

*Serviceangebot der*

## **Technologieplattform**

### **für Mikrobielle Genomforschung (TPMG)**

*im Rahmen der Förderinitiative GenoMik-Plus*

In den GenoMik-Netzwerken hat sich in der bislang vierjährigen Förderphase (2001-2005) eine Forschungsinfrastruktur entwickelt, die auf drei Feldern zur Ausbildung von Zentren mit den Schwerpunkten Genomsequenzierung und -annotation, Bioinformatik und Proteomik geführt hat. Diese Zentren sollen durch die Gründung einer Technologieplattform für Mikrobielle Genomforschung weiterentwickelt werden; sie wird aus den folgenden drei Bereichen bestehen:

- I. Bereich Göttingen: Genomsequenzierung und -annotation**
- II. Bereich Bielefeld: Bioinformatik**
- III. Bereich Greifswald: Proteomik**

# **I. Bereich Göttingen: Genomsequenzierung und -annotation**

## **Zusammenfassung**

Im Rahmen des Kompetenznetzwerks BiotechGenoMik hat sich an der Georg-August-Universität Göttingen ein Zentrum für die Sequenzierung mikrobieller Genome und die Aufarbeitung der Sequenzdaten für die funktionelle Genomanalyse herausgebildet. Verfahren zur Größenbestimmung mikrobieller Genome, zur Herstellung von Plasmid-Banken mit definierter Insert-Größe sowie von Cosmid- und Fosmid-Banken sind etabliert sowie die mikrobielle Genomsequenzierung im Hochdurchsatz. Strategien und entsprechende bioinformatische Werkzeuge stehen zur Verfügung, um möglichst effektiv die Sequenzdaten zu assemblieren, zu editieren und Sequenzlücken zu schließen. Die Leistungsfähigkeit wird dokumentiert durch die vollständige Sequenzierung von 13 mikrobiellen Genomen und zahlreichen Metagenombanken. Weitere 6 mikrobielle Genome stehen unmittelbar vor ihrem Abschluss. Wir verfügen über eine Datenbank, die alle sequenzierten mikrobiellen Genome enthält und die Annotation sequenzierter Genome und vor allem die Stoffwechselrekonstruktion und die vergleichende Genomanalyse ermöglicht. Darüber hinaus steht ein Transkriptom-Labor zur Verfügung, in dem genomweite DNA-Microarrays hergestellt und für physiologische Untersuchungen auch unter Einsatz von kontinuierlichen Kulturen eingesetzt werden können. Die bisher erzielten Leistungen sind dargestellt unter <http://www.genomik.uni-goettingen.de/> sowie unter <http://www.g2l.bio.uni-goettingen.de/>.

## **Leistungsbeschreibung**

Der Bereich Göttingen der TPMG ist durch erfolgreich abgeschlossene nationale und internationale Kooperationen auf Arbeiten eingestellt, die eine moderne automatisierte Ausstattung für die Sequenzierung von DNA im Hochdurchsatz und die kompetente bioinformatische Auswertung beinhalten, wobei diese Arbeiten durch hochqualifiziertes wissenschaftliches und technisches Personal durchgeführt werden. Darüber hinaus liegen spezielle Erfahrungen für die komparative Genomik und die sich anschließende Transkriptomik vor. Proteomanalysen werden in Kooperation mit dem Bereich Greifswald der TPMG durchgeführt; mit dem Bereich Bielefeld verbindet uns eine enge Zusammenarbeit in der Nutzung bioinformatischer Programme. Das Angebot umfasst folgende Leistungen:

- Herstellung von Plasmid-, Cosmid- und Fosmid-Banken aus genomischer DNA oder aus DNA aus Metagenom-Untersuchungen bzw. aus Biofilmen
- Durchführung der Sequenzierungen im Hochdurchsatz (z.B. mit Sequencer ABI 3730, Biopick-Roboter BioRobotics), mehreren Robots für Plasmidpräparationen (Quiagen 8000 und Quiagen 3000)
- Bearbeitung der Rohdaten mit dem Ziel der Assemblierung, der Editierung der Datensätze, der einschlägigen Verfahren zum Lückenschluss (unter Verwendung von Phred, den Programmen des Stadenpackages, Projector sowie ERGO)
- Automatische Annotation und manuelle Annotation unter Einsatz von YACOP, TIS, SIGI, ERGO und GenDB
- Stoffwechselrekonstruktion und komparative Genomik, z.B. zum Vergleich von Wildtypstämmen mit Hochleistungsstämmen oder von pathogenen und apathogenen, aber eng verwandten Bakterienarten
- Design und Herstellung von DNA-Microarrays unter Verwendung von Oligonukleotiden oder PCR-Produkten als Sonden (Lucidea Array Spotter)
- Durchführung von Transkriptionsanalysen und Genomvergleichen mit DNA-Microarrays (Genepix 4000B Arrayscanner, ASP Hybridization System)
- Auswertung der DNA-Microarray-Experimente

**Prof. Dr. Gerhard Gottschalk**

Laboratorium für Genomanalyse (G2L)  
Institut für Mikrobiologie und Genetik  
Georg-August-Universität Göttingen  
Grisebachstraße 8, 37077 Göttingen

Tel: +49-551-39-4041

Fax: +49-551-39-4195

E-Mail: ggottsc@gwdg.de

## II. Bereich Bielefeld: Bioinformatik

### Zusammenfassung

Im Rahmen der Förderinitiative GenoMik-Plus soll an der Universität Bielefeld eine Technologieplattform Bioinformatik eingerichtet werden. Diese bietet Dienstleistung bei der bioinformatischen Auswertung von Daten aus Genom- und Postgenomanalysen an. Mittels eines Internet-basierten **GenoMik-Portals** erhalten Kooperationspartner Zugriff auf die in Bielefeld vorgehaltene Rechner- und Software-Infrastruktur. Das Angebot auf dem Sektor **Genomik** umfaßt die Assemblierung und Annotation bakterieller Genome sowie die Auswertung von Daten aus Metagenomanalysen. Auf dem Gebiet **Transkriptomik** werden Programme zur Auswertung von Daten aus genomweiten Transkriptomanalysen zur Verfügung gestellt. Der Programm-übergreifende Zugriff auf gespeicherte Daten ist mittels eines spezifischen Daten-Integrationsprogramms möglich. Zusätzliche, optionale Serviceangebote erstrecken sich auf die bioinformatische Auswertung von Daten aus Proteomanalysen sowie auf experimentelle Arbeiten auf dem Sektor Transkriptomik.

### 1. Bioinformatik-Basisangebot mittels des GenoMik-Portals:

Die Bielefelder Bioinformatik-Softwareplattform wird über ein Internet-basiertes GenoMik-Portal etabliert. Dieses ermöglicht einen geschützten und benutzerspezifischen, aber dennoch standardisierten Zugang zu den einzelnen mikrobiellen Genomprojekten bzw. zu den jeweiligen Software-Komponenten. Erweiterungen der grundlegenden Portal-Funktionalität z.B. durch Literatur-Sammlungen, aktuelle Informationen zum Stand eines Projektes, Mailing-Listen, und Diskussions-Foren können dazu genutzt werden, das gesammelte Wissen über einen untersuchten Organismus zu bündeln und in strukturierter Weise leicht zugänglich zu machen. Die Technologieplattform Bioinformatik bietet die in Tabelle 1 aufgelisteten Dienstleistungen für alle Projektpartner auf den Gebieten Genom- und Transkriptomanalysen an. Das Angebot umfaßt neben der Speicherung, Vorhaltung und Pflege der experimentellen Daten auch deren Auswertung.

Basisangebote für Genomik	Basisangebote für Transkriptomik
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Qualitätskontrolle von Daten aus Sequenzierläufen</li> <li>• Assemblierung von Genomsequenzen aus Sequenzierdaten inklusive Sequenzpolierung und Lückenschluß</li> <li>• Automatische Annotation von Genomsequenzen inklusive Visualisierung</li> <li>• Genomvergleiche ausgewählter Mikroorganismen</li> <li>• Speicherung aller erstellten Genomdaten</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Berechnung spezifischer Oligonukleotide zur Erstellung von Microarrays</li> <li>• Speicherung experimenteller Arbeitsabläufe bei Microarray-Experimenten</li> <li>• Erfassung, Auswertung und Visualisierung von Hybridisierungsdaten</li> <li>• Speicherung aller Daten aus Microarray-Experimenten</li> </ul>

**Tabelle 1:** Angebotene Dienste der Technologieplattform Bioinformatik der Universität Bielefeld

## 2. Optionale Serviceangebote

Die Technologieplattform Bioinformatik bietet optional auch die bioinformatische Auswertung von **Proteomdaten** an. Das Programm beinhaltet eine LIMS Komponente zur Speicherung von experimentellen Arbeitsabläufen sowie Bild- und Messdaten. Weiterhin wird der Benutzer über eine web-basierte Oberfläche bei der Analyse von 2D Gelen unterstützt und es erfolgt eine weitgehende Automatisierung der verschiedenen Arbeitsschritte.

Die Integration der verschiedenen Datensätze aus Genom-, Transkriptom- und Proteomanalysen mit den verschiedenen Software-Komponenten vermittelt ein Programmpaket, das die direkte Verknüpfungen von heterogenen Daten auf der Programm- und Benutzerfrontend-Ebene ermöglicht. Für die Projekt- und Benutzerverwaltung steht ein Projekt-Management-System (GPMS) zur Verfügung.

Neben den beschriebenen Bioinformatik-Angeboten können Kooperationspartner auch Dienstleistungen bei experimentellen Arbeiten auf dem Gebiet Transkriptomik erhalten. Dies betrifft die Herstellung genomweiter Microarrays, die Organismus-spezifischen methodischen Anpassungen zur Herstellung und Markierung zellulärer RNA sowie deren Einsatz in Hybridisierungsexperimenten.

**Prof. Dr. A. Pühler (Koordinator)**  
 Universität Bielefeld  
 Lehrstuhl für Genetik  
 Postfach 100131  
 D-33501 Bielefeld  
 Tel.: 0521-106-5607  
 Fax: 0521-106-5626  
 E-Mail: Puehler@Genetik.Uni-Bielefeld.DE

**Dr. W. Selbitschka (Geschäftsführer)**  
 Universität Bielefeld  
 Lehrstuhl für Genetik  
 Postfach 100131  
 D-33501 Bielefeld  
 Tel.: 0521-106-5604  
 Fax: 0521-106-5626  
 E-Mail: Werner.Selbitschka@Genetik.Uni-Bielefeld.DE

### **III. Bereich Greifswald: Proteomik**

#### **Zusammenfassung**

Mit der Vorlage der Genomsequenz ist lediglich der „Bauplan des Lebens“, nicht das Leben selbst beschrieben. Jetzt ist die funktionelle Genomforschung gefragt, wenn es gilt, das „virtuelle Leben der Gene in das reale Leben der Proteine“ umzuschreiben. Dafür wird insbesondere die Proteomanalyse benötigt, da sie sich wie keine andere Disziplin der funktionellen Genomforschung mit den eigentlichen „Spielern des Lebens“, den Proteinen beschäftigt. Die Methoden der Proteomanalyse entwickeln sich international mit einem rasanten Tempo: Verfahren der Hochdurchsatzproteomanalyse über Neuentwicklungen auf dem Gebiet der Gelevaluierung bis zur gelfreien Proteomics, verbunden mit Entwicklungen der Massenspektrometrie, sind hier zu nennen, die nicht nur höchst kostenaufwendig sind, sondern auch ein eingespieltes Team von Spezialisten erfordern. Heute ist es daher nicht mehr möglich, das breite Spektrum von Methoden der Proteomanalyse in einer einzelnen Arbeitsgruppe zu etablieren. Zentrenbildung heißt der internationale Trend, wodurch der Zugang der Arbeitsgruppen zu den Techniken der Proteomics auch in Zukunft kostengünstig garantiert wird. Im Rahmen der BMBF-Förderinitiative GenoMik-Plus soll an der Universität Greifswald eine Technologieplattform Proteomics eingerichtet werden. Diese bietet Kooperationsvorhaben auf den Gebieten der Proteomanalyse an.

#### **Leistungsbeschreibung**

In Greifswald sind die Methoden für Hochdurchsatz-Proteomics, der Massenspektrometrie sowie der gelfreien Proteomanalyse etabliert, zumal die AG auf eine fast 20-jährige Erfahrung in der mikrobiellen Proteomanalyse zurückblicken kann. Bei Vorlage der Genomsequenz sind Proteinidentifikationen nach 2D-gelelektrophoretischer Auftrennung der Proteine mit Hilfe der Hochdurchsatz-Proteomanalyse sehr effektiv möglich. Diese Studien schließen vergleichende Proteomanalysen, Einsatz von Gelevaluierungsverfahren sowie die bioinformatische Auswertung von Proteomdaten ein.

In Kooperationen sind auch weitere, mehr in die Tiefe gehenden Analysen zu vereinbaren, die aber bedeutend mehr Zeit in Anspruch nehmen:

- vergleichende Analysen der Proteinmenge bzw. Proteinsyntheserate
- vergleichende Proteom- und Transcriptomanalysen
- Analyse von Sub-Proteomfunktionen (z. B. Sekretome)
- gelfreie Proteom-Analysen (z. B. Membranproteine)
- posttranslationale Modifikationen oder Schädigungen von Proteinen (Phosphoproteom, Disulfidproteom u. dgl.)
- Analyse der Proteinstabilität (auf Ebene des Gesamtproteoms).

Für die Kooperationen stehen Spezialisten sowie moderne Proteomanalysetechniken zur Verfügung, u. a. verschiedene Scanner, die Integrated Spot Handling Platform von Amersham Biosciences, die Proteom Work Station mit Scanner, Spot Cutter und Mass-Prep-Station von Biorad/Perkin Elmer, mehrere Massenspektrometer (Voyager DE-STR MALDI, Ettan-MALDI, QStar TM und MDLC, Applied Biosystems 4700 Proteomic Analyser) sowie ein LTQ-FTICR, Thermo Finnigan.

**Prof. Dr. Michael Hecker**

E.-M.-Arndt-Universität Greifswald

Institut für Mikrobiologie

F.-L.-Jahn-Straße 15

17489 Greifswald

Tel.: 03834-864200

Fax: 03834-864202

E-Mail: [hecker@uni-greifswald.de](mailto:hecker@uni-greifswald.de)