

## Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von im Handel frei erhältlichen Do-it-yourself (DIY)-Kits für gentechnische Experimente

Derzeit bieten mehrere Firmen Experimentierkästen für einfache mikrobiologische Experimente im Online-Handel an, so genannte Do-it-yourself (DIY)-Kits. In der Folge wurden verstärkt Anfragen zur gesetzlichen Regulierung und zur Risikobewertung dieser Kits von interessierten Personen an die obersten Landesbehörden der Bundesländer gerichtet. Vor diesem Hintergrund hat das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft die ZKBS um eine Stellungnahme zur Risikobewertung der betreffenden DIY-Kits gebeten. Im Einzelnen werden die folgenden Kits auf Basis der im Internet verfügbaren Herstellerangaben bewertet:

### „Engineer-it“-Kit (Amino Labs), Kanada

Der „Engineer-it“-Experimentierkasten der Firma Amino Labs enthält alle notwendigen Komponenten (Verbrauchsmaterialien, Reagenzien, ein rekombinantes Plasmid sowie Zellen des Bakterienstammes *Escherichia coli* K12) für die Durchführung eines Transformations-experiments zur Herstellung gentechnisch veränderter *E. coli*-Bakterien. Gemäß beiliegender Versuchsanleitung werden die Bakterien zunächst vermehrt und chemisch kompetent gemacht. Anschließend werden die Bakterien durch ein Plasmid, welches ein Antibiotikum-Resistenzgen sowie ein Gen für ein frei wählbares farbiges oder fluoreszierendes Protein enthält, transformiert. Die transformierten Bakterien werden ausplattiert und kultiviert.

Bei dem beschriebenen Experiment handelt es sich gemäß § 3 Abs. 2 GenTG um eine gentechnische Arbeit. Der Empfängerorganismus *E. coli* K12 ist der **Risikogruppe 1** zugeordnet und als Teil einer biologischen Sicherheitsmaßnahme gemäß § 6 Abs. 4 GenTSV anerkannt. Das eingesetzte Plasmid enthält jeweils ein Antibiotikum-Resistenzgen und ein Gen für ein farbiges oder fluoreszierendes Protein. Ob der Vektor die Voraussetzungen gemäß § 6 Abs. 5 GenTSV für die Anerkennung als Teil einer biologischen Sicherheitsmaßnahme erfüllt, ist der verfügbaren Beschreibung nicht zu entnehmen. Die mithilfe des Vektors übertragenen Nukleinsäureabschnitte erhöhen nicht das Gefährdungspotenzial von *E. coli* K12. Die gentechnisch veränderten Organismen sind daher – unter der Voraussetzung, dass weder der Vektor noch das Insert Nukleinsäureabschnitte mit Gefährdungspotenzial enthalten – gemäß § 5 Abs. 1 Satz 2 GenTSV der **Risikogruppe 1** zuzuordnen.

### „Engineer GFP Yeast“-Kit (The ODIN), USA

Der „Engineer GFP Yeast“-Experimentierkasten der Firma The ODIN enthält alle notwendigen Komponenten (Verbrauchsmaterialien, Reagenzien, ein rekombinantes Plasmid sowie Zellen des *Saccharomyces cerevisiae*-Stammes BY4742) für die Durchführung eines Transformations-experiments zur Herstellung gentechnisch veränderter Hefezellen. Die experimentelle Vorgehensweise ist in der beiliegenden Anleitung beschrieben. Zunächst werden die Hefezellen vermehrt und chemisch kompetent gemacht. Anschließend werden die Hefezellen durch ein rekombinantes Plasmid transformiert, welches das Gen für das *green fluorescent protein* sowie das *ura3*-Gen der Hefe enthält. Das *ura3*-Gen kodiert für die Orotidin-5'-phosphat-Decarboxylase, die das Wachstum des  $\Delta$ *ura3*-Stammes BY4742 auf Selektionsmedium ohne Uracil ermöglicht. Die transformierten Hefezellen werden ausplattiert und kultiviert.

Bei dem beschriebenen Experiment handelt es sich gemäß § 3 Abs. 2 GenTG um eine gentechnische Arbeit. Der Empfängerorganismus *S. cerevisiae* BY4742 ist der **Risikogruppe 1** zugeordnet und als Teil einer biologischen Sicherheitsmaßnahme gemäß § 6 Abs. 4 GenTSV anerkannt. Das eingesetzte Plasmid enthält ein Selektionsmarkergen und ein Gen für einen Fluoreszenzfarbstoff. Ob der Vektor die Voraussetzungen gemäß § 6 Abs. 5 GenTSV für die Anerkennung als Teil einer biologischen Sicherheitsmaßnahme erfüllt, ist der verfügbaren Beschreibung nicht zu entnehmen. Die mithilfe des Vektors übertragenen Nukleinsäure-

abschnitte erhöhen nicht das Gefährdungspotenzial von *S. cerevisiae* BY4742. Die gentechnisch veränderten Organismen sind daher – unter der Voraussetzung, dass weder der Vektor noch das Insert Nukleinsäureabschnitte mit Gefährdungspotenzial enthalten – gemäß § 5 Abs. 1 Satz 2 GenTSV der **Risikogruppe 1** zuzuordnen.

### „Bacterial Gene Engineering CRISPR“-Kit (The ODIN), USA

Der „Bacterial Gene Engineering CRISPR“-Experimentierkasten der Firma The ODIN enthält alle notwendigen Komponenten (Verbrauchsmaterialien, Reagenzien, zwei rekombinante Plasmide, *template*-DNA sowie Zellen des Bakterienstammes *Escherichia coli* HME63) für die Durchführung eines Transformationsexperiments zur Herstellung gentechnisch veränderter, Streptomycin-resistenter *E. coli*-Bakterien. Gemäß beiliegender Versuchsanleitung werden die Bakterien zunächst vermehrt und chemisch kompetent gemacht. Anschließend werden die Bakterien durch (i) ein Plasmid, welches das Gen für Cas9, die tracrRNA und ggf. ein Antibiotikum-Resistenzgen enthält, (ii) ein zweites Plasmid, welches die crRNA und ggf. ein Antibiotikum-Resistenzgen trägt sowie (iii) eine spezifische *template*-DNA mit der gewünschten K43T-Mutation des *rpsL*-Gens von *E. coli* transformiert. Die transformierten Bakterien werden ausplattiert und kultiviert.

Bei dem beschriebenen Experiment handelt es sich gemäß § 3 Abs. 2 GenTG um eine gentechnische Arbeit. Der Empfängerorganismus *E. coli* HME63 ist ein Derivat des *E. coli*-Stammes K12. Er ist somit der **Risikogruppe 1** zugeordnet und überdies als Teil einer biologischen Sicherheitsmaßnahme gemäß § 6 Abs. 4 GenTSV anerkannt. Die beiden eingesetzten Plasmide enthalten ggf. ein Antibiotikum-Resistenzgen sowie die Komponenten des CRISPR/Cas9-Systems [1] aus *Streptococcus pyogenes* (**Risikogruppe 2**). Ob die Vektoren die Voraussetzungen gemäß § 6 Abs. 5 GenTSV für die Anerkennung als Teil einer biologischen Sicherheitsmaßnahme erfüllen, ist der verfügbaren Beschreibung nicht zu entnehmen. Mithilfe des CRISPR/Cas9-Systems wird ein Doppelstrangbruch im *rpsL*-Gen eingeführt. Zudem wird eine spezifische *template*-DNA in die Zellen eingebracht, die als Vorlage für die bakterielle DNA-Reparaturmaschinerie dient. Die *template*-DNA umfasst einen Abschnitt des *rpsL*-Gens für das ribosomale S12-Protein von *E. coli* und enthält eine Mutation (K43T), die zur Resistenz gegenüber dem Antibiotikum Streptomycin führt [2]. Die übertragenen Nukleinsäureabschnitte sind ohne eigenes Gefährdungspotenzial und erhöhen nicht das Gefährdungspotenzial von *E. coli* HME63. Die gentechnisch veränderten Organismen sind daher – unter der Voraussetzung, dass die Vektoren und ihre Inserts keine Nukleinsäureabschnitte mit Gefährdungspotenzial enthalten – gemäß § 5 Abs. 1 Satz 2 GenTSV der **Risikogruppe 1** zuzuordnen.

### Hinweis

Gemäß § 8 Abs. 1 Satz 1 GenTG dürfen gentechnische Arbeiten nur in gentechnischen Anlagen durchgeführt werden. Die Durchführung gentechnischer Arbeiten außerhalb von gentechnischen Anlagen ist ordnungswidrig bzw. strafbar [3]. Die hier beschriebenen gentechnischen Arbeiten der **Sicherheitsstufe 1** sind in einer gentechnischen Anlage unter Berücksichtigung von Sicherheitsmaßnahmen der Stufe 1 durchzuführen.

### Literatur

1. Hsu, P.D., Lander, E.S., and Zhang, F. (2014). Development und applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* **157**(6):1262-1278.
2. Nair, J., Rouse, D.A., Bai, G.H., and Morris, S.L. (1993). The *rpsL* gene and streptomycin resistance in single and multiple drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol* **10**(3):521-527.
3. Fachmeldung des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: [http://www.bvl.bund.de/DE/06\\_Gentechnik/04\\_Fachmeldungen/2017/2017\\_01\\_25\\_DIY-Kits.html;jsessionid=89228F0AB0DBA0D2E796618F00615E68.2\\_cid340](http://www.bvl.bund.de/DE/06_Gentechnik/04_Fachmeldungen/2017/2017_01_25_DIY-Kits.html;jsessionid=89228F0AB0DBA0D2E796618F00615E68.2_cid340)