

Nutzungsordnung der Core Facility „Extracellular Vesicles“ am Institut für Tumorimmunologie des FB Medizin der Philipps-Universität Marburg

Allgemeines

Die Core Facility (CF) „Extracellular Vesicles“ ist eine Einrichtung des Fachbereichs 20 Medizin der Philipps-Universität Marburg und stellt Infrastruktur und state-of-the-art Technologien zur Aufreinigung und Analyse von EVs. Hierbei bietet die CF verschiedene Dienstleistungen zur Isolierung, Reinigung und Charakterisierung von EV an und kann Kontakte zu verschiedenen nachgeschalteten Analysen in anderen CF auf der Grundlage optimierter EV-Protokolle anbieten. Grundsätzlich werden NanoFCM-Messungen nur als Dienstleistung durch die CF-Leitung bzw. durch dessen Mitarbeiter erbracht, während Analysemessungen (NTA) nach einer adäquaten Einarbeitung entweder eigenverantwortlich durch die Nutzer selbst oder durch die CF-Mitarbeiter als Serviceleistung erbracht werden

Die vorliegende Ordnung bestimmt die Regeln zur Nutzung dieser Einrichtung. Grobe Verstöße gegen die Nutzerordnung können zum Verlust der Zugangsberechtigung zur CF führen.

1. Leitung und Betreuung

Die CF verfügt über einen wissenschaftlichen Koordinator, der unmittelbarer Ansprechpartner für die Nutzer ist. Ein Team von Betreuern unterstützt die Nutzer bei der Durchführung von Experimenten. Im Rahmen der Aufgaben der CF sind die Betreuer gegenüber den Nutzern in allen Belangen der Versuchsdurchführung weisungsbefugt.

Institutsleitung

Prof. Dr. Elke Pogge von Strandmann

Institut für Tumorimmunologie

Tel.: 28-21640

E-Mail: poggevon@staff.uni-marburg.de

Dr. Christian Preußner

Institut für Tumorimmunologie

Tel.: 28-21644

E-Mail: preusserc@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 PUM zur Verfügung. Voraussetzung ist ein durch den jeweiligen Leiter 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 „Extracellular Vesicles“ nicht zulässig.

Gäste und Kooperationspartner einer an der PUM 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.

Bei hoher Geräteauslastung wird den Projekten der Antragsteller, die sich mit einem Projekt am Antrag des jeweiligen Gerätes beteiligt haben sowie Projekten innerhalb großformatiger Forschungsverbände (SFB, TRR etc.) höhere Priorität eingeräumt. Dies bedeutet im Umkehrschluss nicht, dass bereits seit längerem geplante Experimente kurzfristig zu Gunsten von Projekten von Antragstellern abgesetzt oder verschoben werden. Die Entscheidung hierüber obliegt der fachlichen CF-Leitung.

3. Geräte/Programme

Die CF „Extracellular vesicles“ verfügt über folgende Geräte und bietet zusätzliche Serviceleistungen an:

Geräte

- Optima Max-XP, Optima XPN-90 Ultrazentrifugen (Beckmann Coulter) inkl. Verschiedener Rotoren
- 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)

Service

- EV Isolation aus unterschiedlichen Probenmaterialien (Zellkultur, Plasma, Aszites, etc.)
- EV Aufreinigung mit unterschiedlichen Methoden (UZ, DG, SEC, FFE)
- EV Analytik (nano-flow cytometry; NTA; Western blot)
- EV-RNA Isolation
- Beratung

4. Aufgaben der CF

- Einweisung der Nutzer in die jeweiligen Gerätesysteme
- Beratung und Unterstützung bei der Planung sowie der Durchführung von Experimenten:
- Entwicklung neuer Methoden sowie Optimierung und Anpassung bereits etablierter Methoden
- Schulungsseminare für die Nutzer (z.B. Unterrichtung der Nutzer über neue Methoden/Entwicklungen)
- Einweisung der Nutzer und 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 fachlichen 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 ohne weitere Nutzerunterweisung durchgeführt wird. Eine ausführliche Einweisung wird üblicherweise dann erfolgen, wenn absehbar ist, dass ein Projekt sich über einen längeren Zeitraum erstreckt.

5. Pflichten und Aufgaben der Nutzer

Die Nutzer sind verpflichtet:

- den Weisungen des CF-Personals Folge zu leisten
- Die Vorschriften der Betriebsregelung einzuhalten, insbesondere alles zu unterlassen, was den ordnungsgemäßen Betrieb der CF „Extracellular vesicles“ stört
- Bei Arbeiten mit gentechnisch veränderten Organismen (Sicherheitsstufe S1) obliegt die gesetzliche Aufzeichnungspflicht den Nutzern.
- Die Arbeit der CF bei Veröffentlichungen angemessen in Form einer Co-Autorenschaft bei substanziellem wissenschaftlichem Input oder im Acknowledgement berücksichtigen.
- Die angefallenen Kosten durch die Nutzung der Core Facility zu begleichen.

6. Buchungsregeln/Stornierung

Reservierungen sind grundsätzlich über den Online Kalender vorzunehmen. 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.

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

Grundsätzlich gilt das First-Come-First-Serve Prinzip. Es bleibt dennoch im Ermessen der CF-Leitung, hier terminliche Verschiebungen vorzunehmen (s. auch „Zugangsregelung, Gerätenutzung, Terminvergabe“

- Änderungen und Eingriffe an Geräten und Software erfolgen nur über die CF-Leitung oder den wissenschaftlichen Ansprechpartner der CF.
- Jedem Gerät liegt ein Logbuch aus, in das jeder Nutzer die Nutzungszeit, Name, Telefonnummer, Arbeitsgruppe und Bemerkungen (Fehlermeldungen, unsauberer Arbeitsplatz, 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 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 die Etablierung und Software-Updates verwendet. Bei der Festlegung der Höhe der Gebühren wurden die Empfehlungen der DFG zugrunde gelegt.

Die Preisliste CF-Extrazelluläre Vesikel wird regelmäßig evaluiert und an die Ausgaben angepasst.

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

9. Datenspeicherung

Die Speicherung der Rohdaten erfolgt auf den lokalen Rechnern zur Gerätesteuerung der CF 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.

Analyse/Service	Instrument/ Anmerkungen	Preise			
NanoSight Tracking Analysis - Selbstmessung	ZetaViewer	20€	30€	40€	/h
NanoSight Tracking Analysis - Serviceleistung	ZetaViewer	40€	50€	60€	
Nano FC – Serviceleistung	NanoAnalyzer	40€	50€	70€	
EV Isolation aus Zellkultur oder einfachen primären Medien (inkl. NanoFC Analyse)	1. dUZ	60€	70€	100€	/Probe
	2. SEC (+UZ/UF)	70€	80€	120€	
	3. DG	80€	90€	150€	
Free-flow electrophoresis	FFE NextGen	60€	70€	150€	
Ultrazentrifugation	Optima Max-XP, Optima XPN-80	10€	15€	25€	/Lauf
Sepharose CL-2B Säule	<i>Homemade</i>	20€	25€	35€	/Stück
	¹⁾ dUZ - differenzielle Ultrazentrifugation ²⁾ SEC- Größenausschlusschromatographie ³⁾ DG-Dichtegradientenultrazentrifugation	FB20 Medizin	UMR	Externe	