

Nutzungsordnung der Core Facility ‚Flow Cytometry‘ am ZTI/BMFZ

Allgemeines:

Die Core Facility (CF) ‚Flow Cytometry‘ ist eine Einrichtung des Fachbereichs Medizin mit zwei Standorten am ZTI und dem Biologisch Medizinischen Forschungszentrum (BMFZ). An jedem der beiden Standorte gibt es wissenschaftliche Ansprechpartner, die zusammen mit den Nutzern die Experimente besprechen und das für die jeweilige Fragestellung optimale Gerät aussuchen. Neben den klassischen Sortier- und Analysegeräten verfügt die CF mit einem NanoFCM-Gerät über die Möglichkeit der Charakterisierung von extrazellulären Vesikeln. Grundsätzlich werden Sortierungen nur als Dienstleistung durch die CF-Mitarbeiter erbracht, während Analysemessungen (klassische FACS-Messungen) nach einer adäquaten Einarbeitung entweder eigenverantwortlich durch die Nutzer selbst oder durch die CF-Mitarbeiter als Serviceleistung – im BMFZ nur durch die CF-Mitarbeiter - erbracht werden.

1. Leitung und Ansprechpartner

Die Leitungen der CF „Flow Cytometry“ werden vom Dekanat des Fachbereichs Medizin ernannt. Im Rahmen der Aufgaben der CFs sind die Leiter gegenüber dem Personal und den Nutzern in allen Belangen der Versuchsdurchführung weisungsbefugt.

Koordination/Leitung CF „Flow Cytometry & Sort“

- Leitung - PD Dr. Cornelia Brendel ZTI - Hans-Meerwein-Str. 3 00/0290 Tel: 28-65061 brendelc@staff.uni-marburg.de	- Ansprechpartner/ Technisches Personal - Susanne Salamon ZTI - Hans-Meerwein-Str. 3 00/0290 Tel.: 28-21449 guel@staff.uni-marburg.de	- Funktionsleitung/ Ansprechpartner - Dr. Hartmann Raifer BMFZ Hans-Meerwein-Str. 2 02/61120 Tel: 28-64359 hartmann.raifer@staff.uni-marburg.de
---	--	---

Koordination/Leitung „Extracellular Vesicles“:

- Leitung - Prof. Dr. Elke Pogge von Strandmann Inst. für Tumormimmunologie ZTI - Hans-Meerwein-Str. 3 03/0030 Tel.: 28-21640 poggevon@staff.uni-marburg.de	- Funktionsleitung/Ansprechpartner - Dr. Christian Preußner Inst. für Tumormimmunologie ZTI - Hans-Meerwein-Str. 3 03/0420 Tel.: 28-21644 preusserc@staff.uni-marburg.de
---	---

Koordination/Leitung CF „Bakterielle Vesikel“:

- Leitung - Prof. Dr. Bernd Schmeck Institute for Lung Research (iLung) Philipps-University Marburg Hans-Meerwein-Str. 2 Tel: 28-65713 bernd.schmeck@staff.uni-marburg.de	- Funktionsleitung/Ansprechpartner - Dr. Anna Lena Jung Institute for Lung Research (iLung) Philipps-University Marburg Hans-Meerwein-Str. 2 Tel.: 28-65713 anna.jung@staff.uni-marburg.de
--	---

2. Zugangsregelung, Gerätenutzung, Terminvergabe

Der Zugang zu den Geräten der CFs steht nach Absprache mit den unter Punkt 1 benannten Personen grundsätzlich allen Arbeitsgruppen der UMR zur Verfügung. Voraussetzung ist ein durch die jeweilige Leitung der CF ausgehändigtes und von beiden Seiten unterschriebenes Dokument, das dem Nutzer die substantielle Beherrschung des jeweiligen Geräts bestätigt („Führerschein“). Ohne dieses Dokument ist die selbstständige Nutzung jeglicher Geräte der CF „Flow Cytometry“ nicht zulässig.

Gäste und Kooperationspartner einer an der UMR tätigen Arbeitsgruppe können ebenfalls in Begleitung oder allein die Geräte nutzen. Voraussetzung ist in jedem Fall, dass die CF-Leitung hierüber in Kenntnis gesetzt wurde und die Einwilligung in schriftlicher Form vorliegt.

Grundsätzlich gilt, dass eine Anmeldung für eine Gerätenutzung so früh wie möglich erfolgen sollte. Dies gilt in Besonderem Maße für neue Projekte.

Betrifft nur Standort ZTI:

Nach einer ersten Projektbesprechung mit der CF-Leitung ist die Reservierung zur Nutzung der FACS-Geräte in einen online-Kalender einzutragen (<https://www.uni-marburg.de/fb20/haematoonkol/forschung/fccf>). Der online-Kalender wird für den jeweiligen Nutzer durch die CF-Leitung freigegeben und ist Voraussetzung dafür, dass der Nutzer Termine für die Geräte reservieren kann. Zur Nutzung des NanoFCM-Geräts ist in jedem Fall eine Rücksprache mit der Leitung notwendig.

Eine Reservierung im online-Kalender ohne eine vorausgehende Erstbesprechung mit der CF-Leitung ist nicht zulässig und der Termin ist ungültig und kann von der CF-Leitung aus dem online-Kalender gelöscht werden. Reservierungen von Folgeterminen, die sich im Verlauf der Projektbearbeitung und folglich nach einer vorausgegangenen Erstbesprechung ergeben bedürfen nicht jedes Mal einer Meldung an die CF-Leitung.

Bei hoher Geräteauslastung können maximal bis zu drei Stunden/Tag an Messzeit reserviert werden. Die Entscheidung hierüber obliegt der CF-Leitung, die darauf hinwirkt, eine zeitlich gleichmäßige Nutzung der Geräte durch die verschiedenen Arbeitsgruppen sicher zu stellen.

Standort BMFZ: Terminabsprachen per Email an Dr. Raifer oder per Mobil-Nr.: 0171-1241185.

Aufreinigung von Vesikeln: Terminabsprachen per Email oder telefonisch.

3. Geräte/Programme

Die CF „Flow Cytometry“ verfügt über folgende Geräte und Auswertesoftware:

Geräte:

sorter

- MoFlo Astrios (Beckman Coulter); 5 Laser, 17 Fluoreszenz- und 5 Streulichtdetektoren; Einzelzellablage, 6-Wege- Sortierung; Biohazard Modul (S2) → **Standort ZTI**
- MoFlo XDP (DakoCytomation); 3 Laser, 10 Fluoreszenzkanäle, 4-Wege-Sortierung → **Standort ZTI**
- BD FACSAria III; 4 Laser, 13 Fluoreszenzkanäle, Einzelzellablage, Sortierungen und Analysen bis einschließlich BSL2- Level → **Standort BMFZ**

Untersuchungen Extracellular Vesicles (Pogge/Preußner)

- NanoAnalyzer (NanoFCM), Flow Cytometry spezifisch für die Messung und Charakterisierung kleinster biologische Partikel (<40 nm); 488 nm + 640 nm Laser, Streulicht- (side scatter) und 2 Fluoreszenzdetektoren (FITC/GFP/AF488; PE-Cy5/PerCP/AF647/APC)
- ZetaView (Particle Metrix), Nanoparticle tracking analysis (NTA)
- Free-Flow Elektrophorese (FFE)
- Isolierung von Vesikeln mit unterschiedlichen Methoden (UZ, DG, SEC, FFE)

Untersuchungen „Bakterielle Vesikel“ (Schmeck/Jung)

- NanoView ExoView R100
- Amnis ImageStreamX Mk II Imaging Flow Cytometer

Geräte Analyse (nur Standort ZTI)

- Beckman Coulter 6 Laser, 21 Fluoreszenzkanäle

Daten Analyse/Programme

- Summit, FlowJo, ModFit, FCAP, CellQuest Pro, Diva
- FlowJo Lizenzen können ausgeliehen werden
- NF Profession

4. Aufgaben der CF

Die Aufgaben der CF umfassen:

- Einweisung der Nutzer in die jeweiligen Gerätesysteme
- Beratung und Unterstützung (Experiment-Design, Empfehlungen zu notwendigen Kontrollen, Empfehlungen zur Nutzung der unterschiedlichen Geräte-Systeme abhängig von der Fragestellung, Auswertung bzw. Anleitung zu einer sinnvollen Auswertung)
- Optimierung und Anpassung der vorhandenen Messtechniken für spezifische Fragestellungen der Nutzer (Methodenentwicklung; Weiterentwicklung der CF)
- Schulungsseminare für die Nutzer (z.B. Unterrichtung der Nutzer über neue Methoden/Entwicklungen)
- Erteilung der Nutzungsberechtigungen („Führerschein“)
- Koordination und terminliche Abstimmung zwischen den Nutzern
- System-Wartung und -Erweiterung, Software-updates
- Kontakt zu den Herstellern

In jedem Fall obliegt es der Einschätzung der CF-Leitung, abhängig vom jeweiligen Projekt, zu entscheiden, in wieweit eine ausführliche Einweisung der Nutzer angebracht ist, oder ob eine Messung durch die CF-Leitung und seine Mitarbeiter ohne weitere Nutzerunterweisung durchgeführt wird. Eine ausführliche Einweisung wird üblicherweise dann erfolgen, wenn absehbar ist, dass ein Projekt sich über einen längeren Zeitraum erstreckt.

Die Nutzer müssen während der Untersuchungen in jedem Fall für mögliche Rückfragen verfügbar sein.

5. Pflichten und Aufgaben der Nutzer

Die Nutzer sind verpflichtet:

- Die Vorschriften der Betriebsregelung einzuhalten, insbesondere alles zu unterlassen, was den ordnungsgemäßen Betrieb der CF stört
- den Weisungen des CF-Personals Folge zu leisten
- Das Personal der CF über Sicherheitsrisiken im Zusammenhang mit dem Versuchsmaterial (insbesondere pathogene, infektiöse, toxische oder radioaktive Eigenschaften des Versuchsmaterials) umfassend zu informieren
- entsprechende Meldungen und Genehmigungen (insbesondere Genehmigungen bei Tierexperimenten der zuständigen Gremien und des zuständigen Tierschutzbeauftragten) der CF-Leitung vorzulegen
- Bei Arbeiten mit gentechnisch veränderten Organismen (Sicherheitsstufe S1) obliegt die gesetzliche Aufzeichnungspflicht den Nutzern.
- Falls erforderlich, eigenes Personal mit den entsprechenden Befugnissen zur Durchführung der Experimente zur Verfügung zu stellen.
- Die Arbeit der CF bei Veröffentlichungen gebührend zu berücksichtigen. Bei substanziellem wissenschaftlichem Input in Form einer Ko-Autorenschaft, in jedem Fall jedoch im Acknowledgement mit Angabe der korrekten Bezeichnung der CF.
- Die angefallenen Kosten durch die Nutzung der Core Facility zu begleichen.

6. Buchungsregeln/Stornierung, nur für Standort ZTI

Reservierungen sind über den Online Kalender vorzunehmen oder nach Absprache mit der CF-Leitung. Reservierte Termine, die vom Nutzer nicht eingehalten werden können, müssen frühestmöglich storniert und aus dem online Kalender ausgetragen werden. Bei kurzfristigen Stornierungen sind nachfolgende Nutzer per E-Mail zu informieren. Wird ein gebuchter Termin nicht rechtzeitig, also vor Beginn des Termins storniert, wird eine Strafgebühr (siehe 8.) fällig.

Die Reservierungen sind so vorzunehmen, dass möglichst viele Nutzer Zugang zu den Geräten haben. Dauerhafte Reservierungen (z.B. ganztägig von Montag-Freitag) sind nicht zulässig. Gewinnt der CF-Leiter den Eindruck, dass „prophylaktische“ Reservierungen vorgenommen werden, kann er diese Termine (nach Rücksprache) aufheben und bei dauerhaften Zuwiderhandlungen gegen diese Regeln ein Nutzungsverbot aussprechen.

7. Nutzerregeln

Um das Arbeiten an den Geräten so angenehm, effizient und fair wie möglich zu gestalten, ergeben sich folgende prinzipielle Regeln:

- Grundsätzlich gilt das First-Come-First-Serve Prinzip. Es bleibt dennoch im Ermessen der CF-Leitung, hier terminliche Verschiebungen vorzunehmen (s. auch Punkt 2 „Zugangsregelung, Gerätenutzung, Terminvergabe“)
- Betrifft CF im BMFZ: Grundsätzlich werden auch Analysen am Aria durchgeführt; ergeben sich jedoch zeitliche Überschneidungen mit Sort- Experimenten, so haben die Sortierwünsche Vorrang
- Änderungen und Eingriffe an Geräten und Software erfolgen nur über die CF-Leitung oder wenn diese nach Rücksprache ihre Einwilligung hierzu gegeben hat.
- Für jedes Gerät liegt ein Logbuch aus, in das jeder Nutzer die Nutzungszeit, Name, Telefonnummer, Arbeitsgruppe und Bemerkungen (Fehlermeldungen, unsauberer Arbeitsplatz, Ausschalten bestimmter Laser etc.) einträgt.
- Jedem Gerät liegt eine Anweisung bei, in der die wichtigsten Punkte zur Bedienung aufgeführt sind. Vor allem werden die Punkte erwähnt, die kritisch sind und bei Nichtbeachtung zur Systemschädigung führen können bzw. die Lebensdauer wichtiger Elemente (Laser etc.) erniedrigen können.
- Die Gerätesysteme sind ausreichend zu spülen und sauber zu hinterlassen, die Flüssigabfälle sind adäquat zu entsorgen und leere Puffer-Behälter sind aufgefüllt zu hinterlassen. Der letzte Nutzer am Gerät hat dafür Sorge zu tragen, dass die Geräte adäquat heruntergefahren werden.
- Bei grob fahrlässigem Verhalten an den Geräten kann der Zugang gesperrt werden und der jeweilige Arbeitsgruppenleiter wird informiert. Für Schäden,
- die durch grobe Fahrlässigkeit entstehen, haftet der Nutzer.

8. Nutzungsgebühren

Die Höhe der Nutzungsgebühren sind dem separaten Dokument „Nutzungsgebühren“ zu entnehmen.

Die Nutzungsgebühren dienen dazu, den Betrieb der Core Facility aufrecht zu erhalten und werden entsprechend vor allem für Verbrauchsmaterial, notwendige Software-Updates und ev. anteilige Personalkosten verwendet. Bei der Festlegung der Höhe der Gebühren wurden die Empfehlungen der DFG für FACS-Geräte zugrunde gelegt.

Die Nutzungsgebühren werden regelmäßig evaluiert und können bei Bedarf (z.B. nach größeren Reparaturen) unter Zugrundelegung der DFG-Empfehlungen bis zu einem maximalen Betrag von €80,- für Sortierungen angehoben werden.

Die AGs werden durch die CF-Leitung darauf hingewiesen, dass bei der DFG Gebühren zur Nutzung von Core Facilities beantragt werden können.

Bei Schulungen durch Mitarbeiter der CF über FlowCytometrie, Software, Analysetechniken, usw., werden ebenfalls Gebühren von 100,-€ pro Schulungsteilnehmer erhoben.

9. Datenspeicherung

Für Geräte am ZTI:

Daten können nur im begrenzten Umfang bis 5GB auf den lokalen Computern der FACS-Geräte gespeichert werden und sollten deshalb in regelmäßigen Abständen auf externen Speichermedien gesichert werden, die vom Nutzer zur Verfügung gestellt werden müssen. Die Speicherung auf den lokalen Computern ist nur auf den ausgewiesenen Speicherplätzen möglich. Ist die Datenkapazität des lokalen Computers belegt, so können nach schriftlicher Aufforderung des Datentransfers die Daten vom Personal (siehe 1.) gelöscht werden.

Die Messdaten bei unterstützter Analyse oder Zellsortierung (Servicebetrieb) werden dem Anwender nach der Messung bzw. Sortierung direkt ausgehändigt. Für die Sicherung der Daten auf externe Medien sind eingearbeitete Nutzer, die selbst messen, selbst verantwortlich. Die Verantwortlichkeit der Datensicherung liegt jederzeit beim Anwender.

Die am Aria III (BMFZ) erhobenen Daten (Sort-Protokolle, pdf-Dateien der Plots, Rohdaten fcs-files) werden auf einem BMFZ-internen Sicherheitsserver gespeichert. Auf Wunsch können die Daten per USB mitgenommen werden.

Anhang

Preisliste [€/h]:

	Geräte			
	Sorter*			Analyse**
	MoFlo Astrios	MoFlo XDP	Aria III	Beckman Coulter CytoFLEX LX
Selbstmessung	/	/	/	10,- ⁽¹⁾ 15,- ⁽²⁾ 20,- ⁽³⁾
Servicebetrieb	50,- 60,- 70,-	50,- 60,- 70,-	50,- 60,- 70,-	20,- 30,- 40,-
	* Sortierungen nur als Servicebetrieb ** nur am Standort ZTI möglich			
⁽¹⁾ FB Medizin ⁽²⁾ UMR ⁽³⁾ Externe				

Preisliste „Extracellular Vesicles“ [€/h]:

	Geräte		
	NTA	NanoFCM	
Selbstmessung	20,- 30,- 40,-	- - -	
Servicebetrieb	50,- 60,- 70,-	40,- 50,- 60,-	
	Service		
	Vesikelaufreinigung UZ	Vesikelaufreinigung UZ + SEC	FFE
Serviceleistungen [€/Probe]	40,- 50,- 60,-	60,- 70,- 80,-	60,- 70,- 100,-
⁽¹⁾ FB Medizin ⁽²⁾ UMR ⁽³⁾ Externe			

Preisliste „Bakterielle Vesikel“ ist im Aufbau, Preise sind z.Zt. bei der Projektbesprechung abzuklären.