

13. Angaben zu den gentechnisch veränderten Organismen (GVO) der Arbeit Nr.: 9

in der Anlage Nr.: 92/14

Abkürzungen bitte erläutern, ggf. Abkürzungsverzeichnis verwenden (Anlage)

| Lfd. Nr. | Spender | | Empfänger | | Vektor ^C | übertragene Nukleinsäure | | GVO | | | |
|----------|--|-----------------|---------------|----|-------------------------|--------------------------|---|-------------------------------|----|--------------------------|-------------|
| | Bezeichnung | RG ^D | Bezeichnung | RG | Bezeichnung | Bezeichnung | Gefährdungspotential vorhanden? ^E | Bezeichnung | RG | erzeugt oder erhalten am | entsorgt am |
| 1 | <i>Homo sapiens</i> (Prpf38a, FKBP), <i>Discosoma</i> (RFP) | 1 1 | Hek293T cells | 1 | pEYFP-p65-mDsRed | RFP-FKBP-PRPF38A | nein <input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weil: definiertes Gen | Hek293T- RFP-FKBP-PRPF38A | 1 | 01.08.2016 | |
| 2 | <i>Homo sapiens</i> (U2AF35, FKBP), <i>Discosoma</i> (RFP) | 1 1 | Hek293T cells | 1 | pEYFP-p65-mDsRed | RFP-FKBP-U2AF35 | nein <input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weil: definiertes Gen | Hek293T- RFP-FKBP-U2AF35 | 11 | 01.08.2016 | |
| 3 | <i>Homo sapiens</i> (HP1), <i>Aequorea victoria</i> (ECFP) engineered (Snap) | 1 1 | Hek293T cells | 1 | pSNAPf vector | HP1-ECFP-Snap | nein <input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weil: definiertes Gen | Hek293T- HP1-ECFP-Snap | 1 | 01.08.2016 | |
| 4 | <i>Homo sapiens</i> (LaminA) <i>Aequorea victoria</i> (ECFP) engineered (Snap) | 1 1 | Hek293T cells | 1 | pcDNA3.1-ccdB-3xFLAG-V5 | LaminA-ECFP-Snap | nein <input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weil: definiertes Gen | Hek293T- LaminA-ECFP-Snap | 1 | 01.02.2019 | |
| 5 | <i>Homo sapiens</i> (prpf38a, FKBP) <i>S. pyogenes</i> , (Cas9) | 1 2 | Hek293T cells | 1 | | FKBP-Prpf38A | nein <input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> weil: definiertes Gen | Hek293T-FKBP-Prpf38A (Crispr) | 1 | 01.07.2018 | |

14. Inaktivierung des Abfalls durch: Autoklavieren anderes Verfahren: _____

15. Kenntnisnahme: Funktion^F: _____ Unterschrift: _____ Datum: _____

^C ggf. Vektorkarten beifügen

^D RG = Risikogruppe

^E anzugeben ist ein Stichwort zur Begründung, z.B.: Toxingen, Onkogen, uncharakterisiertes DNA-Fragment, definiertes Gen, cDNA, genomische DNA, Virusgenom, replikationsdefekte infektiöse Viren, o.ä.

^F Betreiber, Projektleiter oder eine von diesen beauftragte Person

Beschreibung der weiteren Arbeiten der Sicherheitsstufe 1 einschließlich Zielsetzung und Risikobewertung:

a) Allgemeine Beschreibung des Vorgehens

Untersuchung der Relevanz der Lokalisation spleißosomaler Proteine. Dazu wird die Lokalisation der spleißosomalen Proteine mittels Konfokalmikroskopie überprüft. Die Auswirkung der Lokalisationsveränderung wird durch Spleiß-Experimente ermittelt.

b) Konkretes Vorhaben

Die Lokalisation spleißosomaler Proteine wird entweder durch Fluoreszenzmarker oder durch Antikörperfärbungen visualisiert und mittels Konfokalmikroskopie betrachtet. Ebenso wird die Auswirkung der Lokalisationsveränderung mittels Mikroskopie betrachtet und zudem mittels Spleiß-Experimenten überprüft. Hierzu werden Hek293T-Zellen mit den Vektoren der spleißosomalen Gene (Prpf38a, U2AF35) transient transfiziert. Zudem wird FKBP-Prp38 nach der Integration ins Genom mittels Crispr Cas9 endogen exprimiert. Das Lamin A-Konstrukt des Vektors pcDNA3.1-ccdB-3xFLAG-V5 wird stabil nach Integration ins Genom exprimiert.

c) Zusammenfassung der Risikobewertung nach § 6 Abs. 1 GenTG