

SALVAGE

Salvage-pathway Aware Labeling Validation for Accurate Gene Expression

Programm / Ausschreibung	Seal of Excellence, Seal of Excellence Ausschreibung 2026	Status	laufend
Projektstart	01.01.2027	Projektende	30.06.2028
Zeitraum	2027 - 2028	Projektlaufzeit	18 Monate
Barwert der Projektförderung	€ 150.000		
Keywords	Metabolic RNA labeling, SLAMseq, 4-thiouridine (4sU), nucleotide-conversion sequencing, pyrimidine salvage pathway, RNA dynamics and half-life, cell-type-specific labeling efficiency, transcriptional output quantification, computational correction to		

Projektbeschreibung

Die metabolische RNA-Markierung mit Nukleosid-Analoga wie 4-Thiouridin (4sU) ermöglicht die zeitaufgelöste Messung transkriptioneller Aktivität und des RNA-Umsatzes – eine Schlüsseltechnologie, die zunehmend die Wirkstoffforschung gegen Transkriptionsfaktoren und andere bislang als „nicht adressierbar“ geltende Zielproteine antreibt. Plattformen wie SLAMseq erfassen direkte transkriptionelle Veränderungen innerhalb weniger Stunden, bevor sekundäre Effekte das Signal überlagern.

Ein grundlegendes Problem begrenzt jedoch die Quantifizierung: Die intrazelluläre Prozessierung von 4sU variiert stark zwischen Zelltypen, gesteuert durch den Pyrimidin-Salvage-Stoffwechselweg, dessen Enzymexpressionen über mehrere Größenordnungen schwankt. Diese metabolische Variabilität verzerrt transkriptionelle Effektstärken, verfälscht Schätzungen der RNA-Halbwertszeiten und macht biologisch wichtige Genklassen in schwach markierenden Zellen unsichtbar. Kein derzeit verfügbares Analysewerkzeug berücksichtigt diesen Effekt.

SALVAGE adressiert dies über drei integrierte Arbeitsschritte: (1) Bestimmung der tatsächlichen Markierungskinetik und Entwicklung eines prädiktiven Zelllinien-Klassifikators über metabolisch diverse Krebszelllinien; (2) Standardisierung der Markierung durch gezielte Modulation des Salvage-Stoffwechselwegs; und (3) rechnerische Korrektur transkriptioneller Messwerte für die zelltypspezifische Markierungseffizienz ohne begleitende Metabolomik. Ergebnis ist ein validiertes, quelloffenes Korrektur- und Klassifikations-Toolkit für akademische und kommerzielle Anwendungen.

SALVAGE schließt damit eine kritische Lücke an der Schnittstelle von funktioneller Genomik und Wirkstoffforschung: Es macht zeitaufgelöste Transkriptomik über unterschiedliche zelluläre Systeme hinweg quantitativ verlässlich und erlaubt erstmals zellübergreifend vergleichbare Messungen der RNA-Dynamik.

Abstract

Metabolic RNA labeling with nucleoside analogs such as 4-thiouridine (4sU) enables time-resolved measurement of transcriptional output and RNA turnover—capabilities now driving drug discovery for transcription factors and other targets

considered undruggable. Platforms such as SLAMseq capture direct transcriptional changes within hours, before secondary effects obscure the drug response—a temporal precision that steady-state transcriptomics cannot achieve. However, a fundamental problem limits the technology: intracellular processing of 4sU varies dramatically across cell types, governed by the pyrimidine salvage pathway whose enzyme expression differs by orders of magnitude. This metabolic variability distorts transcriptional effect sizes, biases RNA half-life estimates, and renders biologically critical gene classes undetectable in poorly labeling cells. No current analysis tool accounts for this.

SALVAGE will eliminate this error through three integrated activities: (1) establishing ground-truth labeling kinetics and a predictive cell line classifier across metabolically diverse cancer cell lines; (2) standardizing labeling through targeted modulation of the salvage pathway; and (3) correcting transcriptional outputs for cell-type-specific labeling efficiency without parallel metabolomics. The deliverable is a validated, open-source correction and classification toolkit for academic and commercial metabolic labeling workflows. SALVAGE addresses a critical unmet need at the interface of functional genomics and drug discovery: by making time- resolved transcriptomics quantitatively reliable across diverse cellular systems, it removes a fundamental barrier to the standardization of transcription-factor-directed compound screening—a rapidly growing segment of target-based drug development—and enables, for the first time, cross-comparable RNA dynamics measurements across cell types, tissues, and species.

Projektpartner

- Universität Wien