

Posudok z posudzovania rizika používania genetických technológií

1. Klonovanie a expresia génov kódovaných genomom *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, alebo ich časti v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis H37Rv*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijímacom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* H37Rv. Tento genóm kóduje 4066 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôbiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitý expresný systém umožňuje sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

2. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis CDC1551*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551 – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému

organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* CDC1551. Tento genóm kóduje 4189 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulénny faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôsobiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

3. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* Erdman

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis Erdman*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis* Erdman – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* Erdman) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému

organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* Erdman. Tento genóm kóduje 4246 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulénny faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôbiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

4. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium bovis*, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium bovis*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastry celého genómu M. tuberculosis bovis*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytky – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium bovis*) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však

používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. bovis*. Tento genóm kóduje 3920 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. bovis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri boviných makrofágov a prispôsobiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu, individuálne ich možno zatriediť do RT 2.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

5. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium bovis* BCG, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium bovis* BCG

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. bovis BCG*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium bovis* BCG. Ide o vakcinančný mykobakteriálny kmeň, ktorý je v zbierke ATCC zaradený do RT 2. Baktéria *M. bovis* síce spôsobuje ochorenie (tuberkulózu) dobytka, BCG kmeň je však oslabeným kmeňom, ktorý je využívaný na očkovanie proti TBC, pričom najčastejšie sa aplikuje novorodencom.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium bovis* BCG) je zatriedený do RT 2.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG -

Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. bovis* BCG. Tento genóm kóduje 3952 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulénny faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresných systémov neumožňuje sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergického hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 2.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

6. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium smegmatis*, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium smegmatis*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. smegmatis*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú environmentálne baktérie *Mycobacterium smegmatis*. Kmene uvedených baktérií nie sú patogénne, virulentné ani infekčné a nepredstavujú žiadne riziko z toxického alebo alergénneho hľadiska a nie sú ani vektorom prenosu chorôb. Ich použitie predstavuje zanedbateľné riziko pre ľudí, zvieratá a rastliny a minimálne nebezpečenstvo úniku.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium smegmatis*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré

gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. smegmatis*. Tento genóm kóduje 6742 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

7. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium thermoresistibile*, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium thermoresistibile*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. thermoresistibile*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium thermoresistibile*. Ide o nepatogénny environmentálny mykobakteriálny kmeň.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium thermoresistibile*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však

používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. thermoresistibile*. Tento genóm kóduje 4645 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

8. Klonovanie a expresia génu GFP z *Aequorea victoria* v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: medúza *Aequorea victoria*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: GFP

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériu *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov je medúza *Aequorea victoria* žijúca pri pobreží Severnej Ameriky.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Aequorea victoria*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Gén GFP kóduje zeleno fluoreskujúci proteín „green fluorescence protein“

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedený gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

9. Klonovanie a expresia génu KmR z Tn903 *E. coli* v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: Tn903 *E. coli*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: KmR

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériu *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov je transpozón Tn903 baktérie *E. coli*.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*E. coli*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. KmR – gén kóduje aminoglykozid 3`-fosfotransferázu kódovanú transpozónom Tn 903

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

10. Klonovanie a expresia génu HygR zo *Streptomyces hygroscopicus* v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: baktérie *Streptomyces hygroscopicus*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: HygR

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériu *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génu sú pôdne baktérie *Streptomyces hygroscopicus*.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Streptomyces hygroscopicus*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. HygR - gén kóduje aminoglykozid O-fosfotransferázu (Hygromycín B fosfotransferázu) zo *Streptomyces hygroscopicus*

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

11. Klonovanie a expresia génu StrR z R100.1 plazmidu *E. coli* v *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* kmeňov H37Rv, Erdman alebo CDC1551

Organizmus darcu: *E. coli*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *StrR*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. Tieto baktérie spôsobujú medicínsky liečiteľné ochorenie – tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman a *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génu je R100.1 plazmid *E. coli*

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*E. coli*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Gén *StrR* (*aadA*) kóduje adenyltransferázu plazmidu R100.1 z *E. coli*.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

12. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, alebo ich častí v *Mycobacterium bovis*

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastry celého genómu M. tuberculosis H37Rv*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. *Príjemcom génov sú baktérie: kmene Mycobacterium bovis, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytky – bovinnú tuberkulózu.*

2. *Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.*

3. *Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.*

4. *V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.*

5. *Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.*

6. *K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.*

7. *Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

8. *Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

9. *Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

10. *Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. *Darcom génov sú baktérie Mycobacterium tuberculosis H37Rv – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.*

2. *Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.*

3. *Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.*

4. *Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné*

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv) je zatriedený do RT 3.

C) klonovanie a expresné vektory:

1. *Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.*

3. *Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.*

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

E. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* H37Rv. Tento genóm kóduje 4066 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôbiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.
2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.
3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.
4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.
5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.
2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.
3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.
4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.
5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.
6. V ekosystéme voľne neprežijú.
7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.
8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.
9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

častí v *Mycobacterium bovis*

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastry celého genómu M. tuberculosis* CDC1551

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. *Príjemcom génov sú baktérie: kmene Mycobacterium bovis, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytky – bovinnú tuberkulózu.*

2. *Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.*

3. *Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.*

4. *V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.*

5. *Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.*

6. *K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.*

7. *Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

8. *Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

9. *Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

10. *Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.*

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. *Darcom génov sú baktérie Mycobacterium tuberculosis CDC1551 – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.*

2. *Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.*

3. *Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.*

4. *Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné*

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) je zatriedený do RT 3.

C) klonovanie a expresné vektory:

1. *Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.*

3. *Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.*

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* CDC1551. Tento genóm kóduje 4189 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôbiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

14. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, alebo ich častí v *Mycobacterium bovis*

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* Erdman

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis Erdman*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytky – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis* Erdman – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* Erdman) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* Erdman. Tento genóm kóduje 4246 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôbiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

15. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium bovis*, alebo ich častí v *Mycobacterium bovis*

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium bovis*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis bovis*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytky – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytky – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium bovis*) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. bovis*. Tento genóm kóduje 3920 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. bovis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri bovinných makrofágov a prispôsobiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je

komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu, individuálne ich možno zatriediť do RT 2.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

16. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium bovis* BCG, alebo ich častí v *Mycobacterium bovis*

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium bovis* BCG

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. bovis BCG*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytku – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium bovis* BCG. Ide o vakcinančný mykobakteriálny kmeň, ktorý je v zbierke ATCC zaradený do RT 2. Baktéria *M. bovis* síce spôsobuje ochorenie (tuberkulózu) dobytku, BCG kmeň je však oslabeným kmeňom, ktorý je využívaný na očkovanie proti TBC, pričom najčastejšie sa aplikuje novorodencom.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium bovis* BCG) je zatriedený do RT 2.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. bovis* BCG. Tento genóm kóduje 3952 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vložením však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 2.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

17. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium smegmatis*, alebo ich častí v *Mycobacterium bovis*

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium smegmatis*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. smegmatis*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytku – bovinú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristik v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú environmentálne baktérie *Mycobacterium smegmatis*. Kmene uvedených baktérií nie sú patogénne, virulentné ani infekčné a nepredstavujú žiadne riziko z toxického alebo alergénneho hľadiska a nie sú ani vektorom prenosu chorôb. Ich použitie predstavuje zanedbateľné riziko pre ľudí, zvieratá a rastliny a minimálne nebezpečenstvo úniku.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium smegmatis*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. smegmatis*. Tento genóm kóduje 6742 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulénny faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

18. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium thermoresistibile*, alebo ich častí v *Mycobacterium bovis*

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium thermoresistibile*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. thermoresistibile*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytku – bovinú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium thermoresistibile*. Ide o nepatogénny environmentálny mykobakteriálny kmeň.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium thermoresistibile*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. thermoresistibile*. Tento genóm kóduje 4645 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulénny faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vložením však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: medúza *Aequorea victoria*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: GFP

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytku – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov je medúza *Aequorea victoria* žijúca pri pobreží Severnej Ameriky.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Aequorea victoria*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Gén GFP kóduje zeleno fluoreskujúci proteín „green fluorescence protein“

2. Použitie expresných systémov neumožňuje sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených prijemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergického hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hosťiteľských génov.

Záver: Uvedený gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.
2. V porovnaní s pôvodnými hosťiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.
3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.
4. V porovnaní s pôvodnými hosťiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.
5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.
6. V ekosystéme voľne neprežijú.
7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.
8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.
9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: Tn903 *E. coli*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *KmR*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytka – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócii je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov je transpozón Tn903 baktérie *E. coli*.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*E. coli*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. *KmR* – gén kóduje aminoglykozid 3'-fosfotransferázu kódovanú transpozónom Tn 903

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených prijemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.
2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.
3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.
4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.
5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.
6. V ekosystéme voľne neprežijú.
7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.
8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.
9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: baktérie *Streptomyces hygroscopicus*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *HygR*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytku – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócii je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génu sú baktérie *Streptomyces hygroscopicus*

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Streptomyces hygroscopicus*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. *HygR* - gén kóduje aminoglykozid O-fosfotransferázu (*Hygromycin B* fosfotransferázu) zo *Streptomyces hygroscopicus*

2. Použitý expresný systém neumožňuje sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených prijemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergického hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium bovis*

Organizmus darcu: *E. coli*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *StrR*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie: kmene *Mycobacterium bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytku – bovinnú tuberkulózu.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. V zbierke ATCC sú tieto kmene vedené ako RT 3.

5. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedené bakteriálne kmene prijímateľa (*Mycobacterium bovis*) sú zatriedené do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génu je R100.1 plazmid *E. coli*

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*E. coli*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Gén *StrR* (*aadA*) kóduje adenyltransferázu plazmidu R100.1 z *E. coli*.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergického hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. bovis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

23. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis H37Rv*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému

organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

F. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* H37Rv. Tento genóm kóduje 4066 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôsobiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

24. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, alebo ich

časti v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis CDC1551*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PloS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551 – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* CDC1551) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré

gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložení genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* CDC1551. Tento genóm kóduje 4189 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulénny faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôbiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vložení však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

25. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* Erdman

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis Erdman*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériu *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócii je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis* Erdman – vid' charakteristiku v bode (2) A)1.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Patogén sa v prostredí nachádza, aj keď jeho prevalencia je vďaka povinnému očkovaniu veľmi nízka. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium tuberculosis* Erdman) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa

používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyšuje frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. tuberculosis* Erdman. Tento genóm kóduje 4246 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. tuberculosis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri ľudských makrofágov a prispôbiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresných systémov neumožňuje sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergického hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT3.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

26. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium bovis*, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium bovis*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis bovis*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium tuberculosis bovis*, ktoré spôsobujú liečiteľné ochorenie dobytky – bovinú tuberkulózu.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium bovis*) je zatriedený do RT 3.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. bovis*. Tento genóm kóduje 3920 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Patogenita kmeňov *M. bovis* je založená na schopnosti týchto baktérií prežiť vo vnútri boviných makrofágov a prispôsobiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený individuálnou nadexpresiou génov.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených prijemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulenčné faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu, individuálne ich možno zatriediť do RT 2.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

27. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium bovis* BCG, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium bovis* BCG

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. bovis BCG*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium bovis* BCG. Ide o vakcinančný mykobakteriálny kmeň, ktorý je v zbierke ATCC zaradený do RT 2. Baktéria *M. bovis* síce spôsobuje ochorenie (tuberkulózu) dobytka, BCG kmeň je však oslabeným kmeňom, ktorý je využívaný na očkovanie proti TBC, pričom najčastejšie sa aplikuje novorodencom.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je daný prácou v uzavretom priestore. V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidovaní GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium bovis* BCG) je zatriedený do RT 2.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému

organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. bovis* BCG. Tento genóm kóduje 3952 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 2.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

28. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium smegmatis*, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium smegmatis*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. smegmatis*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériu *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú environmentálne baktérie *Mycobacterium smegmatis*. Kmene uvedených baktérií nie sú patogénne, virulentné ani infekčné a nepredstavujú žiadne riziko z toxického alebo alergénneho hľadiska a nie sú ani vektorom prenosu chorôb. Ich použitie predstavuje zanedbateľné riziko pre ľudí, zvieratá a rastliny a minimálne nebezpečenstvo úniku.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium smegmatis*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však

používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. smegmatis*. Tento genóm kóduje 6742 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených prijemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulénne faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

29. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium thermoresistibile*, alebo ich častí v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Mycobacterium thermoresistibile*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastry celého genómu M. thermoresistibile*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériu *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov sú baktérie *Mycobacterium thermoresistibile*. Ide o nepatogénny environmentálny mykobakteriálny kmeň.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Mycobacterium thermoresistibile*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu *M. thermoresistibile*. Tento genóm kóduje 4645 génov. Žiaden z týchto génov však nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.

3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.

4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.

5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedené gény nepredstavujú toxíny, virulenčné faktory, ani alergény a je nemožné, aby katalytická aktivita nimi kódovaných proteínov zvýšila riziko infekčnosti, patogenity, alebo virulencie hostiteľského mikroorganizmu. Individuálne ich možno zatriediť do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.

2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.

5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.

6. V ekosystéme voľne neprežijú.

7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: medúza *Aequorea victoria*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: GFP

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijemcom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobaktériálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobaktériológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov je medúza *Aequorea victoria* žijúca pri pobreží Severnej Ameriky.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Aequorea victoria*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Gén GFP kóduje zeleno fluoreskujúci proteín „green fluorescence protein“
2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.
3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.
4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.
5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Uvedený gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.
2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.
3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.
4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.
5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.
6. V ekosystéme voľne neprežijú.
7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.
8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.
9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

31. Klonovanie a expresia génu KmR z Tn903 *E. coli* v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Genové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: Tn903 *E. coli*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *KmR*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijímacom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobaktériálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobaktériológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov je transpozón Tn903 baktérie *E. coli*.

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*E. coli*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. KmR – gén kóduje aminoglykozid 3`-fosfotransferázu kódovanú transpozónom Tn 903
2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.
3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.
4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.
5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.
2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.
3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.
4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.
5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.
6. V ekosystéme voľne neprežijú.
7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.
8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.
9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

32. Klonovanie a expresia génu HygR zo *Streptomyces hygroscopicus* v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: baktérie *Streptomyces hygroscopicus*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *HygR*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijímacom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génu sú baktérie *Streptomyces hygroscopicus*

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Streptomyces hygroscopicus*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvyší frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. HygR - gén kóduje aminoglykozid O-fosfotransferázu (Hygromycín B fosfotransferázu) zo *Streptomyces hygrosopicus*
 2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.
 3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.
 4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.
 5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.
- Záver: Gén je zatriedený do RT 1.**

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.
2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.
3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.
4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.
5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.
6. V ekosystéme voľne neprežijú.
7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.
8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.
9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.

33. Klonovanie a expresia génu StrR z R100.1 plazmidu *E. coli* v *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Génové techniky: klonovanie a expresia génov

Spôsob využitia: základný vedecký výskum

Možný nepriaznivý účinok: medicínsky liečiteľné ochorenie u ľudí

Odhad pravdepodobnosti: 10^{-3}

Hodnotenie rizika: stredne veľké

Manažment rizika: RT3

Celkový záver: Projekt predstavuje stredne veľké riziko pre človeka, nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie.

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: *E. coli*

Nosiče: rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE a ich deriváty

Vložený genetický materiál: *StrR*

(1) Potenciálne škodlivé účinky vplyvu novovzniknutých GMO, ako aj minimalizácia ich vplyvu na životné prostredie a manažment rizika je v prílohe Hodnotenie génov.

(2)

A) organizmus prijímateľa:

1. Prijímacom génov sú baktérie kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* 18b. Tento kmeň je nevirulentný mykobakteriálny kmeň závislý of prítomnosti streptomycínu v médiu. V mykobakteriológii je využívaný pre štúdium latentných foriem mykobaktérií.

2. Neobsahuje autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, voľné prežitie týchto baktérií je nepravdepodobné.

4. Aj keď v klinickej praxi nie sú známe prípady infekcie týmto kmeňom, štandardne sa s ním pracuje v podmienkach RT3 laboratórií.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená až jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie len u menej ako 10 % nakazených osôb. Všetci pracovníci laboratória majú platné očkovanie proti TBC (do r. 2011 bolo toto očkovanie povinné pre všetkých novorodencov v SR). V podmienkach práce v uzavretých priestoroch laminárneho boxu s filtrovaným odsávaným vzduchom a pri likvidácii GMO odpadu nepredstavuje práca závažné riziko ani pre pracovníkov priamo zainteresovaných na projekte, ani minimálne riziko pre životné prostredie.

6. K významným zmenám fyziologických charakteristík v konečnom GMM nedôjde.

7. Posudzovať biotopy a geografické rozloženie je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

8. Posudzovať zapojenie do environmentálnych procesov je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

9. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

10. Posudzovať schopnosť tvorby spór alebo sklerócií je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.

Záver: Uvedený bakteriálny kmeň prijímateľa (*Mycobacterium tuberculosis* 18b) je zatriedený do RT 3.

B) organizmus darcu:

1. Darcom génu je R100.1 plazmid *E. coli*

2. Neobsahujú autochtónne vektory, ktoré by mohli mobilizovať vnesený genetický materiál.

3. Rozsah hostiteľov je bezpredmetné posudzovať v uzavretom priestore zariadenia.

4. Iné fyziologické charakteristiky darcu nie sú pre posudzovanie rizika smerodajné

Záver: Uvedený organizmus darcu (*E. coli*) je zatriedený do RT 1.

C) klonovacie a expresné vektory:

1. Všetky použité expresné vektory uvedené vyššie sú bežne využívané, prevažná väčšina z nich je dostupná komerčne (zbierka vektorov Addgene) (vektory radu pVV a pMV - Prílohy č. 1, 2 a 3; pND - Príloha č. 4; pCG - Príloha č. 5; pHAM a pJAM - Prílohy č. 6 a 7; pST - Prílohy č. 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13). Neobsahujú gény alebo sekvencie, ktoré by mohli dať výslednému organizmu taký fenotyp, ktorý by bol škodlivý pre človeka, rastliny, zvieratá alebo životné prostredie. Niektoré gény, ktoré sa nachádzajú na príslušných plazmidoch, kódujú rezistenciu voči antibiotikám, z ktorých väčšina sa používa v klinickej praxi (ampicilín, kanamycín, streptomycín, gentamycín, hygromycín). Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiku v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Sú imobilné a ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry sa nezvýši frekvencia ich mobility. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložený genetický materiál

1. Gén *StrR* (*aadA*) kóduje adenyltransferázu plazmidu R100.1 z *E. coli*.

2. Použitie expresné systémy neumožňujú sekréciu produkovaných proteínov do okolitého prostredia, ich uvoľnenie do média je možné len v prípade lýzy buniek. Produkcia pôvodných a mutantných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska.
3. Zdroj a identita organizmu darcu a jeho charakteristika sú opísané v časti B. „Organizmus darcu“ tohto posúdenia.
4. História predchádzajúcich genetických modifikácií je uvedená v publikovanej literatúre.
5. Genetický materiál bude vložený do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa, jeho vloženie však nedôjde k aktivácii alebo deaktivácii hostiteľských génov.

Záver: Gén je zatriedený do RT 1.

E. výsledné GMO:

1. Výsledným geneticky modifikovaným mikroorganizmom budú kmene *M. tuberculosis*, ktoré nebudú mať toxické ani alergénne účinky.
2. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.
3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.
4. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenená ich infekčnosť.
5. Bez negatívneho dopadu na životné prostredie.
6. V ekosystéme voľne neprežijú.
7. Posudzovať vzájomné pôsobenie na iné mikroorganizmy je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia.
8. Nebudú pôsobiť na rastliny a zvieratá.
9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedený výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedený do rizikovej triedy 3.

Výsledok posúdenia: Génové technológie a práca s uvedenými GMM v podmienkach RT 3 dostatočne eliminuje riziko pre človeka, pričom pre rastliny, zvieratá a životné prostredie nepredstavujú riziko.