

PepPipe

Etablierung einer Pipeline für den Transfer von protein- zu peptidbasierten immunologischen Tests

Programm / Ausschreibung	Research Studios Austria, Research Studios Austria, RSA - 5. Ausschreibung 2016	Status	abgeschlossen
Projektstart	01.09.2017	Projektende	31.08.2021
Zeitraum	2017 - 2021	Projektlaufzeit	48 Monate
Keywords	biomarkers, auto-antibody based diagnostics, peptide arrays, bioinformatics		

Projektbeschreibung

Im RSA Projekt PepPipe sollen die Kompetenzen für die Entwicklung von robusten, peptidbasierten Biomarkern und immunologischen Tests etabliert werden. Dies hat für die Autoantikörper basierte Diagnostik von Autoimmun-, Tumor-, neurodegenerativen und altersbedingten, komplexen Erkrankungen eine wichtige Bedeutung. Im Prinzip werden krankheitsspezifische Antikörper Reaktionsprofile gegen (veränderte) körpereigene Proteine (Antigene) mittels hochmultiplexer Proteinchip-Screenings definiert. Bislang konnten aber nur wenige Antigen-Kandidaten für eine diagnostische Anwendung ausreichend bestätigt werden. Ein technisches Problem bei Verwendung von Proteinen stellt die Gewährleistung der Präsentation antigenischer Epitope dar, insbesondere beim notwendigen Plattformwechsel, z.B. vom Microarray-Screening hin zu Bead-Arrays für die Validierung. Ein Lösungsansatz ist die Verwendung hochdichter Peptidarrays zur Ableitung reaktiver antigenischer Epitope von Proteinen, welche den Transfer von proteinbasierten auf peptidbasierte Verfahren ermöglichen. Peptide können von den Sequenzen der antigenischen Proteine abgeleitet, auf hochdichten Arrays dargestellt, und Peptid-Signaturen durch serologische Analyse der Patienten- und Kontrollproben definiert werden. Diese chemisch synthetisierbaren Peptide sind die Basis zur Validierung von Kandidatenmarkern und Diagnostik-Entwicklung bis hin zu einfach handhabbaren ELISAs.

Der konkrete Ausgangspunkt für PepPipe ist ein von AIT entwickelter Proteinchip mit 16000 humanen Antigenen, mit welchem bereits krankheitsspezifische Immunglobulin-Signaturen für die Entwicklung diagnostischer Biomarker generiert wurden. In diesem RSA soll nun 1) dieser „Protein-Chip“ nach QM Richtlinien qualifiziert werden, 2) die bioinformatische Analyse, Ableitung und das Design von Kandidaten-Peptiden, 3) die Verwendung hochdichter Peptid-Array-, Phage-Display- und NGS basierter Definition von Peptid-Markerprofilen, 4) Luminex basierte, multiplexe Validierung von Peptidmarkern, 5) peptidbasierte ELISAs, sowie 6) das entsprechende QM-Regelwerk entwickelt werden. Insbesondere gilt es, die Schnittstellen der einzelnen PepPipe-Tools für den effizienten Routineeinsatz zu etablieren. Dies werden wir anhand eines Peptidarrays auf Basis bereits definierter Antigen-Biomarker-Kandidaten zur Diagnostik des Colon-, Lungen- und Prostatakarzinoms beispielhaft durchführen. Zudem werden wir für die häufigsten in der COSMIC (common mutations in cancer)-Datenbank gelisteten Proteine mutationsspezifische Peptide in diese Analysen integrieren und die Patientenanalysen durchführen. Die Peptidklassifikatoren werden sodann mittels Luminex-Tests validiert, sowie mit selektierten Peptiden die ELISA-Techniken dazu optimiert und standardisiert. Somit wird anhand dieser Tumormarker-Exempel die komplette Pipeline „vom Protein zum

Peptid“ zur Vermarktung dieser Forschungsdienstleistungen etabliert.

Projektpartner

- AIT Austrian Institute of Technology GmbH