

## Casusbeschrijving behorend bij tutorial 1, 2 en 3

1. Activiteiten met genetisch gemodificeerde micro-organismen van lijst A1 van bijlage 2;

gastheer: *Escherichia coli* K12;  
vectoren: pUC18;  
donorsequentie: luciferase (vuurvlieg).

2. Activiteiten met dieren, genetisch gemodificeerd, op D-I.

gastheer: *Mus musculus* (muis) vervaardigd met een plasmide;  
donorsequentie: GFP (kwal).

### Benodigdheden voor uw risicobeoordeling:

- Bijlage 2, lijst A1: Lijst met apathogene micro-organismen;
- Bijlage 2, lijst A2: Lijst met vectoren;
- Bijlage 2, lijst A3: Opsomming van eigenschappen die een donorsequentie NIET mag hebben;
- Bijlage 4: Lijst met pathogene micro-organismen;
- Bijlage 5, deel I: Voor een groot aantal groepen van soortgelijke ggo's is de uitkomst van de risicobeoordeling vastgelegd in standaard inschalingsartikelen en die zijn opgenomen in bijlage 5, deel I. Het is een soort spoorboekje;
- Bijlage 5, deel II: Voor inperkingsniveau I en II zijn er extra aanvullende voorschriften opgenomen voor speciale gevallen. Via bijlage 5, deel II, komt u bij deze extra voorschriften, die opgenomen zijn in bijlage 9. U moet dus altijd controleren of voor uw activiteit extra voorschriften nodig zijn;
- Bijlage 9: Hier zijn de standaard inrichtings- en werkvoorschriften voor alle categorieën van fysische inperking (CFI's) opgenomen;
- Hulpmiddelen 'toelichtingen bijlage 5' nummer 2: schadelijk genproduct;
- Hulpmiddelen 'verkorte bijlage 5, deel I en II'.

### Aandachtspunten

#### Activiteit 1

In *E. coli* K12 wordt met behulp van pUC18 de onschadelijke sequentie luciferase gekloneerd. Voor het invullen van het aanvraagformulier moet u eerst de risicobeoordeling uitvoeren en daarvoor zult u de bovenstaande bijlagen uit de Regeling moeten raadplegen.

- a. Als u een micro-organisme (bacterie, virus, schimmel of parasiet) als gastheer gaat gebruiken, dan moet u de pathogeniteitsklasse van het micro-organisme weten. Daarvoor kunt u bijlage 2 en 4 raadplegen. In bijlage 2, lijst A1, zijn de a-pathogene micro-organismen opgenomen en in bijlage 4 zijn de pathogene micro-organismen opgenomen. Uw gastheer moet op bijlage 2 of op bijlage 4 staan, anders moet u eerst een [2.13\(a\) verzoek](#) doen.

#### ***E. coli* K12 is a-pathogeen en staat op bijlage2, lijst A1.**

- b. De vector moet op bijlage 2, lijst A2 staan of u moet zelf bepalen of de vector voldoet aan de criteria zoals die zijn opgenomen in artikel 5.2 van bijlage 5:
- de grootte van de vector is bekend;*
  - er is een vectorkaartje of beschrijving beschikbaar waarop alle samenstellende delen en relatieve posities van de vector zijn aangegeven;*
  - de functie en de herkomst van de samenstellende delen is bekend;*

- iv. de in de vector aanwezige ori's zijn bekend;
- v. de samenstellende delen behoren niet tot de groep van inserties zoals bedoeld in bijlage 2, lijst A3. Indien dit wel het geval is, dan dienen die delen beschouwd te worden als donorsequenties;
- vi. de vector bevat geen virale sequenties, afkomstig van virussen die hogere eukaryoten als gastheer hebben, waardoor de vector als virale vector zou kunnen functioneren. Indien dit wel het geval is, dan dienen die sequenties beschouwd te worden als donorsequenties.

**De vector pUC18 staat op bijlage 2, lijst A2 en daardoor weet u dat de vector geen schadelijke sequenties bevat en hoeft u geen vectorkaart mee te sturen.**

- c. U moet weten of de gebruikte gekarakteriseerde donorsequentie luciferase schadelijk is wanneer deze in *E. coli* K12 wordt gekloneerd. Als u behoefte heeft aan een uitleg over het schadelijk of onschadelijk zijn van donorsequenties, dan kunt de [toelichting nummer 2](#) raadplegen. Deze is te vinden onder de hulpmiddelen.

**Luciferase uit vuurvlieg valt niet onder de criteria van lijst A3 en is dus onschadelijk.**

- d. De eigenschappen van de samenstellende delen van het ggo zijn nu bekend. Nu moet u in bijlage 5, deel I, het bijbehorende inschalingsartikel opzoeken. Voor klonering in *E. coli* K12 gebruikt u inschalingsartikel 5.2:

*5.2. Activiteiten met een genetisch gemodificeerd micro-organisme waarvan de gastheer staat vermeld in bijlage 2 op lijst A1 en de vector staat vermeld in bijlage 2 op lijst A2 of een vector die voldoet aan bepaalde criteria.*

De vector bevat geen schadelijke sequenties en ook de donorsequentie is onschadelijk.

**Het complete inschalingsartikel dat voor deze activiteit van toepassing is dus 5.2.i.**

- e. De ingeperkte ruimte of te wel de categorie van fysieke inperking (CFI), waarin u de activiteiten gaat uitvoeren, moet ook ingevuld worden, anders is uw risicobeoordeling niet compleet.

**Inschalingsartikel 5.2.i komt op ML-I uit.**

- f. In bijlage 9 zijn de standaard inrichting en- werkvoorschriften opgenomen. Voor activiteiten op niveau I en II moet u altijd controleren of er extra specifieke aanvullende voorschriften noodzakelijk zijn. De inschalingsartikelen voor deze voorschriften vindt u in bijlage 5, deel II, en de bijbehorende voorschriften vindt u in bijlage 9. Voor de koppeling tussen inschalingsartikelen van bijlage 5, deel II, en de daadwerkelijke voorschriften in bijlage 9 heeft Bureau GGO een transponeringstabel gemaakt. Deze vindt u in de [beknopte bijlage 5](#), onder de hulpmiddelen.

**Voor deze activiteit zijn geen extra aanvullende voorschriften nodig.**

## Activiteit 2

De muizen zijn transgeen voor GFP gemaakt, dit is gedaan m.b.v. een plasmide en de vervaardiging is beschreven in literatuur.

Zoogdieren, waaronder muizen, bevatten geen schadelijke sequenties. Transgene muizen kunnen daarom op niveau I in D-I gehanteerd worden.

LET OP: In uitzonderingsgevallen worden muizen transgeen gemaakt met een virale vector. In dat geval moeten de muizen op DM-II gehanteerd worden.

- a. De transgene muizen zijn vervaardigd met een plasmide en de vervaardiging is beschreven in artikel XX. U dient een kopie van het artikel als bijlage mee te sturen met uw aanvraagformulier.

**Muizen hebben geen pathogeniteitsklasse en staan dus ook niet op bijlage 2, lijst A1.**

- b. De donorsequentie is afkomstig van de kwal. Kwal bevat schadelijke sequenties. Echter de donorsequentie GFP is gekarakteriseerd en in de literatuur kunt u vinden dat deze sequentie onschadelijk is.  
**GFP valt niet onder de criteria van lijst A3 en is dus onschadelijk.**
- c. De eigenschappen van de transgene muizen zijn nu bekend. Nu moet u in bijlage 5, deel I, het bijbehorende inschalingsartikel opzoeken.  
**Voor handelingen met transgene dieren is het inschalingsartikel 5.6.1.a van bijlage 5 van toepassing.**
- d. De ingeperkte ruimte of te wel de categorie van fysische inperking (CFI), waarin u de activiteiten gaat uitvoeren, moet ook ingevuld worden, anders is uw risicobeoordeling niet compleet.  
**Inschalingsartikel 5.6.1.a komt op D-I uit.**
- e. **Voor deze activiteit zijn geen extra aanvullende voorschriften nodig.**