

# **AUFZEICHNUNGEN ÜBER GENTECHNISCHE ARBEITEN NACH GENTAUFZV<sup>1</sup>**

Bei weiteren Arbeiten der Stufe 1 ist Ziffer 7 ausführlich auf einem Sonderblatt darzustellen. Ziffer 5 ist erst ab Stufe 2 und bei Umgang mit humanpathogenen Organismen auszufüllen. Bei angemeldeten Arbeiten (erste Arbeit in Stufe 1 und weiter Arbeiten Stufe 2 bis 4) oder genehmigten Arbeiten sind die Unterlagen entsprechend § 2 der Gentechnik-Aufzeichnungsverordnung (GenTAufzV) als wesentlicher Bestandteil der Aufzeichnung aufzubewahren.

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

Universitätsklinikum Essen, Hufelandstrasse 55, 45147 Essen

**2. Lage der gentechnischen Anlage:**

S1-Anlage der Inneren Klinik und Poliklinik (Tumorforschung; Az 64-D-1.55/04; Anl.-Nr. 953)  
WTZ-Forschungsgebäude (GBK-Haus)

**3. Name des Projektleiters:**

Dr. Thomas Mühlenberg (Tel.: 0201 723 3150)

**4. Name des Beauftragten für die Biologische Sicherheit**

Prof. Erich Gulbins (Tel.: 0201 723 85076)

**5. Ab Sicherheitsstufe 2: Bei Umgang mit humanpathogenen Organismen  
Nennung der Personen, die in der gentechnischen Anlage tätig sind**

**6. Zeitpunkt der Anmeldung oder Genehmigung der gentechnischen Arbeit  
oder Aktenzeichen und Datum des Bescheides**

AZ 64-D-1.55/04; Anl.-Nr. 953

**7. Thema der Arbeit (bei weiteren Arbeiten in S1 Beschreibung  
einschließlich Zielsetzung auf gesondertem Blatt)**

Erzeugung von Mutationen in PDGFRA mittels Rekombinantem Cas9 Protein,  
und synthetisierten einzelstang Oligonukleotiden (ssODN) in GIST Zelllinien.

**8. Sicherheitsstufe der Arbeit:**      1       2       3       4

**9. Zeitpunkt des Beginns und Abschlusses der gentechnischen Arbeit**

Beginn: 19.11.2018

Abschluss: 30.5.2019



**10. Besondere Vorkommnisse**

---

<sup>1</sup> Die Aufzeichnungen dürfen weder durch Streichungen noch auf andere Weise unleserlich gemacht werden. Es dürfen keine Veränderungen vorgenommen werden, die nicht erkennen lassen, ob sie bei der ursprünglichen Eintragung oder erst später vorgenommen worden sind.

Formblatt Z

**11. Bezeichnung und für die Sicherheitsbewertung bedeutsame Merkmale einschließlich Verwendung der GVO**  
(RG) = Risikogruppe)

Spenderorganismus		Empfänger		Vektor	Insert/Nukleinsäure		GVO			Datum	
Bezeichnung	RG	Bezeichnung	RG	Bezeichnung	Bezeichnung	1. Risikopotential	Bezeichnung	RG	Erzeugt am:	Entsorgt am:	Unterschrift
Synthetisch	1	GIST-T1	1	Vektorfrei Rec. Cas9	ssODN-PDGFRA-D842V	1	T1-PDGFRA-D842V- HET	1	19.11. 2018	-	
Synthetisch	1	GIST-T1	1	Vektorfrei Rec. Cas9	ssODN-PDGFRA-D842V	1	T1-PDGFRA-D842V- HOM	1	19.11. 2018	-	

Anlage: Formblätter der Anmelde- und Genehmigungsunterlagen und Vektorkarten für ausführliche Darstellung und Darlegungen

**12. Unterschrift des Betreibers oder Projektleiters oder einer von diesen bestimmten Person**

Ort und Datum

Essen 30.11.18

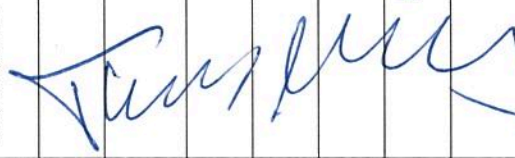
Name, Funktion

Mühlens

Unterschrift



**13. Bezeichnung und für die Sicherheitsbewertung bedeutsame Merkmale einschließlich Verwendung der GVO**  
(RG) = Risikogruppe)

Spenderorganismus		Empfänger		Vektor		Insert/Nukleinsäure		GVO			Datum	
Bezeichnung	RG	Bezeichnung	RG	Bezeichnung	RG	Bezeichnung	2. Risikopotential	Bezeichnung	RG	Erzeugt am:	Entsorgt am:	Unterschrift
Synthetisch	1	GIST-T1	1	Vektorfrei Rec. Cas9	1	ssODN-PDGFRA-D842V+ guide KITE1	1	T1-α-K2	1	30.05. 2019	-	
Synthetisch	1	GIST-T1	1	Vektorfrei Rec. Cas9	1	ssODN-PDGFRA-D842V+ guide KITE11	1	T1-α-K11	1	30.05. 2019	-	
Synthetisch	1	T1-PDGFRA-D842V-HET	1	Vektorfrei Rec. Cas9	1	ssODN-PDGFRA-G652E + guide KITE1	1	T1-α-G652E-K2	1	30.05. 2019	-	
Synthetisch	1	T1-PDGFRA-D842V-HET	1	Vektorfrei Rec. Cas9	1	ssODN-PDGFRA-T674I + guide KITE1	1	T1-α-T674I-K2	1	30.05. 2019	-	
Synthetisch	1	T1-PDGFRA-D842V-HET	1	Vektorfrei Rec. Cas9	1	ssODN-PDGFRA-G680R + guide KITE1	1	T1-α-G680R-K2	1	30.05. 2019	-	
Synthetisch	1	T1-PDGFRA-D842V-HET	1	Vektorfrei Rec. Cas9	1	ssODN-PDGFRA-G652E/V658A +guide KITE1	1	T1-α-52_58-K2	1	30.05. 2019	-	
Synthetisch	1	T1-PDGFRA-D842V-HET	1	Vektorfrei Rec. Cas9	1	ssODN-PDGFRA-G652E/V658A +guide KITE11	1	T1-α-52_58-K11	1	30.05. 2019	-	

Anlage: Formblätter der Anmelde- und Genehmigungsunterlagen und Vektorkarten für ausführliche Darstellung und Darlegungen

**14. Unterschrift des Betreibers oder Projektleiters oder einer von diesen bestimmten Person**

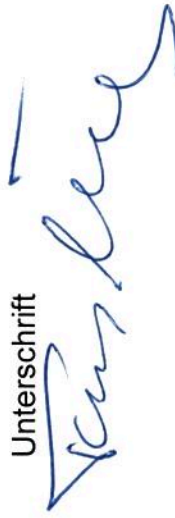
Ort und Datum

8.7.19

Name, Funktion

Mutkenberg

Unterschrift



## Anhang - Verwendete ssODN und sgRNA Sequenzen

### ssODN-HDR-Templates (Mutation; Zielcodon)

#### ssODN- PDGFRA-D842V

TCCTCCTGGCACAAGGAAAAATTGTGAAGATCTGTGACTTTGGCCTGGCAAGAGGTCATCAT  
GCATGATTCGAACTATGTGTGCGAAAGGCAGTGT\*A

#### ssODN-PDGFRA-G652E V658A

CAAGCTCTCATGTCTGAACTGAAGATAATGACTCACCTGGAGCCACATTTAACATTGCAAA  
CTTGCTGGGAGCCTGCACCAAGTCAGGTGGGCTCACT\*G

#### ssODN-PDGFRA-G652

CAAGCTCTCATGTCTGAACTGAAGATAATGACTCACCTGGAGCCACATTTGAACATTGTAAA  
CTTGCTGGGAGCCTGCACCAAGTCAGGTGGGCTCACT\*G

#### ssODN-PDGFRA-G680R

GTCCCATAGGCCCCATTTACATCATCACAGAGTATTGCTTCTATAGAGATTGTCAACTA  
TTTGATAAGAATAGGGATAGCTTCTGAGCCACCA\*C

#### ssODN-PDGFRA-T674I

CTTCATTTTCATACCCATCTCCTAACGGCTTTTGTCCCATAGGCCCATTTACATCATCATA  
GAGTATTGCTTCTATGGAGATTGGTCAACTATTTGCATAA\*G

### sgRNA – Sequenzen (Protospacer; PAM)

#### IVT-PDGFRA-e18 (für D842V)

CCAGAGACATCATGCATGATTCCG

#### IVT-PDGFRA-e14 (für G652E und G652E V658A)

TGAAGATAATGACTCACCTGGCC

#### IVT-PDGFRA-e15 (für G680R)

GTATTGCTTCTATGGAGATTGG

#### IVT-PDGFRA-e15-2 (für T674I)

CCCATTTACATCATCACAGAGT

#### IVT-KIT-e1 (für KIT-e1-Knock Out)

ACCGCGATGAGAGGCGCTCGCGG

#### IVT-KIT-e11 (für KIT-e11-Knock Out)

GTGGAAGGTTGATCACAAATGGG