

Nutzerordnung

Core Facility für Massenspektrometrie und Proteomics (CFMP)

des Zentrums für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg (ZMBH)

In Kraft getreten am 30.01.2017

§1 Definition und Zielsetzung

1. Die Core Facility für Massenspektrometrie und Proteomics (CFMP) ist eine Infrastruktureinrichtung des Zentrums für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg (ZMBH). Diese zentrale Serviceeinrichtung unterstützt die Forschungseinrichtungen am Campus Heidelberg mit Hochleistungs-Massenspektrometrie für Proteinanalytik und Proteomics.
2. Die Nutzerordnung des CFMP regelt die Organisation von Service und Methodenentwicklung in der CFMP. Diese Nutzerordnung ist für alle Nutzer verbindlich.
3. Die Nutzerordnung entspricht den Anforderungen der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) an den Betrieb wissenschaftlicher Serviceeinrichtungen.
4. Alle Amts-, Status-, Funktions- und Berufsbezeichnungen, die in dieser Nutzerordnung in männlicher Form erscheinen, betreffen gleichermaßen Frauen und Männer und können auch in der entsprechenden weiblichen Sprachform verwendet werden.

§2 Aufgaben Zentrale Serviceeinrichtung

1. Die Dienstleistungen der CFMP beinhalten die Beratung bei wissenschaftlichen Projekten, die Probenvorbereitung und die Durchführung Massenspektrometrie-basierender Proteinanalytik sowie die Primärauswertung experimenteller Daten.
2. Alle angebotenen Leistungen der CFMP werden durch erfahrene Mitarbeiter der zentralen Serviceeinrichtung durchgeführt (Komplettservice). Das Angebot ist im jeweils gültigen Leistungs- und Gebührenkatalog dokumentiert.

§3 Organisation

1. Die CFMP wird durch einen verantwortlichen Leiter betrieben.
2. Er ist der MS-Kommission sowie dem Direktorium des ZMBH zur Rechenschaft verpflichtet.
3. Die Forschungsgruppenleiter (FGL) des ZMBH bestimmen einen wissenschaftlichen Koordinator und beschließen die Nutzerordnung der CFMP.
4. Die Arbeit der CFMP wird durch die MS-Kommission (§4) des ZMBH unter Leitung des wissenschaftlichen Koordinators (§5) begleitet.
5. Die Namen des Leiters sowie des wissenschaftlichen Koordinators werden im Internet veröffentlicht (http://www.zmbh.uni-heidelberg.de/Central_Services/Mass_Spectrometry/aboutus.html)

§4 ZMBH MS-Kommission

Die ZMBH MS-Kommission begleitet die Aktivitäten der CFMP mit dem Ziel der optimalen Integration der zentralen Serviceeinrichtung in die Forschungsumgebung am Campus Heidelberg. Leiter der MS-Kommission ist der wissenschaftliche Koordinator.

Der MS Kommission gehören an:

- a) Der Direktor des ZMBH bzw. dessen Vertreter
- b) zwei Vertreter der Anwender
- c) Der wissenschaftliche Koordinator
- d) Der Leiter der CFMP

Die MS-Kommission tritt in regelmäßigen Abständen zusammen, um Belange der CFMP zu besprechen und den Rechenschaftsbericht des Leiters entgegenzunehmen. Dies kann auch im Umlauf erfolgen.

Die MS-Kommission regelt ihre Verfahrensweisen selbst.

Der Namen der Mitglieder der MS-Kommission werden im Internet veröffentlicht (http://www.zmbh.uni-heidelberg.de/Central_Services/Mass_Spectrometry/aboutus.html)

§5 Wissenschaftliche Koordination

Zu den Aufgaben des wissenschaftlichen Koordinators gehören:

- a) Die Vertretung der Belange des ZMBH sowie der Nutzer der CFMP gegenüber dem Leiter der CFMP.

Stand: Januar 2017

- b) Die Funktion als kompetenter und zugänglicher Ansprechpartner für den Leiter in allen Belangen, welche die optimale Einbindung des CFMP in die Forschungsumgebung des Campus Heidelberg, erfordern.
- c) die Einladung zu turnusmäßigen Treffen der MS-Kommission bzw. außerordentlichen Treffen im Falle eines akuten Regelungsbedarfes
- d) die Priorisierung der Probenbearbeitung bei einem ungewöhnlich hohen Probenaufkommen bzw. in Fällen erhöhter Dringlichkeit.

§6 Serviceleistungen

1. Das Angebot der zentralen Serviceeinrichtung wird fortlaufend aktualisiert und an die Erfordernisse der Nutzer angepasst. Das Kernangebot ist im jeweils geltenden Leistungs- und Gebührenkatalog beschrieben. Es umfasst folgende Leistungen:
 - a) Beratungsleistungen im Rahmen festgelegter Sprechstunden oder nach Vereinbarung
 - b) Planung, Probenvorbereitung, Durchführung und Primärauswertung von Massenspektrometrie-basierten Peptid- und Proteinanalysen
2. Die zentrale Serviceeinrichtung empfiehlt ihren Nutzern grundsätzlich eine möglichst frühzeitige Kontaktaufnahme, um Fehler bei der Versuchsplanung und der Probenvorbereitung zu vermeiden. Der Bearbeitung von Serviceanfragen bzw. Projekten geht eine detaillierte Diskussion voraus, bei der gemeinsam mit dem Nutzer ein geeigneter analytischer Ansatz festgelegt wird und dem Nutzer die voraussichtlichen Kosten der Messungen gemäß des jeweils geltenden Leistungs- und Gebührenkatalogs aufgeschlüsselt werden. Die Nutzer verpflichten sich vor dem Beginn der Messungen zur Übernahme der entstehenden Kosten.
3. Die zeitliche Koordination von Serviceleistungen und Projekten erfolgt durch den Leiter der Serviceeinrichtung oder dessen Vertreter. Nutzeranfragen werden prinzipiell nach der Reihenfolge des Eingangs der Proben bearbeitet. In sachlich begründeten Ausnahmefällen (u.a. zur Optimierung der Gerätenutzung oder zur Gewährleistung der Reproduzierbarkeit serieller Messungen) kann das Personal der zentralen Serviceeinrichtung jedoch eine abweichende Reihenfolge der Bearbeitung festlegen. Im Zweifelsfall entscheidet der wissenschaftliche Koordinator.
4. Der Leiter der zentralen Serviceeinrichtung bzw. dessen Vertreter behält sich in sachlich begründeten Fällen vor, Anfragen zur Erbringung von Leistungen abzulehnen. Im Fall einer Ablehnung erfolgt eine konstruktive Rückmeldung an die Anfragesteller. Eine solche Ablehnung muss dem wissenschaftlichen Koordinator angezeigt werden.

§7 Probenabgabe

1. Alle Proben müssen von den Mitgliedern der CFMP elektronisch registriert werden und erhalten dann eine eindeutige und fortlaufende Identifikationsnummer.
2. Proben können entweder per Post oder persönlich zwischen 10 und 17 Uhr in die CFMP des ZMBH, INF 282, Raum 401 gebracht werden. Toxische oder humanpathogene sowie radioaktive Proben können nicht bearbeitet werden.
3. Die Proben, insofern sie nicht im Rahmen der Messung verbraucht werden, verbleiben Eigentum und in Verantwortung der Nutzer. Die Serviceeinheit verfügt jedoch nur über begrenzte Möglichkeiten zur gekühlten Lagerung von Proben. Eine mittel- oder langfristige Lagerung von Probensätzen ist daher nicht möglich. Für die Integrität von Proben über den unmittelbaren Zeitraum der Leistungserbringung hinaus (1 Monat) kann daher keine Gewährleistung übernommen werden.

§8 Kosten

Eine Serviceleistung umfasst die routinemäßige Bearbeitung von Proben einschließlich der im Leistungskatalog spezifizierten Probenvorbereitungsschritte und einer primären Datenauswertung. Die von der FGL-Versammlung festgelegten Kostenbeiträge sind dem Leistungs- und Gebührenkatalog zu entnehmen. Die Gruppen, die einen signifikanten Beitrag zur Ausstattung der CFMP geleistet haben, erhalten einen Rabatt von 20% (in Klammern gesetzte Preise). Die Einstufung der Gruppen beschließt die ZMBH MS- Kommission. Kollaborationen (ohne den festgelegten Kostenbeitrag) sind vor Beginn der Arbeiten zu vereinbaren. Sie beschränken sich auf Projekte, die der Methodenentwicklung dienen und werden in der Regel über gemeinsame Drittmittel finanziert. Serviceaufträge haben den Vorrang vor Kollaborationen. Der intellektuelle Beitrag eines oder mehrerer Mitarbeiter des CFMP gehen über die technische Erbringen einer Service-Leistung hinaus und werden daher durch eine Ko-Autorenschaft gewürdigt.

§9 Sicherung der Daten

1. Die Analyseergebnisse werden den jeweiligen Mitgliedern der Forschungsgruppen in geeigneter Form (z.B.: E-Mail, Cloud) zur Verfügung gestellt.
2. Alle im Routinebetrieb erhaltenen Messdaten (Spektren und Datenbanksuchen) werden auf einem Server abgelegt. Auf Anfrage werden sie den jeweiligen Mitgliedern der Forschungsgruppen in geeigneter Form zur Verfügung gestellt.
3. Die Archivierung der erhaltenen Daten wird in Zusammenarbeit mit dem Universitätsrechenzentrum durchgeführt. Die Daten werden für mindestens 10 Jahre aufbewahrt.

§10 Veröffentlichung von Daten

1. „Acknowledgement“: Grundsätzlich sind in wissenschaftlichen Arbeiten Fremdleistungen, wie sie z.B. durch die Dienstleistungen einer Serviceeinrichtung entstehen, an den entsprechenden Stellen kenntlich zu machen. Ein Kostenausgleich für erbrachte Leistungen ersetzt eine entsprechende Kennzeichnung in wissenschaftlichen Arbeiten nicht. Konkret heißt dies, dass bei wissenschaftlichen Publikationen alle Arbeiten, welche in einer Serviceeinrichtung entstanden sind, eindeutig kenntlich gemacht werden und im „Acknowledgement“ angezeigt werden müssen.
2. Ko-Autorenschaft: Falls zum Design der Experimente, zur Erzeugung oder zur Auswertung der Daten die Entwicklung neuer analytischer Methoden oder eine andere signifikante geistige Eigenleistung von Mitarbeitern der Serviceeinrichtung erforderlich ist, verpflichten sich die Nutzer, die beteiligten Mitarbeiter im Sinne guter wissenschaftlicher Praxis bei einer Publikation oder Patentierung der Ergebnisse als Ko-Autoren zu beteiligen, und zwar unabhängig davon, dass die technische Leistung bezahlt wurde. Soweit wie möglich ist die Frage einer geistigen Eigenleistung bzw. einer Ko-Autorenschaft vor Erbringung der Leistungen einvernehmlich zu klären.

**Leistungs- und Gebührenkatalog
Core Facility für Massenspektrometrie und Proteomics (CFMP)
des Zentrums für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg (ZMBH)**

In Kraft getreten am 30.01.2017

Alle unten aufgeführten Preise sind in Euro (€). Die in Klammern dargestellten rabattierten Preise gelten nur für „Gruppen, die einen signifikanten Beitrag zur Ausstattung der CFMP geleistet haben“ – siehe Nutzerordnung §8.

a) Pre-Cast Gel & Run (SDS-PAGE)		25.00	(20.00)
b) MALDI-TOF Analysen ohne Trypsin-Verdau und Datenbanksuche, z.B. zur Reinheitskontrolle von synthetischen Peptiden		25.00	(20.00)
c) Nutzung MALDI-TOF Massenspektrometer pro Stunde		25.00	(20.00)
d) Genaue Massenbestimmung von intakten, gereinigten Proteinen mit LC-MS (2 h Instrumentenzeit)		62.50	(50.00)
e) Reinheitskontrolle von synthetisierten Peptiden (2 h Instrumentenzeit) mit LC-MS		62.50	(50.00)
f) In-Lösung Proteinverdau + Peptidaufreinigung		62.50	(50.00)
g) In-Gel Verdau: Kosten in Instrumentenzeit enthalten		---	
h) Stabile Isotopenmarkierung mit reduktiver Dimethylierung		62.50	(50.00)
i) LC-MS/MS Analyse: Basierend auf gesamter benötigter Instrumentenzeit (Zahl in Klammern) beinhaltet: Laden der Probe auf die Säule; chromatographische Trennung der Peptide und MS/MS Analytik; Äquilibrieren des HPLC-Systems für die nächste Analyse) und der durch die DFG erstattungsfähige Pauschale (25.- Euro / Stunde Instrumentenzeit) ergeben sich folgende Preise:			
ProteinID:	Identifizierung eines gereinigten Proteins aus einer Coomassie-angefärbten Gelbande; effektive Trennzeit: 25 Minuten (125 min)	65.00	(52.-)
LCMS_60:	Probe geringer Komplexität; effektive Trennzeit: 60 Minuten (165 min)	86.25	(69.-)
LCMS_120:	Probe mittlerer Komplexität; effektive Trennzeit: 120 Minuten (225 min)	117.50	(94.-)
LCMS_180:	Probe hoher Komplexität; effektive Trennzeit: 180 Minuten (285 min)	148.75	(119.-)
LCMS_240:	Probe sehr hoher Komplexität; effektive Trennzeit: 240 Minuten (345 min)	180.00	(144.-)
LCMS_360:	Probe extrem hoher Komplexität; effektive Trennzeit: 360 Minuten (465 min)	242.50	(194.-)

Spezifizierung der Leistungen:

zu a) Pre-Cast Gel & Run (SDS-PAGE):
Abgegeben wird eine Proteinlösung in SDS-Ladepuffer:
Die Leistung beinhaltet die Durchführung der Elektrophorese mit einem kommerziellen Mini-Gel. Die Länge der Trennung erfolgt nach Absprache. Die Färbung erfolgt mit einer kommerziellen kolloidalen Coomassie-Färbelösung (3 Stunden) und Entfärbung mit Wasser (über Nacht).

zu b) und c) MALDI-TOF Analytik:
Die Probe wird in einem geeigneten Lösungsmittel aufgenommen und mit der MALDI-Matrix, in der Regel mit HCCA, auf das Target pipettiert. Das Spektrum wird aufgenommen und dem Nutzer in elektronischer Form zugeschickt. Proteinidentifizierung mit Peptidmassen-Fingerprint wird nicht mehr unterstützt. Im Falle eines Peptidmassen-Fingerprints zur Proteinidentifizierung kann der Nutzer selbstständig in der Core Facility eine Datenbanksuche mit Mascot durchführen. Es besteht die Möglichkeit, dass ein Nutzer nach entsprechendem Training Analysen selbstständig durchführt.

zu d) und e) Massenbestimmung/Reinheitskontrolle

Proteine (Reinheit mindestens 80%) und Peptide werden in lyophilisierter Form zur Analyse abgegeben. Ein geeignetes Lösungsmittel wird vom Nutzer angegeben. Die Probe wird mit LC-MS analysiert. Der Nutzer erhält das Chromatogramm und die relevanten Massenspektren in geeigneter Form.

zu f) In-Lösung Verdau:

Die Probe liegt lyophilisiert vor. Ein erster Verdau erfolgt mit Lys-C in Gegenwart von 8 M Urea, gefolgt von einem Trypsinverdau nach Verdünnung auf 2 M Urea. Peptide werden über Festphasenextraktion angereichert und für die nanoHPLC-MS Analytik in entsprechender Lösung aufgenommen. Die zusätzliche Gebühr wird erhoben wegen der hohen Mengen an eingesetztem Trypsin im Vergleich zu In-Gel Verdau.

zu g) In-Gel Verdau:

Abgegeben wird ein Polyacrylamid-Gel nach Coomassie-Färbung (nach Absprache auch Silberfärbung). Die Service-Leistung beinhaltet Ausschneiden der Banden/Spots aus dem Gel, Reduktion und Alkylierung der Cysteine und anschließender Trypsinverdau.

zu h) stabile Isotopenmarkierung (Dimethylierung):

Die Peptidlösung nach Trypsinverdau wird mit den entsprechenden Reagenzien behandelt. Nach Abtrennung der überschüssigen Reagenzien erfolgt die Standard LC-MS Analyse wie unter i) beschrieben

zu i) LC-MS/MS Analyse:

Die Peptidprobe wird mit dem Ziel bestmöglicher Performance direkt auf die Trennsäule geladen und abhängig von der Komplexität der Probe mit einem entsprechend langem Acetonitril-Gradienten eluiert. Die Analyse erfolgt mit einem Massenspektrometer der höchsten Leistungsklasse. Zur Verfügung stehen folgende Systeme:

- nanoAcquity ESI LTQ Orbitrap XL
- Ultimate RCLC 3000 ESI LTQ Orbitrap Elite mit ETD
- Ultimate RCLC 3000 ESI QExactive HF
- nanoAcquity ESI QTrap5500

Eine erste automatisierte Datenauswertung erfolgt mit geeigneter Software (Mascot, MaxQuant, Proteome Discoverer). Die Ergebnisse der Datenbanksuche werden je nach verwendeter Software in nutzerfreundlicher Form zur Verfügung gestellt.

Die Datendateien werden in zwei unabhängigen Ordnern mindestens 10 Jahre am Rechenzentrum der Universität Heidelberg gespeichert.