJECTIVES

- Definition of (novel) primary immune cell subsets from men and mice.
- Support for clinical proteome studies & individualized medicine
- Support for functional characterizations (protein-protein interactions, protein modifications and enzymatic activities)



1. Immune subset definition (two examples)

a) Identification of novel mechanisms in primary human Natural Killer Cells

- Quantitative MS analysis revealed subset specific protein regulator patterns
- Protein profiles suggest novel subset specific functions
- Novel components of the NK immune response identified
- Functional studies confirm the importance of S100A4 for CD16 expression and NK cell cytotoxicity

→ Poster ID: 496 Maxi Scheller

b) Definition of primary human MAIT (Mucosal associated invariant T) cells

- Sorting of MAIT cells, NK cells and CD8+ T cells from human peripheral blood
- Comparative proteome analysis from healthy donors identifies common and distinct cellular processes
- MAIT cell functions are likely targeted by NK and CD8+ T cell responses

→ Poster ID: 598 Björn Bullta

2. Immune cell activation (two examples)

a) Novel ubiquitin-dependent mechanisms in human EBV-transformed B cells

- Study design supports detection of EBV-specific processes
- Proteome reveals major differences for B cell ubiquitination (UB) as well as Ub-proteases
- Detection of novel Ub-modifications
- EBV modulates CD38 ubiquitination & function

→ Poster ID: 616 Henning Grothkopf

b) The TCR network of primary murine T regulatory T cells

- CD28/CTLA4 stimulation of ex vivo isolated Tregs and Tregs for Tregs
- Abundance of the TCR network components are notably conserved
- Identification of 140 Treg specific phosphorylations at TCR signaling molecules and regulation of NF- κ B dynamics
- Treg specific PKC θ and CTLA4 activities
- TCR signaling controls immunological synapse formation (Dr. BSA, Dr. Jänsch)

→ Poster ID: 561 Nicole Portius

CONCLUSION

- Current proteome technologies are suitable for the direct characterization of primary immune cell subsets
- Results representatively reflect cellular functions & activity states
- Best data basis for the selection of clinical relevant (novel) targets

Systematic as well as target-based accurate mass spectrometry by Orbitrap Fusion

- High resolution
- High sensitivity
- All-in-one sensitivity
- Unambiguous results
- Targeted detection
- Protein modifications & activity
- High dynamic range

ETD isolation, novel modification & protein analysis

Characterization of low-abundant signaling components

Transcription factor profiles

Forward bias protein P3 - Farg3

Peptide sequencing of 3417 primary Tregs
Total proteome studies starts with 5417 cells

Autophosphorylation indicates kinase activation

Protein interaction studies

IP-MS analysis

High dynamic range of MS can determine hierarchical organization of protein networks

Protein	Abundance	Activity
CD28	1.00E+06	1.00E+06
CTLA4	1.00E+06	1.00E+06
PKC θ	1.00E+06	1.00E+06
CTLA4	1.00E+06	1.00E+06

OUTLOOK

- Collaborative analyses of proteolytic & novel subsets with DGI partner laboratories (VCI)
- Cross project data integration & Absolute quantifications (PRODIS EB at HZI, publicly available in Q3/2018)
- Support for phenotyping of ex vivo expanded immune cells

REFERENCES & Contacts

Scheller M, Lee H, van Ham N, Bullta B, Gröbe L, Carlbom H, Klawonn F, König S, Jänsch L. Proteomic analysis of distinct developmental stages of human natural killer (NK) cells. *MCP* 2013; 12(3):1059-114. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23511114

Biochemistry & Biophysics, Dr. Josef Wissing, Josef.Wissing@helmholtz-hzi.de

Mass spectrometry & Cytoproteomics, Dr. Maximal Nimitz, Maximal.Nimitz@helmholtz-hzi.de

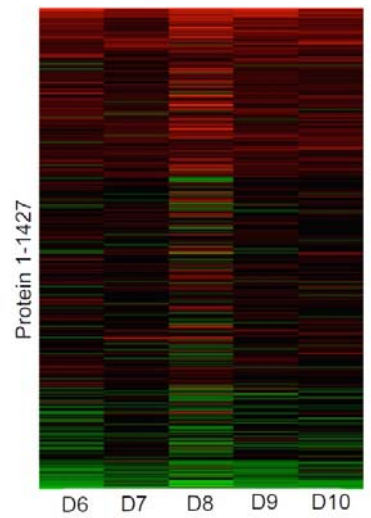
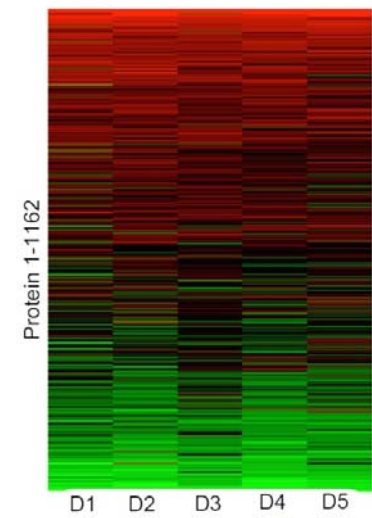
Biostatistics, Daniel Wessendorf & Dr. Frank Klawonn, Frank.Klawonn@helmholtz-hzi.de

Flow Cytometry & Sorting, Dr. Lothar Gröbe, Lothar.Groebe@helmholtz-hzi.de

Project management, Prof. Lothar Jänsch, Lothar.Jaensch@helmholtz-hzi.de

International partners
Karolinska (SE), MHRP (US)...

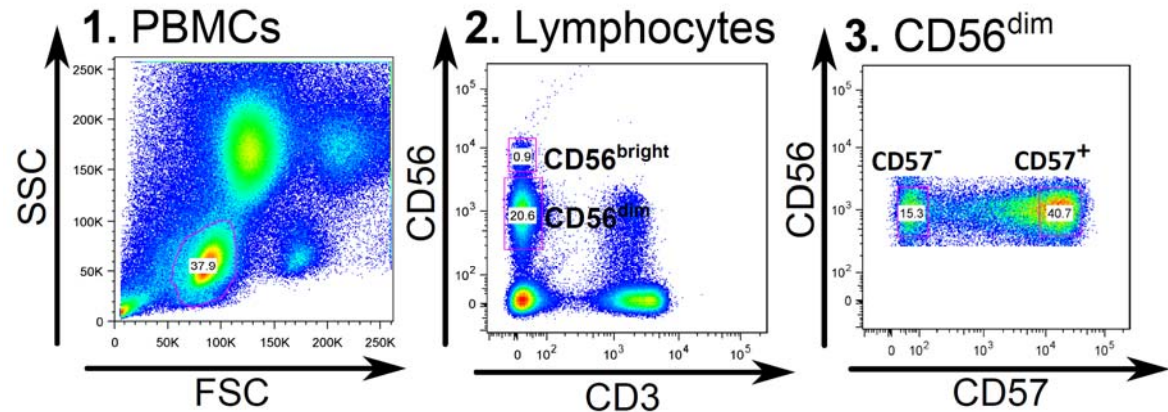
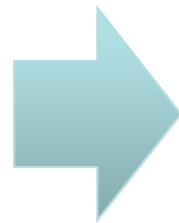
BEST-studies (DCs, in preparation)
Biomedical Excellence for Safer Transfusion



INFEKTIONSFORSCHUNG

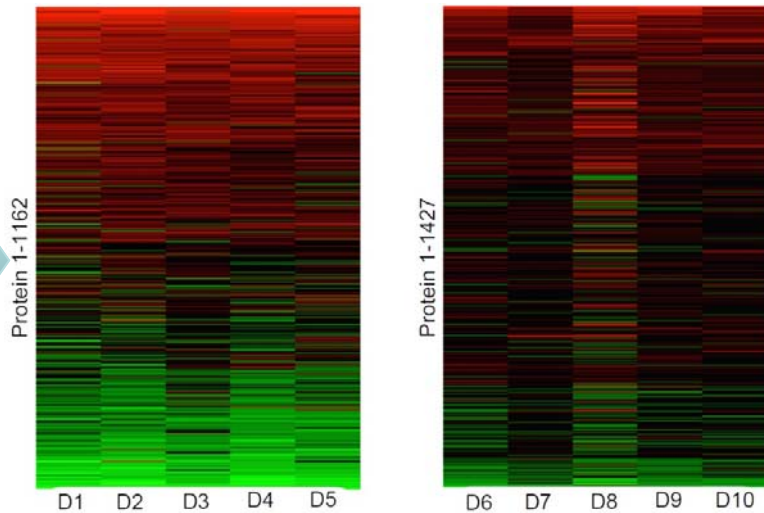
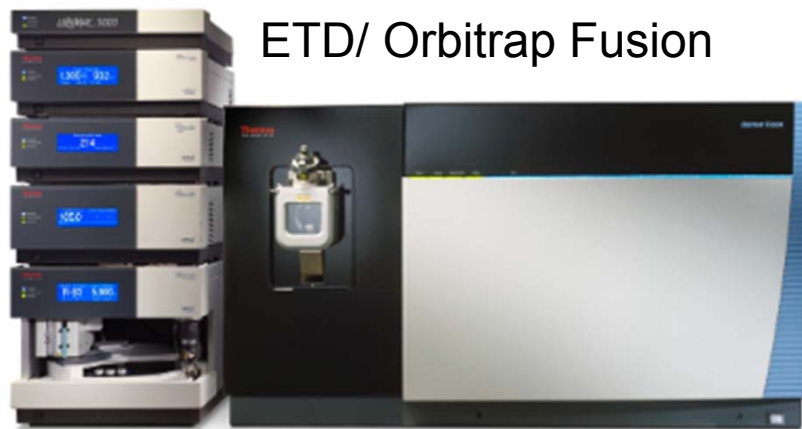
I: Patient-specific immune cell phenotyping

e.g. along HCV therapy



MACS or Sorting

Donor-specific



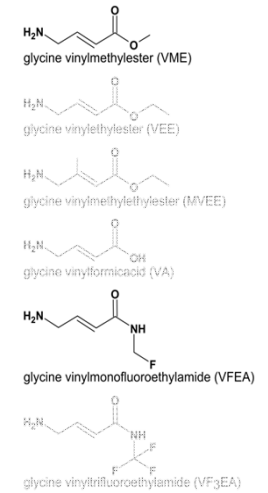
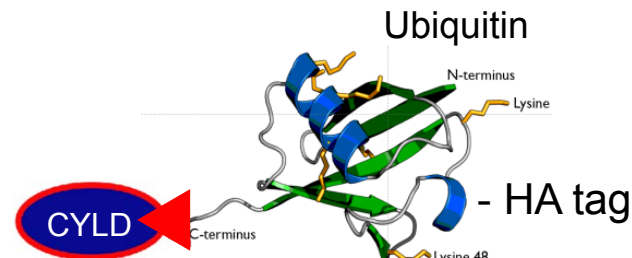
II. Detect / Characterize Drug-targets

Kinases

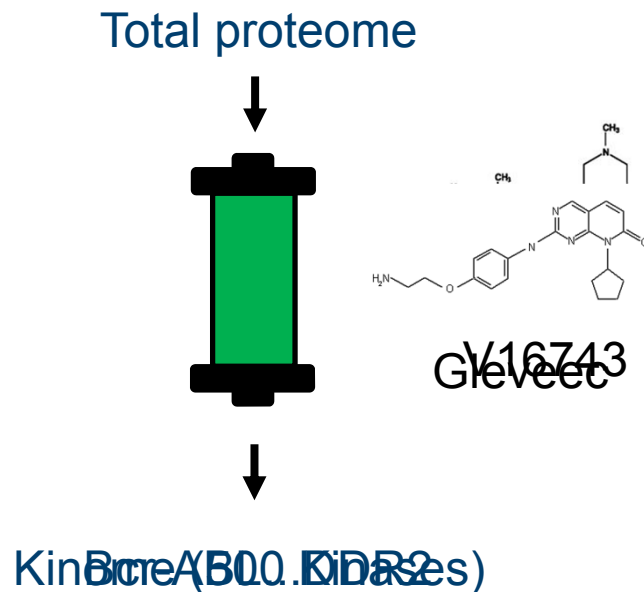
Ub-modifying enzymes

Phosphatases

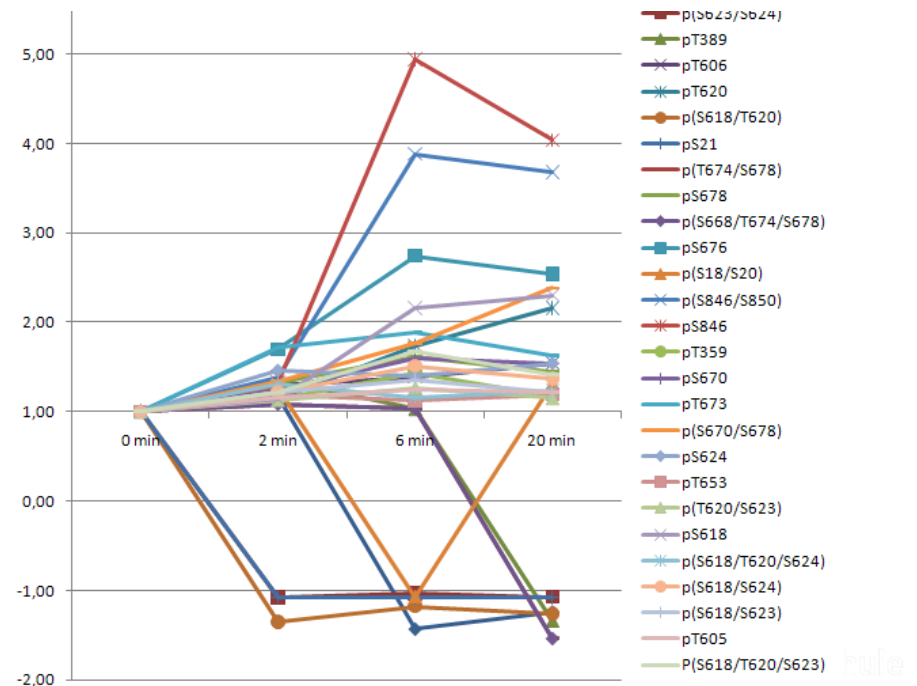
...



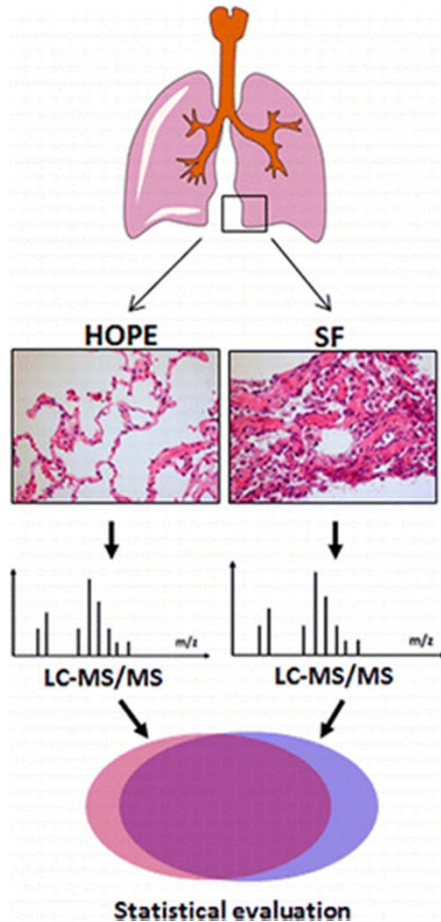
Immobilized drug Chromatography
(since 2003, Axxima, Kinaxo)



Regulated phosphorylations of AAK1



III. Retrospective / *in situ* clinical proteomics



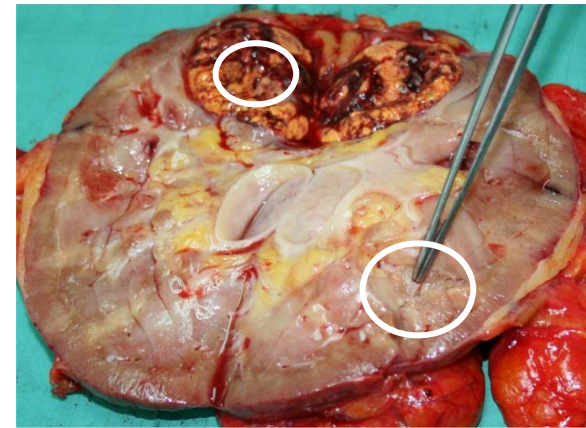
HOPE fixation of lung explants allows retrospective histology, proteomics & phosphoproteomics

(Shevchuk et al., J. of Proteome Research, 2014)

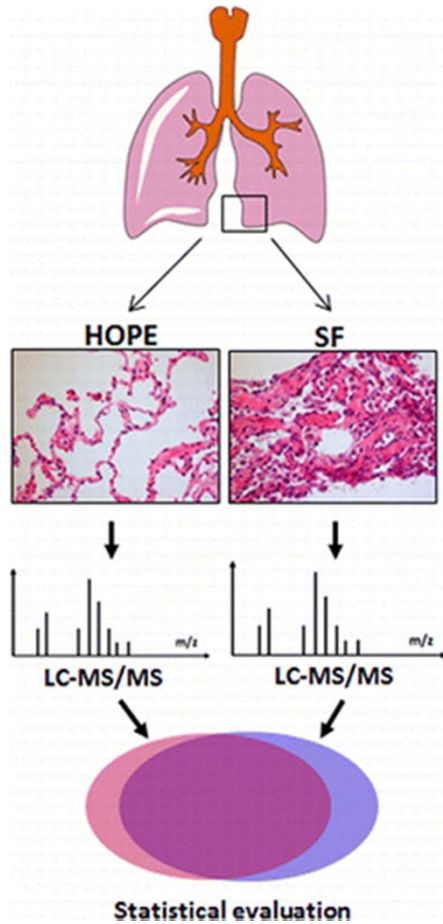
Case study (unpublished)

PhosphoKinome analyses of renal cell carcinomas

-> only snap frozen samples suitable



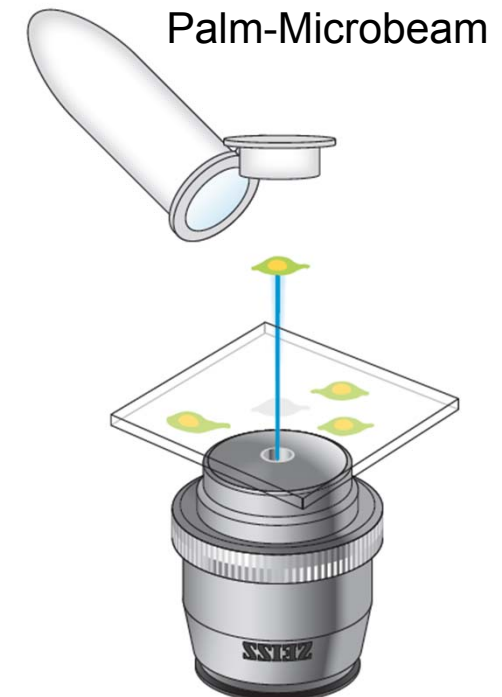
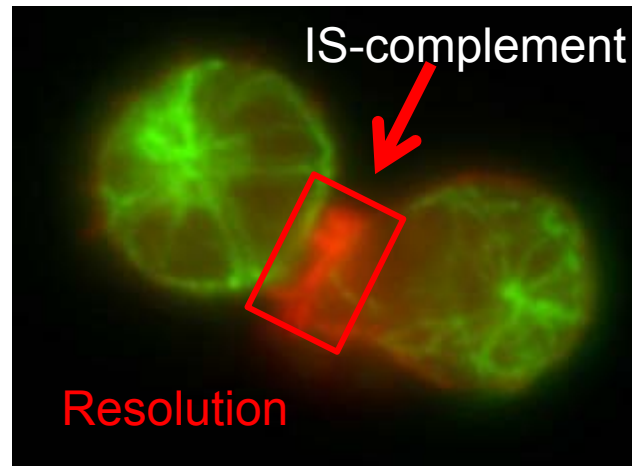
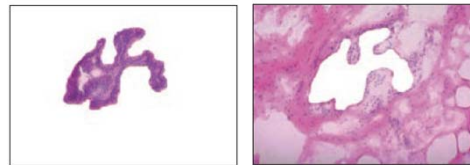
III. Retrospective / *in situ* clinical proteomics



HOPE fixation of lung explants allows histology and proteomics & phosphoproteomics (Shevchuk et al., J. of Proteome Research, 2014)

Aim:

Laser catapult microdissection + Ultra-sensitive MS



Danke

Andreas Pich (Proteomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

Core Facility Proteomics - MHH

Contact:

Tel.: 2808, 5614

ww.mh-hannover.de/3197.html

Staff

- Andreas Pich
- Anke Schröder
- Karin Agternkamp
- Karsten Heidrich



MHH campus

Current equipment

MALDI-TOF/TOF



ESI-Orbitrap



ESI-IT



ESI-QTRAP



ESI-tripleQuadrupol



Core Facility Proteomics - MHH

Services

Proteines/Proteomes

- Protein identification
- PTM detection

shot gun/DDA

- > 5000 proteins
- SILAC
- lable-free

• Targeted proteomics

- MRM/SRM
- DIA

Price:

Cost sharing

- 25,- €/ per protein digest
- 25,- €/ per LC-MS analysis

Contact:

Andreas Pich

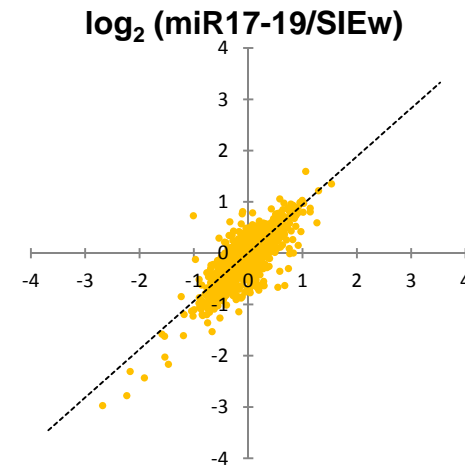
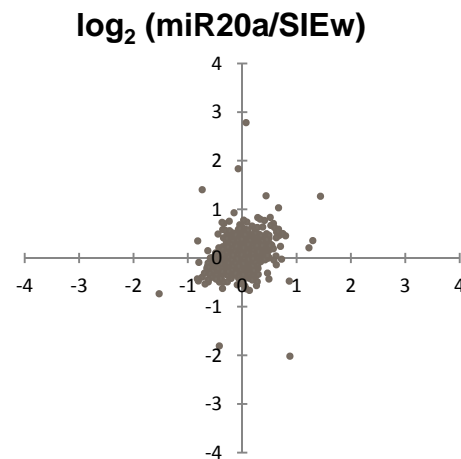
- 2808
- 5614

ORIGINAL ARTICLE

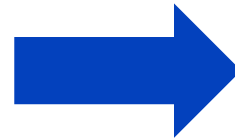
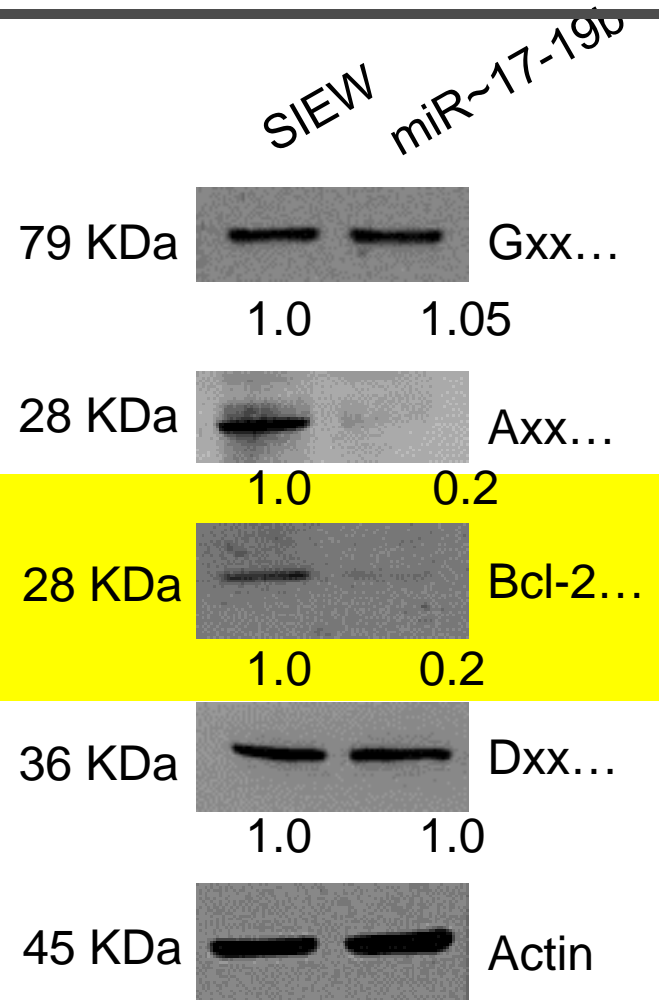
Differential expression of miR-17~92 identifies BCL2 as a therapeutic target in BCR-ABL-positive B-lineage acute lymphoblastic leukemia

M Scherr¹, A Elder^{2,7}, K Battmer^{1,7}, D Barzan^{1,7}, S Bomken^{2,3}, M Ricke-Hoch⁴, A Schröder⁵, L Venturini¹, HJ Blair², J Vormoor^{2,3}, O Ottmann⁶, A Ganser¹, A Pich⁵, D Hilfiker-Kleiner⁴, O Heidenreich² and M Eder¹

- DDA - SILAC experiment



Western blot analysis of target proteins

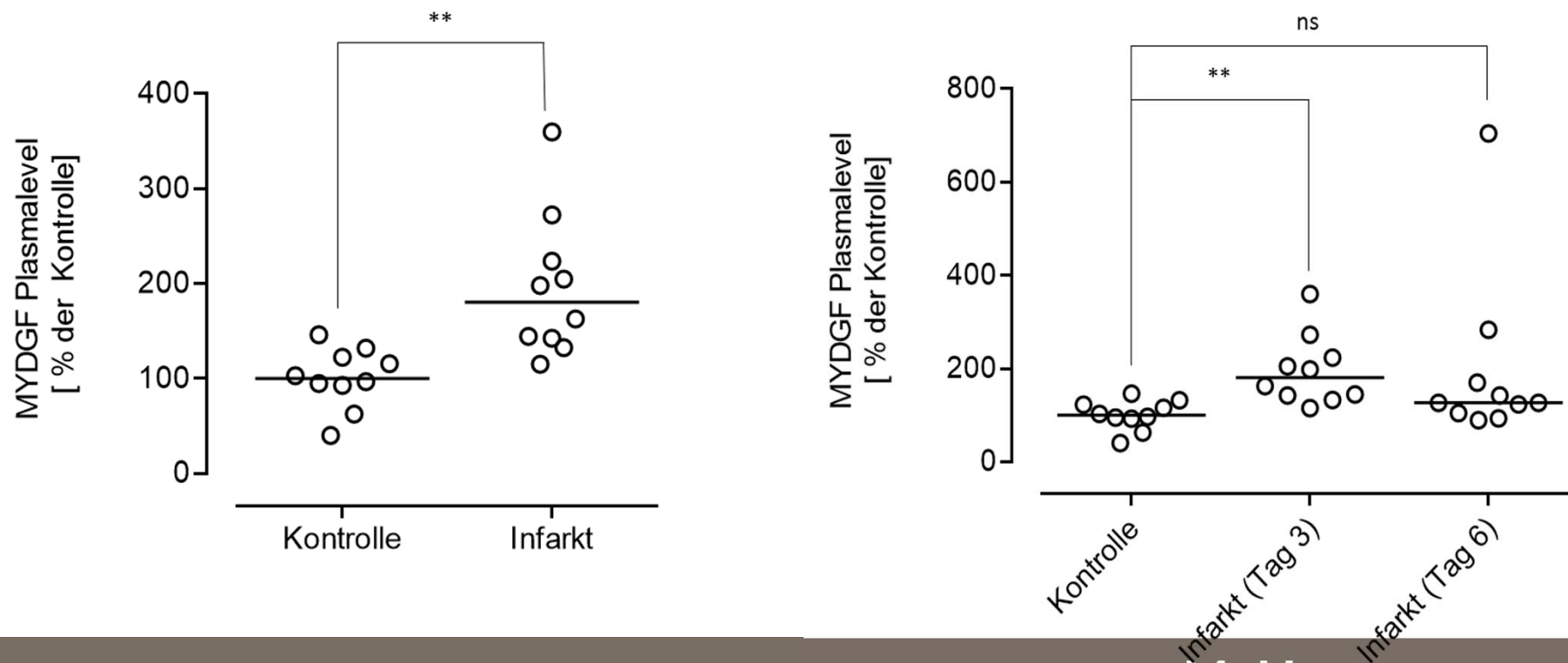


functional analyses

Scheer et al. 2014

Myeloid-derived growth factor (C19orf10) mediates cardiac repair following myocardial infarction

Mortimer Korf-Klingebiel^{1,2,7}, Marc R Reboll^{1,2,7}, Stefanie Klede^{1,2,7}, Torben Brod^{1,2,7}, Andreas Pich³, Felix Polten³, L Christian Napp², Johann Bauersachs², Arnold Ganser⁴, Eva Brinkmann^{1,2}, Ines Reimann^{1,2}, Tibor Kempf^{1,2}, Hans W Niessen⁵, Jacques Mizrahi⁶, Hans-Joachim Schönfeld⁶, Antonio Iglesias⁶, Maria Bobadilla⁶, Yong Wang^{1,2} & Kai C Wollert^{1,2}





HOME

Das Massenspektrometrie Forum Hannover (MFH) wurde 2007 gegründet, um eine gemeinsame Plattform für Diskussionen, Vorträge und Erfahrungsaustausch unter Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus Hannover und der Region zu schaffen, die massenspektrometrische Techniken für große und kleine Moleküle anwenden und anwenden möchten.

Nächstes Seminar:

Mittwoch 20.11.2012, 16:00 Uhr

Dr. Dietrich Merkel, AB SCIEEX, Darmstadt:

"MS/MS ALL with SWATH acquisition: global quantitative strategies for proteomics"

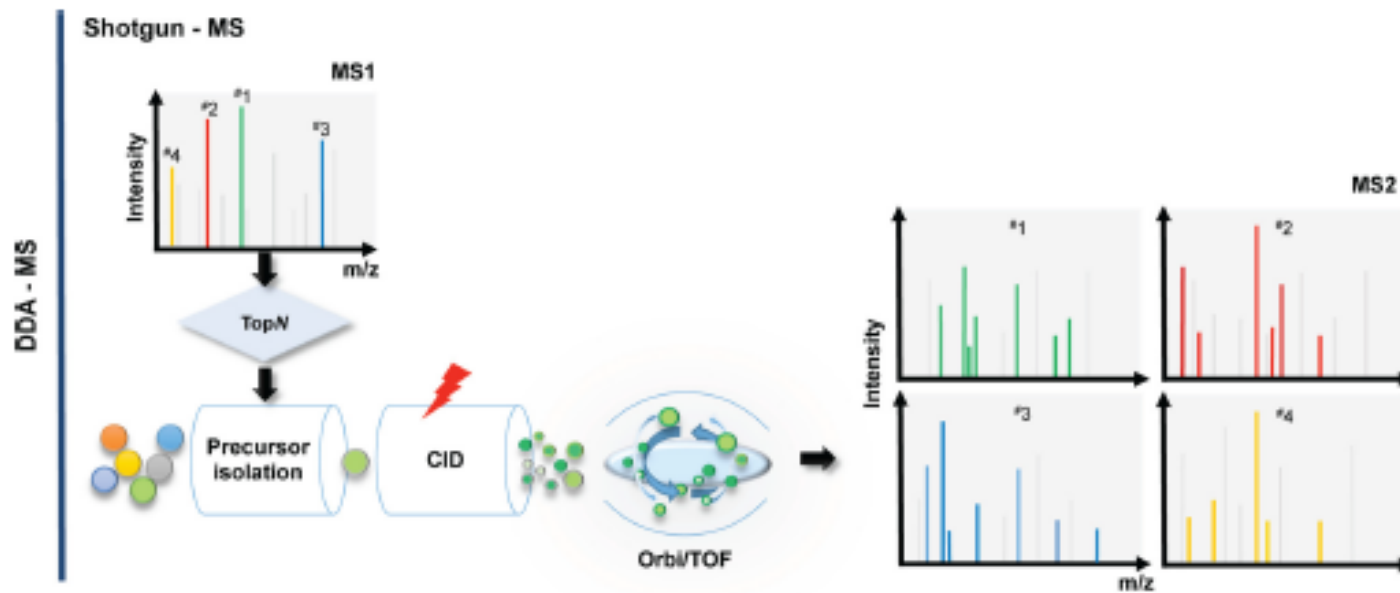
[Weitere Informationen...](#)

Eine Initiative von:

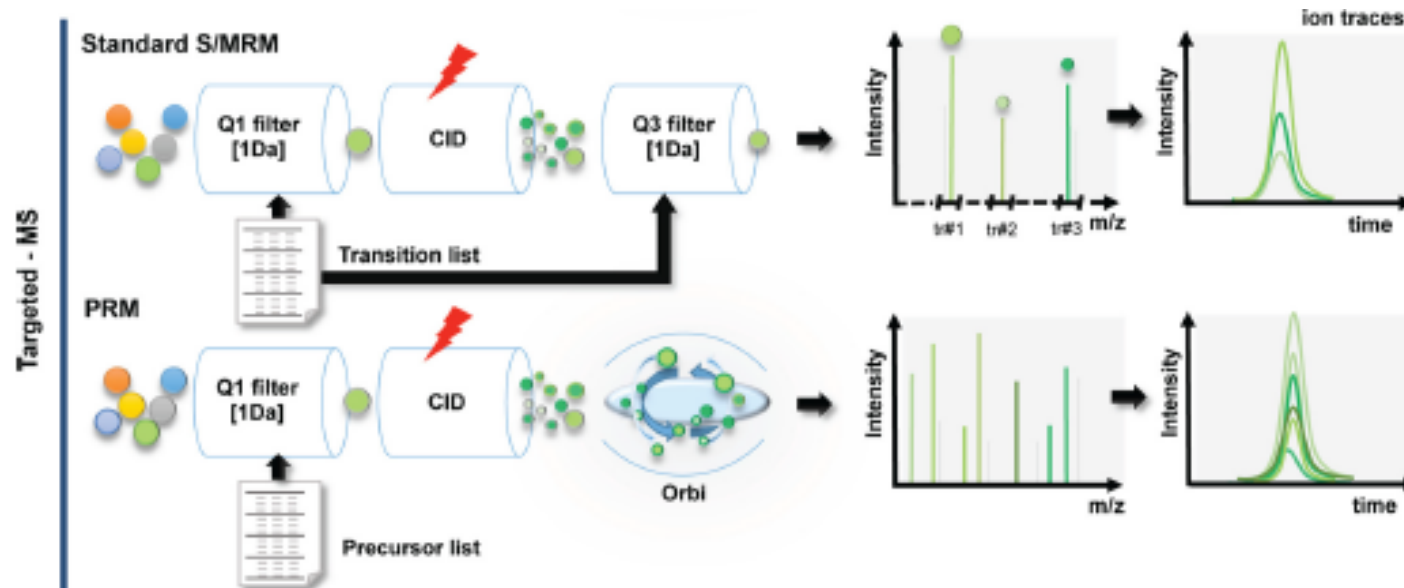


Danke für die Aufmerksamkeit !

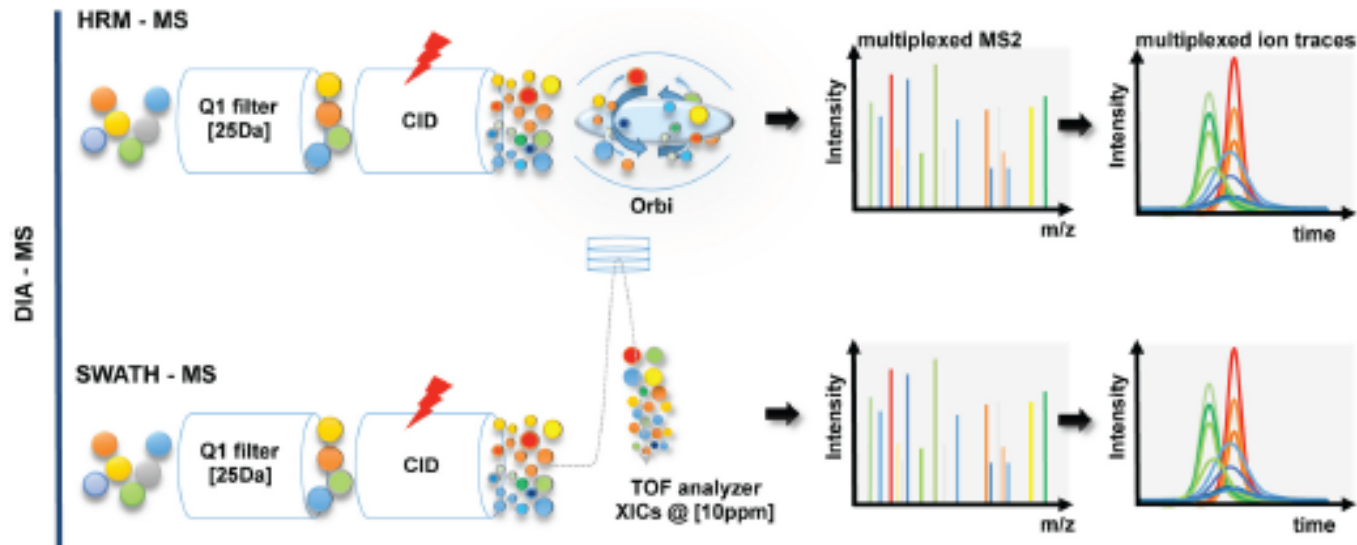
DDA



Targeted MS



DIA-MS



Susanne Engelmann (Proteomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

Mikrobielle Proteomik

Susanne Engelman

Technische Universität Braunschweig, Institut für Mikrobiologie
Helmholtzzentrum für Infektionsforschung, Mikrobielle Proteomik



Versorgungssicherheit

Arbeitsgruppe „Mikrobielle Proteomik“

zugehörig zur TU Braunschweig (Institut für Mikrobiologie) und assoziiert an das HZI Braunschweig

ein wissenschaftlicher Mitarbeiter (60 % Forschung, 40 % Lehre) und eine technische Assistentin (60 %)

Promotionsstudenten, Masterstudenten, Bachelorstudenten

Dringender Bedarf: Technische/r Assistent/in (100 %) zur Probenvorbereitung und MS-Analytik

Versorgungssicherheit

Geräteausstattung

nanoAQUITY UPLC gekoppelt an ein LTQ Velos Orbitrap Pro MS

Multiphor und Gelkammern für 12 Proteingele

Durchlichtscanner

Delta-2D

Mitbenutzung (HZI):

Typhoonscanner

MALDI MS

SCX, Größenausschlusschromatography

Mascot, Proteomediscoverer

FACS-Sorter

Versorgungssicherheit

Identifikation, Quantifikation (SILAC und markierungsfreie Ansätze) und Modifikation cytosolischer, oberflächenassoziierter, extrazellulärer und Membranproteine aus Bakterien

- 2-dimensionale (2D) Gelelektrophorese-Technik kombiniert mit MALDI MS/MS
 - GeLC-MS/MS
 - 2DLC-MS/MS
 - 2D-Westernblots
 - Thiolmodifikationen
-

Versorgungssicherheit

Nutzer/Kooperationspartner

60 bis 70 % eigene Projekte (DFG, BLE) und studentische Ausbildung

ca. 30 bis 40 % Kooperationsprojekte

Kooperationspartner

D. Jahn, TU Braunschweig, Mikrobiologie

M. Steinert, TU Braunschweig, Mikrobiologie

E. Medina, HZI Braunschweig

M. Erhardt, HZI Braunschweig

C. Jogler, DSMZ Braunschweig

S. Halbedel, RKI Wernigerode

S. Fuchs, RKI Wernigerode

J. Dickschat, Universität Bonn

F. Hochgräfe, Universität Greifswald, Mikrobiologie

Innovation

Hauptthemen

- Physiologische Proteomanalyse in Bakterien unter *in vitro* Bedingungen
 - Physiologische Proteomanalyse von Bakterien unter *in vivo* Bedingungen (Wirt-Pathogen-Interaktionen)
 - Identifikation und Charakterisierung von kleinen Proteinen/Peptiden (<100 AS)
 - Thiolmodifikationen an Proteinen: Dynamik, Art und Konsequenzen
 - Immunoproteomik (2D Westernblots, Proteinarray)
 - Protein-Protein-Interaktionen (z. B. bakterielle Virulenzfaktoren mit Wirtsproteinen, in bakteriellen Enzymkomplexen)
-

Konzeption

Unser Schwerpunkt : mikrobielle Proteomik

Austausch von Methoden bzw. Zusammenarbeit bei der Anwendung von in den einzelnen Gruppen etablierten Methoden

Gemeinsame Nutzung von Geräten mit bestimmten Spezifikationen

Ziel könnte sein, einen Gerätepool und ein Methodenspektrum zu etablieren, mit dessen Hilfe es möglich ist:

- (i) einen hohen Probendurchsatz zu gewährleisten
- (ii) sehr unterschiedliche Fragestellungen in der Proteinanalytik zu bearbeiten

Bioinformatik!!!

Volkhard Kaefer

(Metabolomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

Research Core Unit Metabolomics

Volkhard Kaefer

*Department of Pharmacology and Toxicology
Hannover Medical School*



Medizinische Hochschule
Hannover

Hannover,
09.05.2016

Research Core Unit Metabolomics

- founded in 2011
- associated to the Institute of Pharmacology (J6 / 03)
- supports **scientific collaborations**, both inside and outside the MHH
- service contracts with industrial partners can be placed, too
- www.mh-hannover.de/metabolomics.html

Analytical spectrum

Simultaneous quantification of various endogenous metabolites (50-850 Da) by means of GC-MS/MS and LC-MS/MS.

Equipment

6 mass spectrometers / 1 GC system / 6 HPLC systems

**> 10,000 measurements in 2015
(20 publications)**

Research Core Unit Metabolomics



Prof. Dr. Volkhard Kaefer
kaever.volkhard@mh-hannover.de



Dipl.-Ing. (FH) Frank-Mathias Gutzki

GC-MS/MS analyses

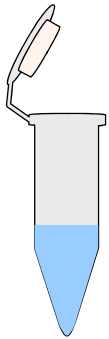


Annette Garbe

LC-MS/MS analyses

Typical experimental setup

(serum, plasma, cells, tissues, plants, bacteria, ...)



Sample preparation

- protein removal
- analyte extraction

HPLC (or GC)

- chromatographic separation

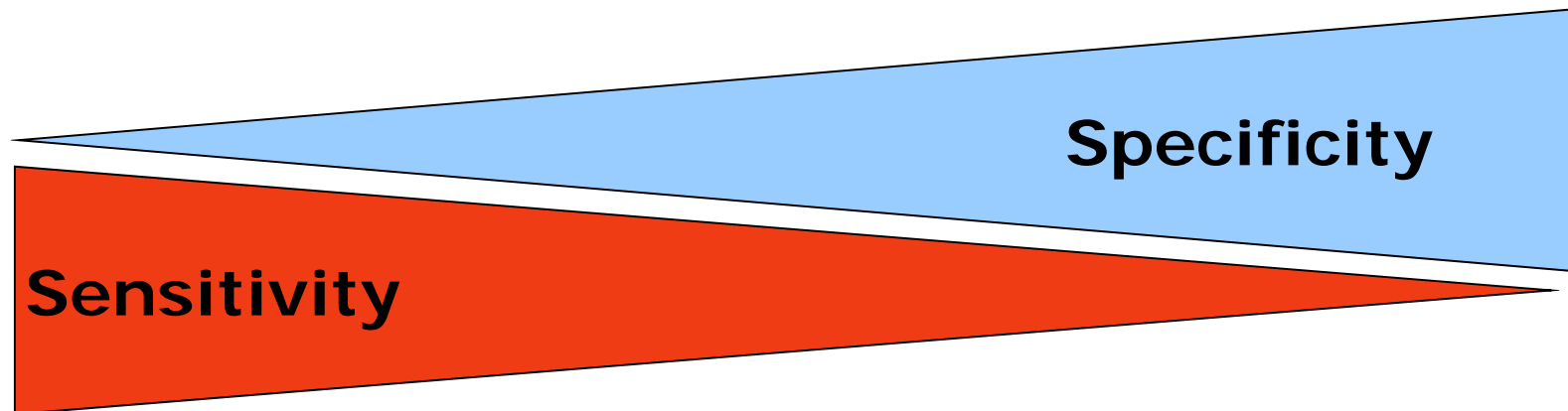
Mass spectrometer

- **specific mass detection**
 - ➔ identification
 - ➔ sensitive quantification

Comparison of *targeted* versus *non-targeted* metabolomics

non-targeted metabolomics

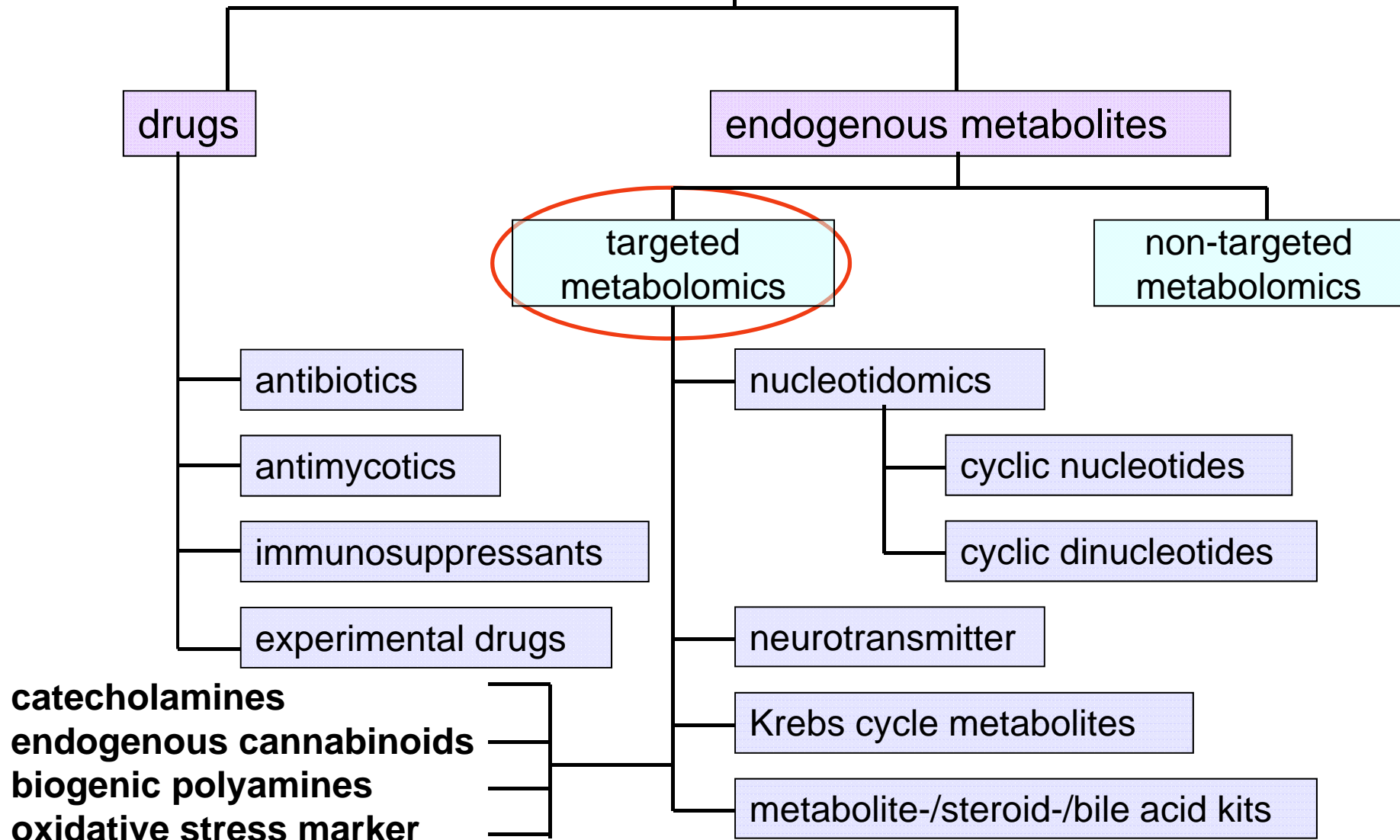
- Identification
- *time of flight* mass spectrometer



targeted metabolomics

- Quantification
- QqQ mass spectrometer

Research projects / Analyses



Selected references from 2015/2016

Lachmann, N., Czarnecki, K., Brenning, S., Phaltane, R., Heise, M., Heinz, N., Kempf, H., Dilloo, D., Kaefer, V., Schambach, A., Heuser, M., Moritz, T. Deoxycytidine-kinase (dCK) knock-down as a novel myeloprotective strategy in the context of fludarabine, cytarabine, or cladribine therapy. *Leukemia* **29**, 2266-2269, doi:10.1038/leu.2015.108 (2015).

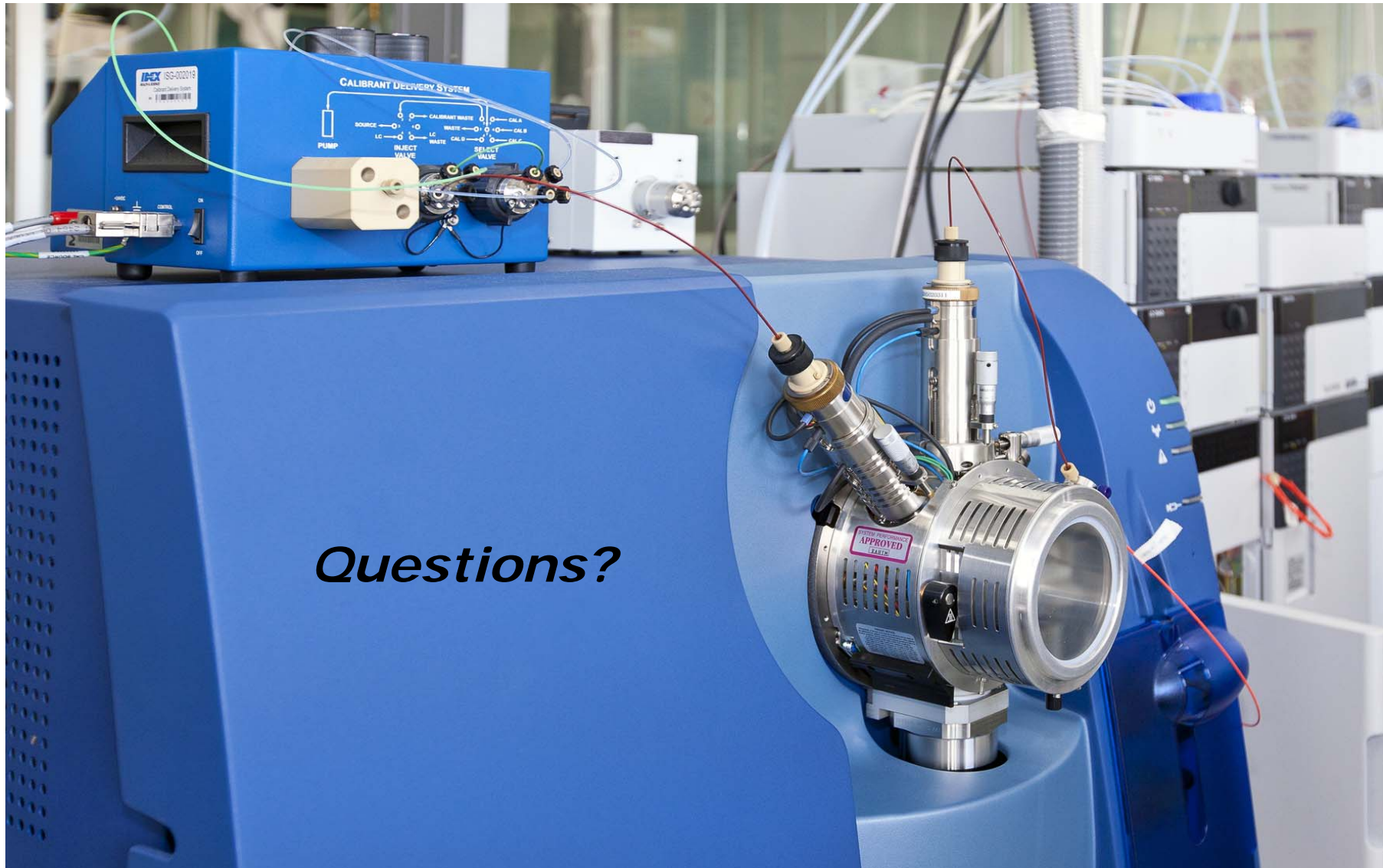
Zwadlo, C., Schmidtman, E., Szaroszyk, M., Badder, K., Froese, N., Hinz, H., Schmitto, J.D., Widder, J., Batkai, S. Bähre, H., Kaefer, V., Thum, T., Bauersachs, J., Heinecke, J. Anti-androgenic therapy with finasteride attenuates cardiac hypertrophy and left ventricular dysfunction. *Circulation* **131**, 1071–1081, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.114.012066 (2015)

Blanka, A., Düvel, J., Dötsch, A., Klinkert, B., Abraham, W.-R., Kaefer, V., Ritter, C., Narberhaus, F., Häussler, S. Constitutive production of c-di-GMP is associated with mutations in a variant of *Pseudomonas aeruginosa* with altered membrane composition. *Sci. Signal.* **8** (372), ra36, doi:10.1126/scisignal.2005943 (2015).

Cohen, D., Mechold, U., Nevenzal, H., Yarmiyhu, Y., Randall, T.E., Bay, D.C., Rich, J.D., Parsek, M.R., Kaefer, V., Harrison, J.J., Banin, E. Oligorobonuclease is a central feature of cyclic diguanylate signaling in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **112**, 11359-64, doi:10.1073/pnas.1421450112. (2015).

Bridgeman, A., Maelfait, J., Davenne, T., Partridge, T., Peng, Y., Mayer, A., Dong, T., Kaefer, V., Borrow, P., Rehwinkel, J. Viruses transfer the antiviral second messenger cGAMP between cells. *Science* **349** (6253), 1228–1232, doi:10.1126/science.aab3632 (2015).

Paijo, J., Döring, M., Spanier, J., Grabski, E., Nooruzzaman, M., Schmidt, T., Witte, G., Messerle, M., Hornung, V., Kaefer, V., Kalinke, U. cGAS senses human cytomegalovirus and induces type I interferon responses in human monocyte-derived cells. *PLoS Pathog.* **12**:e1005546, doi:10.1371/journal.ppat.1005546 (2016).



Questions?

Sven Schuchardt

(Metabolomics)



Medizinische Hochschule
Hannover



Medizinische Hochschule
Hannover

Targeted-(GxP)-Metabolomics-Plattform am Standort Fraunhofer ITEM Hannover

Dr. Sven Schuchardt
Abteilung
Bio- und Umweltanalytik



Fraunhofer-Gesellschaft: Service oder Forschungsgruppe?

Forschung und Entwicklung

- anwendungsorientierte Forschung zum unmittelbaren Nutzen für die Wirtschaft und zum Vorteil der Gesellschaft
- anwendungsorientierte Grundlagenforschung
- Ressortforschung für das Bundesverteidigungsministerium

Unternehmertum

- Institute arbeiten als Profit-Center
- ein Drittel des Budgets sind Einnahmen aus Industrieprojekten
- Ausgründungen durch Fraunhofer-Forscher werden gefördert

Vertragspartner/Auftraggeber

- Industrie- und Dienstleistungsunternehmen
- öffentliche Hand

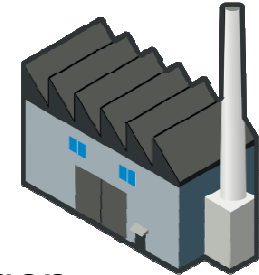
Leistungsspektrum und inhaltliche Schwerpunktsetzung



Guideline-konforme Methodenvalidierung

VOC Innenraumanalytik /
Kabinenluftqualität

Arbeitsplatzmessungen



Strukturaufklärung von Metaboliten oder Verunreinigungen

Diagnostische VOC-Analytik

Zulassungsanalytik REACH

DeNovo-Sequenzierung von Antikörpern

Schwermetallanalytik

prä-klinische GLP Studien aus Blut und Geweben



Antibiotikaexposition in der Tierhaltung

klinische Phase I GCP Studien

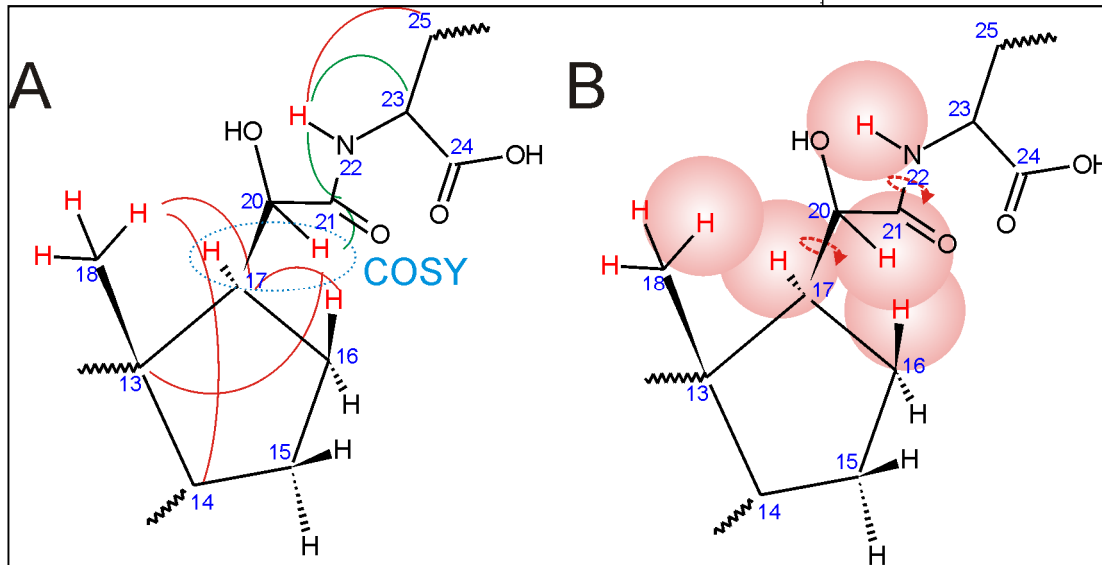
Methodenentwicklung



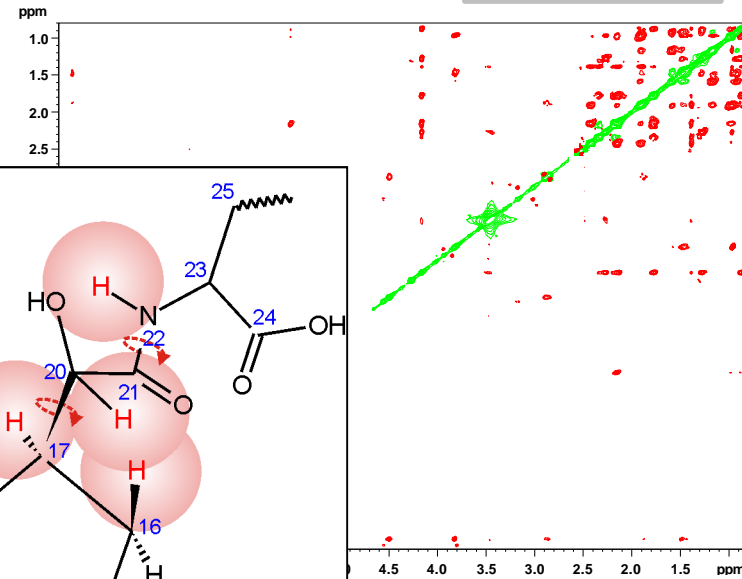
Leistungsspektrum und besonderes Know-how

Strukturaufklärung von unbekanntem Verbindungen mit Hilfe von 2D NMR und LC-MS

0,05mg HPLC-Schnitt RT= 18,1min davon ca. in 50/50 CDCl₃/DMSO-d₆ 18



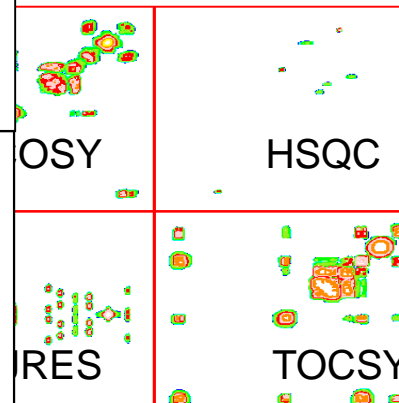
Compound 12 partial structure: **(A)** Schematic representation of the observed 2J (green lines) and 3J (red lines) couplings in HMBC. Connectivity between H-17 and H-20 is ensured by the spin system observed in COSY. **(B)** Significant nuclear Overhauser effects (NOE) between H atoms (marked in red) observed in ROESY.



```

NAME Phytochem
EXPNO 222
PROCNO 1
Date_ 20111021
Time 14:01
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm CPTCL1H-
PULPROG roespsh
TD 1024
SOLVENT DMSO
NS 16
DS 32
SWH 4432.624 Hz
FDRRES 4.328734 Hz
AQ 0.1155572 sec
RG 128
DW 112.800 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
D0 0.00010383 sec
D1 2.00000000 sec
D12 0.00002000 sec
IN0 0.00022560 sec

=====CHANNELF1=====
NUC1 1H
P1 7.80 usec
P15 200000.00 usec
PL1 3.00 dB
PL11 17.20 dB
PL1W 7.01221466 W
PL11W 0.26659691 W
SFO1 600.1325806 MHz
ND0 1
TD 512
SFO1 600.1326 MHz
FDRRES 8.657498 Hz
SW 7386 ppm
RMODE States-TPPI
SI 1024
SF 600.1299984 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 100
SI 512
MCZ States-TPPI
SF 600.1299952 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0.00 Hz
GB 0
    
```



Verfügbare Geräte und Personal



ICP-MS



LC-QTrap-MS



nano-LC-QTOF-MS



GC-MS

2 Wissenschaftler
7 Techniker und Angestellte



ATD-GC-MS



LC-NMR



präparative HPLC

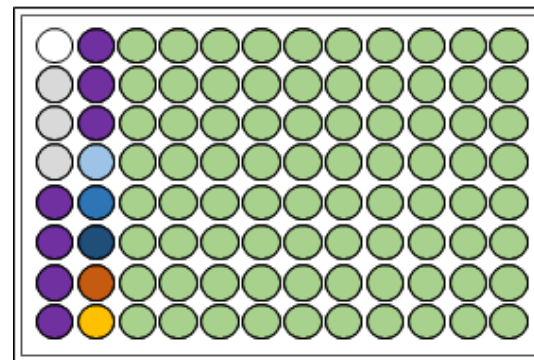
Innovative Ideen zur Stärkung der Gesamtinitiative



Etablierung einer Targeted-(GxP)-
Metabolomics-Plattform am
Standort Fraunhofer ITEM / CRC

AbsoluteIDQ p180 Kit

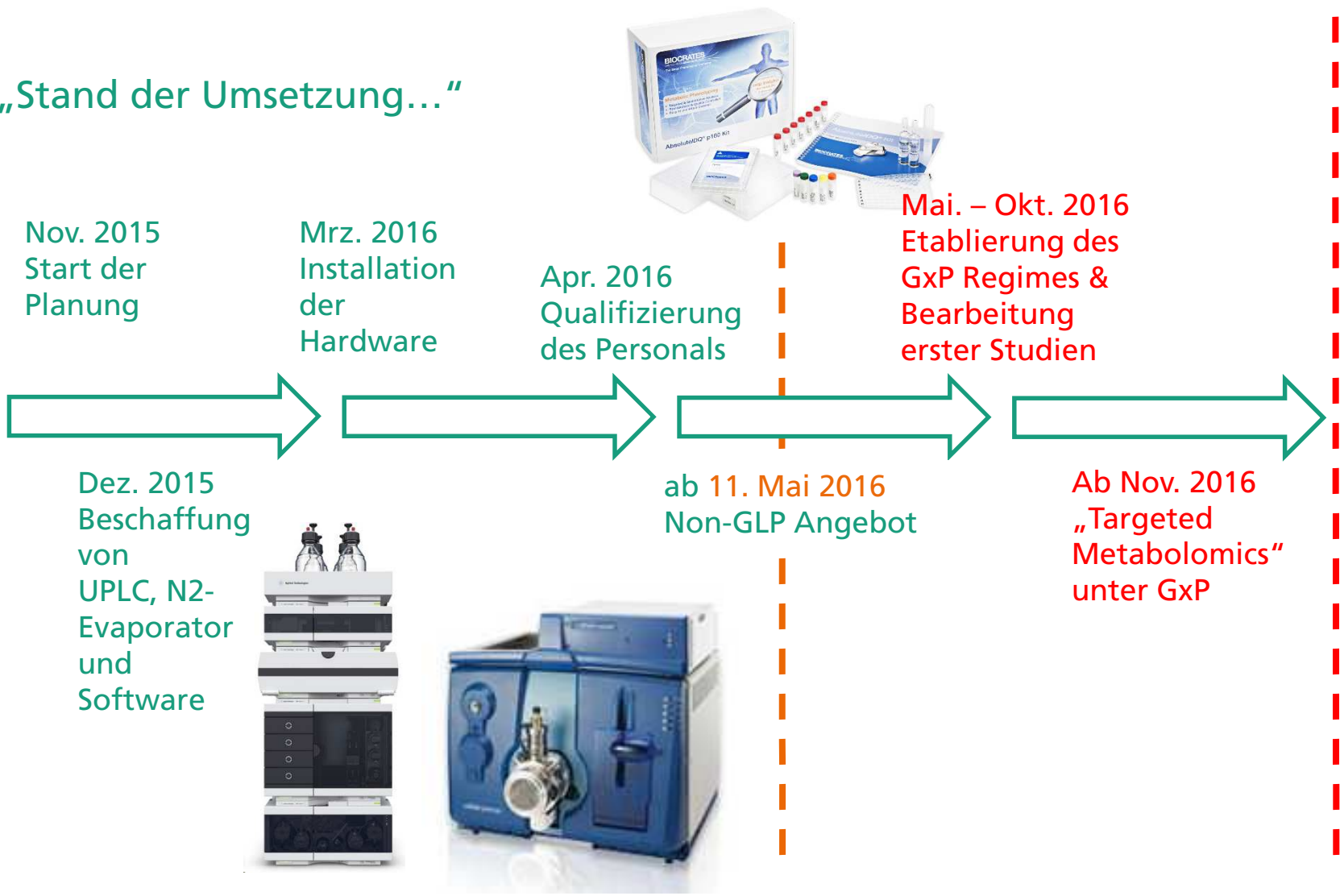
96-well plate layout



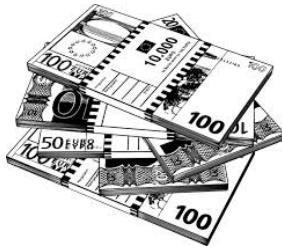
- double blank
- PBS 'zero' samples
- Calibration curve
- Low, Mid, High QC Stds
- Global Reference QC
- Study QC pool
- Study Samples

Targeted-(GxP)-Metabolomics-Plattform am Standort Fraunhofer ITEM / CRC

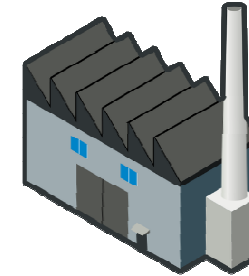
„Stand der Umsetzung...“



Konzeption...



Service-Angebot an
Industriepartner und
Dienstleistungsunternehmen



zertifiziertes High-Throughput Metabolomics-Screening = Omics-Subgruppe?



Service-Angebot an Hochschulen und
Forschungseinrichtungen
im Großraum Hannover (TRAIN)