



(v. l.) Dr. Li Li, Prof. Norbert Gretz, Dipl.-Ing. (FH) Maria Saile, Dr. Carsten Sticht

AUF HERZ UND NIEREN GEPRÜFT

Schnellere Identifikation von Zielgenen
für therapeutische Interventionen



„Mit JMP® Genomics von SAS können wir unsere Investitionen in die Microarray-Technik deutlich besser ausschöpfen: Früher nahm die Validierung der Ergebnisse einige Wochen in Anspruch, heute erhalten wir die Resultate schon nach wenigen Stunden. Außerdem können wir sehr einfach zusätzliche Analyseprozesse implementieren – was uns einen entscheidenden Vorteil in der täglichen Forschung mit immer neuen Aufgabenstellungen bringt.“

Professor Norbert Gretz

Direktor des Zentrums für Medizinische Forschung (ZMF), Medizinische Fakultät Mannheim

■ **Branche**
Forschung

■ **Aufgabe**
Signifikante Beschleunigung und Flexibilisierung der täglichen Forschung mit immer neuen Aufgabenstellungen

■ **TOP Herausforderung**
Mögliche Krankheitsgene identifizieren

■ **Lösung**
JMP Genomics von SAS

■ **TOP Nutzen**
Schnelle und aussagekräftige Ergebnisvalidierung

Der Kunde

Das Zentrum für Medizinische Forschung (ZMF) gehört zur Medizinischen Fakultät Mannheim, einem Fachbereich der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg. Das ZMF ist zentraler Dienstleister für die Forschung am Universitätsklinikum Mannheim. Zu den Services gehören alle Untersuchungen und Auswertungen eines typischen medizinischen Forschungslabors, zum Beispiel Zellkultur, Elektronenmikroskopie und histoimmunologische Färbungen. Einen Schwerpunkt legt das ZMF auf den Bereich der DNA-Microarray-Analytik sowie auf das Thema microRNA, das eine wichtige Rolle in dem komplexen Netzwerk der Genregulation spielt.

Die Aufgabe

Das ZMF-Labor für Microarray-Technik testet pro Jahr mehrere hundert DNA-Microarrays. Dabei handelt es sich um DNA-Untersuchungen mit Hilfe sogenannter Biochips, mit denen sich das Probenmaterial weitgehend automatisiert auswerten lässt. Der Vorteil: Große DNA-Mengen können so in kurzer Zeit mit nur geringem manuellen Aufwand auf Veränderungen hin durchsucht werden. Die Microarrays helfen Forschern zum Beispiel dabei, Gene und DNA-Aktivitäten in kranken und gesunden Organen miteinander zu vergleichen. Diese Erkenntnisse dienen einerseits zur Diagnose von Krankheiten wie zum Beispiel Krebs, andererseits liefern sie mögliche Ansatzpunkte für die Entwick-

lung neuer Medikamente. Trotz der hohen Investitionen in Microarray-Systeme stand das ZMF vor einem Problem: Die Forschungsergebnisse ließen sich nicht schnell genug in publizierbare Ergebnisse und neue medizinische Erkenntnisse übersetzen. Seit Juli 2007 bringt JMP Genomics von SAS die ZMF-Auswertungen auf Trab: Die Auswertung von Microarray-Experimenten gelangt jetzt innerhalb weniger Stunden auf die Schreibtische der Wissenschaftler.

RNA und microRNA – auf zu neuen Horzonten

Die Identifikation sowie die Isolation von Ribonukleinsäuren (kurz RNA), jenen Bestandteilen des Genoms, die das Ablesen von Proteinen aus Genen unterstützen, hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Insbesondere die sogenannten microRNAs spielen bei der Erforschung von Krankheiten eine große Rolle, denn sie heften sich an andere DNA-Abschriften, die für die Genregulation eine zentrale Bedeutung haben. Durch das Anheften der microRNA werden die Bauanleitungen von Proteinen blockiert oder sogar abgebaut, noch bevor sie zur Proteinproduktion verwendet werden können. Auf diese Weise kontrolliert die Zelle Art und Menge der hergestellten Proteine. Ein wesentlicher Einflussfaktor also für die Bildung oder auch Unterdrückung von Tumoren. Angesichts des derart erweiterten Forschungsfeldes hat das ZMF abermals auf SAS als Lösungsanbieter mit der nötigen analytischen Kompetenz und der Fähigkeit, mit großen Datenmengen

umzugehen vertraut. Mit Hilfe von JMP Genomics von SAS wird mittlerweile ein Datenvolumen von 3,3 TB ver- und bearbeitet.

Die Lösung

Die Wissenschaftler im ZMF arbeiten überwiegend mit Biochips des Unternehmens Affymetrix. Die Informationen über die DNA-Expression werden von zwei Excel-basierten Auswertungssystemen als Flatfiles abgelegt. „Allerdings waren die Ergebnisse dieser Auswertungssysteme wenig aussagekräftig, da ihre statistischen Möglichkeiten beschränkt sind“, beschreibt Professor Norbert Gretz, Direktor des Zentrums für Medizinische Forschung die Ausgangssituation.

Mit Hilfe von JMP Genomics ist die Arbeitsgruppe Microarray-Analytik jetzt in der Lage, die großen Datenmengen der DNA-Microarray-Tests für die statistische Analyse aufzubereiten und schnell auszuwerten. Als Ergebnis erhalten die Forscher statistisch fundierte Informationen über Gene, deren Aktivität von Genen im gesunden Organismus abweicht. Über die Einzel-Genanalyse hinaus liefern die Analysen auch Erkenntnisse über Gen-Pathways. Darunter versteht man Gruppen von Genen, die eine Signalkette bilden und gemeinsam am Ausbruch der Krankheit beteiligt sind. Um die Aussagekraft von Microarray-Untersuchungen weiter zu verbessern, entwickelten SAS und das ZMF eine Reihe von Zusatz-

funktionalitäten für JMP Genomics. Inzwischen existieren neue Verfahren zur erweiterten Qualitätskontrolle der DNA-Microarray-Daten. Hintergrund: Bei Microarray-Tests gibt es eine Vielzahl möglicher Fehlerquellen – angefangen bei der Entnahme der Proben bis hin zum Prozessieren und Auslesen der Microarray-Daten. Diese können das Versuchsergebnis in Form von Artefakten, falsch positiven oder falsch negativen Genen beeinflussen.

Doch mit der verbesserten Qualitätskontrolle allein gab sich das ZMF nicht zufrieden: In der medizinischen Forschung ist es entscheidend, die eigenen Tests mit den Ergebnissen anderer Wissenschaftler zu vergleichen. Daher baute die Arbeitsgruppe in Zusammenarbeit mit SAS einen sogenannten Annotation-Prozess „Create Web Link“ auf, der es ermöglicht, interessante Kandidatengene mit Informationen in weltweiten bioinformatischen Datenbanken zu verknüpfen. Beispiele für diese weltweit vernetzten Informationssysteme sind Unigene, GeneOntology und Gene. Den Wissenschaftlern ist es damit möglich, die Eigenschaften von Genen näher zu bestimmen, die Versuchsergebnisse zu interpretieren und neue Hypothesen zu formulieren.

Der Nutzen

- Schnellere Auswertung von Forschungsdaten
- Identifizierung von krankheitsrelevanten Pathways (Gen-Netzwerken)
- Bewertung der Microarray-Ergebnisse mit verschiedenen statistischen Verfahren
- Verbesserte Nachweismöglichkeiten relevanter Resultate
- Höhere statistische Zuverlässigkeit der gewonnenen wissenschaftlichen Daten durch standardmäßige Qualitätskontrolle
- Vernetzung mit externen Forschungsdatenbanken zum Abgleich von medizinischen und biochemischen Informationen

Zusatznutzen

Die Vergabe von öffentlichen Forschungsgeldern orientiert sich in Deutschland an bestimmten Kennzahlen, vergleichbar einem Balance-Scorecard-System. Hierbei spielen Parameter wie Qualität und Umfang wissenschaftlicher Veröffentlichungen sowie die Anzahl von Kooperationsprojekten mit anderen Hochschulen eine wichtige Rolle. Die mit SAS erreichte Zuverlässigkeit sowie das heute im ZMF gewährleistete hohe Forschungstempo hat zu einer Vielzahl von Kooperationsprojekten geführt, bei denen andere Forschungsinstitutionen



von der Infrastruktur des ZMF profitieren. Darüber hinaus konnte die Ergebnis- und somit auch die Veröffentlichungsquote deutlich erhöht werden.

Microarray-Analyse mit SAS in der Praxis

Ein konkretes Beispiel für ein Microarray-Projekt bildet die Grundlagenforschung an der polyzystischen Nierenkrankheit (Polycystic Kidney Disease, PKD): Weltweit leiden an der genetisch bedingten Krankheit etwa 12,5 Millionen Menschen. Die Krankheit ist durch das Wachstum multipler Zysten in beiden Nieren geprägt, die die Organfunktionen nachhaltig schädigen und zu chronischem Nierenversagen führen können. In diesem Stadium bestehen die einzigen Therapiemöglichkeiten für die Patienten in der Dialyse oder einer Nierentransplantation. Die Arbeitsgruppe um Professor Gretz sucht derzeit anhand von Ratten-DNA nach Genen, die für die Progression der Krankheit verantwortlich sind. Dafür verwendeten die Forscher in einem Experiment 24 DNA-Chips mit insgesamt 15.924 verschiedenen DNA-Referenzmolekülen pro Chip.

Die Ergebnisse der vom Affymetrix-GenArray Scanner ausgelesenen Daten werden mit Hilfe von SAS JMP Genomics ausgewertet. Dabei prüfen statistische Verfahren die Daten auf „Herz und Nieren“: Korrelationsanalysen beispielsweise berechnen Zusammenhänge und Punktwolkenverteilungen von

Genexpressionsmustern auf Replikat-Chips und geben so Auskunft über die Datenqualität. Außerdem lassen sich statistische Ausreißer leicht identifizieren und von weiteren Untersuchungen ausschließen. Mit Hilfe der Varianzanalyse erkennen die Wissenschaftler darüber hinaus, ob eine gefundene Abweichung in einer Genfunktion tatsächlich statistisch signifikant ist. Mit Hilfe der JMP Genomics-Auswertungen ließen sich zunächst vier Gene bestätigen, die bereits im Verdacht standen, bei PKD eine Rolle zu spielen. Außerdem gelang der Forschergruppe um Professor Gretz ein wichtiger Erfolg bei der Erforschung der PKD. Mittels der Gen-Pathway-Analyse konnten sogenannte Modifier-Gene identifiziert werden, die ganze Gruppen von Genen steuern. Bei der PKD spielen Modifier-Gene eine wichtige Rolle beim Voranschreiten der Krankheit. Damit besteht jetzt Hoffnung, neue, wirksame Therapien gegen PKD entwickeln zu können.

Fortschritte

Mittlerweile konnten die identifizierten Gene weiter analysiert werden. PKD-Patienten auf der ganzen Welt profitieren bereits heute von diesen Ergebnissen und entsprechenden Fortschritten in der therapeutischen Intervention. „Durch gezielte Forschung und die Möglichkeit, große Datenmengen schnell zu analysieren, lernen wir fortwährend mehr über jene Gen-Mutationen, die für die polyzystische Nierenkrankheit verantwortlich sind. JMP Genomics von SAS ist für unsere Zwecke genau das richtige Werkzeug“, so Professor Gretz.

Technische Details

- Anzahl der Anwender: 80
- Datenvolumen: 3,3 TB auf JMP Genomics
- Plattform: Windows 2003 Server
- Datenquellen: Affymetrix GeneChip Scanner 3000
- Produkte: SAS JMP Genomics

Historie

Professor Gretz – der bereits seit 30 Jahren mit SAS Lösungen arbeitet – und sein Team betreten im Rahmen diverser Forschungsprojekte regelmäßig Neuland, wodurch auch immer neue Anforderungen an die eingesetzten Software-Lösungen entstehen.

Die Entwicklung des ZMF vom „einfachen“ SAS STAT- hin zum JMP Genomics-Anwender ist daher absolut konsequent.

Für SAS als Business Analytics-Spezialist bestätigen die Dauer und die Entwicklung der Zusammenarbeit die Qualität der eigenen Lösung: „Wir sind sehr glücklich und auch ein kleines bisschen stolz darauf, dass unsere Technologie im Rahmen der wichtigen Forschungsarbeit von Professor Gretz erfolgreich zum Einsatz kommt“, so Dr. Russ Wolfinger, SAS Director für Scientific Discovery und Genomics.

JMP Genomics von SAS

JMP Genomics von SAS verbindet die Leistungsstärke von SAS in Datenmanagement und -analyse mit der Interaktivität, für die JMP bekannt ist. Wissenschaftler können so große Mengen an Gendaten effizient und zuverlässig auswerten. JMP Genomics bietet zahlreiche komplexe Verfahren für die Analyse von Expression, Exon, Copy Number Variation und SNP sowie für den Import und die Analyse von Proteomicsdaten an – unter Verwendung der bewährten Analytics-Instrumente von SAS. Die Lösung lässt sich auch ohne SAS Programmierkenntnisse nutzen – davon profitieren besonders Anwender, die erstmals oder nur gelegentlich mit der Software arbeiten. Erfahrene SAS Programmierer können JMP Genomics-Menüs individuell erweitern, um bestehenden SAS Code zu verwenden. Die interaktiven Präsentationsmöglichkeiten von JMP erlauben, Datenpunkte zu Graphen oder Clustern zu verbinden, um Auffälligkeiten in den Datensätzen darzustellen. So können die Nutzer einfach und bequem die Daten auswählen, die einer genaueren Untersuchung bedürfen.



THE
POWER
TO KNOW.

SAS Institute GmbH, In der Neckarhelle 162, 69118 Heidelberg, Germany
Phone +49 6221 415-123, Fax +49 6221 415-145 www.sas.de

SAS and all other SAS Institute Inc. product or service names are registered trademarks or trademarks of SAS Institute Inc. in the USA and other countries. ® indicates USA registration. Other brand and product names are trademarks of their respective companies. Copyright © 2008, SAS Institute Inc. All rights reserved.