

WORKSHOP

HUPO Brain Proteome Project

Nadine Palacios-Bustamante, Michael Hamacher, Medizinisches Proteom-Center Ruhr-Universität

Im Vorfeld des 4. Weltkongresses der Human Proteome Organisation (HUPO) trafen sich verschiedene HUPO-Initiative, so auch das HUPO Brain Proteome Project (HUPO BPP), bei dem rund 70 Mitwirkende zum 4. Workshop zusammenkamen. Im Fokus standen die Ergebnisse der vorangegangenen Pilot-Studien „Maus“ und „Human“ sowie deren Veröffentlichung. In diesen Studien wurden mit Hilfe proteomischer Techniken Gehirne von Mäusen verschiedener Altersstufen untereinander bzw. Proben von humanen post-mortem Gehirnen mit humanem Gewebe aus einer Epilepsieoperation verglichen. Die generierten Daten wurden zentral gesammelt und sollen mit einem gemeinsamen Parameter-Satz analysiert werden. Neun Sprecher informierten während des Workshops über den Stand und das weitere Vorgehen in ihren Projekten.

Stand der Pilotstudie

Helmut E. Meyer, Koordinator der Initiative, eröffnete den Workshop mit einem Rückblick auf die Pilotstudie. Herbert Thiele (Bruker Daltonics, Bremen) gab eine Übersicht über das Datenmanagement-, Datenakquise- und Datenreprozessierungskonzept des HUPO BPP. Dabei ging er vor allem auf die Vorteile des geplanten Meta-Scorings sowie der verwendeten Software ProteinScape™ (Bruker Daltonics) und einzelner Komponenten wie ProteinExtractor und PTM-Explorer ein, die insgesamt eine gemeinsame Reprozessierung der ca. 1 Mio. Datensätze erlauben.

Die folgenden Präsentationen verdeutlichten die Vielfalt der in dieser Studie eingebrachten Proteom-Analysen. Johan Robben (Hasselt Universität, Belgien), Georg Arnold (Laboratory for Functional Genome Analysis, München) und Young Mok Park (Korean Basic Science Institute, Daejeon, Süd-Korea) stellten ihre jeweiligen Versuchsansätze vor, die von der 1D- und 2D-Gelelektrophorese mit anschließender massenspektrometrischer Proteinidentifikation (MS) oder nanoLC-MS/MS über LC-Gas Phase Fractionation-MS/MS bis zur 2D-Differential Gelelektrophorese (2D-DIGE) reichten.

Die erhaltenen Daten wurden mittels ProteinScape™ in ein kompatibles Datenformat überführt und zum zentralen Data Collection Center (DCC, Ruhr-Universität Bochum) gesendet. Christian Stephan (Medizinisches Proteom-Center, Bochum) erläuterte in seinem Vortrag wie die standardisierte Datenverarbeitung der Datensätze im einzelnen durchgeführt werden soll.

Iterative Suchläufe

Aufgrund der Heterogenität der Daten (z.B. stammt rund die Hälfte der Daten aus LC-MS/MS Läufen, ca. 30% sind von 1D-Gelen mit nachfolgender MS und weitere 20% von 2D-Gelen mit anschließender MS) wurde eine so genannte Decoy-Datenbank implementiert, die eine Einschätzung der Falsch-Positiv-Rate ermöglichen soll (Einzelheiten unter www.hbpp.org).

Die Parameter für die verwendeten Suchmaschinen Mascot (Matrix Science), Sequest (Thermo Finigan), Phenix (GeneBio) und PFF-Solver (Bruker Daltonics) werden mittels iterativer Suchläufe so angepaßt, daß eine Falsch-Positiv-Rate von unter 5% erreicht wird. Die identifizierten Peptide werden unter Verwendung des „ProteinExtractors“ in Proteinlisten umgewandelt und die Daten in einem späteren Jamboree von eingeladenen Experten analysiert. Die Ergebnisse der Pilotstudien werden in einem Sonderband von *Proteomics* veröffentlicht, die gesammelten Daten der Öffentlichkeit zugänglich gemacht.

Gelbilder vergleichen

Zusätzlich zur Analyse der massenspektrometrischen Daten werden die generierten Gelbilder der verschiedenen Gruppen miteinander verglichen, um ein Mastergelbild zu erstellen. Das wird von Andrew Dowsey (Imperial College, London, UK) mit Hilfe der Software ProteomeGRID durchgeführt. Dowsey berichtete, daß dies für konventionell gefärbte 2D-Gele bereits weit fortgeschritten ist, während 2D-DIGE Gele weitaus schwieriger miteinander zu vergleichen seien.

Lennart Martens von der Universität Gent, Belgien, verglich in seinem Vortrag „Lessons to be learned from the HUPO BPP and PPP Pilot Studies“ die Vorgehensweise des HUPO BPP mit der des HUPO Plasma Proteome Projects (HUPO PPP). Beide Projekte stellen Konsortien dar, die sich neben dem zu untersuchenden Gewebe vor allem in der Art der Datenauswertung unterscheiden.

Martens stellte heraus, daß beide Projekte in ihren Gebieten Pionierarbeit leisten, Standards setzen und die wichtigen Proteomics-Gruppen miteinander ins Gespräch bringen. Zudem sei es überaus wichtig, von Beginn an eine klar definierte bioinformatische Plattform zu errichten und die anfallende Arbeit nicht zu unterschätzen.

Peptide identifizieren

Abschließend stellten Jens Wiltfang und Piotr Lewczuk (Universitätsklinikum Erlangen) das Subprojekt „Clinical Neuroproteomics of Dementias: Identification of novel biomarkers for their early diagnosis and preventive therapy“ vor, das die Untersuchung von sehr gut charakterisierten Proben aus humaner Cerebrospinaler Flüssigkeit von „mild cognitive impairment“ (MCI) Patienten zum Ziel hat.

Es sollen Peptide durch Proteomics-Techniken identifiziert werden, die aus dem Gehirn stammen und somit als potentielle Marker für Neurodegenerative Erkrankungen dienen könnten. Zusätzlich wurde auf den Trainingskurs „Workshop of early neurochemical diagnosis of dementias“ hingewiesen, der am 16. Dezember 2005 in Erlangen stattfinden wird und insbesondere für die Mitglieder des Nationalen Genomforschungsnetztes (NGFN2) sowie des HUPO BPP eingerichtet wurde.

Der 5. HUPO BPP-Workshop findet am 15. und 16. Februar 2006 in Dublin, Irland, statt. Dort soll die Pilotphase abgeschlossen. Außerdem ist geplant, neue Projekte und Strategien zu entwickeln.

Ausführlichere Informationen gibt es im Internet unter www.hbpp.org oder auch per eMail: Michael.Hamacher@rub.de, Nadine.PalaciosBustamante@rub.de, Helmut.E.Meyer@rub.de.