

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 Brockmannngasse 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 Brockmannngasse 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 CaCl₂ 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
-