

GERMAN  
CANCER RESEARCH CENTER  
IN THE HELMHOLTZ ASSOCIATION



# Visualization, Analysis, and Design of COMBO-FISH Probes in the Grid-Based GLOBE 3D Genome Platform

HealthGrid 2010

---

*N. Kepper, E. Schmitt, M. Lesnussa, Y. Weiland, H.B. Eussen, F.G. Grosveld, M. Hausmann, And T.A. Knoch  
Paris, June 29th, 2010*

# Grid Background

---

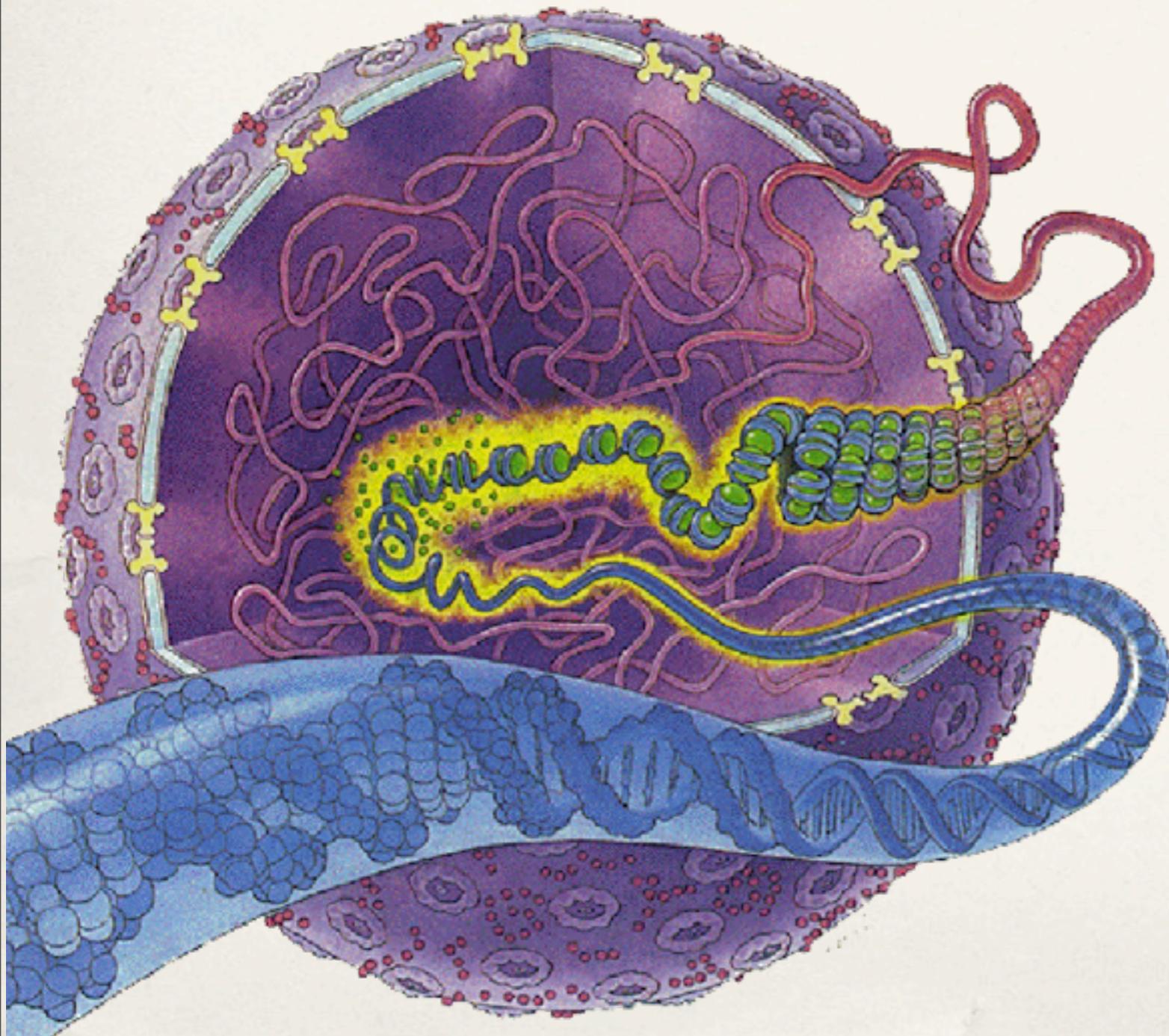
- ❖ Applications & pipelines: for us, cooperation partners and meanwhile as a SERVICE request
- ❖ Our own work: 300,000 CPUh per DAY & corresponding storage
- ❖ We serve around 150 scientists

Demands - people come to us as successful grid users to be helped:

- ❖ around 50 groups / scientists with immediate grid wishes
- ❖ 16 consortia with ~ 100 groups

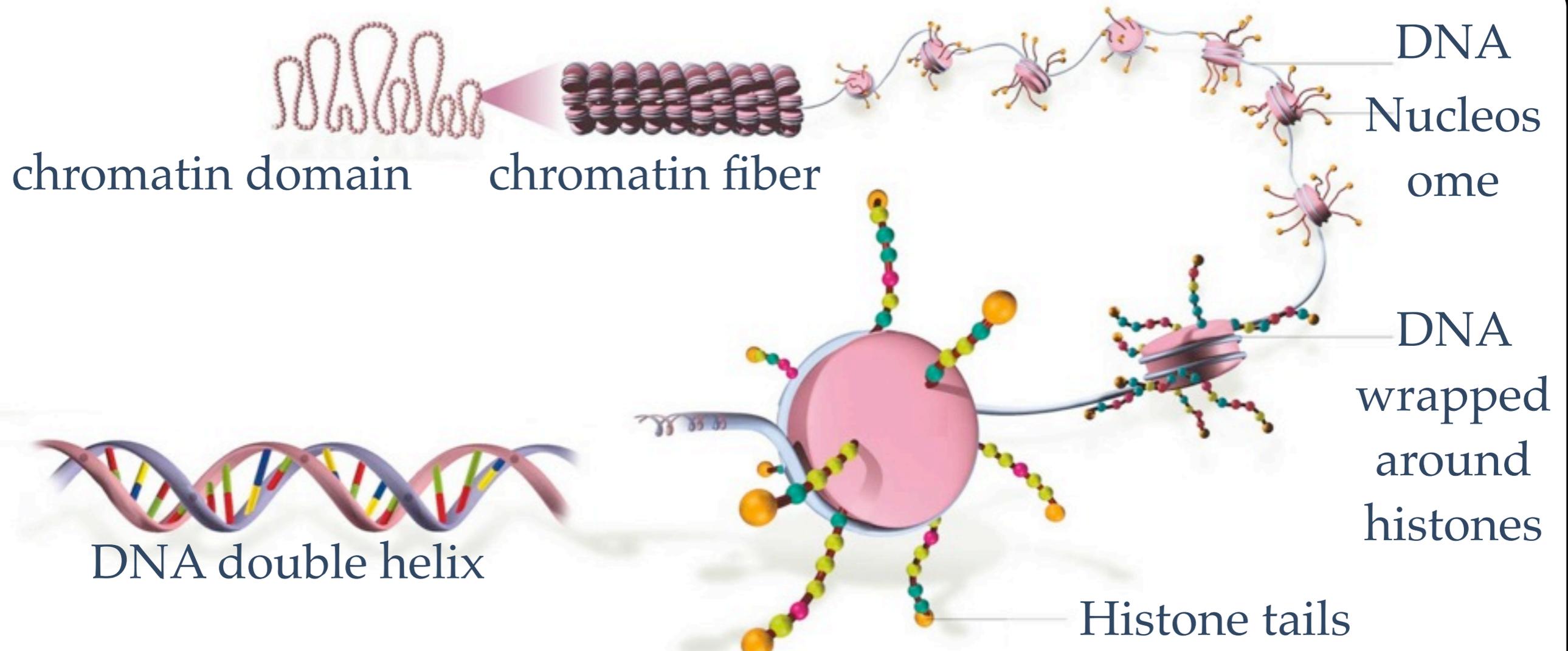
# Chromatin conformation regulates gene expression

---



- 2 m DNA chain
- nucleus  $\approx 10 \mu\text{m}$  diameter
- chromatin conformation can change gene expression by a factor of  $\sim 25000$

# DNA accessibility is controlled by chromatin organization



## Modifications of a histone tail



# COMBinatorial Oligonucleotide fluorescence *in situ* hybridization



(10) DE 198 06 962 B4 2004.08.05

(12) Patentschrift

(21) Aktenzeichen: 198 06 962.6  
(22) Anmeldetag: 19.02.1998  
(43) Offenlegungstag: 01.10.1998  
(45) Veröffentlichungstag der Patenterteilung: 05.08.2004

(51) Int. Cl.: C12Q 1/68  
G01N 1/38

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden.

(66) Innere Priorität:  
197 07 073.6 22.02.1997

(71) Patentinhaber:  
Universität Heidelberg, 69117 Heidelberg, DE

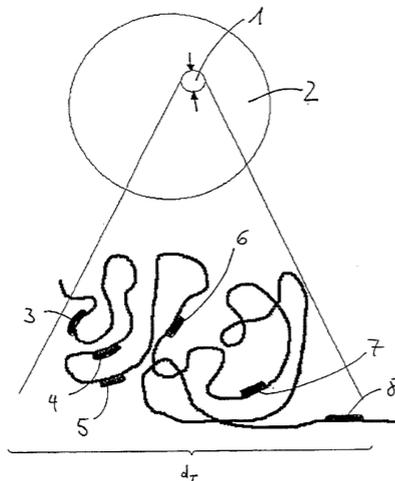
(74) Vertreter:  
Rudolph, U., Dipl.-Biol. Dr.rer.nat., Pat.-Anw.,  
69198 Schriesheim

(72) Erfinder:  
Cremer, Christoph, Prof. Dr.Dr., 69126 Heidelberg,  
DE; Hausmann, Michael, Dr., 67071 Ludwigshafen,  
DE; Cremer, Thomas, Prof. Dr., 81245 München,  
DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:  
US 51 76 996 A  
WO 95 03 428 A1  
WO 93 18 187 A1  
WO 92 11 390 A1  
Sequence specificity of triplex DNA formation: Analysis by a combinatorial approach, restriction endonuclease protection selection and amplification. HARDENBOL, P. & VAN DYKE, M.W., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996)93, 2811-2816;

(54) Bezeichnung: Markierung von Nukleinsäuren mit speziellen Probengemischen

(57) Hauptanspruch: Verfahren zur fluoreszenzmikroskopischen Analyse intrazellulärer chromosomaler Genomabschnitte *in situ*, dadurch gekennzeichnet, - daß ein für die Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung geeignetes Probengemisch von wenigstens 2 Homopurin- und/oder Homopyrimidin-Oligonucleotiden bereitgestellt wird, wobei diese Homopurin- und/oder Homopyrimidin-Oligonucleotide (i) hinsichtlich ihrer Nukleotidsequenz mit wenigstens zwei Homopurin- und/oder Homopyrimidin-Teilsequenzen der zu analysierenden Genomabschnitte übereinstimmen oder komplementär dazu sind (ii) und mit Fluoreszenzmarkern gleicher oder verschiedener spektraler Signatur versehen sind, - daß das Probengemisch mittels bekannter Verfahren derart in die Zelle eingebracht und mit den zu analysierenden Genomabschnitten zusammen gebracht wird, daß die Homopurin- und/oder Homopyrimidin-Oligonucleotide mit den entsprechenden Homopurin- und/oder Homopyrimidin-Teilsequenzen der Genomabschnitte hybridisieren, - daß die emittierten Fluoreszenzsignale detektiert werden, - und daß anhand der Intensität der Fluoreszenzsignale und/oder anhand des gleichzeitigen Auftretens von Fluoreszenzsignalen verschiedener spektraler Signatur der Ort der Genomabschnitte identifiziert wird.



Cremer C, Hausmann M, Cremer T. Markierung von Nukleinsäuren mit speziellen Probengemischen. Patentschrift DE 198 06 962.6

Deutsches Patentamt München, Patenterteilung 5. 8. 2004

Hausmann M, Cremer C. Verfahren zur mikroskopischen Ortsbestimmung eines ausgewählten, intrazellulären DNA-Abschnitts bekannter Nukleotidsequenz, eingereicht beim Europäischen Patentamt, (Az EP 06006213.0), Anmeldetag 25. März 2006, erteilt am 13. 10. 2009



(11) EP 1 840 223 B1

(12) EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung: 18.11.2009 Patentblatt 2009/47 (51) Int. Cl.: C12Q 1/68 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: 06006213.0

(22) Anmeldetag: 25.03.2006

(54) Verfahren zur mikroskopischen Ortsbestimmung eines ausgewählten, intrazellulären DNA-Abschnitts bekannter Nukleotidsequenz

Method for microscopically localizing a selected intracellular stretch of known DNA

Méthode pour localiser une portion intracellulaire choisie d'un ADN connu à l'aide d'un microscope

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LV LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
03.10.2007 Patentblatt 2007/40

(73) Patentinhaber: Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg  
69117 Heidelberg (DE)

(72) Erfinder:  
• Hausmann, Michael, Prof. Dr.  
76071 Ludwigshafen (DE)  
• Cremer, Christoph, Prof. Dr. Dr.  
69126 Heidelberg (DE)

(74) Vertreter: Rudolph, Ulrike  
Patentanwältin  
In der Schanz 10  
69198 Schriesheim (DE)

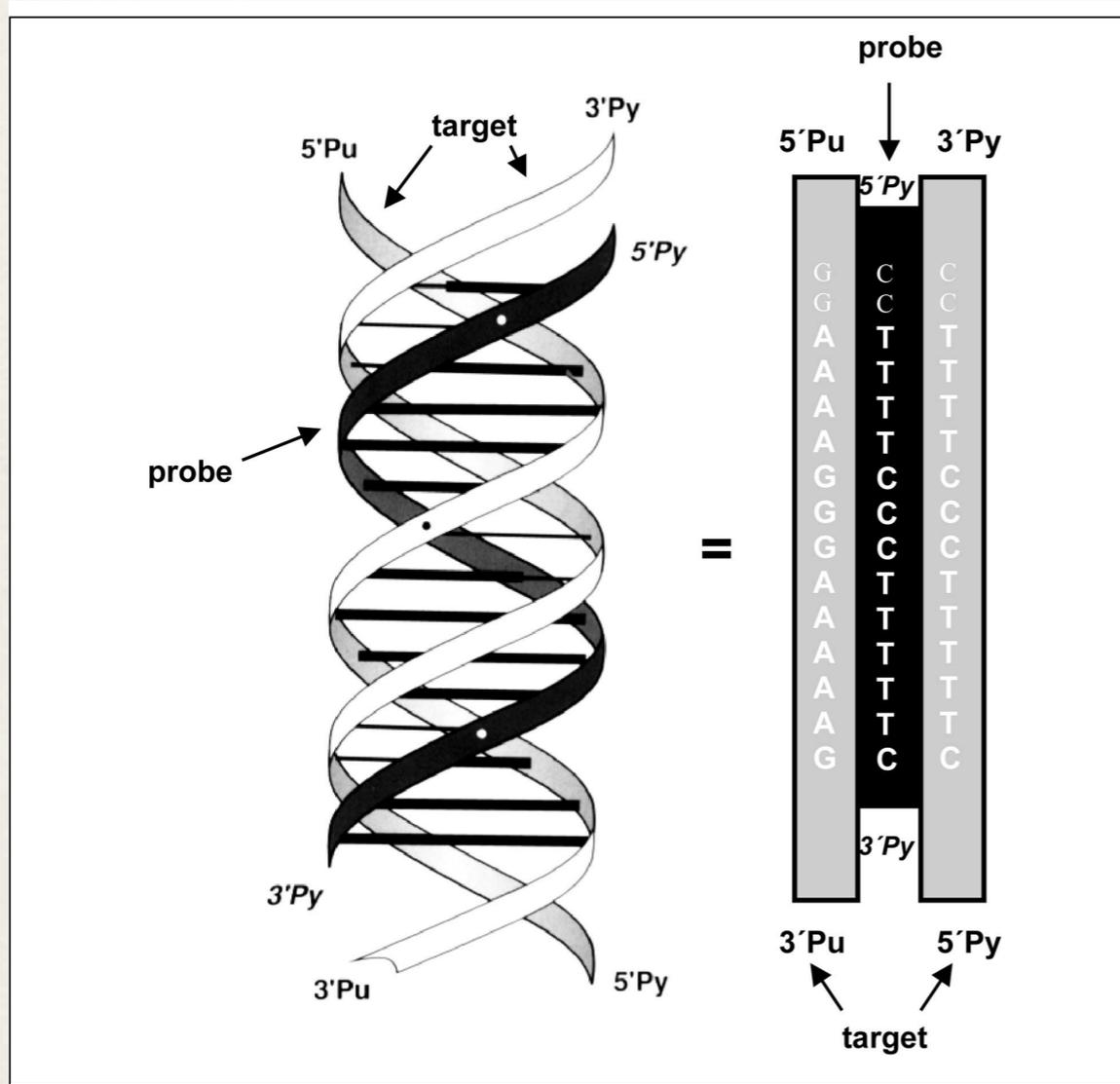
(56) Entgegenhaltungen:  
WO-A-95/03428 WO-A-98/37231  
WO-A1-03/091455

• SCHWARZ-FINSTERLE ET AL: "COMBO-FISH for focussed fluorescence labelling of gene domains: 3D-analysis of the genome architecture of abl and bcr in human blood cells" CELL BIOLOGY INTERNATIONAL, ACADEMIC PRESS, GB, Bd. 29, Nr. 12, Dezember 2005 (2005-12), Seiten 1038-1046, XP005197826 ISSN: 1065-6995

• HAUSMANN MICHAEL ET AL: "COMBO-FISH: Specific labeling of nondenatured chromatin targets by computer-selected DNA oligonucleotide probe combinations." BIOTECHNIQUES, Bd. 35, Nr. 3, September 2003 (2003-09), Seiten 564-577, XP008064869 ISSN: 0736-6205  
• WINKLER R ET AL: "Labelling quality and chromosome morphology after low temperature FISH analysed by scanning far-field and near-field optical microscopy." JOURNAL OF MICROSCOPY, JAN2003, Bd. 209, Nr. Pt 1, Januar 2003 (2003-01), Seiten 23-33, XP002383502 ISSN: 0022-2720  
• ANONYMOUS: "15th Annual Meeting of the German Society for Cytometry, Leipzig, GERMANY, October 19 -22, 2005" CELL PROLIFERATION, Bd. 38, Nr. 4, August 2005 (2005-08), Seiten 175-214, XP002383503 & 15TH ANNUAL MEETING OF THE GERMAN SOCIETY-FOR-CYTOLOGY; LEIPZIG, GERMANY; OCTOBER 19 -22, 2005 ISSN: 0960-7722  
• HILDENBRAND GEORG ET AL: "Nano-sizing of specific gene domains in intact human cell nuclei by spatially modulated illumination light microscopy" BIOPHYSICAL JOURNAL, Bd. 88, Nr. 6, Juni 2005 (2005-06), Seiten 4312-4318, XP008064833 ISSN: 0006-3495  
• TUMBAR T ET AL: "Interphase movements of a DNA chromosome region modulated by VP16 transcriptional activator." NATURE CELL BIOLOGY, FEB 2001, Bd. 3, Nr. 2, Februar 2001 (2001-02), Seiten 134-139, XP002383504 ISSN: 1465-7392

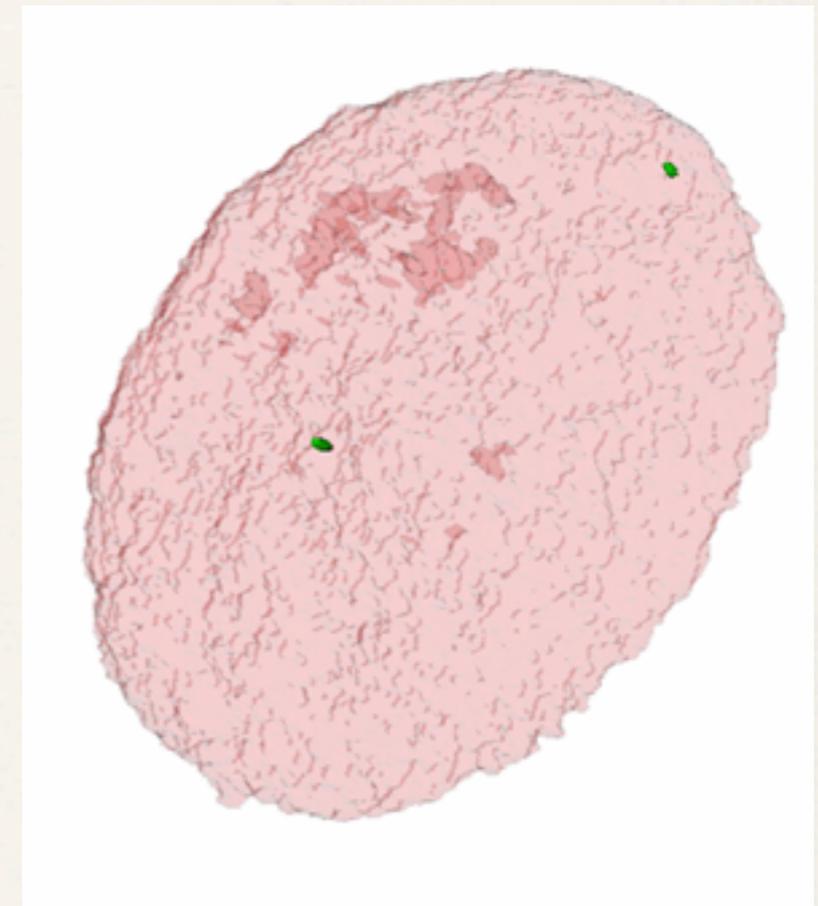
Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt kann jedermann nach Maßgabe der Ausführungsordnung beim Europäischen Patentamt gegen dieses Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

# COMBinatorial Oligonucleotide fluorescence *in situ* hybridization



Representation of the triple-stranded binding of a homopyrimidine probe.

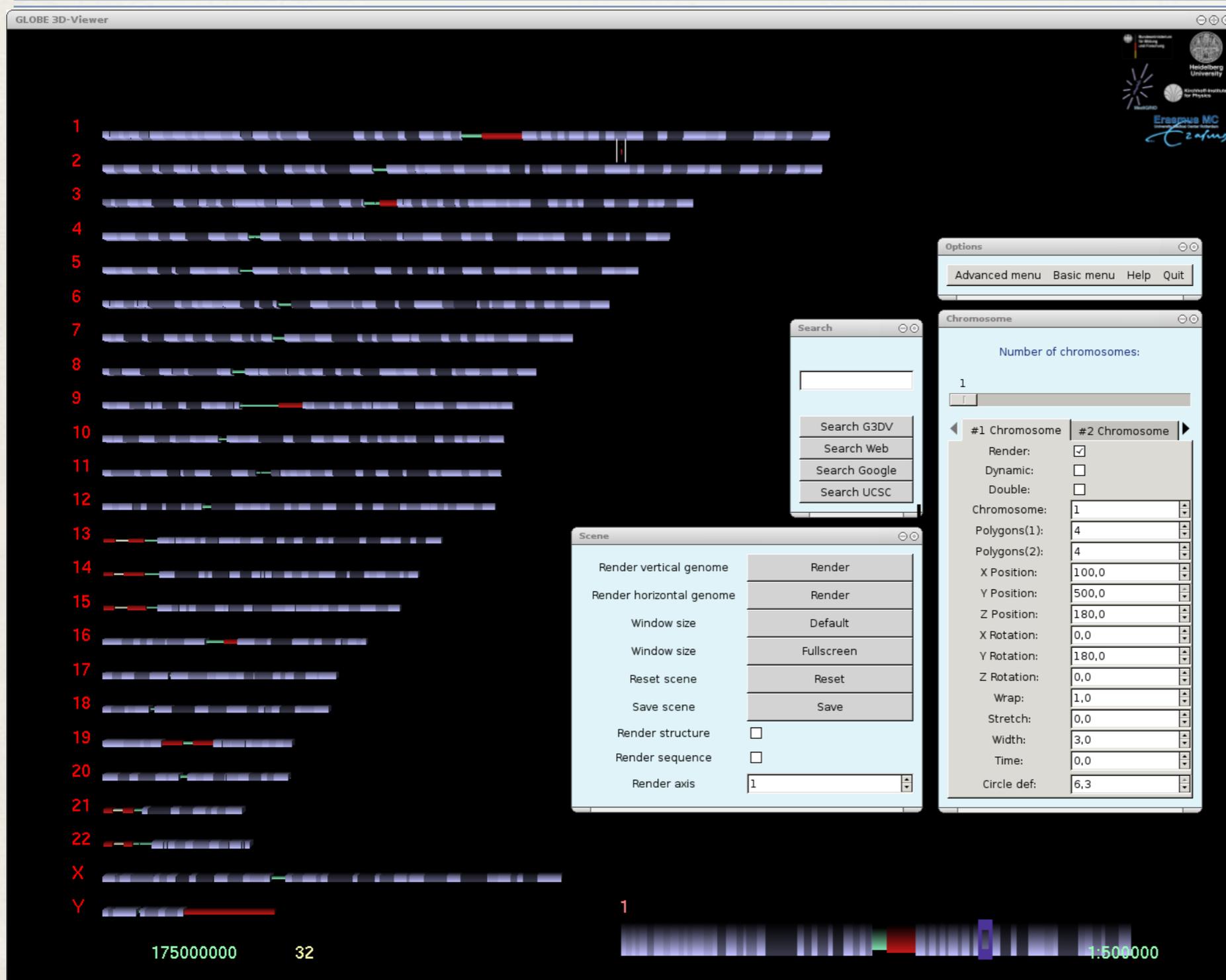
Hausmann et al, Biotechniques, 2003



3D image reconstructed of a lymphocyte cell nucleus. The green spots indicate the COMBO-FISH labelled region with a probe set of 31 oligonucleotides.

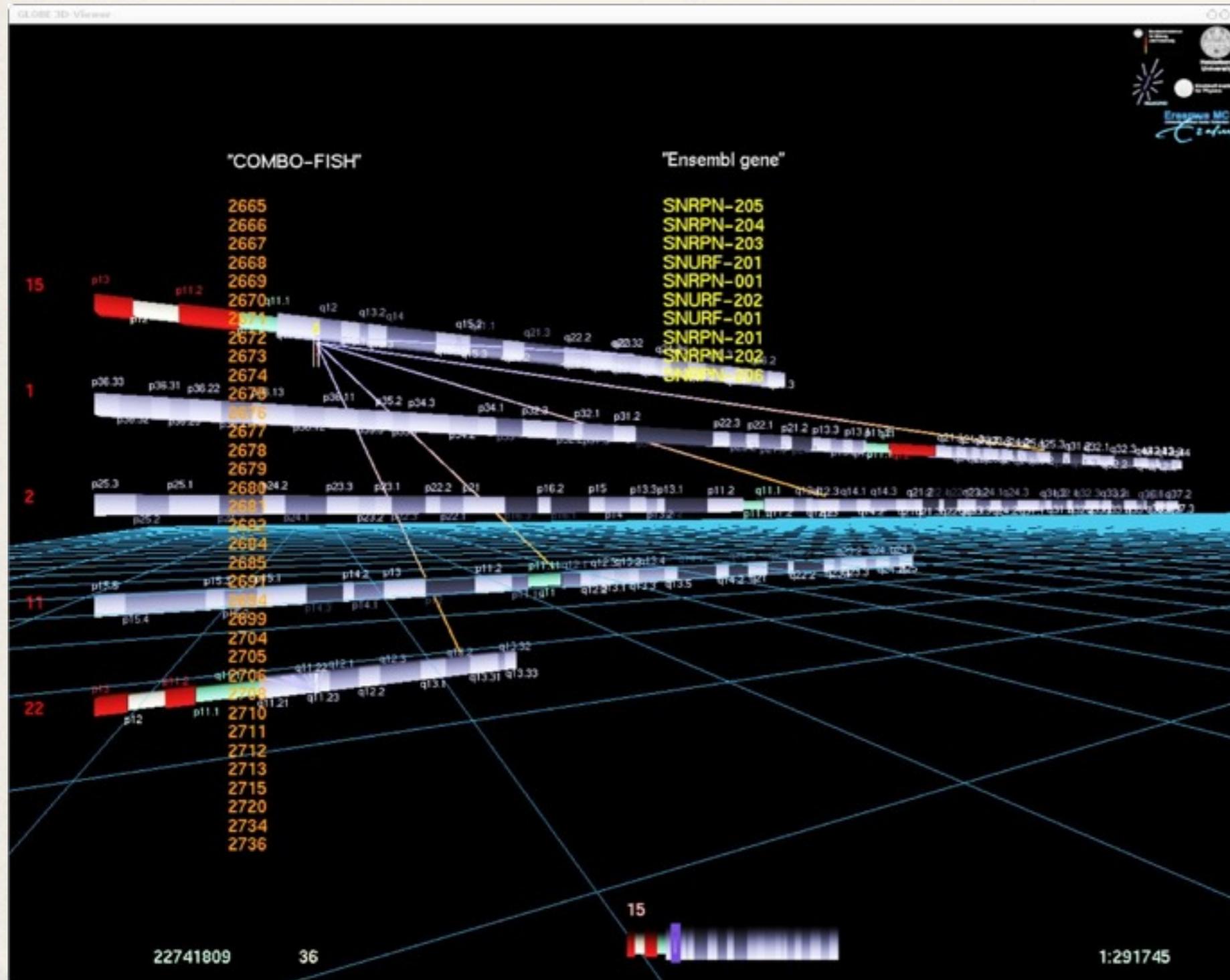
Schwarz-Finsterle et al, Cell Biol Int, 2005

# The GLOBE 3D Genome Viewer, Main- and Option- Windows



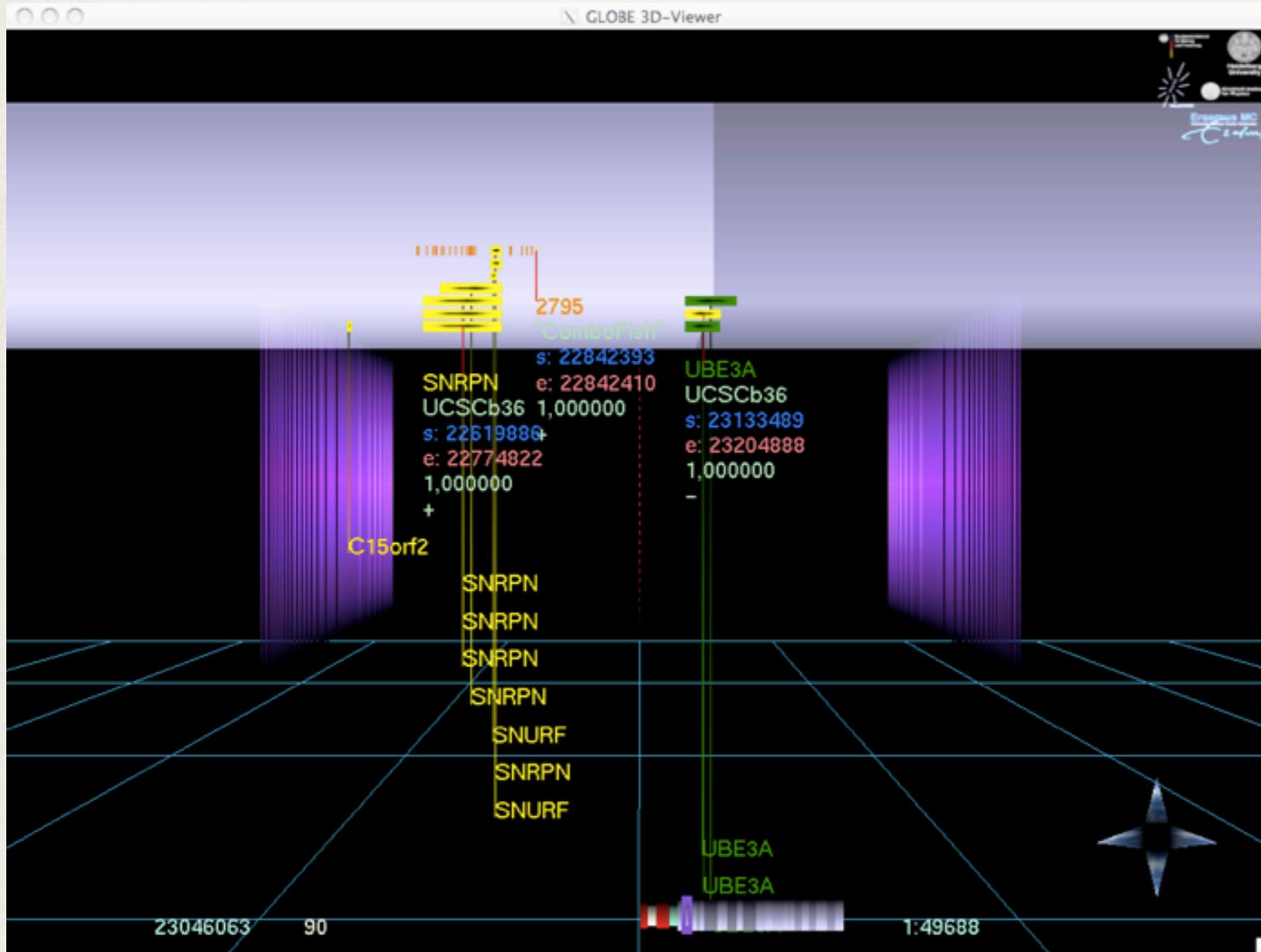
The view of the main window can be changed in the all spatial directions. The content, for example: displayed chromosomes etc., of the main window is controlled in the option windows.

# SNRPN/SNURF in the Chromosomal Context



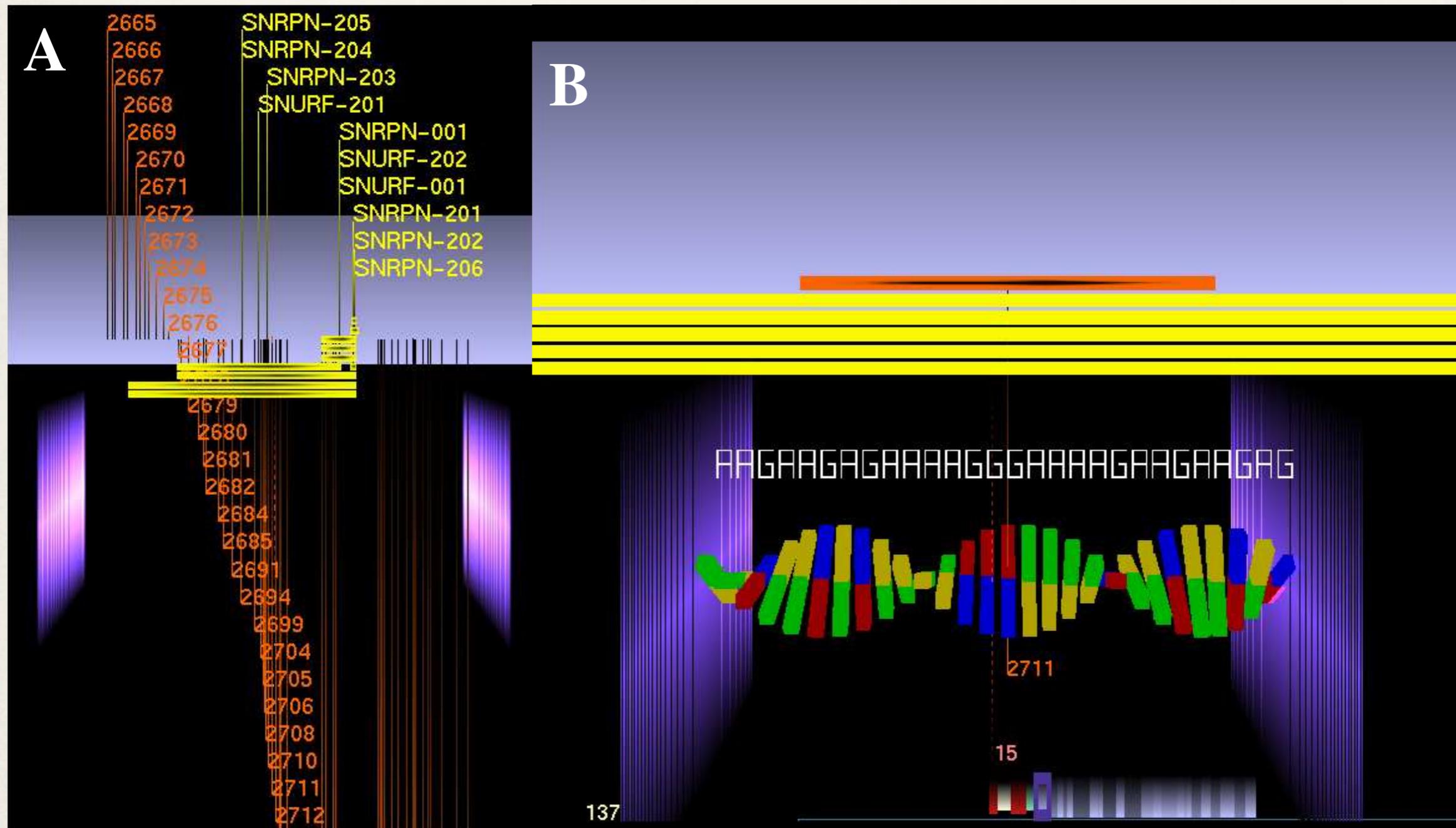
Next to the region of SNRPN/SNURF on chromosome 15 is a sequence of at least 1000 bp, which can also be found on chromosomes 1, 2, 11, and 22.

# The SNRPN/SNURF Gene Region

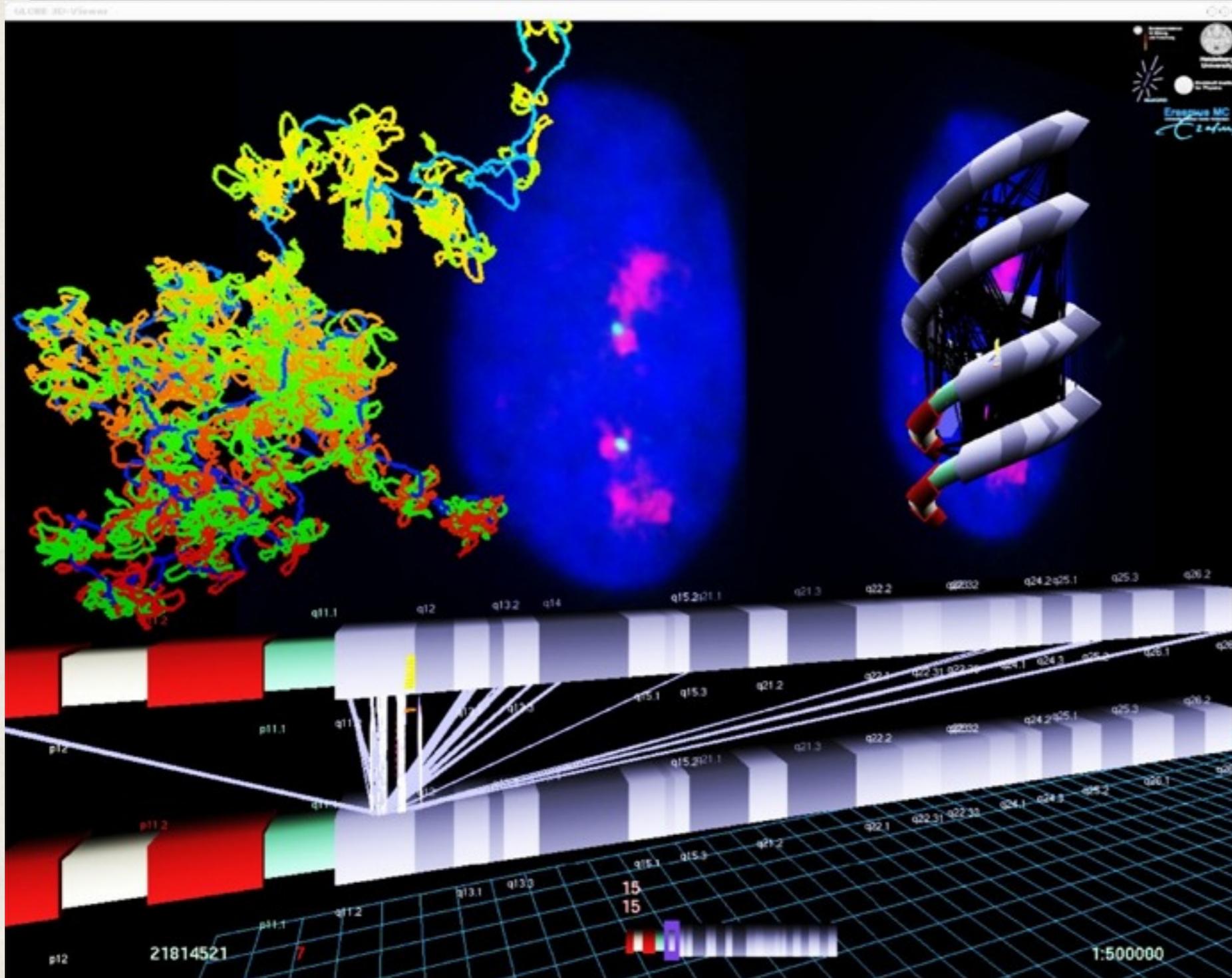


The COMBO FISH Probes are located in the region of the SNRPN/SNURF gene. More detailed informations about selected regions can be displayed.

# SNRPN/SNURF Gene Region With COMBO FISH Probes



# Different Visualizations of Chromosome 15 and SNRPN



Each chromosome can be visualized with different representations, chromosome banding in line or coil, or 3D structure.

# Acknowledgement

---

Erasmus Medical Center,  
Rotterdam:

- Tobias A. Knoch
- Michael Lesnussa
- Hubert B. Eussen

Kirchhoff Institut für Physik  
Heidelberg:

- Michael Hausmann
- Eberhard Schmitt
- Yanina Weiland
- Jutta Schwarz-Finsterle

Fin.

---