

# **Nutzerordnung für die „Mass Spectrometry-based Proteomics Unit Biology of Plants“ (MSPUB) am Institut für Biologie und Biotechnologie der Pflanzen**

Beschlossen am: 15.08.2015; In Kraft getreten: 01.04.2016; Aktualisiert: 13.06.2023

Die MSPUB ist eine wissenschaftliche Einheit, unter der gemeinsamen Leitung von Prof. Dr. Iris Finkemeier und Prof. Dr. Michael Hippler, welche spezialisierte Methoden der Protein- und Proteomanalytik anwendet, sowie neue Methoden der Protein- und Proteomanalytik etabliert und entwickelt und diese Methoden Arbeitsgruppen des IBBPs, des Fachbereichs Biologie, sowie anderer interessierter Arbeitsgruppen der Universität zugänglich macht.

Neben den spezialisierten Forschungsschwerpunkten beider Arbeitsgruppen, welche die Hauptnutzung der Massenspektrometer ausmachen, bietet die MSPUB anderen Arbeitsgruppen am IBBP bzw. im Fachbereich Biologie, sowie in der Universität massenspektrometrische Analysen in spezifischen Kooperationsprojekten oder in Serviceleistungen, hier begrenzt im Rahmen der Kapazität, an. Kooperationen in Form von Drittmittel-finanzierten Projekten wird die höchste Priorität eingeräumt. Als Kooperationsprojekte bieten wir die Massenspektrometrie- basierte Proteomanalysen an, welche die jeweiligen Spezialgebiete der AG Finkemeier und AG Hippler betreffen, und zur Beantwortung biologischer Fragen dienen. Serviceanalysen sind definiert als Proteinidentifizierungen und Quantifizierungen von hauptsächlich gereinigten Proteinproben (Kostenschema, siehe unten).

## **§1 Ordnung**

§1.1 Die Nutzerordnung regelt:

- (1) die Organisation der Arbeitsabläufe zur Nutzung der Proteomanalytik der MSPUB
- (2) die Beziehungen zu Anwendern und Kollaborationspartnern.

§1.2 Die Nutzerordnung ist für alle Nutzer verbindlich.

## **§2 Organisation der MSPUB**

§2.1 Verantwortliche Personen und Mitarbeiter der MSPUB sind:

- (1) Leiter MSPUB: Prof. Dr. Iris Finkemeier, Prof. Dr. Michael Hippler
- (2) Wissenschaftliche Mitarbeiter: Dr. Jürgen Eirich (AG Finkemeier), Dr. Martin Scholz (AG Hippler)
- (3) Technische Assistentinnen: Paulina Heinkow (AG Finkemeier), Dipl. Ing. Susan Hawat (AG Hippler)

§2.2 Die Massenspektrometer der MSPUB werden ausschließlich von verantwortlichen Personen der AG Finkemeier und AG Hippler betrieben und können unter Aufsicht und Anweisung von anderen Mitgliedern der AG des IBBP benutzt werden.

§2.3 Geräteverantwortlich für das QExactive Plus Massenspektrometer im Schlossplatz 8 sind Prof. Michael Hippler, Dr. Martin Scholz assistiert von Dipl. Ing. Susan Hawat. Geräteverantwortlich für das Orbitrap Eclipse Tribrid Massenspektrometer, sowie das Orbitrap Exploris 480 Massenspektrometer im Schlossplatz 7 sind Prof. Dr. Iris Finkemeier, Dr. Jürgen Eirich assistiert von Paulina Heinkow.

§2.4 Die MSPUB steht folgenden Gruppen (in abgestufter Priorität und zu unterschiedlichen Gebühren) für die massenspektrometrische Analyse von Peptiden und Proteinen zur Verfügung:

- (1) Arbeitsgruppen des IBBP und Partnern aus Forschungsverbänden (z.B. SFBs, FOR)
- (2) Arbeitsgruppen des Fachbereichs Biologie
- (3) Arbeitsgruppen der WWU
- (4) Nutzer aus anderen akademischen (non-profit) Organisationen
- (5) Nutzer aus kommerziellen Unternehmen

### **§3 Regeln und Aufgaben der Mitarbeiter der MSPUB**

§3.1 Zu den Aufgaben der Leiter der MSPUB zählen:

- (1) Die Einteilung und Anleitung der an der MSPUB beschäftigten Mitarbeiter.
- (2) Die zweckdienliche Verwendung der MSPUB zugewiesenen Ressourcen.
- (3) Die Organisation interner Arbeitsabläufe im Hinblick auf Effizienz und gleichbleibend hoher Qualität der Ergebnisse, sowie reibungslose Interaktion mit den Nutzern.
- (4) Die Wartung, Instandhaltung und Optimierung der vorhandenen Geräte.
- (5) Die Betreuung und Anleitung von Anwendern und Kollaborationspartnern, die zeitlich befristet ein Projekt in der MSPUB bearbeiten.
- (6) Die Weiterbildung und Organisation der Teilnahme von Mitarbeitern an Fortbildungsmaßnahmen mit dem Ziel, die methodisch-technischen Möglichkeiten der MSPUB an die allgemeinen Entwicklungen anzupassen.
- (7) Die Pflege der MSPUB Homepage sowie der bioinformatischen Plattformen (MaxQuant und Datenserver).
- (8) die Einladung der Mitarbeiter der MSPUB zu turnusmäßigen wissenschaftlichen Treffen und Seminaren und Einladung wissenschaftlicher Gäste aus dem Bereich der Proteomik zu den Institutsseminaren.
- (9) die Priorisierung der Probenbearbeitung bei einem ungewöhnlich hohen Probenaufkommen bzw. in Fällen erhöhter Dringlichkeit.

§3.2 Die Leiter des MSPUB entscheiden nach detaillierter Vorstellung der zu bearbeitenden wissenschaftlichen Projekte, welches der Massenspektrometer für das beabsichtigte Projekt voraussichtlich zu belegen ist, welcher zeitliche Aufwand in etwa zu erwarten ist und welche zusätzlichen

Geräte noch benötigt werden. Kooperationsprojekte werden je nach Spezialgebiet zwischen den AGs Finkemeier und AG Hippler aufgeteilt.

§3.3 Alle Proben werden nach den aktuellen Protokollen der MSPUB zur Probenvorbereitung vorbereitet. Die Protokolle werden laufend aktualisiert und bei Bedarf an die Erfordernisse der Nutzer angepasst.

§3.4 Der Datentransfer der Rohdaten auf den Server der MSPUB erfolgt automatisch mit Hilfe der SyncToy-Software.

§3.5 Um eine hohe Qualität und zuverlässige Analysen zu garantieren, werden zwischen den Proben Qualitätsstandards analysiert (250 ng Arabidopsis bzw. 500 ng Chlamydomonas Gesamtproteom und 200 ng HeLa). Die Auswertung der Qualitätskontrollen erfolgt mittels MaxQuant und PTXQC.

§3.7 Die Massenspektrometer werden einmal wöchentlich von den technischen Assistenten und wissenschaftlichen Mitarbeitern kalibriert. Dabei wird die Ion-Transfer Kapillare gereinigt und die nano-LC auf Lecks überprüft, sowie die Laufmittel der nano-LC ausgetauscht. C18-Säulen werden je nach Bedarf in verschiedenen Längen und Säulenmaterial gepackt/erworben und bei Bedarf und Qualitätsverlust (> 5% Abweichung von Standardprobe) ausgetauscht. Auch die FAIMS (Hochfeld-Ionenmobilitätsspektrometrie), genutzt an der Orbitrap Eclipse, wird wöchentlich gereinigt.

§3.8 Eine Reinigung der S-Lens (QE) bzw. des Ion Funnel (OE480), sowie des Quadrupols erfolgt je nach Sensitivitätsverlust, aber mindestens alle sechs Monate. Ein Ölwechsel der Vorpumpen erfolgt einmal jährlich.

§3.9 Für die bioinformatische Datenanalyse zur Identifizierung und Proteomquantifizierung stehen folgende Softwarepakete auf den Servern der MSPUB zur Verfügung und werden je nach Fragestellung für die Auswertung benutzt:

- (1) MaxQuant (& Perseus)
- (2) Skyline
- (3) ProSight
- (4) Merox/pLink/XiSearch/Kojak
- (5) DeNovoGUI
- (6) Metamorpheus
- (7) Fragpipe
- (8) Proteome Discoverer

§3.10 Die Nutzungsdauer der Geräte durch die einzelnen Projekte wird von den technischen Assistenten erfasst und dient als Berechnungsgrundlage für das Nutzungsentgelt. Projektproben werden grundsätzlich in der Reihenfolge ihres Eingangs bearbeitet. In sachlich begründeten Fällen (u.a. zur Optimierung der Gerätenutzung oder zur Gewährleistung der Reproduzierbarkeit serieller Messungen) können die technischen Assistenten jedoch eine abweichende Reihenfolge der Bearbeitung festlegen. Die MSPUB behält sich vor, aus technischen oder organisatorischen Gründen, einzelne vorgemerkte Termine nach Rücksprache mit dem Nutzer zu verschieben oder abzusagen.

## **§4 Probenanahme und Massenspektrometrische Analyse**

§4.1 Bei Service- wie auch Kooperationsprojekten bieten die wissenschaftlichen Mitarbeiter und/ oder Leiter der MSPUB ausführliche Beratung bezüglich der Versuchsplanung, wichtiger Kontrollen und zur Probenvorbereitung an, sowie die quantitative Auswertung und Interpretation der massenspektrometrischen Daten. Die MSPUB empfiehlt ihren Nutzern grundsätzlich eine möglichst frühzeitige Kontaktaufnahme, um Fehler bei der Versuchsplanung und der Probenvorbereitung zu vermeiden sowie um eine möglichst zeitnahe Bearbeitung der Anfragen zu ermöglichen.

§4.2 Nutzer müssen vor Abgabe ihrer Proben einen Probenfragebogen (Datei: Sample submission sheet, s. Anhang) ausfüllen, welcher die allgemeinen Personen- und Projektbezogenen Daten erfragt. Diese Daten können per EDV weiterverarbeitet werden; die Vertraulichkeit der Daten ist gewährleistet. Weiterhin erklären der Versuchsdurchführende und der übergeordnete Projektleiter mit Zusendung des ausgefüllten Fragebogens, dass die Proben chemisch und biologisch unbedenklich sind und die Sicherheit und Gesundheit der Mitarbeiter der MSPUB nicht gefährden. Ohne das korrekte Ausfüllen des Fragebogens ist keine Messung an den Geräten der MSPUB möglich. Der Fragebogen kann online heruntergeladen werden.

§4.3 Proben für die massenspektrometrische Analyse werden von den Ko-Antragstellern und Kooperationspartnern nach genauer Anweisung vorbereitet und können nach Terminvereinbarung abgegeben werden. Proben können entweder per Post oder persönlich zwischen 10 und 14 Uhr in der MSPUB (R16, Schlossplatz 7, 48149 Münster bzw. Raum 158b, Schlossplatz 8, 48149 Münster) gebracht werden. Die Proben erhalten dann eine eindeutige und fortlaufende Identifikationsnummer (ID). In kleineren Umfang und bei freien Kapazitäten bietet das MSPUB dem Fachbereich Biologie die Möglichkeit einfache Serviceanalysen zur Proteinidentifikation durchführen zu lassen.

§4.4 Die MSPUB übernimmt keine Haftung für die abgebenden Proben. Toxische, pathogene sowie radioaktive Proben können nicht bearbeitet werden.

§4.5 Als Service-Dienstleistungen in geringem Umfang und mit geringer Priorität bietet die MSPUB an:

- a) Trypsin-Verdau und LC-MS/MS Analyse von gereinigten Proteinproben mit Datenbanksuche zur Proteinidentifikation,
- b) Genaue Massenbestimmung von intakten, gereinigten Proteinen
- c) Reinheitskontrolle von synthetisierten Peptiden

§4.6 Auf Kollaborationsbasis werden folgende massenspektrometrischen Analysen und Datenanalysen durchgeführt:

- a) Affinitätsreinigungen, Auftrennung und Identifizierung von komplexen Peptidgemischen mittels LC-MS/MS
- b) De-novo Sequenzierung von Proteinen
- c) Analyse von post-translationalen Modifikationen
- d) Quantitative Datenanalyse und grafische Darstellung der Daten

## §5 Datensicherung

Alle Rohdaten und ausgewerteten Daten der MSPUB Forschungs- und Kooperationsprojekte werden zentral auf einem speziellen Laufwerk des Servers des Fachbereichs Biologie der WWU gespeichert und täglich gesichert. Hierdurch fallen für den Nutzer zusätzliche Gebühren an. Die Rohdaten werden für 10 Jahre gespeichert und können bei Bedarf von den Kooperationspartnern eingesehen und kopiert werden.

## §6 Kosten

Das MSPUB ist bestrebt, die Betriebskosten (Wartung, Reparaturen, Verbrauchsmittel) aus Drittmitteln sowie Einnahmen aus Serviceleistungen zu bestreiten. Die im Betrieb anfallenden Kosten werden auf die wissenschaftlichen Gruppen umgelegt. Im Fall von Drittmittel geförderten gemeinsamen Projekten, in denen pauschale Mittel für die Arbeiten der MSPUB vorgesehen sind, werden Einzelleistungen nicht in Rechnung gestellt.

Die aktuell gültigen Preise werden in der aktuellen Nutzungsordnung veröffentlicht. Der Gesamtpreis für die Analysen setzt sich aus einer messzeitabhängigen Pauschale und ggf. den Kosten für die Probenvorbereitung zusammen.

Die Messdauer setzt sich wie folgt zusammen: Laden eines Qualitätsstandards (mindestens einmal täglich), Laden der Probe, chromatographische Auftrennung der Peptide mit zeitgleicher MS/MS-Messung, Reäquilibration der HPLC-Säule zur Vorbereitung der nächsten Messung.

**Die Preise ergeben sich aus den DFG-Richtlinien mit 25€ pro Gerätestunde für Standardanalysen.** Im Stundensatz inbegriffen sind neben der Messung der Verdau der Proteine mit Trypsin, das Entsalzen der Peptidproben und das Erstellen eines einfachen Ergebnisberichts, der identifizierte Proteine und Proteinintensitäten enthält. **Für Analysen, die eine umfangreiche Datenauswertung erfordern, werden je nach Aufwand zusätzlich 25 bis 50€ pro Gerätestunde angesetzt. Die Kosten für eine aufwändigere Probenvorbereitung (z.B. Verwendung alternativer Proteasen, TMT-Labeling, Peptidfraktionierung, Crosslinking etc.) hängen von der Anzahl und der Art der Proben ab.** Auf Anfrage wird ein Kostenvoranschlag erstellt. Darin werden auch die Verbrauchsmaterialien veranschlagt, die nach Aufwand berechnet werden.

## §7 Veröffentlichung von Daten

Die Publikation von Messdaten, die im Rahmen einer Kollaboration oder eines Gemeinschaftsprojekts erhalten wurden, ist mit der Leitung des MSPUBs abzusprechen und der wissenschaftliche Beitrag des MSPUBs angemessen anzuerkennen. Generell behält sich die MSPUB auf alle in der MSPUB generierten Daten das Urheberrecht vor. Die Beteiligung der MSPUB an der Entstehung von Daten muss in jedem Fall entsprechend den Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis (siehe DFG-Richtlinie) bei deren Veröffentlichung berücksichtigt werden. Rechtfertigt der Umfang der Beteiligung eine Co-Autorenschaft von Mitarbeitern der MSPUB (z.B. Beteiligung an Versuchsplanungen, und/oder Auswertungen und Interpretationen von Ergebnissen, Entwicklung von Methoden, ua.) so sind diese bei der Erstellung des Manuskriptes zu berücksichtigen. Jede andere Form der Beteiligung (Service-Dienstleistung) ist im Acknowledgement folgender Satz zu erwähnen: "We would like to acknowledge the assistance of the MSPUB of the University of Münster supported in part by the DFG".