



Bundesministerium für Gesundheit
und Frauen - Abteilung IV/B/12
Radetzkystraße 2
A - 1030 Wien

Stand: Juli 2004

ANMELDUNG
von erstmaligen Arbeiten mit GVO im
 kleinen bzw. **großen Maßstab**
(zutreffendes ankreuzen)

Einstufung der geplanten Arbeiten in Sicherheitsstufe (zutreffendes ankreuzen)

- Sicherheitsstufe 1**
 Sicherheitsstufe 2

Klassifizierung des GVO (zutreffendes ankreuzen)

- | | |
|--|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Bakterien | <input type="checkbox"/> andere eukaryote Zellen |
| <input checked="" type="checkbox"/> Viren | <input type="checkbox"/> Nutzpflanzen |
| <input type="checkbox"/> Pilze | <input type="checkbox"/> andere Pflanzen |
| <input type="checkbox"/> andere Mikroorganismen | <input type="checkbox"/> Nutztiere |
| <input type="checkbox"/> Humanzellen | <input type="checkbox"/> andere Tiere |

Bei Arbeiten mit GVM: Kulturvolumen: 50 - 100 l

- über 600 Liter (l)**
(Kulturvolumen angeben)

Protokoll der KBS liegt bei: **JA** **NEIN**

1. Informationen über Betreiber, BBS, KBS ,Projektleiter und Anlage:

1.1. Betreiber:	
Name:	Company A
Adresse:	Street B, 1, A-1230 Vienna
Telefon:	111111111
Fax:	111111112
e-mail:	comp@comp.at

1.2. Beauftragter für biologische Sicherheit (BBS):	
Name:	Dr. B
Telefon:	111111111
Fax:	111111112
e-mail:	Dr.B@comp.at
Qualifikation und Ausbildung:	
PhD in Biochemistry, since 1990 Head of Department of Molecular Biology of Company A	
1.2.1. Stellvertreter des Beauftragten für biologische Sicherheit:	
Name:	Dr. C
Telefon:	111111111
Fax:	111111112
e-mail:	Dr.C@comp.at
Qualifikation und Ausbildung:	
PhD in Genetics; since 1999 Head of the Department of Genetics of Company A	

1.3. Mitglieder des Komitees für biologische Sicherheit:
1.3.1. Anzahl: gesamt: 3 intern: 2 extern: 1
1.3.2. Interne Mitglieder:
Name: Dr. B
Qualifikation und Ausbildung: See 1.2
Name: Dr. C
Qualifikation und Ausbildung: See 1.2.1
Name:
Qualifikation und Ausbildung:
Name:
Qualifikation und Ausbildung:
Name:
Qualifikation und Ausbildung:

1.3.3. externe Mitglieder:	
Name:	Dr. D.
Adresse:	Inst. of Genetics, Street C, 1, A-1030 Vienna
Telefon:	222222222
Fax:	222222223
e-mail:	<u>DrD@gem.univie.ac.at</u>
Qualifikation und Ausbildung, sowie derzeitige Tätigkeit:	
PhD in Genetics, Since 1996 a.o. Prof. at the Institut of Genetics	
Name:	
Adresse:	
Telefon:	
Fax:	
e-mail:	
Qualifikation und Ausbildung, sowie derzeitige Tätigkeit:	

1.4. Projektleiter (entfällt bei Arbeiten mit GVO in der Sicherheitsstufe 1):	
Name:	Dr. E.
Telefon:	11111111
Fax:	11111112
e-mail:	<u>der@comp.at</u>
Qualifikation und Ausbildung:	
PhD in Microbiology, since 1999 Head of the Department of Microbiology at Company A	

1.5. Angaben zur gentechnischen Anlage:
1.5.1. Anschrift der gentechnischen Anlage:
Street A, 1, A-1230 Vienna
1.5.3. Beschreibung der für die Arbeiten mit GVO und deren Sicherheit maßgeblichen Teile der gentechnischen Anlage (inklusive beigelegter Lagepläne, Raumbezeichnung und Ausstattung gem. Anhang II der Systemverordnung BGBl. II Nr. 431/2002):
Object 01: Contructial drawings are attached Room Nr. 1: Construction and cloning of GMO Room Nr. 2: Cultivation of GMO in small scale Room Nr. 3: Purification of rekombinant proteins of GMO Room Nr. 4: Storage of frozen cultures of GMO Room Nr. 5: Testing of the proteins in mice Access to the labs is restricted. the entrances are marked with a biohazard sign, the employees are wearing personal protective clothing and gloves, a hygiene plan is laid down in written form, surfaces are easy to clean and spread of aerosols is minimized.

2. Zusammenfassende Darstellung der Arbeiten:

2.1. Titel der Arbeiten:

Cloning of Yellow Fever virus (YFV) genes in E. coli and Vero cells

2.2 Beschreibung der Arbeiten/Prozessführung inklusive erwartete, für die Sicherheit relevante Ergebnisse (möglichst detaillierte und chronologische Auflistung der geplanten Arbeitsschritte):

Cloning and expression in E. coli: RT-PCR: RT-PCR with specific primers for parts of the YFV genome, in particular preME (precursors of structural proteins), cloning of these fragments into pPCR-Script AMP SK(+). Control of the cloned fragments via sequencing. Proof of expression of genes orf gengfragments via western blot. Purification of recombinant proteins and production of antisera in mice.

Cloning of the total YFV genome divided in two parts into two plasmids. Amplification of the two plasmids in E. coli. Transfection of Vero cells with both plasmids and purification of the resulting, not manipulated YFV.

2.3 Beschreibung des Empfängerorganismus (z.B. Genotyp, Sicherheitseinstufung, Herkunft, Literaturzitate, Katalognummern, sowie sonstige, für die Sicherheit relevante Eigenschaften):

E. coli BL21 obtained from Pharmacia Cat Nr. X11111. Risk group 1

Vero cell line obtained from ATCC Cat Nr. CCL81. Risk group 1

2.4 Beschreibung des Spenderorganismus (z.B. Genotyp, Sicherheitseinstufung, Herkunft, Literaturzitate, Katalognummern, sowie sonstige, für die Sicherheit relevante Eigenschaften):

Yellow fever virus, obtained by CDC. Risk group 3

2.5. Beschreibung und Bezeichnung der verwendeten Vektoren, inklusive Vektorkarten und deren sicherheitsrelevante Eigenschaften (z.B. Resistenzgene, Promotoren, origins of replication, Repressoren, Sicherheitseinstufung, Herkunft, Literaturzitate, Katalognummern, sowie sonstige, für die Sicherheit relevante Eigenschaften):

pPCR-Script Amp SK(+) obtained by Stratagene Cat Nr.211188. f1 ori, lacPromoter, pUCori, amp-resistance. pPCR-Script is a derivative of the approved biosafety vector pBR322 and can therefore be classified into risk group 1.

2.6. Beschreibung und Bezeichnung des für die genetische Veränderung verwendeten Materials, und dessen Genprodukte (z.B. Sequenzdaten, Accessionnummer, Sicherheitseinstufung, Herkunft, Literaturzitate, sowie sonstige, für die Sicherheit relevante Eigenschaften):

The whole genome of the yellow fever virus is known (Genebank NC002031).

2.7. Begründung der Sicherheitsbewertung in Bezug auf Mensch, Tier, Pflanze und Ökosystem (z. B. Verwendung eines anerkannten biologischen Sicherheitssystems, kein Überlebensvorteil des GVO in der Umwelt im Vergleich zum Ausgangsstamm, keine Toxizität des Genprodukts etc.):

There is no risk for the employees and the environment when conducting the work under biosafety level 2 conditions. The used E. coli strains are not able to colonize and have a reduced survival rate outside the lab. The inserted genes of the YFV have no known toxic properties. Surface proteins of Flavivirus with comparable virulence (FSME) were expressed and showed no adverse effects in animal models.

2.8. Einstufung des GVO in eine Risikogruppe und Beschreibung der beabsichtigten Sicherheitsmaßnahmen (z.B. Einhaltung der international üblichen GLP-/GMP-Standards, Schulung des Personals, restriktiver Zugang zu den Labors in denen mit GVO gearbeitet wird, etc.):

The GMO are classified into BSL-2. the used E. coli strains are non colonizing and show a reduced survival rate outside the lab. the plasmids are non mobilizing and the genetic marker are coding for antibiotica resistance, usually not used for clinical purposes.

Veros cells are classified as BSL-1 and have no known potential toxic or pathogen properties. The inserted DNA comes from the YFV (risk group 3), but the expressed genes are coding for surface proteins (preME), which have no influence on virulence of the donor organism.

All work will be done in BSL-2 equipped labs, according to the "Systemverordnung". The employees recive regular trainings for biosafety, handling, using and disposal of GMO and contaminated, infectios material.

2.9. Maßnahmen zur Inaktivierung der GVO und zur Entsorgung der inaktivierten Abfälle:

Waste will be collected in autoclaveable containers. The inactivation via autoclaving is done according to SOPs. The inactivated waste will be incinerated.

2.10 Feststellung der Einschließungsstufe zur Bestätigung der Richtigkeit der Sicherheitseinstufung gemäß Teil B Z 3 Systemverordnung, BGBl. II Nr. 431/2002 (zutreffendes ankreuzen):

- Einschließungsstufe 1
- Einschließungsstufe 2

2.11. Einstufung der geplanten Arbeiten in Sicherheitsstufe (zutreffendes ankreuzen):

- Sicherheitsstufe 1
- Sicherheitsstufe 2

3. Sicherheitsmaßnahmen:

3.1. Informationen über Maßnahmen zur Unfallverhütung (nur anzugeben im Falle von Arbeiten der Sicherheitsstufe 2):

The personal is intensively trained. The theoretical and practical background of the experiments will be discussed. The regular training of the the employees is recoded.

3.2. Beschreibung der geplanten Veränderung des Empfängerorganismus bei Arbeiten mit Wirbeltieren und Darstellung der verfolgten biomedizinischen und entwicklungsbiologischen Ziele im Falle von Arbeiten mit transgenen Wirbeltieren unter Durchbrechung der Artgrenze:

not applicable

4. Freigabe:

4.1. Beurteilung durch das Komitee für biologische Sicherheit:
Der durchgeführten Sicherheitseinstufung und den vorgeschlagenen Sicherheitsmaßnahmen wird zugestimmt (zutreffendes ankreuzen):
<input checked="" type="checkbox"/> JA <input type="checkbox"/> NEIN
Das Protokoll der KBS liegt bei (zutreffendes ankreuzen)
<input checked="" type="checkbox"/> JA <input type="checkbox"/> NEIN

4.2. Folgende Daten könnten der Wettbewerbsstellung des Betreibers bei Bekanntwerden schaden und dürfen somit der Öffentlichkeit gem. §105 und §106 GTG nicht zugänglich gemacht werden:
Informations of point 2.1, 2.2 and 2.4

4.3. Unterschrift des BETREIBERS:
Name: Dr. Z
Datum: 20.10.2004
Unterschrift: