



UNIVERSITÄTSMEDIZIN : **UMG**
GÖTTINGEN

**Leistungs- und Gebührenkatalog
Technologieplattform Stem Cell Unit
(vorläufige Version, 07.01.2019)**

Stem Cell Unit-Göttingen
Universitätsmedizin Göttingen
Dr. Lukas Cyganek

Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen **Adresse**
+49 (0)551 / 39-66280 **Telefon**
lukas.cyganek@gwdg.de **E-Mail**
www.stemcellunit.de **Website**

Technologieplattform Stem Cell Unit

Die Stem Cell Unit - Göttingen (SCU) ist eine Technologieplattform der Universitätsmedizin Göttingen (UMG). Die Einrichtung dient der Unterstützung in Forschung und Lehre auf den Gebieten der Stammzellforschung für Kliniken und Institute der UMG und der Georg-August-Universität Göttingen, sowie für außeruniversitäre Forschungseinrichtungen des Wissenschaftsstandortes Göttingen und darüber hinaus.

Die SCU bietet Leistungen im Rahmen der Gewinnung, Kultivierung und Charakterisierung patientenspezifischer induzierter pluripotenter Stammzellen (iPS-Zellen), deren Genom-Editierung sowie deren In-Vitro-Differenzierung in relevante Zelltypen (wie z.B. patientenspezifische Herzmuskelzellen oder Neuronen). Die SCU bietet neben dem Laborservice eine Beratung wissenschaftlicher Projekte, die Bereitstellung von Infrastruktur, Geräten und Protokollen, Unterstützung bei der Planung von Projekten, im Experiment-Design und im Erlernen des dafür notwendigen Methodenspektrums sowie Unterstützung bei der Antragstellung von Fördermitteln und Ethikanträgen. Weiterhin fungiert die SCU als Biobank für patientenspezifische iPS-Zelllinien und iPS-Derivate. Sämtliche angebotenen Leistungen erfolgen nach etablierten und validierten SOPs. Detailinformationen und Beratung werden bei Anfrage gerne zur Verfügung gestellt.

Serviceangebote

Das Leistungsangebot der SCU wird ständig aktualisiert und an die aktuellen Erfordernisse der Nutzer angepasst. Die Leistungen unseres Labors können von Arbeitsgruppen der medizinischen Fakultät sowie von universitären und außeruniversitären Kooperationspartnern des Wissenschaftsstandortes Göttingen und darüber hinaus auf Basis einer Kostenbeteiligung genutzt werden. Hierbei gelten die in der Nutzungsordnung dargestellten Rahmenbedingungen. Gerne stehen wir mit unserer Expertise für ein Beratungsgespräch zur Verfügung und erstellen auf der Grundlage unserer aktuellen Nutzungspreise ein Angebot.

Das Kernangebot der SCU umfasst folgende Leistungen:

- Projektplanung, Projektdurchführung und Primärauswertung im Rahmen der Generierung, Kultivierung, Charakterisierung, Genom-Editierung und Differenzierung patientenspezifischer iPS-Zellen
- Beratung, Bereitstellung von Infrastruktur, Geräten und Protokollen, Unterstützung bei der Planung von Projekten, im Experiment-Design und im Erlernen des dafür notwendigen Methodenspektrums sowie Unterstützung bei der Antragstellung von Fördermitteln und Ethikanträgen
- Verantwortung und Koordination der Stammzell-Biobank für patientenspezifischen iPS-Zelllinien und iPS-Derivate

Der Laborservice der Serviceeinheit SCU umfasst aktuell folgende Leistungen:

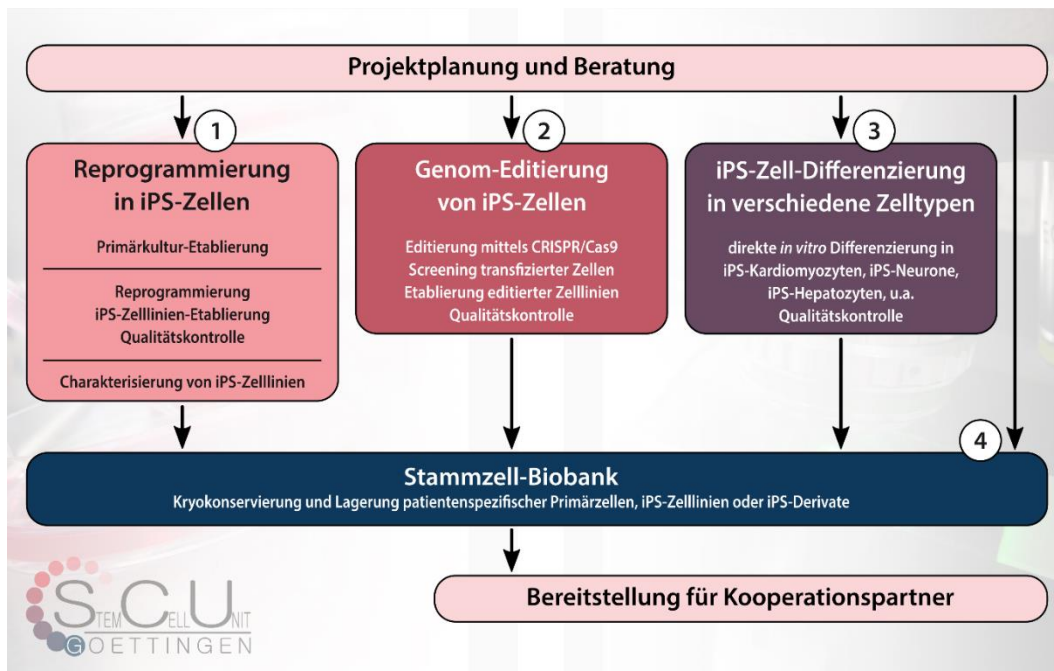
- (1) Reprogrammierung in iPS-Zellen
 - a) Etablierung von patientenspezifischen Primärkulturen
 - b) Reprogrammierung patientenspezifischer Fibroblasten oder mononukleärer Blutzellen in iPS-Zellen (nicht-integrierende Methoden, feeder- und serumfreie Kulturbedingungen)
 - c) Charakterisierung der generierten iPS-Zelllinien inklusive Pluripotenz- und Differenzierungsanalyse, sowie Analyse der Genomstabilität
- (2) Genom-Editierung von iPS-Zellen nach aktuellen Technologien (Gen-Knockout, Gen-Knockin sowie SNP-Insertions-Ansätze mittels CRISPR/Cas9)
- (3) iPS-Zell-Differenzierung in verschiedene Zelltypen (aktuell vorwiegend in funktionelle Herzmuskelzellen)
- (4) Bereitstellung der in der Stammzell-Biobank verfügbaren patientenspezifischen iPS-Zelllinien und iPS-Derivate

Stammzell-Biobank

Die Stammzell-Biobank der SCU dient der Lagerung und Bereitstellung patientenspezifischer iPS-Zelllinien oder iPS-Derivate von Patienten mit Verdacht auf eine mono- oder polygenetisch bedingte Erkrankung sowie klinisch unauffälliger (gesunder) Probanden als Ressource für die wissenschaftliche Forschung von Volkserkrankungen genauso wie seltenen Erkrankungen. In den vergangenen Jahren konnten wir mehr als 100 Probandenproben, einschließlich Proben unterschiedlichen organischen Ursprungs, erfolgreich zu iPS-Zellen reprogrammieren. Eine fortlaufend aktualisierte Übersichtsliste der verfügbaren iPS-Zelllinien ist online einsehbar (www.stemcellunit.de).

iPS-Zelllinien sowie iPS-Derivate können auf Anfrage zur Verfügung gestellt werden. Die in der Nutzungsordnung dargestellten Richtlinien sind zu beachten. Gerne können auf Anfrage weitere Informationen erteilt werden.

Leistungskatalog



(1) Reprogrammierung in iPS-Zellen

a) Etablierung von patientenspezifischen Primärkulturen

Die Etablierung einer patientenspezifischen Primärkultur kann von Gewebeproben unterschiedlichen Ursprungs ausgehen. Die Durchführung dieser Leistung nimmt ungefähr einen Monat in Anspruch und beinhaltet:

- Generierung einer Fibroblasten-Primärkultur aus einer Haut- oder Mundschleimhautbiopsie oder Isolierung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) aus einer Blutprobe
- Expansion der Primärkultur, Qualitätskontrolle sowie Kryokonservierung

b) Reprogrammierung patientenspezifischer Fibroblasten oder mononukleärer Blutzellen in iPS-Zellen

Bei diesem Prozess werden patientenspezifische Primärkultur-Zellen in iPS-Zellen reprogrammiert. Es werden genomisch nicht-integrierende Methoden sowie feeder- und serum-freie Kulturbedingungen verwendet. Die Durchführung dieser Leistung nimmt ungefähr 2-3 Monate in Anspruch und beinhaltet:

- Reprogrammierung der Fibroblasten oder mononukleären Blutzellen in iPS-Zellen mittels Sendai-Virus-Transduktion oder mRNA- oder Plasmid-Transfektion
- Isolation einzelner iPS-Zell-Kolonien aus transduzierten Zellkulturen (bis zu 12 iPS-Kolonien pro Patient)
- Generierung der patientenspezifischen iPS-Zelllinien (3-6 iPS-Zelllinien pro Patient, bis zu Passage 8), Qualitätskontrolle sowie Kryokonservierung

c) Charakterisierung der generierten iPS-Zelllinien

Die *in vitro*-Charakterisierung umfasst die am häufigsten verwendeten Methoden um das pluripotente Stadium und das Differenzierungspotential der generierten iPS-Zelllinien zu bestimmen. Standardmäßig werden mindestens zwei unabhängige iPS-Zelllinien pro Patient etabliert, um etwaige phänotypische Variabilität zwischen den Linien auszuschließen.

Die Durchführung der Pluripotenz-Analyse nimmt ungefähr 2 Monate in Anspruch und beinhaltet:

- Kultivierung und Expansion der generierten iPS-Zelllinien, Qualitätskontrolle sowie Kryokonservierung (ca. bis zu Passage 15-20)
- Genexpressionsanalyse ausgewählter humaner Pluripotenz-Marker mittels RT-PCR
- Proteinexpressionsanalyse ausgewählter humaner Stammzell-spezifischer Marker mittels Immunzytochemie und Durchflusszytometrie
- Analyse der Chromosomen-Stabilität mittels Karyotypisierung
- Primärauswertung und Datenzusammenstellung

Die Durchführung der Analyse des *in vitro*-Differenzierungspotentials nimmt ungefähr 2 Monate in Anspruch und beinhaltet:

- Kultivierung und Expansion der generierten iPS-Zelllinien
- Embryoid body-Bildung und spontane Differenzierung der iPS-Zelllinien
- Proteinexpressionsanalyse ausgewählter Keimblatt-spezifischer Gene (Endoderm-, Mesoderm-, Ektoderm-Marker) mittels Immunzytochemie
- Primärauswertung und Datenzusammenstellung

Eine weiterführende vertiefte Charakterisierung der generierten iPS-Zelllinien in Hinblick auf das *in vivo*-Differenzierungspotential mittels Teratom-Bildung, auf epigenetische Expressionsprofile oder auf Omics-Analysen kann in Kooperationen angeboten werden. Die entstehenden Kosten werden von den Kooperationspartnern an die Nutzer weitergetragen. Hierfür bietet die SCU:

- Kultivierung der generierten iPS-Zelllinien und Probenvorbereitung
- Versand der Proben an die jeweiligen Kooperationspartner für weiterführende Untersuchungen
- Primärauswertung und Datenzusammenstellung

(2) Genom-Editierung von iPS-Zellen

Die Genom-Editierung von iPS-Zellen wird stets nach aktuellen Technologien durchgeführt, aktuell mittels des CRISPR/Cas9-Ansatzes, und umfasst Gen-Knockout, Gen-Knockin sowie SNP-Insertions-Ansätze. Die Projektplanung erfolgt nach enger Zusammenarbeit mit den

Nutzern. Die Durchführung dieser Leistung nimmt je nach Projektumfang bis zu 6 Monate in Anspruch und beinhaltet:

- Projektplanung und bioinformatisches Experiment-Design
- Genom-Editierung der iPS-Zellen mittels CRISPR/Cas9
- Screening der transfizierten iPS-Zellen (40 Klone bei Knockout-Ansätzen, 80 Klone bei Knock-In und SNP Insertions-Ansätzen)
- Kultivierung und Expansion der Genom-editierten iPS-Zelllinien, sowie Kryokonservierung
- Qualitätskontrolle und Neubewertung der Pluripotenz (Proteinexpressionsanalyse) und Chromosomen-Stabilität (Karyotypisierung)
- Primärauswertung und Datenzusammenstellung

(3) iPS-Zell-Differenzierung in verschiedene Zelltypen

Die zielgerichtete *in vitro*-Differenzierung von iPS-Zellen erfolgt nach etablierten Protokollen unter feeder- und serumfreien Kulturbedingungen. Die Durchführung dieser Leistung nimmt ungefähr zwei Monate in Anspruch und beinhaltet:

a) Funktionelle Herzmuskelzellen

- Kultivierung und Expansion der iPS-Zelllinien
- Direkte *in vitro*-Differenzierung der iPS-Zelllinien in funktionelle Kardiomyozyten (eine Subtyp-gerichtete Differenzierung in ventrikuläre oder atriale Kardiomyozyten wird angeboten)
- Kultivierung und metabolische Selektion der iPS-Zell-Kardiomyozyten (bis Tag 30), Qualitätskontrolle sowie Kryokonservierung (ca. 10 Mio. Zellen)

b) Weitere Zelltypen

- Etablierung von Differenzierungsprotokollen in weitere Zelltypen erfolgt in Kürze oder nach Absprache

(4) Stammzell-Biobank

Patientenspezifische iPS-Zellen sowie deren Derivate werden in der Biobank gelagert und können zur Verfügung gestellt werden. Der Laborservice hierfür umfasst:

- Expansion der Zellen, Qualitätskontrolle und Kryokonservierung
- Bereitstellung von Lagerkapazitäten und flüssigem Stickstoff
- Verpackung und Versand

Gebührenkatalog

(1) Reprogrammierung in iPS-Zellen #	Intern * (Sachmittel)	Extern (Sachmittel + Personal)
	<i>Fibro / Blut</i>	<i>Fibro / Blut</i>
Primärkultur	120€ / 590€	144€ / 686€
Reprogrammierung ohne Charakterisierung	3.000€ / 4.100€	5.000€ / 6.100€
Reprogrammierung mit Charakterisierung auf Pluripotenz	4.500€ / 5.600€	8.500€ / 9.600€
Reprogrammierung mit Charakterisierung auf Pluripotenz + Differenzierungspotential	5.800€ / 6.900€	11.150€ / 12.250€
(2) Genom-Editierung von iPS-Zellen #		
Generierung von KO mittels CRISPR/Cas9	3.900€	9.900€
Generierung von KI / SNP mittels CRISPR/Cas9	5.900€	17.900€
(3) iPS-Zell-Differenzierung #		
Kardiomyozyten-Differenzierung (ca. 10 Mio Zellen)	440€	540€
(4) Stammzell-Biobank		
Bereitstellungsaufwand für iPSCs / Derivate	50€	74€

* Unter internen Projekten werden Nutzungsanfragen von Arbeitsgruppen verstanden, welche im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 1002 oder des Deutschen Zentrums für Herz-Kreislauf-Forschung (Standortprojekte oder ‚Shared Expertises‘) durchgeführt werden.

Eine erfolgreiche Projektdurchführung kann nicht garantiert werden, welche von einer Vielzahl an Faktoren abhängen kann. Die jeweiligen Kosten werden entsprechend der tatsächlich entstandenen Kosten angepasst. Eine Wiederholung der Experimente wird mit dem Nutzer abgestimmt.