

Die Biobank der Nationalen Kohorte als Ressource der epidemiologischen Forschung

The biobank of the German National Cohort as resource for epidemiologic research

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H.-Erich Wichmann¹, Dr. rer. nat. Andreas Hörlein¹, Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Ahrens², Prof. Dr. med. Matthias Nauck³

¹Helmholtz Zentrum München, Institut für Epidemiologie II

²BIPS-Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie Bremen

³Universitätsmedizin Greifswald, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Wortzahl des Textes (ohne Literaturverzeichnis und Zusammenfassungen): 3.630

Zeichenzahl der deutschen Zusammenfassung (inkl. Leerzeichen): 1.885

Zeichenzahl der englischen Zusammenfassung (inkl. Leerzeichen): 1.793

Zahl der Referenzen: 30

Zahl der Tabellen/Infoboxen/Abbildungen: 1/0/5

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H.-Erich Wichmann (emerit.)

Institut für Epidemiologie II

Helmholtz Zentrum München

Ingolstädter Landstr. 1

85764 Neuherberg

wichmann@helmholtz-muenchen.de

Tel.: 089-3187-4713 oder 0170-5203140

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Verknüpfung hochwertiger Bioproben mit detaillierten Daten aus medizinischen Untersuchungen und Befragungen bietet ein großes Forschungspotential. Dies gilt besonders für große prospektive epidemiologische Studien, die über einen langen Zeitraum durchgeführt werden wie die Nationale Kohorte (NAKO).

Ziel der Arbeit: Die Modalitäten der Gewinnung, Verarbeitung und Lagerung von Bioproben im Hochdurchsatz sowie die ethischen Randbedingungen werden am Beispiel der NAKO dargestellt.

Material und Methoden: Für die NAKO werden 200.000 zufällig ausgewählte Erwachsene aus der Bevölkerung von 18 Studienzentren rekrutiert und über einen Zeitraum von 20-30 Jahren beobachtet. Neben dem umfangreichen Untersuchungsprogramm mit Wiederholungsuntersuchungen und Follow-up-Befragungen ist das Biorepository ein Kernstück der NAKO.

Ergebnisse: Das NAKO-Bioprobenlager wird mehr als 20 Millionen Aliquote von Plasma, Serum, Erythrozyten, Lymphozyten, Urin, Speichel, Nasenabstrichen und Stuhl beinhalten. Die Präanalytik und Aliquotierung erfolgt lokal in den Studienzentren und ist hochgradig standardisiert und weitgehend automatisiert. Alle Proben werden langfristig bei -80°C bzw. -180°C eingelagert. Ein Laborinformationssystem dokumentiert alle Probenverarbeitungsschritte und die Lagerorte. Die Nutzung der Daten und Bioproben wird nach Beendigung der Basiserhebung (voraussichtlich ab 2018) für Forscher im In- und Ausland möglich sein.

Diskussion: Die Erfahrungen mit bereits bestehenden epidemiologischen Biobanken zeigen eindrucksvolle Forschungsergebnisse, insbesondere in der genetischen Forschung und in der Post-Genomik (z.B. Transkriptomik, Metabolomik, Epigenomik). Die bisherigen Erfolge erklären die stark gestiegene Nachfrage nach Daten und Proben aus Bevölkerungsstudien, und die NAKO wird hierfür in Zukunft eine wichtige Ressource bereitstellen.

Schlüsselwörter: Prospektive Studie, Epidemiologie, Biobank, Präanalytik, Biorepository

Summary

Background: Linkage of high quality biosamples with detailed data from medical examinations, questionnaires and interviews offers great opportunities for research. This is particularly true for large scale prospective epidemiological studies with long observation periods, like the German National Cohort (GNC).

Aim: Modalities of collecting, processing and storing biosamples of high quality and with a high throughput as well as ethical aspects are described using the GNC as an example.

Material and methods: For the GNC 200.000 randomly selected adults will be recruited by 18 study centers and will be followed-up for 20-30 years. In addition to the extensive basic examination protocol, followed by reassessment examinations and follow-up questionnaires, the biorepository is a cornerstone of the GNC.

Results: The GNC biorepository will comprise more than 20 million aliquots of plasma, serum, erythrocytes, lymphocytes, urine, saliva, nasal swabs and stool. Preanalytics and aliquoting are performed locally in the study centers and are highly standardized and extensively automated. All samples are stored at -80°C and -180°C respectively. A laboratory information system documents all processing steps and storage locations. Access to data and biosamples will be granted to researchers within and outside Germany after completion of the baseline recruitment (i.e. from 2018 onwards).

Discussion: Experience with already existing epidemiological biobanks shows impressive results, especially with regard to genetic research as well as post-genomics (e.g. transcriptomics, metabolomics, epigenomics). Previous success stories explain the strongly increased demand for data and biosamples from the population. Thus the GNC will provide an important resource for biomedical research in the future.

Key words: Biobank, prospective study, epidemiology, biobank, preanalytics, biorepository

1_Einleitung

Biobanken sind Sammlungen von biologischem Material wie DNA, Gewebe, Zellen, Plasma, Serum, Urin oder anderen Körperflüssigkeiten. Sie umfassen ferner gesundheitsrelevante Daten, die mit jeder Bioprobe verknüpft sind. Sie erlauben den Einsatz molekularbiologischer Methoden in der Epidemiologie und sind damit die Grundlage für Forschungsprojekte mit Markern für stoffliche Expositionen, für prä-klinische Effekte und für die Suszeptibilität gegenüber Krankheiten [1]. Dadurch können solche Sammlungen die ätiologische Forschung unterstützen und helfen, Beziehungen zwischen Genen, der Umwelt, dem Lebensstil und Krankheiten zu verstehen [2].

Biobanken sind eine wichtige Ressource bei der Untersuchung der molekularen Grundlagen von Krankheiten und der Identifizierung neuer therapeutischer Targets. Die Verfügbarkeit großer Sammlungen gut charakterisierter Bioproben ist eine wichtige Voraussetzung, um die Entwicklung neuer Medikamente zu beschleunigen.

In den letzten Jahren haben Biobanken vor allem bei der Erforschung der genetischen Grundlagen komplexer Erkrankungen wie Diabetes, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, neurologischen Krankheiten, Krebs etc. – an deren Entstehung neben dem Lebensstil zahlreiche Gene beteiligt sind – wichtige Erkenntnisse geliefert. An der praktischen Umsetzung dieser Erkenntnisse für Diagnostik und Therapie wird jetzt intensiv gearbeitet.

Insgesamt sind Biobanken eine unverzichtbare Ressource für die biomedizinische Forschung; koordiniertes, qualitätsgesichertes und nachhaltiges Biobanking muss ein langfristig ausgerichtetes Forschungsstrukturziel sein, das für die Qualität und Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Forschungslandschaft von großer Bedeutung ist.

Man unterscheidet üblicherweise zwischen krankheitsbezogenen (klinikbezogenen) Biobanken, die sich auf Patienten mit bestimmten Erkrankungen stützen, und populationsbezogenen Biobanken, deren Grundlage (Zufalls-) Stichproben zunächst überwiegend gesunder Personen aus der Allgemeinbevölkerung sind. Diese Personen werden häufig im Rahmen von epidemiologischen Kohortenstudien über längere Zeiträume in Hinblick auf die Entwicklung von krankheitsrelevanten Veränderungen oder manifesten Erkrankungen beobachtet [3].

Der folgende Beitrag beschäftigt sich beispielhaft mit der Biobank der Nationalen Kohorte, die auf einer solchen Kohortenstudie beruht. Es wird die Umsetzung eines modernen Konzepts der Bioprobengewinnung und Aliquotierung in lokalen Studienzentren, der Lagerung bei sehr tiefen Temperaturen und der automatischen Probenverwaltung unter Einhaltung hoher ethischer Standards dargestellt.

2_Bioproben in der nationalen und internationalen (epidemiologischen) Forschung

2.1_Bevölkerungsbezogene Kohortenstudien

Es gibt derzeit bereits eine größere Zahl epidemiologischer Studien mit zugehörigen Bioprobensammlungen, die für die Forschung bereitgestellt werden. Einen Überblick über internationale bevölkerungsbezogene Biobanken liefert P³G, das Public Population Project in Genomics [4]. Ein wichtiges Projekt zur Nutzung europäischer Populations-Biobanken ist das Projekt Large Population Cohorts der Europäischen Forschungsinfrastruktur für Biobanken

BBMRI [5]. In diesem Projekt wird erprobt, wie der transnationale Zugang zur Nutzung von Biobanken verbessert werden kann [6].

Einige bevölkerungsbezogene Biobanken in Deutschland findet man im BBMRI-Catalogue [7]. Dort sind derzeit 6 deutsche Populations-Biobanken registriert.

2.2_Die Nationale Kohorte (NAKO)

Ausgehend von den Erfahrungen der laufenden Kohorten in Deutschland und in Abstimmung mit den genannten anderen Bevölkerungskohorten in Europa wurde das Konzept der **Nationalen Kohorte** (NAKO) entwickelt [8-12].

Studienbasis: Die Studienbevölkerung der Nationalen Kohorte wird in insgesamt 18 Studienzentren über ganz Deutschland verteilt rekrutiert. Aus den regionalen Einwohnermelderegistern wird eine nach Alter und Geschlecht stratifizierte Zufallsstichprobe der Allgemeinbevölkerung im Alter von 20 bis 69 Jahren gezogen, um insgesamt 200.000 Teilnehmer zu untersuchen. Die 18 Studienzentren sind in acht geographischen Clustern zusammengefasst.

Untersuchungsprogramm: Das Untersuchungsprogramm umfasst ein persönliches, standardisiertes computer-gestütztes Interview, die Beantwortung von selbst im Untersuchungszentrum am Touchscreen-Computer oder später über das Internet auszufüllenden Fragebögen, eingehende körperliche und medizinische Untersuchungen sowie die Entnahme von Blutproben und anderen Biomaterialien, die für spätere Forschungsprojekte in einer zentralen Bioprobenbank gelagert werden. Die Intensitätsstufe 1 (**"Level 1"**) wird von allen 200.000 Teilnehmern durchlaufen und die Intensitätsstufe 2 (**"Level 2"**), kommt bei 40.000 Teilnehmern zusätzlich zum Einsatz. Die wichtigsten Fragebögen und Untersuchungen sind in [11] aufgeführt.

Alle Teilnehmer der Nationalen Kohorte werden zu einer Folgeuntersuchung 5 Jahre nach der Basis-Untersuchung eingeladen. Ein großer Teil des Untersuchungsprogramms, das zum Zeitpunkt der Basis-Untersuchung eingesetzt wurde, wird dann wiederholt. Bei der 5-Jahres-Untersuchung werden Veränderungen bei den Risikofaktoren und prospektive Veränderungen bei quantitativen Parametern der präklinischen Morbidität und anderen funktionellen Parametern sowie inzidente Krankheitsendpunkte erfasst.

Zusätzlich werden die Studienteilnehmer alle 2-3 Jahre kontaktiert und gebeten, Kurzfragebögen auszufüllen, um Veränderungen im Lebensstil und anderen gesundheitsrelevanten Charakteristika und das Neuauftreten ausgewählter, wichtiger Erkrankungen zu erfassen („aktives“ Follow-up). Bei Krebserkrankungen wird ein Abgleich mit existierenden Krebsregistern durchgeführt („passives“ Follow-up). Parallel dazu wird alle 2-3 Jahre ein Mortalitäts-Follow-up durchgeführt. Schließlich wird eine Verknüpfung mit Sekundärdaten zu Berufsverläufen, zu Krankheitsereignissen und zur medizinischen Versorgung angestrebt, zum Beispiel mit Krankenversicherungsdaten.

Magnetresonanztomografie (MRT): In ausgewählten Studienzentren erfolgt an 30.000 Personen eine MRT-Ganzkörperuntersuchung mit zusätzlichen speziellen Untersuchungselementen für das Gehirn und das Herz. Das MRT ermöglicht eine umfassende morphologische und funktionelle Charakterisierung, wodurch die Prävalenz, Inzidenz und zeitliche Veränderung von MRT-basierten Merkmalen untersucht werden können.

3_Bioproben in der NAKO

3.1_Allgemeine Prinzipien

Die Sammlung von Bioproben für eine spätere molekulare Phänotypisierung ist eine besonders wichtige Komponente der NAKO. Hierfür ist ein umfangreicher Satz von Bioproben in hoher Qualität unverzichtbar [8, 11]. Die wesentlichen Eckpunkte der Bioprobengewinnung und -prozessierung wurden – wie andere NAKO-Untersuchungselemente auch – im Rahmen umfangreicher Vorstudien erprobt [13].

Optimale Qualität setzt die Minimierung von Artefakten voraus, die bei der Probengewinnung, der präanalytischen Prozessierung, dem Transport und der Lagerung auftreten können. Dies umfasst

- Artefakte durch Zellyse, welche zur Freisetzung intrazellulärer Komponenten führt, die im intrazellulären Kompartiment sehr viel höhere Konzentrationen aufweisen als im extrazellulären Kompartiment. Dies betrifft die Freisetzung von Kalium, Laktatdehydrogenase oder Katecholaminen bei der Hämolyse von roten Blutzellen oder von proteolytischen Enzymen aus Leukozyten, die nicht nur die Plasma- und Serumkonzentrationen sondern auch Analyte wie Insulin verändern können.
- Artefakte durch den Zellstoffwechsel, exemplarisch erkennbar am Abfall der Glukosekonzentration bei langer Lagerung von Blut und an der kontinuierlichen Bildung der Aminosäure Homocystein (ein Marker für Herz-Kreislauf-Erkrankungen) durch Blutzellen *in vitro*.
- Artefakte durch enzymatische Degradation molekularer Spezies bei verlängerter Exposition von 4°C oder höheren Temperaturen.
- Molekulare Artefakte durch wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

Betrachtet man die große Zahl potentieller Analyte und berücksichtigt man, dass die Analysetechniken und das Interesse an bestimmten Analyten sich während der langen Studiendauer in nicht vorhersehbarer Weise ändern können, ist es erforderlich, Artefakte weitestgehend auszuschließen. Das setzt voraus:

- Die schnelle und vollständige Separation – idealerweise innerhalb einer Stunde nach der Blutgewinnung – aller partikulären Bestandteile des Vollbluts, um die geschilderten zellabhängigen Artefakte zu minimieren.
- Unverzögliches Aliquotieren und Einfrieren, um die enzymatische Degradation während der längeren Exposition von 4°C oder mehr zu vermeiden.
- Ausreichend kleine Volumina (überwiegend 0,25 ml), um die einmalige Nutzung der Bioproben zu erreichen und auf wiederholtes Einfrieren und Auftauen verzichten zu können, das bei der Verwendung großer Aliquote unvermeidbar ist.

Die hohe Qualität und der Wert der Biobank der NAKO sollen durch die folgenden Prinzipien sichergestellt werden:

- Lokale Prozessierung von Blut, Urin und anderen Biomaterialien sowie die Erstellung fertig präparierter Aliquote, die in tiefgefrorenem Zustand auf Trockeneis zu den Lagern transportiert werden.
- Weitgehende Automatisierung der Präparation, Lagerung und späteren Bereitstellung der gelagerten Bioproben. Dadurch ist die strenge Einhaltung von standardisierten Verfahrensbeschreibungen (SOPs), die Maximierung der Reproduzierbarkeit und die

Vermeidung von Artefakten möglich, die bei der manuellen Prozessierung durch menschliche Unzulänglichkeiten entstehen würden. Deshalb ist jedes Studienzentrum u.a. mit einem Pipettierroboter ausgestattet.

- Die Lagerung der Bioproben aller Studienteilnehmer in einem zentralen automatischen Bioprobenlager und dezentralen Backup-Lagern.

3.2_Auswahl der Biomaterialien

Venöses Blut mit seinen unterschiedlichen Komponenten ist dabei das wichtigste Biomaterial. Bei der Auswahl weiterer Materialien wurden mehrere Auswahlkriterien berücksichtigt:

- Die zusätzlichen Bioproben werden relevante weitere Informationen zum physiologischen Status und zu Organsystemen in Ergänzung zu den Blutproben liefern.
- Die Probengewinnung und -aufbereitung ist ohne erheblichen zusätzlichen Aufwand möglich.
- Die Teilnahmebereitschaft der Probanden an der Studie wird durch die Probengewinnung nicht beeinträchtigt.
- Die Bioproben können zu vertretbaren Kosten prozessiert und gelagert werden.

Die Rationale für die Auswahl der Materialien ist in Tabelle 1 zusammengestellt.

3.3_Prozesssteuerung durch das LIMS

Die Nationale Kohorte hat eine eigene IT-Struktur geschaffen, in der unter Berücksichtigung der Datenschutzaspekte die Einladung der Probanden und die Dokumentation der personenbezogenen Untersuchungsdaten in pseudonymisierter Form geregelt ist. In diese IT-Struktur ist das Labor-Informations- und Managementsystem (LIMS) eingebunden, in dem die Prozesse der Probengewinnung, -verarbeitung und -lagerung sowie die spätere Analytik gesteuert und dokumentiert werden. Das LIMS (CentraXX) der Firma Kairos befindet sich zentral im Helmholtz Zentrum München und ist mit allen 18 Studienzentren verbunden. In den dezentralen Laboratorien der Studienzentren sind an das LIMS Scanner und Pipettierroboter angeschlossen, so dass die einzelnen Prozessierungsschritte durch das Lesen von Barcodes gesteuert und dokumentiert werden. Im Helmholtz Zentrum ist an das LIMS das zum Teil voll automatisierte Lagersystem der Firma LiCONiC angebunden, in dem die Probengefäße bei -80°C bzw. -180°C eingelagert werden. Die Lagerorte und weitere technische Informationen zu den einzelnen Aliquoten, z.B. die Temperaturen während des Transports der Proben auf Trockeneis zum zentralen Biorepository, werden im LIMS gespeichert. Eine Übersicht zeigt Abb. 1.

Das LIMS dokumentiert folgende Prozessschritte:

- Probengewinnung: Die Probengefäße enthalten einen spezifischen 1D-Barcode, mit dem das Material des Abnehmeröhrchens (z.B. EDTA-Blut) eindeutig definiert und einem Probanden zugeordnet ist.
- Probenverarbeitung: Jeder Arbeitsschritt wird durch das Scannen der Barcodes mit Zeitstempel im LIMS dokumentiert, z.B. nach Beendigung der Zentrifugation. Der Pipettierroboter liest die 1D-Barcodes der Probengefäße und verteilt das Probenmaterial auf die Aliquotgefäße, die sich in 96-Well-Racks mit eigenen Barcodes befinden. Am Boden jedes Aliquotgefäßes befindet sich ein unverwechselbarer 2D-Code, so dass das Probenmaterial jedem Probanden im LIMS eindeutig zugeordnet ist.

- Zwischenlagerung: Vor dem regulären Transport der Aliquotgefäße werden diese vor Ort für einige Wochen bei -80°C gelagert und die Barcodes der Racks gescannt, so dass der Lagerort der einzelnen Aliquotgefäße im LIMS hinterlegt ist.
- Probenversand: Beim Versand der Aliquote an das zentrale Biorepository werden die Zeiten und Temperaturen im Versandbehälter mittels Logger automatisch erfasst und am Zielort in das LIMS eingelesen.
- Probenlagerung: Die Einlagerung in das zentrale Biorepository erfolgt, nachdem durch das erneute Scannen von Racks und Aliquotgefäßen die Informationen im LIMS aktualisiert worden sind. Teilweise erfolgt zuvor eine manuelle Umverteilung von Aliquotgefäßen unter Minustemperaturen, um wenig gefüllte Racks aufzufüllen und so die Lagerkapazität zu optimieren.
- Auslagerung: Das LIMS unterstützt die Auslagerung angeforderter Bioproben aus dem Biorepository und den dezentralen Lagern. Grundlage sind hierbei die in Kapitel 5 genannten Nutzungsregeln.

3.4_Sammlung und präanalytische Prozessierung der Bioproben

Primär werden 48 Aliquote EDTA-Plasma, 30 Aliquote Serum, 6 Aliquote Erythrozytensuspension, Leukozyten aus 30 ml EDTA-Blut für die spätere DNA-Isolierung und 12 Aliquote Urin gewonnen und eingelagert. Das Arbeitsvolumen dieser Aliquote beträgt überwiegend 0,25 ml. Zusätzlich werden RNA stabilisiertes Blut, Speichel, Stuhl und Nasenabstriche gewonnen und eingelagert. Eine Übersicht über die geplante Anzahl der Bioproben pro Proband und die Lagerungstemperatur gibt Abb. 2. Aus Qualitätsgründen werden die Proben lokal und schnell in den Studienzentren prozessiert. Abb. 3 zeigt den Pipettierroboter, der in jedem Studienzentrum steht, und dessen Arbeitsweise.

Folgende Materialien werden gewonnen:

Blut

Die venöse Blutentnahme erfolgt durch qualifiziertes Fachpersonal und wird von den Probanden sehr gut akzeptiert, zumal die möglichen Risiken klein sind, auch wenn es sich um einen invasiven Eingriff handelt.

- Insgesamt werden von jedem Teilnehmer 65 ml Blut entnommen.
- Plasma und Serum werden innerhalb von 2 h nach Blutentnahme vollständig prozessiert. 2 ml EDTA-Blut für hämatologische Untersuchungen sowie in den Studienzentren zentrifugiertes Serum für klinisch-chemische Analysen werden entweder im Zentrallabor der Universitätsmedizin Greifswald oder in einem medizinischen Labor in der Nähe des Untersuchungszentrums untersucht. Alle Laboratorien arbeiten gemäß den Vorgaben der Rili-BÄK [14].
- Aus den Leukozyten wird durch den Pipettierroboter Buffy Coat gewonnen und aliquotiert.
- Ein Röhrchen dient der Einlagerung von RNA-stabilisiertem Blut.

Urin

Spontanurin wird in 100 ml Sammelbechern ohne Zusätze gesammelt und in ein 10 ml Röhrchen umgefüllt. Nach der Zentrifugation erfolgt die Aliquotierung zeitnah durch den Pipettierroboter.

Speichel

Speichel wird mit Hilfe eines Sammelgefäßes gewonnen. Das angestrebte Volumen von 2 ml wird auf 2 Aliquote verteilt und bei -80°C gelagert.

Stuhl

Die Probanden bekommen Anweisungen und Sammelgefäße für die Stuhlgewinnung nach Hause geschickt. Jeder Proband wird gebeten, zwei Stuhlprobenröhrchen am Morgen des Besuchs im Studienzentrum zu füllen. Ein Röhrchen mit nativem Stuhl wird lokal bei -80°C eingefroren und mit den regulären Transporten in das zentrale Biorepository transportiert. Das zweite Röhrchen, in dem der Stuhl gegenüber RNAsen stabilisiert wurde, wird auf 4°C gekühlt an ein zentrales Labor geschickt, um Aliquote zu erstellen, die ebenfalls zentral bei -80°C eingelagert werden.

Nasenabstriche

Ausgebildetes Studienpersonal gewinnt die Proben mit sterilen Abstrichtupfern und friert diese in einem mit RNAlater gefüllten 2 ml Röhrchen bei -80°C ein. Die dauerhafte Lagerung erfolgt im zentralen Biorepository ebenfalls bei -80°C.

3.5_Transport der Bioproben

Plasma-, Serum-, Buffy Coat-, Urin- und Speichel-Aliquote, sowie Nasenabstriche und Gefäße zur späteren RNA-Gewinnung werden auf Trockeneis (ca. -78°C) mit einem über Nacht Service von allen Studienzentren zum zentralen Biorepository nach München transportiert. Jedem Trockeneispaket liegt ein Temperaturlogger bei. Die entscheidenden Loggerdaten werden ins LIMS eingelesen, um die Einhaltung der Kühlkette für alle Proben dokumentieren zu können.

4_ NAKO Langzeitlagerung

Neben der zentralen Biobank der Nationalen Kohorte am Helmholtz Zentrum München wird ein Drittel der Proben dezentral bei den Studienzentren als Back-up-Lagerung aufbewahrt. Auch diese Proben sind im LIMS erfasst. Für alle neu erkrankten Krebsfälle ist die systematische Sammlung von Tumor-Gewebeproben vorgesehen, die in einer zentralen Tumorbank gelagert werden.

4.1_Zentrales Lager

Im zentralen Biorepository werden 72 Blut- und Urin-Proben pro Proband (64 Proben á 0,25 ml und 8 Proben á 0,5 ml) in der Gasphase über flüssigem Stickstoff (-180°C) gelagert. Insgesamt beträgt die Lagerungskapazität mehr als 20 Millionen Aliquote und deckt damit den Probenanfall bei der Basiserhebung und dem Reassessment ab.

Interimslager und finales Biorepository

Der Aufbau des zentralen Bioprobenlagers am Helmholtz Zentrum München erfolgt in zwei Schritten: 1. Interimslager (Betrieb: 2014-2017) und 2. finales Biorepository (Betrieb ab 2017), siehe Abb. 4. Im Interimslager erfolgt sowohl die Lagerung bei -80°C als auch die Lagerung bei -180°C semiautomatisch. Das bedeutet die Probenracks (96well) werden per Hand in die Kassetten der Lagersysteme gegeben und die Kassetten werden von der Robotik eingelagert.

Im finalen Biorepository wird das -180°C Lager als Vollautomat betrieben werden. Die Probenracks werden kurzzeitig auf einem sogenannten „kalten Nest“ bei einer Temperatur unter -100°C zwischengelagert, in dem ein Picker dann vollautomatisch Proben, etwa zur

Auslagerung für Studien, zusammenstellen kann. Die bis 2017 im Interimslager eingelagerten Proben werden ins finale Biorepository umgelagert.

Zentrales -80°C Lager

Im -80°C Lager des zentralen Biorepository (Abb. 5) werden die Speichel-, Nasenabstrich- und Stuhlproben sowie Proben aus der Pilotphase der Nationalen Kohorte eingelagert. Die Lagerungskapazität des -80°C Lagers beträgt 864 Kassetten á 30-40 Racks, was die Einlagerung von ca. 3 Millionen Aliquoten ermöglicht.

Zentrales -180°C Lager

Das -180°C Interimslager enthält 5 Stickstofflagerbehälter, die parallel beladen werden können (Abb. 5). Hinzu kommen weitere 10 Tanks, die nacheinander gegen volle Tanks aus dem Beladebereich ausgetauscht werden. Das finale -180°C Lager wird 22 Tanks mit einer Kapazität von jeweils ca. 1 Million Aliquoten enthalten. Hierher werden die Tanks aus dem Interimslager verschoben und zusätzlich werden hier die Proben des Reassessments eingelagert. Der Vollautomat stellt die benötigten Proben für die Auslagerungen zusammen. Ferner ermöglicht er die Umlagerung von Proben und die „Verdichtung“ nicht vollständig gefüllter Racks.

4.2_ Dezentrale Lagerung

Ein Drittel der Blut- und Urin-Proben, das sind 32 Proben á 0,25 ml (16x Plasma, 10x Serum, 2x Erythrozyten und 4x Urin), werden von den Studienzentren in eines der dezentralen Lager der NAKO transportiert. Die dezentrale Lagerung erfolgt je nach Zentrum in Ultratiefkühltruhen oder -schränken bei -80°C oder in der Gasphase von flüssigem Stickstoff bei -180°C. Die Lagerungskapazität der dezentralen Lager beträgt insgesamt knapp 9 Millionen Aliquote.

4.3_ Lagerung von Gewebeproben

Ein zentrales Biorepository für Tumورproben wird am Pathologischen Institut der Universität Heidelberg in Zusammenarbeit mit dem Nationalen Zentrum für Tumorerkrankungen (NCT) in Heidelberg eingerichtet. Von den lokalen pathologischen Instituten, welche die Tumorgewebe der neu erkrankten NAKO-Teilnehmer gewinnen, werden Paraffinblöcke an das zentrale Gewebs-Biorepository geschickt. Dort werden diese bearbeitet, z.B. werden Schnitte und Gewebs-Microarrays für die Immunhistochemie angefertigt. Ebenso werden Nukleinsäure-Extrakte für die Analyse epigenetischer Marker und genetischer Mutationsprofile hergestellt.

Die Sammlung und anschließende Analyse von Tumorgewebe inzidenter Krebsfälle, in Verbindung mit extensiven Informationen über Risikofaktoren sowie über weitere Messparameter aus den flüssigen Bioproben, wird die Analyse der Krebsätiologie in bisher ungekannter Tiefe ermöglichen. Zusätzlich ermöglicht die systematische Sammlung von Tumورproben in der NAKO eine systematische Beschreibung molekularer Tumorcharakteristika für eine epidemiologisch definierte Population in Deutschland.

5_ NAKO Nutzung

Nach Beendigung der Rekrutierung können Forscher die Bereitstellung von Daten und Bioproben der NAKO für Forschungsprojekte beantragen. Grundlage hierfür ist die

Nutzungsordnung [9, 15]. Nach einem positiven Votum des Nutzungskomitees werden die benötigten Proben bereitgestellt. Die Forscher müssen den Aufwand für die Bereitstellung einschließlich Transport sowie die erforderliche Extraktion von DNA und RNA sowie alle Laboranalysen selbst finanzieren. Nach Abschluss des jeweiligen Forschungsvorhabens werden die Laborwerte ebenso wie andere Daten des Projektes der NAKO zur Verfügung gestellt, damit andere Forscher sie ebenfalls nutzen können.

6_ NAKO Qualitätssicherung der Bioproben

Im Zuge der umfangreichen Vorbereitungen zur Nationalen Kohorte stand die Ausarbeitung zur Gewinnung und Prozessierung einzelner Biomaterialien anhand von SOPs im Vordergrund. Es haben sich für alle Themenbereiche Fachgruppen gefunden, die sich anhand des Stands der Technik auf standardisierte Prozeduren geeinigt haben, die in SOPs festgehalten sind. Durch die Erfahrungen im Rahmen der Prätests und der Pilotphasen wurden diese SOPs überarbeitet und den realen Bedingungen in den Studienzentren angepasst, wobei die Standardisierung nach wie vor ein sehr wichtiges Qualitätsmerkmal darstellt. Durch die Implementierung des LIMS, das eine Workflowengine besitzt, konnten die SOPs für den Bereich der Probengewinnung und -verarbeitung in spezifische Workflows umgesetzt werden, die eine sehr hohe Prozesssicherheit bei den Anwendern zur Folge hat. Zahlreiche Zeitstempel werden erfasst und ermöglichen somit eine umfassende und individuelle Beschreibung und Charakterisierung der Probenqualität der einzelnen Aliquote.

7_ Ethische Aspekte

7.1_Ethik und Datenschutz bei Populations-Biobanken

Fragen von Ethik und Datenschutz spielen für bevölkerungsbezogene Biobanken eine wichtige Rolle.

In den letzten Jahren entwickelte sich eine breite internationale Diskussion zu Ethical Legal and Societal Issues (ELSI) von Biobanken, die zu zahlreichen Empfehlungen führte (z.B. [16-19]. National sei auf die Empfehlungen des Nationalen Ethikrats, des Gesundheitsforschungsrats und die Aktivitäten der TMF hingewiesen [20-23]. Der Deutsche Ethikrat hat 2010 eine Empfehlung zu Humanbiobanken veröffentlicht (siehe [24] und Stellungnahme der DFG [25]).

7.2_Ethik- und Datenschutzkonzept der Nationalen Kohorte

Die Standards, die in Deutschland für epidemiologische Studien und Biobanken entwickelt wurden, sind in das Ethik- und Datenschutzkonzept der Nationalen Kohorte [26] eingeflossen. Auf der Grundlage der Grundsätze Guter Epidemiologischer Praxis [27], der Vorschläge der TMF [23] und der Empfehlungen des Deutschen Ethikrats [24] wurde dieses Konzept in enger Abstimmung mit entsprechenden Kommissionen entwickelt. Ethische Grundlage der NAKO ist der Ethikkodex [28]. Ein externer Ethikbeirat wird die Kohorte während ihrer gesamten Laufzeit begleiten.

Informationen für Teilnehmer: Die Teilnehmer erhalten ein Einladungsschreiben, welches die Studieninhalte und -ziele, die beteiligten Institutionen und Geldgeber sowie das geplante Studienprogramm und den Zeitaufwand darstellt. In der Teilnehmerbroschüre werden

genaue Informationen zu wichtigen Aspekten gegeben (z.B. Studieninhalte, Verwendungszweck der Daten, Nutzen für die Teilnehmer, Kosten, Datenschutz, Risiken, Widerrufsrecht, Ansprechpartner). Darüber hinaus werden eine kostenlose Telefon-Hotline und eine Internetseite zur Information der Teilnehmer eingerichtet.

Freiwilligkeit und Widerrufsrecht: Die Studienteilnahme ist grundsätzlich freiwillig. Jederzeit besteht das Recht auf Widerruf (ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile). Der Widerruf kann schriftlich oder telefonisch mit schriftlicher Bestätigung erfolgen. Auf Verlangen werden Bioproben vernichtet.

Mitteilung ihrer Ergebnisse an Studienteilnehmer: Die Probanden geben in der Einwilligung an, über welche ihrer Ergebnisse sie informiert werden möchten. Zeitnah wird ihnen nach der Untersuchung im Studienzentrum ein Brief mit ausgewählten Untersuchungsergebnissen zugeschickt, sofern sie dies wünschen. Bei abklärungsbedürftigen Untersuchungsergebnissen wird den Teilnehmern empfohlen, ggf. seinen (Haus-) Arzt zu kontaktieren. Das gilt auch für die Laborergebnisse, die bei der Sofortanalyse des Blutes ermittelt werden.

Die individuelle Mitteilung von Ergebnissen aus späteren Auswertungen von Untersuchungsdaten oder späteren Laboranalysen ist nicht vorgesehen. Die Teilnehmer können aber jederzeit Einsicht in ihre Ergebnisse verlangen.

Veröffentlichung von wissenschaftlichen Auswertungen: Die Erkenntnisse von Auswertungsprojekten der NAKO sollen einer großen Öffentlichkeit zur Verfügung stehen. Wissenschaftliche Publikationen erfolgen in internationalen und nationalen Zeitschriften und durch Präsentationen auf Kongressen. Zusätzlich werden wichtige Resultate allgemein verständlich auf der Internetseite der Nationalen Kohorte, in Zeitungsartikeln, Radio- und Fernsehbeiträgen, Pressemitteilungen und einem Newsletter für Studienteilnehmer verbreitet.

8_Diskussion

Die Biobank der NAKO bietet exzellente Möglichkeiten für die Gesundheitsforschung. Durch die aufwändig standardisierte Präanalytik und die lückenlose Kühlkette bei -80°C von der Aliquotierung bis zur Einlagerung und insbesondere durch die Langzeitlagerung der wichtigen Plasma-, Serum und Urinproben bei -180°C sind hochwertige Analysen auch noch nach 20 und 30 Jahren möglich. Durch die Verwendung von kleinen Probengefäßen wird erreicht, dass die einzelnen Aliquote aufgebraucht werden und ein Wiedereinfrieren mit Qualitätsverlust nicht erforderlich ist. Materialien wie Nasenabstriche und Stuhlproben, die in großen epidemiologischen Studien nur selten gewonnen werden, erlauben ebenso weitgehende Analysemöglichkeiten wie die Bereitstellung von DNA und RNA. In Kombination mit dem umfangreichen Untersuchungs- und Befragungsprogramm, den Wiederholungsuntersuchungen mit erneuter Gewinnung von Bioproben sowie der Follow-up Befragungen ergibt sich eine umfangreiche Forschungsressource, die der deutschen wie der internationalen Wissenschaft innerhalb und außerhalb der Epidemiologie zur Verfügung stehen wird.

Epidemiologische Biobanken enthalten bisher typischerweise Plasma, Serum und Urin, teilweise auch DNA und Speichel. Der Einsatz dieser Biobanken ist in den letzten Jahren gewaltig angestiegen, was sich in einer großen Zahl von Nutzungsanträgen und Publikationen widerspiegelt. So stellt die weltweit älteste bevölkerungsbezogene Kohortenstudie, die Framingham Heart Study, seit 1950 läuft, seit einigen Jahren externen Forschern auch DNA und genetische Daten zur Verfügung [29]. Derzeit erscheinen ca. 200 Publikationen pro Jahr, die auf Daten und Proben der FHS basieren [30].

In Augsburg läuft KORA seit 1985 und ist damit die älteste größere Kohortenstudie in Deutschland. Derzeit werden pro Jahr ca. 250 Nutzungsvereinbarungen abgeschlossen [31] und es erscheinen ca. 150 Publikationen pro Jahr [32].

Ebenfalls sehr gefragt ist die SHIP-Studie aus Greifswald, die seit 1997 durchgeführt wird. In SHIP werden derzeit pro Jahr ca. 300 interne und externe Nutzungen von Daten und/oder Bioproben durchgeführt und es erscheinen ca. 100 Publikationen pro Jahr [33].

Als Beispiel für eine neue Kohorte kann die UK Biobank dienen, die 500.000 Teilnehmer umfasst und seit 2012 genutzt werden kann [34]. Derzeit werden pro Jahr ca. 100 Nutzungen beantragt, mit stark steigender Tendenz [35]. Publikationen liegen naturgemäß noch nicht in erwähnenswertem Umfang vor.

In allen genannten epidemiologischen Biobanken werden DNA bzw. genetische Daten am intensivsten genutzt. Wegen der Vielzahl von Endpunkten, die typischerweise in epidemiologischen Studien untersucht werden, hat dies zu einer Fülle von hochsignifikanten Assoziationen zu genetischen Markern geführt, die nun gezielt experimentell auf ihre biologische Relevanz untersucht werden können. Die Verknüpfung von Genomik und Metabolomik [36] sowie die Einbeziehung weiterer OMICs-Techniken wie Transkriptomik und Epigenetik [37] haben dieses Bild in jüngster Zeit verbreitert

Daneben sind Entwicklungen zu nennen, dass zB in der UK Biobank für alle Teilnehmer DNA extrahiert und ein Set von Laborparametern bestimmt wird, die dann allen Nutzern zur Verfügung stehen [34].

Fazit

Die epidemiologische Forschung hat ihre Möglichkeiten durch die systematische Nutzung biologischer Materialien und den Einsatz moderner analytischer Hochdurchsatzverfahren erheblich steigern können. Dies gilt insbesondere für die genetische Forschung, wo durch die Zusammenarbeit in internationalen Konsortien die Daten und Proben von Hunderttausenden von Teilnehmern gemeinsam ausgewertet werden und dadurch die statistische Aussagekraft erheblich gesteigert werden konnte. Aber auch in der postgenomischen Forschung und für die Identifizierung prognostischer Biomarker spielen epidemiologische Kohorten zunehmend eine wichtige Rolle. Um dieses Potential optimal zu nutzen, ist der offene und faire Zugang der Scientific Community zu diesen Bioproben und den epidemiologischen Daten erforderlich. Hierfür ist die Einhaltung hoher Standards in Datenschutz und Ethik eine elementare Voraussetzung.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Bei den Autoren besteht kein Interessenskonflikt.

Danksagung

Bei der Erstellung der Konzeption der Biobank der NAKO haben zahlreiche Kolleginnen und Kollegen mitgewirkt. An der Gesamtplanung und der Planung der Präanalytik waren Prof. Illig (jetzt Hannover), Dr. Kranz (jetzt im Ruhestand) und Frau Dr. Kühn (München) maßgeblich beteiligt. Bei der Festlegung des Lagerungskonzepts haben uns Prof. Ollier, Prof. Peakman (beide Manchester) und Frau Dr. Tybring (Stockholm) beraten. Am praktischen Aufbau der Bioprobensammlung und der aktuellen Umsetzung der Konzeption ist die AG Bioproben der NAKO mit Mitgliedern aus allen Studienzentren beteiligt. Die Erstellung der SOPs für Bioproben wird von Frau Six-Merker koordiniert. Bei der Fertigstellung des Manuskripts hat Frau Lamp (Greifswald) mitgeholfen. Allen Genannten gilt unser herzlicher Dank.

Literatur

- [1] Torres S M, Erdei E, Berwick M, Matullo G, Vineis P (2014) Molecular Epidemiology. In: Ahrens W, Pigeot I (Hrsg) Handbook of Epidemiology, 2nd edition, Springer, New York, S 1779-1811
- [2] Wichmann H E, Gieger C (2007) Biobanken. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 50:192-199
- [3] Wichmann H E (2005) Genetic epidemiology in Germany – from biobanking to genetic statistics. Methods Inf Med 44:584–589
- [4] P³G (Public Population Project in Genomics) (2012) Observatory. <http://www.p3gobservatory.org/>. Zugegriffen: 21. August 2015
- [5] BBMRI-LPC (2015) Large Population Cohorts. www.bbmri-lpc-biobanks.eu/. Zugegriffen: 21. August 2015
- [6] Kuhn K A, Bild R, Anton G, Schuffenhauer S, Wichmann H E (2015) Vernetzung von Biobanken in BBMRI-LPC. Bundesgesundheitsblatt, dieses Heft
- [7] Wichmann H E, Kuhn K A, Waldenberger M, et al. (2011) Comprehensive catalogue of European biobanks. Nature Biotechnology 29:795-797
- [8] Nationale Kohorte - Wissenschaftliches Konzept (2011) http://www.nationale-kohorte.de/content/wissenschaftliches_konzept_der_nationalen_kohorte.pdf. Zugegriffen: 21. August 2015
- [9] Nationale Kohorte (2015) Gemeinsam forschen für eine gesündere Zukunft. <http://www.nationale-kohorte.de/informationen.html>. Zugegriffen: 21. August 2015
- [10] Wichmann H E, Kaaks R, Hoffmann W, Jöckel K H, Linseisen J, Greiser K H (2012) Die Nationale Kohorte. Bundesgesundheitsbl 55:781-789
- [11] GNC (German National Cohort) Consortium, unter Mitarbeit von Ahrens W, Hoffmann W, Jöckel K H, Kaaks R, Greiser K H, Linseisen J, Schmidt B, Wichmann H E, Weg-Remers S (2014) The German National Cohort: aims study design and organisation. Eur J Epidemiology 29:371-382
- [12] Ahrens W, Jöckel K H (2015) Der Nutzen großer Kohortenstudien für die Gesundheitsforschung am Beispiel der Nationalen Kohorte. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 58: 813-821
- [13] Ahrens W, Greiser K H, Linseisen J, et al (2014) Das Design der Machbarkeitsstudien für eine bundesweite Kohortenstudie in Deutschland. Die Pretests der Nationalen Kohorte (NAKO). Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 57:1246-1254
- [14] Rili-BÄK (2015) Revision of the “Guideline of the German Medical Association on Quality assurance in Medical Laboratory Examinations – Rili-BAEK” (unauthorized translation). J Lab Med 39:26-69
- [15] Nationale Kohorte (2015) Nutzungsordnung. www.nationale-kohorte.de. Zugegriffen: 21. August 2015
- [16] Cambon-Thomsen A, Rial-Sebbag E, Knoppers B M (2007) Trends in ethical and legal frameworks for the use of human biobanks. Eur Respir J 30:373-82
- [17] Weltärztebund (WMA) (2008): DEKLARATION VON HELSINKI - Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen. Verabschiedet von der 18. WMA-Generalversammlung, Juni 1964 Helsinki (Finnland), revidiert durch die 59. WMA-

Generalversammlung im Oktober 2008, Seoul (Korea). BÄK – Deutsche Übersetzung. <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/DeklHelsinki2008.pdf>. Zugegriffen: 21. August 2015

[18] OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2009) GUIDELINES FOR HUMAN BIOBANKS AND GENETIC RESEARCH DATABASES. www.oecd.org/document/12/0,3343,en_2649_34537_40302092_1_1_1_1,00.html. Zugegriffen: 21. August 2015

[19] BBMRI-ERIC (2015) Common Services - ELSI <http://bbmri-eric.eu/common-services> zugegriffen 21.8.2015

[20] NER (Nationaler Ethikrat) (2004) Biobanken in der Forschung - Stellungnahme. Saladruck, Berlin www.ethikrat.org/themen/pdf/Stellungnahme_Biobanken.pdf. Zugegriffen: 21. August 2015

[21] Wellbrock R (2004) Biobanken für die Forschung – zur Stellungnahme des Nationalen Ethikrates. DUD (Datenschutz und Datensicherheit) 28:561–565

[22] BMBF-GFR (Gesundheitsforschungsrat des Bundesministeriums für Bildung und Forschung) (2009) Stärkung der Infrastruktur in der Gesundheitsforschung: Biomaterialbanken. www.gesundheitsforschung-bmbf.de/media/Beschluss_Biobanken_090216.doc. Zugegriffen; 21. August 2015

[23] TMF (Telematikplattform – Verbund zur Förderung vernetzter Medizinischer Forschung) (2015) Schriftenreihe Biobanken. <http://www.tmf-ev.de/Schriftenreihe.aspx>. Zugegriffen: 21. August 2015

[24] DER (Deutscher Ethikrat) (2010) Humanbiobanken für die Forschung – Stellungnahme. Deutscher Ethikrat Berlin. <http://www.ethikrat.org/dateien/pdf/stellungnahme-humanbiobanken-fuer-die-forschung.pdf>. Zugegriffen 21. August 2015

[25] DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) (2011) Stellungnahme der DFG-Senatskommissionen für Klinische Forschung und für Grundsatzfragen der Genforschung zur Diskussion um ein Biobankgesetz. http://www.dfg.de/download/pdf/dfg_im_profil/reden_stellungnahmen/2011/110331_stellungnahme_biobankgesetz.pdf. Zugegriffen: 21. August 2015

[26] Nationale Kohorte (2015) Datenschutz- und Ethikkonzept. www.nationale-kohorte.de. Zugegriffen: 21. August 2015

[27] DGEpi (Deutsche Gesellschaft für Epidemiologie) (2009) Leitlinien und Empfehlungen zur Sicherung von Guter Epidemiologischer Praxis (GEP). http://dgepi.de/fileadmin/pdf/leitlinien/GEP_mit_Ergaenzung_GPS_Stand_24.02.2009.pdf. Zugegriffen 21. August 2015

[28] Nationale Kohorte (2015) Ethikkodex. www.nationale-kohorte.de. Zugegriffen 21. August 2015

[29] Framingham Heart Study Research Application Overview <https://www.framinghamheartstudy.org/researchers/application-review.php> zugegriffen: 22. Oktober 2015

[30] Framingham Heart Study Bibliography <https://www.framinghamheartstudy.org/fhs-bibliography/index.php> zugegriffen: 22. Oktober 2015

[31] KORA-gen, KORA.PASST (2015) Biobank. <http://www.helmholtz-muenchen.de/aktuelles/pressemitteilungen/2014/pressemitteilung/article/25818/index.html>.
zugegriffen: 22. Oktober 2015

[32] Wichmann HE (2011) Umwelt, Gene, Gesundheit: KORA – eine Erfolgsgeschichte der populationsbezogenen genetischen Forschung. labor & more 6.11, 16-21 und persönliche Kommunikation

[33] SHIP Transferstelle <https://www.fvcm.med.uni-greifswald.de/index.html> zugegriffen: 22. Oktober 2015 und pers. Kommunikation

[34]UK Biobank Approved Research Summary <http://www.ukbiobank.ac.uk/approved-research/> zugegriffen: 22. Oktober 2015

[35] UK Biobank 2015 Genetics, lifestyle and environment: UK Biobank is an open access resource following the lives of 500,000 participants to improve the health of future generations. Dieses Sonderheft

[36] Shin SY, Fauman EB, Petersen AK, Krumsiek J, Santos R, Huang J, Arnold M, Erte I, Forgetta V, Yang TP, Walter K, Menni C, Chen L, Vasquez L, Valdes AM, Hyde CL, Wang V, Ziemek D, Roberts P, Xi L, Grundberg E; Multiple Tissue Human Expression Resource (MuTHER) Consortium, Waldenberger M, Richards JB, Mohny RP, Milburn MV, John SL, Trimmer J, Theis FJ, Overington JP, Suhre K, Brosnan MJ, Gieger C, Kastenmüller G, Spector TD, Soranzo N. 2014 An atlas of genetic influences on human blood metabolites. *Nat Genet.* 2014 Jun;46(6):543-50

[37] Petersen AK, Zeilinger S, Kastenmüller G, Römisch-Margl W, Brugger M, Peters A, Meisinger C, Strauch K, Hengstenberg C, Pagel P, Huber F, Mohny RP, Grallert H, Illig T, Adamski J, Waldenberger M, Gieger C, Suhre K 2014 Epigenetics meets metabolomics: an epigenome-wide association study with blood serum metabolic traits. *Hum Mol Genet.* 2014 Jan 15;23(2):534-45.

Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1 Rationale für die Auswahl der Biomaterialien in der Nationalen Kohorte

Blut

In Ergänzung zu den etablierten Laborverfahren, die in Vollblut, Plasma und Serum angewendet werden, bieten moderne Hochdurchsatzverfahren die Möglichkeit, Analysen aus den Bereichen Genomics, Transcriptomics, Proteomics und Metabolomics durchzuführen. Diese Analyseergebnisse werden innerhalb der Nationalen Kohorte zu zahlreichen neuen wichtigen Informationen führen, die den molekularepidemiologischen Teil der Studie ausmachen werden. In der NAKO werden folgende Bioproben eingelagert: Serum, EDTA-Plasma, Buffy Coat, Erythrozytensuspension sowie RNA. Die strikten Vorgaben zur schnellen Bearbeitung der Proben erlaubt es nur in ausgewählten Fällen stabilisierende Additive – wie z.B. RNase-Inhibitoren für die Gewinnung von RNA – zu verwenden,

Urin

Zahlreiche verschiedene analytische Verfahren können anhand von Urinproben wertvolle Informationen z.B. zur Ernährung, zur Exposition gegenüber Schadstoffen und dem Metabolom liefern. Biomarker aus Urin werden zum Zweck der Diagnose und Überwachung von nephrologischen und urologischen Erkrankungen (chronische Nierenerkrankungen, diabetische oder obstruktive Nephropathie, Nierentransplantation, Nieren-, Blasen- oder Prostatakarzinome), aber auch für einige systemische Erkrankungen wie Kolonkarzinom, koronaren Herzkrankheiten sowie bei Stammzelltransplantation genutzt. In der Nationalen Kohorte wird Spontanurin ohne Additive im Untersuchungszentrum gewonnen und sofort prozessiert.

Speichel

Speichel wird gewonnen, um die Mikroflora in der Mundhöhle in Hinblick auf Periodontitis, Karies aber auch Karzinome sowie systemische Erkrankungen wie Zöliakie und Sjögren's Syndrom zu untersuchen. Darüber hinaus bietet Speichel die Möglichkeit, Hormone, das Proteom sowie das Metabolom zu analysieren.

Stuhl

Intestinale Bakterien haben eine große Bedeutung für die menschliche Gesundheit wie z.B. die Reifung des Immunsystems oder das Auftreten und den Verlauf von chronischen Erkrankungen. Aus Stuhlproben kann die Zusammensetzung und die Aktivität des Mikrobioms aus dem Dickdarm analysiert werden. Es ist bekannt, dass Darmbakterien bei zahlreichen Erkrankungen eine Rolle spielen wie z.B. das irritable Kolon und Morbus Crohn aber auch bei Adipositas oder Typ 2 Diabetes. In den zukünftigen Studien soll die Zusammensetzung der Darmflora (phylogenetisches Fingerprinting und Microarray Analysen) und des Metaboloms sowie die physikochemischen Charakteristika der fäkalen mikrobiellen Zellen bzw. Zellcluster bestimmt werden. Die Bedeutung des Mikrobioms für die Entstehung chronischer Erkrankungen wird sehr hoch eingeschätzt, so dass dies den Aufwand zur Stuhlsammlung rechtfertigt. Im Rahmen der NAKO wird sowohl nativer Stuhl gewonnen als auch durch die Zugabe von RNA later stabilisierter Stuhl. Der stabilisierte Stuhl wird nach zentraler Prozessierung in Aliquotgefäße aufgeteilt und zentral bei -80°C eingelagert.

Nasenabstriche

Nasale Epithelzellen, Sekrete und Mikroorganismen können mittels Abstrich aus dem vorderen Abschnitt der Nasenöffnung gewonnen werden. Dieser vordere Teil der Nasenöffnung ist eine einzigartige mikrobiologische Nische an der Schnittstelle zwischen dem Respirationstrakt, der Haut und der umgebenden Luft, die durch potentiell pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Staphylokokken (einschließlich MRSA) und Streptokokken kolonisiert sein kann. Mittels genomischer Untersuchungen soll das nasale Mikrobiom analysiert werden, um nach Assoziationen zwischen der Zusammensetzung des Mikrobioms und dem Auftreten von akuten und chronischen Erkrankungen zu forschen. Der Nasenabstrich ist eine nicht invasive, sichere und kostengünstige Methode zur Gewinnung dieses interessanten Biomaterials.

Abb 1 Bioprobenverwaltung durch das Labor-Informations- und Management-System (LIMS) der Nationalen Kohorte

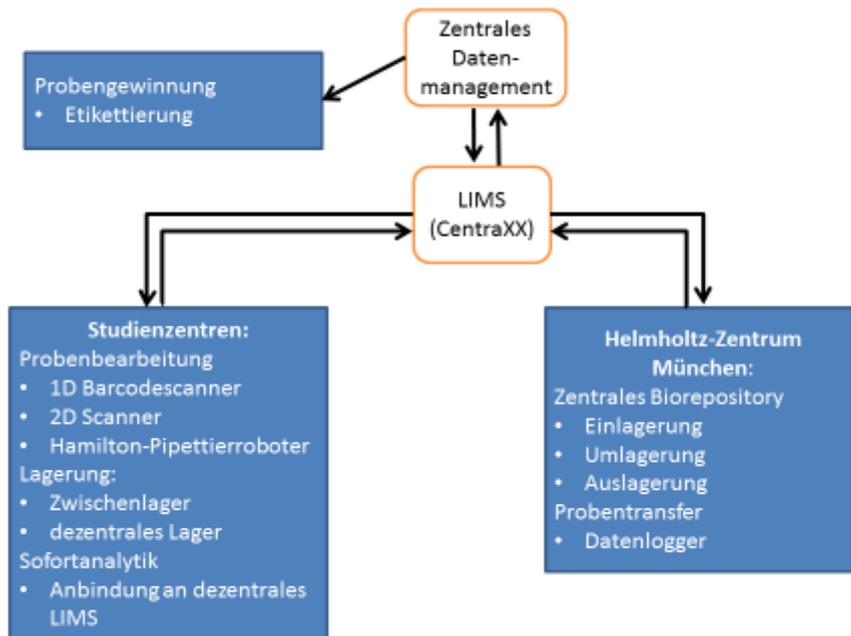


Abb. 2 Anzahl der Bioproben (Aliquote) pro Proband und deren Lagerung (*: Aliquotierung mit dem Pipettierroboter)

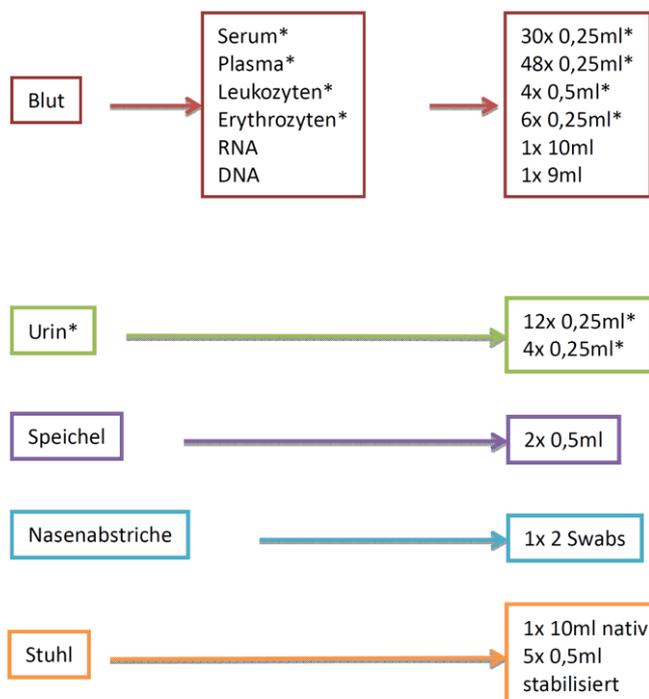


Abb. 3 Präanalytik in den Studienzentren: Der Pipettierroboter und einige seiner Funktionen

Pipettierroboter



Positive Primärprobenidentifizierung via 1D-Barcode



Volumendetektion und Fraktionierung



Abb 4 Gebäude und Innenaufteilung des Interimslagers (oben) und des finalen Biorepository (unten).

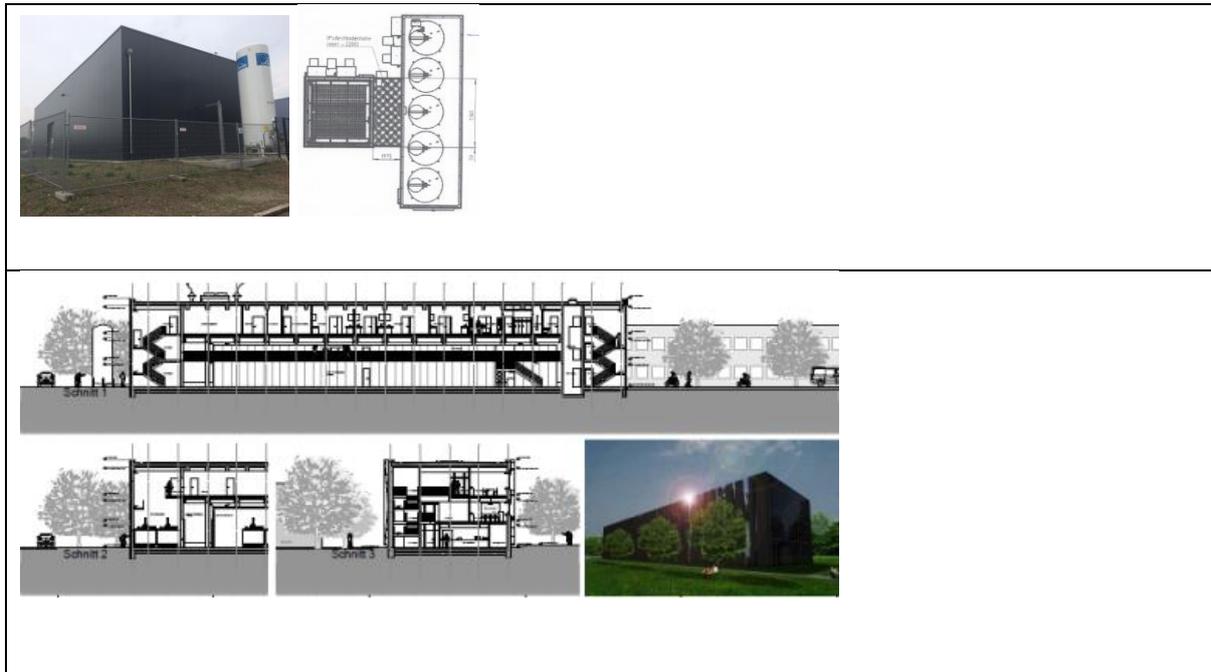


Abb 5 oben: -80°C Lager mit Blick in den Lagerungsbereich für die Kassetten unten: -180°C Lager mit Blick auf die Innenaufteilung der Tanks

