

31991D0448

91/448/EEZ: Odluka Komisije od 29. srpnja 1991. koja se odnosi na smjernice za klasifikaciju, navedene u članku 4. Direktive 90/219/EEZ

Službeni list L 239, 28.08.1991., str. 0023 — 0026

ODLUKA KOMISIJE
od 29. srpnja 1991.
koja se odnosi na smjernice za klasifikaciju, navedene u članku 4. Direktive 90/219/EEZ
(91/448/EEZ)

KOMISIJA EUROPSKIH ZAJEDNICA,

uzimajući u obzir Ugovor o osnivanju Europske ekonomske zajednice,

uzimajući u obzir Direktivu Vijeća 90/219/EEZ od 23. travnja 1990. o kontroliranome korištenju genetski modificiranih mikroorganizama¹, a posebno njezin članak 4.,

budući da, u smislu ove Direktive, genetski modificirane mikroorganizme treba klasificirati u grupe I i II na temelju kriterija iz Dodatka II. i smjernica za klasifikaciju spomenutih u članku 4., stavku 3.;

budući da prije stupanja na snagu Direktive 90/219/EEZ, Komisija treba utvrditi ove smjernice za klasifikaciju ;

budući da je Odbor predstavnika država članica o odredbama ove odluke dao pozitivno mišljenje u skladu s postupkom predviđenim u članku 21. Direktive 90/219/EEZ,

DONIJELA JE OVU ODLUKU:

Članak 1.

Kad se radi klasifikacija genetski modificiranih mikroorganizama u skladu s člankom 4. Direktive 90/219/EEZ, za tumačenje Dodatka II. Direktive 90/219/EEZ trebaju se koristiti priložene Smjernice.

Članak 2.

Ova je odluka upućena državama članicama.

Sastavljeno u Bruxellesu, 29. srpnja 1991.

Za Komisiju
Carlo RIPA DI MEANA
Član Komisije

DODATAK
SMJERNICE ZA KLASIFIKACIJU GENETSKI MODIFICIRANIH
MIKROORGANIZAMA U GRUPU I
PREMA ČLANKU 4., STAVKU 3., DIREKTIVE 90/129/EEZ

Pri klasifikaciji u Grupi I, za detaljno tumačenje Dodatka II. Direktive 90/219/EEZ trebaju se koristiti sljedeće smjernice:

A. Svojstva receptivnih ili roditeljskih organizama:

1. Nepatogeni

Receptivni ili roditeljski organizmi se mogu klasificirati kao nepatogeni ako ispunjavaju uvjete iz jednoga od sljedećih stavaka:

- i) za receptivni ili roditeljski soj treba biti nepobitno potvrđeno da je siguran za uporabu u laboratoriju i/ili industriji i da ne djeluje štetno na ljudsko zdravlje i okoliš;
- ii) receptivni ili roditeljski soj ne ispunjava uvjete iz stavka i), ali pripada vrsti za koju postoje mnogobrojni podaci o uporabi u biološkom radu, uključujući i podatke o njenoj sigurnoj uporabi u laboratoriju i/ili industriji i koja ne djeluje štetno na ljudsko zdravlje i okoliš;
- iii) ako je receptivni ili roditeljski organizam soj koji ne ispunjava uvjete iz stavka i) i pripada vrsti za koju ne postoje podaci o uporabi u biološkom radu, kao ni o njihovoj sigurnoj uporabi u laboratoriju i/ili industriji, moraju se obaviti odgovarajuća ispitivanja (koja, po potrebi, uključuju i životinje) kako bi se utvrdila njihova nepatogenost i sigurnost za okoliš;
- iv) Ako se koristi neki nevirulentni soj koji pripada inače potvrđenoj patogenoj vrsti, taj soj treba sadržavati što je moguće manje genetskoga materijala koji određuje virulenciju, kako ne bi došlo do promjene u patogenost. Kada se radi o bakterijama, posebno treba paziti na plazmide ili determinante virulencije koji se prenose putem bakteriofaga.

2. Bez slučajnih agensa

Receptivni ili roditeljski soj/stanični niz ne smije sadržavati poznate biološke kontaminirajuće agense (simbionte, mikoplazmu, viruse, viroide, itd.) koji su potencijalno štetni.

3. Za receptivni ili roditeljski soj/stanični niz treba postojati niz dokaza o dugotrajnoj sigurnoj uporabi, ili u njemu moraju biti ugrađene biološke barijere, koje, bez ometanja optimalnoga razvoja u reaktoru ili fermentoru, daju ograničenu sposobnost preživljavanja i reprodukcije, bez štetnih posljedica za okoliš (vrijedi samo za operacije tipa B)

B.1 Svojstva nositelja

1.1 Nositelj treba biti dobro okarakteriziran.

U tu svrhu treba uzeti u obzir sljedeća svojstva:

1.1.1 Informacije o sastavu i građi

- a) Treba se odrediti tip nositelja (virus, plazmid, kozmid, fazmid, transpozibilni element, minikromosom, itd.)
- b) O sastavnim fragmentima nositelja trebaju biti dostupne sljedeće informacije:
 - i) podrijetlo svakoga fragmenta (praroditeljski/progenitorski genetski element, soj organizma u kojemu se praroditeljski genetski element prirodno javljao);
 - ii) ako su neki fragment sintetički, treba se znati njihova funkcija.
- c) Trebaju biti poznate metode konstrukcije.

1.1.2 Informacije o strukturi nositelja

- a) Veličina nositelja treba biti poznata i izražena u osnovnim parovima ili D konfiguraciji
- b) Treba se znati funkcija i relativan položaj:
 - i) strukturalnih gena
 - ii) markerskih gena za selekciju (otpornost na antibiotike, otpornost na teške metale, otpornost na fage, genetski kod za degradaciju ksenobiotika, itd.;
 - iii) regulatornih elemenata;
 - iv) ciljnih mjesta (mjesta nikova, mjesta restriktivne endonukleaze, linkeri, itd.);
 - v) transponozibilnih elemenata (uključujući provirusne nizove)
 - vi) gena vezanih za funkciju prenošenja i pokretanja (npr. s obzirom na konjugaciju, transdukciju ili kromosomsku integraciju);
 - vii) replikon(i)

1.2 Nositelj ne smije sadržavati štetne nizove.

Nositelj ne smije sadržavati genski kod za potencijalno štetna ili patogena svojstva (npr. determinante virulencije, toksine, itd.) (osim ako, za operacije tipa A, takvi geni čine bitno obilježje nositelja i ni pod kojim uvjetima ili okolnostima ne rezultiraju u štetnom ili patogenom fenotipu genetski modificiranoga mikroorganizma).

1.3 Veličina nositelja treba biti što je moguće više ograničena na genetske nizove koji su neophodni za obavljanje predviđene funkcije.

1.4 Nositelj ne smije povećati stabilnost genetski modificiranoga mikroorganizma u okolišu (osim ako je to neophodno radi njegove predviđene funkcije).

1.5 Nositelj treba biti slabo pokretljiv.

1.5.1 Ako je nositelj plazmid:

- i) raspon njegovih domaćina treba biti ograničen
- ii) trebaju mu nedostajati prijenosno-pokretački faktori, npr. Tra, Mob+, za operacije tipa A, ili Tra, Mob, za operacije tipa B.

1.5.2 Ako je nositelj virus, kozmid ili fazmid:

- i) raspon njegovih domaćina treba biti ograničen
- ii) treba se učiniti nelizogenim kad se koristi kao nositelj za kloniranje (npr. nedostaje mu CI-lamda represor).

1.6 Nositelj ne smije prenositi markere otpornosti na mikroorganizme za koje nije poznato da ih stječu prirodним putem (ako bi to moglo ugroziti upotrebu lijeka za kontrolu agensa bolesti).

B.2 Svojstva koja treba imati umetak

2.1 Umetak treba biti dobro okarakteriziran.

U tu svrhu treba uzeti u obzir sljedeća svojstva:

2.1.1 Treba se znati podrijetlo umetka (rod, vrsta, soj).

2.1.2 Trebaju biti poznate sljedeće informacije o librariji iz koje umetak potječe:

- i) izvor i metoda dobivanja nukleinske kiseline od interesa (cDNA, kromosomski, mitokondrijski, itd.)
- ii) nositelj u kojemu je izgrađena librarija (npr. lamda GT 11, pBR 322, itd.) i mjesto na kojemu je umetnuta DNA

- iii) metoda korištena za identifikaciju (kolonija, hibridizacija, slabljenje imuniteta)
- iv) soj upotrijebljen za izradu librarije

2.1.3 Ako je umetak sintetički, treba utvrditi njegovu predviđenu funkciju.

2.1.4 Potrebne su sljedeće informacije o strukturi umetka:

- i) informacije o strukturalnim genima, regulatornim elementima
- ii) veličina umetka
- iii) mjesta restriktivne endonukleaze koja se nalaze bočno od umetka
- iv) informacije o transpozibilnim elementima i provirusnim nizovima

2.2 Umetak ne smije sadržavati štetne nizove

- i) Funkcija svake genetske jedinice u umetku treba biti definirana (ovo se ne primjenjuje na operacije tipa A).
- ii) Umetak ne smije sadržavati genski kod za potencijalna patogena svojstva (npr. determinante virulencije, toksine, itd.) (osim ako, za operacije tipa A, ovakvi geni čine bitan dio umetka i ni u kojim okolnostima ne rezultiraju u štetnom ili patogenom fenotipu genetski modificiranoga mikroorganizma).

2.3 Veličina umetka mora biti ograničena, koliko god je to moguće, na genetske nizove neophodne za obavljanje predviđene funkcije.

2.4 Umetak ne bi smio povećati stabilnost konstrukta u okolišu (osim ako je to neophodno za predviđenu funkciju).

2.5 Umetak treba biti slabo pokretljiv. Na primjer, ne bi smio sadržavati transponirajuće ili prenosive provirusne nizove i druge funkcionalne transponirajuće nizove.

C. Svojstva koja se traže od genetski modificiranoga mikroorganizma:

1. Genetski modificirani mikroorganizam treba biti nepatogen. Ovaj se zahtjev u prihvatljivoj mjeri osigurava ispunjavanjem gore navedenih uvjeta.
2.
 - a) Genetski modificirani mikroorganizmi trebaju biti jednako sigurni (za čovjeka i okoliš) kao i receptivni ili roditeljski sojevi (ovo vrijedi samo za operacije tipa A).
 - b) Genetski modificirani mikroorganizmi trebaju biti jednako sigurni u reaktoru ili fermentoru kao i receptivni ili roditeljski sojevi, ali trebaju imati ograničenu sposobnost preživljavanja i/ili reprodukcije izvan

reaktora ili fermentora, bez štetnih posljedica za okoliš (ovo vrijedi samo za operacije tipa B).

D. Ostali genetski modificirani mikroorganizmi koji bi se mogli uključiti u Grupu 1, ako ispunjevu gore navedene uvjete pod točkom C. :

1. Oni koji su u potpunosti sastavljeni od jednoga prokariotskog primatelja (uključujući njegove prirodene plazmide i viruse) ili od jednoga eukariotskog primatelja (uključujući njegove kloroplaste, mitokondrije, plazmide , ali isključujući viruse).

2. Oni koji se u potpunosti sastoje od genetskih nizova iz različitih vrsta koji razmjenjuju te nizove putem poznatih fizioloških procesa.

agent *n* agens, svaka sila, princip ili supstanca koja može proizvesti efekt, bio on fizički, kemijski ili biološki

chromosom *n* kromosom

integration *n* integracija (*u bakterijskoj genetici*) asimilacija genetskog materijala iz jedne bakterije (donatora) u kromosom druge (primatelja)

conjugation *n* konjugacija (*u bakterijskoj genetici*) oblik seksualne reprodukcije kod koje bakterija davatelj (muška bakterija) svoju cijelu DNA, ili njezin dio, (u obliku repliciranoga seta) daje bakteriji primatelju (ženskoj bakteriji), koja onda rekombinacijom unese različitu genetsku informaciju u vlastiti kromosom i kroz reprodukciju prenosi taj rekombinirani set na svoje potomstvo

cosmid *n* nositelj konstruiran od DNA plazmida umetnut in vitro u fag, koristan za kloniranje velikih (do 50 kb) fragmenata DNA

D – kemijski prefiks (malo tiskano D) koje označava relativnu konfiguraciju enantiomera

degradation *n* degradacija, slabljenje, izrođenje

determinant *n* faktor koji uspostavlja prirodu nekog entiteta ili događaja

enantiomer *n* jedan u paru spojeva koji imaju zrcalni odnos

endonuclease *n* svaka nukleaza koja posebno katalizira hidrolizu unutarnjih veza lanaca ribonukleotida ili deoksiribonukleotida, proizvodeći poli- ili oligonukleotide.

restriction endonuclease – restriktivna endonukleaza, endonukleaza koja hidrolizira deoksiribonukleinsku kislinu, cijepajući je na karakterističnom mjestu specifičnoga osnovnog obrasca. Na taj način ovaj enzim degradira DNA koja je stanici strana, ali čuva DNA stanice

genes coding *n* genski kod

indigenous *adj* urođen, prirodan

library *n* (lat. *libraria*) (*u genetici*) set kloniranih fragmenata DNA koji zajedno predstavljaju cijeli genom, ili geni transkribirani određenim tkivom. Naziva se također DNA 1

linker *n* bilo koji mali fragment DNA koji sadrži jedan ili više

lysin *n* (gr. *lyein* – rastvoriti) svaka supstanca koja izaziva lizu

lysis *n* (gr.) liza, rastvaranje, labavljenje, oslobađanje

lysogenic *adj* lizogen, koji proizvodi lizine, vezan za lizogeniju

lysogeny *n* lizogenija, fenomen kod kojega se bakterija zarazi blagim bakteriofagom, virusna DNA se integrira u kromosom stanice domaćina i replicira zajedno s kromosomom domaćina kroz mnogo generacija (lizogeni ciklus), a zatim ponovo počinje produkcija

viriona i liza stanica domaćina (litički ciklus). Litički ciklus započinje spontano, otprilike jednom u 10.000 staničnih podjela, ili ga može potaknuti ultraljubičasto svjetlo ili kemijska sredstva

marker *n* nešto što utvrđuje ili se koristi za utvrđivanje (uspoređi s **determinantom**)

genetski marker – genetski polimorfizam s jednostavnim modom nasljeđivanja, koristan u proučavanju familija, proučavanju distribucije gena u populacijama i analizi veza

mitochondria *n* mitokondriji, male, sferične štapičaste komponente (organele) koje se nalaze u citoplazmi stanica. Sadrže DNA i RNA, pomoću kojih se mogu nezavisno replicirati i kodirati za sintezu nekih od svojih proteina

phage *n* fag, bakteriofag, onaj koji jede ili uništava bakterije

phasmid *n* fazmid – 1. jedan od dva kemoreceptora, oblika repa, koji se povremeno javljaju u određenim nematodama. Klasa nematoda se ponekad dijeli u dvije podklase, fazmidije i afazmidije, na temelju prisustva ili odsustva tih organa; 2. nematoda koja pripada fazmidijama.

phenotype *n* fenotip, cjelokupna fizička, biokemijska i fiziološka struktura organizma, koja je određena i genetski i uslijed okoline

plasmid *n* izvankromosomska struktura, koja se sama umnožava i nalazi se u bakterijskim stanicama, koja nosi gene za razne funkcije koje nisu bitne za razvoj stanice.

progenitor *n* praroditelj

procariotic *adj* – prokariotski, koji nema pravu jezgru (nukleus) ili pravu membranu

recipient *n* primatelj

adj receptivni, koji prima, primateljski

recombinant *n* – rekombinant, stanica ili organizam s novom kombinacijom gena koji se zajedno ne nalaze ni kod jednoga roditelja

DNA rekombinant – molekula DNA koja se sastoji od povezanih lanaca koji se normalno ne javljaju u istoj molekuli, kao npr. bakterijski plazmid u koji je umetnut segment virusne DNA

recombination *n* – (gen.) rekombinacija, stvaranje nove kombinacije gena koja nastaje kao rezultat razmjene između homolognih kromosoma

bakterijska rekombinacija – (u bakterijskoj genetici) proces stvaranja novoga gena pomoću nekoliko procesa, npr. spolnim spajanjem dvaju roditelja, molekularnom razmjenom između dvaju lanaca DNA, ili transformacijom (promjenom oblika)

replicon *n* replikon, dio DNA koji sadrži početnu i završnu točku i može se sam replicirati.

Bakterijski kromosom ili plazmid sastoji se od jednoga replikona, dok kromosom sisavca može sadržati 30.000 do 40.000 replikonskih jedinica.

site *n* mjesto, položaj, lokus

restriction site – osnovni niz u segmentu DNA koji se prepoznaje po određenoj restriktivnoj endonukleazi

symbiont *n* simbiont, simbion, organizam koji živi u simbiozi

transduction *n* transdukcija, metoda genetske rekombinacije bakterija, kod koje se DNA iz lizirane bakterije prebacuje u drugu bakteriju pomoću bakteriofaga, čime se mijenja genetska konstitucija drugoga organizma

transposition *n* seljenje genetske informacije s jednog mjesta (lokusa) na drugo, npr. preko transpozona

transposon *n* transpozon, mali mobilni genetski (DNA) element koje se može kretati unutar genoma, ili do drugih genoma u istoj stanici, obično se kopirajući na drugo mjesto (lokus), ali ponekad i tako da se odpoji s prijašnjeg mjesta i umetne na novo mjesto. Složeni transpozoni mogu nositi i druge gene, pored onih za transpoziciju. Transpozoni se ponekad nazivaju transpozibilnim elementima.

virulencija *n* stupanj patogenosti mikroorganizma indiciran ozbiljnošću nastale bolesti i njegove sposobnosti invadiranja tkiva domaćina

virulent *adj* virulentan, kojega karakterizira virulencija, jako patogen, štetan

xenobiotic *n* ksenobiotik, kemikalija koja je strana biološkom sustavu