

**Nutzungsordnung der Cell Analysis Core Facility (CAAnaCore)  
vom 19. Dezember 2012**

**Präambel**

Die „Cell Analysis Core Facility“ (CAAnaCore) ist eine vom Institut für Systemische Entzündungsforschung (ISEF) betriebene Technologie-Plattform des Zentrums für Infektiologie und Entzündungsforschung Lübeck (Z.I.E.L.) an der Universität zu Lübeck (UzL). Zum CAAnaCore gehören neben den Zell Sorters FACSAria III (BD Biosciences) und MoFlo Legacy (Beckman Coulter) das analytische Durchflusszytometer LSR II (BD Biosciences), der automatische Zellseparator AutoMACS Pro Separator (Miltenyi Biotec), das inverse Konfokalmikroskop System FV 1000 (Olympus) und das Multi-Spezies Hämatologie System Hemavet 950 (Drew Scientific).

**§ 1**

**Geltungsbereich**

Diese Benutzungsordnung gilt für die Nutzung des CAAnaCore und regelt die Grundsätze der Zellsortierung mithilfe der Zell Sorter FACSAria III, MoFlo Legacy und dem automatischen Zellseparator AutoMACS Pro Separator sowie der Zellanalyse durch das analytische Durchflusszytometer LSR II, das inverse Konfokalmikroskop System FV 1000 und das Multi-Spezies Hämatologie System Hemavet 950.

**§ 2**

**Aufgaben**

Die CAAnaCore arbeitet ausschließlich für die Forschung an der UzL und des Klinikums, Campus Lübeck und hat keine Aufgaben in der Krankenversorgung. Es soll die Forschungsschwerpunkte der UzL stärken. Forschungsprojekte mit klarem Bezug zu den Forschungsschwerpunkten der UzL werden priorisiert.

CAAnaCore obliegen folgende Aufgaben:

- (1) Zell-Sorts (FACSAria II, MoFlo Legacy, AutoMACS)
  - ° Sortierung von Zellen in handelsübliche Sammelgefäße (1, 5, 15 ml) und in gängige multi-well plates (6-, 24-, 48-, 96- und 384-well plates)
- (2) Zellanalyse (LSR II, FV 1000, Hemavet 950)
  - ° Phänotypische und funktionelle Charakterisierung von Zellen
- (3) Einführungskurse
  - ° Einführung in die Bedienung des analytischen Durchflusszytometers BD LSR II, des Multi-Spezies Hämatologie Systems Hemavet 950 und des automatischen Zellseparator AutoMACS Pro Separator (Miltenyi Biotec).
  - ° Einführung in die FACS-Diva Software von BD.

- (4) Unterstützung bei der Datenauswertung
  - ° Hilfestellung bei der Datenauswertung mittels FlowJo, FCSEXPRESS 4.0 und der FACS-Diva Software.
- (5) Bereitstellung von Puffersystemen für die Zell-Sortierung
  - ° PBS/HEPES-Puffer (Standard PBS + 25 mM HEPES)
  - ° Andere Puffer Systeme nach Absprache

### **§ 3**

#### **Nutzungsberechtigung**

Nutzungsberechtigt gegen Gebühr sind alle Mitglieder und Angehörige der Universität zu Lübeck sowie forschende Angestellte des Klinikums Campus Lübeck.

### **§ 4**

#### **Allgemeine Nutzungsregeln**

- (1) Zell-Sorts und Zell-Analysen werden nur durchgeführt, wenn der dafür vorgesehene Auftrag vollständig ausgefüllt vorliegt (siehe Anlage Auftragsformular). Neue Projekte sind vorab mit dem Administrator zu besprechen, um die Durchführbarkeit des Experiments/Sorts zu prüfen, gegebenenfalls Änderungen im experimentellen Design vornehmen zu können und die notwendige Sort-Zeit vor der online Buchung festzulegen. Die Zell-Sorts bzw. Zell-Analysen werden gemäß der Reihenfolge ihrer Anmeldung abgearbeitet.  
Mit der Erteilung des Auftrages werden die Nutzungsbedingungen des CAnaCores anerkannt.
- (2) Die Betriebszeiten des CAnaCore sind Montags-Freitags von 8:30 - 17:30 Uhr. Die Buchung der Sort-Termine erfolgt über einen passwortgeschützten Online-Kalender im Intranet der UzL. Allen Nutzerinnen/Nutzern des Cell Sorters wird ein Account eingerichtet, über den sie online Buchungen für Sort-Termine vornehmen können. Einmal eingestellte Buchungen können nicht selbständig geändert werden. Online Buchungen können bis zu 14 Tage im Voraus vorgenommen werden. Die Nutzungszeiten der Nutzerinnen/der Nutzer werden über den Online-Buchungskalender automatisch registriert. Für den Fall, dass ein gebuchter Termin nicht wahrgenommen werden kann, ist dies der Administratorin/dem Administrator per email mitzuteilen, damit die Sort-Zeit neu vergeben werden kann. Gebuchte Nutzungszeiten, die nicht wahrgenommen wurden und nicht neu vergeben werden konnten, werden dem Nutzer/der Nutzerin in vollem Umfang in Rechnung gestellt. Termine, die auf Grund eines technischen Defektes der CAnaCore Geräte abgesagt werden mussten, werden nicht in Rechnung gestellt.
- (3) Die Proben sind pünktlich zum vereinbarten Termin abzugeben. Proben, die so spät abgegeben werden, dass die gebuchte Sort- bzw. Analyse-Zeit überschritten wird, können nur dann berücksichtigt werden, wenn die nachfolgende Sort/Analyse-Zeit nicht gebucht wurde. Nutzungszeiten über die gebuchte Sort/Analyse-Zeit hinaus werden halbstündlich abgerechnet.

- (4) Nach erfolgtem Zell-Sort bzw. erfolgter Zell-Analyse werden die jeweiligen Gebühren in Rechnung gestellt. Die Abrechnung erfolgt vierteljährlich durch das CAnaCore.
- (5) Die Daten der Zell-Sorts auf dem FACSAria III bzw. dem MoFlo Legacy bzw. der Zell-Analyse auf dem LSR II und dem FV1000 werden für ein Jahr von der CAnaCore gespeichert. Am Ende des Jahres werden die Daten der Zell-Sorts/Analysen für jede Nutzerin/jeden Nutzer individuell auf CD gebrannt. Jede Nutzerin/jeder Nutzer wird via Mail 14 Tage vor Ablauf des Jahres darüber informiert, dass Ihre und Seine Daten vom Datenspeicher gelöscht und auf CD als Hardcopy zur Verfügung gestellt werden. Nach Ablauf des Jahres werden die Daten dann aus dem Bestand des CAnaCore gelöscht.
- Die Nutzerin/der Nutzer der FACSAria III, MoFlo Legacy, LSR II und FV1000 sind zudem angehalten, nach Beendigung des Zell-Sorts bzw. der Zell-Analyse eine Kopie der Daten auf einem geeigneten mobilen Datenträger zu erstellen, um eine Datenauswertung auch außerhalb des CAnaCore zu ermöglichen.
- Die Benutzerinnen /der Benutzer sind verpflichtet, diese Vorschriften zur Datenspeicherung und zum Datenmanagement einzuhalten. Daten, die außerhalb der dafür vorgesehenen Datenträgerbereiche gespeichert werden, unterliegen nicht der Aufbewahrungspflicht bzw. Sicherung und können jederzeit gelöscht werden. Die Datengeheimhaltung wird durch das CAnaCore sichergestellt.
- (6) Die Beteiligung des CAnaCore muss bei der Veröffentlichung an geeigneter Stelle im Methodenteil der Arbeit dokumentiert werden.

## **§ 5**

### **Besondere Nutzungsregeln**

- (1) Die Bedienung der Zell Sorter FACSAria III und MoFlo Legacy sowie des inversen Konfokalmikroskop Systems FV 1000 erfolgt ausschließlich durch das CAnaCore Personal. Die Vorreinigung mittels des automatischen Zellseparator AutoMACS Pro Separator (Miltenyi Biotec) und die Analyse von Proben auf dem analytischen Durchflusszytometer LSR II sowie dem Multi-Spezies Hämatologie System Hemavet 950 können nach Einweisung durch das CAnaCore Personal selbständig genutzt werden.
- (2) Die Zellsortierung und die Zellanalysen im CAnaCore werden standardmäßig unter S1 Bedingungen durchgeführt. S2-Arbeiten können nach Rücksprache mit der Administratorin/dem Administrator durchgeführt werden. Für die Anzeige/Genehmigung der Analyse gentechnisch modifizierter Zellen/Organismen ist die Nutzerin/der Nutzer bzw. die Projektleiterin/der Projektleiter verantwortlich. S3- und S4 Arbeiten werden grundsätzlich nicht durchgeführt. Proben, die Radioaktivität enthalten, können im CAnaCore grundsätzlich nicht bearbeitet werden.

Der FACSAria III kann mit Düsen verschiedener Durchmesser betrieben werden. Zur Auswahl stehen Düsen mit einem Durchmesser von 70 µm, 85 µm und 100 µm. Der Durchmesser der Düse richtet sich primär nach der Größe der zu sortierenden Zellen. Der Durchmesser der Düse sollte mindestens das 4- bis 5-Fache der Zellgröße betragen. Standardmäßig wird der FACSAria III mit der 70 µm Düse betrieben. Ist eine andere Größe erwünscht oder erforderlich, so ist dies auf dem Auftragsformular zu vermerken.

Der MoFlo Legacy kann wie der FACS Aria III mit Düsen verschiedener Durchmesser betrieben werden. Es sind Düsen mit einem Durchmesser von 70 µm, 100 µm und 200 µm vorhanden. Der Durchmesser der Düse sollte mindestens das 4- bis 5-Fache der Zellgröße betragen. Standardmäßig wird der MoFlo Legacy mit der 100 µm Düse betrieben. Ist eine andere Größe erwünscht oder erforderlich, so ist dies auf dem Auftragsformular zu vermerken.

Die FACS Aria III und MoFlo Legacy Sorter werden standardmäßig mit PBS/HEPES-Puffer betrieben, der den Nutzerinnen/den Nutzern vom CAnaCore Personal zur Verfügung gestellt wird. Wird für besonders empfindliche Zellen (z.B. Dendritische Zellen) ein anderes Hüllstrommedium benötigt werden, ist dies auf dem Auftragsformular zu vermerken. Hierfür stehen innerhalb des CAnaCore verschiedene Puffer/Mediensysteme zur Verfügung.

#### 1. Probenvorbereitung

Die zu sortierenden Zellen inklusive der erforderlichen Kontrollen (siehe Auftragsformular) müssen als Einzelzellsuspension in einem geeigneten Puffer (vorzugsweise PBS + 0,5 – 2,0 % BSA) bereitgestellt werden. Gegebenenfalls ist es sinnvoll, die zu sortierende Zellpopulation anzureichern (siehe 2.). Hierfür steht im CAnaCore ein AutoMACS Pro Zellseparator zur Verfügung. Die Konzentration der zu sortierenden Probe kann je nach Zelltyp zwischen  $1 \times 10^6$  bis  $1 \times 10^7$  Zellen/ml variieren. Alle Proben inkl. der Kontrollproben müssen vorab sterilfiltriert werden (40 µm Nylon-Filter, BD Falcon; 50 µm Nylon-Filter, Partec CellTrics). Wenn möglich, sollte die Färbung der Zellen vor der Sortierung an einem analytischen Durchflusszytometer überprüft werden. Zur Durchführung solcher Überprüfungen steht im CAnaCore ein LSR II zur Verfügung.

#### 2. Durchführung des Zell-Sorts

Die Zielpopulation/en ist/sind eindeutig zu definieren (siehe Auftragsformular). Wenn möglich, sind Angaben zur Gesamtzellzahl, zum Volumen, zum prozentualen Anteil der Zielzellen in der Probe und zu der benötigten Reinheit und Anzahl der Zielzellen nach dem Sort zu machen. Die benötigten Auffanggefäße mit geeignetem Medium/Puffer müssen von der Nutzerin/vom Nutzer bereitgestellt werden. Wenn die Zellen in „multi-well plates“ sortiert werden sollen, so ist dies auf dem Auftragsformular anzugeben, um die erforderliche Vorkehrungen am Sorter treffen zu können. Möglich sind Sorts in 6-, 24-, 48-, 96- und 384-well plates. Proben- und Sammelgefäße/multi-well plates können auf dem Aria III bei Bedarf temperiert werden (4°C, 20°C oder 37°C).

#### 3. Nachbereitung des Zell-Sorts

Auf Wunsch wird die Reinheit der sortierten Proben bestimmt und kann die Nutzerin/der Nutzer einen Ausdruck des Sort Layouts erhalten.

## § 6

### **Verstöße und Haftung der Nutzerin/ des Nutzers**

Nutzerinnen/Nutzer, die gegen die Benutzungsordnung oder die Hausordnung verstoßen, können zeitweise oder dauernd von der Nutzung ausgeschlossen werden.

Nutzerinnen/Nutzer haften für Schäden, die durch unsachgemäße oder fehlerhafte Bedienung auftreten.

## **§ 7**

### **Haftung der Universität**

Die Universität übernimmt keine Garantie dafür, dass das CAnaCore fehlerfrei und jederzeit ohne Unterbrechung läuft. Im Übrigen haftet die Hochschule nur bei Vorsatz und grober Fahrlässigkeit ihrer Mitarbeitenden/Mitarbeiter, es sei denn, dass eine schuldhafte Verletzung wesentlicher Kardinalpflichten vorliegt. In diesem Fall ist die Haftung der Hochschule auf typische, bei Begründung des Nutzungsverhältnisses vorhersehbare Schäden begrenzt, soweit nicht vorsätzliches oder grob fahrlässiges Handeln vorliegt.

## **§ 8**

### **Inkrafttreten**

Diese Ordnung tritt am 19. Dezember 2012 in Kraft.

Lübeck, den 19. Dezember 2012

Prof. Dr. Peter Dominiak  
Präsident der Universität zu Lübeck