

**Serviceangebot der  
Technologieplattform für Mikrobielle Genomforschung  
(TPMG)**

**im Rahmen der Förderinitiative  
„Medizinische Infektionsgenomik -  
Genomforschung an pathogenen Mikroorganismen“**

In den GenoMik-Netzwerken hat sich in der bislang achtjährigen Förderphase (2001-2009) eine Forschungsinfrastruktur entwickelt, die auf drei Feldern zur Ausbildung von Zentren mit den Schwerpunkten Genomsequenzierung und -annotation, Bioinformatik und Proteomik geführt hat. Diese Zentren wurden durch die Gründung einer Technologieplattform für Mikrobielle Genomforschung weiterentwickelt; sie besteht aus den folgenden drei Bereichen:

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

**II. Bereich Bielefeld: Bioinformatik**

**III. Bereich Greifswald: Proteomik**

Ergänzt wird dieses Angebot durch eine am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie zur Verfügung stehende RNAi-Plattform:

**VI. Bereich Berlin: Hochdurchsatzanalytik**

# I. Bereich Göttingen: Genomsequenzierung und -annotation

## Zusammenfassung

Im Rahmen der GenoMik und GenoMik-Plus Programme hat sich an der Georg-August-Universität Göttingen ein international renommiertes Zentrum für die Sequenzierung und die Annotation von mikrobiellen Genomen und Metagenomen herausgebildet. Dies schließt die Aufarbeitung der Sequenzdaten für die funktionelle Genomanalyse ein. Verfahren zur Größenbestimmung mikrobieller Genome, zur Herstellung von Plasmid-Banken mit definierter Insert-Größe sowie von Cosmid-, Fosmid- und cDNA-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 zahlreiche hochkarätige Publikationen. Das Sequenzierzentrum verfügt 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. Dies wird ergänzt durch Meta-Transkriptom-Analysen auf Basis der Sequenzierung von cDNA aus mikrobieller RNA. Die bisher erzielten Leistungen sind dargestellt 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 und cDNA 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 Metagenomik und die sich anschließende Transkriptomik und Meta-Transkriptomik vor. Das Angebot umfasst folgende Leistungen:

- Herstellung von Genbanken aus genomischer und metagenomischer DNA bzw. RNA (cDNA)
- Durchführung von Sequenzierungen von Genomen, Metagenomen, DNA-Fragmenten, cDNA und Transkriptomen im Hochdurchsatz (Pyrosequenzierung: Roche FLX- und Titanium-Technologie, paired-end Technologie sowie Sanger-Sequenzierung)
- 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, ERGO, Newbler)
- Automatische Genzuweisung und manuelle Korrektur
- Automatische Annotation und manuelle Annotation unter Einsatz von YACOP, TIS, SIGI, COLOMBO, ERGO, BI-BLAST
- Stoffwechselrekonstruktion und komparative Genomik, z.B. zum Vergleich von Wildtypstämmen mit Hochleistungsstämmen oder von pathogenen und apathogenen, aber eng verwandten Bakterienarten, sowie von mikrobiellen Konsortien
- Herstellung von Oligonukleotiden für die Gewinnung von DNA-Microarrays
- Durchführung von Transkriptionsanalysen (z. B. mit Lucidea Array Spotter, Genepix 4000B Arrayscanner, ASP Hybridization System)
- Durchführung von Meta-Transkriptomanalysen
- Auswertung der DNA-Microarray-Experimente

**PD Dr. Rolf Daniel**

**Prof. em. Dr. Gerhard Gottschalk**

Laboratorium für Genomanalyse (G2L), Institut für Mikrobiologie und Genetik

Georg-August-Universität Göttingen

Grisebachstraße 8, 37077 Göttingen

Tel: +49-551-39-3827

E-Mail: [rdaniel@gwdg.de](mailto:rdaniel@gwdg.de)

## II. Bereich Bielefeld: Bioinformatik

### Zusammenfassung

Die an der Universität Bielefeld angesiedelte Technologieplattform für Bioinformatik bietet Kooperationspartnern umfassende Unterstützung bei der Vorhaltung und bioinformatischen Auswertung von Daten aus Genom- und Postgenomanalysen an (<http://www.cebitec.uni-bielefeld.de/brf>). Mittels eines Internet-basierten Zugangs erhalten Kooperationspartner Zugriff auf die in Bielefeld vorgehaltene Rechner- und Software-Infrastruktur. Das Basisangebot bezieht sich auf die bioinformatische Interpretation von Genom- und Metagenomdaten sowie auf komparative Analysen (Tabelle 1). Das erweiterte Angebot umfasst die Nutzung von Programmen zur Auswertung von Daten aus Transkriptom, Proteom- und Metabolomanalysen. Der Programm-übergreifende Zugriff auf alle Daten ist mittels eines spezifischen Daten-Integrationsprogramms möglich. Daneben wird Unterstützung bei experimentellen Arbeiten auf den Gebieten der DNA-Sequenzierung und Transkriptomik geleistet.

### 1. Bioinformatik-Basisangebot:

Die Bielefelder Bioinformatik-Softwareplattform wird über ein Internet-basiertes GenoMik-Portal angeboten. Dieses ermöglicht einen geschützten und benutzerspezifischen, aber dennoch standardisierten Zugang zu den einzelnen mikrobiellen Genom- und Metagenomprojekten bzw. zu den jeweiligen Software-Komponenten. Die Technologieplattform Bioinformatik bietet die in Tabelle 1 aufgelisteten Kooperationsangebote für alle Projektpartner auf den Gebieten Genom- und Metagenomanalysen an. Das Angebot umfasst die Speicherung, Vorhaltung und Pflege der experimentellen Daten sowie deren bioinformatische Interpretation.

Basisangebot für Genomanalysen	Basisangebote für Metagenomanalysen
<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Qualitätskontrolle von Daten aus Sequenzierläufen</li><li>▪ De novo Assemblierung von Genomsequenzen</li><li>▪ Auswertung von Genom-Resequenzierungen</li><li>▪ Automatische Annotation mikrobieller Genome (z.B. Bakterien, Hefe, Pilze)</li><li>▪ Komparative Genomik (Analyse von Pan- und Supragenomen)</li><li>▪ Speicherung aller erstellten Genomdaten</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Qualitätskontrolle von Sequenzdaten</li><li>▪ Erstellung taxonomischer Profile</li><li>▪ Assemblierung von Sequenzen</li><li>▪ Funktionale Analysen inkl. gezielter Identifizierung spezifischer Genfunktionen</li><li>▪ Vergleich verschiedener Metagenomdatensätze</li><li>▪ Bereitstellung von Visualisierungs-Tools</li><li>▪ Speicherung aller Daten aus Metagenomexperimenten</li></ul>

**Tabelle 1:** Basisangebote der Technologieplattform Bioinformatik der Universität Bielefeld

### 2. Erweitertes Angebot

Die Technologieplattform Bioinformatik bietet auch die bioinformatische Auswertung von **Transkriptom-, Proteom- und Metabolomdaten** an. Die Programme beinhalten 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 experimentellen Datensätzen unterstützt und es erfolgt eine weitgehende Automatisierung der verschiedenen Arbeitsschritte. Die Integration der verschiedenen Datensätze aus Genom-, Transkriptom-, Proteom- und Metabolomanalysen 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. Kooperationspartner können daneben auch Unterstützung bei experimentellen Arbeiten auf den Gebieten DNA-Sequenzierung (z.B. *de novo* oder Resequenzierungen) und Transkriptomik (z.B. Array-Technologie) erhalten.

Prof. Dr. A. Pühler  
Universität Bielefeld, CeBiTec  
Postfach 100131  
D-33501 Bielefeld  
Tel.: 0521-106-8750, Fax: 0521-106-89046  
E-Mail: Puehler@CeBiTec.Uni-Bielefeld.DE

Dr. A. Goesmann  
Universität Bielefeld, CeBiTec - BRF  
Postfach 100131  
D-33501 Bielefeld  
Tel.: 0521-106-4821, Fax: 0521-106-89046  
E-Mail: AGoesmann @CeBiTec.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 wurde 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, quantitative Proteomics
- vergleichende Proteom-, Transcriptom- und Metabolomanalysen
- Darstellung des Gesamtproteoms pathogener Bakterien und Hefen
- Analyse von Sub-Proteomfraktionen (z. B. Sekretome)
- gelfreie Proteomanalysen (z. B. Membranproteine)
- Oberflächen-assoziierte Proteine und Pathogenität
- posttranslationale Modifikationen oder Schädigungen von Proteinen (Phosphoproteom, Disulfidproteom, Proteinreparatur u. dgl.)
- Proteomanalysen unter infektionsrelevanten Bedingungen
- Proteininteraktionsnetzwerke
- 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 (hochauflösende MALDI- und ESI-Massenspektrometer mit MS/MS-Option)

#### **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

## VI. Bereich Berlin: Hochdurchsatzanalytik

### Zusammenfassung

Für den Erhalt eines umfassenderen Verständnisses von Infektionsprozessen sowie zum Auffinden relevanter pharmakologischer Zielstrukturen sind Hochdurchsatzverfahren (high throughput) und Multiparameteranalysen (engl. 'high-content') unentbehrlich geworden. Der Einsatz leistungsfähiger Roboter in Verbindung mit menschlichen Zellkulturen und hochauflösender mikroskopischer Techniken ermöglicht bisher ungeahnte Einblicke in viele Bereiche der modernen Infektionsforschung. Interessante Einsatzmöglichkeiten liegen z.B. in

- der genomweiten Charakterisierung von Wirtszellfunktionen im Infektionsverlauf,
- der Isolation von Erregermutanten aus Mutantenbibliotheken mit veränderter Wirkung auf Wirtszellen, sowie (iii)
- dem Screenings von „small molecule“ Inhibitoren in Verbindung mit menschlichen Indikatorzellen.

Den biologischen Fragestellungen sind fast keine Grenzen gesetzt. Voraussetzung ist jedoch die Entwicklung geeigneter Assays und „read-out“ Systeme zur Gewährleistung einer möglichst hohen und statistisch relevanten Datenqualität.

Die am Max Planck-Institut für Infektionsbiologie (MPIIB) vorhandene Technologieplattform wurde mit finanzieller Unterstützung durch das BMBF, der Max-Planck-Gesellschaft und anderer Förderorganisationen aufgebaut. Bisher wurden vor allem Hochdurchsatzanalysen mittels RNA-Interferenz in humanen Infektionsmodellen durchgeführt. Beispielhaft wird auf eine jüngste Publikation verwiesen (Karlas et al. 2010; Jan. 17, doi:10.1038/nature08760). Am MPIIB werden derzeit ca. 15 verschiedene Screeningansätze (zum Teil in Kooperationsvorhaben mit anderen Gruppen) verfolgt.

### Leistungsbeschreibung

Zur Verbesserung seiner Leistungsfähigkeit hat sich das MPIIB mit weiteren Einrichtungen in einem „Berlin International Screening Center“ (BISC) zusammengeschlossen. Hier stehen alle wichtigen Gerätschaften und Einrichtungen zur Durchführung von Hochdurchsatz- und Multiparameteranalysen der Sicherheitsstufen BSL2 und BSL3 zur Verfügung. Dies umfasst Robotersysteme (Beckman Coulter Biomek FX<sup>P</sup>) zur Analyse von Infektionsprozessen im 384-Well-Format, z.T. auch zeitlich aufgelöst. Automatische Mikroskope (Scan<sup>AR</sup>, Olympus OSIS) und andere Datenerfassungssysteme (Perkin Elmer EnVision; TPP Acumen) sorgen für eine effiziente Datenakquise. Zur Analyse der Primärdaten und zur systembiologischen Einordnung der Ergebnisse kann auf erprobte bioinformatische Verfahren und Erfahrung zurückgegriffen werden.

Die Durchführung zukünftiger Vorhaben im Rahmen des Förderprogramms „Medizinische Infektionsgenomik“ erfolgt nach den Grundsätzen der wissenschaftlichen Kooperation. Ein Projekt beginnt mit der gemeinsamen Festlegung des Projektziels und der Etablierung eines geeigneten Assays als wesentlicher Meilenstein für den Beginn eines geplanten Screens. Sofern der etablierte Assay den Anforderungen für eine Automatisierung genügt, wird mit der Durchführung des Hochdurchsatz-Vorhabens begonnen. Hierbei kommt geschultes wissenschaftliches und technisches Personal zum Einsatz.

#### Ansprechpartner

Prof. Dr. Thomas F. Meyer  
Abteilung Molekulare Biologie  
Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie  
Charitéplatz 1  
10117 Berlin  
[www.mpiib-berlin.mpg.de](http://www.mpiib-berlin.mpg.de)  
[meyer@mpiib-berlin.mpg.de](mailto:meyer@mpiib-berlin.mpg.de)  
Fon +49 30 28 46 04 02  
Fax +49 30 28 46 04 01

#### Partner des BISC

Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie  
Steinbeis Center for Systems Biomedicine gGmbH  
Lead Discovery Center GmbH