

## **Zentrale Forschungseinrichtung Zellsortierung – OE9411**

### **Benutzerordnung**

#### **Leistungen**

Die zentrale Forschungseinrichtung Zellsortierung (OE9411, Sorterlabor) ist ein Servicelabor für alle Forschungsgruppen an der Medizinischen Hochschule Hannover. Sie folgt den Empfehlungen der European Science Foundation zum Betrieb von Gerätezentren „Basic Requirements for Research Infrastructures in Europe“.

Zu den Aufgaben zählen

- die durchflusszytometrische Sortierungen von Eukaryonten- und Prokaryontenzellen bis zur Risikogruppe 2 bzw. gentechnisch veränderte Organismen der Sicherheitsstufe S2.
- Unterstützung bei der Planung und Durchführung durchflusszytometrischer Experimente

#### **Technische Ausstattung**

Das Sorterlabor verfügt über drei Hochgeschwindigkeitszellsorter (2 x MoFlo XDP, Beckman-Coulter und FACSAria IIu, Becton-Dickinson). Die Sortiergeschwindigkeiten der Sorter sind vergleichbar und richten sich nach den Sortierbedingungen und -anforderungen. Beispielsweise ist eine Sortierung bei hoher Reinheit und guter Ausbeute bei der Verwendung von 70µm Düsen bis zu einer Rate von ca. 30.000 Zellen/sec möglich (das entspricht ca. 10<sup>8</sup> Zellen/h).

Alle Sorter bieten die Option der gleichzeitigen Sortierung von bis zu 4 verschiedenen Zellpopulationen sowie die Möglichkeit der Sortierung auf Zellkulturplatten (z.B. Klonierungen) oder auf Objektträger. Für die aktuellen Spezifikationen der Geräte s. [www.mh-hannover.de/sorter-lab.html](http://www.mh-hannover.de/sorter-lab.html). Sortierungen sind unter aseptischen Bedingungen möglich, allerdings empfehlen wir die Zugabe von Antibiotika bei der weiteren Kultivierung von sortierten Zellen.

#### **Buchung und Absage von Sortierterminen**

Sortiertermine werden Mo - Fr zwischen 8.00 (Anfangszeit) und 19.30 (Endzeit) vergeben. Außerhalb dieser Zeiten ist eine spezielle Vereinbarung notwendig.

Buchung und Absage von Sortierterminen muss per E-Mail Formular (runterzuladen unter [sorter-lab@mh-hannover.de](mailto:sorter-lab@mh-hannover.de)) erfolgen. Möglichst vollständiges Ausfüllen des Formulars ist Voraussetzung für eine reibungslose Buchung. Das Ausfüllen des Bereichs "Biologische Sicherheit" ist verpflichtend. Der Nutzer ist für die Richtigkeit der Angaben gegenüber dem Personal der Zentralen Forschungseinrichtung persönlich verantwortlich.

Die Termine sind frühzeitig zu buchen. Die Festlegung der voraussichtlichen Sortierzeit erfolgt durch den Nutzer oder durch Mitarbeiter des Sorterlabors nach den Angaben der Nutzer zu dem geplanten Experiment (Zellzahl, Zellart, benötigte Reinheit)

Sortierungen mit einem voraussichtlichen Ende nach 18.00 Uhr sind mindestens eine Woche im Voraus zu buchen.

Sortiertermine, die nicht wahrgenommen werden können, müssen so früh wie möglich abgesagt werden. Nicht rechtzeitig abgesagte Sortiertermine werden dem Nutzer in Rechnung gestellt. Dabei gilt:

- Sortierungen bis zu 2 h Dauer müssen spätestens Vortag abgesagt werden.
- Sortierungen von >2 h Dauer müssen 3 Tage im Voraus abgesagt werden.

- Sortierungen von >6 h Dauer müssen 1 Woche im Voraus abgesagt werden.

Es besteht die Möglichkeit einer unverbindlichen Reservierung. Diese muss bei einer weiteren Anfrage für den gleichen Termin entweder in eine verbindliche Reservierung umgewandelt oder abgesagt werden. Dazu ist es notwendig, dass eine Telefonnummer hinterlassen wird, unter der der Nutzer tagsüber zu erreichen ist.

### **Nutzergruppen und Gebühren**

Die Einrichtungen stehen folgenden Gruppen in abgestufter Priorität und zu unterschiedlichen Gebühren zur Verfügung:

- (1) Arbeitsgruppen der MHH und aus Forschungsverbänden (z.B. SFBs) mit Beteiligung der MHH
- (2) Nutzer aus anderen akademischen (non-profit) Organisationen
- (3) Nutzer aus kommerziellen Unternehmen

Für Nutzer der Gruppe 1 werden keine Gebühren für die wissenschaftliche Beratung und Hilfe bei der Durchführung von Sort-Experimenten erhoben. Die Entwicklung neuer Methoden kann in Kooperation mit der zentralen Einrichtung Zellsortierung erfolgen.

Gebühren werden für die reservierte Zeit bzw. für die tatsächliche Sortzeit (bei Überschreitung der reservierten Zeit) erhoben. Die Sortierzeit wird bei durch den Nutzer zu verantworteten Verspätungen ab dem vereinbarten Sortiertermin berechnet. Die Zeiten zum Umbau für außergewöhnliche Gerätekonfigurationen (z.B. Umstellung Laser auf UV o.ä.) werden ebenfalls dem Nutzer berechnet.

Die Gebühren richten sich nach der jeweils gültigen Gebührentabelle (s. Anlage 1)

Für Zellsortierungen der Sicherheitsstufe 2 wird der doppelte Stundensatz berechnet, da keine weitere Sortierung parallel stattfinden kann.

### **Materialvorbereitung**

Der Nutzer ist für die adäquate Vorbereitung (incl. Färbung) der zu sortierenden Zellen sowie für die entsprechenden Kontrollfärbungen verantwortlich. Die Mitarbeiter des Sortierlabors können jedoch bei der Planung von Experimenten behilflich sein.

Alle Zellen, die zur Aggregatbildung neigen, müssen vor der Sortierung durch ein Nygonsieb filtriert werden (40µm für Sortierung über 70µm Nozzle, 70µm für Sortierung über 100µm Nozzle). Für diese Zellen kann es vorteilhaft sein, sie in einem EDTA-haltigen Puffer aufzunehmen (z.B. PBS, Ca/Mg-frei, 0,5% BSA und 1-2mM EDTA). In der Regel ist es am besten, die Zellen bis zur Sortierung auf Eis stehen zu lassen.

Die Konzentration der Zellen für die Zellsortierung sollte in Abhängigkeit von Zellzahl, Zellgröße und der Tendenz der Zellen zu aggregieren zwischen 5 und 50 x 10<sup>6</sup> Zellen pro ml liegen. Das Ausgangsvolumen sollte allerdings 250 µl nicht unterschreiten.

Die Zellsuspension für die Sortierung kann in 1,5 ml Eppendorf-Cups, 5 ml (12x75 mm) Tubes, oder 15 ml Tubes vorliegen (für MoFlo zusätzlich 50 ml Tubes).

Für die sortierten Zellen sollten Auffangröhrchen mit einem geeigneten Medium vorbereitet werden. Da die Zellen durch den Sortiervorgang erheblich gestresst werden und das Medium durch die sortierten PBS-Tropfen verdünnt wird, sollte die Serum-/Proteinkonzentration bei empfindlichen Zellen höher als die bei der Kultur verwendete Standardkonzentration liegen (Verdünnung durch PBS beim Sortieren mit 70µm Nozzle ca. 1 nl pro sortierter Zelle, bei 100µm Nozzle ca. 3 nl pro sortierter Zelle). Als Auffanggefäße können 1,5 ml Eppendorf-Cups, 5ml (12x75 mm) Tubes und 15 ml Tubes (nicht für 4-Wege Sortierungen!), sowie Zellkulturplatten (6 - 384 Wells) dienen.

### **Biologische Sicherheit**

Bei der Sortierung von Zellen entstehen Aerosole. Zum Schutz der Mitarbeiter des Sorterlabors und anderer Nutzer ist es erforderlich, dass die Nutzer alle Informationen über potentielle Risiken durch die sortierten Zellen vor der Sortierung angeben, um eventuelle Schutzmaßnahmen bzw. eine anschließende Dekontamination durchzuführen.

Da viele der Nutzer des Sorterlabors mit Mäusen als Modellorganismen arbeiten, gelten diese Regelungen selbstverständlich auch für alle potentiellen Maus-Pathogene.

Daher müssen alle Nutzer vor Beginn der Zellsortierung einige Fragen zu dem zu sortierenden Material und dessen potentiellen Risiken beantworten und mit ihrer Unterschrift bestätigen (Fragebogen Biologische Sicherheit, s. Anlage 2).

### **Datenspeicherung**

Die List-Mode-Files von allen Zellsortierungen und der Reanalysen werden dauerhaft gespeichert. Die Nutzer können ihre Daten über einen Passwort-geschützten Zugang für eigene Auswertungen herunterladen.

### **Geistiges Eigentum und Publikation von Ergebnissen**

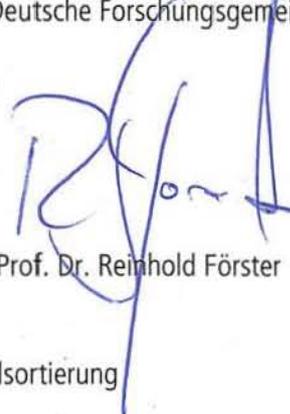
Die Nutzer sind die alleinigen Eigentümer (IP) der Messergebnisse. Nutzer aus dem akademischen Bereich können Informationen und geistiges Eigentum der ZF, das unter dem Begriff „foreground IP“ zusammengefasst werden kann, uneingeschränkt für Lehre und Forschung nutzen.

Die Beteiligung der Zentralen Einheit Zellsortierung an der Entstehung von Daten sollte bei deren Veröffentlichung berücksichtigt werden. Rechtfertigt der Umfang der Beteiligung eine Ko-Autorenschaft von Mitarbeitern des Sorterlabors (z.B. Entwicklung von Methoden, Umfangreiche Auswertungen, Beteiligung an der Versuchsplanung usw.) so sind diese bei der Erstellung des Manuskriptes zu beteiligen. Jede andere Form der Beteiligung ist im Acknowledgement zu erwähnen, z.B. "We would like to acknowledge the assistance of the Cell Sorting Core Facility at the Hannover Medical School supported in part by Braukmann-Wittenberg-Herz-Stiftung and Deutsche Forschungsgemeinschaft".

Hannover, 12. Juni 2013



Dr. Matthias Ballmaier



Prof. Dr. Reinhold Förster

Zentrale Forschungseinrichtung Zellsortierung  
OE9411

Anlage 1: Gebührenordnung Stand 1.1.2012

## Gebührenliste Sorterlabor

### Nutzergruppen

- (1) Arbeitsgruppen der MHH und aus Forschungsverbänden (z.B. SFBs) mit Beteiligung der MHH
- (2) Nutzer aus anderen akademischen (non-profit) Organisationen
- (3) Nutzer aus kommerziellen Unternehmen

### Gebühren

Gruppe 1	30,- € / h
Gruppe 2	80,- € / h
Gruppe 3 (Vollkostenrechnung)	180,- € / h

Für Zellsortierungen der Sicherheitsstufe 2 wird der doppelte Stundensatz berechnet, da keine weitere Sortierung parallel stattfinden kann.

### Verbrauchsmaterialien

Falcon Röhrchen mit 35µm Nylon-Sieb	1,- € / Stück
(Falcon 5ml Cell Strainer Cap # 352235)	20,- € / 25 Stück
Falcon Zellsiebe für 50ml Tubes (40µm #352340 oder 70 µm 352350)	2,- € / Stück

Anlage 2: Online-Buchungsformular mit Fragebogen zur biologischen Sicherheit

s. nächste Seiten



