

Fortbildungsveranstaltung nach §28 GenTSV

**Gefährdungspotenziale von Organismen bei
gentechnischen Arbeiten unter besonderer
Berücksichtigung der Mikrobiologie**

Dr. Anke Stein

**Geschäftsstelle der Zentralen Kommission für die
Biologische Sicherheit**

Abteilung Gentechnik am BVL

Genehmigung von Freisetzungen

national zuständige Behörde
für Inverkehrbringen nach 2001/18/EG

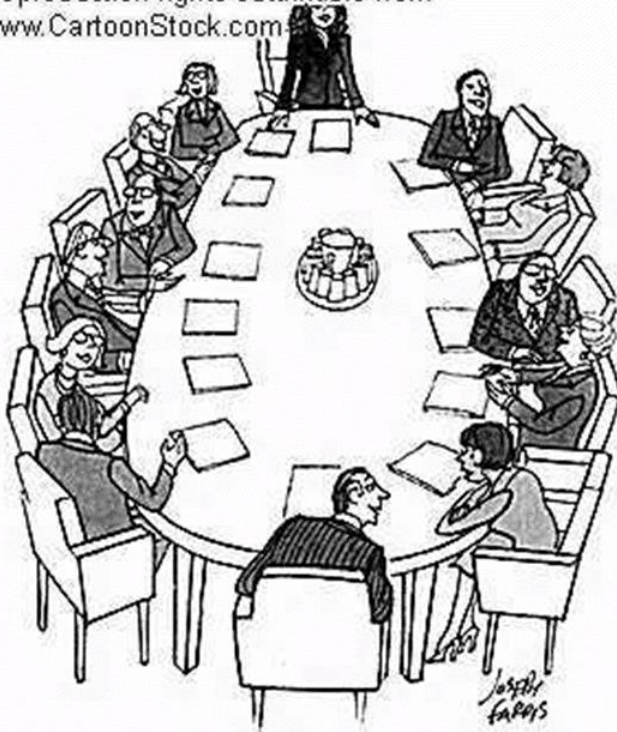
Standortregister

Nachweis & Rückverfolgbarkeit/
Biosafety Clearing House

Geschäftsstelle der ZKBS

Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit

© Original Artist
Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



"Enough small talk. It's time for big talk."

§ 4 GenTG:

- **Zusammensetzung**

20 Mitglieder

20 stellvertretende Mitglieder

- **Berufung**

3 Jahre durch das BMEL

(BMG, BMAS, BMWi, BMBF, BMU)

§ 4 Abs. 1 Nr. 1 GenTG **12 Sachverständige**

- **Mikrobiologie**
- **Zellbiologie**
- **2 x Virologie**
- **2 x Genetik**
- **Hygiene**
- **2 x Ökologie**
- **Sicherheitstechnik**
- **Pflanzenzüchtung**
- **Toxikologie**

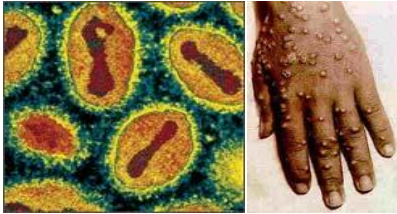
**Vorschläge durch den
Wissenschaftsrat**

§ 4 Abs. 1 Nr. 2 GenTG **8 Sachkundige**

- **Gewerkschaft**
- **Arbeitsschutz**
- **Wirtschaft**
- **Umweltschutz**
- **Verbraucherschutz**
- **forschungsfördernde
Organisationen**
- **Naturschutz**
- **Landwirtschaft**

**Vorschläge aus dem
jeweiligen Bereich**

Risikobewertung von Mikroorganismen



Sicherheitseinstufung gentechnischer Arbeiten



Risikobewertung sicherheitstechnischer Maßnahmen gentechnischer Anlagen



Risikobewertung von Freisetzung von GVO



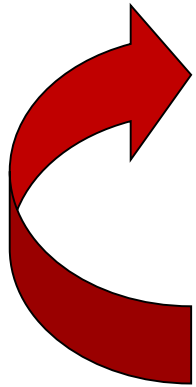
Risikobewertung des Inverkehrbringens von GVO



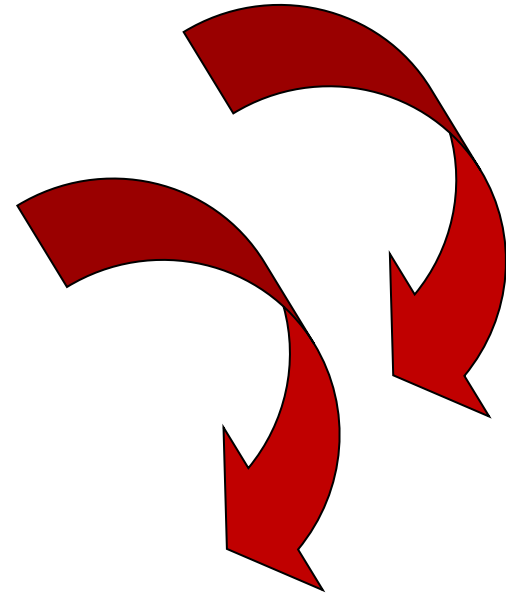
Politikberatung



ZKBS-Verfahren (ZKBS-VO)



- Sitzung am BVL in Berlin
6 – 7 x jährlich
- schriftliches Verfahren
- Arbeitsgruppe



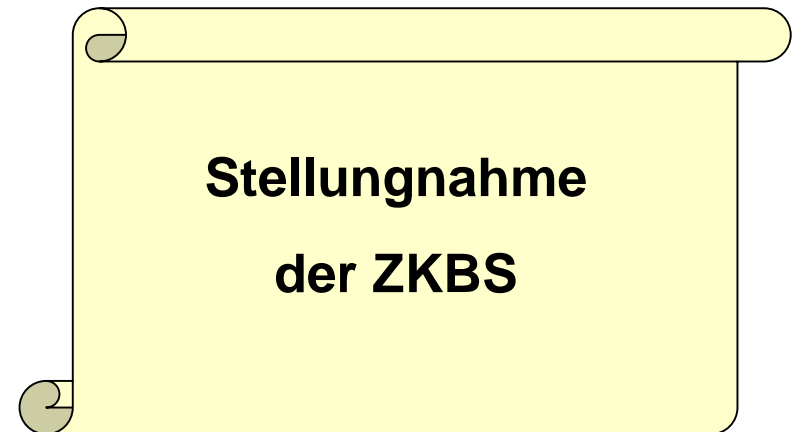
BMEL



BVL



Landesbehörde



**Stellungnahme
der ZKBS**



Herzlich Willkommen bei der ZKBS

Die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) ist ein ehrenamtlich tätiges Expertengremium, welches sich üblicherweise am Dienstag der ersten vollen Woche eines Monats trifft. Ihre aktuellen Fachmeldungen und Einstufungen finden Sie weiter unten auf der Seite.

Stellungnahmen

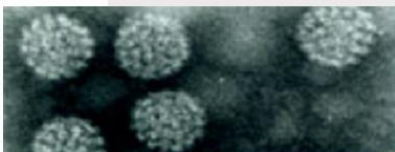
Ist davon auszugehen, dass eine sicherheitsrelevante Fragestellung häufig bei gentechnischen Arbeiten oder Anlagen auftritt, verabschiedet die ZKBS zu diesem Thema eine allgemeine Stellungnahme. Solche allgemeinen Stellungnahmen betreffen insbesondere die Risikobewertung von Organismen, die Sicherheitseinstufung gentechnischer Arbeiten oder die Bewertung sicherheitstechnischer Maßnahmen.



Vergleichbarkeit gentechnischer Arbeiten

Hier finden Sie die Stellungnahmen zu häufig durchgeführten gentechnischen Arbeiten mit den zugrundeliegenden Kriterien der Vergleichbarkeit.

→ MEHR ERFAHREN



Viren

Stellungnahmen zu Viren

→ MEHR ERFAHREN

Allgemeine Themen

Bakterien und Archaea

Parasiten

Pflanzen

Pilze

Selbstklonierung

Sicherheitsmaßnahmen

Tiere

Vektoren

Vergleichbarkeit gentechnischer Arbeiten

Viren

Zellbiologie

© Andrey Kuzmin/adobe.stock.com



Datenbanken

Die Geschäftsstelle der ZKBS führt Datenbanken, über die allen Interessierten Informationen zur Einstufung von Organismen, Zelllinien, Empfängerstämmen für biologische Sicherheitsmaßnahmen sowie zur Bewertung von Onkogenen und Vektoren zur Verfügung gestellt werden.

🏠 > [Datenbanken](#)

Datenbanken

Die Geschäftsstelle der ZKBS führt Datenbanken, über die allen Interessierten Informationen zur Einstufung von Organismen, Zelllinien, Empfängerstämmen für biologische Sicherheitsmaßnahmen sowie zur Bewertung von Onkogenen und Vektoren zur Verfügung gestellt werden.

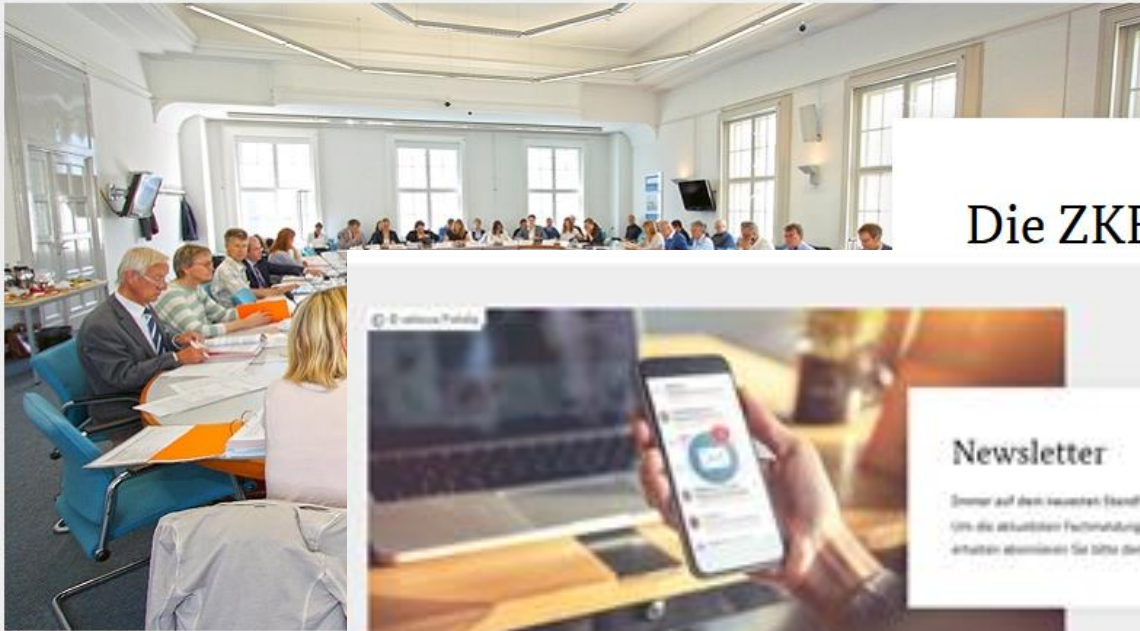
[Empfängerstämme](#)

[Onkogene](#)

[Organismen](#)

[Vektoren](#)

[Zelllinien](#)



Die ZKBS stellt sich vor

it (ZKBS) ist ein
antwortliche in
en und trägt so zur

Newsletter

Immer auf dem neuesten Stand!
Um die aktuellsten Fachmeldungen und News zur ZKBS per E-Mail zu
erhalten abonnieren Sie bitte den EMail-Newsletter im Bereich Gentechnik.

Immer auf dem neuesten Stand - mit unseren Newslettern!

Was ist eigentlich ein GVO?

§ 3 Abs. 3 GenTG:

... ein Organismus, mit Ausnahme des Menschen, dessen genetisches Material in einer Weise verändert worden ist, wie **sie** unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzen oder natürliche Rekombination nicht vorkommt; ...

Was ist eigentlich ein GVO?

Verfahren zur Generierung von GVO

- Nukleinsäure-Rekombinationstechniken
- Anwendung von Vektorsystemen oder direktes Einbringen von Erbgut
- Zellfusionen / Hybridisierungsverfahren

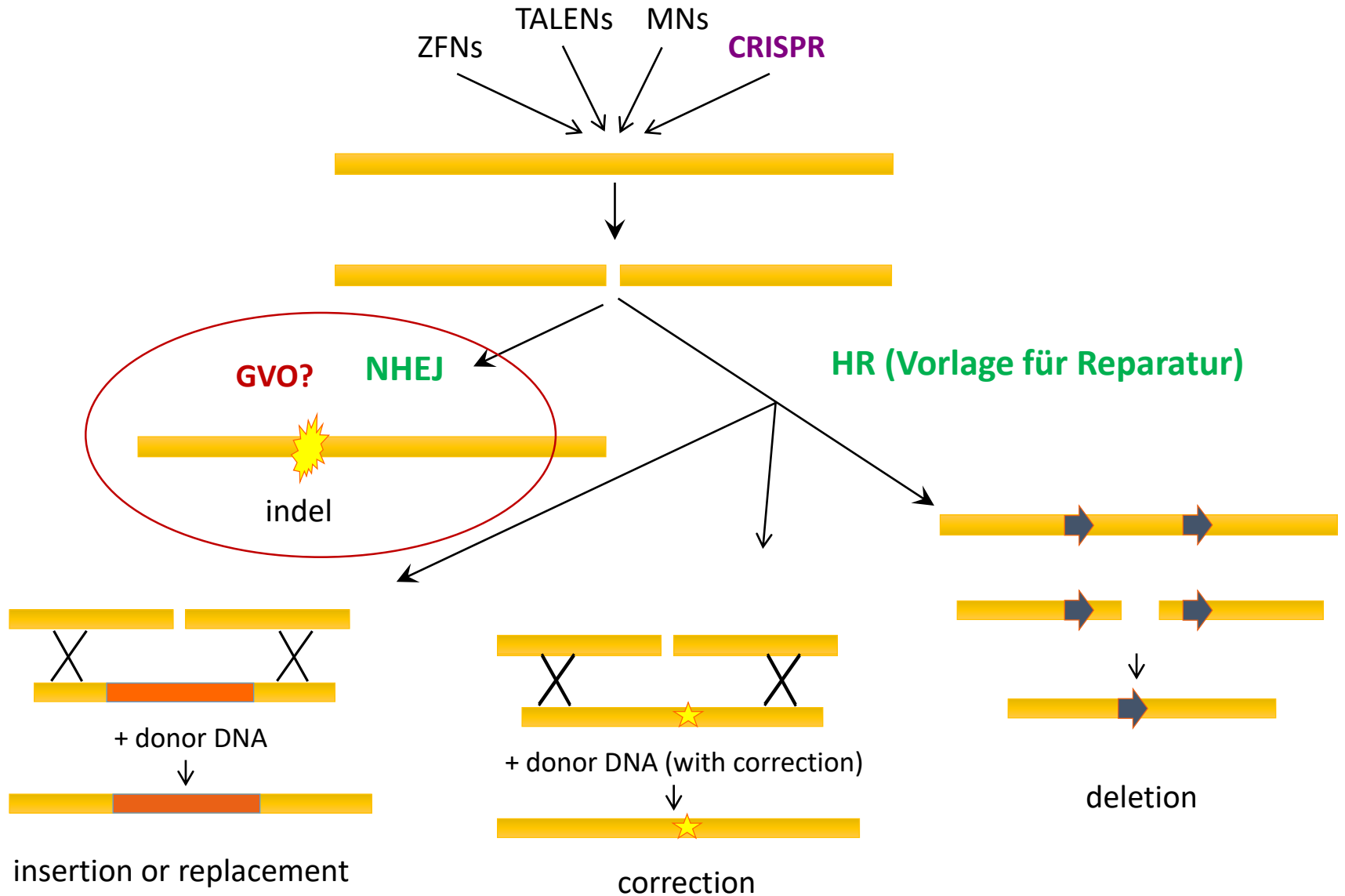
Keine Verfahren zur Generierung von GVO

- *in vitro*-Befruchtung
- Konjugation, Transduktion, Transformation
- Polyploidie-Induktion
- *Mutagenese*
- Protoplastenfusion, Hybridoma
- Selbstklonierung (nur CU, apathogen)



können auch unter natürlichen Bedingungen vorkommen bzw. langjährig sicher in der Verwendung

Genome editing



EuGH-Urteil zu „neuen Mutageneseverfahren“

Urteil 25.07.2018:

„... durch Mutagenese gewonnene Organismen [sind] **GVO im Sinne der GVO-Richtlinie [2001/18/EG]**, da durch Verfahren und Methoden der Mutagenese **eine auf natürliche Weise nicht mögliche Veränderung** am genetischen Material eines Organismus vorgenommen wird. Folglich fallen diese Organismen grundsätzlich in den Anwendungsbereich der GVO-Richtlinie und sind den dort vorgesehenen Verpflichtungen unterworfen. Aus der GVO-Richtlinie ergibt sich jedoch auch, dass sie nicht für die mit bestimmten Mutagenese-Verfahren, nämlich solchen, die herkömmlich bei einer Reihe von Anwendungen verwendet wurden und **seit langem als sicher gelten**, gewonnenen Organismen gilt.“

([Pressemitteilung](#) des EuGH)

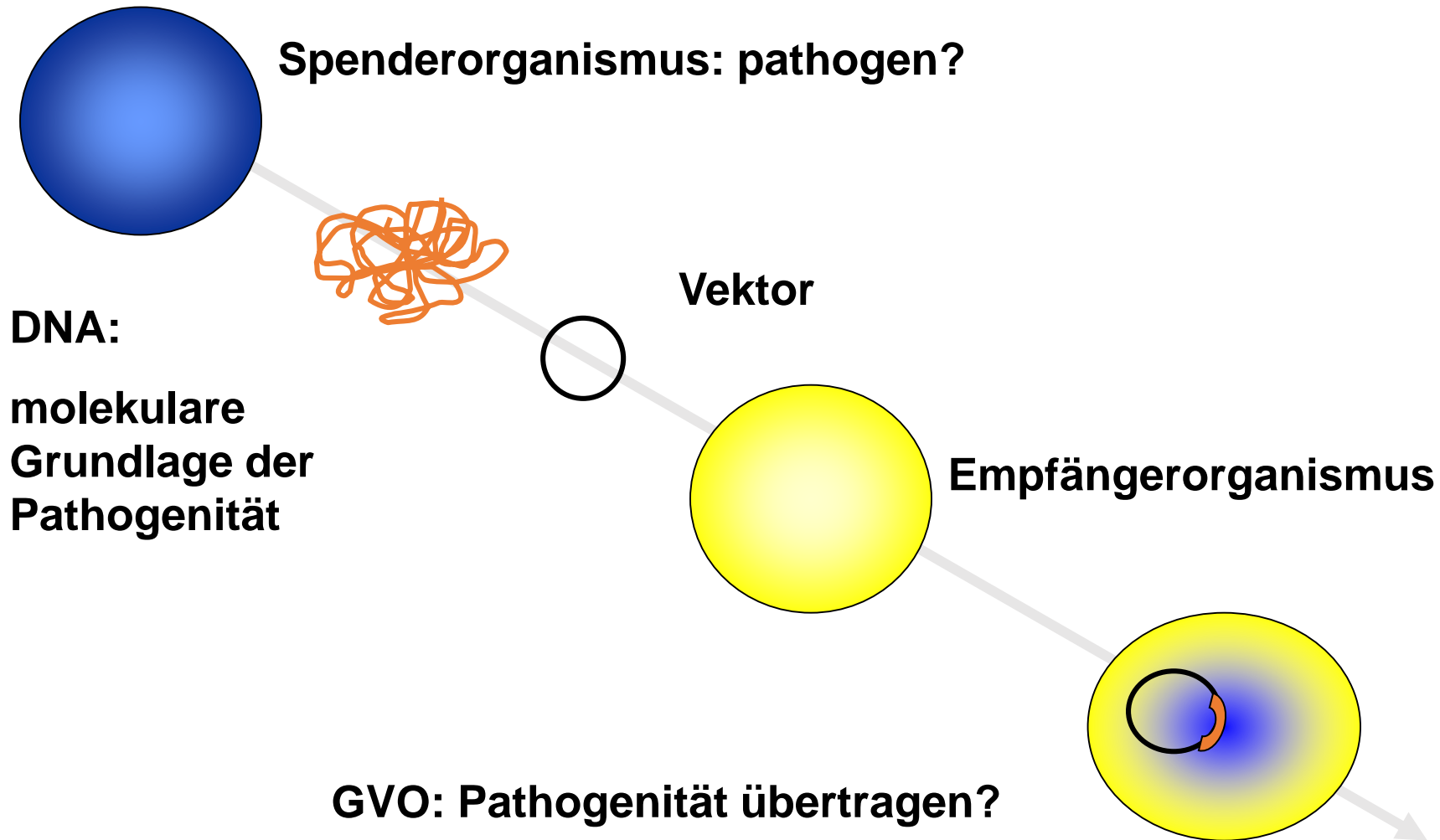
„Stichtag“ 2001



Empfehlung LAG: EuGH-Urteil ist vorsorglich auch im Anwendungsbereich der Systemrichtlinie 2009/41/EG anzuwenden

Sicherheitseinstufung

§ 9 und 10 GenTSV





Stellungnahme der ZKBS

I Zusammenfassung

1. Thema der gentechnischen Arbeit:
2. Kurzfassung des Vorhabens gemäß den Unterlagen:

II Votum

1. Spenderorganismen:
2. Empfängerorganismen:
3. Gentechnisch veränderte Organismen (GVO):

Begründung:

4. Einstufung der gentechnischen Arbeiten:

Begründung:

5. Sicherheitsmaßnahmen:

- III Abstimmungsergebnis auf der x. Sitzung der ZKBS am x. Oktober 20xx:

Risikobewertung von Mikroorganismen

§ 5 GenTG

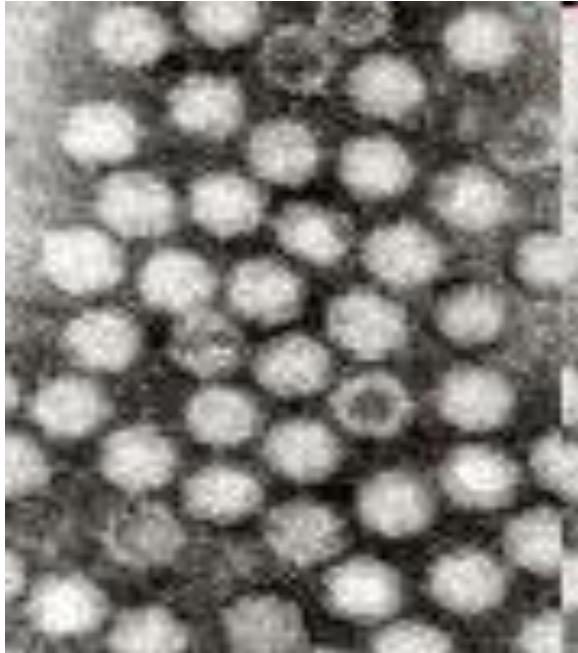
Bewertungskriterien für Organismen

Anlage 1 GenTSV:

- ❖ Wirtsspektrum
- ❖ Art der Übertragung
- ❖ Widerstandsfähigkeit des Organismus
- ❖ natürliche Virulenz des Organismus für **abwehrgesunde** Menschen und Tiere
- ❖ Möglichkeit der Prophylaxe
- ❖ Möglichkeit der Therapie

➤ Risikogruppen 1, 2, 3 oder 4

Adeno-assoziierte Viren, AAV-1 bis -3, AAV-3b, AAV-5, AAV-6, AAV-8, AAV-9 und AAV-rh10



Wirtstropismus:	Mensch
Vorkommen:	weit verbreitet
Übertragung:	Aerosol
Widerstandsfähigkeit:	hoch
Virulenz:	nicht pathogen

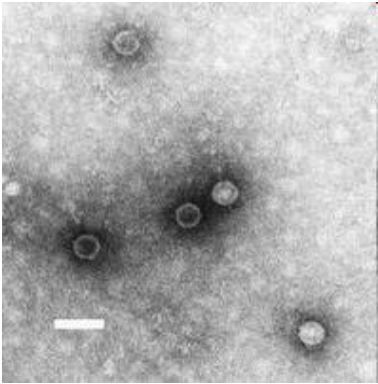
Risikogruppe 1

ABER: AAV-4, AAV-7, AAV-10 bis -13

Risikogruppe 2

Keine natürlichen humanen Infektionen, Pathogenität noch nicht sicher auszuschließen

Poliovirus



Wirtstropismus:	Mensch, meistens Kinder
Übertragung:	Kontakt, fäkal-oral,
Widerstandsfähigkeit:	hoch

Virulenz: hoch
Fieber, Magen- / Darmbeschwerden
1 % Lähmungserscheinungen („Kinderlähmung“)
auch tödlicher Verlauf

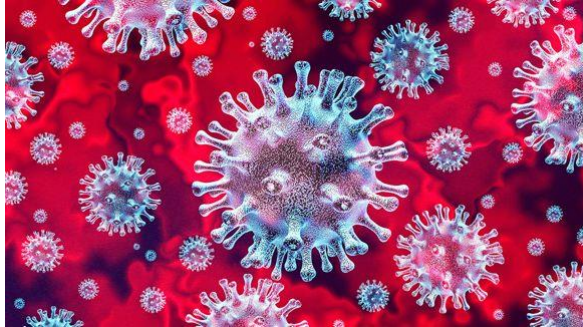
Therapie: symptombezogen

Vorkommen: nicht mehr in Deutschland, Serotyp 2 eradiziert

Prophylaxe: Impfung, ca. 90% der Bevölkerung in D ist geimpft

Risikogruppe 2 / 3

SARS-CoV-2



Wirtstropismus: Fledertiere, Malayische Schuppentiere, Mensch

Übertragung: Tröpfchen/Aerosole

Widerstandsfähigkeit: nicht stabil

Virulenz: hoch
Fieber, respiratorische Erkrankungen
auch tödlicher Verlauf

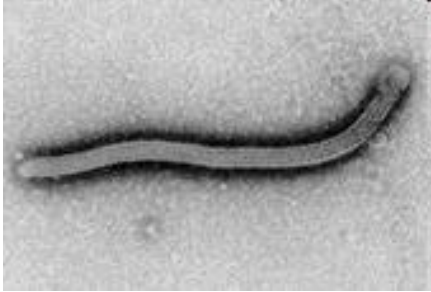
Prophylaxe: verschiedene Impfstoffe

Vorkommen: derzeitige weltweite Pandemie

Therapie: symptombezogen

**Risikogruppe 3
(FFP3)**

Ebola-Virus



Wirtstropismus: Gorilla, Schimpanse, Mensch

Übertragung: Kontakt

Widerstandsfähigkeit: nicht stabil

Virulenz: hoch
hämorrhagisches Fieber
60 – 90% Letalität

Prophylaxe: europaweite Zulassungen (VSVdeltaG-ZEBOV-GP, rAd26-EBOV)

Vorkommen: Afrika (Zaire, Kongo, Sierra Leone, Liberia, Guinea)

Therapie: symptombezogen, Berichte über antikörperbasierte Therapie

Risikogruppe 4

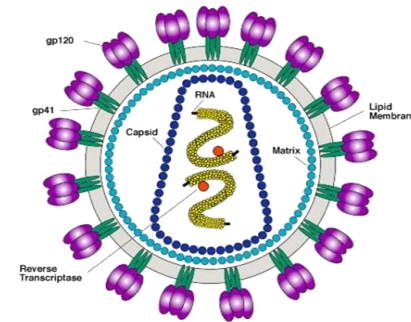
Risikogruppen von Mikroorganismen

	<u>Beispiele</u>
Risikogruppe 1	humane adeno-assoziierte Viren (AAV) <i>Bacillus subtilis</i>
Risikogruppe 2	Masern, Mumps, Röteln Poliovirus <i>Vibrio cholerae</i> <i>Leishmania tropica</i>
Risikogruppe 3	HIV** SARS-CoV <i>Bacillus anthracis</i> <i>Plasmodium falciparum**</i>
Risikogruppe 4	Ebola-Virus Pocken Maul- und Klauenseuche-Virus

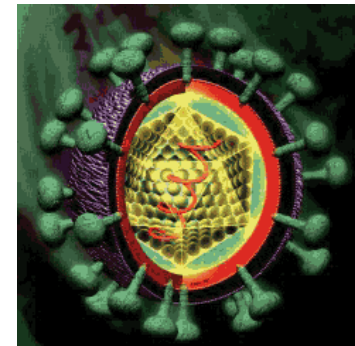
Risikogruppe 3**

- Erreger sind nicht über die Luft übertragbar
- keine Notwendigkeit für Filtration der Raumluft, keine Schleuse, kein Unterdruck, kein Autoklav im Labor etc.

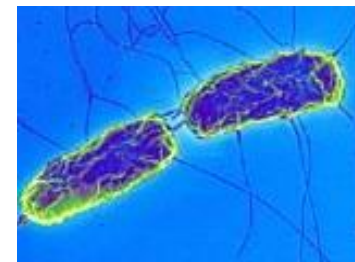
Beispiele: HIV, HCV, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Serovar Typhi



HIV



HCV



Salmonella
Typhi

Bakterielle Umweltisolate

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von bakteriellen Umweltisolaten bei gentechnischen Arbeiten (Februar 1996)

Vertreter der folgenden taxonomischen oder physiologischen Gruppen werden der **Risikogruppe 1 zugeordnet:**

- **Archaeobacteria**
- **acidophile, alkalophile, psychrophile und thermophile Bakterien**
- **auxotrophe Bakterien**



Kriterien zur Risikobewertung bei unklarer taxonomischer Zuordnung:

- **Herkunft des Isolats (Lebensbedingungen => Salzkonzentration, Schwermetalle, pH?)**
- **Wachstumstemperatur (< 25°C oder > 42°C gewöhnlich apathogen)**
- **Nährstoffansprüche (Mineralsalze oder komplexe organische Medien?)**

Weitergehende Untersuchungen:

- **Pathogenität (Tierversuche)**
- **Zytotoxizität für eukaryote Zellen**
- **Adhäsion (Kolonisierung eukaryoter Zellen?)**

Pflanzenmikroorganismen

Risikogruppe 1

Viren / Pilze / Bakterien

- Verbreitung in D oder angrenzendem Land
- Wirtspflanze nicht in D oder angrenzendem Land verbreitet
- notwendige Vektoren nicht in D oder angrenzendem Land



Tobacco Rattle Virus (TRV)

Risikogruppe 2

Viren / Pilze / Bakterien

- keine Verbreitung in D oder angrenzendem Land

und

- Wirtspflanze in D oder angrenzendem Land verbreitet



Beet curly top virus



Bakterien/Pilze: Allergenität und Toxine gehen nicht in die Bewertung ein

Zelllinien und Zellen

Zelllinien

BHK-21 (Hamster-Nieren-Zelllinie)
humane B-Zelllinie Daudi

Virus

–
EBV

Risikogruppe

1
2

primäre Zellen

Mensch HIV⁻, HBV⁻, HCV⁻
nicht getestet
Lymphozyten/Stammzellen
von HIV⁺-Personen

Affe
Weißbüschelaffe
Rhesus-, Javaner-Affe: SIV⁻, SRV⁻, STLV⁻, CeHV-1⁻
Wildfänge

Fledermaus RABV⁻
nicht getestet

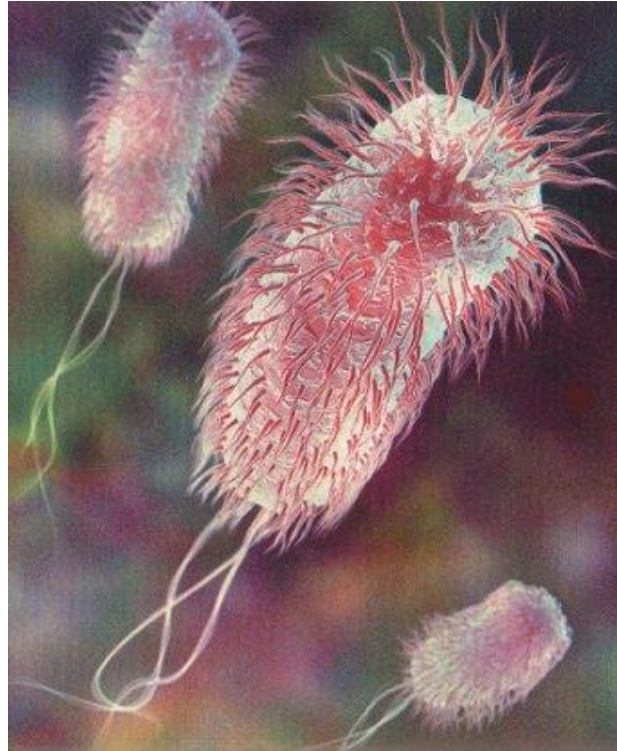
andere Vertebraten

1
2
3**
2
1
1
Einzelfall
1
2
1



Escherichia coli

**begeißelte
gramnegative
Stäbchen**



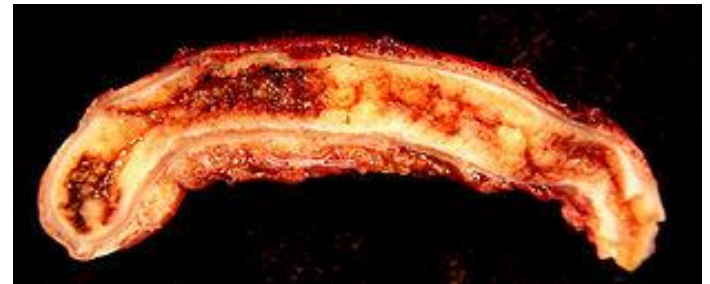
Bestandteil der normalen Darmflora bei Säugetieren und dem Menschen

normalerweise apathogen!

extraintestinale Erkrankungen von *E. coli* (ExPEC)

- ❖ Harnwegsinfektion
- ❖ Gallenweg- und Gallenblasenentzündung
- ❖ Appendizitis
- ❖ Peritonitis
- ❖ Sepsis
- ❖ Meningitis bei Säuglingen
- ❖ Nierenversagen (EHEC)

Appendizitis



Quelle: Wikipedia

intestinale Erkrankungen von *E. coli*

- **Enteropathogene *E. coli* (EPEC):**
Durchfälle v. a. bei Säuglingen
Schädigung des Dünndarmepithels (Adhäsine, sekret. Proteine)
- **Enteroinvasive *E. coli* (EIEC):**
Durchfälle durch Schädigung des Kolonepithels
(intrazelluläre Vermehrung)
- **Enterotoxische *E. coli* (ETEC):**
Durchfälle durch Sekretion verschiedener
Toxine LT, ST
- **Enter aggregative *E. coli* (EAEC):**
chronischer Durchfälle durch autoaggregative
Adhärenzfimbrien, Biofilmbildung, Sekretion von Serinproteasen und Enterotoxinen
- **Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC):**
blutige Durchfälle (Kolitis), (HUS)
Shigatoxine 1 und 2 und Hämolysin, Intimin

Bockshornkleesprossen

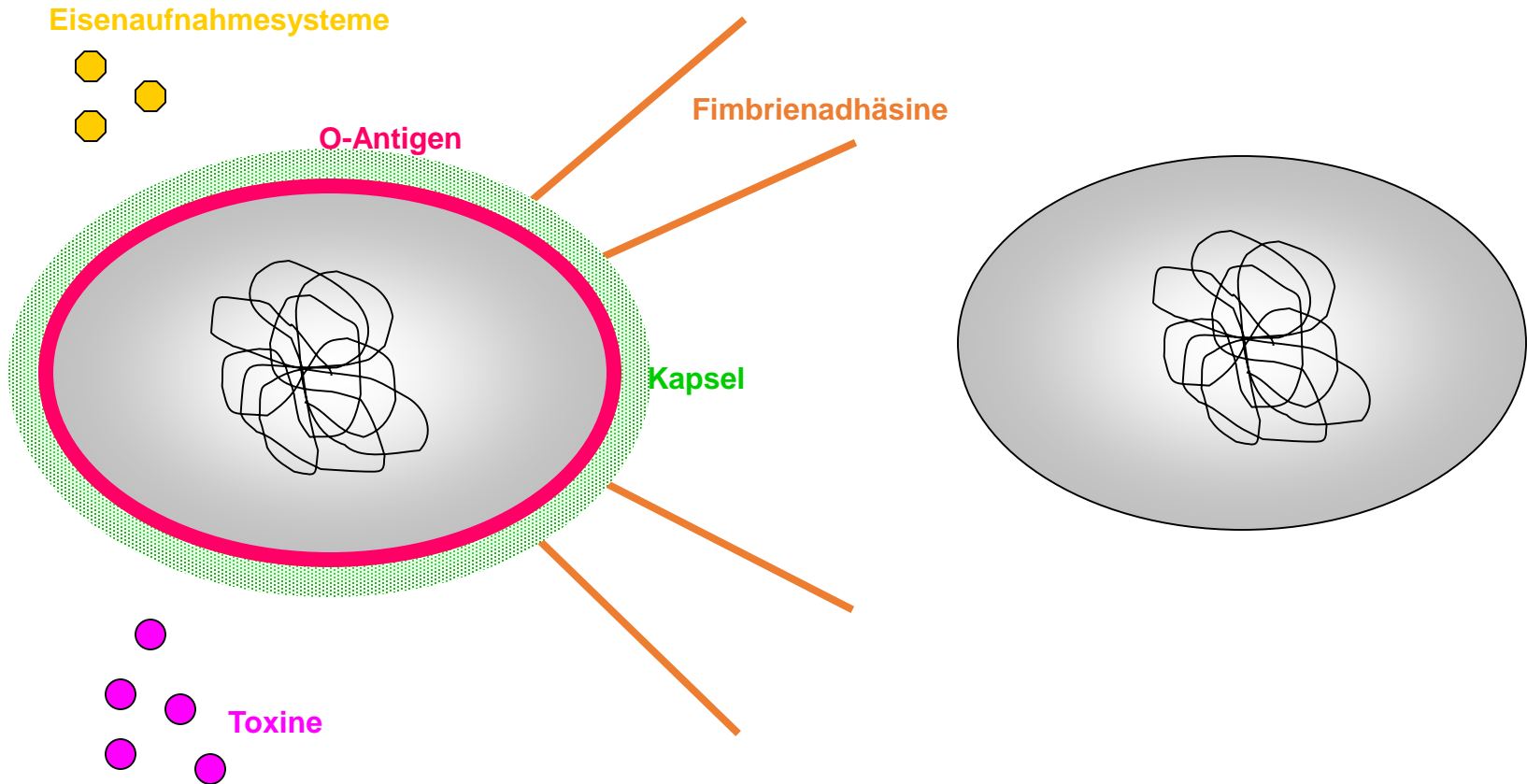


Quelle: www.stockfood.de

Virulenzfaktoren von *E. coli*

pathogen

apathogen



Risikogruppen von *E. coli*

Stellungnahme der ZKBS zu gentechnischen Arbeiten mit enterohämorrhagischen *Escherichia coli* Stämmen (EHEC), aktualisiert in 2017

***E. coli* K12, *E. coli* B**

Risikogruppe 1

EAEC, EPEC-, ETEC-, EIEC-, ExPEC-Isolate

Risikogruppe 2

***E. coli* EHEC**

Risikogruppe 3**

Überdauerungszeit von *E. coli* K12 in der Umwelt:

Boden	14 - 21 Tage
Gewässer	7 - 14 Tage
Abwasser	7 - 14 Tage
Maus	1 - 7 Tage
Schwein	3 Tage
Mensch	1 - 7 Tage

< 3 Wochen

Vektoren:

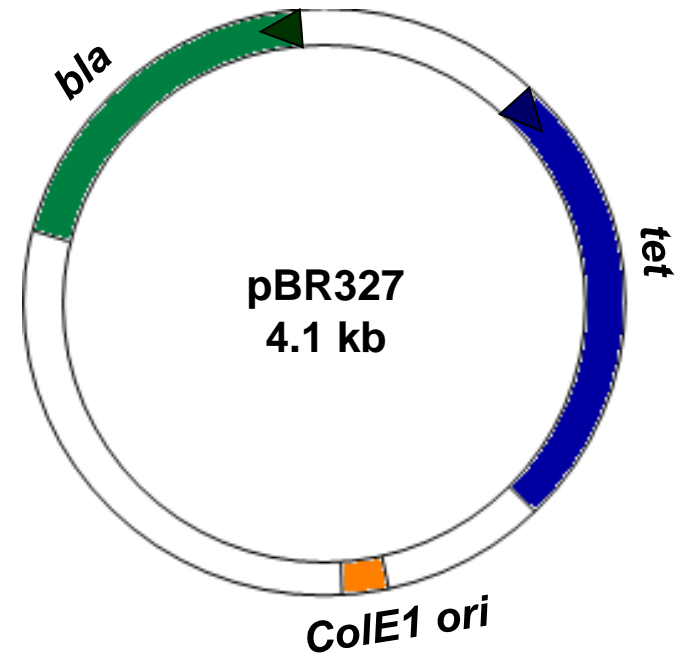
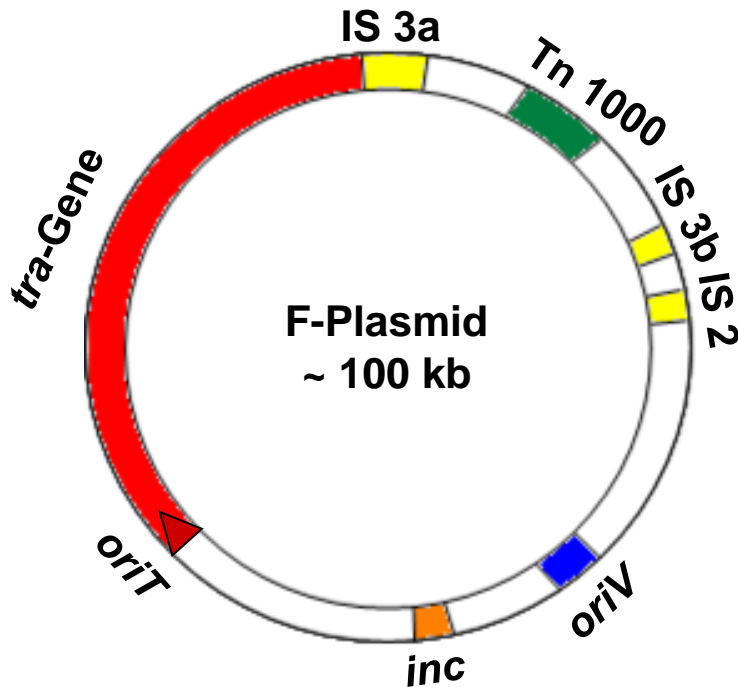
- E. coli* K12 mit pBR-abgeleiteten Vektoren
- mit Darmbakterien
- mit Abwasserbakterien

kein Transfer !

bakterielle Vektoren

Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zur Eignung von Vektoren für biologische Sicherheitsmaßnahmen (Dezember 2021)

- z. B. abgeleitet von pBR322
- gering mobilisierbar
- Voraussetzung: F⁻, keine *tra*-Gene, keine *mob*-Region
- Keine eigenes Transfersystem, replikationsdefekt



Ziel: Verhinderung der Verbreitung klonierter genetischer Informationen

<https://zag.bvl.bund.de/vektoren> Gentechnikkurs Freiburg 2022

Biologische Sicherheitsmaßnahmen

§§ 7 und 8 GenTSV

Empfängerorganismus:

- taxonomische Einordnung
- apathogen
- keine Vermehrung außerhalb der gentechnischen Anlage
- geringer horizontaler Gentransfer

Vektor:

- ausreichende Charakterisierung
- begrenzter Wirtstropismus
- nicht mobilisierbar
- keine eigene Infektiosität

Beispiel:

E. coli K12 mit pBR-abgeleiteten Vektoren

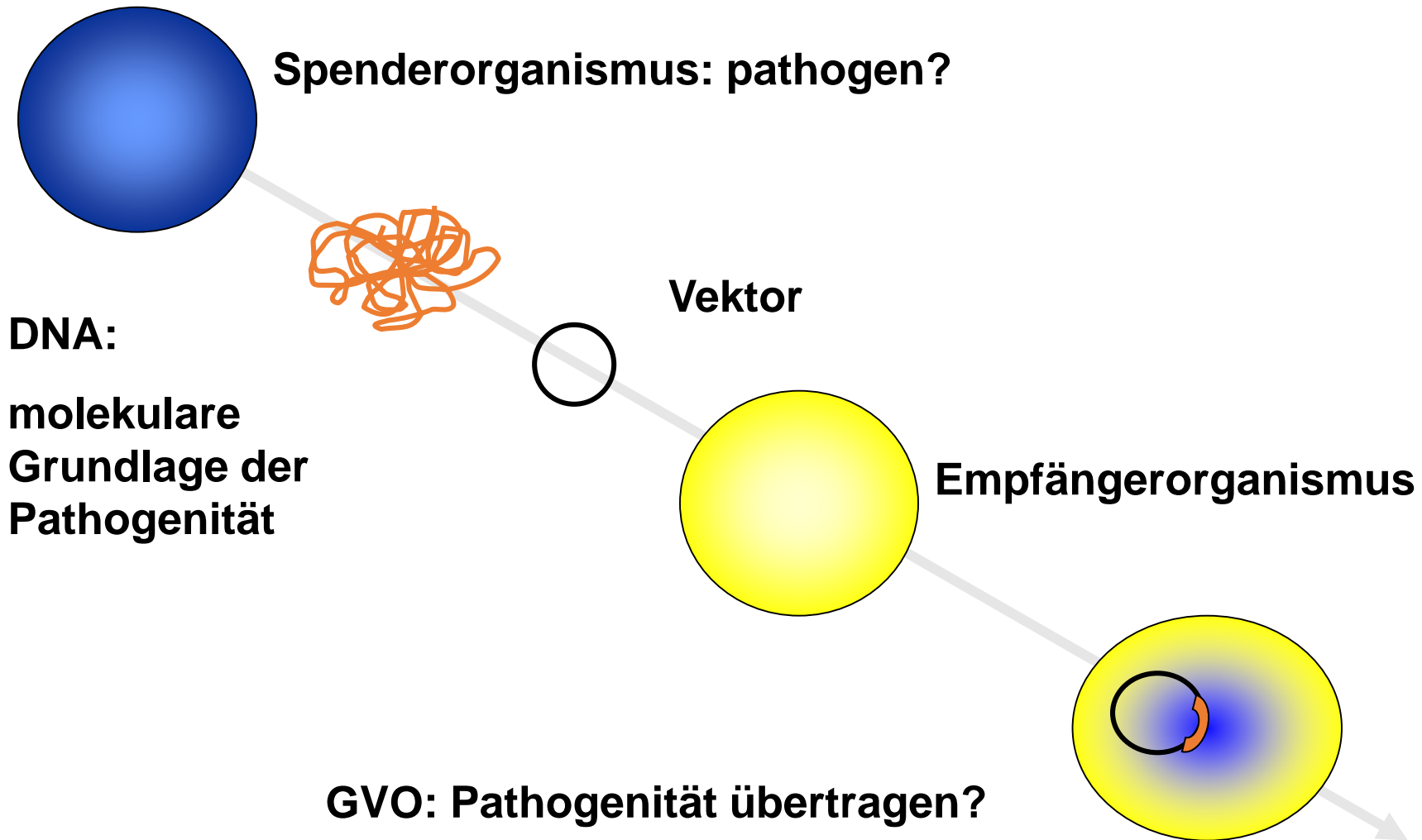
Vorteil:

Das Gefährdungspotenzial kann niedriger bewertet werden (§7 Abs. 1).
Verzicht auf einzelne Sicherheitsmaßnahmen möglich (§24 Abs. 3)

Sicherheitseinstufung gentechnischer Arbeiten

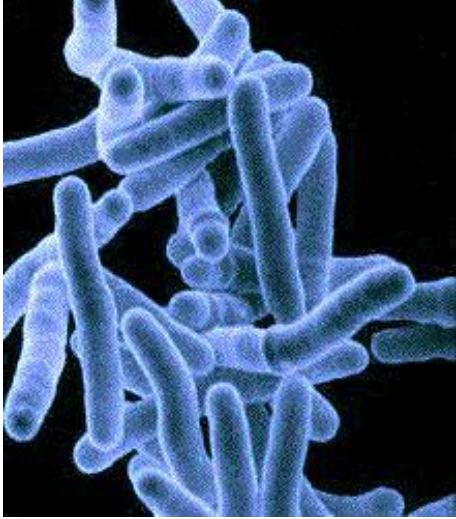
Sicherheitseinstufung

§§ 9-12 GenTSV



Bakterien als Spenderorganismen

Mycobacterium tuberculosis



unbeweglich, Gram-positiv, säurefest



Tuberkulose

Übertragung: Tröpfcheninfektion, gastral, parenteral

Haupteintrittspforte: Lunge, befällt dann alle Organe

Pathogenitätsfaktoren: intrazelluläres Überleben durch Hemmung der Phagosomen-Lysosomen-Fusion im Makrophagen, keine Toxine!

Risikogruppe 3

Anlegen einer Genbank von *Mycobacterium tuberculosis*

Spenderorganismus:

Mycobacterium tuberculosis

Risikogruppe 3

Empfängerorganismus:

E. coli K12 mit dem Vektor pUC18

Risikogruppe 1

Gentechnisch veränderte Organismen (GVO):

E. coli K12

einschließlich pUC18 mit
subgenomischen Nukleinsäureabschnitten
von *Mycobacterium tuberculosis*

Risikogruppe 1

Einstufung der gentechnischen Arbeit:

Sicherheitsstufe 1

Streptococcus pyogenes



Pathogenitätsfaktoren:

- Kolonisierungsfaktoren (M-Protein, Kapsel)
- Toxine:
 - erythrogene Toxine A, B, C
 - Hämolysin
 - Fibrinolysin
 - Hyaluronidase
 - Leucocidin

Scharlach



Risikogruppe 2

Anlegen einer Genbank von *Streptococcus pyogenes*

Spenderorganismus:

Streptococcus pyogenes

Risikogruppe 2

Empfängerorganismus:

E. coli K12 mit dem Vektor pUC18

Risikogruppe 1

Gentechnisch veränderte Organismen (GVO):

E. coli K12

einschließlich pUC18 mit
subgenomischen Nukleinsäureabschnitten
von *Streptococcus pyogenes*

Risikogruppe 2

Einstufung der gentechnischen Arbeit:

Sicherheitsstufe 2

Pathogenität bei Prokaryonten

a. Zusammenwirken multipler Faktoren

- z.B.
- Adhäsine
 - Invasine
 - Faktoren des intrazellulären Überlebens

b. einzelner Faktor

- Toxine

Pathogenität wird meistens durch beides bestimmt

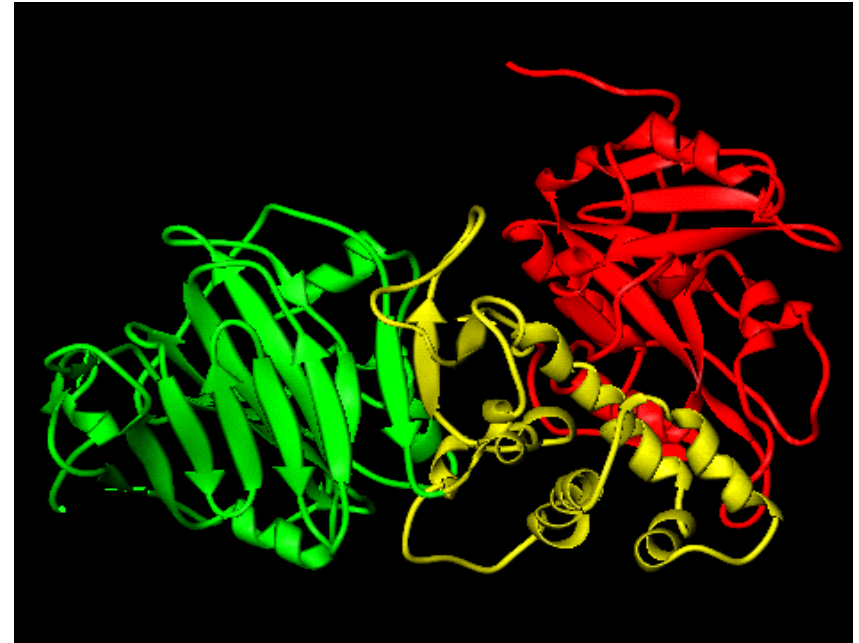
Pseudomonas aeruginosa

fakultativ pathogen:

- Harnweg
- Atmungstrakt
- Wundinfektion
- Meningitis

Pathogenitätsfaktoren:

- Kolonisierungsfaktoren
- Exotoxin (PET):
 - ADP-Ribosylierung
 - Inaktivierung des Elongationsfaktors 2
 - Stopp der Proteinbiosynthese



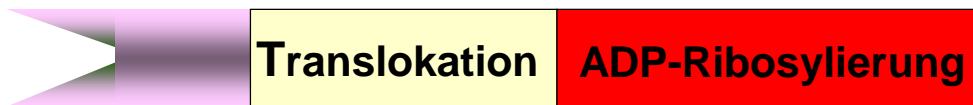
Zellerkennung

Translokation

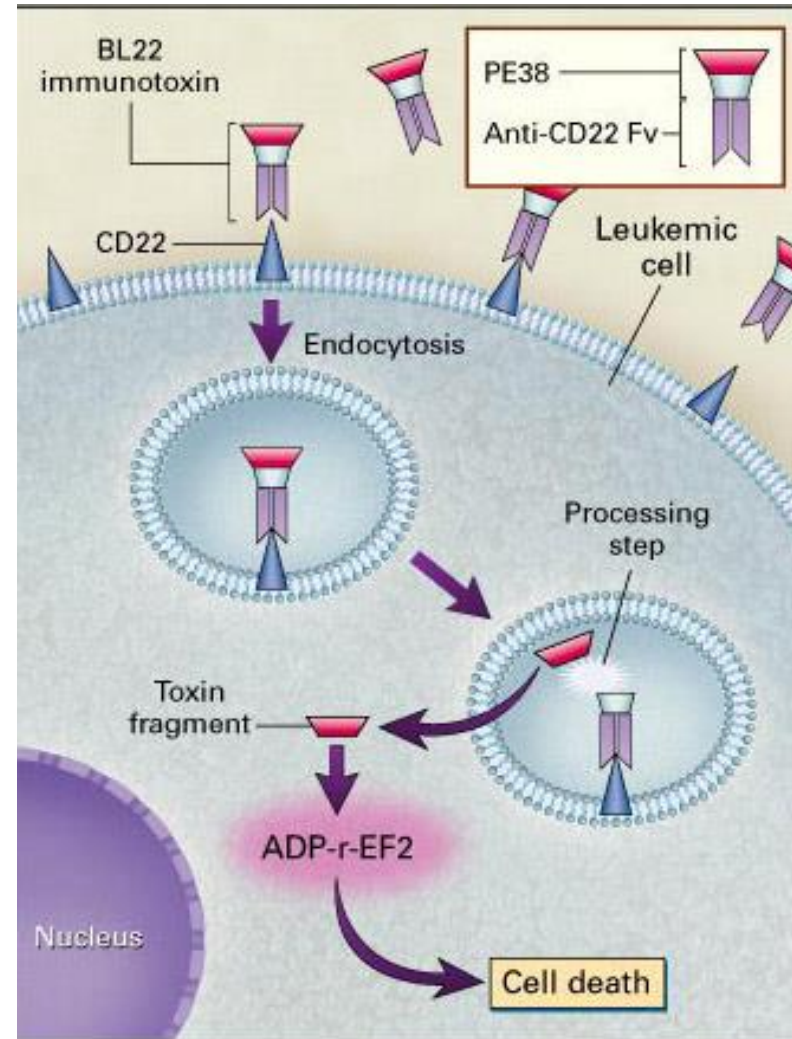
ADP-Ribosylierung

Risikogruppe 2

Herstellung eines Immuntoxins



Erkennungssequenz
eines mAb



Herstellung eines Immuntoxins

Gentechnisch veränderter Organismus (GVO):

***E. coli* K12**

**einschließlich des Vektors pEX
mit Nukleinsäureabschnitten muriner AK und
Nukleinsäureabschnitten der Strukturdomänen II und III
von *Pseudomonas aeruginosa***

Risikogruppe 1

Einstufung der gentechnischen Arbeiten:

Sicherheitsstufe 1

Charakterisierung der Toxizität

primäres Toxin ist inaktiv

Spezifität der Erkennungsdomäne

CD22 ist überexprimiert in neoplastisch transformierten B-Zellen

Biologische Sicherheitsmaßnahme

keine Übertragung auf andere Organismen

§ 12 GenTSV neu: hochwirksame Toxine



- (1) Gentechnische Arbeiten, **die darauf gerichtet sind**, hochwirksame Toxine **herzustellen**, sind der Sicherheitsstufe 3 zuzuordnen.
- (2) Die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit gibt Empfehlungen zu den erforderlichen **technischen** und **biologischen** Sicherheitsmaßnahmen ab, die die Wirkungsweise dieser Toxine berücksichtigen.
- (3) § 7 Absatz 1 findet Anwendung.

- **S3-Genehmigungsverfahren inkl. ZKBS-Beteiligung erforderlich**
- **neu:** abgesenkte Grenzwerte -> ggf. weitere Toxine betroffen?
- **neu:** wenn Vektor/Empfängersystem = biologische Sicherheitsmaßnahme -> Herabstufung möglich
- ggf. müssen zusätzliche technische Sicherheitsmaßnahmen über übliche S3-Maßnahmen hinaus ergriffen werden

Expression von hochwirksamen Toxinen



Begriffsbestimmung § 3 GenTSV

= Toxine der Gefahrenklassen 1 und 2 (akute Toxizität)

= Lebensgefahr beim Verschlucken oder Aufnahme über die Haut oder die Atemwege

LD₅₀ ≤

- 50 mg/kg Körpergewicht nach Verbringen in den Magen der Ratte
- 200 mg/kg Körpergewicht nach Verbringen auf die Haut der Ratte oder des Kaninchens

LC₅₀ ≤ (nach Aufnahme über die Atemwege der Ratte)

- 0,5 mg/l Luft / 4 Stunden (in der Luft schwebende feste Teilchen als Staub oder flüssige Tröpfchen als Nebel)
- 2 mg/l Luft / 4 Stunden (Dämpfe der gasförmigen Phase, die aus einer flüssigen oder festen Phase hervorgegangen sind)
- 500 parts per million im Volumen / 4 Stunden (Gase)

hochwirksame Toxine: Beispiele



- Rizin
- *Clostridium perfringens* → ϵ -Toxin
- *C. botulinum* → Botulinum-Neurotoxin
- *C. tetani* → Tetanus-Neurotoxin
- manche *Staphylococcus*-Enterotoxine
- Shigatoxine
- alpha-Hämolysin,
- Pneumolysin

- weitere?

**aber nicht: nicht-funktionale Formen,
Untereinheiten**

hochwirksame Toxine: Maßnahmen

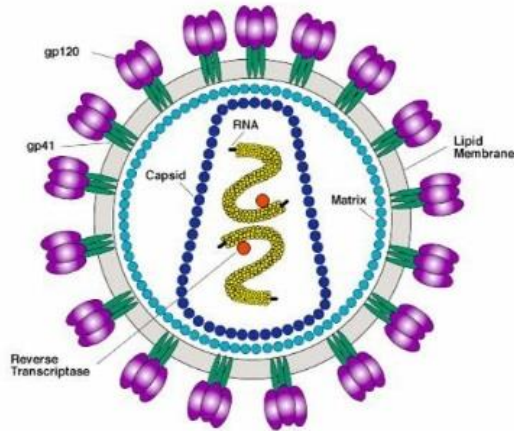
Stellungnahme der ZKBS zu gentechnischen Arbeiten mit enterohämorrhagischen *E. coli* Stämmen (EHEC), Az. 6790-10-57, 2021

- Kennzeichnen des Arbeitsbereiches
- Persönliche Schutzausrüstung
- Verwendung von unzerbrechlichen, aerosoldichten Kultur-, Zentrifugations- und Reaktionsgefäße; Öffnen nur unter MSW
- Thermische Inaktivierung von Toxin-Lösungen bevorzugt, da breite Wirksamkeit nachgewiesen
- Dekontamination: z.B. frisch angesetzte Na- Hypochloritlösung
- Betriebsanweisung anpassen
- ...

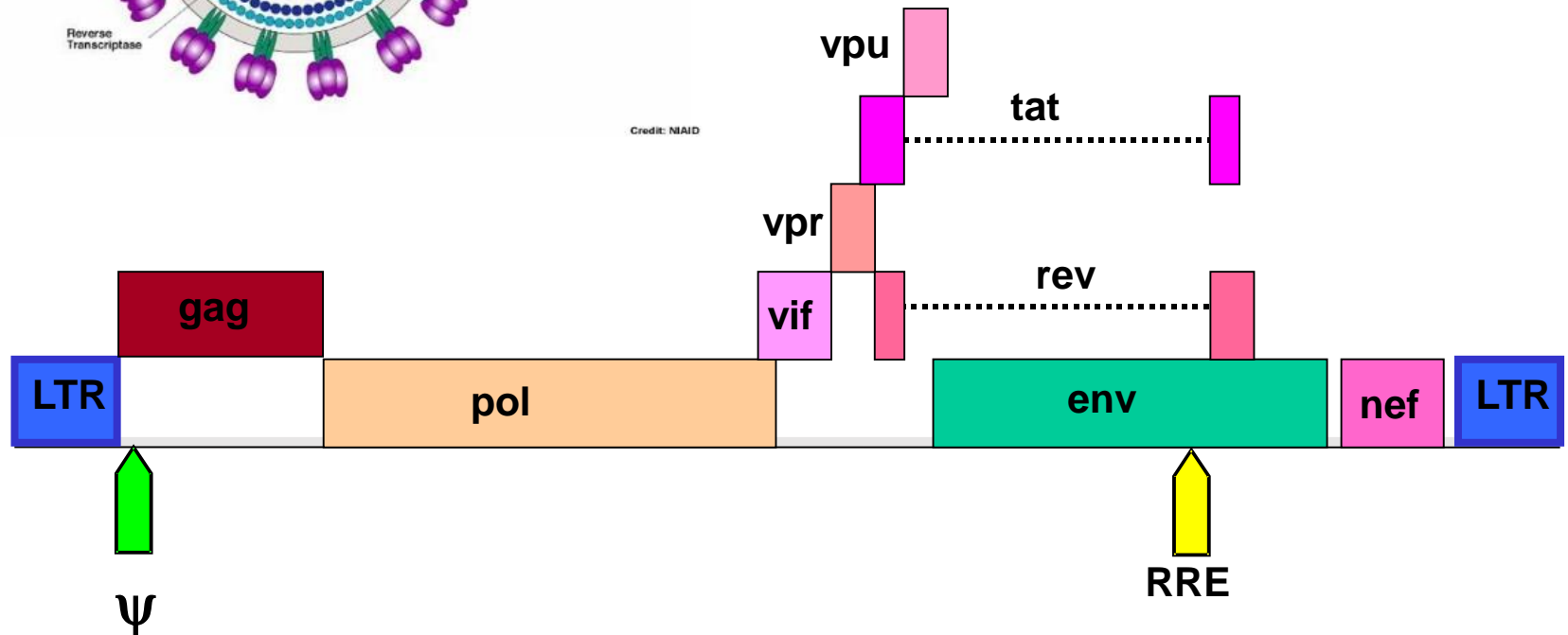
Viren als Spenderorganismen

Humanes Immundefizienzvirus Typ 1

Organization of the HIV-1 Virion



- Familie: *Retroviridae*
- Genus: *Lentivirus*
- Genom: (+)ssRNA, linear, komplex
- AIDS
- keine Luftwegsübertragung



Risikogruppe 3**

Charakterisierung von HIV-1

Spenderorganismus

HIV-1

Risikogruppe 3**

Ausgangsmaterial sind Lymphozyten
HIV-1-positiver Personen

Empfängerorganismen

a. *E. coli* K12 (pUC18, pcDNA)

Risikogruppe 1

b. Zelllinie 293 (pUC18, pcDNA)

Risikogruppe 1

Charakterisierung von HIV-1

Gentechnisch veränderte Organismen (GVO)

a. *E. coli* K12

einschließlich pUC18 oder pcDNA mit dem vollständigen proviralen Genom von HIV-1

Risikogruppe 2

b. *E. coli* K12

einschließlich pUC18 oder pcDNA mit Nukleinsäureabschnitten von HIV-1

Risikogruppe 1

c. Zelllinie 293

einschließlich pUC18 mit dem vollständigen proviralen Genom von HIV-1

Risikogruppe 3**

d. Zelllinie 293

einschließlich pcDNA mit subgenomischen Nukleinsäureabschnitten von HIV-1

Risikogruppe 1

Charakterisierung von HIV-1

Einstufung der gentechnischen Arbeiten:

- **GVO a** **Sicherheitsstufe 2**
- **GVO b** **Sicherheitsstufe 1**
- **GVO c** **Sicherheitsstufe 3**
- **GVO d** **Sicherheitsstufe 1**

S3: Hinweis zur Lüftungstechnik!

Viren als Spenderorganismen

Übertragung des Genoms

§ 5 Abs. 2 GenTSV:

Das Gefährdungspotenzial des Spenderorganismus ist in die Risikobewertung einzubeziehen.

Ausnahmen § 7 Abs. 1:

Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *E. coli* K12 Derivaten mit einem Plasmid mit der (c)DNA des Genoms eines replikationskompetenten Virus, Az. 6790-10-89 vom Nov. 2019

Bsp.

- ❖ Entspricht das Vektor-Empfänger-System einer biologischen Sicherheitsmaßnahme mit *E. coli* K12, wird bei Übertragung des Genoms eines Retrovirus der **Risikogruppe 3**** der GVO der **Risikogruppe 2** zugeordnet.
- ❖ Handelt es sich um cDNA eines (-)-Strang-RNA-Genoms, die auf *E. coli* K12 übertragen wird, wird der GVO der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Genom	Virusfamilie (Beispiel)	Einstufung WT-Virus	Volllänge genom in <i>E. coli</i> K12
(+)ssRNA	Picornaviren, Flaviviren, Retroviren	RG1 RG2 RG3/3**	RG1 RG2 RG2 geringe Wahrscheinlichkeit Übertragung (biologische SM)
(-)ssRNA	Filoviren, Paramyxoviren, Rhabdoviren	alle RG	RG1 cRNA nicht infektiös in Abwesenheit der Proteine des Replikationskomplexes
ssDNA, dsDNA	Parvoviren, Adenoviren, Hepadnaviren	RG1 RG2 RG3/3**	RG1 RG2 RG2 geringe Wahrscheinlichkeit Übertragung (biologische SM)
dsDNA (zirkulär)	Polyomaviren, Papillomaviren	alle RG	RG1 lineare Form im Plasmid nicht infektiös
dsDNA	Pockenviren	RG1 RG2 RG3	RG1 genomische DNA nicht infektiös in Abwesenheit der viralen RNA-Pol

Viren als Spenderorganismen

Übertragung eines subgenomischen Nukleinsäureabschnittes

a. ohne Gefährdungspotenzial (z.B. Strukturprotein):

Das Gefährdungspotenzial des Empfängerorganismus verändert sich nicht

b. mit Gefährdungspotenzial (z.B. Onkogen, immunmodulierendes Gen)

- Das Gefährdungspotenzial des GVO kann sich gegenüber dem des Empfängerorganismus erhöhen
- Entspricht das Vektor-Empfänger-System einer biologischen Sicherheitsmaßnahme, wird der GVO der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Onkogene / Immunmodulierende Gene

aktualisierte, eng ausgelegte Prüf-Kriterien (Dez. 2016)

potenziell neoplastisch transformierend für humane Zellen:

Nachweis der **ursächliche Beteiligung** an der Entstehung von Tumoren durch

- eine *in vitro*-Transformation von relevanten Vertebratenzellen, die diese in die Lage versetzen, verankerungsunabhängig zu wachsen,

und / oder

- die Bildung von Tumoren in relevanten Tier-Modellen, insbesondere in Xenograft- oder direkten Vertebraten-Tiermodellen (bspw. Mäuse, Ratten, Zebrabärblinge)

Umgang mit Nukleinsäuren

Personenschutz:

- **Einmalhandschuhe**
- **keine scharfen, spitzen oder zerbrechlichen Laborgegenständen**
- **Laborabfälle autoklavieren oder chemisch denaturieren**
- **keine Hautverletzungen oder Warzen**

GVO mit Onkogenen

ZKBS „Bewertung von gentechnisch veränderten Organismen, in die Nukleinsäureabschnitte mit neoplastisch transformierendem Potential eingeführt wurden“ (Dez. 2014)

- **biologische Sicherheitsmaßnahme:** **Risikogruppe 1**
- **primäre Zellen der Risikogruppe 1 und Sicherheits-Vektor:** **Risikogruppe 1**
- **Integration?** → **keine zusätzlichen Sicherheitsmaßnahmen**
- **keine biologische Sicherheitsmaßnahme?** → **Einzelfall**

Ad- und AAV-Vektoren mit Onkogenen

ZKBS „Empfehlung der ZKBS zu adenoviralen und AAV-abgeleiteten replikationsdefekten Vektoren mit Zellzyklus-regulierenden Genen“ vom Dezember 2004

Risikogruppe 2 und Personenschutz wie oben:

- **Sicherheitswerkbank der Klasse II**
- **Atenschutzmaske mit FFP3-Filter**



Alternativ :

- **Sicherheitswerkbank Klasse III**



Retrovirale Vektoren mit Onkogenen

ZKBS: „Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zu häufig durchgeführten gentechnischen Arbeiten mit den zugrunde liegenden Kriterien der Vergleichbarkeit: Gentransfer mit Hilfe retroviraler Vektoren“ vom Januar 2020



- **Personenschutz**
 - **Risikogruppe 2 und Mund- und Nasenschutz oder FFP3**
- **In Abhängigkeit von Partikelstabilität und Rezeptorspezifität bei Pseudotypisierungen**



Informationen zu Onkogenen

- Allgemeine Stellungnahmen der ZKBS (ZKBS-Homepage → Allgemeine Stellungnahmen → Zellbiologie)
- Internet-Datenbanken:
 - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>
 - <https://www.omim.org/>
 - <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/>
 - <http://atlasgeneticsoncology.org/>
- Onkogen-Datenbank der Geschäftsstelle der ZKBS (ZKBS-Homepage → Datenbanken)



Onkogene

Hier finden Sie Informationen über zelluläre und virale Gene/Nukleinsäuren, die hinsichtlich eines onkogenen Potenzials bewertet worden sind.

[\(zur Onkogenatenbank\)](#)

→ MEHR ERFAHREN

GVO mit immunmodulierenden Genen

ZKBS „Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung gentechnischer Arbeiten, bei denen Gene für immunmodulierende Proteine in das Genom replikationskompetenter Mikroorganismen inseriert werden“, aktualisiert April 2022

➤ **60 Zytokine und ca. 50 Chemokine**

**komplexe, pleiotrope Wirkungsweise;
starke Kontextabhängigkeit ihrer Eigenschaften
immunstimulierend / immunsupprimierend / die Apoptose beeinflussend**

- **biologische Sicherheitsmaßnahme:** **Risikogruppe 1**
- **keine Besiedelung/Infektion von Mensch und Tier**
- **keine biologische Sicherheitsmaßnahme?** **→ Einzelfall**

Viren als Empfängerorganismen

Vaccinia-Virus

Genom: dsDNA 187 kbp

spezifisches Transkriptionssystem:
spezifische Promotoren
eigene RNA-Polymerase

Replikationsort: Zytoplasma der infizierten Zelle

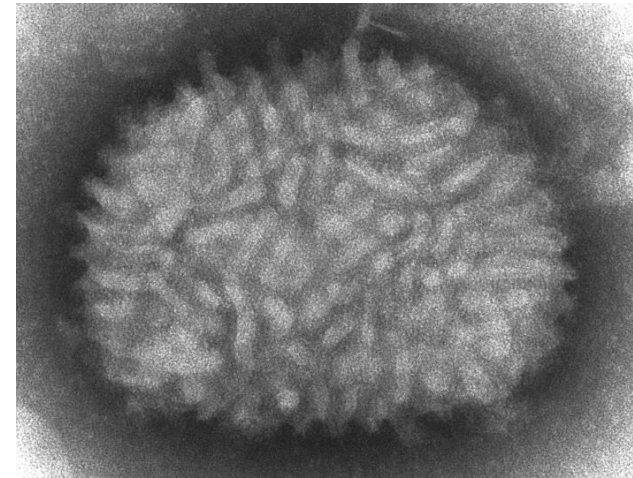
Replikation: lytisch

Impfstoff gegen Pocken

1980: Ausrottung der Pocken

1991: Ende der Impfstoffzulassung

Komplikation: postvakzinale Enzephalitis



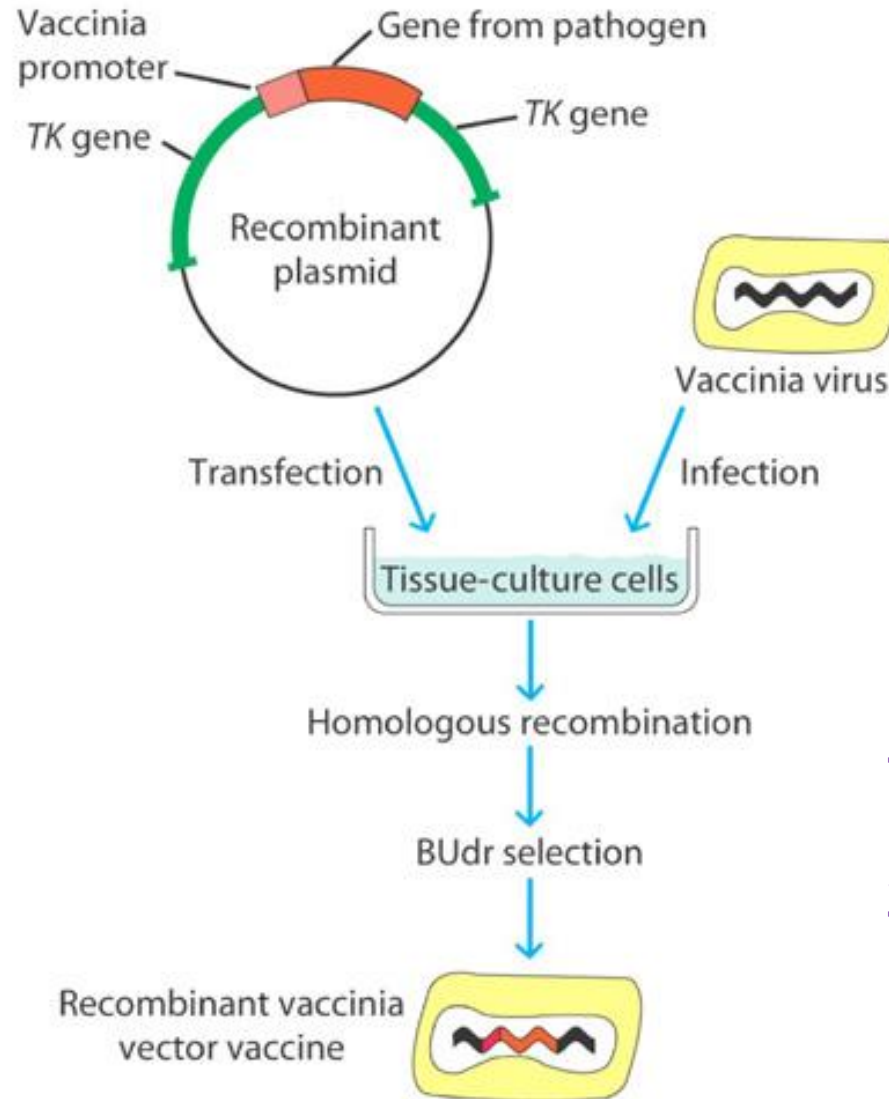
400 nm



Risikogruppe 2

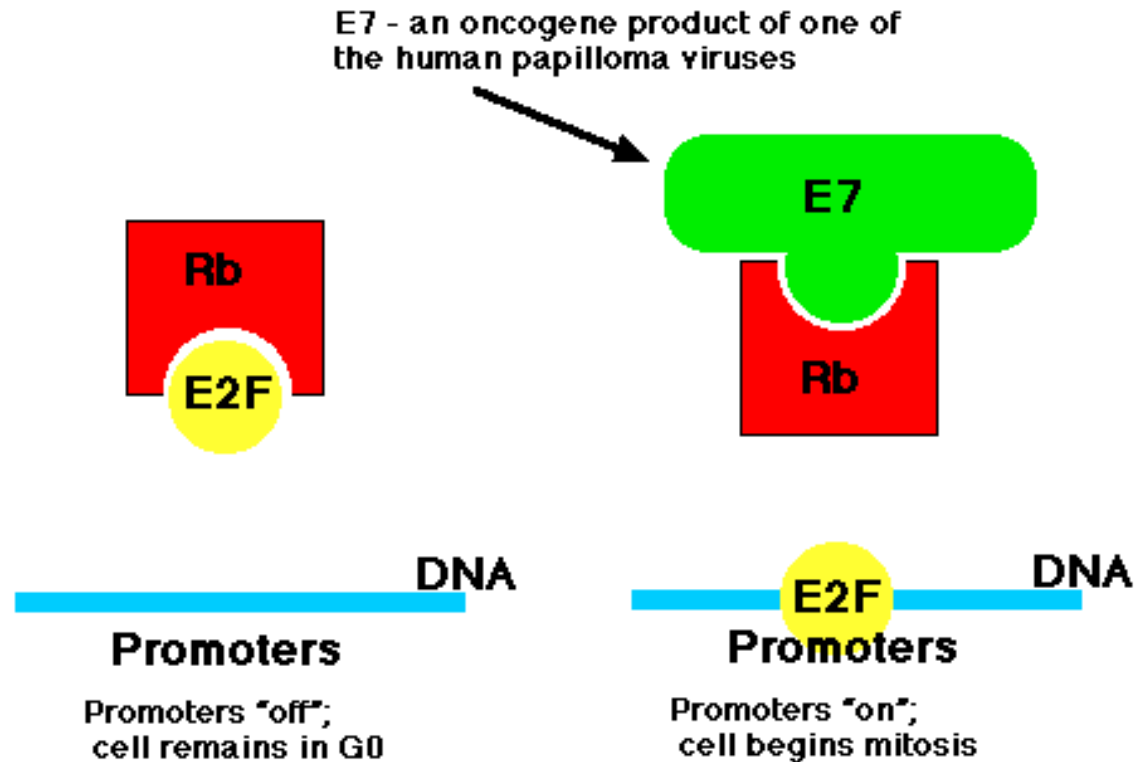
Herstellung rekombinanter Vacciniaviren

3 Komponenten:



**TK-negativer
Phänotyp
selektierbar:
TK phosphoryliert
BrdU → Einbau in
DNA, UV-sensitiv**

Expression des transformierenden Gens E7 des humanen Papilloma Virus HPV 18 mit Hilfe des Vaccinia Virus



Expression des transformierenden Gens E7 des humanen Papilloma Virus HPV 18 mit Hilfe des Vaccinia Virus

Spenderorganismus

HPV-18

Risikogruppe 2

Empfängerorganismen

a. *E. coli* K12

Risikogruppe 1

b. Zelllinie HeLa

Risikogruppe 1

c. Vacciniavirus

Risikogruppe 2

Expression des transformierenden Gens E7 des humanen Papilloma Virus HPV 18 mit Hilfe des Vaccinia Virus

Gentechnisch veränderte Organismen:

a. *E. coli* K12
transformiert mit dem Rekombinationsplasmid pTM1 mit dem E7-Gen von HPV-18

Risikogruppe 1

b. HeLa-Zellen
infiziert mit Vacciniavirus und transfiziert mit pTM1

Risikogruppe 2

c. rekombinantes Vacciniavirus mit dem ins Genom integrierten E7-Gen von HPV-18

Risikogruppe 2

Einstufung der gentechnischen Arbeiten:

GVO a

Sicherheitsstufe 1

GVO b

Sicherheitsstufe 2

GVO c

Sicherheitsstufe 2

Modified Vacciniavirus Ankara

- > 500 Passagen auf CEF → umfangreiche Deletionen (31 kbp)
- enger Wirtsbereich: produktive Replikation nur auf embryonalen Zelllinien von Huhn, Ente, Wachtel, in Flughundzellen und BHK-21
- humane Zellen: Expression früher und später Gene, Block Morphogenese
- apathogen für Vielzahl von Tieren (auch immunsupprimiert) sowie für den Menschen
- oftmals zur Expression heterologer Proteine genutzt => Reversion der Attenuierung? (Anhaltspunkt für Risikobewertung: Replikationsfähigkeit in humanen Zellen)

Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung des rekombinanten Vacciniavirus MVA (Az. 6790-10-74, Sept. 2018)

MVA	Risikogruppe 1
rekomb. MVA mit NS ohne Einfluss auf Repl.-Defekt	Risikogruppe 1
rekomb. MVA mit NS mit ggf. Einfluss auf Repl.-Defekt	Risikogruppe 2
rekomb. MVA mit Pathogenitäts-verändernden Genen	Einzelfall

Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zum Umgang mit rekombinanten Vacciniaviren vom April 2014

Empfehlungen für den Umgang mit rekombinanten Vacciniaviren

humanes Adenovirus

Familie: Adenoviridae

Genom: lineare dsDNA, 32 – 38 kb

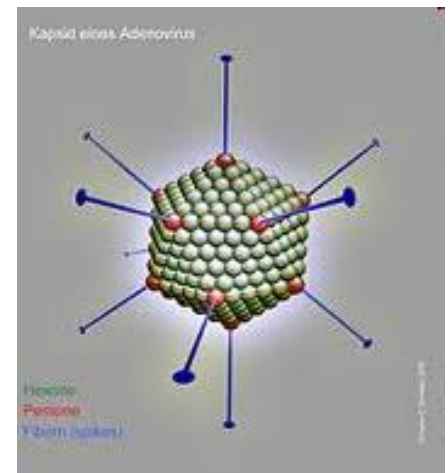
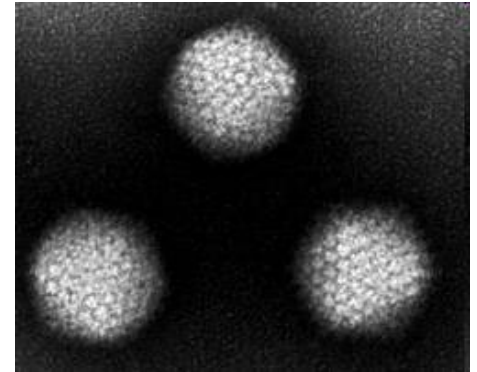
> 50 verschiedene humane Adenoviren bekannt

**Infektionen der Atemwege, Bindehaut,
Gastrointestinalbereich**

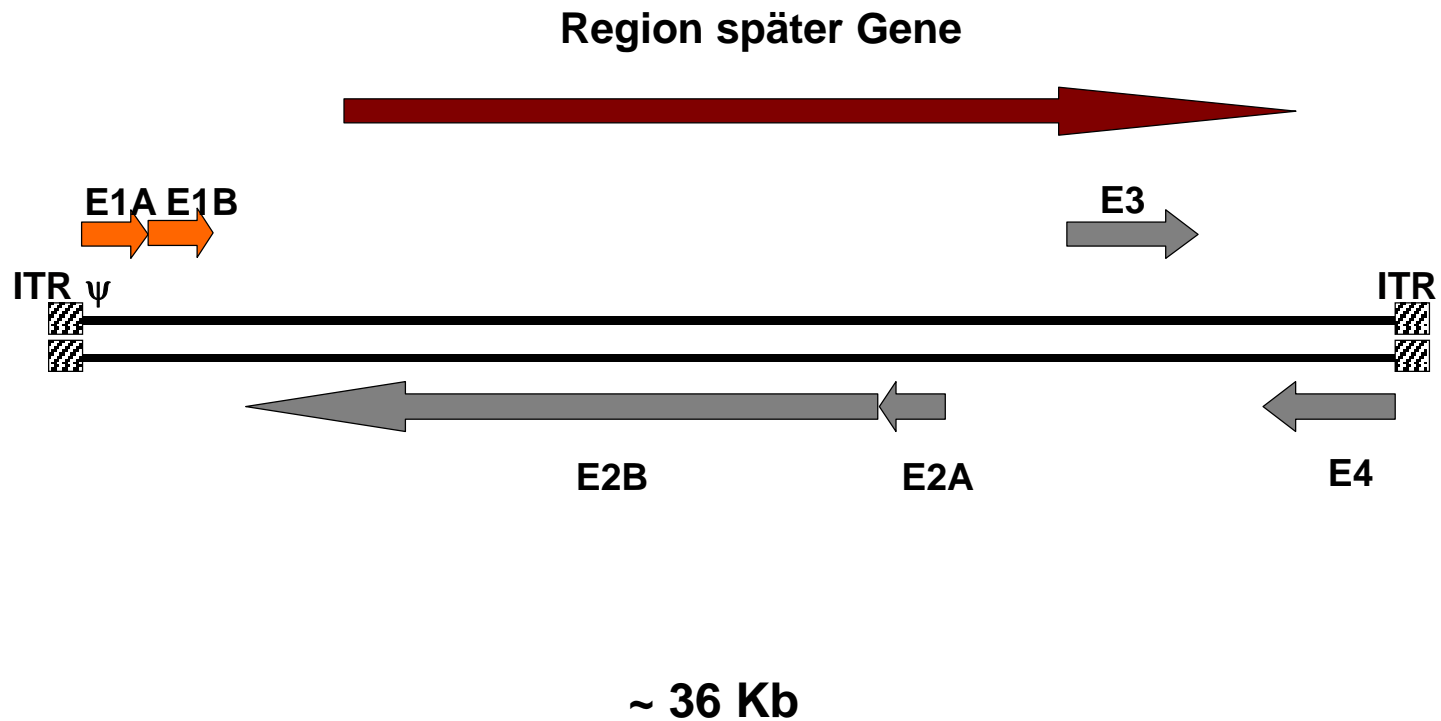
Vorteile der Ad5-Vektoren

- breiter Zelltropismus
- Transduktion teilender und nicht-teilender Zellen
- hohe Transduktionseffizienz
- hochtitrige Anzucht

Risikogruppe 2

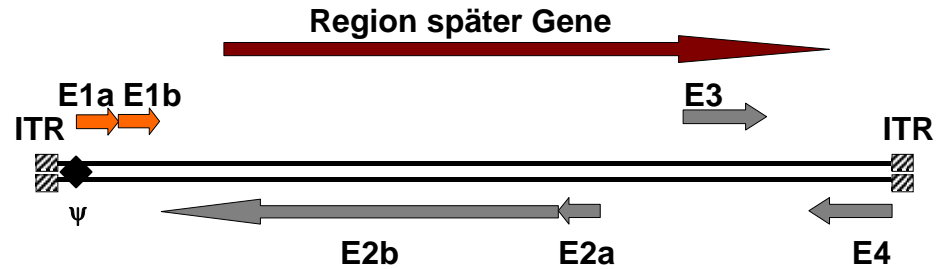


Adenovirus-Genom

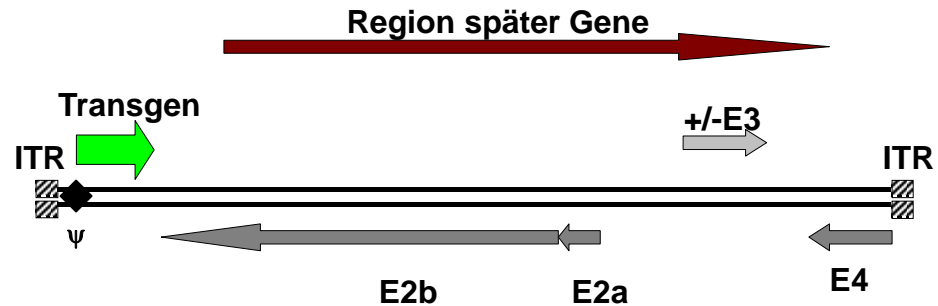


Ad5-abgeleitete Vektoren

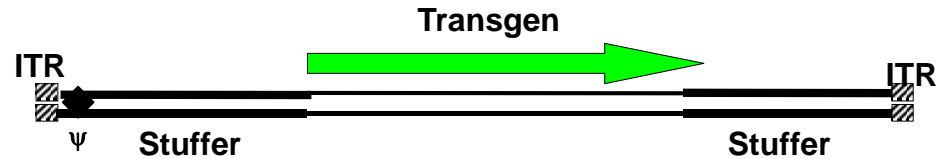
Ad5-Genom



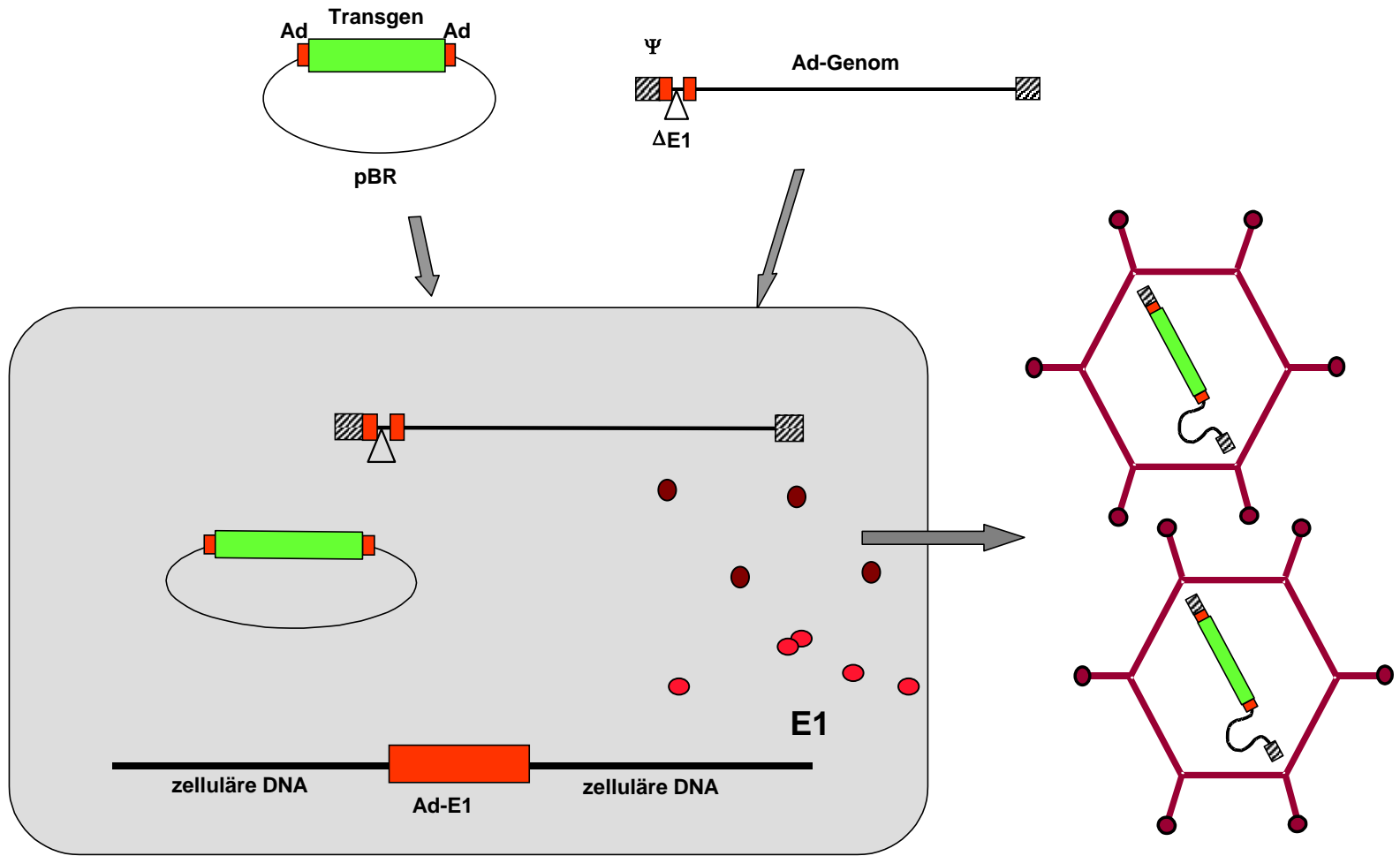
Vektor der 1. Generation



Gutless-Vektor



Herstellung von Ad5-Vektoren der 1. Generation

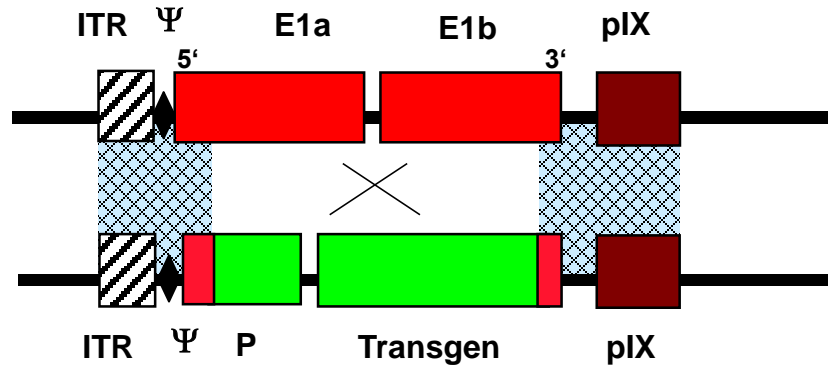


Ko-Transfektion in Helferzelllinie (293)

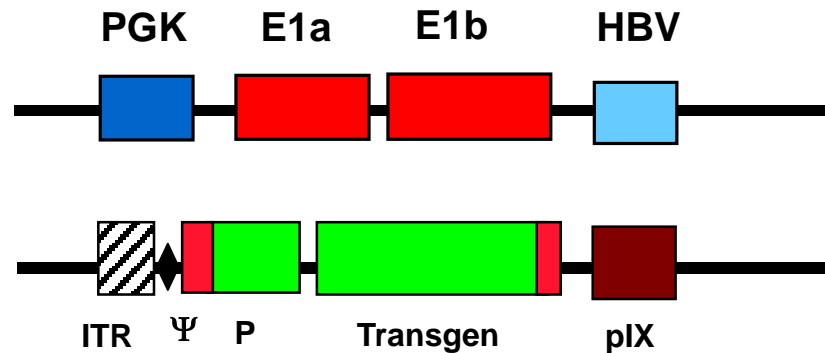
Verpackung zu viralen Vektoren

Ad5-DNA in Helferzellen und Vektor

herkömmliche
Helferzelle

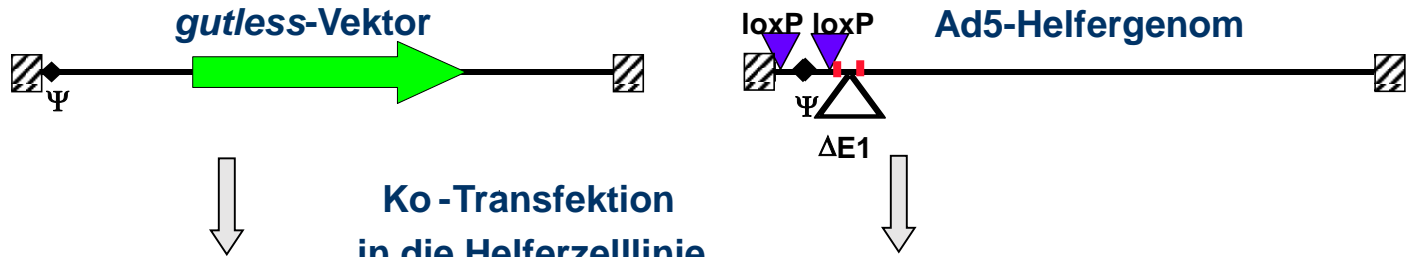


sichere
Helferzelle

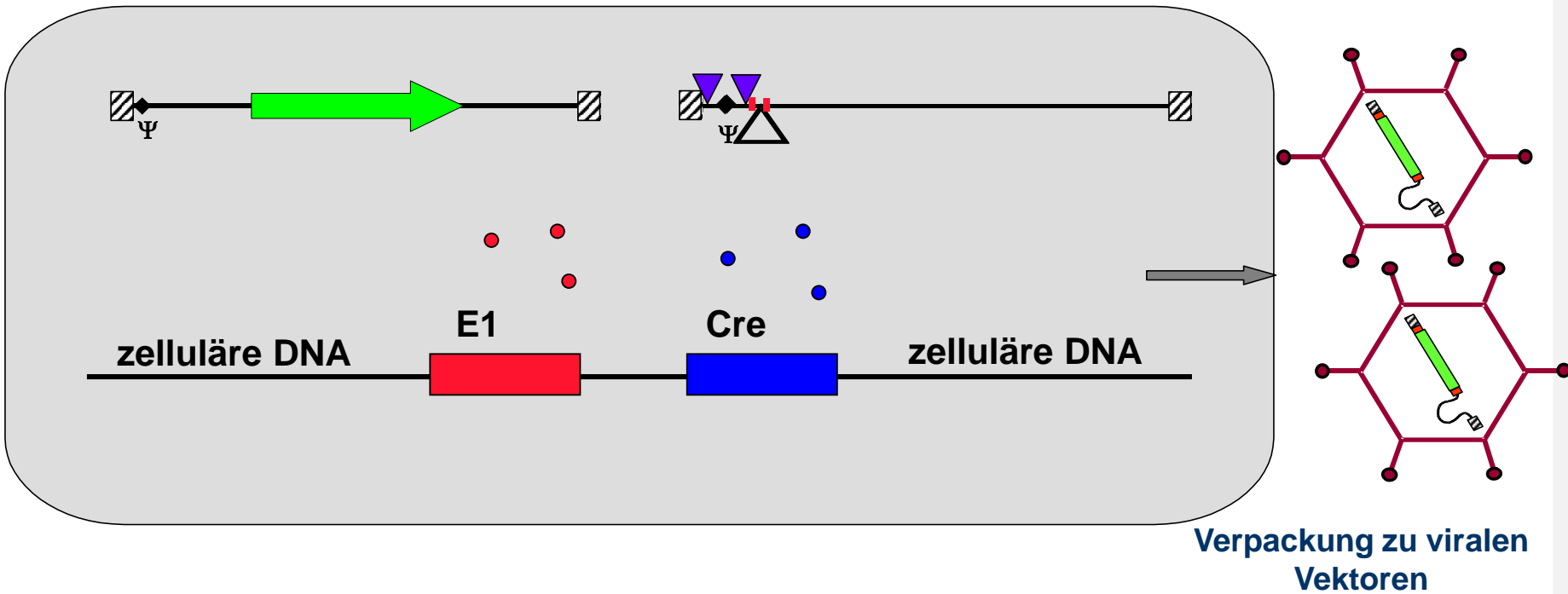


Herstellung von *gutless*-Vektoren

3 Komponenten:



Ko-Transfektion
in die Helferzelllinie



Maßgeblich für die Risikobewertung der Vektoren:

- Infektiosität für humane Zellen
- Expression weiterer Ad-viraler Gene
- Kontamination mit replikations-kompetenten Ad5/ -defekter Helferviren
- Eigenschaften des Transgens
(Gefährdungspotenzial: Onkogen, Prion)

Risikobewertung:

Ad5-Vektoren der 1. und 2. Generation

Risikogruppe 2

Gutless-Vektor

Risikogruppe 1

Zellen der RG1 nach Infektion mit rd Ad-Vektoren

Risikogruppe 1

Verwendung in der somatischen Gentherapie

- lentivirale Vektoren
- ecotrope Vektoren
- amphotrope Vektoren

HIV:

AIDS

Risikogruppe 3**

MLV:

Leukämie bei Mäusen

Risikogruppe 1 oder 2

Risikobewertung muriner Retroviren

Wirtsbereich:	ecotrop:	Mäuse, Ratten
	amphotrop:	Mäuse,, Mensch
Übertragung:	nicht aerogen	
Stabilität:	labil	
Pathogenität:	selten: Neoplasie, Leukämie, durch Insertion und Aktivierung von Onkogenen	

Risikobewertung:

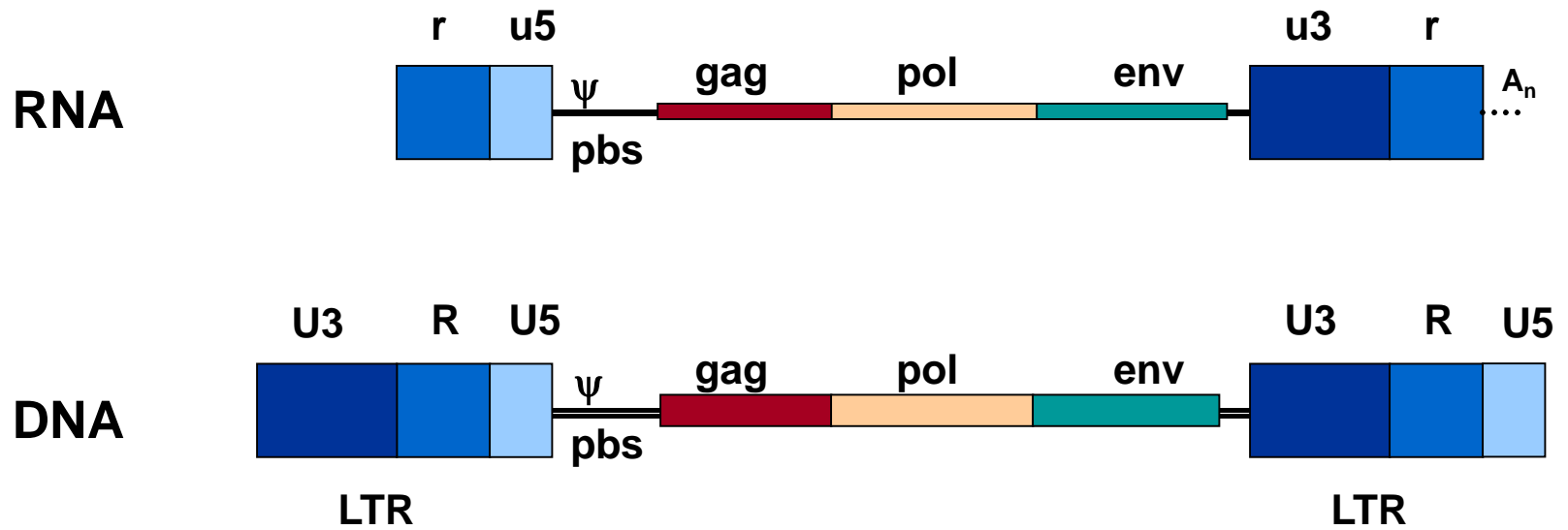
ecotrope murine Retroviren
(Ausnahme: Lake Casitas)

Risikogruppe 1

amphotrope murine Retroviren

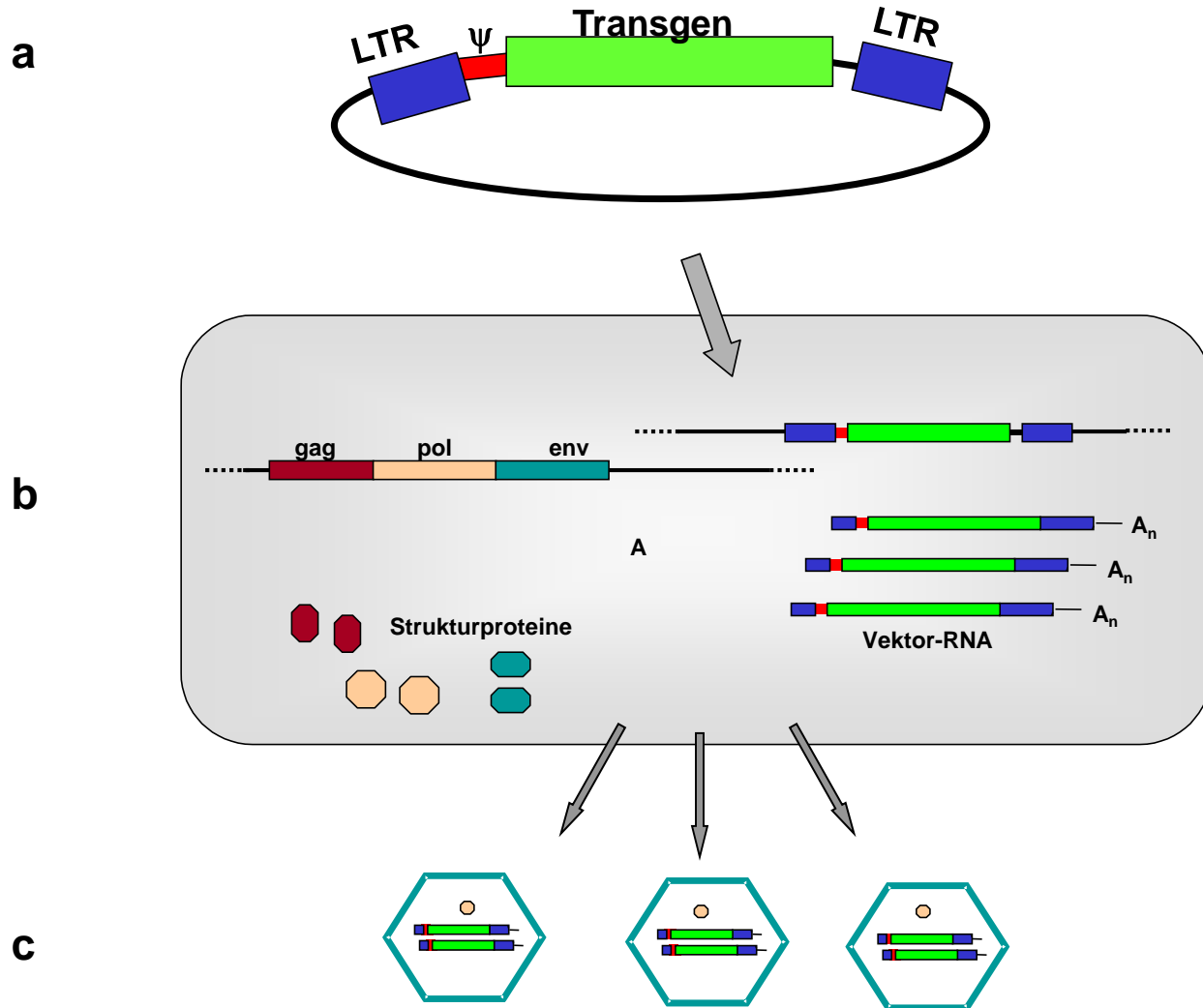
Risikogruppe 2

Genom des murinen Retrovirus

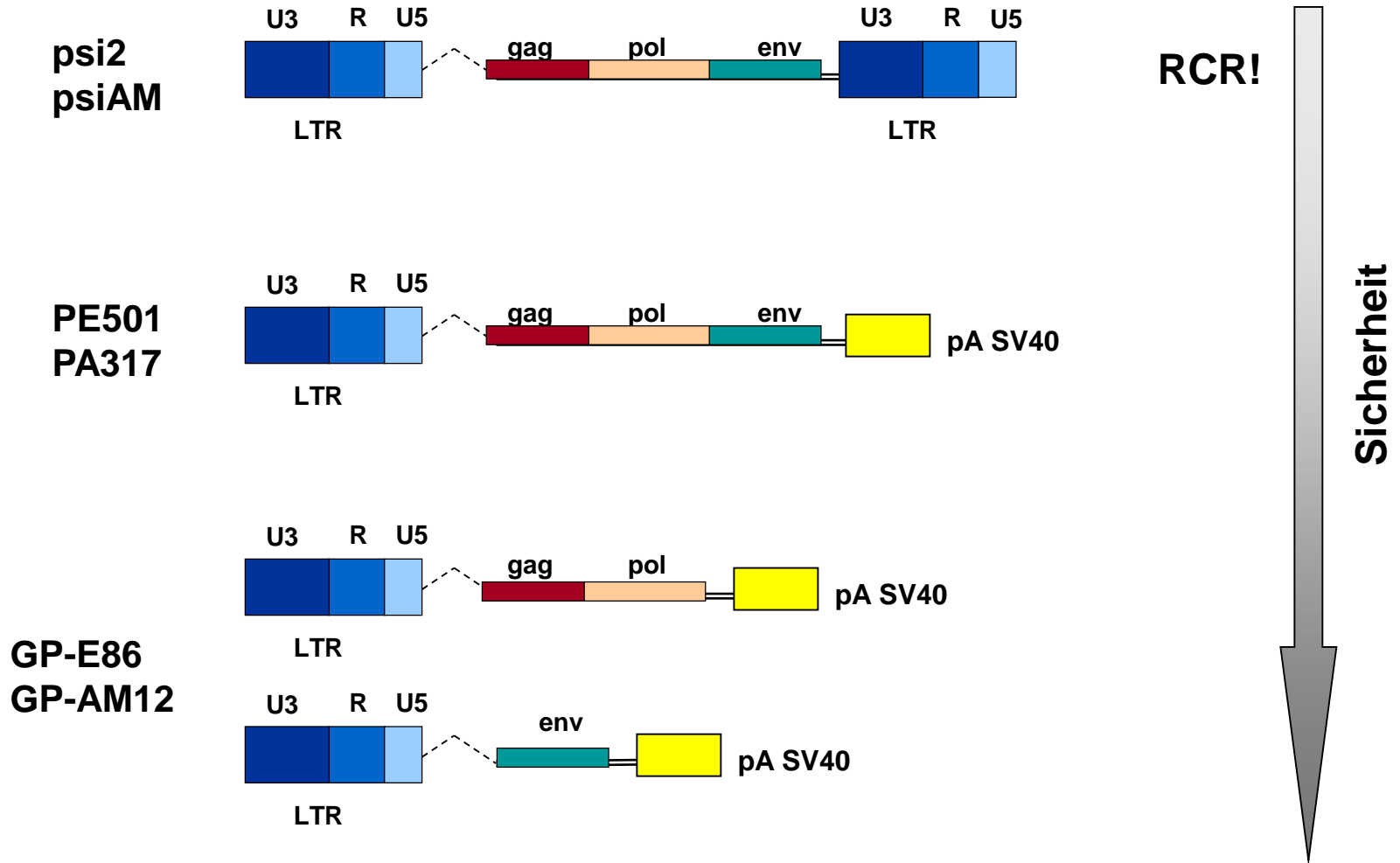


RNA: 7 - 14 kb

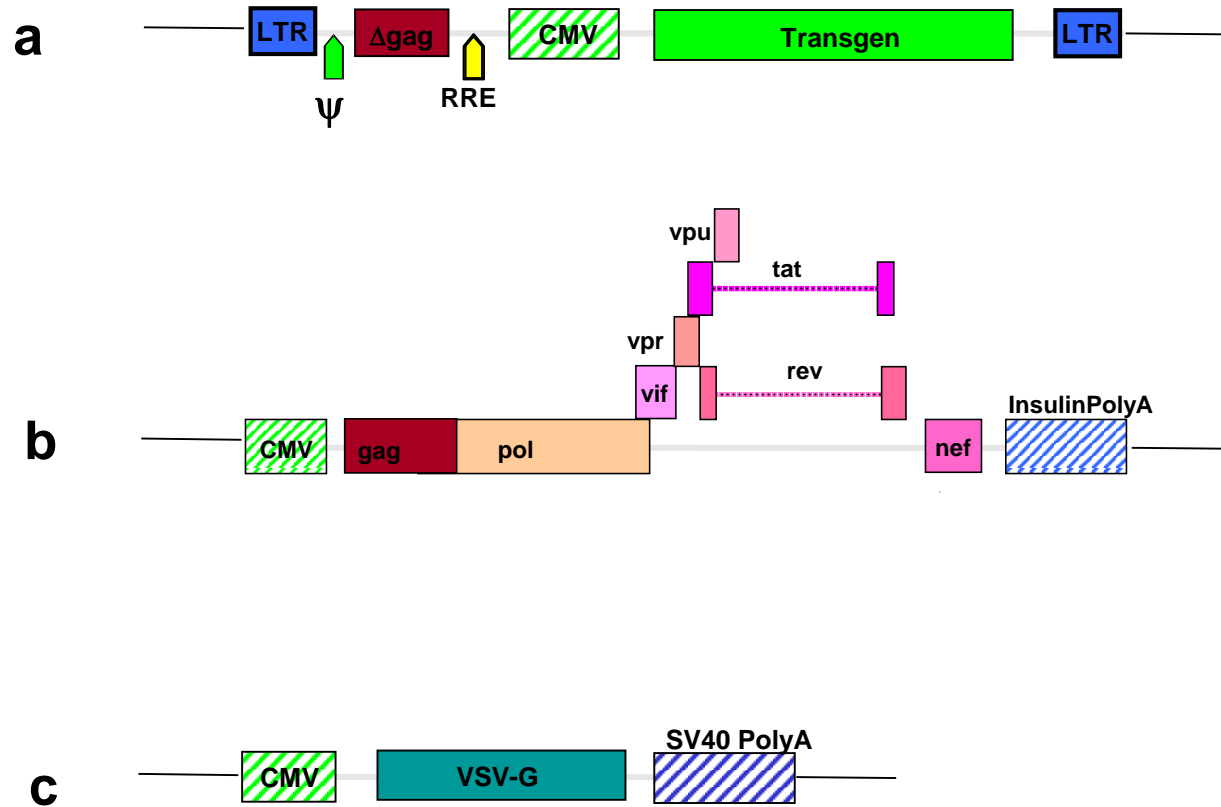
Herstellung retroviraler Vektoren



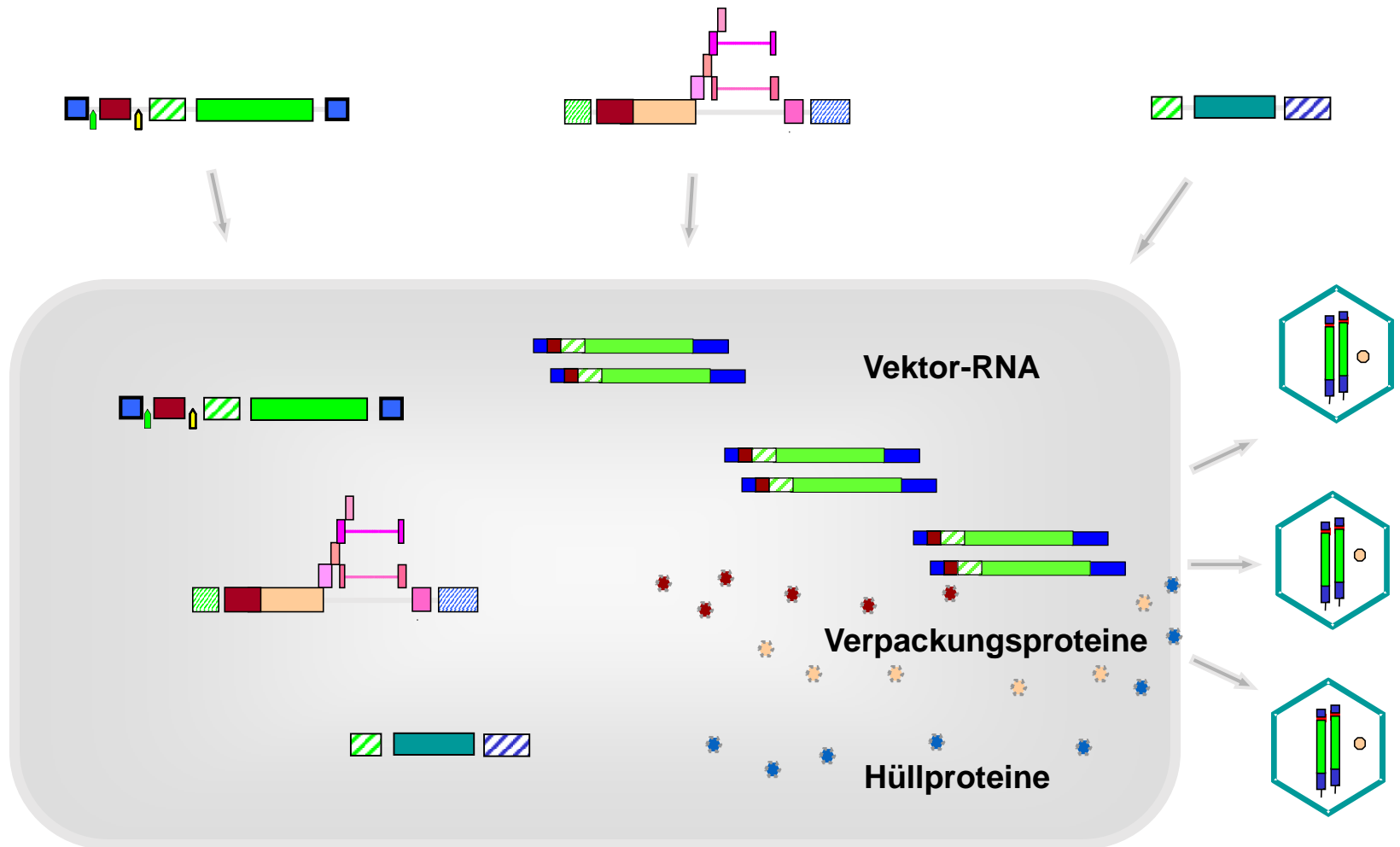
Helfergenome in Verpackungszelllinien



Herstellung HIV-abgeleiteter Vektoren



Herstellung HIV-abgeleiteter Vektoren



Risikobewertung retroviraler Vektoren

ecotrope Verpackungszelllinie	Risikogruppe 1
amphotrope Verpackungszelllinie	Risikogruppe 1
ecotrope Verpackungszelllinie mit retroviralem Plasmid	Risikogruppe 1
ecotrope retrovirale Vektoren	Risikogruppe 1
amphotrope Verpackungszelllinie mit retroviralem Plasmid	Risikogruppe 2
amphotrope retrovirale Vektoren	Risikogruppe 2
VSV-G-pseudotypisierter lentiviraler Vektor	Risikogruppe 2
Zellen der Risikogruppe 1 nach Transduktion mit retroviralem/lentiviralem Vektor	Risikogruppe 1

Andere replikationsdefekte Viren

Ursprungsvirus	Genom	Risikogruppe
Tupaia-Paramyxovirus	(-)-ss-RNA	1
Rabies-Virus	(-)-ss-RNA	1
Vesikuläres Stomatitis-Virus	(-)-ss-RNA	1
Semliki-Forest-Virus	(+)-ss-RNA	1
Sindbis-Virus	(+)-ss-RNA	1

Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zu häufig durchgeführten gentechnischen Arbeiten mit den zugrundeliegenden Kriterien der Vergleichbarkeit: Gentechnische Arbeiten mit von RNA-Viren abgeleiteten Minigenomen, Replikons und virusähnlichen Partikeln zum Einbringen in humane oder tierische Zellen, Az. 45310.0118, Februar 2021

Infektion von Tieren mit GVO



- infizierte Tiere sind keine GVO
- nur somatische Zellen infiziert
- Eliminierung der infizierten Zellen durch das Immunsystem

Replikationskompetente Mikroorganismen

Haltung in gentechnischer Anlage der entsprechenden Sicherheitsstufe (Abgabe von GVO)

Replikationsdefiziente Mikroorganismen

Lentiviren: nur Infektion in gentechnischer Anlage (bis 24 h p.i., Desinfektion Injektionsstelle, Käfigwechsel)
Ad/AAV: Shedding, keine Verallgemeinerung möglich

(Datenlage, nach 7d Abreicherung)

Transduzierte Zellen

Im Kontext der biologischen Einheit „Tier“ keine eigenständigen GVO
Nur Inokulation in gentechnischer Anlage

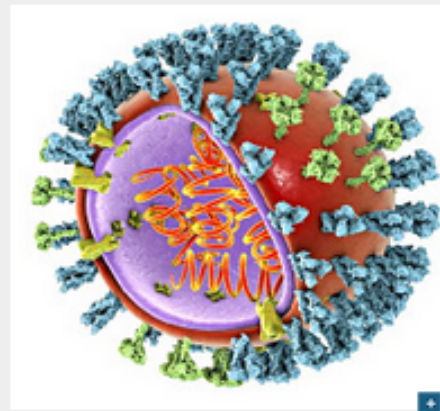
Influenzaviren – Fokusthema

Übersicht: Influenzaviren

- ↓ Influenzaviren – Auslöser der „echten“ Grippe
- ↓ Meister der Verwandlung
- ↓ Gentechnische Arbeiten mit Influenzaviren
- ↓ Risikobewertung von gentechnischen Arbeiten mit Influenzaviren
- ↓ Links zu allgemeinen Stellungnahmen der ZKBS zu Influenza-A-Viren

Influenzaviren – Auslöser der „echten“ Grippe

Nach Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation entwickeln jährlich drei bis fünf Millionen Menschen weltweit eine schwere Verlaufsform der Grippe. Von diesen Erkrankungen enden schätzungsweise 290.000 bis 650.000 tödlich. Auch in Deutschland sterben in einer Grippesaison bis zu 20.000 Menschen an der Erkrankung. Aber auch weniger dramatische Verläufe verursachen einen enormen wirtschaftlichen Schaden. So schätzt das Robert Koch-Institut, dass sich während der etwa acht- bis zehnwöchigen jährlichen Grippewelle 5 – 20 % der deutschen Bevölkerung anstecken. Entsprechend hoch sind Arbeitsausfälle und Kosten für das öffentliche Gesundheitssystem.



© Kateryna_Kon / fotolia.com

Die Grippe wird von Influenza-A- und -B-Viren ausgelöst. Eine Abgrenzung zu Grippe-ähnlichen Erkrankungen, die von anderen Viren ausgelöst werden, ist auf Basis der Krankheitssymptome allein oft schwierig. Die Grippe ist durch plötzlich einsetzende Symptome wie Fieber, Husten, Kopf-, Muskel- und Gelenkschmerzen und allgemeine Schwäche gekennzeichnet. Die meisten Menschen erholen sich innerhalb einer Woche von der Erkrankung. Vor allem bei älteren Menschen und bei Menschen mit Vorerkrankungen oder einem geschwächten Immunsystem kann die Infektion jedoch auch schwer verlaufen und eine medizinische Behandlung erfordern.

Neben Influenza-A- und -B-Viren gibt es außerdem Influenza-C-Viren, die ebenfalls den Menschen infizieren. Sie scheinen jedoch, wenn überhaupt, nur eine sehr leichte Erkrankung auszulösen. Antikörper gegen Influenza-C-Viren sind in der Bevölkerung weit verbreitet, was für eine häufige unbemerkte

Ansteckung mit diesen Viren spricht. Die Viren haben demzufolge eine eher untergeordnete Relevanz für die öffentliche

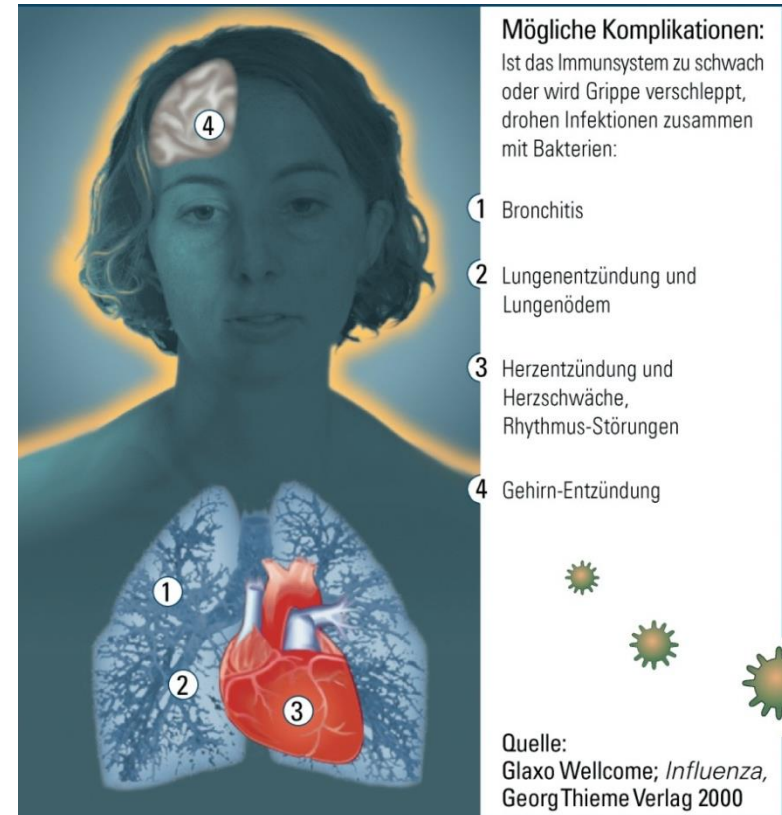
Influenza A-Viren im Tier

- **Schwein und andere Säugetiere**
 - nur geringe Bedeutung als Tierpathogen
 - Ausgangspunkt neuer Virusvarianten/Epidemien
- **Vogel**
 - Wildgeflügel als natürliches Reservoir
 - Ausgangspunkt neuer Virusvarianten/Epidemien
 - **Besondere Bedeutung als Tierpathogen:**
 - Geflügelpest/Vogelgrippe**
 - hochpathogene aviäre Influenza Viren (HPAIV)**
 - **Für Menschen gefährliche Varianten (H5N1, H7N9)**



Influenza A-Viren im Menschen

- (schwere) Grippe, ev. mit Komplikationen
- saisonale Grippe, jährlich auftretend (bis zu 20.000 Todesfälle/Jahr)



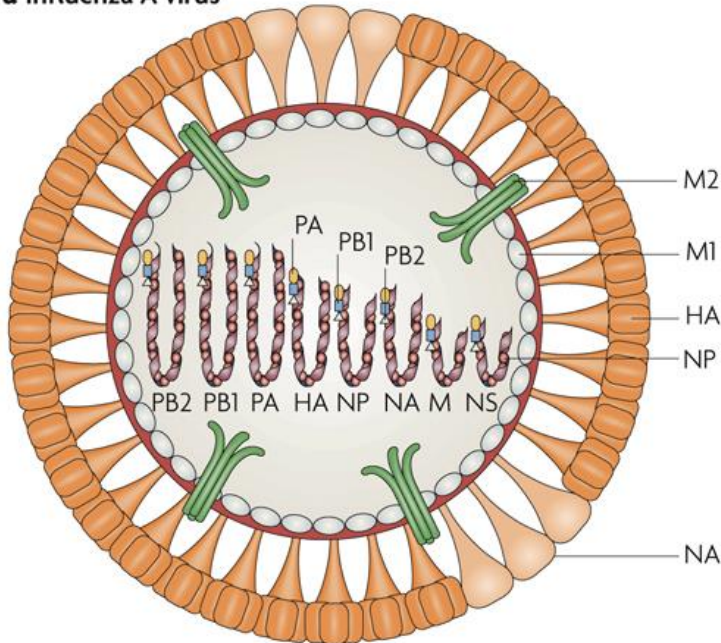
Influenza A-Viren im Menschen

- (schwere) Grippe, ev. mit Komplikationen
- saisonale Grippe, jährlich auftretend
(bis zu 20.000 Todesfälle/Jahr in Deutschland)
- regelmäßige Influenza A-Pandemien
 - Spanische Grippe (1918–1920), 25-50 Mio. Tote
 - Asiatische Grippe (1957), 1-2 Mio. Tote
 - Hongkong-Grippe (1968), 700.000 Tote
 - (- Schweinegrippe (2009), 15.000 - 575.000 Tote)
- Zoonotische Erkrankungen, selten, oft schwerer Verlauf
 - Vogelgrippe (Subtyp H5N1), neue chinesische/aviäre Grippe (Subtyp H7N9)



Influenza A-Viren

a Influenza A virus



8 ss(-)RNA-Segmente kodieren für 10(17) Proteine

PB2

PB1 (PB1-F2)

PA (PA-X)

HA

NA

NP

M1, M2

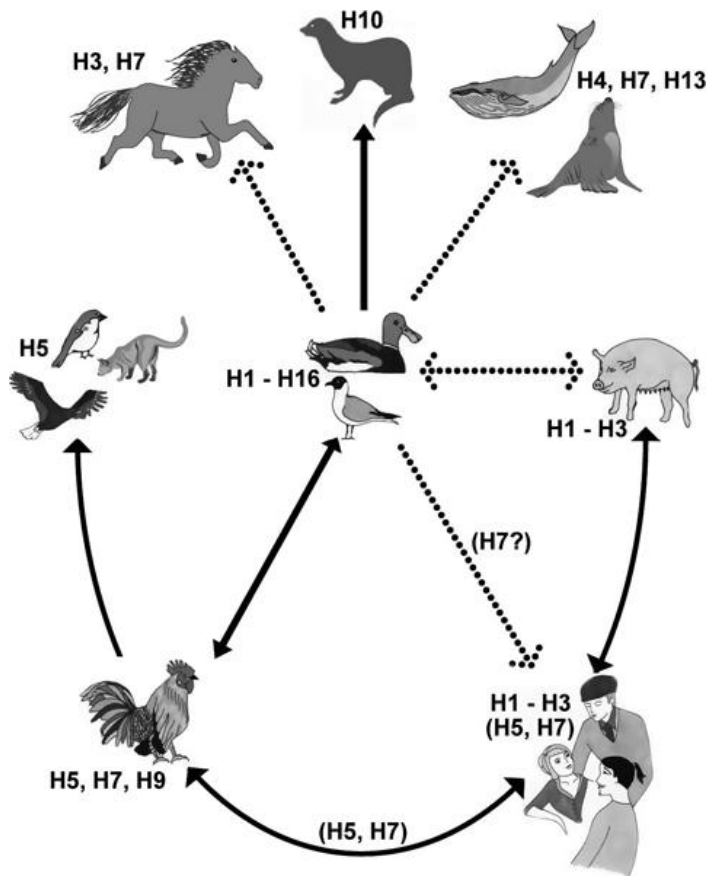
NS1, NS2

Polymerase/Replikasekomplex

Hämagglutinin (H)

Neuraminidase (N)

Influenza A-Viren



Unterschiedliche Subtypen haben unterschiedliche Wirte

- (Fast) alle HA und NA im Vogel zu finden
- Mensch: Nur bestimmte Subtypen, wechselnd aktuell H1N1, H3N2 (saisonale Grippe)
- Aber auch Spezies-übergreifende Infektion möglich z.B. H5N1 von Vogel zu Mensch

Pathogenitätsfaktoren:

- Hämagglutinin
- Polymerase/Replikasekomplex

Risikobewertung von Influenza A-Viren

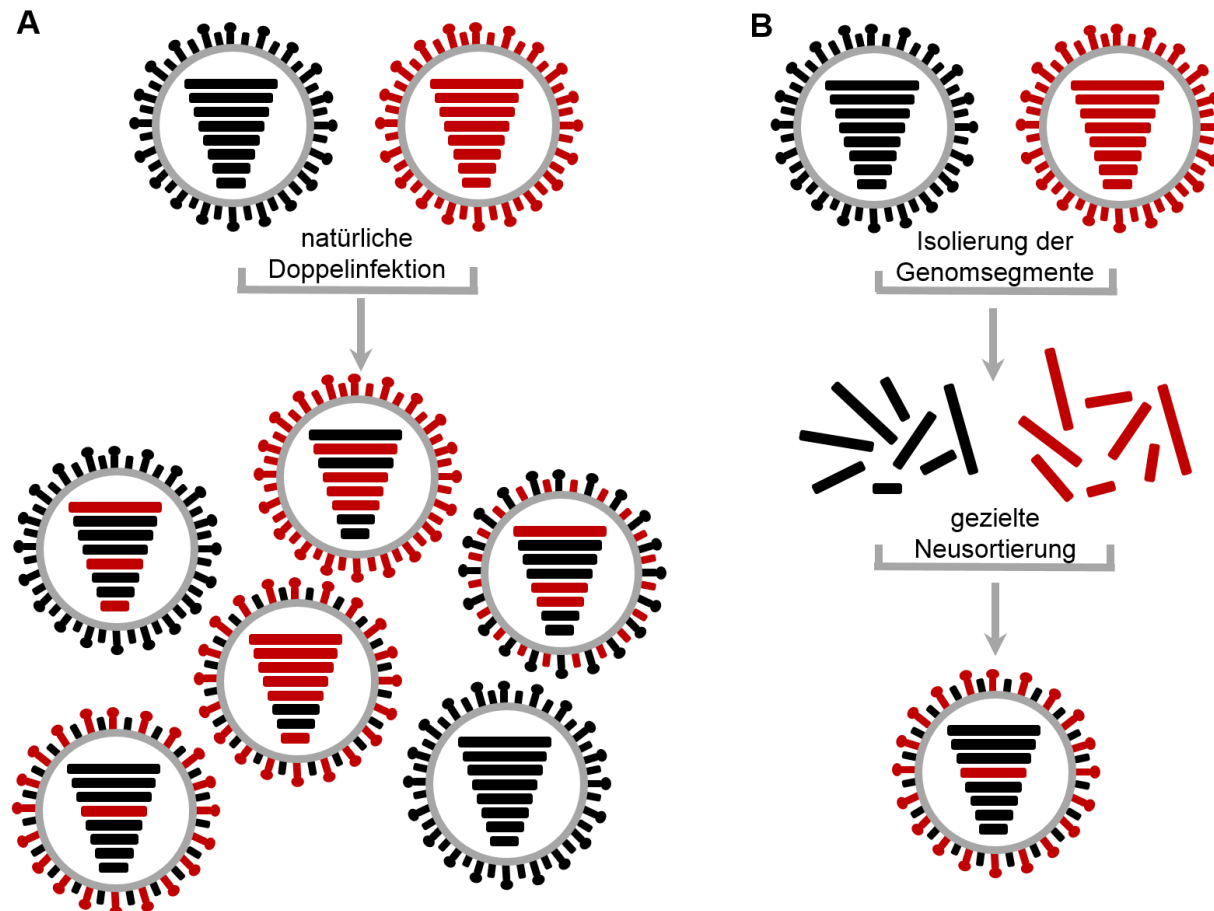
Generell sind Influenza A-Viren nach Richtlinie 2000/54/EG der **Risikogruppe 2** zuzuordnen.

Subtyp-spezifische Ausnahmen (definiert in ZKBS-Stellungnahmen), folgende Stämme/Subtypen werden der **Risikogruppe 3** zugeordnet:

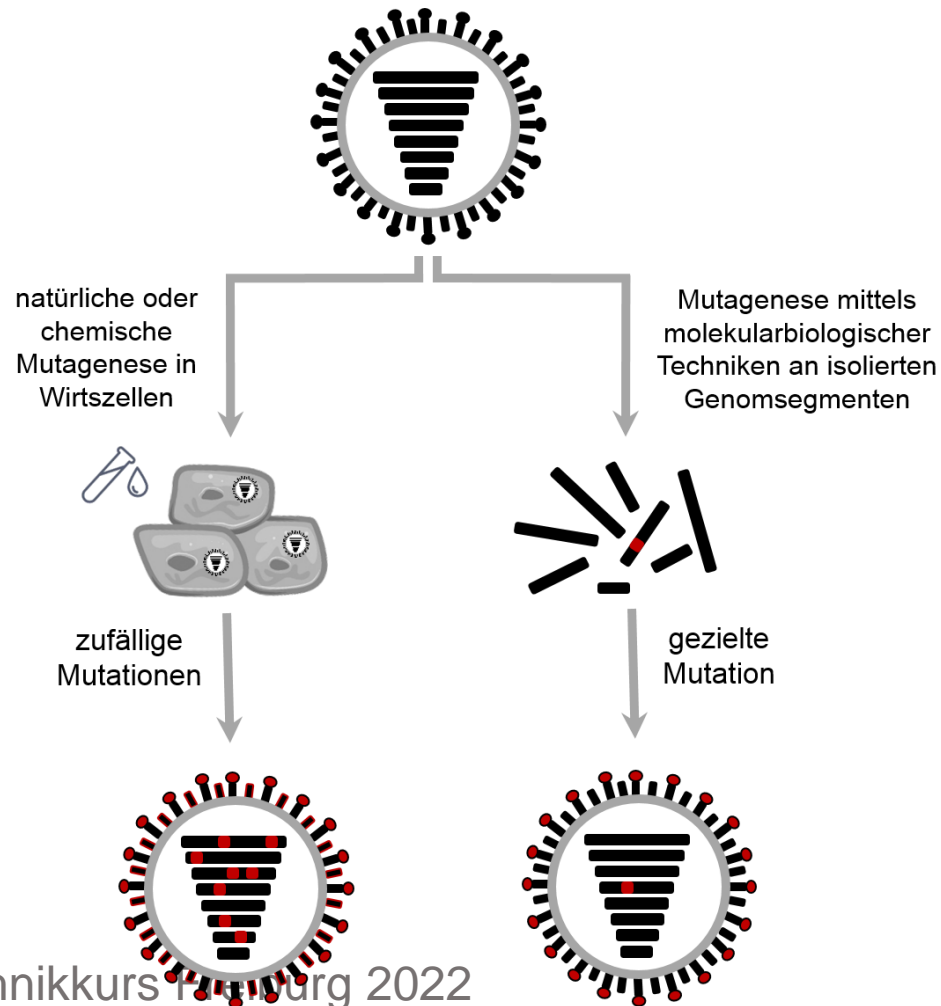
- I) nicht aktuell zirkulierende Influenza A-Viren des Subtyps H2N2
- II) Variante des Subtyps H1N1 der Spanischen Grippe von 1918
- III) hochpathogene aviäre Influenzaviren (HPAIV) (z.B. H5N1, Geflügelpest)
- IV) neuartiges aviäres Influenza A-Virus H7N9 (2013)

Hohe Komplexität bei der Bewertung gentechnischer Arbeiten

1. Reassortierung



Hohe Komplexität bei der Bewertung gentechnischer Arbeiten 2. Mutationen



Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von gentechnischen Arbeiten mit rekombinanten Influenza-A-Viren (2019)

Mutationen am Oberflächenproteinen (HA)

- Beeinflussen die Zugänglichkeit für ubiquitäre Proteasen (mono-/multibasische Schnittstelle)
- Beeinflussen Rezeptorspezifität (humane Adaptation, siehe ZKBS-Liste)
- Beeinflussen Luftübertragbarkeit

Mutationen am Polymerasekomplex

- Erhöhung der Replikationseffizienz?
- Vorsorgliche Einstufung oder vorliegende Daten (siehe ZKBS-Liste)

Resistenz gegen antivirale Wirkstoffe

- Einzelfallbewertung (siehe ZKBS-Liste)

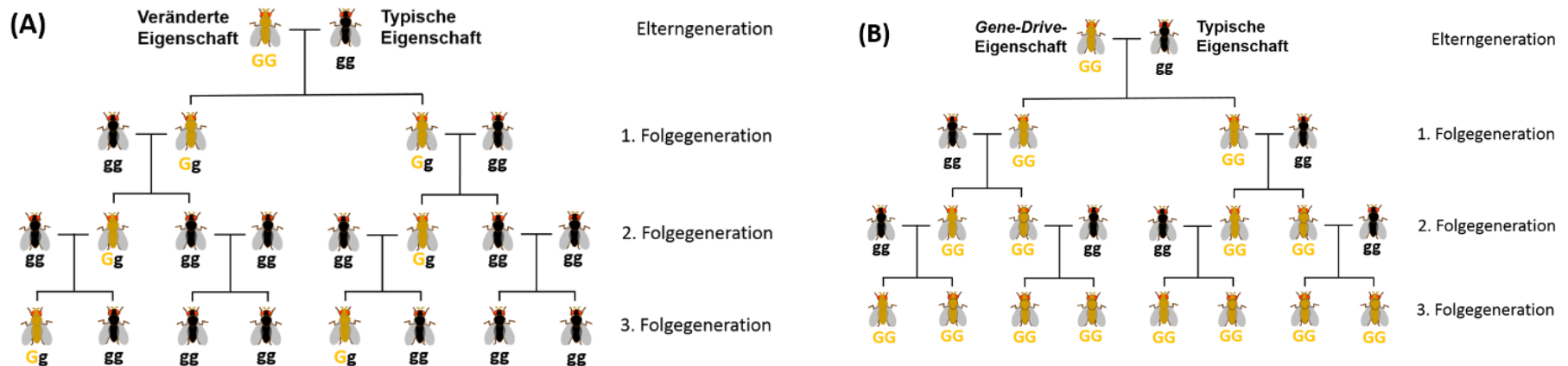
Gene-Drive-Systeme - das egoistische Genkonstrukt

The mutagenic chain reaction: A method for converting heterozygous to homozygous mutations

Valentino M. Gantz* and Ethan Bier*

24 APRIL 2015 • VOL 348 ISSUE 6233

sciencemag.org SCIENCE

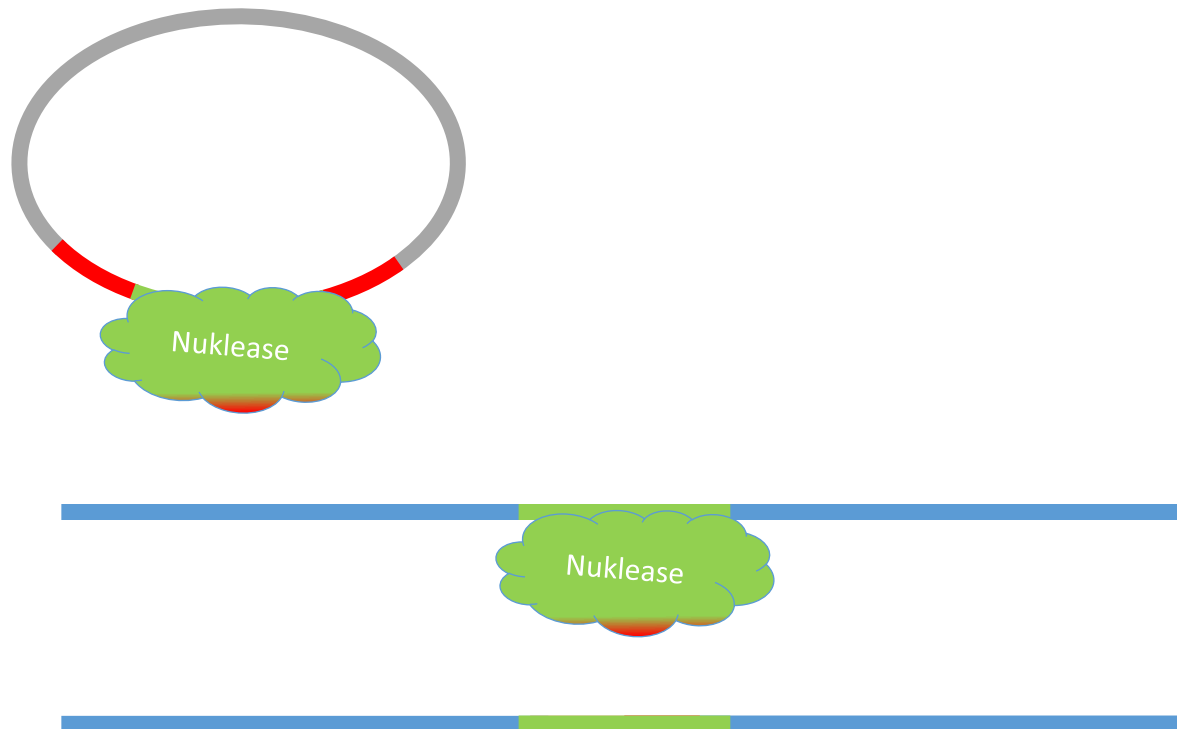
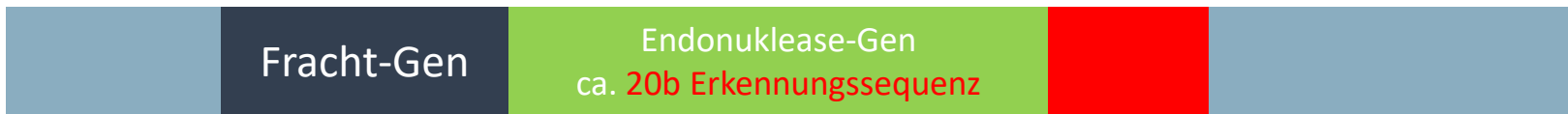


Vererbung gemäß Mendel (A) bzw. eines Gene-Drives (B). Der jeweilige Genotyp, G (gelb) oder g (schwarz), ist unterhalb der Fliegen angegeben. (A) Die veränderte Eigenschaft (gelb) ist der dominante Phänotyp. (B) Die veränderte Eigenschaft (gelb) ist an einen Gene-Drive gekoppelt.

Quelle: © Werner Schenkel / BVL

Aufbau und Funktion eines Gene-Drive Genkonstruktes

Zygote:



~~Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung von gentechnischen Arbeiten zur Herstellung und Verwendung von höheren Organismen mit rekombinanten Gene-Drive-Systemen (Februar 2016) - Fokusthema~~

Novelle GenTSV: Grundsätzlich S3 → Genehmigungsverfahren

(§ 10 Abs. 5, § 11 Abs. 6)

Risikobewertung im **Einzelfall** mit Empfehlungen für einzuhaltende Sicherheitsmaßnahmen

gemäß § 7 i. V. m. Anhang I GenTSV

- Informationen über die verwendeten Spender- und Empfängerorganismen
-
- die gentechnische Veränderung des jeweiligen GVO
- gesundheitliche Erwägungen
- **Umwelterwägungen**



Transmissible Spongiforme Enzephalopathien (TSE)



Bovine spongiforme Enzephalopathie

Creutzfeldt-Jakob Erkrankung

Kuru

Scrapie

Risikogruppe 3**

Risikogruppe 3**

Risikogruppe 3**

Risikogruppe 2



Erkrankung: - erblich
- spontane Mutation
- Ansteckung (oral, iv, ip, Speziesbarriere, Konzentrationsabhängigkeit)

Gentechnische Arbeit: Einfluss von Prionproteinen auf zellulären Stoffwechsel

Spenderorganismus

Mensch
Maus

Empfängerorganismen

- a. *E. coli* K12 Risikogruppe 1
- b. humane Zelllinie 293 Risikogruppe 1

Gentechnisch veränderte Organismen (I)

- a. *E. coli* K12 transformiert durch **eukaryotischen** Expressionsvektor (z. B. pcDNA) einschließlich des PrPc-Gens (unverändert oder mutiert) der Maus oder des unveränderten humanen PrPc-Gens Risikogruppe 1
- b. *E. coli* K12 transformiert durch **eukaryotischen** Expressionsvektor (z. B. pcDNA) einschließlich eines potenziellen PrP^{Sc}-Gens Risikogruppe 2
- c. nachweislich nicht konversionsfähige PrP-Variante Risikogruppe 1

Gentechnische Arbeit: Einfluss von Prionproteinen auf zellulären Stoffwechsel

Gentechnisch veränderte Organismen (II)

c. humane Zelllinie 293 transfiziert mit einem Vektor (z. B. pcDNA) einschließlich des unveränderten humanen oder murinen PrPc-Gens

Risikogruppe 1

d. humane Zelllinie 293 transfiziert mit einem Vektor (z. B. pcDNA) einschließlich des mutierten humanen oder murinen PrPc-Gens

Risikogruppe 1

Gentechnische Arbeiten

mit GVO a., c., d

Sicherheitsstufe 1

mit GVO b.

Sicherheitsstufe 2

Umgang mit dem aufgereinigten PrP^{Sc} unterliegt der Biostoffverordnung (Beschluss 603)