



Strukturbiologie Cryo-EM Plattform

Universität zu Köln



Leiterin der Plattform : Dr. Monika Gunkel

Adresse: Zülpicher Str. 47
50674 Cologne

Telefon: +(49)221 – 470 – 76302

E-Mail: monika.gunkel@uni-koeln.de

Version: 2024

Nutzerordnung

Auftrag und Zielsetzung

Die Hauptaufgaben der **STRUBiTEM** Plattform sind es die Infrastruktur und das Expertenwissen zur Verfügung zu stellen, um Wissenschaftler/-innen zu helfen, ihre biologischen Makromoleküle mit Hilfe von cryo-Elektronenmikroskopie (cryo EM) zu untersuchen. Cryo EM hat das Potential, Strukturen von Proteinen die kleiner als 200 kDa groß sind, mit einer Auflösung von ca. 3 Å zu lösen. Besonderer Fokus der **STRUBiTEM**-Plattform liegt auf der Analyse der durch Konformationsänderungen hervorgerufenen Proteindynamik.

Das Ziel dieser Nutzerordnung ist es, Rahmenbedingungen für alle Nutzer/innen dieser Plattform zu schaffen, um eine faire, offene und transparente Zusammenarbeit zu ermöglichen. Diese Nutzerordnung behandelt viele Aspekte der Zusammenarbeit zwischen Nutzern und der Plattform, es gibt aber auch Punkte, die nicht detailliert behandelt werden. Es wird immer einen gewissen Spielraum geben, um der wissenschaftlichen Arbeit gerecht zu werden. Alles, was hier nicht schriftlich fixiert ist, wird über persönliche Kommunikation geregelt.

Struktur und Orga

Die **STRUBiTEM** (StrukturBiologie cryo- TransmissionsElektronenMikroskopie) Plattform gehört zum Institut für Biochemie/Department für Chemie an der Universität zu Köln. Die Plattform wurde 2017 durch zwei große DFG Förderungen (Deutsche Forschungsgemeinschaft) ins Leben gerufen.

Die **STRUBiTEM** Plattform wird von Fachpersonal betrieben. Die Kernaufgaben der Plattform sind die Probenpräparation für die Elektronenmikroskopie (EM) (sowohl negative Kontrastierung als auch Vitrifizierung), die Aufnahme von „Single Particle“ Datensätzen (Raumtemperatur und cryo Bedingungen) als auch die Vorprozessierung und Qualitätskontrolle der aufgenommenen Bilder. Darüber hinaus stellt das Personal seine Expertise in Proteinaufreinigung für die cryo EM zur Verfügung, hilft bei der Entwicklung von Strategien für die Datenanalyse und gibt Hilfestellung bei der Interpretation der Ergebnisse. Es gibt Trainings für Nutzer/-innen, um eine selbständige Probenpräparation sowie die selbständige Bedienung der Mikroskope zu erlernen. Im Rahmen wissenschaftlicher Kooperationen können auch komplette Projekte übernommen werden. Die Wissenschaftler/-inne der **STRUBiTEM** Plattform verfolgen auch eigene wissenschaftliche Projekte und sind in der Lehre am Institut für Biochemie aktiv.

Personal

Personalliste siehe Anhang Personal

Die **STRUBiTEM** Plattform hat eine Leiterin, die sich um alle Belange der Plattform kümmert. Die Leitung wird durch einen wissenschaftlichen Direktor unterstützt, der in wissenschaftlichen Fragen beratend tätig wird. Eine halbe Technische Assistentenstelle steht zur Unterstützung bei der Probenpräparation und der Mikroskopie zur Verfügung. Rechnungsstellung und Rechnungsbearbeitung erfolgt über Sekretariatsmitarbeiter/-innen.

Nutzertreffen

Jährlich findet ein Nutzertreffen am Institut für Biochemie statt, zu dem alle Nutzer/-innen eingeladen sind. Das Nutzertreffen dient dem Austausch zwischen den Nutzern /den Nutzerinnen und deren Weiterbildung.

Geräte

Siehe Anhang Geräte

Betriebskonzept

Zugangsregelung

Für alle Anträge muss eine Projektbeschreibung bei STRUBiTEM eingereicht werden (an strubitem-contact@uni-koeln.de). Anhand dieses Projektvorschlags wird das Projekt hinsichtlich seiner wissenschaftlichen Relevanz, der erwarteten Ergebnisse und des aktuellen Fortschritts bewertet, um zu bestimmen, auf welchem Level sich das Projekt befindet und wie viel Messzeit am Krios zugewiesen wird. Mögliche Zugangsstufen:

Level 1 Projekte

Die Antragsteller werden bei der Versuchsplanung angeleitet und bei der Probenvorbereitung und Datenerfassung unterstützt. Die erste Phase dient dazu, die Antragsteller über die Anforderungen zu informieren und die Probe mit Hilfe von Negativkontrastierung zu charakterisieren. Im Erfolgsfall zielt die zweite Phase darauf ab, Plunge Freezing Bedingungen festzulegen und vorläufige Kryo-EM-Daten zu erhalten - insbesondere 2D-Klassen und ein erstes 3D-Modell.

Level 2 Projekte (Antrag auf Messzeit)

Auf Wunsch werden die Antragsteller bei der Versuchsplanung angeleitet und bei der Probenvorbereitung unterstützt. Die Antragsteller werden bei der Datenerfassung unterstützt. Ziel ist es, genügend Daten für eine hochauflösende 3D-Rekonstruktion zu sammeln. Zu diesem Zweck sind eine oder mehrere Screening-Sitzungen erforderlich, um optimale Proben zu ermitteln. Die Daten werden innerhalb der RRZK-Infrastruktur zur Verfügung gestellt. Unterstützung bei der 3D-Rekonstruktion ist auf Anfrage möglich.

Level 3 Projekte (Antrag auf Messzeit)

Die Antragsteller werden bei der Datenerhebung unterstützt. Ziel ist es, genügend Daten für eine hochauflösende 3D-Rekonstruktion zu sammeln. Die Daten werden innerhalb der RRZK-Infrastruktur zur Verfügung gestellt.

Da die Messzeit am Krios und die Kapazität der Plattformmitarbeiter/-innen einen begrenzenden Faktor darstellen, werden die Projekte alle drei Monate von einem Project Reading Committee (PRC) bewertet. Die Einstufung des PRC und die Kapazität der Anlage werden verwendet, um die Messzeit für jedes Projekt für die nächsten 3 Monate zu bestimmen.

Die Vorschläge werden streng vertraulich behandelt und nur von der PRC und der Leiterin der Einrichtung gelesen.

Die Vorschläge müssen für jeden 3-monatigen Messzeitraum eingereicht werden. Für fortgesetzte Projekte ist eine Wiedervorlage des vorherigen Vorschlags möglich, allerdings muss in diesem Fall der letzte Abschnitt "fortgesetzte Projekte" ausgefüllt werden. Vorrang bei der Beantragung von Messzeit haben Projekte mit soliden vorläufigen Daten, insbesondere vorläufigen Negativkontrastierungsdaten, oder, falls nur Negativkontrastierung beantragt wird, mit soliden Daten zur Proteinreinigung und Aktivität. Die Projekte werden auch nach dem bisherigen Projektverlauf der Antragstellerin/des Antragstellers gewichtet. STRUBiTEM behält sich das Recht vor, die Priorität von Projekten von Gruppen/PIs, die die Regeln der Einrichtung nicht einhalten, herabzugewichten oder in wiederholten Fällen Anträge nicht zu akzeptieren.

Die Nutzer/-innen werden über die Entscheidungen des PRC durch die Leiterin der Einrichtung informiert.

Vor der Einreichung von Projektvorschlägen können die Projekte auch auf informeller Basis mit dem Leiter der Einrichtung besprochen werden.

Solange die Einrichtung nicht voll belegt ist (Wartezeit für eine Messzeit unter 12 Wochen), werden alle Projekte durchgeführt.

Training

Probenpräparation

STRUBiTEM bietet Trainings für die Negativkontrastierung und für die Vitrifizierung von Proben an. Gruppen von bis zu zwei Personen können zusammen ausgebildet werden. Nach dem erfolgreichen Training können die entsprechenden Geräte von den Nutzer/-innen selbstständig gebucht und genutzt werden.

Mikroskopie

Krios Training besteht aus zwei Einheiten. Nutzer/-innen werden hier nur einzeln unterwiesen. Nach dem Training und wenn die Plattformleitung die Fertigkeiten als ausreichend befundet, dürfen die Nutzer/-innen Proben screenen, Datenaufnahmen aufsetzen und grundlegende Alinierungen am Mikroskop vornehmen. Diese Erlaubnis gilt nur innerhalb der Bürozeiten von Mo-Fr 9-16 Uhr. Wenn die Nutzer/-innen gezeigt haben, dass sie unabhängig arbeiten können, dürfen sie das Krios Mikroskop auch außerhalb der Bürozeiten benutzen. Die Plattformleitung erteilt die Erlaubnis für die jeweiligen Tätigkeiten. Beschädigung von Platfformeigentum durch Überschreitung der erlaubten Tätigkeiten kann zum Ausschluss der Nutzerin oder des Nutzers aus der Plattform führen.

Talos Training besteht aus zwei Einheiten mit maximal zwei Personen. Nach dem Training sind die Nutzer/-innen dazu berechtigt, das Talos selbständig innerhalb der Bürozeiten von Mo-Fr 9-16 Uhr zu benutzen. Nachdem die Nutzer/-innen gezeigt haben, dass sie verantwortungsvoll und selbständig arbeiten können, dürfen sie das Talos auch außerhalb der Bürozeiten benutzen.

Die Plattformleitung erteilt die Erlaubnis für die jeweiligen Tätigkeiten. Beschädigung von Platfformeigentum durch Überschreitung der erlaubten Tätigkeiten kann zum Ausschluss der Nutzerin oder des Nutzers der Plattform führen.

Buchung

Gerätebuchungen können über das online Buchungstool der Plattform vorgenommen werden. Buchungen können nur von Nutzern/-innen mit den relevanten Trainings vorgenommen werden. Auf Grundlage der gebuchten Nutzungszeiten erfolgt die Rechnungserstellung. Wenn Personal der Plattform benötigt wird, muss das persönlich mit der Plattformleitung abgesprochen werden.

Krios/Talos

Mikroskopzeiten, besonders für die Datenaufnahme, sind ein limitierender Faktor. Ein gewisses Kontingent an Messzeiten ist für die Nutzer/-innen reserviert, die in der DFG Förderung für die Gründung der Plattform benannt werden.

Auf Grund von Service Zeiten kann die Plattformleitung die Mikroskope jeder Zeit blockieren.

Messzeiten stornieren

Wenn eine gebuchte Messzeit nicht genutzt werden kann, muss die Plattformleitung umgehend informiert werden. Eine Stornierung kann kostenfrei bis 48 Stunden vor Nutzungsbeginn erfolgen, andernfalls werden die Kosten belastet, wenn sich keine andere Nutzerin/kein anderer Nutzer findet, die/der die Zeit übernehmen möchte.

Nutzungsgebühren

Für die Messungen an den Mikroskopen werden Nutzergebühren erhoben, die sich aus den laufenden Kosten der Plattform berechnen. Die Nutzergebühren werden jedes Jahr auf Grundlage der Ausgaben des Vorherigen Jahres neu kalkuliert.

s. Anhang Nutzergebühren

Datenmanagement

Die Plattform hat das Recht, die gemessenen Daten für die Qualitätskontrolle zu nutzen und Meta-Daten zu generieren (CTF, Drift). Projekt relevante Daten werden temporär innerhalb der STRUBiTEM Plattform gespeichert. Die Daten können an das Rechenzentrum der Universität zu Köln weitergegeben werden, um die Daten weiter zu bearbeiten und auf Ressourcen des Rechenzentrums zu prozessieren. Daten werden ohne Aufforderung des/der Projektverantwortlichen nicht mit dritten Parteien geteilt.

Die Regeln der Guten Wissenschaftlichen Praxis (GWP) erfordern das Forschungsdaten für mindestens 10 Jahre archiviert werden. Im Kontext der STRUBiTEM Plattform für molekulare Kryo-EM sind dieses insbesondere die aufgenommenen Movie-Frames.

Die in der StruBiTEM-Anlage produzierten Daten können in Abstimmung mit dem Cologne Competence Center for Research Data Management C³RDM GWP-konform gespeichert werden. Daten werden nur auf Anfrage hochgeladen, wenn eine entsprechende Dokumentation der Daten für die STRUBiTEM Plattform vorhanden ist. Die Nutzer sind selbst verantwortlich für ihre Daten.

Sicherheit

Elektronenmikroskope sind potentiell gefährlich. Sie werden mit Hochspannung betrieben und es werden Elektronen emittiert. Möglicherweise werden gefährliche Röntgenstrahlen emittiert. Daher ist es verboten die Hardware der Mikroskope zu verändern, besonders gilt das für die Einhausungen, die die Röntgenstrahlen und die Komponenten die unter Hochspannung stehen abschirmen. Für die Probenpräparation und für den Betrieb der Mikroskope bei kryo Bedingungen wird flüssiger Stickstoff verwendet. Nach deutschem Recht ist es verpflichtend für den Umgang mit flüssigem Stickstoff und für das Arbeiten mit Röntgenstrahlen eine entsprechende jährliche Sicherheitsunterweisung durch die Sicherheitsbeauftragte/den Sicherheitsbeauftragten zu erhalten.

Urheberschaft und Veröffentlichungen

Danksagungen

Die DFG evaluiert den Einfluss und die Stellung einer Plattform daran, wie oft sie in wissenschaftlichen Publikationen benannt oder zitiert wird und wie oft sie als Co-Autor bei einer Publikation beteiligt ist. Um sicher zu stellen, dass die STRUBiTEM Plattform weiterhin den besten Service bieten kann, ihr Personal weiter ausbilden und neue Geräte und Software zur Verfügung stellen kann, ist es wichtig, dass alle Nutzer/-innen sich an folgende Empfehlung halten:

Sobald Daten mit Hilfe der STRUBiTEM Plattform aufgenommen oder prozessiert wurden, sollte die Rolle der Plattform oder des Plattform Personals in der Danksagung der Veröffentlichung erwähnt werden. Das gilt für Publikationen, Vorträge, Bachelor- und Masterarbeiten, sowie für Doktorarbeiten. Bitte lassen Sie uns wissen, wenn Sie die Plattform in einer Danksagung erwähnen.

Die STRUBiTEM Plattform kann wie folgt gewürdigt werden:

Wir bedanken uns für den Zugang zur Infrastruktur von StruBiTEM, der Plattform für molekulare Kryo-EM des Instituts für Biochemie der Universität zu Köln (finanziert durch DFG-Förderung INST 216/949-1 FUGG)

Co-Autorenschaft

Zentrale Plattformen müssen für ihren Service Rechnungen stellen, um das Equipment in gutem Zustand zu erhalten, das Personal zu halten, Software-Updates zu kaufen und um Verbrauchsmaterial für die Nutzer/-innen zur Verfügung zu stellen. Unabhängig von diesen Gebühren, gelten die üblichen Regeln für Co-Autorenschaften aber auch für das Personal der STRUBiTEM Plattform, wenn sie intellektuell oder experimentell maßgeblich zu einem Projekt beitragen. Individuelle Lösungen für Co-Autorenschaften sollten persönlich diskutiert werden.

Hinweis auf GWP

Um die Integrität der erzeugten wissenschaftlichen Daten sicher zu stellen, folgen wir nach bestem Wissen und Gewissen den Regeln guter wissenschaftlichen Praxis und erwarten das ebenfalls von allen Nutzern.

Anhang

Personal

Plattform Leitung:
Dr. Monika Gunkel

Wissenschaftlicher Direktor:
Prof. Dr. Elmar Behrmann

Technische Assistenz:
Jennifer Lange

Sekretariat:
Melanie Schmitz

Geräte

Elektronenmikroskope:
Titan Krios G3i (Thermo Fisher)
Talos L120C (Thermo Fisher)

Gefrier Guillotinen:
Vitrobot MarkIV (Thermo Fisher)
CP3 (Gatan)

Nutzerordnung für Projekt ID:

Projektverantwortliche/-r

Die/der Projektverantwortliche bestätigt, dass sie/er die Nutzerordnung gelesen und verstanden hat und den darin festgehaltenen Regeln folgen wird. Darüber hinaus, stellt sie/er sicher, dass Nutzer/-innen unter ihrer/seiner Verantwortung diesen Regeln folgen werden.

Unterschrift Projektverantwortliche/-r: _____

Nutzerliste für dieses Projekt:

Mit ihrer/seiner Unterschrift bestätigt der/die Nutzer/-in die Nutzerordnung gelesen und verstanden zu haben und den darin festgehaltenen Regeln Folge zu leisten.

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

..... Unterschrift: _____

Unterschrift Plattformleiterin STRUBiTEM:

Dr. Monika Gunkel: _____