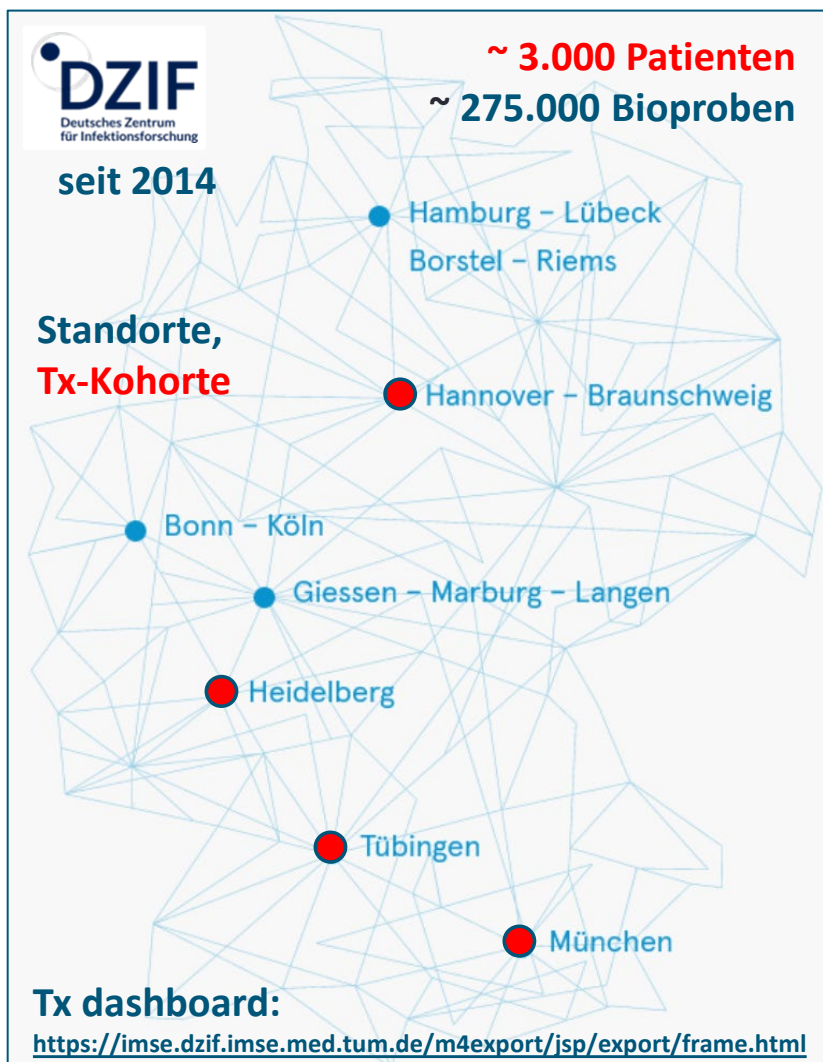


Genomweite Assoziationsstudie in der Transplantationskohorte des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung (DZIF-Tx-Kohorte e.V.)

Zusammenhang zwischen Transplantat-Fehlfunktion und genetischen Varianten wie z.B. im KCNE1-Gen

Bärbel FÖSEL, Sarah THALER, Norman KLOPP, Daniela SCHINDLER, Bettina LORENZ-DEPIEREUX, Tobias KAMMERER, Gabriele ANTON, Thomas ILLIG, Simon SCHÄFER, Christian GIEGER

Die Transplantationskohorte des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung (DZIF)



Patientenkollektiv

- ❖ Herz
- ❖ Niere
- ❖ Leber
- ❖ Lunge
- ❖ Pankreas
- ❖ Stammzellen

Probenkollektiv

- ❖ Blut (Serum, Plasma, Buffy coat, Pax-Gene & PBMCs)
- ❖ Urin (Überstand, Sediment)
- ❖ Stuhl (stabilisiert, Stratec)
- ❖ Buccale Abstriche (nur Tübingen)

Beiträge am Helmholtz Munich

- ❖ Transfer & Lagerung der Münchner Proben ans/am HMGU, 2026: + HD & TUE
- ❖ Probenauswahl, -picking und -versand für wissenschaftliche Projekte
- ❖ Probendatenverwaltung im Zentralen Bioprobenregister des DZIF (DZIF-ZBR)
- ❖ Qualitätskontrolle (SOPs, onsite-Audits), Unterstützung der Studienkoordinatorin
- ❖ Eigenes Forschungsprojekt: Genotypisierung der Kohorte

Beteiligte



Bärbel Fösel



Kathrin Hill



Hans Demski



Lilia Lang

&



Manuela Scheuner



Julia Groth



HELMHOLTZ MUNICH

DZIF flex funds project: TTU 07.914 - Association analysis of genetic influences on the immune system and transplantation outcome: genotyping in the DZIF transplant cohort (DIG-DZIF-Tx)

→ Gemeinschaftsprojekt von Helmholtz Munich, MHH, TUM und LMU

→ Ziel:

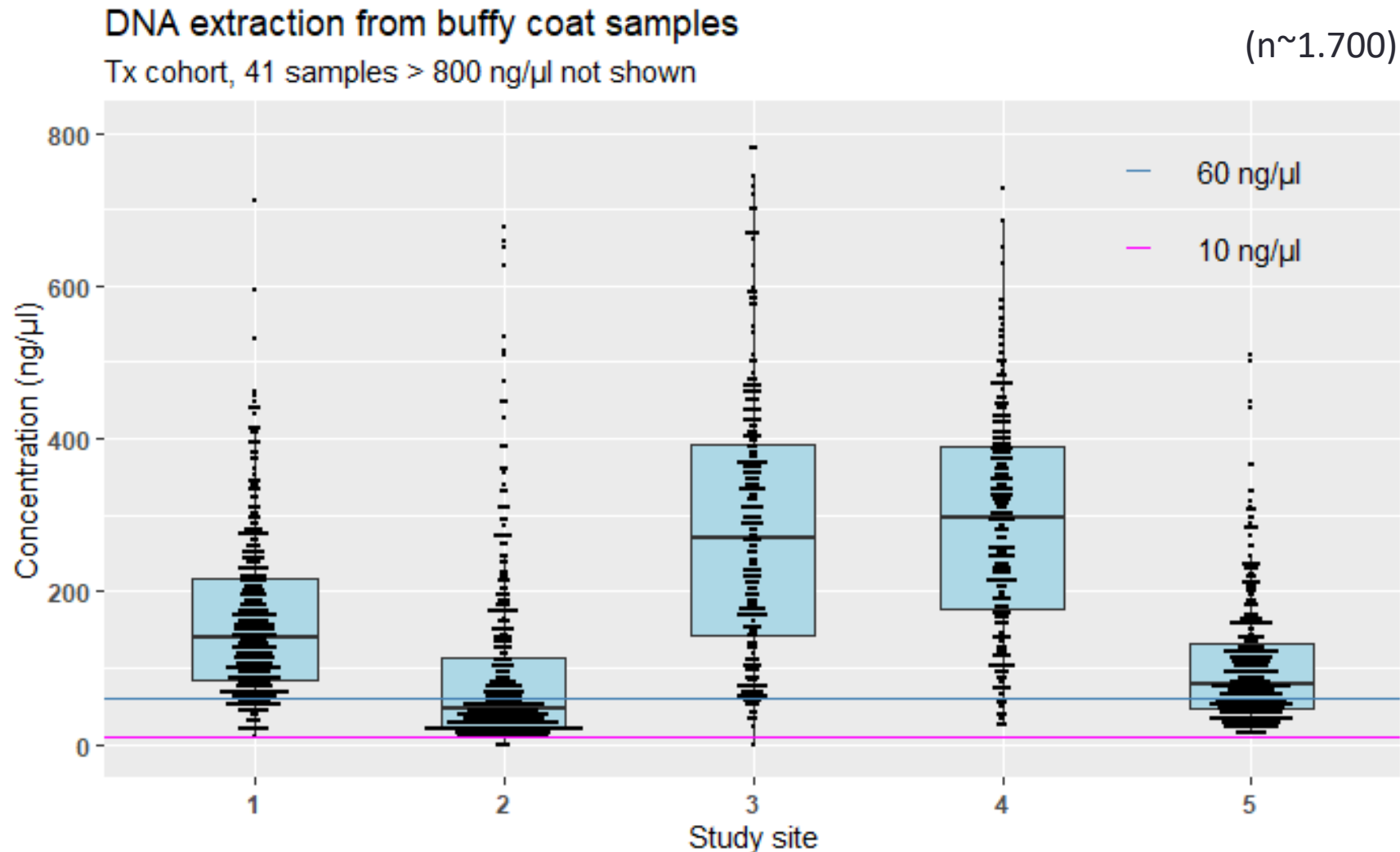
- Erforschung des **genetischen Einflusses** auf das **Immunsystem** und den **Transplantationserfolg** im Zusammenhang mit Vorerkrankungen, medikamentöser Therapie und Infektionen
- bessere **Präventions-** und **Behandlungsmöglichkeiten**



Studiendesign und -durchführung

- **Probenauswahl**
(Juli 2021, Rekrutierungsstand 1866 Teilnehmer:innen, “Buffy coat”, Baseline)
- **Probenanforderung & -auslagerung** von den Standorten an die HUB
- **DNA-Extraktion (n=~1.700 Proben) & QC**
(teils automatisiert (HUB), teils manuell (Helmholtz Munich))
- **Genotypisierung (n=1.612 Proben) & QC** mittels Infinium™ Global Screening Array v 3.0 (GSA) von Illumina (Helmholtz Munich)
- **Imputation & genomweite Assoziationsstudie (n=1.514 Proben = 94%)**
(„primary graft dysfunction“ -> Reduktion auf Niere & Leber: n=1.118 Patienten)

QC 1: DNA-Konzentrationen – nach Standorten getrennt



Anteil <10 ng/μl (%)

1: 0

2: 4

3: 0,5

4: 0

5: 0

Anteil 10-60 ng/μl (%)

1: 12

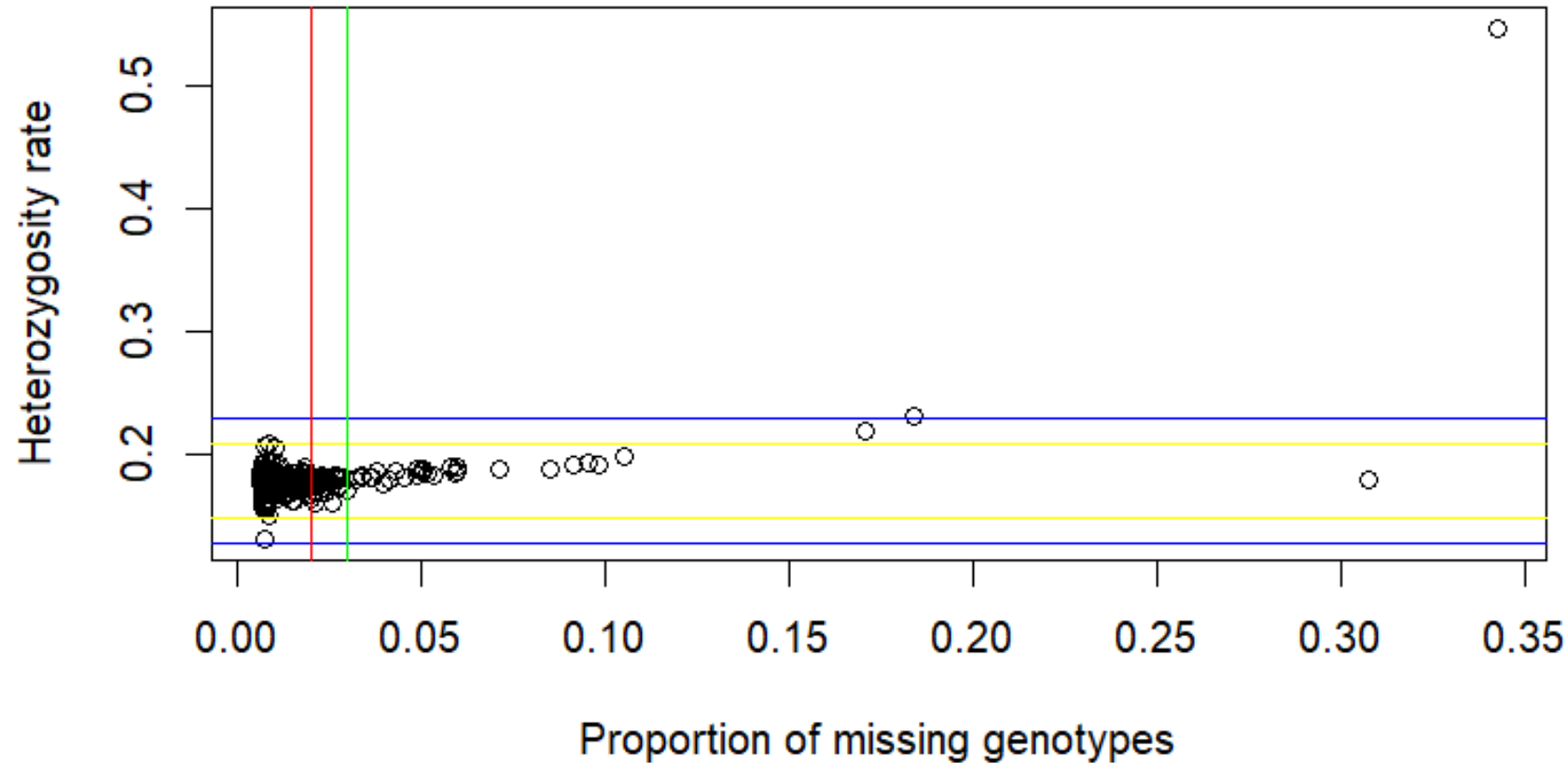
2: **53**

3: 4,5

4: 5

5: **36**

QC 2: Genotypisierung, Proben



Call rate (<97%)

→ 32 Proben (2,0%)

Heterozygosität

(+/- 3 STABW vom Mittel)

→ 4 Proben (0,3%)

Geschlechtsabgleich

(Mismatch)

→ 61 Proben (3,8%)

Duplikate

→ 5 Paare bzw. 9 Proben
(0,6%)



Insgesamt: 94 Proben (5,8%) entfallen; 1.514 Proben (94%) verbleiben final

QC 2: Genotypisierung, Varianten

- Schlechte Qualität, geringe Häufigkeit, Abweichung HWE

Tabelle 2: Zusammenfassung Qualitätsprüfung der einzelnen SNP-Varianten (n = 654.027).

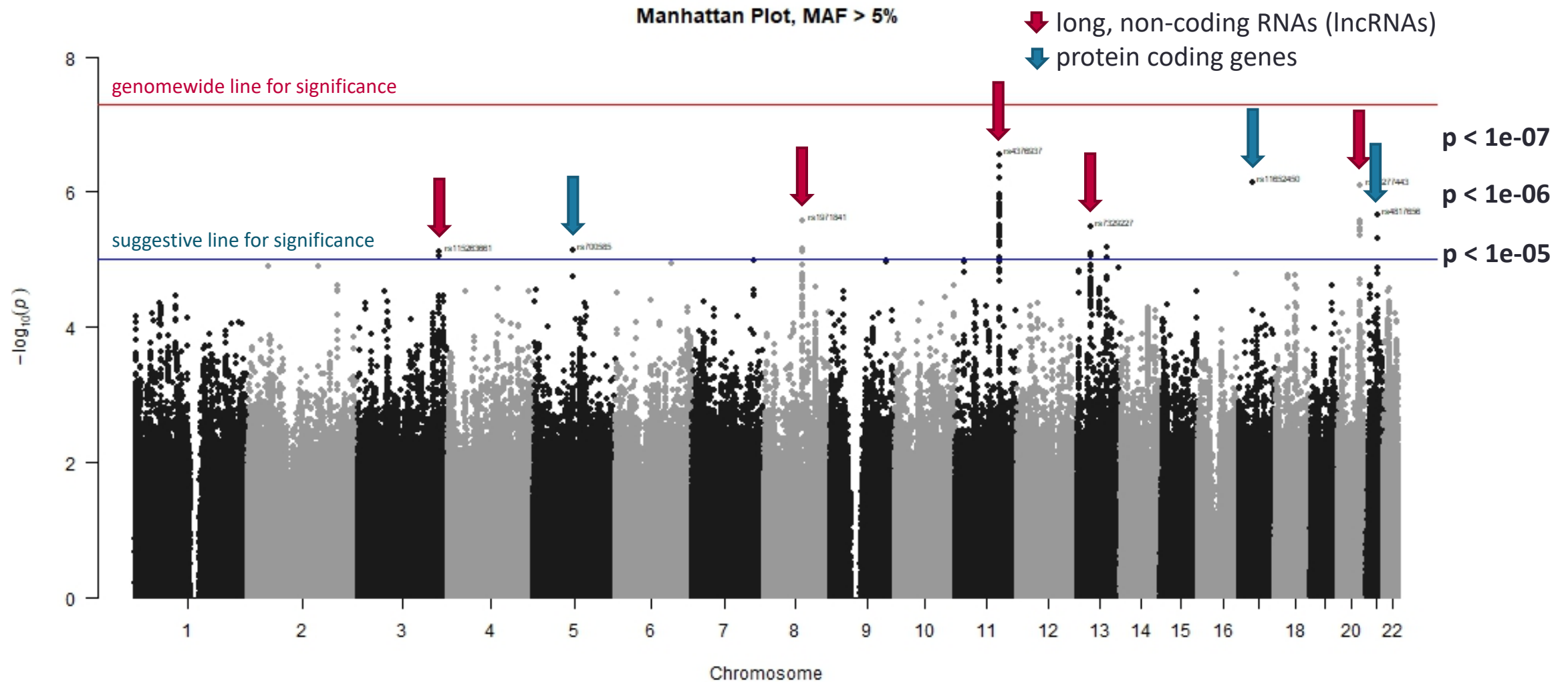
Parameter	Anzahl	Prozent
Geringe „call rate“ (<98%)	39.550	6,1%
Minor allele frequency, MAF (<1%)	143.621	22,0%
Hardy-Weinberg equilibrium test, HWE (1,00E-10)	646	0,1%



ca. 6% der SNPs sollten aus Qualitätsgründen entfernt werden;
seltene Varianten (22%) sollten bei der Analyse ausgeklammert werden

Mit Transplantat-Fehlfunktion assoziierte Single Nucleotid-Varianten (SNVs)

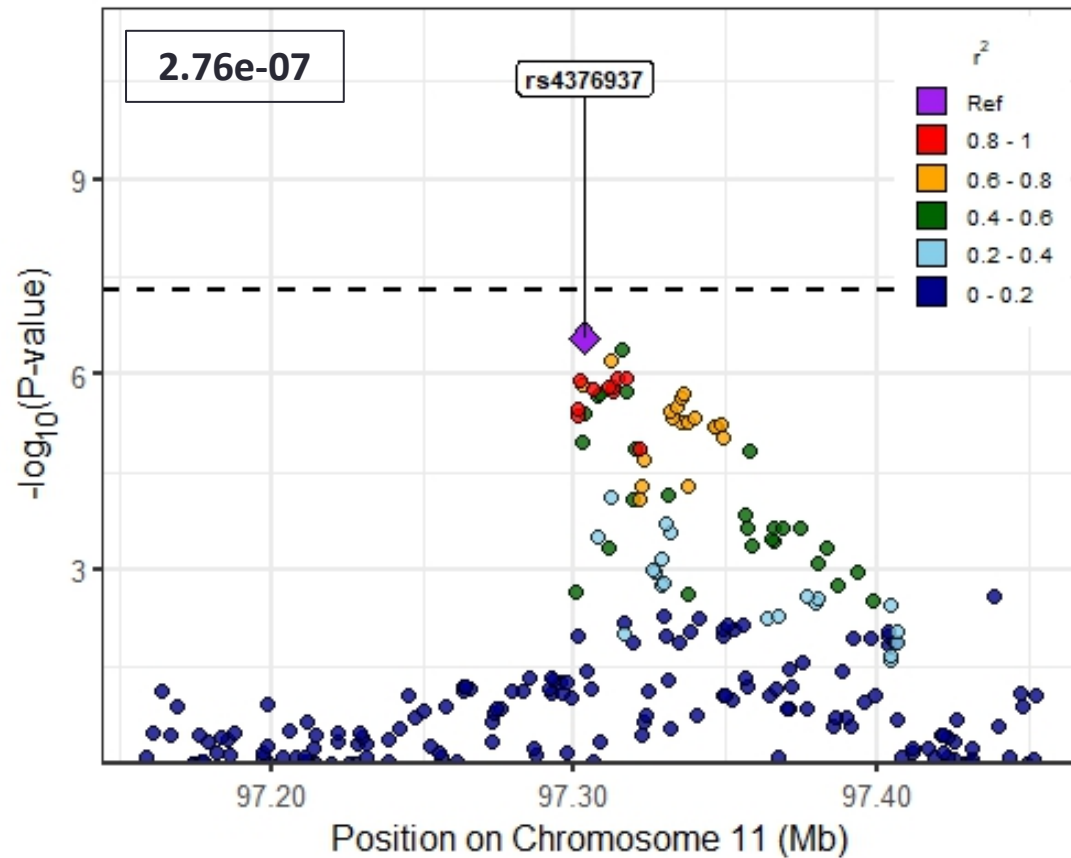
nur Leber (266) + Niere (852) = 1.118; PGD (n/y): Leber: 248/18, Niere: 809/43



Mit Transplantat-Fehlfunktion assoziierte SNVs - Beispiele

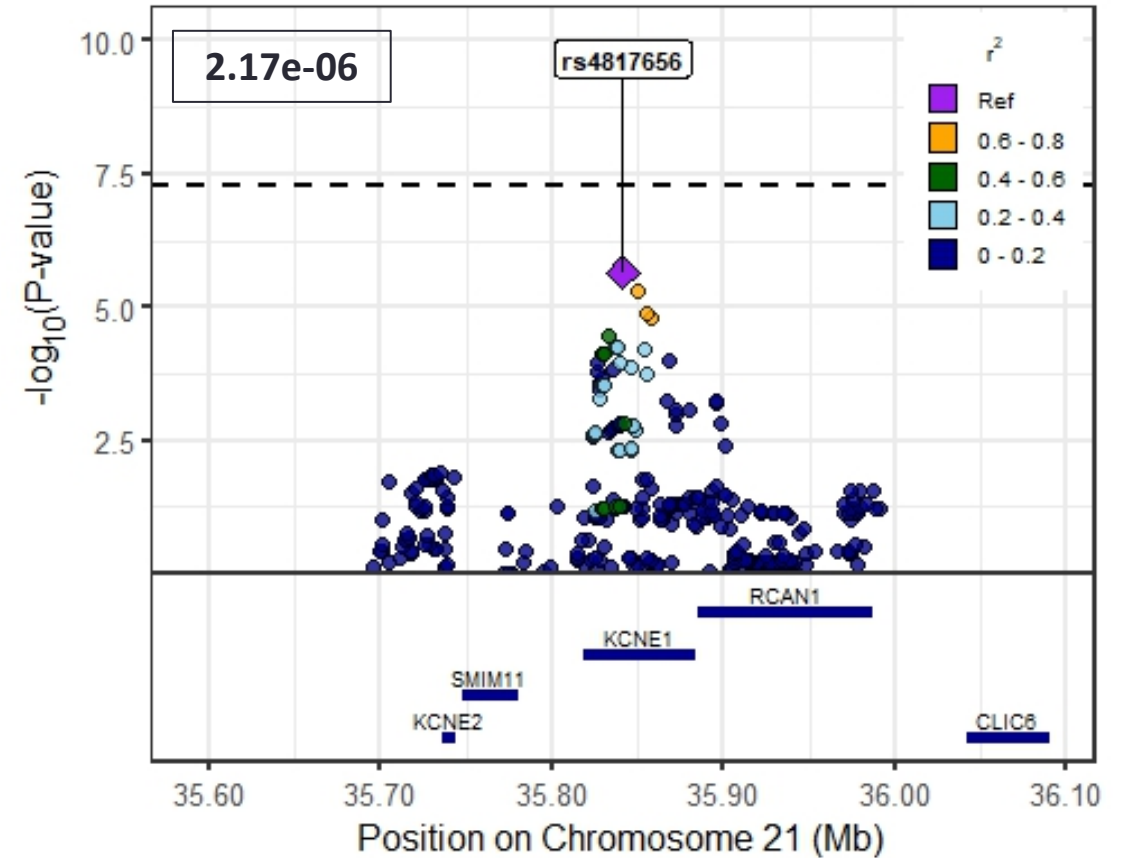
ENSG00000296835: „novel transcript“ (ncRNA)

-> potentiell relevant durch regulatorische Funktion in der Immunantwort



KCNE1: „Potassium voltage-gated channel subfamily E member 1“, regulatory subunit

-> reguliert Expression und Aktivität dieser Kaliumkanäle



Mit Transplantat-Fehlfunktion assoziierte SNVs - Überblick

SNV	Chr	Position	P-value	Name	Potential role in
rs60908826		191229609	3.43e-05	<i>BARHL2</i>	Immune modulation (pathways linked to tissue regeneration or inflammation!)
rs799825	2	155300526	1.24e-05	<i>GALNT13</i>	Immune modulation
rs4952746	2	45397753	1.26e-05	<i>ENSG00000286728</i> (lncRNA antisense to SIX2)	Renal tissue health, regeneration, or response to injury
rs115263661	3	178816500	7.68e-06	<i>PIK3CA-DT</i> (lncRNA located near PIK3CA)	Post-transplant malignancies
rs34579223	4	111447157	2.71e-05	ENPEP	Immune modulation; biomarker for kidney health or pathology
rs700585	5	88152117	7.32e-06	<i>MEF2RC</i>	Immune modulation
rs6966285	7	134298890	1.04e-05	<i>AKR1B15</i>	Oxidative stress mitigation
rs1971841	8	84879603	2.68e-06	<i>RALYL</i>	Post-transplant malignancies, immune regulation and inflammation (liver!)
rs7397585	12	48154582	4.32e-05	<i>SLC48A1; RAPGEF3</i>	Oxidative stress, inflammatory signaling, or iron overload; organ reperfusion and vascular intergration
rs76217410	16	84372722	1.63e-05	<i>WFDC1</i>	Immune modulation, tissue repair, inflammation reduction
rs11652450	17	29772183	7.09e-07	RAB11FIP4	Immune modulation, stress response, cancerogenesis
rs56937254	18	42826218	1.72e-05	SLC14A2	Influence on post-transplant renal performance (due to regulatory role in urea transport, contribution to urea concentration)
rs313851	19	47286491	2.44e-05	SLC1A5	Inflammation, oxidative stress -> SGLT2 inhibitors (heart!), also in PTDM (kidney, adversely discussed in liver; role in renal glucose absorption!)
rs4817656	21	35841186	2.17e-06	KCNE1	Post-operative cardiac rhythm stability (heart!), organ reperfusion due to its role in electrolyte transport and fluid balance /cell volume regulation!)
rs5752718	22	28691681	2.74e-05	<i>TTC28</i>	Graft regeneration and healing, cancerogenesis

Zusammenfassung und Ausblick

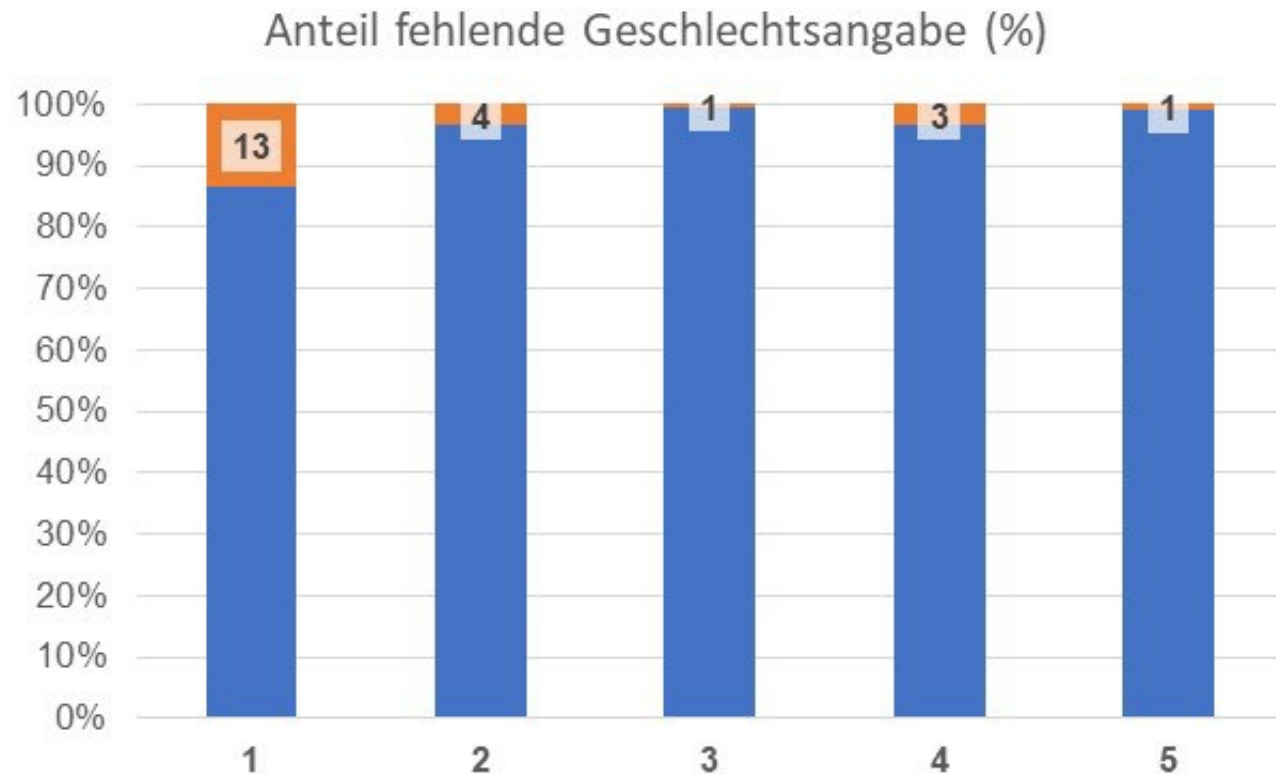
- Guter Verlauf/ gutes Ergebnis für multizentrische Studie
- Herausforderungen:
 - unterschiedliche Probenqualität (→ teils manuelle Extraktion; geringe Ausbeute)
 - unvollständige Harmonisierung der Datenbanken an den lokalen Standorten mit dem ZBR
 - fehlende Unterscheidung von Spender- & Empfängerproben im ZBR
- Erweiterung der Biomaterialsammlung um den Probentyp “DNA”
- Qualitätsgeprüfter GSA-Datensatz aktuell für ca. 50% der Kohorte
- GWAS: Identifikation etlicher neuer Kandidatengene mit relevantem Kontext durch ihre bekannte Rolle v.a. in der Modulation des Immunsystem, in Entzündungsprozessen und der Antwort auf oxidativen Stress, Organreperfusion und vasculäre Integration, Geweberegeneration und Wundheilung, sowie Tumorentwicklung post-Transplantation.

Dank gilt

- den Standortteams der Helmholtz Munich Biobank und der Hannover Unified Biobank
- sowie allen weiteren Partnerstandorten, die mit dem Sammeln von Biodaten & -proben, sowie ihrer wissenschaftlichen Expertise zum Gelingen beigetragen haben!
- dem DZIF für die Förderung!
- dem Publikum für die Aufmerksamkeit!



*Exkurs Geschlechtsabgleich



Insgesamt 5% der Proben:
fehlende Geschlechtsangabe

+ Aufklärungsrate:
fast 100%

- Fehlende Übermittlung an
zentrale Datenbank

Probenübersicht

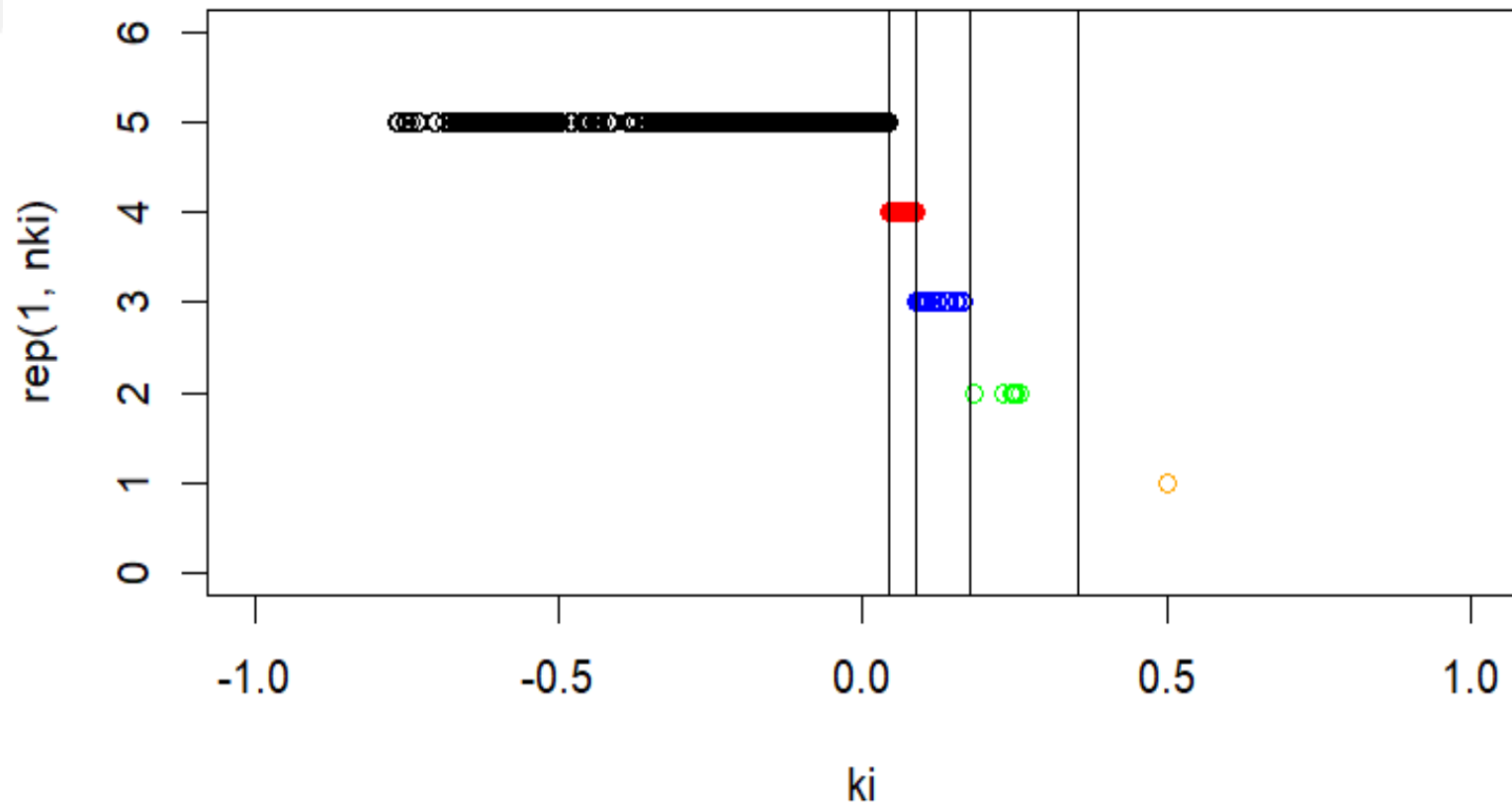
- Probentyp: “Buffy coat” aus EDTA-Blut

Tabelle 1: Probenzahl für DNA-Extraktion und GSA-Analyse aufgeschlüsselt nach Standort.

Standort	Probenzahl DNA-Extrakte	Probenzahl Mehrfache	Probenzahl Spender	Probenzahl Fehlende	Probenzahl GSA
Heidelberg	397	0	26	0	371
Tübingen	372	0	44*	0	328
Hannover	388	10	0	0	378
München, MRI	286	1	21	5	259
München, KUM	281	0	0	5	276
Summe	1724	11	91	10	1612

** Hier auch korrespondierender Empfänger vorhanden.*

Familienstruktur



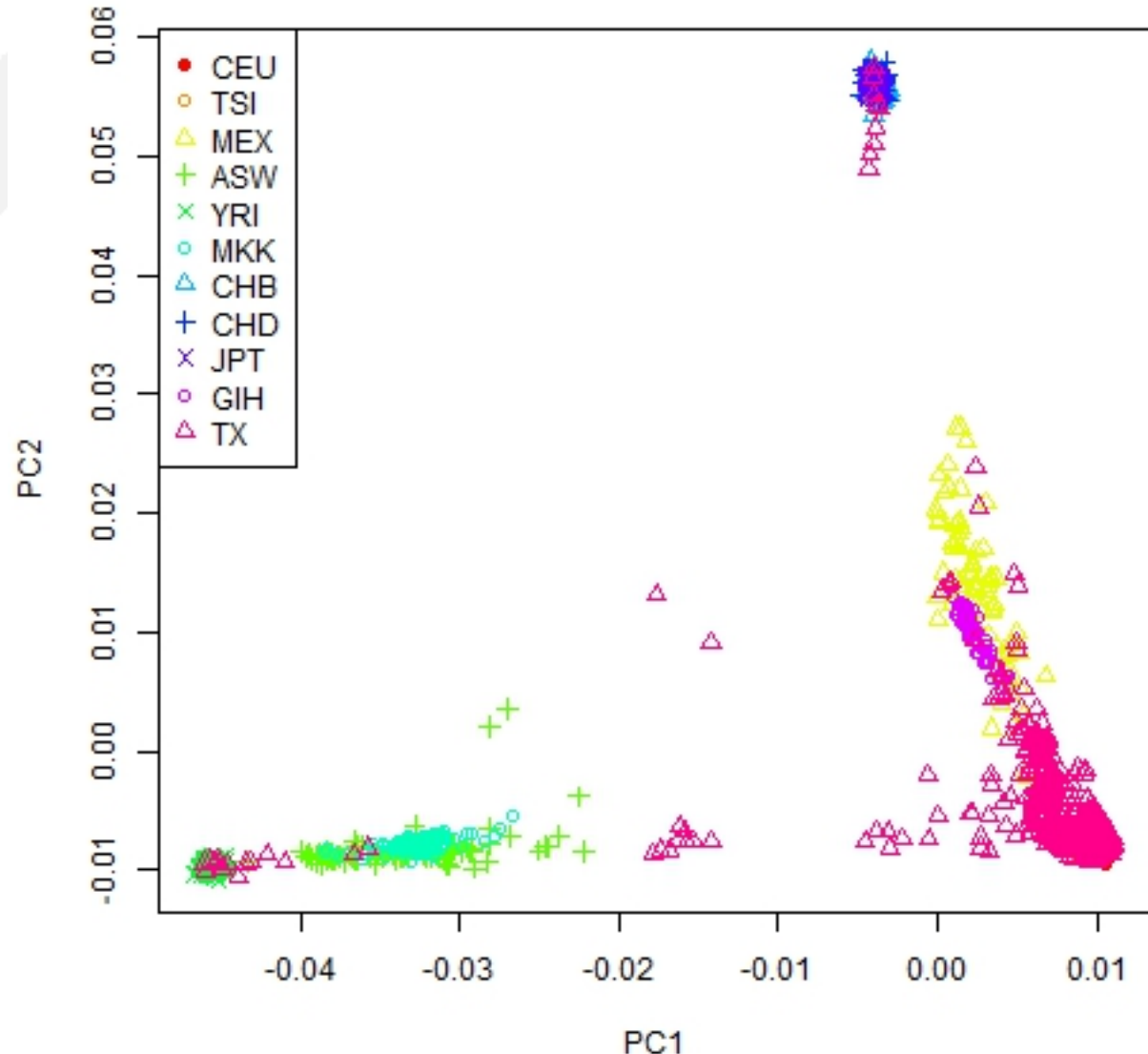
Identisch

→ 10 Proben/5 Paare:
1 bestätigt
4 widerlegt

Verwandte 1.Grades

→ 16 Proben/8 Paare:
5 bestätigt
2 widerlegt
1 ungeklärt

Populationsstruktur (gemapped auf HapMap3)



CEU = Utah residents with Northern and Western European ancestry

TSI = Tuscans in Italy

MEX = Mexican ancestry in Los Angeles, California

ASW = African ancestry in Southwest USA

YRI = Yoruba in Ibadan, Nigeria

MKK = Maasai in Kinyawa, Kenya

CHB = Han Chinese in Beijing, China

CHD = Chinese in Metropolitan Denver, Colorado

JPT = Japanese in Tokyo, Japan

GHI = Gujarati Indians in Houston, Texas

TX = Tx-Kohorte