

TFS-Info-02b_Informationen zur Beantragung von Bioproben

Version: 1.1 vom 28.10.24

Autorin: Anke Macdonald

1. Einleitung

Dieses Informationsblatt beschreibt die verfügbaren Bioproben, die entsprechende Antragstellung sowie das Prüfverfahren für Bioprobenanträge.

Die Strategie der NAKO bzgl. der Verwendung der endlichen Menge an Bioproben besteht darin, dass die Proben effizient in nicht endliche Daten umgewandelt werden sollen. Mit der Endlichkeit der Bioproben sind außerdem höhere Anforderungen bei der Antragstellung verbunden.

2. Verfügbare Bioproben

Im Rahmen der NAKO Gesundheitsstudie wurden und werden in den 18 Studienzentren folgende Bioproben gesammelt:

Basisuntersuchung (2014-2019):

- Blutproben
- DNA aus Buffy Coat
- Urinproben
- Speichelproben
- Nasenabstriche
- Stuhlproben

Zweituntersuchung (2019-2024):

- Blutproben
- Urinproben

Drittuntersuchung (ab 2024):

- Blutproben
- Urinproben
- Stuhlproben

Ein Drittel der Bioproben wird in den Bioprobenlagern der jeweiligen Studienzentren gelagert, zwei Drittel der Bioproben werden im zentralen Biorepository am HMGU in München gelagert.

Informationen zu den verfügbaren Bioproben werden regelmäßig über eine vom zentralen Biorepository bereitgestellte Datenbank aktualisiert. Spezifikationen zu den entnommenen Proben (Hersteller, Produktnummer, Behandlung, Bearbeitung, Pipettierverfahren, Lagerung), siehe **Anhang 1**.

Die NAKO-Bioproben zeichnen sich durch hohe Qualität und Standardisierung auf der Grundlage spezieller Standard Operating Procedures (SOPs) und einer vollständigen Kühlkette vom lokalen Studienzentrum bis zu den dezentralen Bioprobenlagern und dem zentralen Biorepository aus.

2.1. Probenvorbereitung und Analyse

Ziel ist es, die Bioproben auf der Grundlage etablierter und innovativer Methoden optimal für die molekulare Phänotypisierung zu nutzen, wobei die Methoden das gesamte Spektrum an

Analysekapazitäten aus klinischer, biomedizinischer, umweltbezogener und berufsbezogener Sicht abdecken. Insbesondere ist eine breite Anwendung von Omics-Technologien vorgesehen, die unter anderem Genomics, Epigenomics, Transcriptomics, Metabolomics, Proteomics, Adductomics, Microbiomics und Viromics umfassen. Die folgenden Proben wurden für bestimmte Zwecke reserviert und wurden dazu bereits vor der Einlagerung entsprechend vorbehandelt: Buffy-Coat-Proben und DNA-Proben, die aus den Buffy-Coat-Proben extrahiert werden, sollen für genomische Analysen verwendet werden; stabilisierte Stuhlproben für Transkriptomik oder Genomik; RNA-Proben für Transkriptomik. Siehe dazu **Anhang 2**.

Die Probenanalyse, die eine antragstellende Person durchführt, muss entweder gemäß einem bereits vorliegenden NAKO-Protokoll oder gemäß einem von der antragstellenden Person bei der Beantragung der Nutzung von Bioproben als Antragsanlage eingereichten Protokoll erfolgen.

3. Antragstellung

Die Daten und Bioproben der NAKO-Gesundheitsstudie sind für wissenschaftliche Forschungszwecke über die NAKO Transferstelle (TFS) verfügbar. Über das Webportal TransferHub <https://transfer.nako.de/> können dazu Nutzungsanträge (und NAKO-intern Nutzungsanzeigen) gestellt werden; die Antragstellenden können das Datenverzeichnis einschließlich der Beschreibung der Studienvariablen und Bioproben einsehen.

Antragstellende von außerhalb der EU oder Nutzer, die eine Zusammenarbeit mit Laboren außerhalb der EU planen, müssen besondere formale Schritte unternehmen, um die DSGVO einzuhalten, und sollten sich in jedem Fall im Voraus mit der NAKO Transferstelle in Verbindung setzen.

Allgemeine Informationen zum Antragsverfahren sind abrufbar über das Infoblatt [TFS-Info-03 Informationen zum Nutzungsverfahren](#). Die Besonderheiten bei der Beantragung von Bioproben sind nachfolgend aufgeführt.

3.1. Bioproben Tab

Wenn im Rahmen eines Nutzungsantrags Bioproben benötigt werden, sind diese im TransferHub über den Bioproben Tab auszuwählen. Nur hier aufgeführte Proben können geprüft und übergeben werden.

Im Bioproben Tab können die Antragstellenden den Aufbewahrungsort auswählen, aus dem die gewünschten Proben entnommen werden sollen. In der Regel wird dies das zentrale Biorepository sein.

Ausführliche Informationen zum Ausfüllen des Bioproben Tabs sind dem **Anhang 3** zu entnehmen.

3.2. Bioprobenverantwortliche Person(en)

Es ist eine Person zu bestimmen, die im Rahmen des Nutzungsprojekts für die Bioproben verantwortlich ist. Diese Person ist als Bioprobenempfänger im Bioproben Tab des TransferHub einzutragen, da mit deren Einrichtung ein Nutzungsvertrag geschlossen werden muss. Dieser Nutzungsvertrag ist Voraussetzung für den Versand der beantragten Bioproben. Sollen die Bioproben an mehrere Institutionen versandt werden, ist pro Institution eine bioprobenverantwortliche Person zu benennen.

3.3. Biosample Panel

Für die Prüfung der Bioprobennutzungsanträge wurde ein spezielles Bioprobengremium eingerichtet, das das Use and Access Committee (UAC) nach Aufforderung im Hinblick auf Bioprobenanträge berät bzw. eine Einschätzung abgibt.

Aufgaben:

- Prüfung und Priorisierung von Bioprobenanträgen gemäß den in der Nutzungsordnung genannten Kriterien
- Empfehlung zur Notwendigkeit einer zentralen oder dezentralen Aliquotierung der Proben und ggf. Rückgabe der Bioprobenreste gemäß Nutzungsordnung.

Feste Mitglieder:

- Vertreter*in der Geschäftsstelle/TFS für die Koordination
- Leiter*in des zentralen Biorepository
- Vertreter*innen der Expertengruppe (EG) OMICS, EG Biomaterialien und Laboranalysen und Arbeitsgruppe (AG) Bioproben

Optionale Mitglieder

- Vertreter*in der OMICS-Dateninfrastruktur (TFO-OMICS)
- Vorstandsmitglied mit Ressort Biobanking
- Vertreter*in des Use and Access Committee
- Vertreter*in der jeweiligen Expertengruppe(n), deren Inhalt Gegenstand des jeweiligen Antrags ist
- Vertreter*in für die zentralen Bioproben

Einzelheiten zum Prüfungsverfahren siehe Kapitel 4.

3.4. Sonderfall: Nutzung von dezentral gelagerten Proben

3.4.1. Nutzungsanzeigen

Wenn dezentral gelagerte Bioproben eines Studienzentrums beantragt werden sollen und PI oder Leitung des betreffenden Studienzentrums als Haupt- oder Mit Antragstellende auftreten, bietet der TransferHub ein vereinfachtes Antragsverfahren über eine Nutzungsanzeige an. Nutzungsanzeigen werden nur vom Vorstand geprüft und ggf. freigegeben; der Abschluss eines Nutzungsvertrags ist aufgrund des bestehenden Auftragsverarbeitungsvertrags mit dem betreffenden SZ nicht erforderlich. Anzeigen für dezentral gelagerte Bioproben ohne Beteiligung des betreffenden PIs oder der SZ-Leitung sind nicht möglich. Sollen dezentral gelagerte Proben von mehr als einem Studienzentrum verwendet werden, ist ein normaler Nutzungsantrag zu stellen. Das Verfahren für Nutzungsanzeigen ist im Infoblatt [TFS-Info-03 Informationen zum Nutzungsverfahren](#) ausführlich beschrieben.

Bei Nutzungsanzeigen sind UAC und Biosample Panel nicht involviert.

Bei Freigabe einer Nutzungsanzeige wird das Team des Biorepository informiert und erstellt ein entsprechendes Projekt im Laborinformationsmanagementsystem (LIMS), um die Probenentnahme zu dokumentieren. Die Dokumentation der Entnahme wird von der dezentralen Biobank durchgeführt.

Wird eine Nutzungsanzeige freigegeben, wird außerdem die IT der Transferstelle informiert.

3.4.2. Nutzungsanträge externer Nutzer für in Studienzentren gelagerte Bioproben

Externe Antragstellende, d.h. Antragstellende, die nicht mit dem entsprechenden Studienzentrum verbunden sind, können nur dann Bioproben beantragen, die in einem Studienzentrum eingelagert sind, wenn ein PI des jeweiligen Studienzentrums als mitantragstellende Person im Antrag fungiert. Eine Nutzungsanzeige ist in diesem Fall nicht möglich. Externe Antragstellende müssen sich vorab mit dem jeweiligen Studienzentrum in Verbindung setzen und sich bestätigen lassen, dass die gewünschten Proben beantragt werden dürfen. Sollen Proben mehrerer Studienzentren beantragt werden, müssen die PIs aller dieser Studienzentren sich mit der Beantragung einverstanden erklären und als Mit Antragstellende aufgenommen werden.

4. Antragsprüfung

Die Antragsprüfung ist dem Infoblatt [TFS-Info-03 Informationen zum Nutzungsverfahren](#) zu entnehmen. Es werden hier nur die zusätzlichen Prüfungsschritte beschrieben. Eine schematische Darstellung des Workflows kann dem **Anhang 4** entnommen werden.

4.1. Prüfung durch Use and Access Committee

Nach der formalen Prüfung eines Antrags durch die Transferstelle prüft das Use and Access Committee (UAC) die eingereichten Bioprobennutzungsanträge gemäß den Vorgaben der Nutzungsordnung. Wenn die Basisprüfung positiv ausgefallen ist, informiert das UAC die Transferstelle, die den Antrag zur eingehenderen Prüfung an das Biosample Panel weiterleitet. Führen die Prüfungen des UAC und des Biosample Panels zu widersprüchlichen Schlussfolgerungen, unternimmt das UAC angemessene Versuche, diese Widersprüche zu klären. Letztlich ist das UAC für die Überprüfung verantwortlich.

Nach Rückmeldung der Prüfungsergebnisse des Biosample Panel schließt das UAC die Prüfung ab und übermittelt seine Empfehlung an die Transferstelle, die dann nach dem üblichen Prozedere weiterverfährt.

4.2. Prüfung durch Biosample Panel

Das Biosample Panel tritt alle vier Wochen bzw. nach Bedarf zusammen, um eingegangene Bioprobenanträge zu besprechen. Gegebenenfalls kann die Prüfung eines Antrags auch im Umlauf erfolgen. Alle Anträge, die Bioproben aus dem zentralen Biorepository betreffen, werden von diesem Gremium gemäß den nachfolgend genannten Prüfkriterien geprüft und priorisiert. Nach Abschluss der Prüfung werden die Ergebnisse an die Transferstelle übermittelt.

4.3. Prüfkriterien

Nutzungsanträge, die Bioproben einschließen, werden gemäß Nutzungsordnung auf der Grundlage spezifischer Kriterien für Bioproben geprüft und priorisiert. Diese Kriterien gehen über die hinaus, die für Nutzungsanträge gelten, die nur Studiendaten betreffen. Nutzungsanzeigen (für dezentral gelagerte Proben) unterliegen nicht dieser Priorisierung. Die Überprüfung erfolgt anhand der folgenden Kriterien:

- Verfügbarkeit von Bioproben
- Prüfung der Anforderungen an die Dateninfrastruktur/Datenmenge (OMICS)
- Bewertung von konkurrierenden Anträgen
- Stichprobenmerkmale und Stichprobengröße: Aufgrund des großen Umfangs der NAKO-Studie und ihres Studiendesigns werden Anträge bevorzugt, die die Breite und Tiefe der Phänotypisierung in der folgenden Reihenfolge optimal nutzen:
 1. Projekte, die möglichst viele TN mit einer Methodik untersuchen, z.B. alle TN zu einem Untersuchungszeitpunkt (Basiserhebung);
 2. Projekte, die Daten und Proben aller TN der L2 oder MRT-Untergruppe zu einem Untersuchungszeitpunkt analysieren;
 3. Projekte, die kombinierte Messungen von Basis- und Folgeuntersuchungen in ausgewählten Untergruppen durchführen;
 4. Projekte, die TN für große Fall-Kontroll-Studien nutzen wollen und einen großen Mehrwert für die NAKO haben;
 5. Projekte, die große Kontrollproben von der NAKO für Studien mit externen Fällen untersuchen wollen und einen großen Mehrwert für NAKO bieten.
- Messungen in ausgewählten Unterstichproben sollten wissenschaftlich begründet werden.

- Pilotstudien zur Entwicklung neuer standardisierter Verfahren werden nur akzeptiert, wenn ein besonderes berechtigtes Interesse besteht.
- Optimale Nutzung von Aliquoten. Grundsätzlich gilt, es soll möglichst wenig Probenmaterial verwendet werden:
 - Anträge für Proben mit einem Aliquot pro Bioprobenart werden gegenüber Projekten mit zwei oder drei Aliquoten bevorzugt, um den Materialverbrauch zu minimieren.
 - Anwendungen, bei denen das Volumen durch möglichst viele Analysen vollständig ausgeschöpft wird, werden vorrangig behandelt.
- Das Biosample Panel wird eine Empfehlung abgeben, wo Bioproben aliquotiert werden sollten und wie gegebenenfalls mit Restproben zu verfahren ist.
- Qualität der Proben: Gegebenenfalls Begründung der Qualitätsspezifikationen der angeforderten Proben. Anfragen für Proben höchster Qualität (z. B. strengste Einhaltung der SOPs und kein Auftau-Gefrier-Zyklus) werden am genauesten geprüft.
- Qualitätsgesicherte und gut dokumentierte Methoden
 - Begründung, Qualität und Dokumentation der geplanten Methode. Geplante Analysemethoden müssen gut dokumentiert sein. Wenn möglich, sollten von der NAKO anerkannte Protokolle, die im Antrag aufgeführt sind, verwendet werden. Andernfalls müssen die geplanten Protokolle mit dem Antrag zur Begutachtung eingereicht werden.
 - Ein hohes Maß an Standardisierung hat Vorrang, z. B. bei der OMICs-Analyse. Ansätze, die später für größere Stichprobengrößen erweitert oder wiederholt werden können, werden bevorzugt.
- Wissenschaftliche Prioritäten und Wert für NAKO: Die Überprüfung beinhaltet eine Bewertung der Übereinstimmung oder des Konflikts eines Vorschlags mit den wissenschaftlichen Prioritäten.
- Überprüfung der erforderlichen Dateninfrastruktur bei der zentralen Datenverwaltung der NAKO (durch das Biosample Panel).

4.4. Prüfungsergebnisse

Führt die Prüfung eines Antrags dazu, dass das UAC eine Überarbeitung empfiehlt, wird der*dem Antragstellenden eine automatische Aufforderung zur Wiedervorlage zugesandt. Der Antrag wird zur Überarbeitung freigegeben und nach der Wiedervorlage zur erneuten Prüfung an das UAC weitergeleitet. Wenn die Überarbeitung Bioprobenaspekte des Antrags betrifft, wird das Biosample Panel erneut eingeschaltet.

Führt die Überprüfung zu einer Empfehlung für die Genehmigung oder Ablehnung, wird das Verfahren wie für NAKO-Nutzungsanträge festgelegt durchgeführt. Siehe Infoblatt [TFS-Info-03 Informationen zum Nutzungsverfahren](#)

5. Antragsfreigabe

5.1. Reservierung von Bioproben

1. Nach Prüfung eines Antrags durch UAC und Biosample Panel werden die Bioproben intern im LIMS einem Projekt zugeordnet. Diese Zuordnungen sind unverbindlich und reversibel. Der Zeitpunkt der Antragsprüfung wird festgehalten.
2. Nach Genehmigung durch den NAKO-Vorstand werden die Proben auf eine Warteliste gesetzt. Zu diesem Zeitpunkt wird die Zuteilung zu einer exklusiven Reservierung für die Antragstellenden.

3. Nach Unterzeichnung des Vertrages zwischen NAKO e.V. und (Mit-)Nutzern werden die Bioproben für das beantragte Projekt für die Auslagerung freigegeben.

5.2. Aliquotierung im zentralen Biorepository

Das Biosample Panel wird eine Empfehlung abgeben, wo Bioproben aliquotiert werden sollten und wie gegebenenfalls mit Restproben zu verfahren ist.

Wenn Antragstellende weniger als die gesamte Menge pro Aliquot verbrauchen, gibt es generell zwei Möglichkeiten:

- (1) eine Aliquotierung im Biorepository. Die Aliquotierung kann für alle Proben, außer für Stuhlproben und Nasenabstrichproben, zentral angeboten werden;
oder
- (2) Aliquotierung beim Empfänger.

Antragstellende können im Bioproben Tab den Bedarf und die bevorzugte Option für die Aliquotierung angeben. Im Rahmen seiner Prüfung entscheidet das Biosample Panel dann, welche Art der Aliquotierung angewendet werden soll (zentral im Biorepository oder dezentral durch die Antragstellenden).

Im Allgemeinen werden die folgenden Aspekte berücksichtigt:

- Eine Aliquotierung ist dann sinnvoll, wenn das angeforderte Volumen innerhalb bestimmter Schwellenwerte liegt. Die Entscheidung über Schwellenwerte wird von der Expertengruppe Biomaterialien und Laboranalysen in Absprache mit dem Biorepository-Team getroffen.
- Generell ist es vorzuziehen, dass komplette Aliquote an einen Empfänger geschickt werden, auch wenn nicht das komplette Material angefordert wurde, um einen zusätzlichen Auftau-Einfrier-Zyklus zu vermeiden.
- Verbleibendes, nicht verwendetes Material muss vom Empfänger an das Lager zurückgeschickt werden. Der Empfänger ist für die Einhaltung von SOPs verantwortlich, die den NAKO-Standards entsprechen.
- Die Aliquotierung der aus Buffy-Coat-Proben extrahierten DNA erfolgt immer zentral entsprechend der erforderlichen DNA-Konzentration, unabhängig vom Volumen. Ausnahmen können gewährt werden, wenn spezielle DNA-Isolierungsverfahren zwingend notwendig sind.

Die Kosten für die zentrale oder dezentrale Aliquotierung, einschließlich des Rücktransports und der erforderlichen Röhrchen und Racks, werden vom Nutzer der Bioproben getragen. Die Spezifikationen für Röhrchen und Racks werden vom zentralen Biorepository bereitgestellt.

6. Probenübergabe

(Infoblatt TFS-Info-05 (in Arbeit))

6.1. Freigabe von Bioproben

- Treuhandstelle und Biorepository sind über die Genehmigung eines Antrags durch den Vorstand zu informieren. Zu diesem Zeitpunkt wird den Antragstellenden eine geschätzte Zeit für die Probenzusammenstellung mitgeteilt. Die Zeiten können je nach Lagerort und parallel durchzuführenden Abrufen variieren.
- Anforderungen an die Freigabe.
 - Nach Unterzeichnung des Vertrages zwischen NAKO e.V. und (Mit-)Nutzern können die Proben an den Empfänger verschickt werden.
 - Bioproben mit vorliegender gültiger Einwilligungserklärung können ausgelagert werden. Ein Widerruf der Einwilligung kann jedoch auch nach dem Versand der Proben an einen Antragstellenden erfolgen. In solchen Fällen gibt es keine Auswirkungen auf die begonnenen

Prozesse einschließlich der Probenanalysen. Werden die Proben während der Probenanalyse zurückgezogen, werden die damit verbundenen Daten aus CentraXX entfernt und es sind keine weiteren Verbindungen mit der ID-LIMS möglich.

7. Kosten

Folgende Kosten müssen durch die Institution der Antragstellenden von zentral gelagerten NAKO Bioproben übernommen werden:

- Racks, Röhrchen, Verpackungsmaterial, Trockeneis, Transport und ggf. gleiche Kosten für Rücksendung von Restproben.

Der Transport erfolgt bis auf weiteres über TNT Express (bzw. künftig FedEx Express), dabei wird die TNT Kundennummer des Bioprobenempfängers verwendet. Preise sind der Homepage von TNT ([TNT - Versandkosten](#)) zu entnehmen.

Kosten für Aliquotierung sind mit dem Biorepository abzusprechen (Ansprechpartnerin: Julia Six-Merker; julia.sixmerker@helmholtz-munich.de).

Kosten für die Nutzung dezentraler Proben sind mit dem dezentralen Bioprobenlager zu klären.

Anhang 1: Spezifikationen zu den entnommenen Proben der Basis- und Zweituntersuchung (Hersteller, Präanalytik und Lagerung)

Baseline					
Collection	Manufacturer/ product number	Handling/processing in the study Center	Pipetting procedure	Storage	
Blood samples					
2x 10 ml serum tube with clotting activator without gel	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 367896	4 x inverted, clotting time 30-45 minutes, centrifugation 10 minutes, 15°C, 2500xg	Pipetting robot (Hamilton Robotics, Reno, USA), plates with 96 wells (Azenta Life Sciences, Chelmsford, USA) 250 µl and 500 µl tubes)	<ul style="list-style-type: none"> Central biorepository (2/3 of all collected samples): <ul style="list-style-type: none"> 500µl at -80°C 250µl tubes at -180°C Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C/-180°C 	
3x 10 ml K ₂ EDTA tube (1,8mg/ml)	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 367525	4 x inverted, 30 seconds – max. 5 minutes blood mixer, interims storage until shipping by room temperature	Pipetting robot, plates with 96 wells, separated into: <ul style="list-style-type: none"> Plasma (250 µl) Erythrocytes (250 µl tubes) Extended buffy coat (for later DNA isolation) (500 µl tubes) 	<ul style="list-style-type: none"> Central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -180°C Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C/-180°C Central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -180°C Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C/-180°C Central biorepository (all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> 2x500µl -80°C, one used for DNA isolation 4x500µl -180°C 	
1x 250/400 µl gDNA	Rewity, Waltham, MA, USA / CMG-714 R	Fully automated DNA isolation with the chemagic DNA BC/Saliva Kit H96 on the chemagic Prime 8	<ul style="list-style-type: none"> DNA isolated from 1x buffy coat 	<ul style="list-style-type: none"> Central biorepository <ul style="list-style-type: none"> 1 x 250/400 µl -80°C 	
1x 175 µl, 60 ng/µl gDNA	Rewity, Waltham, MA, USA	Fully automated DNA normalisation on the chemagic Prime 8	<ul style="list-style-type: none"> Normalisation of 1x gDNA to 60 ng/µl 	<ul style="list-style-type: none"> Central biorepository <ul style="list-style-type: none"> 1 x 175 µl -80°C 	
2.5 ml RNA stabilized blood with PAXgene not yet available	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 762165	10 x inverted, 1-2 hours stored at room temperature, 24 hours -max. 72 hours by -20°C, then put into -80°C		<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (all collected samples) -80°C (semi-automated storage system) Prior to storage, the RNA samples were volume reduced in central biorepository. The workflow is as follows: thaw, transfer to 50 ml flacons, centrifuge, remove supernatant, collect in resuspension buffer and vortex, transfer to Azenta tubes 	
Urine samples					

100 ml collecting cup	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / Urine collection cup 364941, Urine tube / 365000	10 ml transferred into urine vacutainer, centrifugation 10 minutes, 15 °C, 2500xg	Pipetting robot, plates with 96 wells (250 µl and 500 µl tubes)	<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> 500µl at -180°C 250µl at -180°C local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C/-180°C
Saliva samples				
Paraffin chewing gum	GC Germany, Bad Homburg, Germany,	Participant chews gum for one minute, then saliva is dispensed; if necessary, the chewing time is extended by another minute	Pipetted by hand, plates with 96 wells (500 µl tubes)	<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C
Medicine cup with lid	Sarstedt, Nümbrecht, Germany / 75.1337.500 + 76.1340.560			
Nasal swabs				
Sterile nylon flock swabs	Copan Flock Technologies, Brescia, Italy	Two swabs are transferred in one 2 ml cryotube pre-filled with RNA-later	-	<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C
Stool samples				
At the same day or one day before the visit in the study center, at home with stool catcher for sample collection	Süsse Labortechnik, Gudensberg, Germany / S1000	Stabilized stool sample is sent to the central university laboratory Greifswald, where it is aliquoted in 500 µl tubes	-	<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C
Two stool collecting tubes were filled:	Biosepar, Mühldorf am Inn, Germany			
<ul style="list-style-type: none"> one is without additives 				
<ul style="list-style-type: none"> one tube was prefilled with 3.5ml RNA-later (RNA stabilizing additive with K2EDTA) 	Quiagen, Hilden, Germany			
The samples are packed in a protective bag "Süsse Schutzbeutel" in a box "Süsse Post Box	Süsse Labortechnik, Gudensberg, Germany / H64490 and H11227			

Slim" and brought to the study center at the time of the examination					
Follow-up examination					
Collection	Manufacturer/ product number	product	Handling/processing in the study Center	Pipetting procedure	Storage
Blood samples					
1x 10 ml serum tube with clotting activator without gel	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 367896		4 x inverted, clotting time 30-45 minutes, centrifugation 10 minutes, 15°C, 2500xg	Pipetting robot (Hamilton Robotics, Reno, USA), plates with 96 wells (Azena Life Sciences, Chelmsford, USA) 250 µl tubes)	<ul style="list-style-type: none"> • Central biorepository (2/3 of all collected samples): <ul style="list-style-type: none"> ○ 1x250µl tube at -80°C* ○ 7x250µl tubes at -180°C • Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ -80°C/-180°C
2x 10 ml K ₂ EDTA tube (1,8mg/ml)	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 367525		4 x inverted, 30 seconds – max. 5 minutes blood mixer, interims storage until shipping by room temperature	Pipetting robot, plates with 96 wells, separated into: <ul style="list-style-type: none"> • Plasma (250 µl tubes) • Extended buffy coat (for later DNA isolation) (500 µl tubes) 	<ul style="list-style-type: none"> • Central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ 250 µl at -180°C • Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ -80°C/-180°C • Central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ 1x500µl -80°C** ○ 1x500µl -180°C • Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ -80°C/-180°C
Urine samples					
100 ml collecting cup	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / Urine collection cup 364941, Urine tube / 365000		10 ml transferred into urine vacutainer, centrifugation 10 minutes, 15 °C, 2500xg	Pipetting robot, plates with 96 wells (250 µl)	<ul style="list-style-type: none"> • central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ 250µl at -180°C • local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ -80°C/-180°C
Second Follow-Up					
Collection	Manufacturer/ product number	product	Handling/processing in the study Center	Pipetting procedure	Storage
Blood samples					
1x 10 ml serum tube with clotting activator without gel	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 367896		4 x inverted, clotting time 30-45 minutes, centrifugation 10 minutes, 15°C, 2500xg	Pipetting robot (Hamilton Robotics, Reno, USA), plates with 96 wells (Azena Life Sciences, Chelmsford, USA) 250 µl and 500 µl tubes)	<ul style="list-style-type: none"> • Central biorepository (2/3 of all collected samples): <ul style="list-style-type: none"> ○ 500µl at -80°C ○ 250µl tubes at -180°C • Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> ○ -80°C/-180°C

2x 10 ml K ₂ EDTA tube (1,8mg/ml)	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 367525	4 x inverted, 30 seconds – max. 5 minutes blood mixer, interims storage until shipping by room temperature	Pipetting robot, plates with 96 wells, separated into: <ul style="list-style-type: none"> Plasma (250 µl) Extended buffy coat (for later DNA isolation) (500 µl tubes) 	<ul style="list-style-type: none"> Central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -180°C Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C/-180°C Central biorepository (all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> 2x500µl -80°C, one used for DNA isolation 4x500µl -180°C
1x 10 ml lithium-heparin tube	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 367526	4 x inverted, 30 seconds – max. 5 minutes blood mixer, interims storage until shipping by room temperature	Pipetting robot, plates with 96 wells, separated into: <ul style="list-style-type: none"> Plasma (250 µl) 	<ul style="list-style-type: none"> Central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -180°C Local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C/-180°C
2.5 ml RNA stabilized blood with PAXgene not yet available	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / 762165	10 x inverted, 1-2 hours stored at room temperature, 24 hours -max. 72 hours by -20°C, then put into -80°C		<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (all collected samples) -80°C (semi-automated storage system) Prior to storage, the RNA samples were volume reduced in central biorepository. The workflow is as follows: thaw, transfer to 50 ml flacons, centrifuge, remove supernatant, collect in resuspension buffer and vortex, transfer to Azenta tubes
Urine samples				
100 ml collecting cup	BD Life Science, Franklin Lakes, USA / Urine collection cup 364941, Urine tube / 365000	10 ml transferred into urine vacutainer, centrifugation 10 minutes, 15 °C, 2500xg	Pipetting robot, plates with 96 wells (250 µl and 500 µl tubes)	<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (2/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> 500µl at -180°C 250µl at -180°C local back-up storage (1/3 of all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C/-180°C
Stool samples				
At the same day or one day before the visit in the study center, at home with stool catcher for sample collection	Süsse Labortechnik, Gudensberg, Germany / S1000	Stabilized stool sample is sent to the central university laboratory Greifswald, where it is aliquoted in 500 µl tubes	-	<ul style="list-style-type: none"> central biorepository (all collected samples) <ul style="list-style-type: none"> -80°C
Stool collecting tube was filled:	Biosepar, Mühldorf am Inn, Germany			

<ul style="list-style-type: none">one tube was prefilled with 3.5ml RNA-later (RNA stabilizing additive with K2EDTA)	Quiagen, Hilden, Germany
The samples are packed in a protective bag "Süsse Schutzbeutel" in a box "Süsse Post Box Slim" and brought to the study center at the time of the examination	Süsse Labortechnik, Gudensberg, Germany / H64490 and H11227

* samples stored at -80°C since August 2020

** samples stored at -180°C since August 2020

Anhang 2: Proben und deren Verfügbarkeit aus dem zentralen Biorepository der Basis- und Zweituntersuchung (Stand: Januar 2024)

Sample type	Volume	Aliquots per subject (Total/in Biorep)	Study participants (Completeness, %)	Study participants at central storage (Completeness, %)	Retrievable	Preprocessing required	Preferred analysis
Baseline examination*							
Plasma	250 µl	48/32	97.1	94.9	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Serum	250 µl	30/20	97.4	96.0	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Serum	500 µl	1/1	96.3	94.3	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Erythrocytes	250 µl	6/4	96.0	94.6	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Buffy Coat	500 µl	6/5	95.5	93.7	Yes (-80°C and -180°C storage temperature)	DNA isolation	DNA isolation → genomics
gDNA	400 (250) µl	1/1	88.3	88.3	Yes (-80°C storage temperature)		
gDNA 60 ng/µl Normalisation	175 µl	1/1			Yes (-80°C storage temperature)	Currently underway at the HMGU	Genotyping, Whole Genome Sequencing, any genomic analysis
Urine	250 µl	12/8	97.3	95.9	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Urine	500 µl	4/4	96.4	94.6	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Saliva	500 µl	2/2	93.5	92.5	Yes (-80°C storage temperature)	DNA isolation, to be done by user	DNA isolation → genomics (microbiome)
Nasal Swab	2 ml	1/1	93,5	91,5	Yes (-80°C storage temperature)	DNA isolation, to be done by user	DNA isolation → genomics (microbiome)
Native Stool	5 ml	1/1	78.3	75.3	Yes (-80°C storage temperature)	No	
Stabilised Stool	500 µl	4/4	84.2	78.3	Yes (-80°C storage temperature)	RNA isolation	RNA isolation → transcriptomics
RNA (PAX Gene) not yet available	10 ml	1/1	9.9	7.9	No, will be volume reduced (500 µl) at the central Biorepository	-	-
RNA (500 µl) not yet available	500 µl	1/1	83.6	83.5	Yes, depending on the state of the RNA volume reduction (-80°C storage temperature)	RNA isolation, to be done by user	RNA isolation → transcriptomics
Follow-up examination**							

Plasma	250 µl	18/12	97.9	94,6	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Serum	250 µl	12/8	97.2	94.7	Yes (-80°C samples since August 2022 and -180°C storage temperature)	No	
Buffy Coat	500 µl	2/2	96.8	88,8	Yes (-180°C storage temperature)	DNA isolation, extraction will take place at HMGU, stored at -80 C	DNA isolation → genomics
Urine	250 µl	6/4	98.7	96.1	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Second Follow-up examination ***							
Buffy Coat	500 µl	3/2	12.6	7.3	Yes (-80°C storage temperature)	DNA isolation, extraction will take place at HMGU, stored at -80 C	DNA isolation → genomics
Plasma	250 µl	18/12	12.8	7.2	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Heparin-Plasma	250 µl	10/6	12.6	7.1	Yes (-180°C storage temperature)	No	
RNA (PAX Gene) not yet available	10ml	1/1	12.1	4.1	Yes (-80°C storage temperature)	-	
RNA (500 µl) not yet available	500 µl	1/1	0	0	Yes, depending on the state of the RNA volume reduction (-80°C storage temperature)	RNA isolation, to be done by user	RNA isolation → transcriptomics
Serum	250 µl	12/8	12.6	7.2	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Serum	500 µl	1/1	12.5	7.1	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Urine	250 µl	6/4	12.8	7.4	Yes (-180°C storage temperature)	No	
Urine	500 µl	6/4	12.8	7.5	Yes (-180°C storage temperature)	No	

Numbers are subject to change when samples are released from stock or consent is withdrawn.

*Planned number of participants for baseline examination has been set to 205,000 except for stool samples. Collection of stool samples had not been introduced by the start of the study, but only in October 2016. In the case of the stool samples, the planned number of participants was set at 100,000.

**Planned number of participants for follow-up examination has been set to 135,000.

*** Planned number of participants for second follow-up examination has been set 87.000

Anhang 3: Bioproben Tab

Bioprobenverantwortliche Person

Hinweis: Welche der mitantragstellenden Personen soll im Rahmen des Vorhabens verantwortlich sein? Die ausgewählte Person wird von den Bioprobenlagern kontaktiert und über den Status der Auslagerungsvorgänge informiert. Weiter soll diese Person das Management der Logistik mit den Laboren leiten und die Probenverwertung oder -vernichtung nach Projektende sicherstellen.

Beschreibung der geplanten Analysen und Analyte

Hinweis: 1. Beschreiben Sie hier die geplanten Analysen und die zu bestimmenden Analyte, oder benennen Sie Standardprotokolle für Analysen.
2. Wenn Sie eine Probenaliquotierung oder Resterückgaben planen, geben Sie dies hier an.
3. Falls Sie Bioproben nach einem nicht publizierten Verfahren verarbeiten wollen, müssen Sie ein eigenes Bioprobenprotokoll mit zum Antrag hochladen.

Analyse (Beschreibung der geplanten Analysen und Analyte)**Bioprobenart (Bitte auswählen)**

- Buffy Coat
- gDNA
- Erythrozyten
- Plasma
- RNA-Blut
- Serum
- Nasenabstrich
- Speichel
- Urin
- Stabilisierter Stuhl
- Nativer Stuhl

benötigte Menge (Als 'benötigte Menge' ist die Menge für die entsprechende Analyse und zusätzlich auch die benötigte Menge zur Verarbeitung (Probenteilung / Pipettierung) insgesamt gemeint.)

- xxx μ l
- xxx μ g
- xxx ng/ μ l

Teilpopulation

- Data Freeze 100.000
- MRT-Studie
- Fußballer-Kohorte
- NAKO Teilnehmende (200k)

Untersuchungswelle

- Erstuntersuchung

Lagerort

- *keine Bioprobenart ausgewählt*

Lieferadresse (hier soll die Adresse (Person im Labor, Straße, PLZ und Ort) des Labors hinterlegt werden. Bei Bioproben, die in unterschiedlichen Labors folgeuntersucht werden, kann die Reihenfolge mit den Pfeiltasten angepasst werden. Der Zwischenversand wird durch die bioprobenverantwortliche Person logistisch betreut.)

Analyse hinzufügen

Mit diesem Knopf können dem Antrag weitere Zeilen an Bioprobenanalysen hinzugefügt werden.

Begründung der Machbarkeit der Analysen für Bioproben

Hinweis: *Begründung/Angaben zu anfallenden Kosten, Angaben zur technischen / finanziellen Durchführbarkeit*

Anhang 4: Workflow Bioprobenbeantragung

