

## **Protokoll**

### **4. NGFN Qualitätsmanagement-Workshop**

*20. November 2005, 14:30 bis 19:00 Uhr, Dozentenzimmer, Universität Bonn*

**Moderation:** Eloisa Lopez-Calle, Analyticon Biotechnologies AG

**Teilnehmer:** Frauke Behrens, RZPD Berlin  
Amalia Diaz Lacava, Universität Bonn,  
Huberta von Eberstein, PopGen Kiel  
Rolf Fimmers, Universität Bonn  
Ronald Frank, GBF Braunschweig  
Helmut Fuchs, GSF München  
Thomas Häupl, Charité Berlin,  
Claus Hultschig, MPI MG Berlin  
Timm Jessen, Scienamics GmbH  
Michael Krawczak, Universität Kiel  
Ruprecht Kuner, DKFZ Heidelberg  
Olaf Krüger, Projektmanagement NGFN, Bonn  
Andreas Künne, Projektträger im DLR, Bonn  
Chris Lawerenz, DKFZ, Heidelberg  
Simon Little, Universitätsklinikum Gießen  
Arne Pfeuffer, LMU München  
Dominik Seelow, Cologne Center for Genomics, Köln  
Holger Sültmann, DKFZ Heidelberg  
Patrick Umbach, MDC Berlin-Buch  
Dieter Weichenhan, Universitätsklinik Heidelberg  
Tanja Weis, Universitätsklinik Heidelberg  
Ruth Wellenreuther, DKFZ Heidelberg  
Stefan Wiemann, DKFZ Heidelberg  
Thomas Wienker, Universität Bonn

## Vortrag **“Rahmenbedingungen für den Aufbau und Betrieb von Biomaterialbanken“**

Referent: Prof. Michael Krawczak

Vertreter des NGFN in der AG „Biomaterialbanken“ der Telematikplattform für Medizinische Forschungsnetze e.V.

Christian-Albrechts-Universität Kiel  
Institut für Medizinische Informatik und Statistik  
Brunswiker Straße 10, 24105 Kiel  
krawczak@medinfo.uni-kiel.de

Herr Prof. Krawczak informiert zunächst über die gesetzlichen Regelungen zur Handhabung und Lagerung von Biomaterialien: Biomaterial-Proben werden als Sachen im Sinne des §90 BGB angesehen und befinden sich gemäß §953 BGB im Eigentum des Probanden. Die Forschung an Biomaterialproben und die Erhebung medizinischer Daten zu Forschungszwecken darf nur mit ausdrücklicher Einwilligung des Probanden erfolgen. Der Eigentumsübertrag einer Probe an eine Biomaterialbank bedarf einer ausdrücklichen Vereinbarung zwischen der Biomaterialbank und dem Proband. Der Proband muss über die Verwendung seiner Probe adäquat informiert werden, denn die Probe unterliegt der Zweckbindung und darf nicht ohne Zustimmung des Probanden für weitere Forschungsfragen genutzt oder an Dritte weitergegeben werden. Durch eine offene Formulierung des Forschungszweckes kann bei Bedarf ein für die wissenschaftliche Untersuchung notwendiger Nutzungsfreiraum erreicht werden. Die allgemeinen Persönlichkeitsrechte des Probanden dürfen nicht verletzt werden, da sonst die getroffenen Vereinbarungen unwirksam werden.

Bei einer pseudonymisierten Probe werden die personenbezogenen Daten durch ein Pseudonym ersetzt. Da pseudonymisierte Proben und Daten über den Pseudonymisierungsschlüssel eine Rückidentifizierung erlauben, unterliegen sie den gleichen datenschutzrechtlichen Bestimmungen wie personenbezogene Daten. Eine anonymisierte Probe kann ohne Einschränkung an Dritte übereignet werden. Sie unterliegt aber auch der Zweckbindung.

In zweiten Teil seines Vortrags erläutert Herr Prof. Krawczak das generische Konzept für die Erstellung und Betreuung von Biomaterialbanken, das von der Arbeitsgruppe „Biomaterialbanken“ der Telematikplattform erarbeitet wurde.

Für eine langfristige Nutzung von Biomaterialien sollte eine Pseudonymisierung gegenüber einer Anonymisierung bevorzugt werden. Wichtig im Sinne des Datenschutzes ist es, das Rückidentifizierungsrisiko zu minimieren. Dies kann durch technische Maßnahmen (Verschlüsselung, Firewalls, Zugangsberechtigungen, Monitoring) und organisatorische Maßnahmen (Speicherung der Personendaten, medizinischen Daten und Biomaterialdaten in physikalisch getrennten Datenbanken, getrennte Lagerung der Proben, vertragliche Regelungen, SOPs usw.) erreicht werden.

Werden klinische Befunde an eine Forschungsdatenbank weitergegeben, so werden die zugehörigen Patientenidentifikationsdaten über einen Pseudonymisierungsdienst durch ein Pseudonym ersetzt wird. Dieses Pseudonym wird den medizinischen Daten in der Datenbank zugeordnet. Forschungseinrichtungen können in der Forschungsdatenbank nach geeigneten Fällen suchen und das entsprechende Pseudonym anfordern. Danach können sie bei Bedarf unter Angabe des Pseudonyms bei der Probandendatenbank die entsprechende Probe anfordern. Bei diesem Vorgehen erhält die Forschungseinrichtung keinen Zugriff zu den Patientenidentitätsdaten.

Die Arbeitsgruppe „Biomaterialbanken“ befürwortet den Grundsatz der Datensparsamkeit. Dies beinhaltet, dass nur die für den jeweiligen Forschungszweck unbedingt notwendigen Daten gesammelt oder herausgegeben werden; dass Ordnungsparameter nicht herausgegeben werden; dass der Zugriff auf die Forschungsdatenbank vermieden wird; dass Analysedaten statt Proben herausgegeben werden; und dass die Daten nur bei Bedarf für wissenschaftliche Analysen kombiniert werden.

Die Patientendaten sollten bei einer vertrauenswürdigen, unabhängigen Einrichtung bzw. einem Treuhänder verwahrt werden (z.B. - wenn finanzierbar – bei einem Notar).

Um die Beteiligten im Sinne des Datenschutzes zu einem korrekten Umgang mit personenbezogenen Daten bzw. biologischem Material zu verpflichten, sollten Verträge zwischen den behandelnden Ärzten, den Forschern und den Betreibern der zentralen Datenbank abgeschlossen werden.

### Vortrag **“Die Datenbank im Herz-Kreislauf-Netz – Entwicklung eines Datenschutz-konzeptes“**

Referentin: Dr. Tanja Weis

Koordinatorin des Herz-Kreislaufnetzes, Vertreterin des NGFN in der AG Datenschutz der Telematikplattform für Medizinische Forschungsnetze e.V.

Universität Heidelberg  
Innere Medizin III / Kardiologie  
Im Neuenheimer Feld 410, 69120 Heidelberg  
[Tanja.Weis@med.uni-heidelberg.de](mailto:Tanja.Weis@med.uni-heidelberg.de)

Frau Dr. Weis berichtet von der Datenbank, die im Herz-Kreislauf-Netz eingerichtet wird, um eine gemeinsame Nutzung der bislang auf viele lokale Datenbanken verteilten Patientendaten und -materialien (DNA, Biopsien, Blutzellen...) zu ermöglichen.

Die Datenbank wird am IBE in München betrieben und enthält eine aussagekräftige Übersicht („Minimaldatensatz“, etwa 45 Parameter) über die Patientendaten und deren Krankheitsbilder sowie Informationen über das vorhandene Biomaterial. Der Datensatz wurde mit dem von Herrn Lawrenz (DKFZ) entwickelten Parametersatz abgestimmt.

Die Datensätze werden von den lokalen Standorten in pseudonymisierter Form (Standortkürzel plus laufende Nummer, z.B. MAG01-1060) an das IBE München verschickt. Dort wird das Standort-Pseudonym in ein IBE-Pseudonym umgewandelt. Der Schlüssel zur Reidentifizierung der Daten ist nur im IBE vorhanden.

Der Webseiten-Zugriff ist passwort-geschützt. Über eine Suchmaske können die pseudonymisierten Daten von Fällen mit bestimmten Krankheitsbildern ermittelt werden. Die IBE informiert über dann über die Dateneignerschaft und die Nutzer wenden sich an den Dateneigentümer. Bevor die Patientendaten und/oder die Biomaterialien ausgehändigt werden, unterzeichnen die Partner einen Kooperationsvertrag. Der Vertrag regelt die Dateneignerschaft und –sicherheit und stellt sicher, dass die Aufklärung des Patienten über die Verwendung seiner Daten/seines Biomaterials und die Einwilligungserklärung mit den Datenschutzgesetzen konform sind.

Das Konzept basiert auf den Empfehlungen der AG „Datenschutz“ der Telematik-Plattform e.V und wird mit dem Datenschutzbeauftragten des Landes Baden-Württemberg abgestimmt.

Es ist geplant, die Datenbank zu erweitern und über iCHIP (Kooperation mit Herrn Lawerenz (DKFZ) molekulare Daten zu integrieren. Weitere Datenbanken (z.B. KHK Register, Prof. Schäfer, Marburg) sollen integriert werden.

Diskussion zu den Vorträgen von Prof Krawczak und Frau Dr. Weis:

Es besteht ein großer Bedarf nach klaren, einheitlichen und praxisnahen Verfahrensregeln zur Patientenaufklärung und zur Datennutzung. Es wäre hilfreich, wenn rechtlich geprüfte Formularmuster für die Patienten-Einwilligungserklärung und Vertragsmuster für den Datenaustausch zur Verfügung stehen würden. Die Formulare sollten möglichst einfach auszufüllen sein, gleichzeitig aber auch dem Patienten die Möglichkeit geben, festzulegen, ob er seine Probe nur für spezielle Untersuchungen oder für allgemeine, krankheitsübergreifende Forschungszwecke zur Verfügung stellen möchte. In diesem Sinne wurde ein Formular diskutiert, das über Ankreuzfelder Abstufungen der Einwilligung ermöglicht und trotzdem mit einem einzigen Unterschriftsfeld auskommt. Für den Umgang mit bereits vorhandenen Daten und Biomaterialien sollte es Handlungsleitlinien geben, z.B. inwieweit Daten und Biomaterialien für neue krankheitsrelevante Fragestellungen genutzt werden dürfen. Herr Prof. Krawczak verweist darauf, dass solche Formularmuster und Richtlinien derzeit erarbeitet werden.

Außerdem wurden zahlreiche weitere Aspekte der Datenhandhabung und des Datenschutzes diskutiert, u.a.

- die Frage nach der Persistenz der Daten
- die Konsequenzen, die sich ergeben, wenn die Daten gelöscht werden müssen, z.B. weil der Patient seine Einwilligung zurücknimmt
- das Problem, dass häufig kein Kontakt mehr zu den Daten/Biomaterialien-Eigentümern hergestellt werden kann (z.B. um nachträglich eine Einwilligung einzuholen) oder dass nicht eindeutig geklärt ist, für welche Zwecke die vorhandenen Daten/Biomaterialien verwendet werden dürfen.

Aus Zeitgründen konnten diese Fragen nicht ausreichend diskutiert und beantwortet werden. Um mehr Informationen zu erhalten und die Diskussionen zu diesem Thema fortsetzen zu können, wurde von vielen Teilnehmern ein Workshop zu den Themen Datenschutz und Biomaterialbanken gewünscht. Das NGFN-Projektmanagement strebt an, einen solchen Workshop im ersten Halbjahr 2006 zu organisieren.

## Vortrag "Qualitätsmanagement der AG „Klinik, Datenmanagement und Datenanalyse“

Referent: Christian Lawerenz  
Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg  
Theoretische Bioinformatik  
Im Neuenheimer Feld 580, 6912 Heidelberg  
[c.lawerenz@dkfz.de](mailto:c.lawerenz@dkfz.de)

Herr Lawerenz stellt die Parametersätze vor, die in Abstimmung mit den klinischen Netzen erarbeitet wurden. Diese Standards dienen als Grundlage für den NGFN-Datentransfer und zum Aufbau von NGFN Datenbanken, in denen Patienten-Datensätze aus verschiedenen Krankheitsbildern zusammengeführt werden können. Der bereits fertig gestellte Kern-Parametersatz umfasst Attribute, die für alle Krankheitsnetze gültig sind und die einen Datenaustausch von Mindestinformationen ermöglichen. Die Basisdaten werden durch erweiterte Parametersets für die einzelnen klinischen Bereiche spezifiziert. Die Parametersätze werden in Zusammenarbeit mit den Anwendern kontinuierlich weiterentwickelt. Die spezifischen Parametersätze für die Krankheitsnetze, „Erkrankungen des Nervensystems“, „Herz-Kreislaufkrankungen“, „Infektionen und Entzündungen“, „Neuroblastoma“, „Umweltbedingte Erkrankungen“ sowie für die Epidemiologischen sind bereits fertig gestellt, die Parametersätze für das Krebsnetz und das Gliom-Netz stehen noch aus.

Die Struktur und Terminology der NGFN-Ontology sind in OWL (Web Ontology Language) abgebildet. Über den Protégé-Browser, der am RZPD installiert und über das NGFN-Intranet erreichbar ist, können die Parametersätze eingesehen werden, ohne dass lokal eine Software installiert sein muss.

Die demnächst zur Verfügung stehende Herz-Kreislauf-Datenbank und die epidemiologischen Datenbanken, die in Kiel, München und Bonn angesiedelt sind, basieren bereits auf der NGFN Ontologie. Die Herz/Kreislaufdatenbank hat die Parameter und Regeln der Ontologie schon implementiert. Die virtuelle Datenbank am RZPD implementiert die NGFN-Ontologie, falls die Informationen zu Biomaterial dort hinterlegt werden sollen. Die NGFN Ontologie wird auch in das NGFN-Portal für Hochdurchsatz-Technologien („MIPSExpress“) aufgenommen werden und ist schon in die Datenbank iCHIP integriert.

Im zweiten Teil seines Vortrages berichtet Herr Lawerenz über die Standardprotokolle, die NGFN-weit eine Vielzahl von Arbeitsschritten vereinheitlichen und protokollieren. Diese Protokolle beschreiben unter anderem Techniken der Probenpräparation, Microarray-Experimente (erstellt und aktualisiert in der SMP-RNA -> Vortrag Ruprecht Kuner der SMP-RNA) sowie die Herstellung von Open Reading Frame (ORF)-Ressourcen (erstellt und aktualisiert in der SMP-Cell -> Vortrag Ruth Wellenreuther der SMP-Cell). Die Protokolle beinhalten auch wichtige Aspekte der Konzeption eines Experimentes und der Qualitätssicherung. Sie sind im Intranet als PDF-Dateien für die NGFN Partner abrufbar (URL: <http://ngfn.rzpd.de/index.pl/qm>, sowie auf den Web-Seiten der jeweiligen SMPs) und werden in diesen SMPs auch künftig kontinuierlich nach dem Stand der Technologie aktualisiert, wobei die Rückmeldung von Protokoll-Nutzern berücksichtigt werden.

### Diskussion:

Die vorgestellten Parametersätze und NGFN-Ontologie haben ein hohes Publikationspotential und könnten z.B. dem Journal of Molecular Medicine, International Journal of Cancer oder Applied Bioinformatics zur Veröffentlichung angeboten werden.

Die NGFN-Standards verbessern die Qualität der Ergebnisse und stellen Transparenz in der experimentellen Vorgehensweise her. Die Protokolle werden bislang auf Basis einer freiwilligen Selbstverpflichtung von den Partnern im NGFN angewendet. Sowohl die Anwendung der bestehenden Protokolle als auch die Erweiterung der Standardisierung auf andere im NGFN angewendete Techniken sollte vom Projektkomitee durch entsprechende Empfehlungen unterstützt und forciert werden.

Auf die Standard-Protokolle können bisher nur NGFN-Mitglieder zugreifen (die SOPs der SMP-RNA (<http://www.dkfz.de/smp-rna/rna.org>) und Cell (<http://www.smp-cell.org>) sind über deren spezifische Webseiten auch bereits frei zugänglich), es wäre aber wünschenswert, wenn die Protokolle zukünftig auch öffentlich zugänglich sind. Durch Referenzierung der Protokolle in Veröffentlichungen würden die QM-Standards dann international sichtbar werden.

Die Standardprotokolle sind auf Englisch verfasst, sie sind aber bislang in deutschsprachige Formulare eingestellt. Das NGFN-Projektmanagement wird die Texte der Protokolle in englischsprachige Formulare überführen (wurde inzwischen durchgeführt) und mit Links zu den Einrichtungen der Autoren oder zu den relevanten klinischen Netzwerken bzw. SMPs versehen.

Wenn die Möglichkeit bestehen soll, in Veröffentlichungen auf die NGFN-Standardprotokolle zu verweisen, muss sichergestellt werden, dass der angegebene Link zu den Protokollen für einen möglichst langen Zeitraum erreichbar bleibt. Das NGFN-Projektmanagement wird Informationen einholen, wie eine Persistenz der Protokolle gewährleistet werden kann.

## Vortrag **“Qualitätsmanagement der AG Genotypisierung“**

Referent: Dominik Seelow  
Cologne Center for Genomics  
Universität zu Köln  
Zülpicher Str 47, 50674 Köln  
[dominik.seelow@uni-koeln.de](mailto:dominik.seelow@uni-koeln.de)

Herr Seelow berichtet über die QM-Aktivitäten der AG „Genotypisierung“. Er stellt zunächst die Nationale Genotypisierungsplattform vor, die aus vier Genotypisierungszentren besteht. Die Genotypisierungsmethoden und die Strukturen der Standorte variieren sehr stark (unterschiedliche Technologien, unterschiedlicher Grad an Automatisierung, Verwendung von eigenen vs. Kommerziellen Lösungen usw.). Damit steht zwar einerseits ein breites, kompetitives Methodenspektrum zur Verfügung, andererseits wird dadurch eine Vereinheitlichung der Arbeitsabläufe und SOPs stark erschwert.

Es gibt bereits zahlreiche qualitätssichernde Maßnahmen, die von den Genotypisierungszentren durchgeführt werden (u.a. Barcode-Kennung der Mikrotiterplatten, die die Zuordnung der Plattenkoordinaten mit den Sample-IDs ermöglicht; Plausibilitätsprüfungen (z.B. Position der Leerwerte); sowie eine automatisierte Prozess-Qualitätskontrolle (Prüfung auf Inkonsistenz, Callraten)).

In zwei Arbeitstreffen der Vertreter der Genotypisierungszentren wurden zusätzlich weitere QM-Maßnahmen beschlossen:

So werden jetzt verstärkt mit einem 2-D Barcode versehene Probenröhrchen für die eingehenden DNA-Proben eingesetzt, die somit automatisiert auf die Mikrotiterplatten pipettiert werden können.

Außerdem wird eine Validierung der jeweiligen Genotypisierung in Form von Ringversuchen durchgeführt: Alle Zentren, die fest zusammengestellte *ultra-high-plex* SNP-Panel verwenden (also z.B. Affymetrix 100 K, Illumina 100K), werden jeweils 3 DNA-Proben definierter Menge und Konzentration typisieren. Im Falle flexibler Methoden (z.B. SNPlex, Sequenom) sollen 10 ausgewählte SNPs ('Kontroll-SNPs') mit 10 Proben typisiert werden. Diese Kontroll-SNPs wurden so gewählt, dass sie auch in den gängigen *high-plex* Panels vorhanden sind. Einer dieser SNPs wird ein Y-chromosomaler Marker sein. Die DNA-Proben werden vom Genetisch-Epidemiologischen Methodenzentrum (GEM) Bonn zur Verfügung gestellt. Die Genotypisierungs-Ergebnisse werden ans GEM Bonn geschickt und hinsichtlich Reproduzierbarkeit, Geschwindigkeit und Typisierungsrate ausgewertet. Das Ergebnis dieser Auswertung wird allen Zentren sowie dem PK zugänglich sein. Eine erste Auswertung der Ringversuche wird laut Dr. Fimmers (GEM Bonn) voraussichtlich Mitte nächsten Jahres vorliegen. Die Ergebnisse der Ringversuche könnten, wenn die Zentren einverstanden sind, später publiziert werden, um die Qualität der Genotypisierung zu dokumentieren.

Die oben beschriebenen Kontroll-SMPs sollen in jedem Experiment typisiert werden. Diese Kontrollen werden zunächst mitgeführt, um Probenverwechslungen zu verhindern. Die Genotypen könnten in Zukunft aber zentral gespeichert werden, um die Qualität der Typisierungsraten der einzelnen Zentren zu ermitteln. Zusätzlich wird eine NGFN-weite Kontrollprobe (CEPH-DNA) eingeführt, die von allen Zentren mit festen Chip-basierten Panels mindestens einmal pro Chip typisiert wird und auch von allen Zentren in allen Projekten mit flexiblen Panels mitgeführt wird. Die Genotypen dieser Kontroll-DNA könnten zur Qualitätssicherung ebenfalls zentral gespeichert und ausgewertet werden.

Über eine Webseite als Portal zu den einzelnen Genotypisierungszentren (<http://www.ccg.uni-koeln.de/genotyping/>) sind relevante Dokumente (z.B. SOPs) zugänglich. In einer Datenbank wird erfasst, welche NGFN-Projekte in den Genotypisierungszentren durchgeführt werden. Von den einzelnen Zentren wird Projekt, Methode, Probenumfang, Markeranzahl sowie der Projektstatus (fertige Genotypen) eingegeben. Die Informationen können von den Genotypisierungszentren und vom Projektkomitee abgefragt werden. Die Datenbank enthält auch Instrumente zur gezielten Datenabfrage sowie zur Aggregation der Werte.

#### Diskussion:

Die Technologien, SOPs und Richtlinien sind sehr Zentren-spezifisch. Eine forcierte Vereinheitlichung ist aber aus praktischen und finanziellen Gründen nicht sinnvoll, da die Methoden und Technologien in den jeweiligen Zentren bereits fest etabliert sind. Die neuen zusätzlichen Maßnahmen zur Qualitätssicherung, insbesondere der umfangreich angelegte Ringversuch, werden begrüßt. Der Ringversuch wird zeigen, ob die Ergebnisse der einzelnen Genotypisierungsplattformen trotz des heterogenen Methodenspektrums vergleichbar und reproduzierbar sind. Eventuelle Qualitätsprobleme werden so sichtbar und können von den jeweiligen Zentren zeitnah behoben werden. Durch die Offenlegung der jeweils verwendeten Methoden und SOPs über das zentrale Web-Portal der Genotypisierungsplattform wird ein hohes Maß an Transparenz über die experimentelle Vorgehensweise gewährleistet.

## Vortrag **“Qualitätsmanagement von Microarray Experimenten im NGFN“**

Referent: Dr. Ruprecht Kuner

Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg

Molekulare Genomanalyse

Im Neuenheimer Feld 580,

69120 Heidelberg

r.kuner@dkfz-heidelberg.de

(Weitere Mitglieder der AG: Chris Lawerenz, Claus Hultschig, Dieter Weichenhan, Holger Sültmann)

Die AG „Microarray-QM im NGFN“ repräsentiert alle Microarray Plattformen im NGFN. Die AG definierte Minimalstandards für die Arrays und die Probenaufbereitung unter Einhaltung der internationalen Vereinbarungen (MIAME, MAGE-ML). Derzeit gibt es 25 abgestimmte Protokolle (zum Download unter <http://ngfn.rzpd.de/qm/standards/microarrays> oder <http://www.dkfz.de/smp-rna/rna.org>). Die Protokolle decken alle Bereiche eines Microarray-Experimentes ab, geben Hinweise und Empfehlungen zur Planung eines Microarray-Experimentes und beschreiben die QM-Maßnahmen, die bei der Produktion und Handhabung von Microarrays und Probenmaterial eingehalten werden. Alle in der Arbeitsgruppe vertretenen Plattformen verpflichteten sich zur Einhaltung dieser Protokolle. Die Mehrzahl der Arbeitsschritte bei der Microarray-Prozessierung wurde hierdurch NGFN-weit standardisiert.

Die RNA-Qualität wird durch spektrophotometrische Methoden, Gelelektrophorese und quantitative RT-PCR kontrolliert. Der routinemäßige Einsatz des Agilent Bioanalyzers ermöglicht die Qualitätskontrolle von sehr kleinen RNA-Mengen. Die Güte der PCR-Produkte wird über eine Gelanalyse überprüft. Um Daten von verschiedenen Experimenten besser vergleichen zu können, werden Referenz-RNAs mitgeführt. Die Spottingroboter werden regelmäßig gewartet. Die Nadelleistung wird kontrolliert und während des Spottingprozesses optimiert. Die Qualität jedes einzelnen Arrays wird sowohl nach dem Auftragen als auch vor der Hybridisierung durch Scanning sowie DNA-bindende Farbstoffe überprüft und dokumentiert. Eine Software, arrayMagic, ermöglicht es, schnell und effizient die Hybridisierungsqualität zu bewerten. Die entsprechenden Bilder werden zu Dokumentationszwecken gespeichert. Proben, Arrays und Hybridisierungen von niedriger Qualität werden vom weiteren Experiment ausgeschlossen.

Die Microarray-Daten werden in standardisierten Datenbanken gespeichert, die einen Datenaustausch zwischen den Kooperationspartnern in den Netzwerken ermöglichen.

Zu den geplanten zukünftigen Aktivitäten gehören u.a. die Erstellung weiterer Protokolle zu Datenmanagement und – analyse, Erstellung eines Workflows für Microarray Experimente, Datenintegration in andere Plattformen (z.B. SMP Cell) sowie Workshops zum Thema Microarray Datenanalyse.

### Diskussion:

Aufgrund der zahlreichen detaillierten SOPS, die alle Schritte des Microarraysprozesses beschreiben, ist die experimentelle Vorgehensweise sehr transparent und es wird eine hohe Reproduzierbarkeit gewährleistet. Es wird empfohlen, die Messgeräte zu überwachen, um die Funktionsfähigkeit (im Sinne der Generierung richtiger Messwerte) sicherzustellen.

**Vortrag: "Qualitätskontrollierte Herstellung von Microarrays"**

Referent: Dr. Claus Hultschig (MPI MG Berlin)  
Automation Group/Department of Vertebrate Genomics  
Max Planck Institute for Molecular Genetics  
Ihnestrasse 73, 14195 Berlin  
Hultschig@molgen.mpg.de

Herr Dr. Hultschig stellt eine neue Software vor, die ursprünglich in Zusammenarbeit mit der Scienion AG (Berlin) erstellt wurde. Die Software dokumentiert alle Schritte des Mikroarray-Prozessablaufes. Sie erfasst z.B. per Barcodereader die Plattenkodierung (Strichcode) und erkennt, wenn ein Fehler bei der vordefinierten Reihenfolge der Platten auftritt. Die Integrität der Log-Dateien wird durch eine digitale Signatur (MD5-Summe) sichergestellt. Ebenso wurde ein Software Tool zum Signieren von sog. Gal-Files (abgeleitet von Gene Pix Array List) entwickelt. Nach sorgfältiger Prüfung wird diese Software Microarray Produktionseinheiten des NGFN zur Verfügung gestellt. Durch den Code der Software wird sichergestellt, dass diese nur auf vordefinierten Computern betrieben werden kann.

Mit Hilfe einer neuartigen Scan-Methode kann die Qualität aller hergestellten DNA Microarrays zuverlässig überprüft werden. Die Scan-Methode verwendet Laserlicht, das von den Ablagerungen auf den Trägermaterialien gestreut wird. Nach Hybridisierung des Microarrays mit fluoreszenzmarkierten Primern kann das Fluoreszenzsignal mit dem Signal der Lichtstreuung korreliert werden. So lässt sich die Qualität der Microarrays feststellen, bevor diese zur Analyse der RNA aus wertvollen Proben verwendet werden.

Die Kontroll-Spots auf den DNA- und Protein Microarrays sind asymmetrisch angeordnet, um zu gewährleisten, dass bei der Auswertung die richtige Orientierung des Arrays erfasst wird. „Guide dots“ ermöglichen eine quantitative Auswertung der Nadelleistung und der Spot-Reproduzierbarkeit.

Herr Dr. Hultschig stellt außerdem eine neue Hochdurchsatztechnologie vor, mit der schnell und effizient Protein-Phosphorylierungen nachgewiesen werden können. Das Verfahren verwendet Protein-Microarrays, die in Anwesenheit von radioaktivem ATP mit einer Protein-Kinase inkubiert werden. Um die Reproduzierbarkeit sicherzustellen, werden mindestens jeweils zwei unabhängige Experimente mit zwei Protein-Microarrays durchgeführt. Die Signalstärken der beiden Protein-Microarrays werden miteinander verglichen. Nur solche Signale, die bei beiden Arrays detektiert werden und weniger als 20% von deren arithmetischen Mittel abweichen, werden bei der Auswertung berücksichtigt, um Falsch-Positive zu vermeiden. Die Kandidatenproteine werden mit einer unabhängigen Methode (*in vitro* Phosphorylierung) verifiziert.

**Diskussion:**

Die neu entwickelten Software- und Scan-Tools zur Qualitätskontrolle von Microarrays gehören zu den Highlights der im NGFN erarbeiteten QM-Maßnahmen. Die Workshop-Teilnehmer teilen die Einschätzung, dass diese Tools ein erhebliches Publikations- und Vermarktungspotential haben.

**Vortrag: „Qualitätsmanagement and Standardisierung innerhalb der SMP-Cell“**

Referentin: Dr. Ruth Wellenreuther  
Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg

Molekulare Genomanalyse  
Im Neuenheimer Feld 580, 69120 Heidelberg  
[r.wellenreuther@dkfz-heidelberg.de](mailto:r.wellenreuther@dkfz-heidelberg.de)

(Weitere Mitglieder der AG: Stephanie Bechtel, Annemarie Poustka, Stefan Wiemann)

Frau Wellenreuther stellt die QM-Maßnahmen der AGs „Herstellung von ORF Ressourcen“ und „Funktionsassays, Zellkulturen“ vor.

Für die Klonierung von ORFs wurden standardisierte Arbeitsabläufe, Protokolle und Qualitätskriterien definiert, die gewährleisten, dass jeder ORF-Klon die komplette und korrekte ORF-Sequenz enthält. Die Protokolle werden kontinuierlich optimiert, sowohl die aktuellen Versionen (<http://www.smp-cell.org/groups.asp?siteID=49>) als auch ersetzte Versionen (dieselbe Seite) sind öffentlich zugänglich, und werden zusätzlich auf der NGFN-Seite publiziert.

Verschiedene High fidelity Polymerasen wurden in dem QM-Projekt der SMP getestet, um zu ermitteln, welche der Polymerasen unter definierten experimentellen Bedingungen die niedrigste Fehlerrate hat.

Als Klonierungssystem wird das Gatewaysystem (Invitrogen) verwendet. Bei jedem Gateway-Entry-Klon wird durch vollständige Sequenzierung überprüft, ob er die komplette und korrekte ORF-Sequenz enthält und verifiziert, dass keine Leserahmen-Mutation vorhanden sind. Außerdem wird sichergestellt, dass die Gateway Rekombinationsstellen nicht verändert sind, was für die Sub-Klonierung in unterschiedliche Destinations-Vektoren für verschiedene funktionelle Experimente wichtig ist. Wenn in Entry-Klonen Veränderungen des Leserahmens festgestellt werden, dann erfolgt die Sequenzierung zusätzlicher Klone bzw. die Neuklonierung. Missense-Mutationen werden toleriert und annotiert.

Um die ORF-Klonierung und Sequenzvalidierung nachvollziehbar zu dokumentieren und um eine lückenlose Prozesskette zu realisieren, wird ein Laborinformations-Managementsystem (LIMS) eingesetzt. Das LIMS vergibt Probenamen für PCR-Produkte, Entry-Klone, Sequenzierprodukte und Expressionsklone, und gewährleistet eine standardisierte Nomenklatur und dadurch eine Fehlerminimierung bei der Probenkennzeichnung für den gesamten Prozessablauf. Mit diesem Standard können automatisiert Proben-Listen im 96-well-Format für Sequenzierung und Weiterverarbeitung erstellt werden. Das LIMS System wurde im Infostructure Projekt der SMP-Cell entwickelt und allen Klonierungs- und Sequenzierzentren der SMP-Cell zur Verfügung gestellt. Dieses LIMS System dient zusätzlich als Schnittstelle für den Datenaustausch zwischen dem DKFZ und den Klonierungs- und Sequenzierzentren.

Die verwendete Nomenklatur, Informationen zu verwendeten Vektoren, sowie standardisierte Protokolle sind auf der Webpage der SMP-Cell (<http://www.smp-cell.org>) sowie auf der Qualitätsmanagement-Plattform im NGFN-Intranet zu finden.

Die Arbeitsgruppe erarbeitet federführend in einer internationalen Zusammenarbeit Standards zur Beschreibung von Funktionsassays (MIACA - Minimum Information About a Cellular Assay). Dieses Projekt hat in Anlehnung an die Entwicklungen von MIAME und MAGE-ML das Ziel, die Beschreibung von Zell-basierten Assays zu standardisieren und die minimal notwendigen Experimentannotationen für ein Zell-Assay-Experiment zu spezifizieren. Die Beschreibung der experimentellen Bedingungen bei Zell-basierten Assays erfolgt nach einem standardisierten Schema: Zunächst wird das Projekt (Kontext, Set-up) skizziert, dann die verwendeten Materialien aufgeführt, das Störprotokoll (z.B. Transfektion mit siRNAs oder Expressionsplasmid) wird beschrieben und schließlich wird die Datenerfassung (z.B. quantitative Detektion der Fluoreszenz) dargestellt. Ein Übersichtsdokument (MS-Word) sowie dokumentierte Beschreibungen (XML, XSD, HTML) von MIACA wurden erstellt, und sind auf der Web-Seite der SMP-Cell öffentlich zugänglich (<http://www.smp-cell.org/groups.asp?siteID=71>). Derzeit wird das Projekt international vorgestellt und potentielle Kooperationspartner werden eingeladen aus Instituten, in denen

Hochdurchsatz zelluläre Assays durchgeführt werden. Der MIACA Standard ist breit konzipiert, die Art der Perturbation ist nicht für eine Methode/Reagenz (z.B. siRNA, ORF, small compound, Temperaturveränderung, ...) festgelegt, sondern soll eine Vielzahl von möglichen Perturbationen abdecken. Damit ist MIACA für einen Einsatz insbesondere auch in der Systembiologie vorbereitet.

Auch die Arbeitsabläufe und Protokolle im Bereich zelluläre Funktionsassays werden kontinuierlich optimiert. Zum Beispiel wurden siRNAs von drei unterschiedlichen Anbietern getestet, um zu ermitteln, welche davon bei definierter Konzentration am besten die Expression bestimmter Gene reduziert. Ein anderer Test untersucht die Effizienz von „Universal Probe“-Bibliotheken (Roche), um die quantitative RT-PCR zu optimieren, welche zur Knock-down-Kontrolle bei RNAi-Assays eingesetzt wird.

Diskussion:

Es wurde sehr begrüßt, dass für die Beschreibung Zell-basierter Funktionsassays Standards erstellt werden. Solche Standards würden die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Daten aus solchen Funktionsassays sowie eine Überprüfung der statistischen Signifikanz ermöglichen. Aufgrund der Vielfalt der möglichen Assays ist das Thema Qualitätsstandards hier besonders komplex und von der jeweiligen biomedizinischen Fragestellung, den Zell- und Assay-Systemen sowie dem Datenaufnahmesystem abhängig.

Die ersten Standardprotokolle für die Beschreibung zellulärer Assays könnten laut Frau Dr. Wellenreuther bis Mai erstellt werden (eine Draft-Version ist bereits auf der SMP-Cell Web-Seite verfügbar und wird derzeit in der wissenschaftlichen Gemeinschaft zirkuliert). Die Workshop-Teilnehmer teilen die Einschätzung, dass die Ergebnisse aus der Erarbeitung dieser Standards in der wissenschaftlichen Community auf ein breites Interesse stoßen werden. Daher haben diese Standards großes Publikationspotential.

## **Vortrag: "Qualitätsmanagement der AG Proteinanalysen"**

Referent: Dr. Patrick Umbach  
Koordinationsbüro SMP-Protein  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) Berlin-Buch  
Robert-Rössle-Str. 10, 13125 Berlin  
[p.umbach@mdc-berlin.de](mailto:p.umbach@mdc-berlin.de)

Die QM-Aktivitäten dieser Arbeitsgruppe fokussieren sich auf die Datenhandhabung. Es gibt fünf Arbeitsgruppen, die Daten der Proteinanalyse liefern. Für die Datenrepräsentation wurden einheitliche Standards gewählt, um einen Datenaustausch und –vergleich zu erleichtern. Die Standards entsprechen den Vorgaben der Humanen Proteom Organisation (HUPO) und den ISGO-Richtlinien (ISGO=International Conference on Structural Genomics).

Die Rohdaten sind im XML-Format gespeichert. Informationen zu makromolekularen Strukturen aus der Röntgenkristallographie sind in mmCIF (makromolekulare kristallographische Informations-Datei) dargestellt. Die Dateneingabe erfolgt über die JAVA-Anwendung Pedro oder über das Laden von XLS-Formaten. Eine sichere Datenübertragung wird über sFTP und sHTTP gewährleistet.

Für die Sammlung und Präsentation der Ergebnisse der Massenspektrometrie, der Röntgenstrukturanalysen sowie der Microarray- und Proteininteraktionsstudien wurden Web-basierte Datenbanken eingerichtet.

Ein Laborinformationsmanagementsystem (LIMS) innerhalb der SMP „Protein“ ermöglicht die Dokumentation und Nachverfolgung jeder Protein-Charge, jedes Experiments und jeder Beobachtung. Das LIMS dokumentiert z.B. die unterschiedlichen physikalisch-chemischen Bedingungen bei automatisierten Protein-Kristallisationsversuchen.

Diskussion:

Die Formulierung von detaillierten, einheitlichen SOPs für die Methoden der Proteinanalyse ist laut Herrn Dr. Umbach schwierig, da sich die Prozesse in vielen Details kontinuierlich ändern. Minimalstandards und eine Dokumentation der Richtlinien zur Qualitätskontrolle werden aber im ersten Halbjahr des nächsten Jahres erstellt.

## Vortrag **“Qualitätsmanagement der AG „Tiermodelle“**

Referent: Dr. Helmut Fuchs  
GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, München  
Institut für Experimentelle Genetik  
Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg  
[hfuchs@gsf.de](mailto:hfuchs@gsf.de)

Die AG „Tiermodelle“ erarbeitete Standards für die Durchführung von Messungen und die Arbeit in den Labors, für den Umgang mit Tieren, für die Einhaltung und Kontrolle der Hygiene in den Tierbereichen sowie für den Austausch und Versand von Mäusen zwischen verschiedenen Instituten. Die AG „Tiermodelle“ ist eng mit dem europäischen Forschungsprojekt Eumorphia assoziiert und verwendet die validierten SOPs zur Maus-Phänotypisierung (EMPreSS). Eine Liste dieser Protokolle befindet sich auf der Webseite <http://www.eumorphia.org/EMPreSS/>. Die SOPs werden von Experten entwickelt und mit drei Kriterien - „Bronze“, „Silber“ und „Gold“ - bewertet. Das Rating „Bronze“ wird vergeben, wenn ein Protokoll mit einem Inzucht-Stamm und/oder bestimmten Mutanten an einem Eumorphia-Labor durchgeführt wurde. Die Bewertungen „Silber“ und „Gold“ erhält ein Protokoll, wenn es entsprechend an zwei bzw. drei und mehr Eumorphia-Labors erfolgreich getestet wurde. Über die Eumorphia-Initiative sollen die Standards in der Mausearbeit europaweit etabliert werden und die AG „Tiermodelle“ trägt maßgeblich zum Gelingen dieses Vorhabens bei.

In einer zentralen Datenbank werden alle Maus-Daten (Geburtsdatum, Geschlecht, Käfig usw.) sowie die Daten der Messergebnisse gespeichert und alle Veränderungen (z.B. Käfigwechsel) dokumentiert. Für die Vernetzung mit fremden Datenbanken sind entsprechende Schlüssel der Maus hinterlegt. Alle Maus-Gewebeproben werden archiviert, um sie für spätere experimentelle Fragestellungen verfügbar zu haben. Diese archivierten Proben können über die Angaben in der Datenbank problemlos zugeordnet werden. Die Qualität der Untersuchungen wird durch einen jeweils standardisierten Arbeitsablauf gesichert. Die Mäuse werden zu definierten Zeitpunkten (i.d.R. beginnend mit einem Alter von 5 Wochen) einer Folge von Durchmusterungen und Test unterzogen. Für jede Projekt-Etappe wurden Meilensteine definiert. Das Erreichen der Projekt-Meilensteine wird über eine Rückkopplungsschleife geprüft.

Regelmäßige Arbeitstreffen auf den verschiedenen Ebenen, eine intensive interne Kommunikation sowie von Experten geleitete Trainingstage („Special days“) tragen zu einer stetigen Optimierung von Tierhandhabung, Tierschutz und Sicherheit bei und gewährleisten, dass die Standardprotokolle überall gleich angewendet und auf dem neuesten Stand der Technik gehalten werden.

### Diskussion:

Die Phänotypisierungs-Standards und ihre umfangreiche Validierung sichern ein hohes Maß an Output-Qualität und Reproduzierbarkeit. Die Standards und die Auswertung der mit diesen Protokollen erzielten Ergebnisse wurden bereits im Rahmen der Eumorphia-Initiative in der November-Ausgabe von Nature Genetics publiziert.

**Abschlussdiskussion:**

Die Teilnehmer des Workshops diskutieren abschließend weitere gruppenübergreifende QM-Maßnahmen. Frau Lopez-Calle regt an, regelmäßig interne Prüfungen der Arbeitsprozesse (Mini-Audits) durchzuführen, um die Wirksamkeit des Qualitätsmanagements zu überprüfen, Verbesserungspotential hinsichtlich der Prozessabläufe zu identifizieren und Anregungen für die Optimierung der QM-Maßnahmen zu erhalten. Für die Experimente sollten zusätzlich zu den Standards auch Workflows erstellt werden, um die optimale Einbindung verschiedener Teilprozesse in die jeweiligen Arbeitsabläufe sicherzustellen. Es wird empfohlen, zur weiteren Optimierung der Output-Qualität regelmäßige Prüfmittelüberwachungen durchzuführen.

Die QM-Aktivitäten sollten nach außen sichtbar gemacht werden. Das NGFN-Projektmanagement könnte dies durch ein E-Mailing erreichen, das die NGFN-Mitglieder über die QM-Aktivitäten der AGs und die Qualitätsmanagement-Plattform im Intranet informiert. Zusätzlich könnten die Aktivitäten des NGFN-Qualitätsmanagements auf der Internet-Plattform [www.science.ngfn.de](http://www.science.ngfn.de) vorgestellt werden. Die Teilnehmer stimmen darin überein, dass noch im ersten Halbjahr 2006 ein weiterer QM-Workshop durchgeführt werden soll, bei dem mehr Zeit für die Diskussion weiterer Strategien zur Qualitätssicherung eingeplant wird. Das NGFN-Projektmanagement wird Anfang 2006 eine Terminabstimmung durchführen.