

Nutzungsordnung FACS Core Facility am LIT (Leibniz-Institut für Immuntherapie)

Allgemeines

Die **FACS Core Facility** ist eine Einrichtung des Leibniz-Instituts für Immuntherapie (LIT) am Campus des Universitätsklinikums Regensburg. Leitung und technisches Personal der Einrichtung steht den Nutzern in beratender Funktion zur Seite und ist für den technischen Unterhalt der Geräte verantwortlich. Zellsortierungen werden ausschließlich als Operator-basierte Dienstleistung angeboten; die Nutzung der Analysegeräte erfolgt eigenverantwortlich durch die Nutzer (ein Nachweis adäquater Kenntnisse ist vorab erforderlich). Alle relevanten Informationen zur Nutzung der FACS Core Facility in deutscher und englischer Sprache finden sich auf der Homepage der Einrichtung:

<https://www.rcii.de/forschung/technologie-und-serviceplattformen/facs-analytics-and-cell-sorting/>

Leitung und Ansprechpartner

Im Rahmen der Aufgaben der Core Facility (CF) ist die Leitung gegenüber dem Personal und den Nutzern in allen Belangen der Versuchsdurchführung weisungsbefugt. Gleichermaßen ist das CF Personal gegenüber den Nutzern in allen Belangen der Versuchsdurchführung weisungsbefugt.

Leitung	Technisches Personal / Operator	
PD Dr. Petra Hoffmann Office: D5-3.290 Tel.: 0941/ 944-38492 petra.hoffmann@ukr.de	Irina Fink Tel.: 0941/ 944-18493 irina.fink@ukr.de	Jaqueline Dirmeier Tel.: 0941/ 944-18493 jaqueline.dirmeier@ukr.de

Zugangsregelung, Gerätenutzung, Terminvergabe, Buchungsregeln

Die FACS Core Facility am LIT kann generell von allen Arbeitsgruppen des LIT, der Universität und des Universitätsklinikums genutzt werden.

Die **Erstanmeldung für die Nutzung der Zellanalysegeräte** erfolgt über die Leitung der Einrichtung, bei Bedarf wird zu diesem Zeitpunkt auch eine ausführliche Beratung angeboten (z.B. Spezifika der Zellaufarbeitung für die Messungen, Auswahl von Fluorochromen und Aufbau von Färbepanels, Voraussetzungen für die automatisierte Messung von Proben mit dem Probenaufnahmesystem, Hilfestellung bei der Datenanalyse und Wahrung von guter wissenschaftlicher Praxis). Nutzer müssen vor einer erstmaligen Alleinnutzung adäquate Grundkenntnisse in der Gerätehandhabung nachweisen. Dieser Nachweis ist der Leitung der CF in schriftlicher Form vorzulegen. Entsprechende Formulare werden von der CF bereitgestellt. Alle weiteren Gerätereservierungen erfolgen über Intranet-Kalender auf einer 'first come – first serve' Basis. Der Zugang zu den Kalendern erfolgt erst nach Nachweis ausreichender Gerätekenntnisse.

Die **Erstanmeldung für Zellsortierungen** (Operator-basiert), inklusive Beratung, erfolgt über die Leitung der Einrichtung. Alle weiteren Termine werden direkt vom technischen Personal auf einer 'first come – first serve' Basis vergeben. Kann ein Termin aus versuchstechnischen Gründen

nicht wahrgenommen werden, so ist das technische Personal der FACS Core Facility unverzüglich davon zu unterrichten. Bei wiederholter kurzfristiger Absage ohne nachvollziehbare experimentelle Gründe behält sich die FACS Core Facility die Berechnung von Nutzungsgebühren in Höhe des angefallenen Zeitaufwands (für die ordnungsgemäße Vorbereitung des Geräts und einen etwaigen shut-down) vor.

Apparative Ausstattung

- Zellsortierung

Gerät	Anzahl Laser	Anzahl Fluoreszenzkanäle	Sortierung bis Gentechnik/Biohazard Level
BD FACS Aria Ilu	3	9 (+FSc/SSc)	S1 bzw. B2
BD FACS Aria Fusion (I)	5	18 (+FSc/SSc)	S2 bzw. B2
BD FACS Aria Fusion (II)	5	18 (+FSc/SSc)	S2 bzw. B2

Jeweils mit 4-Wege-Sortierung, Einzelzellablage und Index Sorting

- Zellanalyse

Gerät	Anzahl Laser	Anzahl Fluoreszenzkanäle	Probenmaterial bis Gentechnik/Biohazard Level
BD FACS Celesta™	3	12 (+FSc/SSc)	S2 bzw. B2
BD FACS Lyric™	3	11 (+FSc/SSc)	S2 bzw. B2
BD FACS Fortessa™ X-20	4	16 (+FSc/SSc)	S2 bzw. B2
BD FACSymphony™ A5	5	30 (+FSc/SSc)	S2 bzw. B2

Alle Geräte befinden sich im LIT (Bauteil D5) auf dem Campus des Universitätsklinikums Regensburg. Voraussetzung für den Zugang zu den Analysegeräten ist eine arbeitsplatzspezifische Sicherheitsunterweisung durch Mitarbeiter des LIT.

- Daten Analyse/ Auswerteprogramme

- BD FACSDiva™
- BD CellQuest Pro

Die FACS Core Facility empfiehlt FlowJo™ für die Datenauswertung.

Pflichten und Aufgaben der Nutzer

- Probenvorbereitung für Zellsortierungen

Für die **Vorbereitung von Zellsortierungsproben** sind folgende wichtige Punkte zu beachten:

- Ideale Zellkonzentration für die meisten Sortierungen: 20×10^6 Zellen/ml
- Minimales Probenvolumen: 0,5 ml
- Probenmaterial muss unter sterilen Bedingungen aufgearbeitet und gelagert werden
- Zellen müssen in sterilem PBS (nach Rücksprache evtl. mit Serum/Protein) aufgenommen und unmittelbar vor Sortierung gefiltert werden ($\leq 40\mu\text{m}$)
- Zellmaterial der Gentechniksicherheitsstufe 2 sowie der Biostoff-Risikogruppe 2 muss als solches vorab angemeldet werden.
- Nutzer müssen vor der ersten Durchführung einer gewünschten Zellsortierung ein Formblatt (siehe Link 'Questionnaire' auf der homepage der FACS Core Facility) mit Angaben zu Art, Herkunft und Färbung des Probenmaterials ausfüllen und von ihrem Vorgesetzten gegenzeichnen lassen.

- Nutzungsregeln für Analysegeräte

Um das **Arbeiten an den Analysegeräten** für alle Nutzer fair und effizient zu gestalten, ergeben sich folgende prinzipielle Regeln:

- Grundsätzlich gilt das 'first come – first serve' Prinzip. Es bleibt jedoch letztendlich im Ermessen der CF-Leitung, in Notfällen in Absprache mit allen Beteiligten terminliche Verschiebungen vorzunehmen.
- Bei der Anmeldung über den Intranet-Kalender sind vom Nutzer relevante Kontaktdaten einzugeben. Nachfolgende Nutzer sind über Verzögerungen oder Ausfälle in Kenntnis zu setzen.
- Änderungen und Eingriffe an Geräten und Software erfolgen ausschließlich durch die Mitarbeiter der CF oder nach Rücksprache mit und Genehmigung durch die CF-Leitung.
- Für jedes Gerät liegt ein Logbuch aus, in das jeder Nutzer die Nutzungszeit, Name, Arbeitsgruppe, Art des Probenmaterials und Bemerkungen (Fehlermeldungen, unsauberer Arbeitsplatz, Ausschalten bestimmter Laser etc.) einträgt und den Eintrag mit Kürzel bestätigt.
- An jedem Gerät befindet sich eine Kurzanweisung, in der die wichtigsten Punkte zur Bedienung aufgeführt sind, insbesondere solche, die bei Nichtbeachtung zur Systemschädigung führen bzw. die Lebensdauer wichtiger Elemente (Laser etc.) erniedrigen können. Diesen Anweisungen ist absolut Folge zu leisten!
- 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 vorschriftsmäßig heruntergefahren werden.

-
- Bei grob fahrlässigem Verhalten kann der Zugang zur FACS Core Facility gesperrt werden und der jeweilige Arbeitsgruppenleiter wird informiert.
 - Für Schäden, die durch grobe Fahrlässigkeit entstehen, haftet der Nutzer.

Nutzungsgebühren

Eine Nutzungsgebührenordnung wird derzeit erarbeitet. Die Höhe der Gebühren werden sich an den Empfehlungen der DFG orientieren.

Datenspeicherung

Bei **Zellanalysen** erfolgt die unmittelbare Speicherung der Daten über die FACSDiva™ Software der Firma Becton Dickinson in der dafür vorgesehenen Datenbank auf der lokalen Festplatte in der Steuerungseinheit (PC) des jeweiligen Analysegeräts. Die Daten werden nach jeder Messung von der Datenbank auf einen zentralen Sicherheitsserver („Network Attached Storage“-Server) übertragen, welcher die Daten für die Nutzer speichert. Dieser besitzt zwei Festplatten mit RAID-Funktion. Die primären Datenbanken bzw. die Zytometer-PCs und die Zytometer selbst werden nicht mit dem Internet verbunden. Die Daten können von Nutzern über das Intranet vom Sicherheitsserver jederzeit heruntergeladen werden. Die Daten in den FACSDiva™-Datenbanken werden nur maximal einen Monat gespeichert und dann entfernt, um die Stabilität der jeweiligen Datenbank zu garantieren. Die Daten auf dem zentralen Sicherheitsserver werden für maximal ein Jahr vorgehalten. Grundsätzlich liegt die Verantwortung für die langfristige Datensicherung bei den einzelnen Nutzern (siehe hierzu auch die Hinweise auf der Webpage der LIT FACS Core Facility).

Auch bei der **Zellsortierung** erfolgt die unmittelbare Speicherung der Daten über die FACSDiva™ Software der Firma Becton Dickinson in der dafür vorgesehenen Datenbank auf der lokalen Festplatte in der Steuerungseinheit (PC) des Geräts. Die Daten werden nach jeder Sortierung zusätzlich in sogenannten 'Experiment'-Ordnern aus der Datenbank auf die lokale Festplatte exportiert und von dort in regelmäßigen Abständen auf eine externe mobile Festplatte kopiert. Beide Medien (lokale und externe Festplatte) sind nur für das Bedienungspersonal der Zellsorter zugänglich und verbleiben in der LIT FACS Core Facility. Allen Nutzern werden ihre jeweiligen Datensätze auch direkt zur Verfügung gestellt und es wird empfohlen, diese zusätzlich auf einem anderen Medium zu sichern. Grundsätzlich liegt die Verantwortung für die langfristige Datensicherung bei den einzelnen Nutzern (siehe hierzu auch die Hinweise auf der Webpage der LIT FACS Core Facility).