

Dezember 2021

Im Jahr 2015 hat die ZKBS zwei Stellungnahmen zur Bewertung der Anwendung von rekombinanten Vektoren, die über lange Zeit sicher angewandt wurden, verabschiedet (Az. 45260 sowie Az. 45260_1). Als Grundlage für die Bewertung des Vorliegens einer Selbstklonierung zitiert die ZKBS die Begriffsbestimmung des § 3 Teil 3 c Gentechnikgesetz, wonach:

„...Zur Selbstklonierung kann auch die Anwendung von rekombinanten Vektoren zählen, wenn sie über lange Zeit sicher in diesem Organismus angewandt wurden...“

Aus Sicht einiger in Deutschland für die Gentechnik zuständigen Behörden fallen rekombinante Vektoren, die Nukleinsäureabschnitte aus mit dem Empfängerorganismus nicht phylogenetisch eng verwandten Arten enthalten, jedoch nicht unter die Ausnahme der Selbstklonierung. Die langjährig sichere Verwendung in dem Organismus ist aus ihrer Sicht dann nicht zu berücksichtigen.

Projektleitern und Beauftragten für biologische Sicherheit wird daher empfohlen, sich bei der zuständigen Behörde ihres Bundeslandes vor Aufnahme der Arbeiten zu informieren, ob diese die Verwendung dieses rekombinanten Vektors für Selbstklonierungen anerkennt.

Az. 45260_1

Februar 2015

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 der Anwendung von rekombinanten Vektoren, die über lange Zeit sicher in einem nicht pathogenen, natürlich vorkommenden Organismus angewandt wurden, Az. 45260 vom 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 der Datenbank der Empfängerstämme für biologische Sicherheitsmaßnahmen¹ gelistet.

¹ https://www.zkbs-online.de/ZKBS/DE/Datenbanken/Empfaengerstaemme/Empfaengerstaemme_node.html

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 kommerziell erhältlich und wurde mehrere tausendmal in zahlreichen Ländern für Lehrzwecke an Schulen und andere Ausbildungsstätten verkauft [6].

Der Vektor ist in der Liste der von der ZKBS bewerteten Vektoren² 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 dieser Vektor über lange Zeit sicher in diesen Organismen angewandt 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"-Experimentierkastens 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 highlevel 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, besucht im Januar 2015

² https://www.zkbs-online.de/ZKBS/DE/Datenbanken/Vektoren/Vektoren_node.html