

Zm, 12.03.14

**Sicherheitseinstufung
gentechnischer Arbeiten**

**Landesamt für Gesundheit
und Soziales Berlin**

1 Zusammenfassung

1.1 **Nr. der Anlage:** 92/14

1.2 **Projektleiter:** Dr. Katharina Achazi

1.3 **Betreiber:** Freie Universität Berlin

1.4 Thema der gentechnischen Arbeit:

Klonierung, Mutagenese und Expression proteino gener Bindungspartner von polysulfatierten chemischen Polymeren

1.5 Kurzfassung des Vorhabens:

Aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen binden polysulfatierte chemische Polymere an lösliche und membranständige humane und bakterielle Rezeptoren. Ziel des Projekts ist es, direkte Wechselwirkungen (Targeting) an gereinigten Komponenten von möglichen Bindungspartnern für Polymere zu verifizieren. Dazu soll die Nukleinsäuresequenz für den humanen membranständigen Scavenger-Rezeptor LOX-1 (lectin-type oxidized LDL receptor 1) aus einer cDNA Bank amplifiziert und in Vektoren wie pBluescript II KS+ eingefügt und sequenziert werden. Anschließend sollen Nukleinsäuresequenzen für den löslichen extrazellulären Teil des Rezeptors LOX-1, der ein Signalpeptid zur Sekretion trägt, in den eukaryotischen Expressionsvektor pcDNA6/His kloniert werden. Zur Überexpression der Proteine werden die Zelllinien CHO und HEK293 mit den Vektorkonstrukten transient transfiziert.

1.6 **Einschätzung der Sicherheitsstufe durch den Antragsteller:**

Sicherheitsstufe 1

2 Bewertung der vorgesehenen Arbeiten

2.1 Risikogruppen der Spenderorganismen:

gemäß § 5 Abs. 1 i.V.m. Anhang I Nr. 1 GenTSV

Mensch

Nukleinsäuresequenzen für den membranständigen Scavenger-Rezeptor LOX-1 (lectin-type oxidized LDL receptor 1) (teilweise auch verkürzt)

2.2 Risikogruppen der Empfängerorganismen:

gemäß § 5 Abs. 1 i.V.m. Anhang I Nr. 1 GenTSV

2.2.1 *E. coli* K12

zur Transformation mit den Vektoren

pBluescript II KS+

[pUC-Origin; Ampicillinresistenzgen; fl-Origin in (+)-Orientierung; *lac*-Promotor; Multiklonierungssequenz (flankiert von T3- und T7-Promotor); *lacZ* alpha-Sequenz]

pcDNA6/HisA

[pUC-Origin; Ampicillinresistenzgen; CMV-Promotor und T7-Promotor zur Expression der Fremd-DNA; 6xHis-tag; Xpress™-Epitop-tag; Enterokinaseerkennungsstelle; multiple cloning site; Poly(A)-Signal des Rinderwachstumshormogens; fl-Origin; SV40-Origin; Blastocidinresistenzgen unter Kontrolle des EM-7-Promotors; SV40-Poly(A)-Signal]

Risikogruppe 1

2.2.2 Etablierte Zelllinie HEK 293

(humane embryonale Nierenzelllinie, bei der die Nukleotide 1 bis 4.344 des linken Endes des Adenovirus Typ 5-Genoms ins Chromosom 19 integriert sind)

zur Transformation mit dem unter 2.2.1 genannten Vektor pcDNA6/HisA

Risikogruppe 1

2.2.3 Etablierte Hamster-Zelllinie CHO

(Ovarzellen des chinesischen Hamsters)

zur Transformation mit dem unter 2.2.1 genannten Vektor pcDNA6/HisA

Risikogruppe 1

2.3 Risikogruppen der gentechnisch veränderten Organismen

(GVO): gemäß § 5 i.V.m. Anhang I Nr. 2 GenTSV

2.3.1 *E. coli* K12

mit Nukleinsäuresequenzen für den membranständigen Scavenger-Rezeptor LOX-1 (teilweise auch verkürzt und mit einem 6xHis-tag versehen)

in den Vektoren **pBluescript II KS+** oder **pcDNA6/HisA**

Risikogruppe 1

Begründung:

Es werden Nukleinsäuresequenzen ohne pathogenes Potential in *E. coli* K12 eingeführt.

Der Empfängerorganismus ist gemeinsam mit den verwendeten Vektoren als biologische Sicherheitsmaßnahme gemäß Anhang II Teil A GenTSV anerkannt.

2.3.2 Zelllinie HEK 293

mit Hilfe des unter 2.2.1 genannten Vektors **pcDNA6/HisA** transient transfiziert mit Nukleinsäuresequenzen für den membranständigen Scavenger-Rezeptor LOX-1 (auch verkürzt und mit einem 6xHis-tag versehen)

Begründung:

Es werden Nukleinsäuresequenzen ohne pathogenes Potential in eine etablierte Zelllinie der Risikogruppe 1 eingeführt. Spender und Empfänger sind Organismen der Risikogruppe 1. Die Empfängerorganismen sind gemeinsam mit dem verwendeten Vektor als biologische Sicherheitsmaßnahme gemäß Anhang II Teil A GenTSV anerkannt.

2.3.3 Etablierte Hamster-Zelllinie CHO

mit Hilfe des unter 2.2.1 genannten Vektors **pcDNA6/HisA** transient transfiziert mit Nukleinsäuresequenzen für den membranständigen Scavenger-Rezeptor LOX-1 (auch verkürzt und mit einem 6xHis-tag versehen)

Risikogruppe 1

Begründung:

Es werden Nukleinsäuresequenzen ohne pathogenes Potential in eine etablierte Zelllinie der Risikogruppe 1 eingeführt. Spender und Empfänger sind Organismen der Risikogruppe 1. Die Empfängerorganismen sind gemeinsam mit dem verwendeten Vektor als biologische Sicherheitsmaßnahme gemäß Anhang II Teil A GenTSV anerkannt.

2.4 Einstufung der gentechnischen Arbeit:

gemäß § 7 Abs. 3 GenTSV (Laborbereich)
gemäß § 7 Abs. 5 GenTSV (Biologische Sicherheitsmaßnahmen)

2.4.1 zu 2.3.1

Sicherheitsstufe 1

Begründung:

Spender und Empfänger sind Organismen der Risikogruppe 1. Die Empfängerorganismen sind gemeinsam mit den verwendeten Vektoren als biologische Sicherheitsmaßnahme gemäß Anhang II Teil A GenTSV anerkannt. Es liegen die Voraussetzungen gemäß § 6 Abs. 4 und 5 GenTSV vor. Die gentechnisch veränderten Organismen überschreiten gemäß der Risikobewertung nach § 5 GenTSV nicht das Gefährdungspotential von Organismen der Risikogruppe 1 und geben keine gentechnisch veränderten Organismen einer höheren Risikogruppe ab.

2.4.2 zu 2.3.2 und 2.3.3

Sicherheitsstufe 1

Begründung:

Spender und Empfänger sind Organismen der Risikogruppe 1. Die Empfängerorganismen sind gemeinsam mit dem verwendeten Vektor als biologische Sicherheitsmaßnahme gemäß Anhang II Teil A GenTSV anerkannt. Es liegen die Voraussetzungen gemäß § 6 Abs. 4 und 5 GenTSV vor. Die gentechnisch veränderten Organismen überschreiten gemäß der Risikobewertung nach § 5 GenTSV nicht das Gefährdungspotential von Organismen der Risikogruppe 1 und geben keine gentechnisch veränderten Organismen einer höheren Risikogruppe ab.

2.5 Sicherheitsmaßnahmen:

gemäß Anhang III Teil A GenTSV (Laborbereich)

Zu 2.4.1

Stufe 1

Zu 2.4.2

Stufe 1

Weitere Maßnahmen:

keine

Berlin, den 04.03.2014