



Az.: 6790-10-07

Oktober 1992

Stellungnahme der ZKBS zur Bewertung des „*E. coli* TOPP™-Protein-Expressionsystems“

Einführung:

Die Firma Stratagene bietet *E. coli*-Stämme unter dem Handelsnamen *E. coli*-TOPP™ an, mit deren Hilfe - unter Verwendung üblicher *E. coli* K12-Vektoren (z.B. pBR322-Derivate) - eine Überproduktion von Proteinen erzielt werden kann, die im *E. coli* K12-System wenig effizient gebildet werden.

Es ist zu erwarten, daß *E. coli* TOPP™-Stämme in Zukunft häufiger als Empfänger für rekombinante prokaryotische Expressionsvektoren verwendet werden. Mit dieser Stellungnahme soll den Genehmigungsbehörden die Möglichkeit gegeben werden, eine Sicherheits-einstufung gentechnischer Arbeiten mit *E. coli* TOPP™-Stämmen als Empfängerorganismen ohne erneute Beteiligung der ZKBS vorzunehmen, sofern gentechnisch veränderte *E. coli* K12-Stämme, die der Risikogruppe 1 zugeordnet wurden, als Ausgangsorganismen verwendet werden.

Beschreibung und Risikobewertung der *E. coli* TOPP™-Stämme:

Die *E. coli* TOPP™-Stämme sind insgesamt sechs prototrophe Wildtypisolate, die laut Angaben der Fa. Stratagene aus der ECOR-Collection (-Reference Collection) von Dr. R. Selander, Pennsylvania University, USA, stammen. Diese Stammsammlung besteht aus *E. coli*-Stämmen, die aus Stuhlproben gesunder Menschen, aus Patienten mit Harnwegsinfektionen und z.T. aus Tieren isoliert wurden (Selander, R.K., et al., in: *Escherichia coli and Salmonella typhimurium*, ASM Washington 1987; p. 1625-1648).

Alle TOPP™-Stämme sind Rifampicin-resistent, der Stamm TOPP3 ist zusätzlich Kanamycin-resistent. Über das Vorkommen von Pathogenitätsfaktoren liegen nach Angaben der Fa. Stratagene keine Informationen vor. In die für die Proteinexpression vorgesehenen TOPP™-Stämme wurde ein konjugatives F'-Plasmid eingeführt, das die *lac*-Region mit der M15-Deletion im *lacZ*-Gen enthält.

Gemäß § 5 Abs. 2 i.V.m. Anhang I Teil BII und Teil AII, Nr. 1, GenTSV werden die *E. coli* TOPP™-Stämme (TOPP1 - 6) in die Risikogruppe 2 eingestuft.

Einstufung von gentechnischen Arbeiten mit dem *E. coli* TOPP™-Protein-Expressionssystem:

Werden rekombinante Vektoren aus gentechnisch veränderten *E. coli* K12-Stämmen der **Risikostufe 1** in *E. coli* TOPP™-Stämme eingeführt, so sind die entstehenden gentechnisch veränderten Organismen in die **Risikogruppe 2** einzustufen, da das Gefährdungspotential des Empfängerorganismus nach § 5 Abs. 4 GenTSV vollständig in die Risikobewertung einzubeziehen ist.

Gentechnische Arbeiten, bei denen *E. coli* TOPP™-Stämme als Empfänger für die oben beschriebenen Vektoren dienen, sind daher gemäß § 7 Abs. 3 Nr. 2 GenTSV der **Sicherheitsstufe 2** zuzuordnen.