

ANGABEN ZUM GENTECHNISCH VERÄNDERTEN ORGANISMUS (GVO)

Ähnliche GVO können in **einem** Formblatt GO zusammengefasst werden.

I. CHARAKTERISIERUNG DES GVO

1. Bezeichnung des GVO:

E. coli K12 MG1655 TB283
E. coli K12 MG1655 TB356
E. coli K12 MG1655 TB402
E. coli K12 MG1655 TB203
E. coli K12 MG1655 TB222
E. coli K12 MG1655 TB205
E. coli K12 MG1655 TB360
E. coli K12 MG1655 TB342

2. Beschreibung des GVO (ggf. Kopien **relevanter** Literatúrauszüge, insbesondere von Primärliteratur, beifügen):

E. coli K12 MG1655 mit tolC-Deletionen, ektopischer Expression von tolC und konstitutiver Expression eines fluoreszierenden Proteins von einem genomischen Lokus, teilweise mit Antibiotikaresistenz.

- TB283: attP21::PR-mCherry::fRT ΔtolC::FRT

- TB356: acrB-gfp::FRT ΔfliC::FRT attP21::PR- mCherry::FRT ΔtolC::FRT attλ::pAH55- tolC(P_{tac}-tolC)-neo(kan)

- TB402: attP21::PR-mCherry::fRT ΔtolC::FRT attλ::pAH55- tolC(P_{tac}-tolC)-neo(kan)

Alle Stämme erzeugt von Bergmiller et al, 2017 (siehe Anhang)

Stämme wurden konstruiert nach Methode von Haldimann und Wanner, 2001 (siehe Anhang)

TB283: Konstitutiv exprimiertes fluoreszierendes Protein (mCherry) von einem genomischen Lokus in ΔtolC Hintergrund

TB356: Wie TB283 mit zusätzlicher Translationsfusion von acrB mit einem fluoreszierenden Protein (GFP), sowie einem genomisch integrierten Plasmid, auf dem tolC unter Kontrolle eines induzierbaren lac-Promotors sowie eine Kanamycin-Resistenz kodiert sind

TB402: Wie TB356 aber ohne fluoreszenz-markiertes acrB

TB203: acrB-gfp::FRT ΔfliC::FRT attP21::PRmCherry::FRT

TB222:acrB-mVenus::FRT ΔfliC::FRT attP21::PRmCherry::FRT

TB205: attP21::PR-mCherry::FRT ΔfliC::FRT

TB360: acrB-gfp::FRT ΔfliC::FRT attP21::PRmCherry::FRT ΔtolC::FRT

TB342: tolC-gfp::chlor

2.1 Angabe des Empfängerorganismus:

E. coli K12 MG1655

2.2 Ausführliche Beschreibung der gentechnischen Veränderung einschließlich des Verfahrens zur Einführung des Vektors/Inserts in den Empfängerorganismus oder des Verfahrens, das zur Erzielung der betreffenden gentechnischen Veränderung angewandt wird:

Stämme wurden konstruiert von Bergmiller et al 2017
siehe Anhang Bergmiller et al 2017, Haldimann & Wanner 2001

2.3 Angabe aller übertragenen Nukleinsäuren (einschließlich der Herkunft des genetischen Materials, ggf. Identität des Spenderorganismus/der Spenderorganismen) und deren Funktion:

siehe Anhang Bergmiller et al, 2017

2.4 Vorgegangene gentechnische Veränderung des Inserts:

siehe Anhang Bergmiller et al, 2017

2.5 Art und Herkunft ggf. verwendeter Vektoren:

siehe Anhang Haldimann & Wanner 2001

2.6 Der GVO wird eingestuft in die Risikogruppe

1

2

3

4

2.7 Risikobewertung des GVO:

Wenn Sie unter Berücksichtigung der Kombination der verschiedenen Nukleinsäuren ein anderes Risikopotential des GVO als das des Empfängerorganismus erwarten, dann füllen Sie bitte auch **Abschnitt II** des Formblattes GO aus.

Selbsklonierung, Klonierung von fluoreszierenden Proteinen

- 2.8 Wie liegt die übertragene Nukleinsäure im GVO vor** (episomal oder integriert, Angaben zur Lokalisierung der Veränderung im Genom und, wenn episomal vorliegend, Angabe zur Genkopienzahl, Möglichkeit einer Aktivierung/Deaktivierung von Wirtsgenen durch die Einfügung)?

Integriert in Phagen-attachment sites attP21, att λ
siehe Anhang Haldimann & Wanner 2001

- 2.9 Werden biologische Sicherheitsmaßnahmen gemäß § 6 i.V. mit Anhang II GenTSV angewendet?**

Ja

Nein

Wenn **ja**, bitte erläutern:

E. coli K12 als Empfänger

- 3. Angaben zur Stabilität der gentechnisch veränderten Merkmale des GVO** (z. B. ist der Verlust der Merkmale sicherheitsrelevant?):

Genomische Insertion stabil

Verlust der Merkmale ist nicht sicherheitsrelevant

- 4. Beschreiben Sie bitte ausführlich die Ihnen verfügbaren Techniken zur Erfassung, Identifizierung und Überwachung des GVO:**

Fluoreszenzmikroskopie, PCR und Sequenzierung, Anzucht auf Kanamycin-haltigem Medium

II. ANGABEN ZU MÖGLICHEN AUSWIRKUNGEN DES GVO AUF MENSCH UND UMWELT

1. Gesundheitliche Erwägungen

- 1.1 Ist eine pathogene, mutagene, toxische, allergene oder sensibilisierende Wirkung des GVO für Menschen oder eine pathogene Wirkung für Tiere oder Pflanzen zu erwarten?**

Ja

Nein

Wenn **nein**, bitte kurze Begründung (danach weiter bei Frage Nr. 2.1):

E. coli K12 ist S1-Organismus

Wenn **ja**, bitte nähere Angaben (z. B. verursachte Krankheiten, Pathogenitätsmechanismen, Virulenz; Wirtsbereich, Vergleich des GVO zum Spender- oder Emp-

fängerorganismus in bezug auf diese Eigenschaften; mögliche Änderung des Infektionsweges oder der Gewebsspezifität; ggf. **relevante** Literatur beifügen):

1.2 Wie wird der GVO (möglicherweise) übertragen?

Durch:

- direkten oder indirekten Kontakt mit der verletzten oder unverletzten Haut oder Schleimhaut
- Aerosole und Staub über den Atemtrakt
- Wasser oder Lebensmittel über den Verdauungstrakt
- Biß, Stich oder Injektion, über die Keimbahn bei tierischen Überträgern_(Überträger angeben)
- andere Möglichkeiten (z. B. diaplazentar, bitte ausführlich erläutern)

1.3. Ist die Mindestinfektionsdosis bei Applikation des GVO bekannt?

Ja Nein Entfällt

Wenn **ja**, bitte nähere Angaben:

1.4. Sind Therapeutika, Impfstoffe und/oder andere wirksame Methoden zur Verhütung und Behandlung von Infektionen mit dem Organismus verfügbar?

Ja Nein

Wenn **ja**, bitte nähere Angaben:

2. Umwelterwägungen

2.1 Kann der GVO seine Erbinformation auf einen anderen Organismus übertragen?

Ja Nein

Wenn **ja**, bitte nähere Angaben:

2.2 Ist mit Wechselwirkungen zu anderen und Auswirkungen auf andere Organismen in der Umwelt (einschließlich voraussichtlicher konkurrierender oder symbiotischer Eigenschaften) im Falle einer unbeabsichtigten Verbreitung des GVO in der Umwelt zu rechnen?

Ja

Nein

Wenn **ja**, bitte nähere Angaben. Wenn **nein**, bitte kurze Begründung:

2.3 Ist mit einer Beteiligung des GVO an Umweltprozessen (wie Stickstofffixierung oder pH-Regelung oder anderen biogeochemischen Prozessen) zu rechnen?

Ja

Nein

Wenn **ja**, bitte nähere Angaben:

2.4 Liegen geeignete Bedingungen zur Besiedlung der Umwelt durch den GVO vor?

Ja

Nein

Wenn **ja**, bitte nähere Angaben. Wenn **nein**, bitte kurze Begründung:

E. coli K12 Stamm

2.5 Welche Informationen über reproduktive Zyklen des GVO, einschließlich der Fähigkeit, Überlebensstrukturen wie Samen, Sporen oder Sklerotien zu bilden, sind vorhanden?

Bildet keine Dauerformen oder Sporen

2.6 Welche sicherheitsrelevanten physiologischen und/oder genetischen Merkmale besitzt der GVO (z. B. Identifizierungsmerkmale, Auxotrophien, Empfindlichkeit / Resistenz gegenüber Antibiotika, Defektmutation)?

Kanamycinresistenz, Defekt in einem der wichtigen Efflux-Systeme von E. coli (tolC), Chloramphenicolresistenz. Stämme teilweise fluoreszenzmarkiert.