

DCMD project Overleg 5-12-2019

Projecttitel: Op zoek naar de moleculair genetische oorzaak van cystoïde macula degeneratie

Projectleiders (Radboudumc, Nijmegen):

Dr. Susanne Roosing, afd. Genetica

Prof. dr. F.P.M. Cremers, afd. Genetica

PhD-student

Suzanne de Bruijn, MSc, afd. Genetica

Betrokken Clinicus:

Prof. dr. C.B. Hoyng, afd. Oogheelkunde

1. DNA sequentie-analyse methode (Whole genome sequencing):

De gegevens van de meest complete DNA sequentiemethode, "heel genoom sequentie analyse", zijn geanalyseerd van 5 aangedane personen. We kijken naar DNA varianten die voorkomen bij alle vijf de aangedane personen én binnen het kritieke gebied van DCMD vallen van 2,100,000 DNA bouwstenen. Daarnaast zijn we op zoek naar zeldzame of zelfs unieke varianten, ze mogen dus niet mensen zonder DCMD gevonden worden.

- 5 patiënten op DNA niveau bekeken op overlappende, zeldzame/unieke bouwsteen veranderingen.
- <10 bouwsteen veranderingen
- 1 verdubbeling (TOMM7), 3589 bouwstenen verdubbeld.

Genoom sequencing is gedaan voor 3 personen vanuit Uitzicht 2018-013 met bijdrage van het DCMD-fonds (totaal €1800 , zonder analyse)

2. Het kweken van netvliescellen en RNA sequentie-analyse:

Van de duizenden verschillende RNAs en eiwitten die in het oog aanwezig zijn, blijken de RNAs en eiwitten die betrokken zijn bij erfelijke oogziekten vaak alleen in het oog voor te komen en niet in andere weefsels. Om deze reden hebben wij huidcellen van 2 aangedane DCMD personen omgezet in stamcellen en deze geïnduceerd naar netvliescellen. Ditzelfde hebben we gedaan met 4 gezonden personen om de cellen met elkaar te kunnen vergelijken. Na deze langdurige transformatie van cellen (2 maanden groeitijd) vormen deze cellen samen een cellaag en bootsen hiermee een netvlies na van de persoon waarbij de huidcellen zijn afgenomen. Uit deze cellaag wordt het RNA onttrokken en inmiddels met het RNA (dat op dezelfde manier verkregen is) van een gezond persoon vergeleken.

- RNA data ontvangen en analyse is gestart.
- 2 maanden durende transformatie is voor een tweede keer gestart om nog meer data te kunnen genereren en vergelijkingspunten te geven.

Het tweede experiment zijn/worden gefinancierd vanuit Uitzicht 2018-013 met bijdrage van het DCMD-fonds (~€6.000 per experiment, zonder analyse)

3. Bionano optical mapping:

Het uitvoeren van genoom sequencing kan nog steeds grote oorzakelijke varianten missen als deze gelegen zijn in stukjes DNA met repetitie (heel veel van dezelfde bouwsteentjes opeenvolgend). Dit kan hinder geven bij genoomsequencing omdat er met stukjes van steeds 100 bouwsteentjes wordt

gelezen. In Uitzicht 2018-013 hebben we financiering gekregen om met hele lange stukken te kunnen gaan lezen. Echter de technologische updates laten op zich wachten. Daarom zijn we begonnen met een andere technologische vernieuwing Bionano optical mapping die gemiste grote oorzakelijke varianten zou kunnen oppikken maar op een minder grote resolutie.

- Bionano is uitgevoerd en TOMM7 verdubbeling is opgepikt.

Bionano studies worden gefinancierd vanuit Uitzicht 2018-013 met bijdrage van DCMD-fonds (€730 per experiment, zonder analyse)

4. Vervolgstappen:

- Genoom sequencing
 - 7 DCMD families bekend in onze database (via Radboud)
 - Onderzoeken op bouwsteenveranderingen
 - Onderzoeken op TOMM7 verdubbeling
 - TOMM7 verdubbeling onderzoeken in andere netvliesziekten patiënten
 - TOMM7 verdubbeling karakteriseren (effect in netvlies?)
- RNA analyse van netvliesachtige cellen
 - Voorzichtige aanwijzingen, moeten worden uitgezocht
 - Uitvoeren tweede experiment, data analyse vergelijken met eerste experiment
 - Data bevestigen
 - Pathway analyses
- Pacbio uitvoeren als technische ontwikkeling afgerond is (verwacht binnen 6mnd,
Pacbio zal worden gefinancierd vanuit Uitzicht 2018-013 met bijdrage van DCMD-fonds (€xxxx per experiment, zonder analyse))
- Opnieuw metabolisme analyse. (Destijds was analyse in kinderschoenen, nu verbeterd en opgebouwde database)
- Lipidome analyse (unieke vetten die kenmerkend zijn voor gendefect?) → BORA aanvraag

- Aanwijzingen afwachten alvorens een richting te kiezen
 - 4C
 - Serum/plasma analyse
 - ...

Financiering (op basis van €15.000 uit DCMD fonds):

Gemaakt/geplande kosten

| | |
|--------------------------|--------|
| <i>Genoom sequencing</i> | €1800 |
| <i>RNA experimenten</i> | ~€6000 |
| <i>Bionano</i> | €730 |
| <i>Totaal</i> | ~€8530 |

Geanticipeerde kosten

| | |
|----------------------------|---|
| <i>PacBio</i> | €8247 per sample (2 begroot in Uitzicht 2018-013) |
| <i>Kosten S. de Bruijn</i> | €9532 (1.0 fte, 2 maanden full time) |
| <i>SNP array x7</i> | ? (~€150 per stuk) |