

Protokoll

NGFN Qualitätsmanagement-Workshop, 21.04.04, 13.00-17.00 Uhr, Bonn

Teilnehmer: Frauke Behrens, RZPD
Thomas Bettecken, Genotypisierung
Stephanie Bechtel, cDNA Generierung/Funktionsanalyse
Rolf Fimmers, GEM Bonn
Thomas Häupl, Klinik Rheuma, Infektion
Anja Hügel, Projektmanagement NGFN
Claus Hultschig, Microarrays
Ludger Klein-Hitpass, Expressionsanalyse (Affymetrix)
Andreas Koch, SNP-Genotypisierung
Chris Lawerenz, Datenanalyse
Michael Majores, Vertretung Albert Becker Microarray
Richard Reinhardt, Sequenzierung
Reinhold Schäfer, Expressionsanalyse
Schiller, GEM Bonn
Martin Strödicke, Proteinanalyse
Holger Sülthmann, Microarray
Dieter Weichenhan, Expression Profiling
Thomas Wienker, GEM Bonn

Um im NGFN das wissenschaftliche Potential der erheblichen und z.T. in systematischen Ansätzen generierten Daten in vollem Umfang bereichsübergreifend, effizient und langfristig erschließen zu können, bedarf es einer bestmöglichen Vergleichbarkeit der Ergebnisse und der generierten Daten. Dies zu erreichen erfordert Maßnahmen im Bereich des Qualitätsmanagements (QM).

Ziel eines QM im Rahmen des NGFN sollte die Gewährleistung eines durchgängig hohen Qualitätsniveaus für die im NGFN generierten Ressourcen und Daten und ihre Vergleichbarkeit über das gesamte Forschungsnetzwerk hinweg sein. Neben Definition und Erhalt von Qualitätsstandards sollte auch deren kontinuierliche Verbesserung Ziel des QM sein.

Während des ersten NGFN-Qualitätsmanagement-Workshop am 05.Nov.2003 wurden die für das NGFN wichtigsten QM-relevanten Themen identifiziert. Im Einvernehmen mit den Teilnehmern sollten diese Themen in weiteren Arbeitstreffen jeweils in kleineren, inhaltlich mit allen notwendigen Kompetenzen bestückten Gruppen bearbeitet werden. Ziel sollte die Ausarbeitung von Minimalstandards in dem jeweiligen Bereich sein, die eine Nachvollziehbarkeit der Daten und Interpretation gewährleisten.

In dem zweiten Workshop wurden die in der Zwischenzeit erarbeiteten Ergebnisse der initiierten Arbeitstreffen allen Teilnehmern des Workshops vorgestellt und diskutiert. Je ein Mitglied aus den Arbeitsgruppen gab eine Übersicht über die Ergebnisse, Maßnahmen und weitere geplante notwendige Arbeitsschritte. (Sprecher der Arbeitsgruppe markiert)

Klinik, Datenmanagement, Datenanalyse

1. Patientenrekrutierung
2. klinische Dokumentation
3. Probengewinnung und -lagerung

Arbeitsgruppe: Bettecken, Burkhardt, Häupl, **Lawerenz**, Weichenhan, Wienker

Ein Treffen der Arbeitsgruppe war bisher nicht zustande gekommen, allerdings wurde von Seiten der Bioinformatik eine Diskussionsgrundlage erarbeitet.

Herr Lawerenz hat relevante klinische Parameter von allgemeiner Information über den Organismus bis hin zum Vorgang der Hybridisierung entsprechend den Erfahrungen mit der Datenbank iCHIP zusammengestellt und vorgestellt.

Die vorgeschlagenen Parametersets sollen nun mit den Klinikern der verschiedenen Netzwerke diskutiert und überarbeitet werden. Aus jedem Krankheitsnetz soll ein Verantwortlicher benannt werden, der für die Erstellung einer spezifischen Parameterliste zuständig ist. Diese Informationen sollen bei den GEMs bzw. Herrn Lawerenz gebündelt werden. Ziel ist ein Minimalset an Parametern für den Datenaustausch, das über eine Web-Plattform mit entsprechenden Funktionalitäten (download, Dokumentation, etc.) den NGFN-Krankheitsnetzen und SMPs zur Verfügung gestellt werden.

Ein wesentlicher Teil der im NGFN benötigten Datasets sind bereits in internationalen Gremien definiert und sollten, um den internationalen Maßstäben zu genügen für das NGFN übernommen werden.

Zudem sollte eine Terminologie, die international kompatibel ist angestrebt werden.

Zu diskutieren wäre auch noch der Einsatz von Ontologien, um ein klar definiertes kontrolliertes Vokabular zu erhalten. Eine weitere feinere Abstimmung der Begrifflichkeiten, auch ggfs. eine Berücksichtigung von bestimmten Termen in weiteren Ontologien, ist angestrebt.

1. Microarrays

Arbeitsgruppe: Becker, Behrenz, Huber, Hultschig, Klein-Hitpass, Lawerenz, **Sültmann**, Weichenhan

Die Arbeitsgruppe hat mit der Zusammenstellung, Formulierung und Prüfung gemeinsamer Protokolle für die Herstellung von Microarrays und allen damit verbundenen technischen Prozessen erfolgreich begonnen:

- Biological Sample,
- Spotted cDNA microarrays,
- Spotted Oligo microarrays,
- Affymetrix microarrays,
- Hybridization/Image Analysis,
- Data validation/ Datamanagement

Die Protokolle stellen den aktuellen Stand der Expertisen aller Arbeitsgruppenpartner dar und sollen mit fortschreitenden Erkenntnissen aktualisiert werden. Für das Format der Protokolle ist eine Strukturvorgabe erstellt worden.

In Fällen, bei denen eine Verständigung auf die Nutzung eines allgemeingültigen Protokolls (z.B. aus Gründen unterschiedlicher Geräteausstattung) nicht möglich ist, werden Empfehlungen, i.S.v. Minimal-Standards, für die Vorgehensweise formuliert.

Im Rahmen des Datamanagement wurde beschlossen, die iCHIP Datenbank zum Management der Microarraydaten zu verwenden. Herr Lawerenz ist hier Ansprechpartner für die Ausarbeitung von Formaten zum Datenaustausch.

Das Ziel des Arbeitskreises ist es, zu Beginn der zweiten Förderphase alle Protokolle über eine Web-Plattform zur Verfügung zu stellen, so dass alle Gruppen in NGFN-2 diese Ressourcen nutzen können.

Um das zu gewährleisten wurde von dieser Arbeitsgruppe ein Zeitplan (siehe unten) für das weitere Vorgehen festgelegt, der von allen anderen Arbeitsgruppen im NGFN-Qualitätsmanagement übernommen werden soll.

2. Genotypisierung

Arbeitsgruppe: **Bettecken**, Koch, Saar, Wienker, andere

Zu den Themen SNP- und Mikrosatelliten-Genotypisierung hat ein Arbeitstreffen stattgefunden. Inzwischen liegt ein umfangreiches Paket an Protokollen aller Genotypisierungsplattformen vor. Zur Zeit wird dieses Gesamtprotokoll weiter vervollständigt und in ein einheitliches Format gebracht.

Das Protokoll beinhaltet allgemeingültige Protokolle für alle Genotypisierungsplattformen für folgende Anwendungen:

- Sample Asservation and DNA-Extraction (Protokoll zur einfachen und schnellen DNA-Extraktion aus Leukozyten des peripheren Blutes)
- Materials Transfer and Data Delivery (Regelungen für die Beförderung von ansteckungsgefährlichen Stoffen, Brief National)
- Quality Control (Quality Control of Genomic DNA by Agarose Gel Electrophoresis)

Weiter enthalten sind Protokolle der einzelnen Plattformen:

- Standard Operating Procedures (SOPs) and Quality Management (QM), Depending on the Genotyping Method
- Standard Operating Procedures (SOPs) for Material Transfer and Data Delivery for Sequenom MALDI-TOF SNP Genotyping at GSF Neuherberg (near Munich)
- Quality Management (QM) for Sequenom MALDI-TOF SNP Genotyping at GSF Neuherberg (near Munich)
- Standard Operating Procedures (SOPs) for Sample Transfer and Data Delivery for Microsatellite Genotyping at the Gene Mapping Center at the Gene Mapping Center (GMC) at the Max Delbrück Center (MDC) Berlin-Buch
- Merkblatt DNA-Verarbeitung der FG MUCOSA
- Standard Operational Procedures: Datenstrukturen für die Kommunikation genetisch epidemiologischer Projekte im Nationalen Genomforschungsnetz

3. Sequenzierung

Arbeitsgruppe: Blöcker, Nürnberg, Platzer, **Reinhardt**, Yaspo

Ein Treffen der Arbeitsgruppe Sequenzierung hat bisher nicht stattgefunden, zur Sicherstellung der Arbeitsfähigkeit der Gruppe werden Herr Richard Reinhardt und Matthias Platzer zukünftig an den Workshops teilnehmen. Geplant ist eine Kooperation mit dem cDNA-Konsortium, Herr Reinhardt wird Herrn Wiemann hierzu kontaktieren.

Zur Zeit werden bereits internationale Standards bei der Sequenzierung berücksichtigt. Die verschiedenen NGFN Arbeitsgruppen im Bereich Sequenzierung arbeiten in enger Absprache miteinander.

4. cDNA library Produktion, Cloning, Ressourcen

Arbeitsgruppe: **Bechtel**, Behrenz, Wiemann

5. Funktionsassays, Zellkulturen

Arbeitsgruppe: **Bechtel**, Huber, Schäfer, Wiemann

Für die Standardisierung von cDNA und ORF Klonierung wurden von der Arbeitsgruppe bereits folgende Punkte bearbeitet:

- Eine Sammlung von Protokollen, die bei den Partnern (AGOWA, Qiagen, Uni Düsseldorf, RZPD, DKFZ) etabliert sind, wurde begonnen. Die Liste mit den dort verwendeten PCR Polymerasen wurde erstellt, und am DKFZ wird die Fehlerrate dieser Polymerasen im direkten Vergleich getestet.
- Ein Konzept für die Standardisierung der Datenübertragung wurde entwickelt und den Partnern vorgestellt. Das DKFZ hat bereits Datenbanken für den Prozess der ORF-Klonierung etabliert. Diese Datenbanken werden für die Bedürfnisse der dezentralen ORF-Klonierung adaptiert, um sie den unterschiedlichen Gegebenheiten anzupassen. Allgemein wird diese Datenbank jedoch auf einer MS Access Oberfläche basiert sein, die zentral generiert und verteilt wird, um eine standardisierte Kommunikation zwischen den Partnern zu ermöglichen. Der Modus des Datentransfers zwischen den Instituten ist noch nicht abschließend geklärt. Auf die "Umgehung" von Firewalls muss noch eingegangen werden.
- Der Ablauf der Sequenzierungsschritte eines Klon für jeden ORF wurde strikt festgelegt (Qualitätssicherung). Entscheidend für das weitere Vorgehen ist das erste Ergebnis nach Ansequenzierung von den Enden (OSTs - ORF sequence tags). Eine standardisierte DNA-Präparation und PCR mit anschließender Qualitätskontrolle ist etabliert.
- Standardisiertes Assay Protokoll, Qualitätssicherung.
Dazu gehören die Identifizierung geeigneter Assay Systeme, Mitführen von positiv und negativ Kontrollen für die Vergleichbarkeit zwischen Mikrotiterplatten und Experimenten, Protokollierung der Methode zur Analyse der Primärdaten, Statistische Analysen. Im Optimalfall sollten die statistischen Tools und Methoden publiziert werden (z.B. als open source applications).

Die Standardprotokolle für die jeweiligen Arbeitsschritte werden zur Zeit weiter bearbeitet.

6. Proteinanalyse

Arbeitsgruppe: Huber, Korf, **Strödicke**, Wiemann

Ein Treffen dieser Arbeitsgruppe hat bisher nicht stattgefunden. Herr Strödicke hat versichert, dass in der nächsten Zeit die Arbeit aufgenommen wird.

Herr Becker stellt einen internationalen Ringversuch vor, an dem das deutsche Human Brain Proteom Project beteiligt ist. In der groß angelegten Studie sollen neben der Identifikation von Marker Proteinen zur Qualitätskontrolle von Hirngewebe vor allem Standardprotokolle für die verschiedenen Techniken der einzelnen Labore festgelegt werden. Ein Ziel ist u.a. gemeinsam klinische Studien durchführen zu können. Die Pilotphase läuft bis Ende 2004.

Für alle o.g. Arbeitsgruppen wurde folgender Zeitplan für die weiteren Aktivitäten im Einvernehmen festgelegt:

- Formulierung der Protokolle/Empfehlungen in den definierten Arbeitsgruppen bis zum 30.6.2004
- Einigung über gemeingültige Protokolle/Empfehlungen im September 2004
- QM-Workshop für letzte Absprachen im September
- Bereitstellung der abgestimmten Protokolle/Empfehlungen für das gesamte NGFN auf einem Webserver ab dem 30.10.2004
- Regelmäßige Aktualisierung und Bereitstellung der Protokolle auf dem Webserver im laufenden NGFN

Das NGFN Projektmanagement kümmert sich zusammen mit Herrn Lawrenz und Frau Behrens um die technische Umsetzung der Einstellung der Protokolle ins Inter- bzw. Intranet des NGFN.

Ein weiterer Tagesordnungspunkt war auf Anregung von Herrn Hultschig, eine Diskussion über eine mögliche Plattform zur Erfassung und Evaluierung/Ranking von technischen Laborgeräten im NGFN. Die Beurteilungen der Geräte sollte von den Anwendern im NGFN durchgeführt werden. Der Hintergrund ist die große Unzufriedenheit mit Geräteleistungen, eine dadurch nicht gewährleistete Qualitätssicherung sowie keine Vergleichbarkeit der Daten beim Einsatz der Geräte. Zudem kommen laut Schilderung von Herrn Hultschig Probleme mit den Herstellern bei Nachfragen.

Es wurde beschlossen, dass eine Liste mit im Rahmen des NGFN-finanzierten Geräten inkl. Herstellerhinweis vom Projektmanagement zusammengestellt wird. Diese Liste, ergänzt mit Ansprechpartner und entsprechender Email, wird ins Intranet des NGFN gestellt.

Herr Bettecken hat angeregt auch für den Verbrauch von Oligonukleotiden im NGFN eine Abfrage im Netz zu starten. Hier wäre ein Austausch über die Vertragsgestaltung mit den Lieferanten für Oligonukleotide für den Hochdurchsatz unter den Verbrauchern sinnvoll. Der Schwerpunkt liegt hier bei evtl. vertraglich festzulegenden Sanktionen bei nicht Einhaltung der Lieferzeit, schlechter Qualität oder Haltbarkeitsüberschreitung.

Das Projektmanagement wird ein Abfrage diesbezüglich im NGFN starten und ein Liste mit entsprechenden Ansprechpartner ins NGFN-Intranet einstellen.