

GENOMXPRESS 1.07

Informationen aus der deutschen Genomforschung

Expression und Sekretion von Biokatalysatoren in *Burkholderia glumae* · *Corynebacterium jeikeium* – Von der Genomsequenz zum Modellorganismus der Deodorantforschung
Entschlüsselung der Genomsequenz von *Listeria welshimeri* · Kandidatengene für Milchleistungsmerkmale bei Fleckvieh und Braunvieh · Genetical Genomics der Gerstenkornentwicklung · Der »rote Wolf« eine typische Frauenkrankheit? · Schwerwiegende Infektionen durch Blockade eines Proteins · Qualitätsmanagement im Nationalen Genomforschungsnetz · Technologien: Chiplabor für molekular-diagnostische Anwendungen
Portrait: Petra Jorasch · Firmenportrait: GenXPro GmbH · News & Confuse · Science Digest
Jobbörse



Qualitätsmanagement im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN)

Was ist und kann Qualitätsmanagement?

Stefan Wiemann für die Mitglieder der Arbeitsgruppe Qualitätsmanagement und Standards

Qualitätsmanagement (QM) ist definiert als Management mit dem Ziel der Optimierung von Arbeitsabläufen unter der Berücksichtigung des Qualitätserhalts von Produkten oder Daten. Zudem müssen die Abläufe so detailliert dargestellt werden, dass Ergebnisse und deren Interpretation auch für andere nachvollziehbar sind. Nur so können in der Wissenschaft neue Erkenntnisse in Bezug auf die Qualität und Relevanz für die eigene Forschung beurteilt werden. Neben einheitlichen Standards zur Durchführung von Experimenten müssen daher auch einheitliche Standards zur Dokumentation der eingesetzten Materialien und Abläufe entwickelt und eingehalten werden. Im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN) erfolgt die Sammlung von Daten häufig in hohem Durchsatz wobei große Datensätze generiert und analysiert werden. Der Etablierung und Aufrechterhaltung hoher Qualitätsstandards kommt dabei eine entscheidende Bedeutung zu, um eine breite Verwertbarkeit erzielter Ergebnisse zu gewährleisten. Biologische Systeme sind zudem komplex und unterschiedlich, so dass ein Befund, der in einem System identifiziert wurde, nicht notwendigerweise auf ein anderes System übertragbar ist. Dies trifft z.B. auf intrazelluläre Signalketten zu, die in verschiedenen Zellen unterschiedlich verschaltet sein können, so dass sich bei gleichem Input verschiedene Konsequenzen ergeben. Nur die exakte Beschreibung des für ein Experiment verwendeten Systems ermöglicht dem Fachmann die Beurteilung wie allgemein oder spezifisch eine Erkenntnis ist. Diese Herausforderungen wurden im NGFN früh erkannt; bereits im Jahr 2003 wurde die Arbeitsgruppe Qualitätsmanagement & Standards mit dem Ziel ins Leben gerufen, Richtlinien für die Steigerung und Sicherung der Qualität von Hochdurchsatz-Daten aus den verschiedenen Projekten des NGFN zu erarbeiten.

Konzepte werden ständig weiter entwickelt

Bereits seit 2003 kommen mit dem Qualitätsmanagement befasste Wissenschaftler aus verschiedenen Bereichen des NGFN regelmäßig zu Workshops zusammen. Dort wird über aktuelle und für die Projekte im NGFN relevante Themen zu QM und Standards informiert, Erfahrungen werden ausgetauscht, und bestehende Konzepte werden weiter entwickelt sowie neue erarbeitet. Qualitätssichernde Maßnahmen, sei es bei der Organisation, beim Material- und Datenaustausch oder bei der Prozesskontrolle werden dabei optimiert, und schließlich in den Projekten des NGFN umgesetzt. Die Arbeitsgruppe (AG) stellt sich mit spezifischen Projekten im Internet auf den Seiten des NGFN vor (Web-Referenzen siehe unten). Von dort gibt es Verknüpfungen zu Dokumenten sowie Informationen zu den jeweils verantwortlichen Wissenschaftlern. Durch die aktive Beteiligung von Vertretern des Lenkungsgremiums (externes Steuerungsgremium des NGFN), sowie die stetige Unterstützung durch das Projektkomitee (internes Steuerungsgremium des NGFN) im NGFN wird die Stellung des Komplexes QM & Standards und der Arbeitsgruppe innerhalb des Förderkonzepts NGFN unterstrichen. Im Folgenden sind drei Beispiele aufgeführt, anhand derer die Arbeit der AG QM & Standards verdeutlicht werden soll. Im Anschluss erfolgt ein Ausblick auf Schwerpunkte der zukünftigen Arbeit der AG.

Eindeutige Regeln für Klinische Daten

Das Vertrauen von Patienten in den verantwortungsvollen Umgang mit ihren Daten und Proben in der Wissenschaft ist Grundvoraussetzung für eine hohe Akzeptanz und letztlich für den Erfolg der Forschung. Um die Rechte von Patienten zu schützen müssen Studien

mit klinischen Daten und Patientenproben die bestehenden Datenschutzrichtlinien erfüllen, so sind solche Studien ausschließlich bei vorliegenden Einverständniserklärungen der Patienten möglich. Eindeutige Regeln für den Umgang mit Patientendaten werden im NGFN gemeinsam mit der Telematikplattform für Medizinische Forschungsnetze (TMF e. V.) entwickelt und mit relevanten Ethikkommissionen (z.B. der DFG) sowie in enger Kooperation mit lokalen Ethikkommissionen abgestimmt. Für die Übermittlung, das Speichern und die Beschreibung personennaher Daten werden derzeit drei Konzepte bearbeitet:

1. Patientendaten, Informationen zu den Biomaterialien (z.B. Gewebe, Blut) und experimentelle Daten (z.B. genomische Daten, Proteindaten, SNPs) müssen für die Auswertung verknüpft werden können, ohne dass die Reidentifizierung einzelner Patienten möglich ist. Dies wird z.B. durch dezentrale Speicherung von Daten in verschiedenen Einrichtungen erreicht.
2. Im Falle von prospektiven Studien werden Patientendaten pseudonymisiert. Ausschließlich der direkt behandelnde Arzt kann über ein genau geregeltes Verfahren auch auf die persönlichen Daten zugreifen. Nur er verfügt so auch über die Möglichkeit, Forschungsergebnisse an die jeweiligen Patienten zu übermitteln oder, das Einverständnis der Patienten vorausgesetzt, weitere Proben für eine Studie zu sammeln.
3. Umfangreiche Spezifikationen für die Beschreibung klinischer Daten sind in Zusammenarbeit mit den Klinikern der NGFN Krankheitsnetze entwickelt worden. Die grundlegenden und krankheitsbezogenen Parameter sind in die Strukturen der NGFN Datenbanklösungen integriert. Die Verwendung dieser einheitlichen Terminologie samt kontrolliertem Vokabular ist Grundvoraus-

setzung für die Weiterverwendung der Studiendaten und für Analysen über Studiengrenzen hinweg. Komplexere klinische Klassifizierungen sind nun durch die standardisierten und umfangreichen Annotationen möglich. Eine eigene NGFN-Ontologie wurde entwickelt, die es Klinikern, Biologen und Bioinformatikern erlaubt, eine gemeinsame Sprache zu sprechen. Um den validierbaren Austausch zu ermöglichen, wurde ein XML-Schema auf Grundlage dieser Spezifikationen etabliert. Mit dieser Arbeit trägt die AG QM & Standards wesentlich dazu bei, Standards für den sicheren Umgang mit Patientendaten zu etablieren.

Einheitliche Standards wurden eingeführt

Standard Operating Procedures (SOPs) sind ein wesentliches Element der Qualitätssicherung und der Standardisierung. Prozesse werden detailliert beschrieben, um Anwendern in unterschiedlichen Laboratorien einheitliche Protokolle an die Hand zu geben, mit denen eine vergleichbare und qualitativ hochwertige Herstellung von Proben sowie die Durchführung von Experimenten möglich sind. Während solche Vorgänge in der Industrie längst etabliert sind, wurde die dringende Notwendigkeit zur Einhaltung von Standards in der Versuchsdurchführung in der Wissenschaft erstmals in der Genexpressionsmuster-Analyse erkannt und über die Formulierung von SOPs erfolgreich umgesetzt. Inzwischen sind SOPs auch für eine Reihe weiterer Forschungsgebiete etabliert. Ein wesentlicher Beitrag der AG QM & Standards zur nationalen und internationalen Forschung stellt daher eine Sammlung von SOPs dar, die in verschiedenen NGFN-Projekten kooperativ entwickelt und eingesetzt werden, und die über das Internet frei verfügbar sind. Da Wissenschaft, sehr zur Freude der Wissenschaftler, stets innovativ und kreativ sein muss, unterliegen allerdings auch SOPs einer ständigen Entwicklung. Um daher auch nach längerer Zeit die genauen experimentellen Konditionen, die einmal zu spezifischen Ergebnissen geführt haben, nachvollziehen zu können ist im NGFN eine eindeutige Kennzeichnung der jeweils verwendeten Versionen von SOPs, sowie ein Zugriff auch auf Vorgängerversionen eingerichtet. Mit diesen SOPs aus verschiedenen Bereichen trägt die AG QM & Standards zudem erheblich zur internationalen Sichtbarkeit des NGFN bei.

Standardisierte Beschreibungen machen Daten vergleichbar

Im NGFN, wie auch in anderen Projekten die Hochdurchsatz-Methoden einsetzen, werden große Datenmengen gesammelt, ausgewertet und interpretiert. Damit die gewonnenen Erkenntnisse allgemein nachvollziehbar sind, müssen Mindestanforderungen an die Beschreibung dieser Daten etabliert und eingehalten werden. Zum Beispiel muss für jeden Datensatz beschrieben sein, „warum“ und „wie“ er erhoben und ausgewertet wurde. Ohne solche Informationen – „Reporting“ Standards – wären vergleichende Studien, in denen z.B. Datensätze aus verschiedenen Experimenten oder Laboratorien in Bezug gesetzt werden sollen, unzuverlässig oder gar nicht möglich. In der systematischen Analyse der Genexpression in Geweben („Expression Profiling“) wurde ein solcher Standard (Minimum Information About a Microarray Experiment – MIAME) erstmals entwickelt. Dieser Standard hat seitdem nicht nur zur Vergleichbarkeit von Datensätzen geführt, sondern hat auch sehr zur Steigerung der Qualität von Experimenten und Daten beigetragen. Viele Wissenschaftler brachten dort ihre Erfahrungen ein, um eine kurze aber dennoch exakte Definition der wichtigsten Parameter zu erarbeiten. In der Beschreibung von Daten müssen nun kritische Punkte angegeben werden, wodurch der Blick der Anwender häufig erst auf solche Aspekte gelenkt wird.

Die aktive Teilnahme an der Entwicklung oder gar die Übernahme einer leitenden Stellung in Standardisierungsprojekten sind weitere Kernpunkte der AG QM & Standards im NGFN. So sind ähnliche Standards für andere Bereiche der Hochdurchsatz Forschung in Entwicklung. Aus dem NGFN ist insbesondere eine Initiative für die Minimale Information zur Beschreibung von zellulären Funktions-Assays (MIACA – Minimum Information About a Cellular Assay) hervorgegangen. Zelluläre Funktions-Assays werden in breiten Anwendungsgebieten eingesetzt, um biomedizinische Fragestellungen zu beantworten. Zellen werden dabei einem Stress ausgesetzt, und induzierte Reaktionen werden gemessen. Als Stress-Faktoren kommen biologische Moleküle (z.B. siRNAs), kleine chemische Verbindungen oder auch veränderte Wachstumsbedingungen zum Einsatz. Die Datenaufnahme kann schließlich mit verschiedensten Methoden erfolgen. Deshalb musste der MIACA Standard modular aufgebaut werden um die Vielzahl möglicher Anwendungen abdecken und

eindeutig beschreiben zu können. Mehrere Projekte des NGFN bringen ihre Kompetenzen über die AG QM & Standards ein, um diesen Standard weiter zu entwickeln. Inzwischen hat sich diese Initiative zu einem internationalen Projekt unter Beteiligung von Wissenschaftlern von über 30 Institutionen und Firmen aus vier Kontinenten entwickelt.

Ausblick

Neben den oben genannten Projekten werden in der AG QM & Standards eine Reihe weiterer Themenkomplexe bearbeitet, die ebenfalls wesentlich zum Erfolg vieler Projekte des NGFN beitragen. Dies sind beispielsweise Initiativen zum integrativen Datenmanagement, etwa in der SMP-Modell, oder zur Genotypisierung mit der Planung und Durchführung von Ringversuchen. Aus Platzgründen muss für nähere Angaben zu diesen Themen hier auf die Web-Präsentation der AG QM & Standards verwiesen werden (www.science.ngfn.de/index_444.htm).

Die AG QM & Standards befindet sich in einem stetigen Entwicklungsprozess, der zu einer weiteren Steigerung der Effizienz und Sichtbarkeit der Forschung führen soll. Die AG erstellte im Herbst 2006 ein Konzeptpapier, das zunächst gemeinsam mit dem Projektkomitee beraten und schließlich von diesem unterstützt wurde. Kernpunkte dieses Papiers betreffen:

1. Die noch stärkere Durchdringung des NGFN mit Konzepten für Qualitätsmanagement und Standardisierung, um das Potenzial zur Integrierbarkeit von Daten aus verschiedenen Projekten weiter zu erhöhen.
2. Eine verstärkte Einbindung auch von Firmenkompetenzen in die Arbeitsgruppe, um die in beiden Bereichen vorhandenen Expertisen zu bündeln und gemeinsam innovative Konzepte für die Umsetzung von Protokollen in standardisierte Prozeduren zu erarbeiten.
3. Die Möglichkeit zur flexiblen finanziellen Unterstützung neuer als wichtig und zukunftsweisend identifizierter Projekte des QM, um z.B. vergleichende Studien durchführen zu können oder um spezifische Workshops zu aktuellen Themen zu co-finanzieren.

Über diese Themen hinaus werden die Mitglieder der AG QM & Standards auch in Zukunft gemeinsam mit den Steuerungselementen (Projektkomitee und Lenkungsgremium) und den „Datenproduzenten“ an innovativen Konzepten zur weiteren Steigerung und Sicherung der Qualität von Forschungsarbeiten und deren Resultaten arbeiten.

Das NGFN hat in den vergangenen Jahren

eindrucksvoll unter Beweis gestellt, dass die Deutsche Genomforschung im internationalen Vergleich höchsten Qualitätsstandards entspricht, und dass die erzielten Erkenntnisse mit großem Nutzen für die Allgemeinheit eingesetzt werden können. Die Arbeitsgruppe QM & Standards leistet hier wesentliche Beiträge zur Qualitätssicherung und -optimierung sowie zur Entwicklung und Etablierung von internationalen Standards im NGFN. Sie ist damit ein wichtiger Faktor auch für die internationale Sichtbarkeit des NGFN insgesamt. Mit wachsendem Bewusstsein für die Erfolge eines konstruktiven Miteinanders von Hoch-Durchsatz-

forschung und Qualitätssicherung ist die Notwendigkeit zur Fortführung dieser Arbeitsgruppe auch in der kommenden Förderphase des NGFNplus und NGFNtransfer offensichtlich.

Web-Referenzen

www.ngfn.de – Web-Präsentation des NGFN
www.science.ngfn.de/509.htm – Arbeitsgruppe Qualitätsmanagement und Standards im NGFN
www.tmf-ev.de – Telematik-Plattform der Medizinischen Forschungsnetze e.V.
www.science.ngfn.de/509_510.htm – Liste mit Standard Operating Procedures die im NGFN entwickelt wurden

www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html – MIAME Standard zur Beschreibung von Experimenten zur Expressionsmuster Analyse
<http://miaca.sf.net> – MIACA Standard zur Beschreibung von Experimenten mit zellulären Analysen

Kontakt

PD Dr. Stefan Wiemann
 Molekulare Genomanalyse
 Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg
 E-Mail: s.wiemann@dkfz.de

Technologien

Programmierbares, zytogenetisches Submikroliter-Chiplabor für molekular diagnostische Anwendungen

Stefan Thalhammer, Zeno von Guttenberg, Udo Koehler, Albert Zink, Wolfgang Heckl, Thomas Franke, Herwig Paretzke, Achim Wixforth

Die jüngsten Fortschritte in der molekularen Biologie haben dazu beigetragen, das komplexe Zusammenspiel von besonderen Zuständen (z.B. SNPs) oder Veränderungen auf DNA-Sequenzebene (z.B. Mutationen) und regulatorischen Faktoren vom Gen zum Genprodukt besser zu untersuchen und zu interpretieren (z.B. in der Tumorgenese). Es besteht nun eine Entwicklungsnotwendigkeit zu hochauflösenden DNA-Mikroarrays und RNA- und Protein-Arrays. Diese molekularen Eigenschaften von wichtigen biologischen Makromolekülen können dann dank einer sich sehr schnell entwickelnden und auf molekulargenetischen Analysen basierenden Diagnostik nachgewiesen werden, wobei zukünftig nur noch mikroskopisch kleine biologische medizinische Proben eingesetzt werden müssen. Die Handhabung solcher kleiner Probenmengen bis hinab zur Einzelzelle bzw. sogar einer einzelnen chromosomalen Bande erfordert neben ausgefeilten biochemischen Präparations- und Analysemethoden aber auch Werkzeuge im Nanometermaßstab.

Die wissenschaftliche und technische Entwicklung hat in den vergangenen Jahren viele

Ansätze hervorgebracht, wie diagnostische Fragestellungen mit Hilfe von Multiparametertests umgesetzt werden können. Am weitesten fortgeschritten ist dabei die Entwicklung auf dem Gebiet der so genannten Biochips, insbesondere im Bereich der DNA-Chips. Parallel dazu wurden andere Testformate entwickelt, zum Beispiel Bead-Technologien und Mikrofluidiksysteme. Während die DNA-Chips bereits eine beachtliche kommerzielle Bedeutung erlangt haben, stehen die Entwicklungen auf dem Gebiet der Lab-on-a-Chip (LOC) Systeme für medizinische Anwendungen noch kurz vor dem Durchbruch. (Franke T. und Wixforth A. (2007) Mikrofluidik – Das Labor auf dem Chip. Phys. Unserer Zeit; 2(38); DOI: 10.1002/pinz. 200601126.

Als Biochips

werden kleine Probenträger bezeichnet, auf denen biologisches Material zur Analyse aufgebracht wird und die unter Umständen auch analytische Funktionalität haben. Derzeit gibt es in Abhängigkeit der auf der Oberfläche aufgetragenen Targets folgende analytische

Biochips: DNA-Chips, Protein-Chips, Zell-Chips und das Lab-on-a-Chip.

Die Miniaturisierung der Analysesysteme führt zu einer enormen Kosteneinsparung hinsichtlich des Verbrauchs von Materialien wie Reagenzgläser, Mikrotiterplatten usw. als auch und vor allem von Reagenzien. Außerdem bedeutet ein wesentlich geringeres Probenvolumen nicht zuletzt eine meist deutlich höhere Sensitivität und Homogenität der Detektion. Die Parallelisierung von Analysen ermöglicht zudem eine enorme Zeiteinsparung im Vergleich zu seriell durchgeführten Einzelanalysen, die simultane Analyse von mehreren tausend Parametern in einem einzigen Experiment ist durchaus möglich. Weiterhin erhöht sich durch die hohe Automatisierbarkeit der Systeme die Reproduzierbarkeit um ein Vielfaches.

Wir stellen hier ein akustisch getriebenes

Chiplabor für zytogenetische Untersuchungen vor, mit Hilfe dessen solche Analysen im Submikroliterbereich programmgesteuert,