

Posudky z posudzovania rizika používania genetických technológií

1. Klonovanie a expresia génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, 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: RT 3

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, pLJR 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: 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 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 modifikáciou expresie individuálneho génu.

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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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 RT 3.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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: RT 3

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, pLJR 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. 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Priloha č. 1, 2 a 3; pND - Priloha č. 4; pCG - Priloha č. 5; pHAM a pJAM - Priloha č. 6; pST - Prilohy č. 7, 8 a 9; pSE - Priloha č. 10; pGA - Priloha č. 11; pJQ - Priloha č. 12; pPR27 - Priloha č. 13; pLJR - Priloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiká v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvyší ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 prispôsobiť sa ich prostrediu. Ide o proces, ktorý je komplexný a nie je ovplyvnený modifikáciou expresie individuálneho génu.

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 mutančných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT 3.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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: RT 3

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, pLJR 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. 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Priloha č. 1, 2 a 3; pND - Priloha č. 4; pCG - Priloha č. 5; pHAM a pJAM - Priloha č. 6; pST - Prilohy č. 7, 8 a 9; pSE - Priloha č. 10; pGA - Priloha č. 11; pJQ - Priloha č. 12; pPR27 - Priloha č. 13; pLJR - Priloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiká v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvyší ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 modifikáciou expresie individuálneho génu.

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 mutančných foriem týchto proteínov v uvedených príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergénneho hľadiska. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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 RT 3.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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. 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiká v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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. 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 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 alergénneho hľadiska. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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. 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén nekóduje proteín, aktivita ktorého vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 príjemcoch nepredstavujú žiadne riziko z toxického ani alergického hľadiska. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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: 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén kóduje kóduje aminoglykozid 3'-fosfotransferázu, aktivita ktorej vedie k rezistencii voči kanamycínu. Toto antibiotikum sa však na liečbu tuberkulózy využíva len v zriedkavých prípadoch, je plne nahraditeľné spektrom iných liečiv.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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: 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén kóduje kóduje aminoglykozid O-fosfotransferázu, aktivita ktorej vedie k rezistencii voči hygromycínu. Toto antibiotikum sa však nevyužíva na liečbu tuberkulózy.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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 génu 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén kóduje kóduje adenyltransferázu, aktivita ktorej vedie k rezistencii voči streptomycínu. Toto antibiotikum sa však na liečbu tuberkulózy v súčasnosti využíva len v zriedkavých prípadoch, je plne nahraditeľné spektrom iných liečiv.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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 hosťateľskými kmeňmi nebude zmenená ich patogenita.

3. Nebudú mať zvýšenú kolonizačnú schopnosť.

4. V porovnaní s pôvodnými hosťateľskými 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. V porovnaní s pôvodnými hosťateľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

9. Nezapája 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 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: RT 3

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, pLJR 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiká v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 modifikáciou expície individuálneho génu.

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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT 3.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 génov kódovaných genómom *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, 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: RT 3

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, pLJR 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. 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiká v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 modifikáciou expresie individuálneho génu.

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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. Vzhľadom na charakteristiku parentálneho mikroorganizmu sú zatriedené do RT 3.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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* 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: RT 3

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, pLJR 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. 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiká v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvyší ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 modifikáciou expresie individuálneho génu.

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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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 RT 3.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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.

13. 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: RT 3

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, pLJR 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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 sklerócii je bezpredmetné v uzavretom priestore zariadenia. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. Plazmidy sa však používajú len v procesoch prebiehajúcich v laboratórnych podmienkach v uzavretom priestore, takže šírenie génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotiká v prírodnej populácii mikroorganizmov je nepravdepodobné.

3. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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. 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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. 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedené gény nekódujú proteíny, ktorých aktivita vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 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 alergénneho hľadiska. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 génu GFP z *Aequorea victoria* 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: RT 3

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, pLJR 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 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén nekóduje proteín, aktivita ktorého vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 expresného systému 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 alergénneho hľadiska. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 génu KmR z Tn903 *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: RT 3

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, pLJR 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 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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.

Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén kóduje kóduje aminoglykozid 3'-fosfotransferázu, aktivita ktorej vedie k rezistencii voči kanamycínu. Toto antibiotikum sa však na liečbu tuberkulózy využíva len v zriedkavých prípadoch, je plne nahraditeľné spektrom iných liečiv.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén kóduje kóduje aminoglykozid O-fosfotransferázu, aktivita ktorej vedie k rezistencii voči hygromycínu. Toto antibiotikum sa však nevyužíva na liečbu tuberkulózy.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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 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: RT 3

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, pLJR 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 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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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.

5. Uvedený gén kóduje kóduje adenyltransferázu, aktivita ktorej vedie k rezistencii voči streptomycínu. Toto antibiotikum sa však na liečbu tuberkulózy v súčasnosti využíva len v zriedkavých prípadoch, je plne nahraditeľné spektrom iných liečiv.

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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. 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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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.

19. Klonovanie a expresia génu dCAS9 z *Streptococcus thermophilus* 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: RT 3

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: *Streptococcus thermophilus*

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

Vložený genetický materiál: dCas9

(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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Kmene boli získané zo zbierky ATCC, kde sú vedené ako RT 3. Sekvencie jednotlivých genómov sú dostupné v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

5. Baktériou *M. tuberculosis* je latentne nakazená jedna štvrtina svetovej populácie (Houben a Dodd, *PLoS Medicine*, 2016, DOI:10.1371), pričom aktívne ochorenie sa počas života vyvinie 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. Uvedené kmene *M. tuberculosis* nevytvárajú spóry ani sklerócie.

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 grampozitívna baktéria *Streptococcus thermophilus*.

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.

5. Uvedený gén nekóduje proteín, aktivita ktorého vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Streptococcus thermophilus*) 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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložný genetický materiál

1. Gén *dCas9* kóduje inaktívnu endonukleázu.

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. Vložený genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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.

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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

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.

20. Klonovanie a expresia génu dCAS9 z *Streptococcus thermophilus* 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: RT 3

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

Organizmus prijímateľa: baktérie *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Organizmus darcu: *Streptococcus thermophilus*

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

Vložený genetický materiál: dCas9

(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 (mimo hostiteľa) je nepravdepodobné. Blokujúce mutácie sú stabilné.

4. Sekvencia genómu je dostupná v publikovanej literatúre a v príslušných databázach.

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. Uvedený kmeň *M. tuberculosis* nevytvára spóry ani sklerócie.

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

B) organizmus darcu:

1. Darcom génov je grampozitívna baktéria *Streptococcus thermophilus*.

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.

5. Uvedený gén nekóduje proteín, aktivita ktorého vedie k odolnosti proti antimikrobiálnym látkam vrátane antibiotík.

Záver: Uvedený organizmus darcu (*Streptococcus thermophilus*) 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 - Príloha č. 6; pST - Prílohy č. 7, 8 a 9; pSE - Príloha č. 10; pGA - Príloha č. 11; pJQ - Príloha č. 12; pPR27 - Príloha č. 13; pLJR - Príloha č. 14).

2. 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). Žiaden z génov, resp. jeho fragmentov, ktoré tvoria zložky používaného vektora, nenadobudne po transformácii do koncového hostiteľa virulentný, infekčný, inak patogénny alebo toxikogénny charakter. 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. Ich mobilita je minimálna, pričom frekvencia ich mobility sa nezvýši ani po vložení fragmentu DNA do ich štruktúry. Sú buď vysoko kópiové, stredne kópiové alebo nízko kópiové.

Záver: Uvedené vektory sú zatriedené do RT 1.

D. vložení genetický materiál

1. Gén dCas9 kóduje inaktívnu endonukleázu.

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. Vložení genetický materiál neovplyvní patogenitu ani virulenciu výsledného mikroorganizmu.

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 vložení do plazmidov alebo integrovaný do genómu prijímateľa.

Záver: Uvedení gén je zatriedení 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. V porovnaní s pôvodnými hostiteľskými kmeňmi nebude zmenené ich pôsobenie na rastliny a zvieratá. Výsledné mikroorganizmy budú odolné voči vybraným antibiotikám, ktoré sú uvedené vyššie.

9. Nezapoja sa do biogeochemických procesov.

Záver: Uvedení výsledný geneticky modifikovaný mikroorganizmus je zatriedení 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.

Dátum: 12. 02. 2024

Vypracovala: doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD.

Hodnotenie génov

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis H37Rv* – genóm kmeňa H37Rv 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.

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-3}$	Stredne veľké	RT3	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Práca v uzavretom priestore RT3 dostatočne minimalizuje zvažované účinky na človeka a ŽP				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis CDC1551* – genóm kmeňa CDC1551 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.

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-3}$	Stredne veľké	RT3	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Práca v uzavretom priestore RT3 dostatočne minimalizuje zvažované účinky na človeka a ŽP				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. tuberculosis Erdman* – genóm kmeňa Erdman 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.

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-3}$	Stredne veľké	RT3	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Práca v uzavretom priestore RT3 dostatočne minimalizuje zvažované účinky na človeka a ŽP				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. smegmatis* – genóm kmeňa *M. smegmatis* kóduje 6742 génov. *M. smegmatis* je environmentálnym nepatogénnym mykobakteriálnym kmeňom a v mykobakteriológii predstavuje najvyužívanejší modelový mikroorganizmus. Žiaden z génov jeho genómu nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-15}$	Žiadne	RT1	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Nepredstavujú riziko pre človeka, ani životné prostredie.				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre celého genómu M. thermoresistibile* – genóm kmeňa *M. thermoresistibile* kóduje 4645 génov. *M. thermoresistibile* je environmentálnym nepatogénnym mykobakteriálnym kmeňom. Žiaden z génov jeho genómu nekóduje toxín, ani virulenčný faktor, expresia ktorých by predstavovala riziko pre zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-15}$	Žiadne	RT1	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Nepredstavujú riziko pre človeka, ani životné prostredie.				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *gfp* – gén kóduje zeleno fluoreskujúci proteín „green fluorescence protein“ z medúzy *Aequorea victoria*.

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-15}$	Žiadne	RT1	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Nepredstavujú riziko pre človeka, ani životné prostredie.				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *KmR* – gén kóduje aminoglykozid 3`-fosfotransferázu kódovanú transpozónom Tn 903

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-15}$	Žiadne	RT1	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Nepredstavujú riziko pre človeka, ani životné prostredie.				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *HygR* – gén kóduje aminoglykozid O-fosfotransferázu (Hygromycín B fosfotransferázu) zo *Streptomyces hygroscopicus*

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-15}$	Žiadne	RT1	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Nepredstavujú riziko pre človeka, ani životné prostredie.				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: **StrR** – gén *aadA* kóduje adenylyltransferázu plazmidu R100.1 z *E. coli*

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-15}$	Žiadne	RT1	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Nepredstavujú riziko pre človeka, ani životné prostredie.				

Žiadateľky: prof. RNDr. Katarína Mikušová, DrSc.; doc. RNDr. Jana Korduláková, PhD

Spôsob použitia: základný vedecký výskum v uzavretom laboratóriu

Príjemca: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, *Mycobacterium tuberculosis* 18b

Gény: *dCas9* – gén kóduje inaktívnu endonukleázu zo *Streptococcus thermophilus*

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

Možný nepriaznivý účinok	Odhad pravdepodobnosti	Hodnotenie rozpoznaného rizika	Manažment rizika	Hodnotenie celkového dopadu
Nemá	$<10^{-15}$	Žiadne	RT1	Bez negatívneho dopadu na životné prostredie
Celkový záver pre tieto gény: Nepredstavujú riziko pre človeka, ani životné prostredie.				

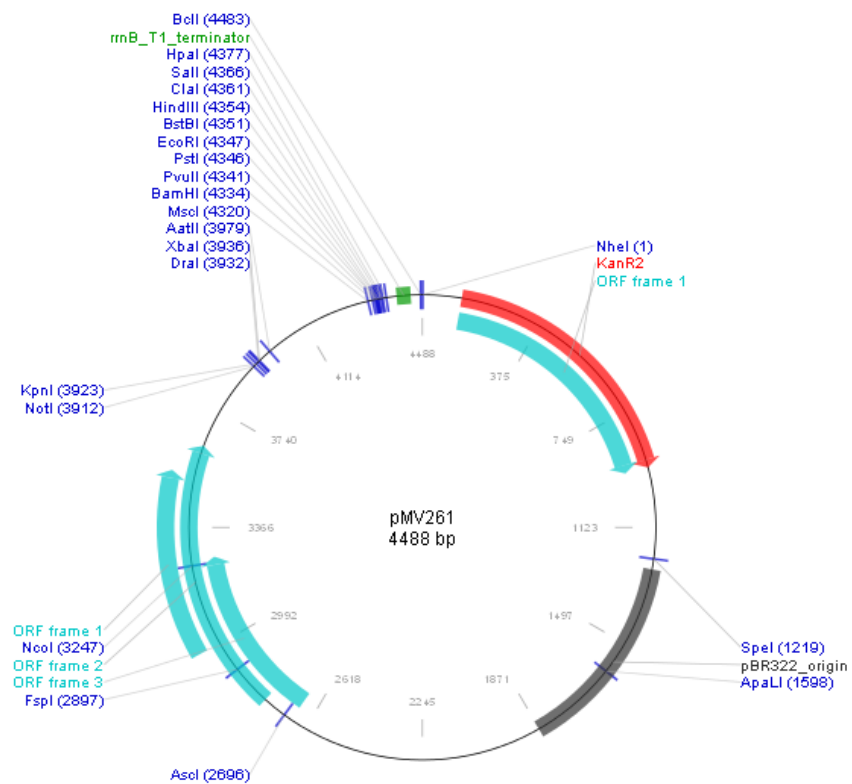
Tabuľka uvádzajúca kompletný zoznam schvaľovaných génov, vektorov a hostiteľov

Organizmus darcu					Organizmus príjemcu	
Názov	Typ vektora	Klonované gény	Číslo GenBank	Manažment rizika	Názov	Výsledné GMO (manažment rizika; posudok str.)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre genómu <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	AL123456.3	RT3	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 1-2
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3; str. 1-2
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3; str. 1-2
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3; str. 19-20
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre genómu <i>M. tuberculosis</i> CDC1551	AE000516.2	RT3	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 3-4
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3; str. 3-4
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3; str. 3-4
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3; str. 21-22
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre genómu <i>M. tuberculosis</i> Erdman	ASM35020v1	RT3	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 5-6
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3; str. 5-6
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3; str. 5-6
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3; str. 23-24
<i>Mycobacterium smegmatis</i> mc ² 155	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST,	Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre	ASM1500v1	RT1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 7-8
					<i>Mycobacterium</i>	RT3; str. 7-8

	pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	genómu <i>M. smegmatis</i> mc ² 155			<i>tuberculosis</i> CDC1551	
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3; str. 7-8
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3; str. 25-26
<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	Individuálne gény, fragmenty génov a génové klastre genómu <i>M. thermoresistibile</i>	ASM23458v1	RT1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 9-10
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3; str. 9-10
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3; str. 9-10
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3; str. 27-28
<i>Aequorea victoria</i>	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	<i>gfp</i>	-	RT1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 11-12
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3; str. 11-12
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3; str. 11-12
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3; str. 29-30
<i>Tn903</i>	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	KmR	-	RT1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 13-14
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3; str. 13-14
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3; str. 13-14
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3; str. 31-32
<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27,	HygR	-	RT1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3; str. 15-16
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3; str. 15-16

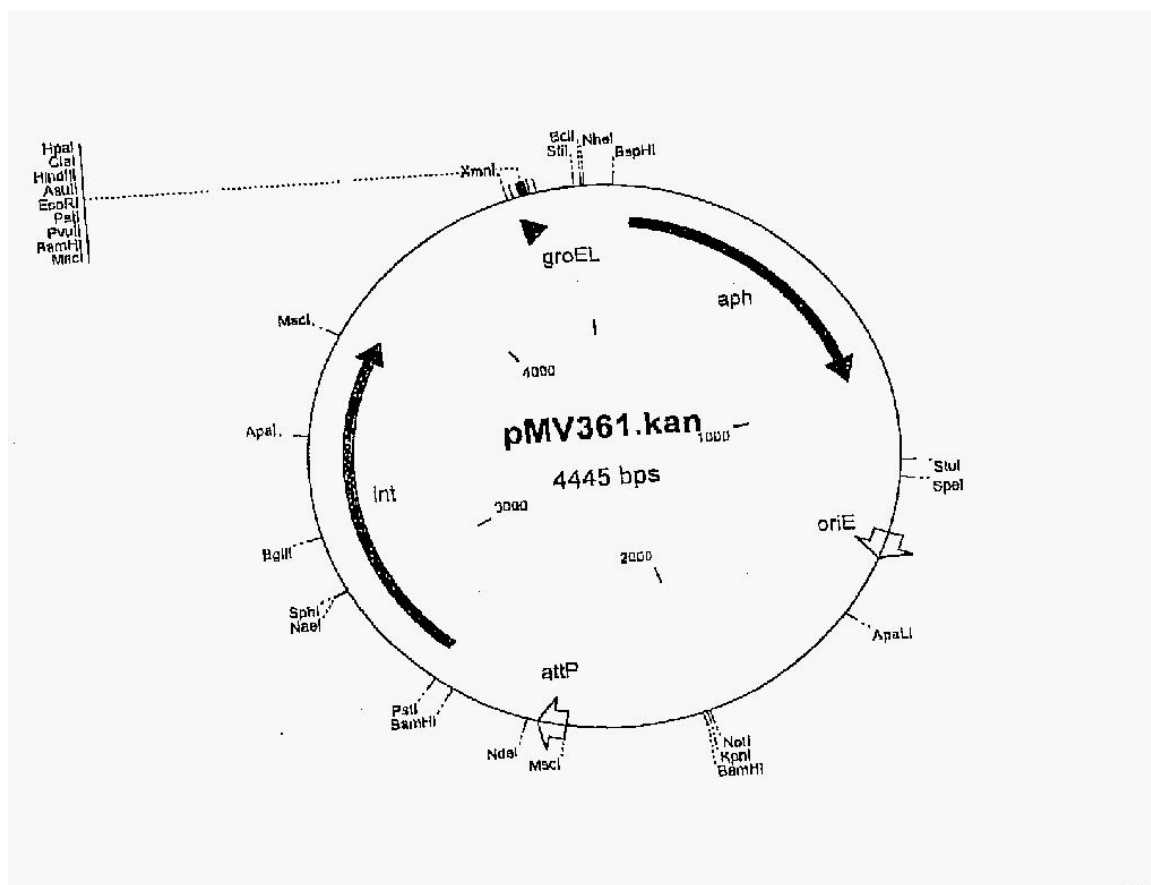
	pSE, pLJR a ich deriváty				<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3 ; str. 15-16
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3 ; str. 33-34
<i>Escherichia coli</i>	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	StrR	-	RT1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3 ; str. 17-18
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3 ; str. 17-18
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3 ; str. 17-18
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3 ; str. 35-36
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Rady vektorov pVV, pMV, pND, pCG, pHAM, pJAM, pST, pGA, pJQ200, pPR27, pSE, pLJR a ich deriváty	dCas9	-	RT1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	RT3 ; str. 37-38
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551	RT3 ; str. 37-38
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Erdman	RT3 ; str. 37-38
					<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 18b	RT3 ; str. 39-40

Príloha č. 1. Mapa vektorov rady pMV261, pVV2 a pVV16

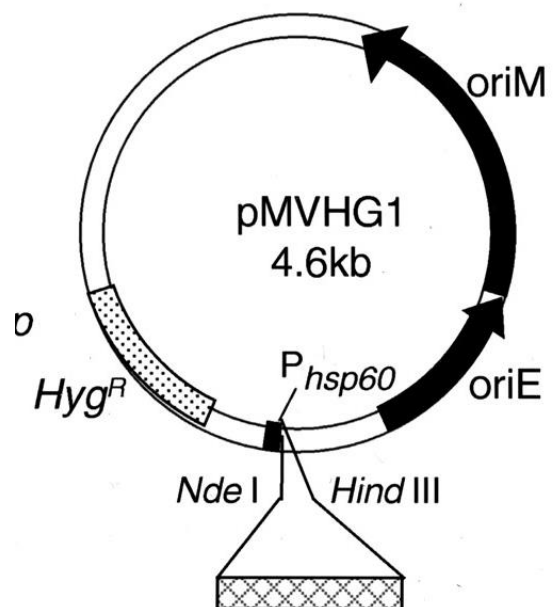


Feature Name	Start	End	ORF	Start	End
KanR2	121	936	ORF frame 1	121	936
pBR322_origin	1252	1871	ORF frame 3	2670	3266
rrnB_T1_terminator	4409	4452	ORF frame 2	2771	3622
			ORF frame 1	2995	3528

Príloha č. 2. Mapa vektorov rady pMV361

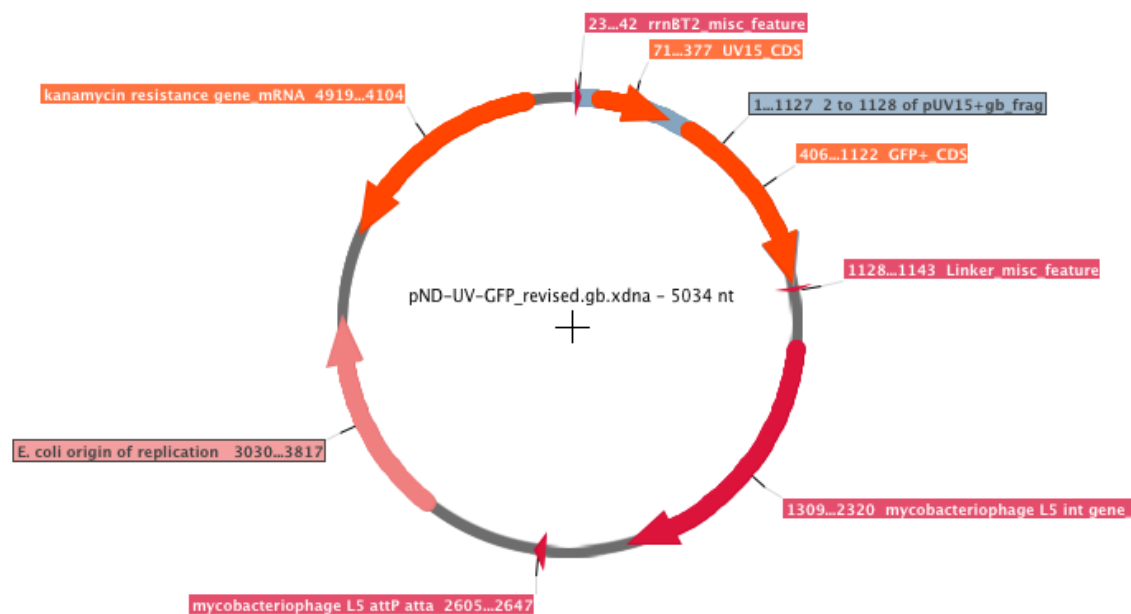


Príloha č. 3. Mapa vektorov rady pMVHG1

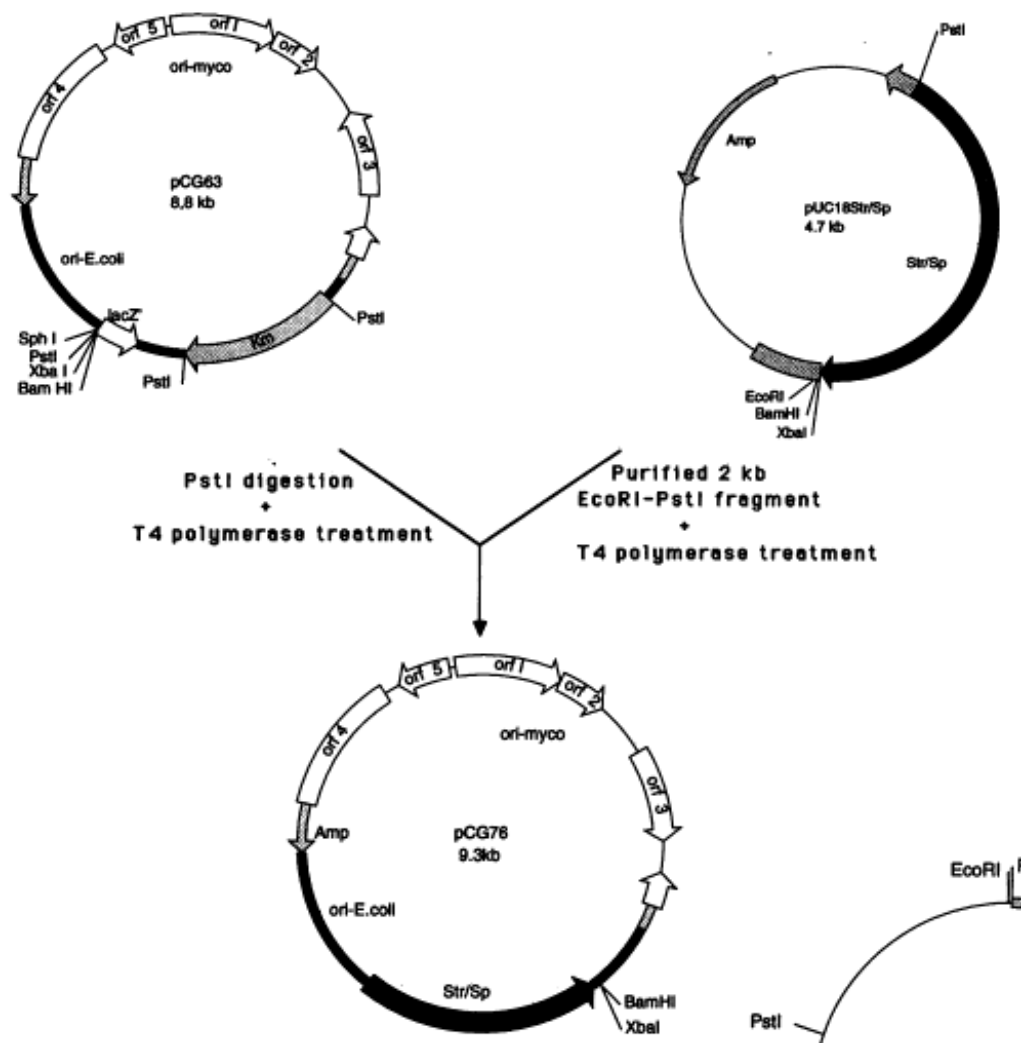


Príloha č. 4. Mapa vektorov rady pND:

Restriction map of pND-UV-GFP_revised.gb.xdna - 5034 nt
<Serial Cloner V2.5> -- <11.12.2016 20:44>

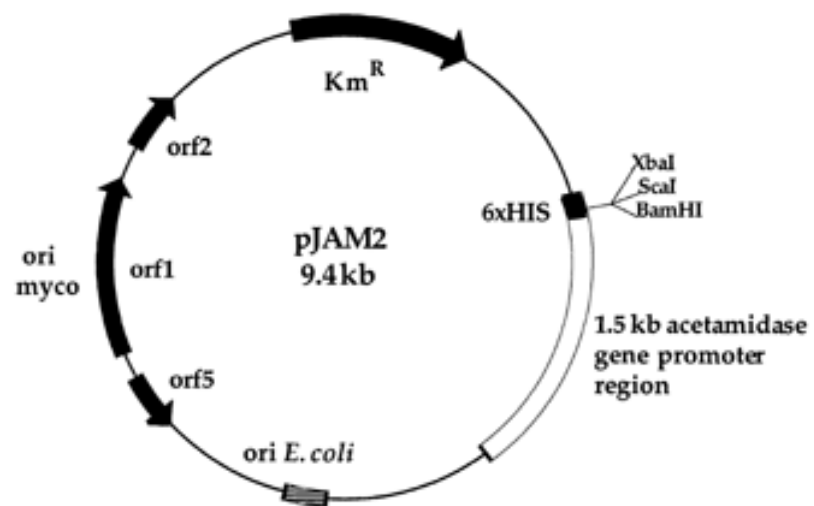


Príloha č. 5. Mapa vektorov rady pCG76



Príloha č. 6. Mapa vektorov rady pJAM2 a pHAM2

A

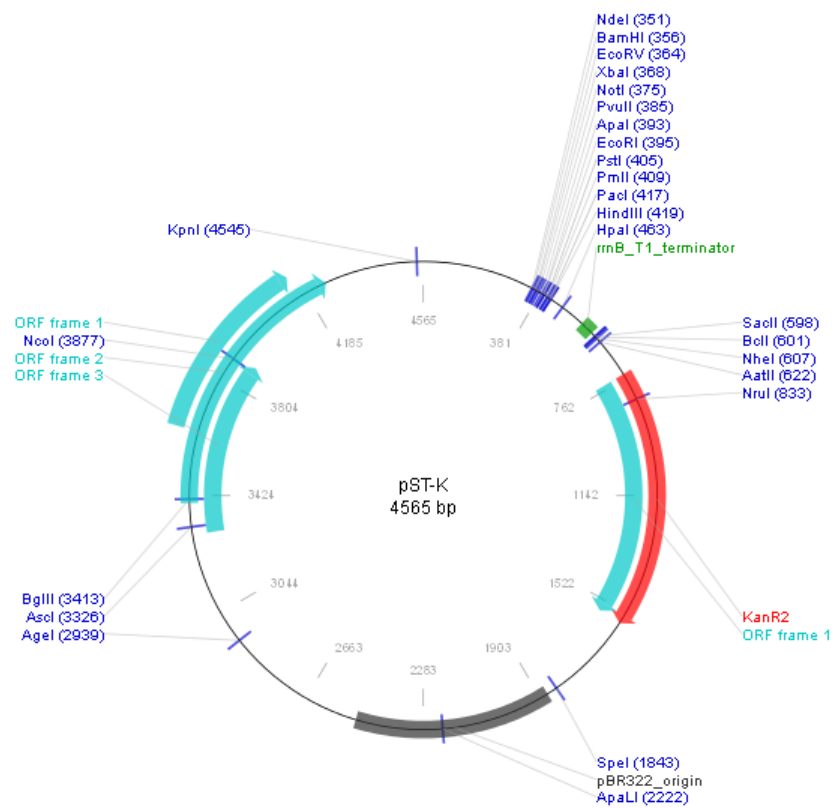


B

SD
 taagagaaagggagtccac ATG CCC GAG GTA GTT TTC BamHI ScaI
 Met Pro Glu Val Val Phe Gly Ser Ser Thr

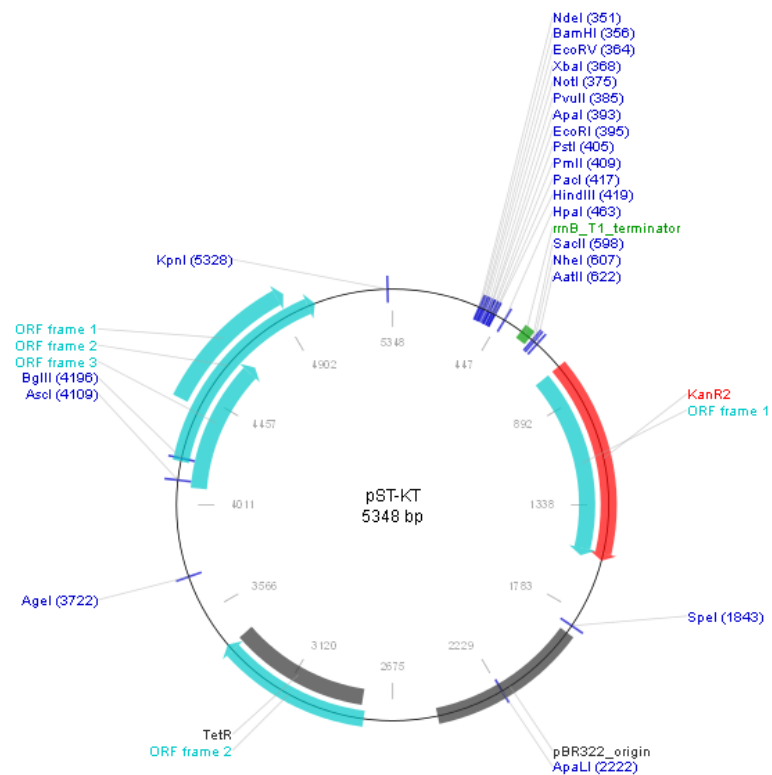
XbaI
 TCT AGA CAC CAC CAC CAC CAC TGA
 Ser Arg His His His His His His *

Príloha č. 7. Mapa vektorov rady pST-K



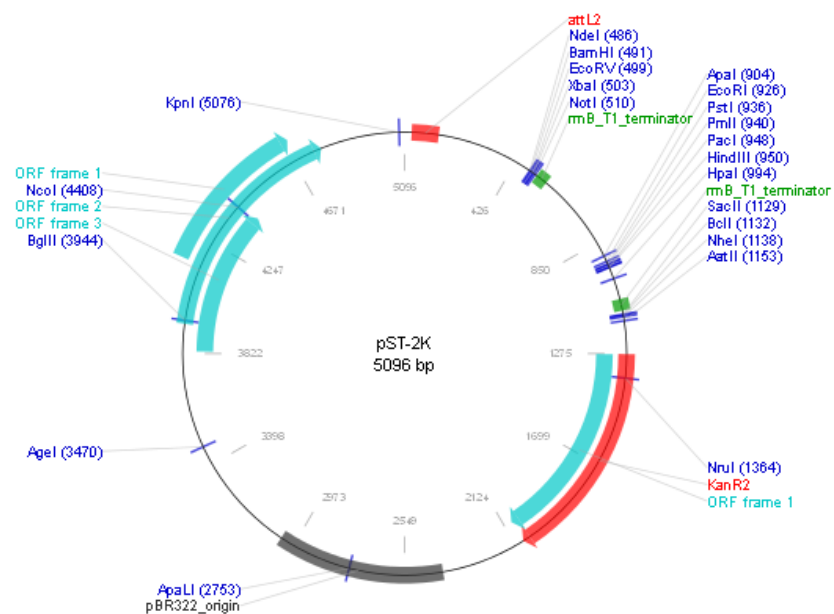
Feature Name	Start	End	ORF	Start	End
rrnB_T1_terminator	541	584	ORF frame 1	745	1560
KanR2	745	1560	ORF frame 3	3300	3896
pBR322_origin	1876	2495	ORF frame 2	3401	4252
			ORF frame 1	3625	4158

Príloha č. 8. Mapa vektorov rady pST-KT



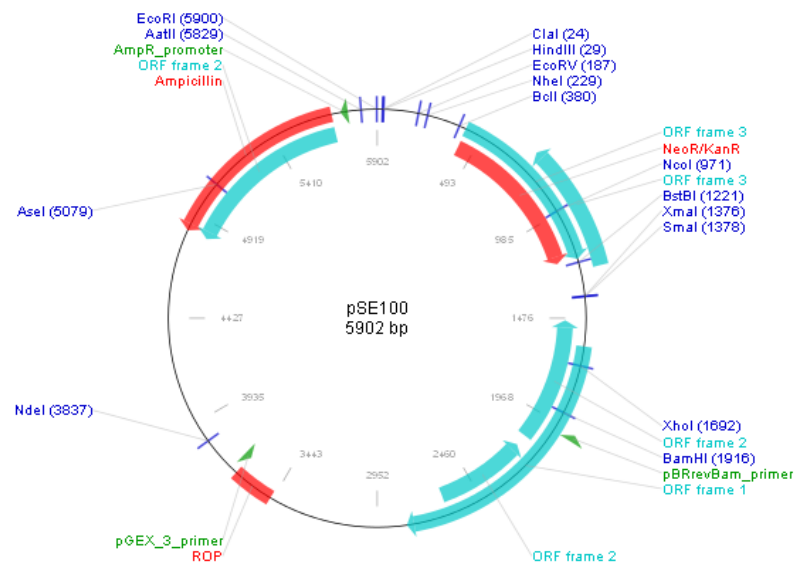
Feature Name	Start	End	ORF	Start	End
rrnB_T1_terminator	541	584	ORF frame 1	745	1560
KanR2	745	1560	ORF frame 2	2789	3412
pBR322_origin	1876	2495	ORF frame 3	4083	4679
TetR	2804	3403	ORF frame 2	4184	5035
			ORF frame 1	4408	4941

Príloha č. 9. Mapa vektorov rady pST-2K



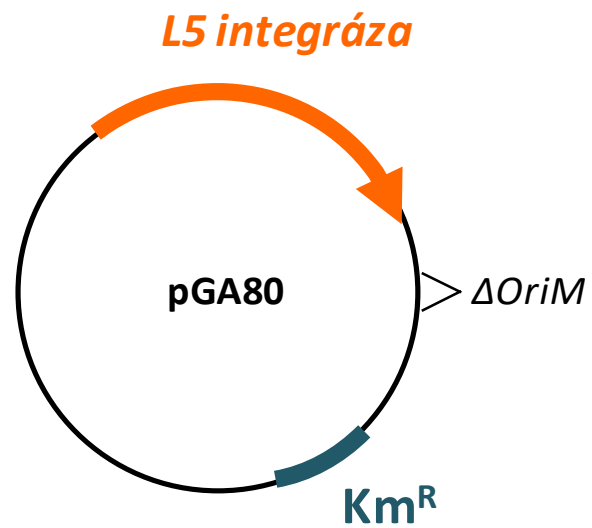
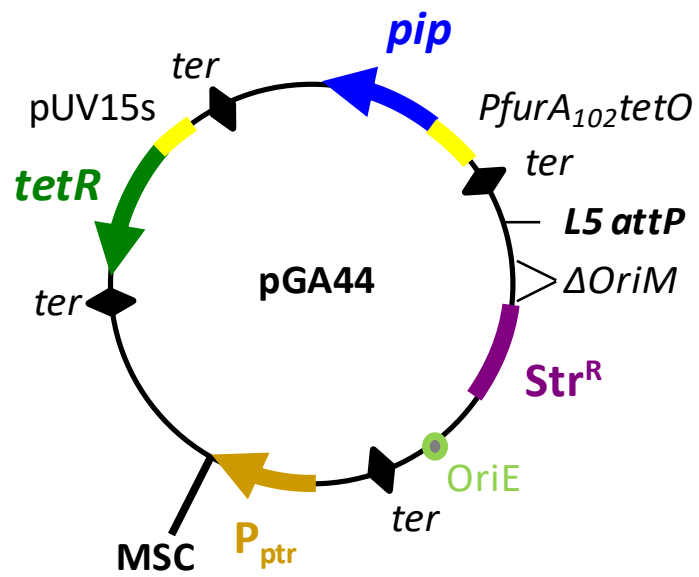
Feature Name	Start	End	ORF	Start	End
attL2	26	125	ORF frame 1	1276	2091
rrnB_T1_terminator	517	560	ORF frame 3	3831	4427
rrnB_T1_terminator	1072	1115	ORF frame 2	3932	4783
KanR2	1276	2091	ORF frame 1	4156	4689
pBR322_origin	2407	3026			

Príloha č. 10. Mapa vektorov rady pSE100 a pSETetR

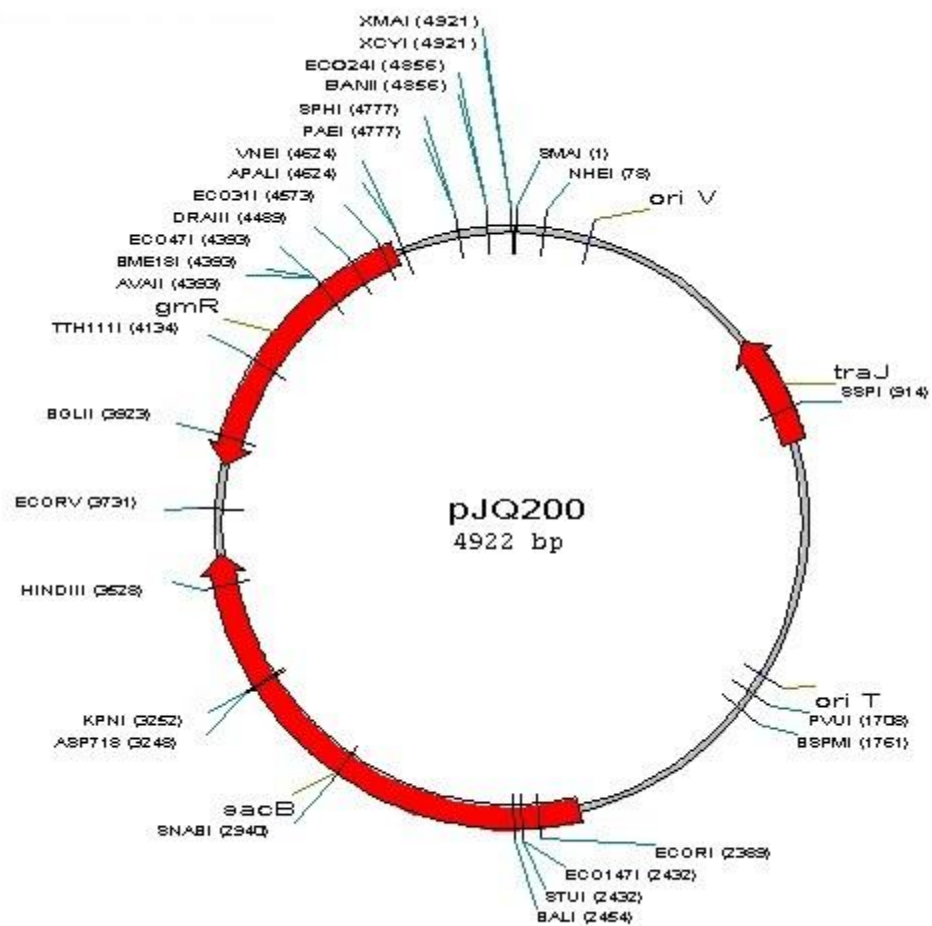


Feature Name	Start	End	ORF	Start	End
NeoR/KanR	414	1202	ORF frame 3	411	1205
pBRrevBam_primer	1998	1979	ORF frame 3	1256	720
ROP	3456	3647	ORF frame 2	2106	1486
pGEX_3_primer	3663	3641	ORF frame 1	1603	2817
Ampicillin	5694	4834	ORF frame 2	2622	2164
AmpR_promoter	5764	5736	ORF frame 2	5694	4834

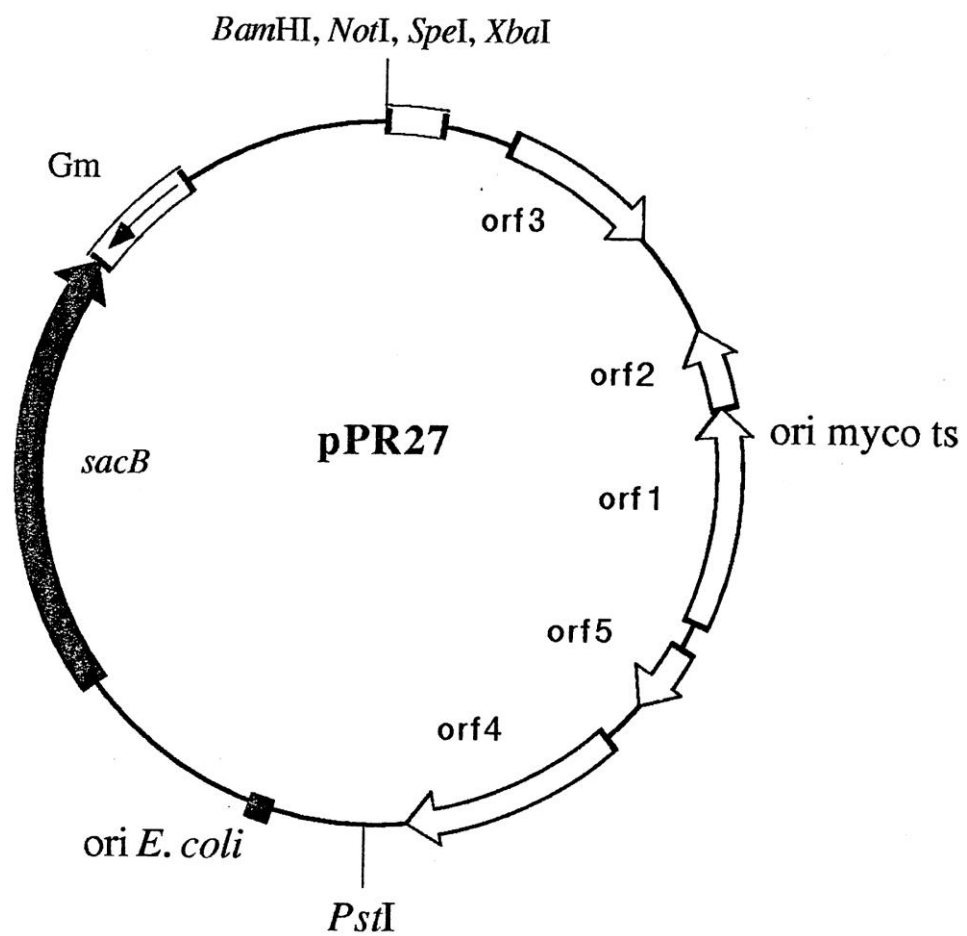
Príloha č. 11. Mapa vektorov rady pGA



Príloha č. 12. Mapa vektorov rady pJQ200



Príloha č. 13. Mapa vektorov rady pPR27



Príloha č. 14. Mapa vektorov rady pLJR965

Created with SnapGene®

