

- 1 DNA-Microarray zur Resistenzdetektion.
- 2 Expressionsprofiling für die Krebsdiagnostik.

DNA-MICROARRAYS

ERREGERNACHWEIS, RESISTENZDETEKTION, GENEXPRESSIONSANALYSE

Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB

Nobelstraße 12
70569 Stuttgart

Ansprechpartner

Priv.-Doz. Dr. Susanne Bailer
Telefon +49 711 970-4180
susanne.bailer@igb.fraunhofer.de

apl. Prof. Dr. Steffen Rupp
Telefon +49 711 970-4045
steffen.rupp@igb.fraunhofer.de

www.igb.fraunhofer.de

DNA-Microarrays sind hocheffektive Nachweissysteme für Nukleinsäuren. Mit ihrer Hilfe kann man Expressionsmuster ausgewählter Gene oder ganzer Genome auf einem einzigen Biochip erstellen, aber auch Mutationen erkennen und das Verfahren damit zur Genotypisierung nutzen. Dies spielt z. B. für die Diagnostik von Krankheiten auf DNA-Ebene eine Rolle. Hierbei können durch die Hybridisierungstechnik die Erbinformationen (DNA-Sequenzen), die zu Krankheiten führen, erkannt werden.

Kundenspezifische Microarrays

Seit nahezu 10 Jahren entwickelt das Fraunhofer IGB für Kunden aus Unternehmen, Kliniken und Forschungseinrichtungen individuell angepasste DNA-Microarrays.

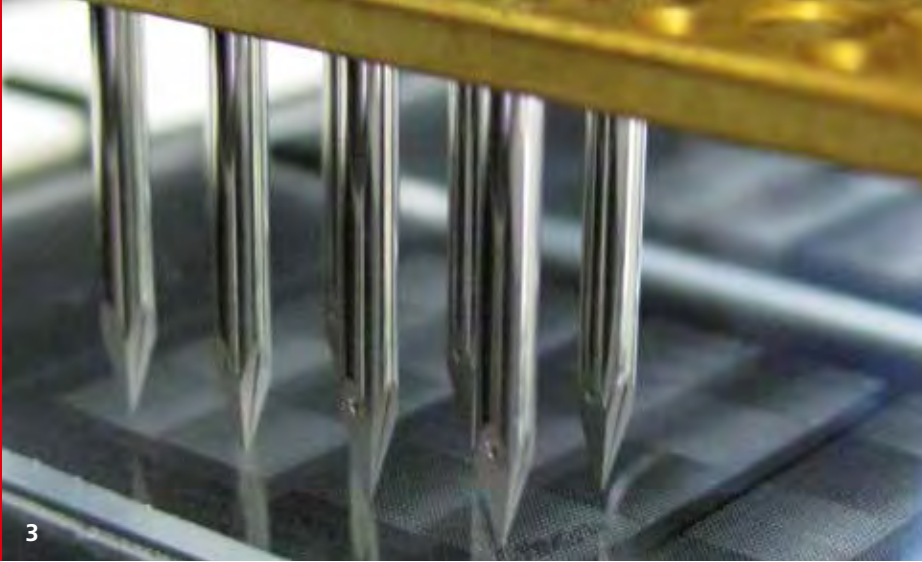
Die Infrastruktur im Institut ermöglicht die

komplette Herstellung, vom Design der Sonden bis hin zur Herstellung des Arrays mittels Kontaktprintverfahren.

Wir untersuchen mit Hilfe von Microarrays unterschiedlichste Fragestellungen, beispielsweise:

- Genexpressionsanalysen von Pathogenen zur Analyse zellulärer Wachstums-, Pathogenitäts- oder Virulenzfaktoren (Targetidentifizierung)
- Identifizierung von Spezies und Resistenzen für eine schnelle Infektionsdiagnostik und Therapie
- Diagnostische DNA-Microarrays für die Krebstherapie

In unserer Microarray-Facility generieren wir Biochips mit 15 000 und mehr Positionen, die es erlauben, genomumfassende Untersuchungen auch an komplexen Organismen durchzuführen.



3

Funktionalisierung und Präparation der Microarray-Oberflächen

DNA-Arrays können auf verschiedenen Oberflächen und mit unterschiedlichster Oberflächenchemie erprobt werden. Für die Herstellung der Biochips verwenden wir neben Glas- und Membranmaterialien auch Oberflächen aus Nanopartikeln. Aufgrund der nicht-planaren, porösen Oberfläche erzielen wir mit dieser hauseigenen, zum Patent angemeldeten Technologie hohe Kopplungsdichten für die Sonden.

Detektion und Auswertung

Fluoreszenzsignale in bis zu vier verschiedenen Wellenlängenbereichen werden mittels Laserscanner detektiert. Mit Hilfe dieser Vier-Farb-Detektion können beispielsweise auch Sequenzreaktionen im Miniformat erbracht werden (Abb. 1). Zur Auswertung der Biochip-Experimente durch Korrespondenzanalyse wird das eigens hierfür entwickelte System M-CHiPS (www.mchips.org) wie auch ein Reihe zusätzlicher statistischer Auswerteprogramme eingesetzt. Hierbei werden Genexpressionsmuster identifiziert und nachfolgend Zusammenhänge zu experimentellen Parametern oder klinischen Verläufen hergestellt. Diese Auswertungen erfüllen die internationalen Standards der Microarray Gene Expression Data Society MGED (www.mged.org).

Universelle Array-Plattformen

Alternativ zur direkten Hybridisierung auf genspezifischen Sonden kommen am Fraunhofer IGB auch universelle Microarray-Plattformen zum Einsatz. Hierbei dienen als Sonden kurze Oligonukleotide (ZIP-Codes), die aufgrund gleicher thermodynamischer Eigenschaften ausgewählt werden, minimale Sequenzähnlichkeit zum Genom des zu untersuchenden Organismus aufweisen und ihrerseits an genspezifische Primer gekoppelt sind. Das System ist so flexibel, dass es schnell und problemlos auf unterschiedlichste Anwendungen übertragbar ist.

Anwendungsbeispiele

Krebsdiagnostik

In einem von der Landesstiftung Baden-Württemberg geförderten Projekt wurde in Zusammenarbeit mit dem Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart, sowie den Universitäten Stuttgart und Tübingen ein DNA-Biochip auf seine Anwendbarkeit in der individuellen Brustkrebsdiagnose untersucht (Abb. 2). Dieser Chip enthält eine Kombination mehrerer hundert Genmarker, welche die Charakterisierung von Mammakarzinomen ermöglicht und zu einer Therapieempfehlung führen soll.

Verbesserte Diagnose aggressiver B-Zell-Lymphome

Für die gezielte Therapie aggressiver B-Zell-Lymphome ist deren eindeutige Diagnose und differenzierte Klassifizierung essenziell.

Dies ist in der Praxis aber gar nicht so einfach, denn aufgrund einer Vielfalt an Erscheinungsformen der Lymphome reichen gängige immunhistochemische Methoden zur Klassifizierung aggressiver B-Zell-Lymphome meist nicht aus. Am Fraunhofer IGB entwickeln wir daher eine diagnostische Microarray-Plattform, die die parallele Detektion mehrerer unabhängiger Parameter auf genetischer und molekularer Ebene ermöglicht. Dies erlaubt eine zielgerichtete Diagnose des Tumorsubtyps und gibt den entscheidenden Therapiehinweis.

Leistungsangebot

Die Abteilung Molekulare Biotechnologie des Fraunhofer IGB bietet ein umfangreiches Leistungsspektrum rund um die Plattform Microarray. Unsere Schwerpunkte liegen dabei auf dem Gebiet der Spezies- bzw. Resistenzdetektion, der Expressionsanalyse und dem Nachweis von Punktmutationen (SNP-Detektion). Im Kundenauftrag bearbeiten wir komplette Microarray-Experimente, von der Planung, über die Herstellung des Arrays, bis hin zur Analyse biologischer Proben. Wir bearbeiten auf Wunsch aber auch einzelne Teilaspekte geplanter Untersuchungen.