

## Formblatt Z

# **AUFZEICHNUNG FÜR EINE GENTECHNISCHE ARBEIT NACH GENTAUFZV**

### **1. Name und Anschrift des Betreibers**

Freie Universität Berlin – Das Präsidium – (Körperschaft des öffentlichen Rechts)  
Kaiserswerther Str. 16-18, 14195 Berlin

### **2. Lage der gentechnischen Anlage**

Arnimallee 22/Takustr.6, 14195 Berlin

### **3. Nr. der Anlage: 92/14**

### **4. Projektleiter/in (ggf. weitere PL)<sup>A</sup>**

Dr. Daniel Lauster  
(Dr. Katharina Achazi)

### **5. Beauftragte/r für die Biologische Sicherheit<sup>A</sup>**

Dr. Bernhard Loll

### **6. Ab Sicherheitsstufe 2: Bei Umgang mit humanpathogenen Organismen Personen, die in der gentechnischen Anlage tätig sind<sup>A</sup>**

-

### **7. Nr. der Arbeit: 12**

### **8. Thema der Arbeit (bei weiteren S1-Arbeiten Beschreibung und Zielsetzung<sup>B</sup>)**

Klonierung von fluoreszenzmarkierter Mucinfragmenten (human MUC5B, MUC5AC)  
zur Testung von mucolytischen Peptiden

### **9. Sicherheitsstufe**

S1  S2  S3  S4

### **10. Datum des Bescheides oder der Eingangsbestätigung:**

### **11. Zeitpunkt des Beginns und Abschlusses der gentechnischen Arbeiten**

Beginn: 03.06.21

Abschluss:

### **12. Besondere Vorkommnisse <sup>A</sup>**

Alle gentechnischen Arbeiten am Standort Takustraße 3 wurden am 13.01.2020  
eingestellt und am Standort Arnimallee 22 bzw. Takustraße 6 fortgeführt.

<sup>A</sup> bei Platzmangel gesondertes Blatt verwenden

<sup>B</sup> bitte Anlage verwenden

13. Angaben zu den gentechnisch veränderten Organismen (GVO) der Arbeit Nr.: 92/14 in der Anlage Nr.: 92/14  
Abkürzungen bitte erläutern, ggf. Abkürzungsverzeichnis verwenden (Anlage)

Lfd. Nr.	Spender		Empfänger		Vektor <sup>C</sup>		übertragene Nukleinsäure		GVO			
	Bezeichnung	RG <sup>D</sup>	Bezeichnung	RG	Bezeichnung	Bezeichnung	Gefährdungspotential vorhanden? <sup>E</sup>	Bezeichnung	Bezeichnung	RG	erzeugt oder erhalten am	entsorgt am
1	-	-	E. Coli XL1 Blue	1	Puc18	Leervektor	nein x weil: ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_Puc18	E. Coli XL1 Blue_Puc18	1	03.06.21	
2	-	-	E. Coli XL1 Blue	1	Puc19	Leervektor	nein x weil: ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_Puc19	E. Coli XL1 Blue_Puc19	1	03.06.21	
3	-	-	E. Coli XL1 Blue	1	Puc18	Leervektor	nein x weil: ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_Puc18	E. Coli XL1 Blue_Puc18	1	19.07.21	
4	-	-	E. Coli XL1 Blue	1	pcDNA3.1+	Leervektor	nein x weil: ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1	1	21.07.21	
5	Human Trefoil Faktor 3	1	E. Coli XL1 Blue	1	pcDNA3.1+	Trefoil Faktor 3	nein x weil: Bestandteil Mucus ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1_Trefoil Faktor 3 (Anzahl: 2x)	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1_Trefoil Faktor 3 (Anzahl: 2x)	1	25.08.21	
6	Human Trefoil Faktor 3	1	E. Coli XL1 Blue	1	pcDNA3.1+	Trefoil Faktor 3	nein x weil: Bestandteil Mucus ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1_Trefoil Faktor 3 (Anzahl: 5x)	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1_Trefoil Faktor 3 (Anzahl: 5x)	1	31.08.21	
7	-	-	E. Coli XL1 Blue	1	pcDNA3.1+	Leervektor	nein x weil: ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1 (Anzahl 4x)	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1 (Anzahl 4x)	1	14.09.21	
8	Human Trefoil Faktor 3	1	E. Coli XL1 Blue	1	pcDNA3.1+	Trefoil Faktor 3	nein x weil: Bestandteil Mucus ja <input type="checkbox"/>	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1_Trefoil Faktor 3 (Anzahl: 5x)	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1_Trefoil Faktor 3 (Anzahl: 5x)	1	14.09.21	

14. Inaktivierung des Abfalls durch:  Autoklavieren  anderes Verfahren: \_\_\_\_\_, Genehmigung vom: \_\_\_\_\_

15. Kenntnisnahme: Funktion F: PL

Unterschrift:  Datum: 10.09.21

<sup>C</sup> ggf. Vektorkarten beifügen

<sup>D</sup> RG = Risikogruppe

<sup>E</sup> anzugeben ist ein Stichwort zur Begründung, z.B.: Toxigen, Onkogen, uncharakterisiertes DNA-Fragment, definiertes Gen, cDNA, genomische DNA, Virusgenom, replikationsdefekte infektiöse Viren, o.ä.

<sup>F</sup> Betreiber, Projektleiter/in oder eine von diesen beauftragte Person

Lfd. Nr.	Spender		Empfänger		Vektor <sup>G</sup>		übertragene Nukleinsäure		GVO			
	Bezeichnung	RG <sup>H</sup>	Bezeichnung	RG	Bezeichnung	Bezeichnung	Gefährdungspotential vorhanden?!	Bezeichnung	Bezeichnung	RG	erzeugt oder erhalten am	entsorgt am
9	Human MUC5B	1	E. Coli XL1 Blue	1	pcDNA3.1+	Human MUC5B N-terminal	nein x ja <input type="checkbox"/> weil: Bestandteil Mucus	E. Coli XL1 Blue_NT5B (Anzahl 2x)		1	17.09.21	
10	-	0	E. Coli XL1 Blue	1	pcDNA3.1+	Tag Sequence	nein x ja <input type="checkbox"/> weil: Tag Struktur	E. Coli XL1 Blue_pcDNA3.1_Tag Faktor 3		1	17.09.21	
11	-	-	E. Coli XL1 Blue	1	Puc18	Leervektor	nein x ja <input type="checkbox"/> weil:	E. Coli XL1 Blue_Puc18 (Anzahl 2x)		1	20.09.21	

14. Inaktivierung des Abfalls durch:  Autoklavieren  anderes Verfahren: \_\_\_\_\_, Genehmigung vom: \_\_\_\_\_

15. **Kenntnisnahme:**  
Datum: 10.09.21

Funktion: PL Unterschrift: *D. Lauer*

<sup>G</sup> ggf. Vektorkarten beifügen

<sup>H</sup> RG = Risikogruppe

<sup>I</sup> anzugeben ist ein Stichwort zur Begründung, z.B.: Toxingen, Onkogen, uncharakterisiertes DNA-Fragment, definiertes Gen, cDNA, genomische DNA, Virusgenom, replikationsdefekte infektiöse Viren, o.ä.

<sup>J</sup> Betreiber, Projektleiter/in oder eine von diesen beauftragte Person

Lfd. Nr.	Spender		Empfänger		Vektor <sup>K</sup>		übertragene Nukleinsäure		GVO			
	Bezeichnung	RG <sup>L</sup>	Bezeichnung	RG	Bezeichnung	Bezeichnung	Bezeichnung	Gefährdungspotential vorhanden? <sup>M</sup>	Bezeichnung	RG	erzeugt oder erhalten am	entsorgt am

14. Inaktivierung des Abfalls durch:  Autoklavieren  anderes Verfahren: \_\_\_\_\_, Genehmigung vom: \_\_\_\_\_

15. Kenntnisnahme: \_\_\_\_\_ Funktion<sup>N</sup>: \_\_\_\_\_  
 Datum: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

---

<sup>K</sup> ggf. Vektorkarten beifügen  
<sup>L</sup> RG = Risikogruppe  
<sup>M</sup> anzugeben ist ein Stichwort zur Begründung, z.B.: Toxigen, Onkogen, uncharakterisiertes DNA-Fragment, definiertes Gen, cDNA, genomische DNA, Virusgenom, replikationsdefekte infektiöse Viren, o.ä.  
<sup>N</sup> Betreiber, Projektleiter/in oder eine von diesen beauftragte Person



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

**a) Allgemeine Beschreibung des Vorgehens**

Klonierung von fluoreszenzmarkierter Mucinfragmenten (human MUC5B, MUC5AC) zur Testung von mucolytischen Peptiden.

**b) Konkretes Vorhaben**

Die N-terminalen, C-terminalen und Kernregionen der Mucine werden in ganz oder als Domänen aufgeteilt in Plasmide mittels SLIC Cloning eingefügt und in *E.coli* amplifiziert und aufgereinigt. Die Proteine werden in eukaryontischen Expressionszelllinien (HEK293, Lungenzellen) exprimiert. Die Proteine werden nach Aufreinigung für Inhibierungsstudien der Interaktion der Domänen durch synthetische Peptide genutzt. Es wird auch in Inhibierungsstudien getestet, ob die Domänen eine antivirale Wirkung gegen Influenza Viren besitzen.

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

Die Vektoren sind handelsübliche Expressionsvektoren mit definierten Resistenzen und Genprodukten. Die exprimierten Proteine sind Teil des Mucus der Schleimhaut. Die mRNA für die Mucine (MUC5B, MUC5AC) wurden als mRNA-Isolat aus Epithelzellen gesunder Menschen von der AG Mall (Charité) erhalten. Somit ist eine Ansteckung durch Primärzellen von ungetesteten Spendern ausgeschlossen.