

Core Unit Durchflusszytometrie (Zentrum für Infektionsmedizin, ZIM)

NUTZUNGSORDNUNG

Informationen für Nutzerinnen und Nutzer

Die Core Unit Durchflusszytometrie des Zentrums für Infektionsmedizin (ZIM) der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig bietet die Möglichkeit zur analytischen und präparativen Multi-Parameter-Durchflusszytometrie. Gegen Gebühr können Angehörige der Universität Leipzig Zellanalysen und -sortierungen durchführen. Ebenso können externe Forschungseinrichtungen und Firmen der Privatwirtschaft, für die gesonderte Gebührensätze gelten, die beiden zur Verfügung stehenden Geräte nutzen.

Zur bestmöglichen Versorgung der Nutzer steht die Core Unit Durchflusszytometrie des Zentrums für Infektionsmedizin (ZIM) im engen Kontakt mit Herrn Dr. A. Lösche, Core Unit Fluoreszenztechnologien des IZKF der Universität Leipzig (www.izkf-leipzig.de/cytometry.htm), um eine hohe Auslastung aller an der Universität Leipzig verfügbaren Durchflusszytometer und minimale Wartezeiten für die Nutzer zu ermöglichen. Darüber hinaus beabsichtigen wir, zusammen mit der Einrichtung des IZKF ein gemeinsames Ausbildungsprogramm zu etablieren sowie gemeinsam Veranstaltungen zur Nutzerfortbildung und -beratung durchzuführen.

Detailinformationen zu den beiden in der Core Unit Durchflusszytometrie des ZIM der Veterinärmedizinischen Fakultät verfügbaren Geräten (siehe Anhang 1) sowie zur Art und dem Umfang der angebotenen Leistungen und Gebührensätze (siehe unten) finden Sie auf der Homepage des Instituts für Bakteriologie der Veterinärmedizinischen Fakultät (Nutzungsordnung und weitere Infos zur Core Unit Durchflusszytometrie finden sich auf der Internetseite http://bakteriologie.vetmed.uni-leipzig.de/de/core_unit_FACS).

Nutzungsbedingungen

Auftragsabwicklung

Die Core Unit Durchflusszytometrie wird als Multi-User-Einheit geführt, in der die Messungen an den Geräten, nach gründlicher Einarbeitung durch das zuständige Personal, vom Nutzer selber durchgeführt werden. Alle Massnahmen zum Geräteunterhalt sowie die Vorbereitung der Geräte, speziell des Zellsortierers, auf die Messung werden vom zuständigen Personal (unbefristet angestellter wissenschaftlicher Mitarbeiter des Instituts für Bakteriologie und technische Angestellte des Instituts für Virologie) durchgeführt.

Zur Nutzung der Geräte ist ein Auftragsformular (siehe Anhang 2) auszufüllen und per email an den Leiter der Core Unit, Herrn PD Dr. Uwe Müller, zu senden (u.mueller@vetmed.uni-leipzig.de). Anhand des Auftragseingangs werden die Termine an den Geräten durch das zuständige Personal vergeben. Mit Erteilung des Auftrags werden die Nutzungsbedingungen des Zentrums für Infektionsmedizin anerkannt.

Nach Durchführung des Experiments werden die jeweiligen Gebühren in Rechnung gestellt und sind binnen 30 Tagen zu begleichen. Die Höhe der Gebühren kann bei Bedarf angepasst werden. Bei längeren Aufträgen erfolgt zum jeweiligen Quartalsende eine Zwischenrechnungslegung.

Kalkulation der Kosten für die Nutzung der Geräte der Core Unit Durchflusszytometrie

Zellsortierer FACSAriaIII

Preis pro Stunde:

| | |
|------------------------------------|-------|
| Angehörige der Universität Leipzig | 30 € |
| Externe Forschungseinrichtungen | 65 € |
| Privatwirtschaft | 370 € |

Zusätzlich fällt ein Installationspreis in Höhe einer halben Stundenpauschale für die Vorbereitung des Gerätes auf die Sortierung durch das zuständige Personal an.

Zellanalytiker LSR Fortessa

Preis pro Stunde:

| | |
|------------------------------------|-------|
| Angehörige der Universität Leipzig | 20 € |
| Externe Forschungseinrichtungen | 55 € |
| Privatwirtschaft | 260 € |

Für Angehörige der Universität Leipzig sind mit diesen Kosten die von der DFG als abrechnungsfähig anerkannten Kosten abgegolten. Es sind keine Personalmittel und Reinvestitionskosten in diesen Gebührensätzen enthalten.

In den Gebührensätzen für externe Forschungseinrichtungen und die Privatwirtschaft sind anteilig Personalkosten und Reinvestitionskosten (Abschreibung) sowie Wartungskosten enthalten.

Vorbereitung der Proben und Durchführung der Messungen

Nach Eingang des Auftrages kommt es zur Terminvergabe für die Gerätenutzung durch das zuständige Personal. Hierfür ist in der Regel eine Beratung durch das zuständige Personal notwendig, in dem die Durchführung der Messung anhand des Inhaltes und der Ziele des Experimentes konzipiert wird. Diese Beratung wird vom Leiter der Core Unit, bei Bedarf auch zusätzlich von Mitarbeitern des Instituts für Immunologie mit langjähriger Erfahrung in der Durchflusszytometrie, durchgeführt. Die Messzeitvergabe erfolgt durch den Leiter der Core Unit nach zeitlicher Reihenfolge der Anmeldung. Ggf. haben Nutzer der Universität Leipzig Vorrang. Es wird jedoch im Einzelfall versucht, für alle Interessenten nach akzeptablen Lösungen zu suchen.

Nach erfolgter Messung wird die Nutzung mit Anfangs- und Endzeit in einer Excel-Tabelle auf dem Geräterechner sowie im Nutzungsbuch dokumentiert.

Die Core Unit-Nutzer bereiten ihre Proben i.d.R. in ihren Labors selbst vor. Für durchflusszytometrische Messungen bzw. Sortierungen stellen sie ihre filtrierte

Proben in dem vorher besprochenen Probengefäß bereit. Die Messung wird ebenfalls von den Nutzern selbst durchgeführt.

Es können Arbeiten mit Zellen und Erregern einschließlich der Sicherheitsstufe S2 nach Gentechnikschutzgesetz und Biostoffverordnung an den Geräten durchgeführt werden.

Bei der Sortierung am FACSAria III wird vom Operator als Teil der Einschalt routine das Aerosol-Management-System (AMS) eingeschaltet, hierbei ist darauf zu achten, dass das AMS während der gesamt Sortierung ordnungsgemäß läuft. Die ordnungsgemäße Entsorgung des Probenmaterials ist mit dem Leiter der Core Unit abzusprechen und nach dessen Anweisungen durchzuführen.

Wichtig: Vorab ist dem Operator mitzuteilen, wie viele Zellen in welcher Reinheit und Dichte sortiert werden sollen, damit er abschätzen kann, wie groß das vorzulegende Volumen an Desinfektionsmittel im Abfallbehälter des FACSAria III bemessen werden muss. Es ist dem Operator darüber hinaus mitzuteilen, ob die zu sortierenden Proben Infektionserreger enthalten (GVO oder Wildtypstämme) und die Art des Infektionserregers. Für Parasiten, Pilze, Bakterien und behüllte Viren legt der Operator A20 in einem Volumen vor, so dass nach Abschluss der Sortierung mind. eine Konzentration von 2% erreicht wird, diese Lösung wird daraufhin mindestens eine Stunde (1h) einwirken gelassen (am besten über Nacht), bevor der Abfall über den Ausguss entsorgt werden darf. Im Falle von unbehüllten Viren legt der Operator Aldasan 2000 in einem Volumen vor, so dass nach Abschluss der Sortierung mind. eine Konzentration von 2% erreicht wird. diese Lösung wird daraufhin mindestens eine Stunde (1h) einwirken gelassen (am besten über Nacht), bevor der Abfall über den Ausguss entsorgt werden darf.

Die Geräte der Core Unit dürfen nur nach Einweisung durch das zuständige Personal (Laborleiter / technische Assistenz) selbständig bedient werden. Nutzer haften für Schäden, die durch unsachgemäße oder fehlerhafte Bedienung entstehen.

Die erhobenen Daten können auf den zentralen Server der Veterinärmedizinischen Fakultät übertragen werden oder per mobilem Speichermedium archiviert werden. Hierzu steht ein separater Rechner zur Verfügung. Ein Verbinden mit Datenträgern, Aufspielen von Software oder Daten auf die Geräterechner ist strikt untersagt.

Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgt an Computern der Nutzer. Hierzu kann entweder eigene Software genutzt werden oder es stehen begrenzt Lizenzen und Dongle für die Auswertesoftware BD FACS Diva den Nutzern zur Verfügung, die

zeitlich begrenzt ausgeliehen werden können. Ein Verlust der Dongle ist vom jeweiligen Nutzer zu ersetzen.

Danksagung

Die Beteiligung der Core Unit Durchflusszytometrie des Zentrums für Infektionsmedizin ist bei der Veröffentlichung von Ergebnissen an geeigneter Stelle, z.B. im Acknowledgement, zu dokumentieren. Diese Publikationen sind dem Leiter der Core-Unit anzuzeigen.

Kontakt

PD. Dr. U. Müller

Deutscher Platz 5, 04103 Leipzig

Tel. 0341 97-31224

email: u.mueller@vetmed.uni-leipzig.de

Leipzig, den 15.03.2016

PD Dr. Uwe Müller

(Leiter Core Unit Durchflusszytometrie, ZIM)

Anhang 1: Konfiguration der Geräte

1. FACS Aria III Zellsortierer

Ausstattung mit 5 luftgekühlten Lasern mit 13 Fluoreszenzdetektoren plus 2 Streulichtdetektoren gleichzeitig 4 Laser nutzbar

375nm mit 3 PMT

405nm mit 3 PMT

488nm mit 2 PMT

561nm mit 5 PMT

633nm mit 3 PMT

Hochgeschwindigkeitssortiermodul bis zu 70.000 Partikel/sec.

Nozzelgrößen 70, 85 , 100, 130µm

Simultanes Sortieren von 4 Populationen möglich

Temperierung des zugeführten Probengefäßes sowie der unterschiedlichen Sammelgefäße

Einzelablage in 6,12,24,96,384 Loch-Platten

Geschlossene Sortierkammer mit integriertem Aerosolmanagement-System

Zusätzliches Aerosolmanagement-System für die Einzelzellablage zur Ermöglichung der Sortierung von Zellen/Erregern der Sicherheitsstufen L2/S2

2. BD LSR Fortessa Zellanalysierer

Ausstattung mit 5 luftgekühlten Lasern mit 18 Fluoreszenzdetektoren plus 2 Streulichtdetektoren

355nm mit 2 PMT

405nm mit 6 PMT

488nm mit 2 PMT

561nm mit 5 PMT

640nm mit 3 PMT

Hohe Zählrate von 20.000 Ereignissen /Sekunde voll kompensiert möglich

Möglichkeit zur Einzelröhrchenzufuhr und zur automatisierten Probenzuführung im 96/384 well Format

Detaillierte Informationen über die optische Konfiguration der Geräte erhalten Sie im Rahmen der Beratung durch unsere Mitarbeiter.

Auftrag für die Core Unit Durchflusszytometrie des Zentrum für Infektionsmedizin

Name: _____ Kostenstelle: _____
Institut: _____ Auftragsnr.: _____
Anschrift: _____ Projektnr.: _____
Telefon: _____ Datum: _____
email: _____ Unterschrift: _____

Auftrags-Experimentbeschreibung

Zelltyp und Herkunft:

Enthält die Probe giftige, erbgutverändernde, infektiöse, radioaktive o. a. gefährliche Stoffe
nein ja , nämlich _____

Enthält die Probe infektiöses Material? nein ja
HIV: negativ: positiv:
Hepatitis-Virus negativ: positiv:
Einstufung nach Gentechnik und/oder Biostoffverordnung: _____
Ist die Probe fixiert? nein ja Womit? _____

Analytische Durchflusszytometrie:

Probenanzahl: _____ Analysezellzahl je Probe: _____
Verwendete Fluoreszenzfarbstoffe: _____

Präparative Durchflusszytometrie (Zellsortierung):

Beschreibung der zu sortierenden Zellenfraktionen einschliesslich der Fluoreszenzen:

1) _____ 2) _____
3) _____ 4) _____

Anteil Targetzellen: 1) 2) 3) 4)

Notwendige Reinheit: 1) 2) 3) 4)

Zielzellzahl: 1) 2) 3) 4)

Sterile Sortierung: nein ja

Temperatur Probe:

Temperatur sortierte Zellen:

Sortierung in Wellplatten: nein ja wie? _____

Ausgangszellzahl: Zelldichte: _____

Medium: Zusätze

Daten: mobiles Speichermedium:

VetMed-Server: