

**Fachliche Stellungnahme**  
**zur Anmeldung von erstmaligen Arbeiten mit GVM**  
**gemäß § 19 Z 1 GTG im kleinen Maßstab des eingetragenen Vereins Open bioLab**  
**Graz/Realraum e.V. in der gentechnischen Anlage Brockmanngasse 15, A-8010 Graz**  
**mit dem Titel:**  
**„Klonierung von pVIB in *E. coli* K12“**

**1.)           Angaben zur Anlage:**

Der eingetragene Verein Open bioLab Graz/Realraum e.V. meldet folgende Labors und Räume der gentechnischen Anlage Brockmanngasse 15, A-8010 Graz an:  
Labor: 1 x Laborarbeitsplatz (260 x 60 cm, stehend), Bunsenbrenner, Abfallbehälter, Automatikpipetten, Messpipetten mit Pipettierhilfe, Waschbecken, Seife, Händedesinfektion, Flächendesinfektion; 1 x Gerätearbeitsfläche (450 x 60 cm, stehend), Waagen, Zentrifugen, UV-/Vis-Spektrophotometer, Mikrowelle, FPLC, UV-/Vis-Belichtungskammer, Gelelektrophorese; 1 x Schreibe arbeitsfläche (190 x 90 cm, sitzend); Wände und Boden verflies, Autoklav, Kühl-/Gefrierschrank (4°C/-16°C), Feuerlöscher, Löschdecke, Erste-Hilfe-Set, Augenspülflasche

**2.)   Zusammenfassende Darstellung der Arbeiten:**

*Escherichia coli* K12 MG1655 soll in LB Medium angezüchtet und in CaCl<sub>2</sub> Lösung resuspendiert werden, um das Plasmid pVIB mittels Sonoporation einbringen zu können. Nach erfolgreicher Expression (biolumineszenter Phänotyp) werden Glycerol-Aliquots angelegt und eingefroren und/oder eine Probe auf festem Agar-Medium gekühlt für weitere Versuche (Plasmid-Extraktion, PCR, etc.) vorgehalten. Alle weiteren angefallenen Proben werden im Autoklav inaktiviert. Das Volumen wird 100 ml nicht überschreiten.

### 3.) Beschreibung des Empfängerorganismus:

*Escherichia coli* K12 MG1655 ist ein Derivat von *Escherichia coli* K12 welcher 1922 aus dem Stuhl eines genesenen Diphtheriepatienten isoliert wurde. Der Stamm trägt keine der bekannten Pathogenitätsgene und kann den Darm des gesunden Menschen nicht dauerhaft besiedeln (1). *Escherichia coli* K12 und seine Derivate werden in die Risikogruppe 1 eingeordnet (2).

### 4.) Beschreibung des Spenderorganismus:

*Allivibrio fischeri* (ehem. *Vibrio fischeri* ehem. *Photobacterium fischeri*). Dieses Bakterium wird in die Risikogruppe 1 eingeordnet (3).

### 5.) Beschreibung der verwendeten Vektoren:

pVIB (ursprünglich veröffentlicht als pJE202) enthält neben dem *lux*-Operon von *Allivibrio fischeri* ein Resistenzgen gegen Ampicilin sowie einen pMB1 ori. Es kann als Derivat des Sicherheitsplasmids pBR322 angesehen werden.

### 6.) Beschreibung der genetischen Veränderung:

Es wird der *lux*-Operon von *Allivibrio fischeri* in *Escherichia coli* K12 MG1655 kloniert und exprimiert.

### 7.) Sicherheitsbewertung:

Durch die genetische Veränderung kommt es zu keiner Erhöhung des Risikopotentials des Empfängerstammes.

### 8.) Sicherheitseinstufung:

Die Arbeiten mit GVM werden in der Sicherheitsstufe 1 eingeordnet.

### 9.) Sicherheitsmaßnahmen:

Durchführung der Arbeiten in Labors der Stufe 1 unter Einhaltung der gesetzlichen Vorschriften für Labors der Stufe 1. Alle Mitglieder des Vereins werden regelmäßig in GLP/GMP geschult. Der Zugang zum Labor ist nur für geschulte Mitglieder möglich. Die Abfälle werden vor der Entsorgung thermisch mittels Autoklaven inaktiviert.

### 10.) Beurteilung der geplanten Arbeiten:

Die Einstufung der geplanten Arbeiten in die Sicherheitsstufe 1 ist gerechtfertigt. Die vorgesehenen Sicherheitsmaßnahmen und die Art der Inaktivierung der GVM und deren Entsorgung sind ausreichend. Die GVM besitzen keinen Überlebensvorteil gegenüber den Empfängerorganismen.

**Die Arbeiten, so wie sie in der Anmeldung beschrieben sind, können in der Sicherheitsstufe 1 durchgeführt werden.**

### 11.) Referenzen:

- 1.) BG Chemie, Merkblatt B 008, 4/93, **p.33**
  - 2.) Österreichisches Gentechnikbuch, 3. Kapitel, Liste risikobewerteter Mikroorganismen für gentechnische Arbeiten – Teil 1.) *Bacteria*, **p.26**
  - 3.) Österreichisches Gentechnikbuch, 3. Kapitel, Liste risikobewerteter Mikroorganismen für gentechnische Arbeiten – Teil 1.) *Bacteria*, **p.82**
-