



Stellungnahme der ZKBS zur Bewertung der Anwendung von rekombinanten Vektoren, die über lange Zeit sicher angewandt wurden:

Vektor pGLO in *Escherichia coli* DH5-Alpha, *E. coli* HB101, *E. coli* JM109

Allgemeines

Nach § 3 Gentechnikgesetz (GenTG) Teil 3 c kann unter bestimmten Bedingungen die Übertragung von Nukleinsäureabschnitten auf einen Empfängerorganismus als Selbstklonierung bewertet werden und fällt damit nicht unter die Bestimmungen des GenTG (s. Stellungnahme der ZKBS zur Bewertung von rekombinanten Vektoren, die über lange Zeit sicher in einem nicht pathogenen, natürlich vorkommenden Organismus angewandt wurden von Februar 2015).

Empfängerorganismen

Die Stämme *E. coli* DH5-Alpha, *E. coli* HB101 und *E. coli* JM109 sind Derivate von *E. coli* K12. *E. coli* K12 wurde 1922 aus einer Stuhlprobe eines Diphtheriepatienten in Palo Alto isoliert [1]. Die drei Stämme sind *recA*-Mutanten und besitzen neben einer Reihe metabolischer und anderer Mutationen auch keine wirtsspezifische DNA-Restriktion (*hsdR*- bzw. *hsdS*-Mutation). Sie sind als Biologische Sicherheitsmaßnahme eingestuft und in dem "Register der *Escherichia coli*-Empfängerstämme für gentechnische Arbeiten" der BVL-Datenbank gelistet.

JM109 wurde von der ZKBS bereits 2001 als Empfängerorganismus bei einer Selbstklonierung bewertet [2].

Vektor

pGLO ist ein pUC-Derivat [3] mit dem GFP-Gen [4] unter Kontrolle des AraC-regulierten *araBAD*-Promotors [5]. AraC bewirkt, dass bei Anwesenheit von Arabinose das hinter dem *araBAD*-Promotor befindliche Gen exprimiert wird.

pGLO ist seit mindestens 2004 auf dem Markt und wurde mehrere tausendfach in zahlreichen Ländern für Lehrzwecke an Schulen und andere Ausbildungsstätten verkauft [6].

Der Vektor ist in der Vektor-Datenbank des BVL aufgeführt.

Empfehlung der ZKBS

Bei *E. coli* DH5-Alpha, *E. coli* HB101 und *E. coli* JM109 handelt es sich um nicht pathogene Organismen, die sich von dem natürlich vorkommenden *E. coli* K12 ableiten.

Die Übertragung von pGLO in *E. coli* DH5-Alpha, *E. coli* HB101 und *E. coli* JM109 zählt zur Selbstklonierung, da sie über lange Zeit sicher in diesen Organismen durchgeführt wurde.

Literatur

1. **Bachmann B** (1996). Derivations and genotypes of some mutant derivatives of *Escherichia coli* K12. In: *Escherichia coli* and *Salmonella* (Neidhard FC et al., eds.). ASM Press, Washington D.C., p. 2460-2488.
2. **Stellungnahme der ZKBS** zur Bewertung des "Blue Genes"-Experimentierskastens des Fonds der Chemischen Industrie, Az. 6790-10-72-0001 vom 19.09.2001.
3. **Vieira J, Messing J** (1982). The pUC plasmids, an M13mp7-derived system for insertion mutagenesis and sequencing with synthetic universal primers. *Gene* **19**:259-268.
4. **Tsien RY** (1998) The green fluorescent protein. *Annu. Rev. Biochem.* **67**:509-544.
5. **Guzman LM, Belin D, Carson MJ, Beckwith J** (1995). Tight regulation, modulation, and high-level expression by vectors containing the arabinose PBAD promoter. *J. Bacteriol.* **177**:4121-4130.
6. **Biotechnology Explorer™**. pGLO™ Bacterial Transformation Kit. Catalog #166-0003EDU. www.explorer.bio-rad.com