

Research Core Unit Genomics (RCUG)

Nutzerordnung

1) Übergabe von Probeninformationen in der „Submission form“

Voraussetzung für die Bearbeitung eingereicherter DNA- und RNA-Proben ist das vollständige Ausfüllen unserer „Submission form“ sowie die Übersendung des ausgefüllten Formulars per Email an rcu.genomics@mh-hannover.de vor Übergabe der Proben. Die aktuelle Version des Formulars kann auf unserer Homepage heruntergeladen werden (<https://www.mhh.de/genomics/downloads/probeneingangsformulare>).

2) Übergabe von DNA- und RNA-Proben

Wir erhalten die in der Submission Form beschriebenen Proben und führen, je nach Beauftragung, eine Qualitätskontrolle, eine Microarray-Analyse oder eine Sequenzierung nach standardisierten Protokollen durch.

a) DNA-Proben

Für Sequenzierungen des Genoms, Exoms, Metagenoms oder Methyloms sollen uns möglichst 3 µg genomische DNA pro Probe in einem Volumen unter 150 µl übergeben werden. Bei kleineren DNA- Mengen (> 1 ng) oder anderen Sequenziervorhaben bitten wir um Rücksprache, da die Realisierung auch solcher Projekte mit projektbezogenen Anpassungen meistens möglich ist. Im Falle einer Methylom-Sequenzierung wird die Probe einer Bisulfit-Konvertierung unterzogen.

b) RNA-Proben

Für Sequenzierungen des Transkriptoms oder Microarray-Analysen werden uns optimaler Weise 1 µg Gesamt-RNA pro Probe mit einer Konzentration von mindestens 100 ng/µl übergeben.

Falls nur geringere Ausbeuten (oder Konzentrationen) erzielbar sind, kann (eine ausreichende Qualität vorausgesetzt und je nach ausgewählter Technologie-Plattform) durch Einsatz alternativer Protokolle die erforderliche DNA- oder RNA-Ausgangsmenge auf bis zu 1 ng reduziert werden.

3) Empfehlungen zur Aufreinigung von DNA und RNA

a) DNA-Sequenzierungen

Zur DNA-Isolierung empfehlen wir eine Phenol/Chloroform Extraktion gemäß Current Protocols in Molecular Biology (www.mh-hannover.de/genomics-methods.html). Nach Absprache können auch alternative Aufreinigungsmethoden (Kits) verwendet werden, die jedoch meistens eine geringere Ausbeute und schlechtere DNA-Qualität zur Folge haben. Eine Isolierung mittels Magnetic Beads ist einer Isolierung mittels Säulchen vorzuziehen.

b) RNA-Sequenzierungen oder Microarray-Analysen

Zur RNA-Isolierung empfehlen wir das RNeasy Micro-Kit (Qiagen, #74004) oder, falls die Option offen gehalten werden soll, aus den jeweiligen Ansätzen auch kleine RNA-Spezies (z.B. microRNAs) zu analysieren, das mirVANA miRNA Isolation Kit (Life Technologies/Ambion, AM1560). Auch wenn ausschließlich kleine RNAs analysiert werden sollen (smallRNA-Sequenzierung), sollte beim mirVANA-Kit die Protokoll-Variante zur Isolation von Gesamt-RNA inklusive kleiner RNAs befolgt werden, nicht die Variante für ausschließlich kleine RNAs.

4) **Umgang mit unzureichender oder eingeschränkter Qualität des Ausgangsmaterials**

Bei unzureichender oder eingeschränkter Qualität des Probenmaterials werden die Nutzer umgehend informiert. Ist von Seiten der RCUG absehbar, dass die Qualität des Eingangsmaterials für das Vorhaben nicht ausreicht, wird in der Regel Ersatz vom Nutzer angefordert. Ist dieser nicht verfügbar, kann die Weiterführung des Projekts durch die RCUG entweder abgelehnt werden oder in einem Gespräch werden modifizierte Rahmenbedingungen festgelegt. Sollte die RCUG im Rahmen der Qualitätskontrolle eingehender Proben oder bei der initialen Projektbesprechung zu dem Schluss kommen, dass für eine erfolgreiche Umsetzung des Projektes methodisch bedingt erhebliche Risiken bestehen, so werden diese Vorhaben als „Hochrisikoprojekte“ eingestuft. Solche Projekte bedürfen der zusätzlichen schriftlichen Bestätigung und vollständigen Verantwortungsübernahme durch den Auftraggeber.

5) **Initiale Beratung zu experimentellem Design**

Zur Festlegung eines bestimmten experimentellen Designs (geeignete Applikation, Technologie-Plattform, Sequenzier-Parameter, Auswahl geeigneter Kontrollen,...) bieten wir eine Beratung an, um Vor- und Nachteile zu erläutern und Lösungen für potentielle Schwierigkeiten bei der Erzeugung oder Prozessierung des Probenmaterials aufzuzeigen.

6) **Standardmäßig eingesetzte Technologie-Plattformen**

Sequenzierungen werden generell auf Geräten der Firma Illumina (NextSeq500 oder MiSeq) durchgeführt. Je nach Fragestellung und konkreter Absprache können Sequenzierungen auch auf einem Ion Torrent (Firma Thermo Fisher Scientific), auf einem Sequel (Firma Pacific Biosciences, gehört jetzt zu Illumina) oder einem Minlon (Firma Oxford Nanopore Technologies) realisiert werden.

7) **Beauftragung externer Sequenzier-Firmen oder kooperierender Core Units**

Bei hoher Geräte-Auslastung der RCUG, besonderen Fragestellungen, bestimmten Geräte-Anforderungen oder auf speziellen Wunsch des Auftraggebers hin können Aufträge an externe Sequenzier-Firmen oder kooperierende Core Units vergeben werden. In diesem Fall ist der Zeitrahmen zur Fertigstellung der Analysen abhängig vom beauftragten Partner, die entsprechenden Kosten werden gesondert kalkuliert und das Vorgehen wird vor Beauftragung mit dem Auftraggeber abgesprochen.

8) Einsetzbare Kits zur Bibliothekserzeugung und für die Sequenzierungen

Für die Bibliothekserzeugung werden durch die RCUG eine Reihe von Standardapplikationen angeboten. Zur Sequenzierung stehen prinzipiell alle „Katalog-Kits“ der Herstellerfirmen der jeweiligen Sequenzierplattformen zur Verfügung. Falls Kits und erforderliche Methoden von diesen Standards abweichen und neue Arbeitsschritte etabliert werden müssen oder benötigte Reagenzien nicht permanent vorrätig sind, müssen Bedingungen und Preise individuell vereinbart werden.

9) Hinweise zur Probenanzahl je Sequenzierlauf

Die standardmäßig zum Einsatz kommenden Kits der Firma Illumina ermöglichen je Sequenzierlauf die Analyse mehrerer Proben (Multiplexing). Die Anzahl der „geplexten“ DNAs bzw. RNAs wird gemeinsam mit dem Auftraggeber festgelegt (Punkt 4). Diese Anzahl ist abhängig von der gewählten Sequenziermethode (Genom, Exom, Methylo, Transkriptom, Metagenom) sowie der gewünschten Güte der Sequenzdaten (Sequenziertiefe, Coverage). Wir sind bemüht, Sequenzierungen möglichst kostengünstig anzubieten! Dies bedeutet allerdings auch, dass Ihr Auftrag bei zu geringer Probenanzahl gemeinsam mit Proben eines anderen Projektes bearbeitet werden muss. In diesem Fall kann kein genauer Zeitrahmen für die Durchführung festgelegt bzw. garantiert werden. Alternativ kann vereinbart werden, unvollständig ausgelastete Sequenzierläufe durchzuführen und (zu entsprechend erhöhten Kosten) abzurechnen, damit keine verlängerte Wartezeit entsteht.

Weiterhin können spezialisierte Kits oder Kits mit kurzer Haltbarkeit oder (z.B. Target Enrichment und Exom- Kits) den Nutzern nicht anteilig in Rechnung gestellt werden, so dass zur Kostenminimierung hier vor Projektbeginn eine Rücksprache mit der RCUG dringend angeraten wird.

10) Hinweise zur Probenanzahl je Microarray-Studie

Die standardmäßig zum Einsatz kommenden Microarray-Slides der Firma Agilent enthalten 4 (oder 8) getrennte Microarrays. Diese Microarrays können nicht einzeln prozessiert werden. Daher müssen insgesamt Proben für 4 (bzw. 8) Arrays oder ein Vielfaches für die Untersuchungen zusammengestellt werden. Für das Einkanalssystem bedeutet dies 4 (8, 12, 16,...) Einzelproben, für das Zweikanalssystem 4 (8, 12, 16,...) Zweierpaare zu vergleichender Proben. Soll eine nicht durch 4 (bzw. 8)-teilbare Anzahl von Arrays hybridisiert werden, so können wir keinen genauen Zeitrahmen für die Durchführung festlegen bzw. garantieren, da wir in diesem Fall so lange abwarten, bis wir aus anderen Projekten Proben erhalten, um die Slides (à 4, bzw. 8 Arrays) vollständig beladen zu können. Alternativ kann vereinbart werden, freibleibende Arrays mit ihrem Materialkostenanteil zu berechnen.

11) Einpreisung eines Nutzungskontingentes für kommerzielle Transcriptomics-Analyse-Software

In den berechneten Preisen für Transcriptomics-Analysen (Microarrays, RNA-Seq) sind Kosten für kommerzielle Datenanalyse-Software enthalten. Für Auftraggeber solcher Produkte resultiert daher ein prinzipieller Anspruch auf kostenfreie Nutzung der bereitgestellten Software (OmicsExplorer, GeneSpring, IPA), soweit dies im Umfang mit den Ansprüchen aller weiteren Auftraggeber vereinbar ist. Dieser Anspruch gilt in jedem Fall und für jede Software bis zum Auslaufen der jeweils aktuellen 1-Jahreslizenz. Werden die Programme durch die RCUG auch im jeweils nachfolgenden Jahr angeschafft (was derzeit geplant ist), so gilt das erworbene Nutzungsrecht bis spätestens 1 Jahr nach Übergabe der Transcriptomics-Daten.

12) Reihenfolge der Auftragsannahme und Bearbeitung

Eingehende Projektanfragen werden in der Regel in zeitlicher Reihenfolge der Beauftragung abgearbeitet, allerdings werden zur Aufrechterhaltung von Praktikabilität und Effizienz auch Ausnahmen gemacht (Vorziehen kleiner Projekte, Sammeln von Proben für gleiche Protokollabläufe,...). Falls sich aufgrund hoher Auslastungszahlen die Übergabefristen (siehe Punkt 13) verlängern sollten, werden die Auftraggeber umgehend informiert.

13) Zeitrahmen für die Fertigstellung der Analysen

Nach Eingang aller erforderlichen Informationen (siehe Punkt 1) und ggf. Durchführung der initialen Qualitätskontrolle werden Daten innerhalb folgender Fristen fertiggestellt:

Sequenzier- und Microarray-Daten werden in der Regel innerhalb von maximal 6 Wochen fertiggestellt und übergeben (Ausnahmen siehe Punkte 7&8). Reine Qualitätskontrollen von DNA oder RNA (ohne anschließend beauftragte Studie) werden innerhalb von maximal 2 Wochen durchgeführt und die Ergebnisse übergeben. Bei der Beauftragung von reinen Qualitätskontrollen (DNA oder RNA) unter Verwendung von mehr als zwei kompletten Bioanalyzer-chips (also mehr als 22 bzw. 24 Proben) liegt die Bearbeitungszeit bei maximal 4 Wochen.

14) Prozessierung der Rohdaten

Die Rohdaten werden anwendungsbezogen in entsprechenden, standardisierten Analyse-Pipelines verarbeitet. Bei DNA-Sequenzierungen erfolgen hierbei das Alignment der fastq-Dateien, das Calling der Varianten und die Annotation der gefundenen Varianten. Bei RNA-Sequenzierungen erfolgt nach dem Alignment der fastq-Dateien eine Quantifizierung der normalisierten „Read-Counts“ auf Genebene. Zusätzlich wird das Ausmaß statistisch signifikanter mRNA-Expressionsunterschiede ermittelt und zur Übersichtlichkeit in Excel-Dateien dargestellt. Abschließende Filterungen der erhaltenen Datensätze finden basierend auf Qualitätsstandards und je nach Fragestellung, annotationsbasiert statt. Weitere Filterstrategien, wie z.B. sogenannte Trio-Analysen bei humangenetischen Fragestellungen, sind nach gesonderter Vereinbarung möglich. Auch können zusätzlich *de novo* Assembly Ansätze bei ausreichenden Personal- und Rechen-Kapazitäten angefordert werden. Entstehende Contigs können bei Bedarf auch automatisch annotiert werden. Weiterhin kann die RCUG mit dem Base-calling, dem Alignment und der Suche nach strukturellen Varianten bei Oxford Nanopore Daten weiterhelfen.

Microarray-Rohdaten werden von uns prozessiert und in die von uns entwickelte, Excel-basierte Analyse-Software RCUTAS (Research Core Unit Transcriptomics Analysis System) überführt. RCUTAS enthält und beinhaltet die wichtigsten Werte und Qualitätsparameter in übersichtlichen Tabellenformaten und erlaubt die Durchführung von Sortierungen, Filterungen, Visualisierungen und initialen Auswertungsprozessen.

15) Bereitstellung der Gesamtdaten

Die unter Punkt 14 beschriebenen Daten (fastq-, bam-, vcf-, csv-, und xlsx-Dateien) werden auf einer Festplatte, über eine SFTP-Verbindung oder MHH-intern über eine Netzlaufwerkverbindung (Share) bereitgestellt, falls erforderlich auch in verschlüsselter Form. Je nach Wunsch können die Daten (bam, vcf) auch in unserem zentralen Genom-browser JBrowse aufgenommen werden, falls erforderlich mit Passwortschutz.

16) Beratungsgespräch zu generierten Datenformaten

Nach Übergabe der Daten bieten wir ein ausführliches Beratungsgespräch zu den generierten Datenformaten an, was allerdings eine fundierte inhaltliche Auswertung der Daten von Nutzerseite nicht ersetzt.

17) Ausschluss finaler inhaltlicher Datenanalyse

Eine weiterführende, vertiefte, inhaltliche Auswertung der erzeugten Sequenz-Daten ist nicht in dieser Vereinbarung beinhaltet. Je nach Auftragslage und Kapazität bieten wir aber Beratungsgespräche und Hilfe zu allen Themengebieten rund um Planung, Auswertung, Darstellung und Publikation der generierten Daten an.

18) Qualitätsstandards und Gewährleistung

Wir garantieren eine hohe technische Qualität der Daten gemäß internationaler Standards. Analysen, die deutliche technisch bedingte Beeinträchtigungen aufweisen, werden nach unserem Ermessen entweder unentgeltlich wiederholt oder nicht in Rechnung gestellt. Eine Ausnahme hiervon stellen die sogenannten „Hochrisikoprojekte“ dar (siehe Punkt 4). Bei der Sequenzierung von Bibliotheken, die durch den Auftraggeber erzeugt worden sind (ready to load libraries), liegt die Verantwortung vollständig beim Auftraggeber. Schlägen solche Experimente fehl, werden durch die RCUG in keinem Fall anfallende Kosten übernommen oder kostenfreie Wiederholungen durchgeführt.

19) Zitierung und Publikation

In Fällen, in denen sich unser Service ausschließlich auf die reine Datenerzeugung gemäß unserer angebotenen Standard-Pipelines beschränkt, wird von uns kein Anspruch auf Ko-Autorenschaft erhoben. Wir bitten stattdessen im Falle einer Veröffentlichung der Daten um eine Erwähnung im „Acknowledgement“ gemäß nachfolgender Formulierung:

“Sequencing data used or referred to in this publication were generated by the Research Core Unit Genomics (RCUG) at Hannover Medical School.”

“Microarray data used or referred to in this publication were generated by the Research Core Unit Genomics (RCUG) at Hannover Medical School.”

Zeichnet sich ab, dass der Beitrag unserer Mitarbeiter/Innen an einer Studie über unsere angebotenen Standards hinausgeht und ein substantieller inhaltlicher Beitrag zum Forschungsvorhaben geleistet wird, so sind wir bemüht, zeitnah Kontakt mit dem Auftraggeber aufzunehmen. So kann ein gerechtfertigter Anspruch auf Ko-Autorenschaft (echte wissenschaftliche Kooperation) früh und einvernehmlich mit dem Auftraggeber vereinbart werden.

Zur Frage, welche Art der Beteiligung eine „echte wissenschaftliche Kooperation“ darstellt, bzw. eine Ko-Autorenschaft rechtfertigt, verweisen wir auf die einschlägigen Empfehlungen der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie der jeweiligen Journale.

20) MHH-interne Preise, Beauftragung und Kostenabrechnung

Die MHH-internen Preise unserer NGS-Standard-Produkte können mit den auf unserer Homepage abrufbaren interaktiven Excel-Tabellen abgeschätzt werden. Eine Übersicht mit aktuellen Microarray-Preisen befindet sich ebenfalls auf unserer Homepage. Bitte beachten Sie, dass die endgültig von uns angebotenen Preise von den oben beschriebenen Angaben abweichen können und dass nur die endgültig angebotenen Preise verbindlich sind. Personalkosten werden MHH-intern explizit nicht mit eingepreist. Die Kostenabrechnung erfolgt über die Interne Leistungsverrechnung (ILV). Nach Erhalt des jeweiligen Auftrags und Übergabe der erzeugten Daten wird durch uns die Buchung angewiesen. Buchungen werden von uns garantiert noch im jeweiligen Haushaltsjahr angewiesen, es sei denn, der betreffende Fonds ist bereits zu einem Zeitpunkt vor offiziellem MHH-Buchungsschluss geschlossen oder allgemein gesperrt. Zu belastende Kostenstellen (bzw. Fonds) müssen über die MHH verwaltet sein, ansonsten gelten Bedingungen und Preise für externe Aufträge.

21) MHH-externe Preise und Kostenabrechnung

Den Preisen für MHH-externe Auftraggeber liegt eine Vollkostenkalkulation zugrunde. Die entsprechenden Preise werden auf konkrete Anfrage hin kalkuliert. Die externe Abrechnung wird über einen Rechnungsversand auf dem Postweg eingeleitet. Alle relevanten Informationen und Überweisungsdaten sind auf der Rechnung enthalten.

22) Rabatt-Indikationen für externe Aufträge

Hinsichtlich folgender Indikationen können für externe Auftraggeber gegebenenfalls Rabatte gewährt werden, deren Höhe je nach Situation einzeln vereinbart wird:

- a) Ein Mindest-Studienumfang an Sequenzierungen wird erreicht, welcher „im Stück“ angefordert und abgerechnet wird (keine nachträgliche Aufsummierung über das Jahr möglich).
- b) Für die betreffende Studie wird im Vorfeld explizit ein Verzicht jeglicher (standardmäßig beinhalteteter) Beratung durch RCUG-Mitarbeiter/Innen festgelegt (z.B. Beratung zum Studiendesign, Ergebnisbesprechung, Beratung zu finalen Analyse- und Darstellungsoptionen).
- c) Eine wissenschaftliche Kooperation wird vereinbart, welche einerseits eine maßgebliche inhaltliche Mitarbeit und andererseits eine entsprechende Berücksichtigung von RCUG-Mitarbeitern/Innen als Ko-Autor/In bei Veröffentlichungen bedingt und voraussetzt.
- d) Der/die Auftraggeber/In finanziert die Untersuchung über ein von ihm/ihr geleitetes Drittmittel-Forschungsprojekt, welches Teil eines an der MHH verwalteten und beantragten Verbundprojektes (z.B. SFB) ist.

23) Umgang mit personenbezogenen Daten und Forschungsdaten

Personenbezogene Daten die im Zuge der Beauftragung von Leistungen der RCUG (Incidents, Projekte) erhoben werden, werden nicht an Personen außerhalb der RCUG weitergegeben. Allerdings behält die RCUG sich das Recht vor, zum Zwecke MHH-interner Veranstaltungen sowie zum Leistungsnachweis gegenüber dem Hochschulpräsidenten, dem Senat, der Forschungskommission oder anderen wichtigen MHH-internen Gremien Übersichtsabbildungen zu erstellen und zu präsentieren, in denen die Gesamtheit der über einen bestimmten Zeitraum durchgeführten Services, nach einzelnen Arbeitsgruppen oder Abteilungen aufgeschlüsselt, dargestellt ist (gilt nur für MHH-interne Beauftragungen). Entsprechende Übersichten können durch die RCUG auch auf der eigenen Homepage verlinkt werden, dann allerdings mit Zugriffsbeschränkung auf den Personenkreis mit MHH-Domänenkennung.“

Die im Zuge der Beauftragung der RCUG erzeugten Forschungsdaten oder vom Beauftragenden zu diesem Zweck an die RCUG übermittelte Forschungsdaten bleiben Eigentum der Beauftragenden, werden ausschließlich durch die Mitarbeitenden der RCUG bearbeitet und eingesehen und nicht ohne ausdrückliche Einwilligung des Beauftragenden an Dritte weitergegeben.

24) Speicherung von personenbezogenen Daten und Forschungsdaten

Personenbezogenen Daten und Forschungsdaten werden nach der Erhebung durch die RCUG so lange gespeichert, wie dies für die Erfüllung des Zwecks (Bearbeitung des Incidents), sowie im Ermessen der RCUG für die Sicherstellung einer angemessenen nachträglichen Rückverfolgbarkeit aller wesentlichen Arbeits- und Kommunikationsprozesse im Zusammenhang mit der erbrachten Leistung erforderlich ist. Bestehende Aufbewahrungspflichten und -fristen werden beachtet. Allerdings weist die RCUG darauf hin, dass die Verantwortlichkeit für die von DFG und Drittmittelgebern geforderte, den Richtlinien guter wissenschaftlicher Praxis entsprechende Langzeitarchivierung von Forschungsdaten (die im Zuge einer Beauftragung der RCUG erzeugt werden) in der alleinigen Verantwortung der beauftragenden Projektleitung liegt.

Die Zentralen Forschungseinrichtungen der MHH folgen den Empfehlungen der European Science Foundation zum Betrieb von Gerätezentren „Basic Requirements for Research Infrastructures in Europe“.

verantwortlich für den Inhalt:

Dr. Lutz Wiehlmann — Dr. Ilona Rosenboom

Leitung der Research Core Unit Genomics

Projektanfragen:

Bitte verwenden Sie unser Incident-Formular für Ihre konkreten Projektanfragen

Homepage: www.mhh.de/genomics

Incident-Formular: www.mhh.de/genomics/kontakt/rcug-incident

Auftrags-Formular: www.mhh.de/genomics/kontakt/rcug-project-order

E-Mail: rcu.genomics@mh-hannover.de