

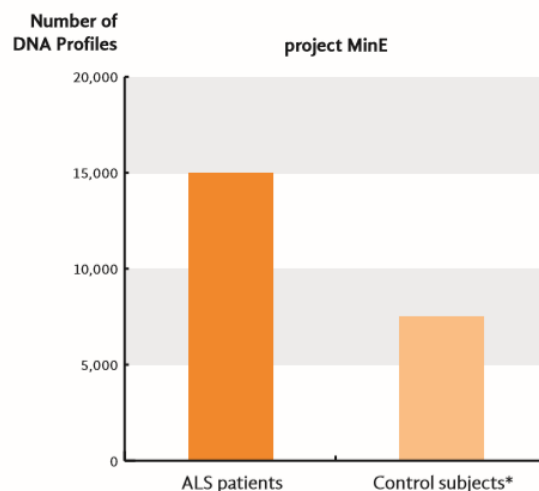
PROJECT MINE VOORTGANGSRAPPORTAGE 2014

Wereldwijd hebben meer dan 200.000 mensen Amyotrofische Laterale Sclerose (ALS), een progressieve dodelijke spierziekte. Ondanks inspanningen van wetenschappers is over de oorzaak weinig bekend. Een behandeling bestaat er niet. Na de diagnose hebben de meeste patiënten gemiddeld nog drie jaar te leven.

Hoe weinig ook bekend is over de oorzaak van ALS, het is vrijwel zeker dat de ziekte een genetische basis heeft. Project MinE is een grootschalig genetisch onderzoek naar de oorzaak van ALS en naar concrete aanknopingspunten voor een effectieve behandeling van deze dodelijke aandoening.

Grensverleggend onderzoek

Het doel van het project is om, naast het uitvoeren van een grootschalige genome-wide association study (GWAS) naar ALS, het DNA van 15.000 mensen met ALS in kaart te brengen (d.w.z. de DNA-profielen bepalen d.m.v. 'whole genome sequencing' technieken) en te vergelijken met het DNA van 7.500 controlepersonen, op zoek naar genetische verschillen in het DNA die te maken hebben met het ontstaan van ALS. Deze zijn alleen te vinden door grote aantallen DNA-profielen te onderzoeken. Onderzoek naar de genetische basis van ALS is op een dergelijk grote schaal nog nooit eerder gebeurd.



*Een bijkomend voordeel van het project is dat de whole genome sequencing data van de controlegroep ook van onschatbare waarde is voor het oplossen van andere aandoeningen, zoals dementie, autisme, ziekte van Parkinson, suikerziekte, hart- en vaatziekten en bepaalde vormen van kanker.

Het DNA-materiaal dat gebruikt zal worden in Project MinE komt niet alleen uit Nederland, maar uit verschillende landen. Binnen het project worden samenwerkingsverbanden gelegd met wetenschappelijke ALS instituten wereldwijd. Daarnaast wordt ook de fondsenwerving internationaal aangepakt, met grote betrokkenheid van lokale stichtingen en patiëntenorganisaties.

Wetenschappelijke voortgang GWAS

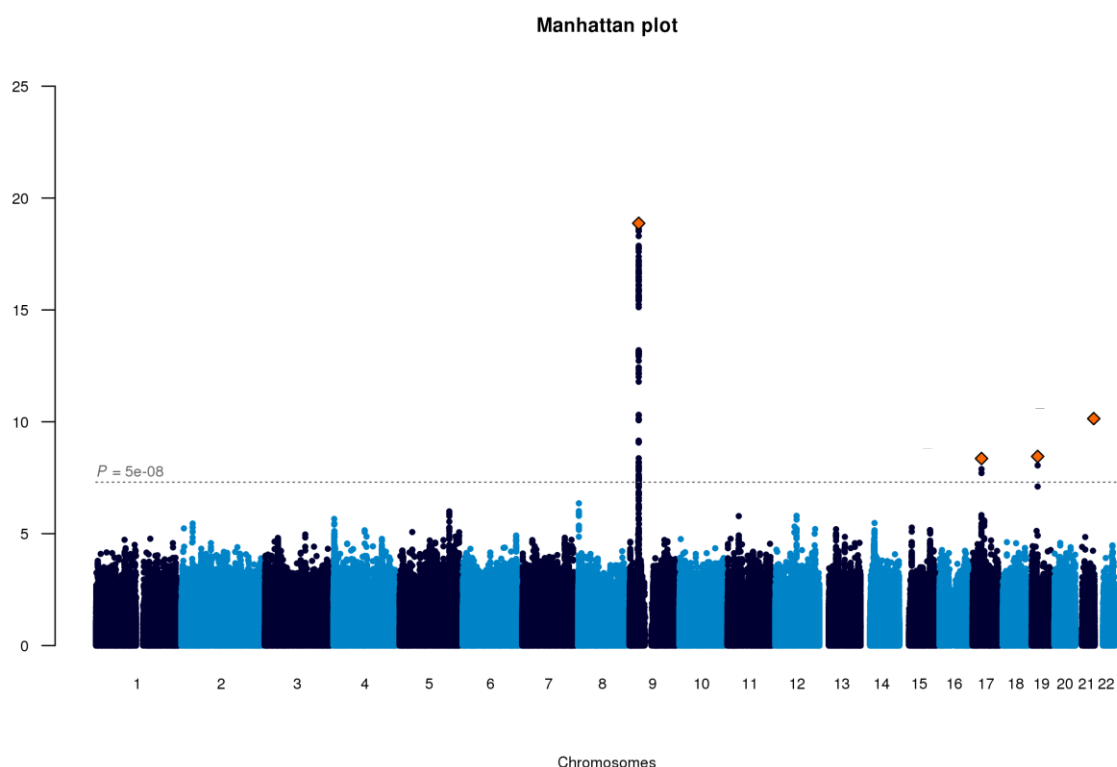
Inmiddels is alle GWAS data die gegenereert is met de SNP microarrays beschikbaar voor analyse in het UMC Utrecht. Om te beginnen hebben we een zeer strenge kwaliteitscontrole uitgevoerd. Dit

PROJECT MINE VOORTGANGSRAPPORTAGE 2014

resulteert normaliter in het excluseren van 5-10% van de patiënten en controles uit de studie. Dit is essentieel en in het verleden is gebleken dat het weglaten van deze stap leidt tot onbetrouwbare en onjuiste resultaten. Na deze kwaliteitscontrole behouden we 12.587 patiënten en 23.503 controlepersonen in de studie uit 14 verschillende landen. De meest recente gepubliceerde GWAS in ALS includeerde 6.100 patiënten en 7.125 controle personen. Overigens zitten al die patiënten en controlepersonen ook in de huidige GWAS.

Het aantal varianten per individu is afhankelijk van de gebruikte micro-array en ligt tussen de 115.000 en 1.200.000. Door deze micro-array data te combineren (imputatie) met whole genome sequencing data uit publieke databases (1000 Genomes Project) en de genomen uit Project MinE hebben we de variatie (genotypes) van ongeveer 9.000.000 varianten bepaalt.

Door de varianten van patiënten en controlepersonen te vergelijken in deze grote groep kunnen we zien welke genen een rol spelen in ALS. Op dit moment hebben we vier genen (of loci) gevonden die waarschijnlijk een rol spelen bij ALS, te zien in de volgende “manhattanplot”.



De chromosomen staan op de x-as en elk punt is een variant. Hoe hoger het punt, hoe waarschijnlijker het is dat deze variant is geassocieerd met ALS. Wanneer een variant boven de lijn van 5×10^{-8} uitkomt wordt dit beschouwd als een betrouwbare kandidaat (de kans dat dit toeval is is dan kleiner dan 1 op 500.000.000).

PROJECT MINE VOORTGANGSRAPPORTAGE 2014

Momenteel richten de analyses zich op het identificeren van de precieze genen onder deze varianten (fine-mapping) met behulp van de whole genome sequencing data die beschikbaar is voor de ALS patiënten en controlepersonen.

Wetenschappelijke voortgang Whole genome sequencing in Nederland

In 2013 en 2014 zijn er in vier fases bestellingen geplaatst bij Illumina voor het whole genome sequencen van DNA van mensen met ALS en controlepersonen. In totaal zijn nu 2.000 Nederlandse DNA profielen beschikbaar voor verdere analyse.

(Er is in 2014 een extra bestelling gedaan voor het sequencen van 50 DNA samples van King's College London, onder het contract van Stichting MinE met Illumina.)

In 2015 zal een laatste batch van nog eens 1000 Nederlandse DNA monsters gesequenced worden, wat het totaal op 3.000 Nederlandse DNA profielen zal brengen.

Alle ruwe data dusver is verwerkt en opgeslagen binnen UMC Utrecht. Het gaat hierbij om ongeveer 180 Terabyte aan data.

Zoals terug te lezen in de vorige paragraaf is deze data gebruikt om varianten in de GWAS data te voorspellen (imputatie). Dit is een veel toegepaste methode in de moderne GWAS studies. Echter, dit werd altijd gedaan met whole genome sequencing data uit publieke databases (1000 Genomes Project). UMC Utrecht is de eerste die dit toepast met whole genome sequencing data van eigen patiënten. Onze analyses laten zien dat dit betrouwbaardere data genereert. Daarnaast hebben we één nieuw kandidaat gen geïdentificeerd dat gemist zou zijn met het gebruik van de data uit het 1000 Genomes Project.

ICT infrastructuur voor Project MinE

Het opslaan en rekenen met de whole genome sequencing data binnen Project MinE stelt hoge eisen aan de ICT infrastructuur. In Nederland wordt deze in samenwerking met de beheerders van het datacentrum "high performance computing service" (HPCS) van het UMC Utrecht geoptimaliseerd. Het blijkt namelijk dat deze grote hoeveelheden data zelfs voor de modernste computer clusters een uitdaging vormen. Wanneer de data is opgeslagen is het zaak dat de data opnieuw gekalibreerd wordt. Het blijkt namelijk dat rekaliëratie van de whole genome sequencing data met recent ontwikkelde algoritmes (GATK van Broad Institute aan Harvard) betere resultaten levert dan de algoritmes die nu gebruikt worden door commerciële partijen zoals Illumina.

De data van de eerste 2.000 Nederlandse DNA profielen is nu geanalyseerd in combinatie met 40.000 DNA-arrays (zogenaamde 'chips'), wat op dit moment heeft aangetoond dat er minstens 2 nieuwe gebieden in het DNA bestaan die belangrijk zijn bij het ontstaan van ALS. Deze analyses zijn verricht op de zogenaamde "variant" data, er is nog niet gerekend met de "ruwe" data. De ruwe data is 10x zo groot als de variant data, en stelt dus nog hogere eisen aan de rekenkracht.

PROJECT MINE VOORTGANGSRAPPORTAGE 2014

Eind 2014 is een nieuwe subsidieaanvraag gedaan door ALS Centrum Nederland bij Stichting ALS Nederland voor de vergoeding van de verdere uitbreiding van de DNA-arrays om de nieuwe bevindingen te valideren, voor verdere ontwikkeling van de ICT infrastructuur van het datacentrum “high performance computing service” (HPCS) van het UMC Utrecht om ook te kunnen rekenen op de ruwe data van de straks in totaal 3.000 Nederlandse DNA profielen. Daarnaast is een aparte aanvraag ingediend en gehonoreerd (TKI-toeslag aanvraag via NWO) t.b.v. het ontwikkelen van de ICT infrastructuur voor het gehele consortium (een taak die door ALS Centrum Nederland geleid wordt) en de verbinding met het HPCS, zodat de data van alle landen straks op 1 plaats bij elkaar komt en er met deze data gerekend kan gaan worden door alle partners m.b.v. diverse reeds en nieuw ontwikkelde algoritmes.

In samenwerking met ICT experts van Accenture is een lijst met ICT uitdagingen en criteria opgesteld voor de benodigde infrastructuur voor het verwerken, opslaan en rekenen met de data van 22.500 DNA profielen die Project MinE beoogd te verzamelen in samenwerking met de internationale partners. Met deze criteria is gezocht naar een partner voor het consortium en eind 2014 wordt er samengewerkt met experts van SURFsara om oplossingen voor Project MinE te vinden. Om de ICT infrastructuur goed op te zetten, Project MinE verder te ontwikkelen en resultaten te behalen zullen t.z.t. een scientific programmer, een storage-network engineer, een bioinformaticus en drie post-docs aangesteld worden op het project in Nederland.

Internationaal consortium

In 2014 heeft Project MinE zich officieel internationaal uitgebreid. De volgende ALS onderzoekscentra en ALS stichtingen hebben zich bij het Project MinE consortium aangesloten:

	Land	ALS onderzoekscentrum (PI)	ALS stichting
1	België	KU Leuven (Robberecht, Van Damme)	ALS Liga
2	Israël	Hadassah ALS Clinic (Gotkine)	Prize4life Israel
3	Frankrijk	(Corcia, Couratier)	ARSLA
4	Duitsland	Ulm ALS Research Center (Weishaupt, Ludolph)	Charcot Stiftung
5	Groot-Brittannië	UK MND DNA Bank, King's College London, SITRAN, University of Birmingham (Al-Chalabi, Shaw, Morrison)	MND Association
6	Ierland	Trinity College Dublin (Hardiman)	iMNDA, RMN
7	Italië	University of Turin, IRFMN (Chio, Silani)	ArisLA
8	Nederland	ALS Centrum Nederland (Van den Berg, Veldink)	Stichting ALS Nederland
9	Australië	Macquarie University, University of Sydney's Brain and Mind Research Institute (Blair, Kiernan)	MND Australia
10	Portugal	Instituto de Medicina Molecular (Carvalho)	APELA
11	Spanje	Hospital Carlos III (Mora Pardina)	FUNDELA
12	Zweden	Umeå University (Andersen)	Neuroförbundet
13	Zwitserland	Kantonsspital St. Gallen (Weber)	Schweizerische ALS Stiftung

PROJECT MINE VOORTGANGSRAPPORTAGE 2014

14	Turkije	Bogaziçi University/Neurodegeneration Research Laboratory (Basak)	ALS/MNH Derneği
15	VS	Emory ALS Center, UMass Medical School (Glass, Landers)	ALS Association

In het eerste kwartaal van 2014 is een vernieuwde website gelanceerd (op www.projectmine.com) en in de loop van het jaar zijn webpagina's opgeemaakt voor alle partners. Op de webpagina van ieder land staat het lokale onderzoekscentrum en de lokale stichting vermeld. Tevens is de donatiemodule van de lokale stichting geïntegreerd op deze pagina, en kan het internationale publiek donaties doen aan het door hen geselecteerd land/stichting. Op deze manier blijven de geldstromen gescheiden per land. Lokaal hebben het ALS onderzoekscentrum en de stichting een overeenkomst die bepaald dat met de opgehaalde fondsen via de website het onderzoek van Project MinE bij dat onderzoekscentrum gefinancierd wordt.

In onderstaande tabel wordt een overzicht gegeven van de beschikbare DNA monsters bij de onderzoekscentra binnen het consortium op 1 november 2014.

	Aantal beschikbare DNA monsters (voorkeur voor verhouding patiënten : controlepersonen = 2 : 1)	
	ALS patiënten	Controlepersonen
Australië	1.000	500
België	500	250
Frankrijk	2.000	500
Duitsland	2.000	
Ierland	750	375
Israël	150	75
Italië	1.000	500
Nederland	2.000	1.000
Portugal	200	200
Spanje	500	250
Zweden	1.000	650
Zwitserland	280	300
Turkije	500	500
Groot-Brittannië	1.500	300
VS	1.000	
Totaal	14.380	5.400

Eind 2014 zijn er reeds substantiële fondsen beschikbaar voor het sequencen van DNA in de volgende landen: Nederland 1.000 DNA profielen (600 patiënten, 400 controlepersonen), VS 385 DNA profielen, Australië 36 DNA profielen, België 185 DNA profielen, Groot-Brittannië 2.250 DNA profielen (1.500 patiënten, 750 controlepersonen).

PROJECT MINE VOORTGANGSRAPPORTAGE 2014

Met dit gegeven worden eind 2014 en begin 2015 offertes aangevraagd bij verschillende whole genome sequencing service providers om de meest gunstige overeenkomst te sluiten voor het consortium.

Administratieve zaken

In 2014 heeft de officiële internationale kick-off van Project MinE plaatsgevonden, en wel in Amsterdam tijdens de Amsterdam City Swim 2014 voor ALS op 7 en 8 september. Alle (potentiele) partners voor Project MinE waren uitgenodigd om de City Swim mee te maken op 7 september, om zo getuige te zijn van een zeer succesvol fondsenwervend evenement in Nederland, waarbij een groot deel van de opbrengsten naar Project MinE gaan. Op 8 september volgde een grote bijeenkomst waarbij het project en alle bijkomende facetten besproken werden, zowel wat betreft het echte wetenschappelijke onderzoek als op het gebied van fondsenwerving. Van deze bijeenkomst is een video gemaakt die gebruikt wordt voor promotie van het project.

De kick-off bijeenkomst werd opgevolgd door een tweede bijeenkomst in Brussel op 5 december, tijdens het International MND Symposium. Hierbij waren naast de bevestigde partners ook andere geïnteresseerden aanwezig, zoals een vertegenwoordiger van de ALS stichtingen en onderzoekscentra uit Brazilië.

Voor het Project MinE consortium is een Consortium Agreement opgesteld dat begin 2015 door alle partners ondertekend zal worden. Daarnaast zijn richtlijnen opgesteld voor het selecteren van controlepersonen voor de studie en voor het verzamelen van een basis-set aan klinische data voor ieder individu wiens DNA in Project MinE onderzocht zal worden.

Er is een organisatorisch (zie onderstaande afbeelding) en een communicatieplan opgesteld voor Project MinE, dat gedeeld is met alle partners. Templates voor folders voor Project MinE kunnen worden aangepast en gebruikt door de partners om folders te ontwikkelen voor hun eigen land. Tevens is een forum/intranet (Basecamp) ingericht om de communicatie binnen het consortium te vergemakkelijken.

PROJECT MINE VOORTGANGSRAPPORTAGE 2014

