

**ODBOR ENVIRONMENTÁLNYCH RIZÍK
A BIOLOGICKEJ BEZPEČNOSTI**

Bratislava dňa 08. 01. 2015
Číslo: 456/2015
3213/2015-3.2-PPZ99
2593 /2014-3.2-PPZ99

R O Z H O D N U T I E

Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky (ďalej len „ministerstvo“) odbor environmentálnych rizík a biologickej bezpečnosti ako príslušný orgán štátnej správy podľa § 2 zákona č. 525/2003 Z. z o štátnej správe starostlivosti o životné prostredie a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov a podľa § 24 ods. 1 písm. b/ zákona č. 151/2002 Z. z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov v znení neskorších predpisov (ďalej len „zákon“), vo veci žiadateľa **Ústavu molekulárnej biológie SAV, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava** rozhodlo

t a k t o :

Žiadateľovi na základe § 13 ods. 1 písm. a/ zákona **udelilo** súhlas na prvé použitie uzavretých priestorov s úrovňou ochrany 1:

názov uzavretého priestoru	charakteristika uzavretého priestoru	evidenčné číslo uzavretého priestoru
laboratórium č. 01-304	laboratórium č. 01-304 je umiestnené v objekte 01 – v starej budove UMB SAV, na 3. podlaží, určené pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami	501 1214
laboratórium č. 01-422	laboratórium č. 01-422 je umiestnené v objekte 01 – v starej budove UMB SAV, na 4. podlaží, určené pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami	502 1214

chladiaci box č. 01-314	chladiaci box č. 01-314 je umiestnený v objekte 01 – v starej budove UMB SAV, na 3. podlaží, určený pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami	503 1214
klimatizovaný box č. 02-123	klimatizovaný box č. 02-123 je umiestnený v objekte 02 – v novej budove UMB SAV, na 2. podlaží, určený pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami	504 1214
klimatizovaný box č. 02-124	klimatizovaný box č. 02-124 je umiestnený v objekte 02 – v novej budove UMB SAV, na 2. podlaží, určený pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami	505 1214

v ktorom žiadateľ môže začať vykonávať doleuvedené genetické technológie zatriedené do rizikovej triedy 1:

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: kmeň *Escherichia coli* K12, deriváty kmeňa *E. coli* K12: *E. coli* XL1-Blue, *E. coli* BL21 (DE3)

Bunkové línie: ľudské (*H. sapiens*) – SH-SY5Y (eukaryotické bunky – neuroblastóm);
 myšie (*Mus musculus*) – N2A (eukaryotické bunky – neuroblastóm);
 potkanie (*Rattus rattus*) – C6 (eukaryotické bunky – glyoblastóm)

Organizmy darcu:

Eukaryotické organizmy: človek (*Homo sapiens*), myš domová (*Mus musculus*),
 potkan tmavý (*Rattus rattus*).

Vektory:

pEGFP-N1 (Gen^R), pEGFP-C1 (Gen^R), pEGFP-DN1 (Gen^R).

Vložený genetický materiál:

Gén a jeho modifikácie kódujúci dopamínový transportér z *H. sapiens*: *DAT*.
 Gény a ich modifikácie kódujúce transportéry pre kyselinu γ -aminobutyrovú (GABA) z *Mus musculus*: *GAT1*, *GAT2*, *GAT3*, *GAT4*.
 Gény a ich modifikácie kódujúce transportéry pre glycín z *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Rattus rattus*: *GlyT1*, *GlyT2*.
 Gén kódujúci proteázu z *R. rattus*: *kalpaín*.
 Gén kódujúci prirodzený inhibítor kalpaínu z *R. rattus*: *kalpastatín*.
 Gén kódujúci viacfunkčný bunkový regulátor z *R. rattus*: *kalmodulín*.
 Gén kódujúci nervový receptor, resp. jeho podjednotky z *R. rattus*: *NMDA*,
 podjednotky *NR1a* a *NR2A*.
 Gén kódujúci ATP-ázu z *R. rattus*: *NSF*.
 Gén a jeho modifikácie kódujúci regulátor fosforylácie z *R. rattus*: *RACK1*.
 Gén a jeho modifikácie kódujúci regulátor exocytózy z *R. rattus*: *syntaxín 1A*.

Gén a jeho modifikácie kódujúci signálny proteín z *R. rattus*: PSD95.

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: kmeň *Escherichia coli* K12, deriváty kmeňa *E. coli* K12, *Brevibacterium flavum* CCM 251, *Corynebacterium glutamicum*

Organizmy darcu:

Korynefág: BFK20

Baktérie: *Paenibacillus polymyxa* 7400 (pôvodný názov *Bacillus polymyxa*)

Vektory:

pSRK21 (Km^R), pUT18 (Amp^R), pUT18C (Amp^R), pKT25 (Km^R), pKNT24 (Km^R)

Vložený genetický materiál:

Gény *hol*, *lys* z korynefága BFK20 kódujú proteíny holín a lyzín;

Gény ORF24,25,26,27 z korynefága BFK20 kódujú fágový lytický proteín;

Gény ORF39,41,43,44 z korynefága BFK20 kódujú fágový replikačný proteín;

Gény ORF47,48 z korynefága BFK20 kódujú fágový regulačný proteín.

500 – 1000 bp *EcoRI* fragmenty chromozomálnej DNA z *Paenibacillus polymyxa* (*Bacillus polymyxa* – starý názov).

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: kmeň *Escherichia coli* K12, deriváty kmeňa *E. coli* K12

Organizmy darcu:

Bakteriofág: phiBP (hostiteľ *Paenibacillus polymyxa* (*Bacillus polymyxa* – starý názov))

Vektory:

pET28 (Km^R)

Vložený genetický materiál:

Gény *hol*, *lys* z fága phiBP, hostiteľ *Paenibacillus polymyxa* (*Bacillus polymyxa* – starý názov), kódujú proteíny holín a lyzín.

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: kmeň *Escherichia coli* K12, deriváty kmeňa *E. coli* K12, *Brevibacterium flavum* CCM 251, *Corynebacterium glutamicum*

Organizmy darcu:

Bakteriofág: phiBP (hostiteľ *Paenibacillus polymyxa* (*Bacillus polymyxa* – starý názov))

Vektory:

pET28 (Km^R)

pSRK21 (Km^R), pUT18 (Amp^R), pUT18C (Amp^R), pKT25 (Km^R), pKNT24 (Km^R)

Vložený genetický materiál:

Gény *hol*, *lys* z fága phiBP, hostiteľ *Paenibacillus polymyxa* (*Bacillus polymyxa* – starý názov), kódujú proteíny holín a lyzín.

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: kmene *Escherichia coli* K12, deriváty kmeňa *E. coli* K12, kmene *Bacillus subtilis*, pôvodný kmeň *B. subtilis* PY79 a jeho mutantné formy

Kvasinky: *Saccharomyces cerevisiae* MaV203 – v prípade použitia dvojhybridného systému

Organizmy darcu:

Baktérie: Chromozomalna DNA z *Clostridium difficile* (na pracovisku sa nepracuje so živými bakteriálnymi bunkami, len s DNA)
Bacillus subtilis PY79

Vektory:

pETDuet (Amp^R, Novagen), pRSFDuet (Amp^R, Novagen), pKT25 (Kam^R), pKNT 25 (Kam^R), pUTC18 (Amp^R), pUT18 (Amp^R), pSG1154 (Amp^R), pSG1164 (Amp^R), pED965 (Amp^R), pED 962 (Amp^R), pDG1664 (Amp^R), pDG1163 (Amp^R)

Vložený genetický materiál:

Gény *minE*, *minC*, *minD* z *C. difficile* kódujú deliace proteíny MinE, MinC, MinD.

Gény *rodZ*, *mreB*, *mreBH*, *mbl*, *mreD*, *mreC* z *B. subtilis* PY79 kódujú cytoskeletárne proteíny RodZ, MreB, MreBH, Mbl, MreD, MreC.

Gény *ftsZ*, *ftsA*, *minJ*, *divIVA*, *divIB*, *divIC* z *B. subtilis* PY79 kódujú deliace proteíny FtsZ, FtsA, MinJ, DivIVA, DivIB, DivIC.

Gény *spolIS*, *spolIQ*, *spolIIAH*, *spolIAA* z *B. subtilis* PY79 kódujú sporulačné proteíny SpoIIIS, SpoIIQ, SpoIIAH, SpoIIAA.

Gén *pbp2* z *B. subtilis* PY79 kóduje enzým PBP2 zúčastňujúci sa syntézy peptidoglykanu.

Gény kódujúce proteíny spórového obalu *B. subtilis* PY79.

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: *Escherichia coli* K12 a jej deriváty

Organizmy darcu:

Kvasinky: *Saccharomyces cerevisiae*

Vektory:

pGEX-4T-1 (Amp^R), pEG202 (Amp^R), pJG4-5 (Amp^R), pET21 (Amp^R), pIEx-1 (Amp^R), pBR322 (Amp^R)

Vložený genetický materiál:

GIC1(116-314) a *GIC2(124-383)* (*GIC1*, *GIC2* a ich deriváty vo fúzii s *LexA* resp. s *GAL4-AD*) – gény kódujúce septín viažúce proteíny zo *S. cerevisiae*;

CLA4 a *GIN4* – gény kódujúce kinázu proteínov zo *S. cerevisiae*;

SHS1 a *CDC10* – gény kódujúce septíny zo *S. cerevisiae*;

URA3 – gén kódujúci syntézu uracilu zo *S. cerevisiae*;

HIS – gén kódujúci syntézu histidínu zo *S. cerevisiae*.

Organizmy prijímateľa:

Kvasinka: *Saccharomyces cerevisiae* BY4743

Organizmy darcu:

Kvasinky: *Saccharomyces cerevisiae*

Morská medúza: *Aequorea victoria*

Vektory:

Vektory nebudú použité.

Vložený genetický materiál:

sec3 (sec3::fluorescenčný protein-natNT2) – gén kódujúci podjednotku komplexu exocyst zo *S. cerevisiae* vo fúzii s fluorescenčným proteínom z *Aequorea victoria* – integrácia do chromozómu;

sec3 (sec3::kanMX4) – gén kódujúci podjednotku komplexu exocyst zo *S. cerevisiae* dizubovaný kanamycínovým blokom rezistencie – integrácia do chromozómu;

tub3 (tub3::fluorescenčný protein-natNT2) – gén kódujúci tubulín zo *S. cerevisiae* vo fúzii s fluorescenčným proteínom z *Aequorea Victoria* – integrácia do chromozómu;

myo1 (myo1::fluorescenčný protein-natNT2) – gén kódujúci motor protein zo *S. cerevisiae* vo fúzii s fluorescenčným proteínom z *Aequorea victoria* – integrácia do chromozómu;

bni1 (bni1::fluorescenčný protein-natNT2) – gén kódujúci aktín-viažúci protein zo *S. cerevisiae* vo fúzii s fluorescenčným proteínom z *Aequorea Victoria* – integrácia do chromozómu;

kar9 (kar9::fluorescenčný protein-natNT2) – gén kódujúci tubulín-viažúci protein zo *S. cerevisiae* vo fúzii s fluorescenčným proteínom z *Aequorea Victoria* – integrácia do chromozómu;

swe1 (swe1::kanMX4) – gén kódujúci kinázu proteínov zo *S. cerevisiae* dizubovaný kanamycínovým blokom rezistencie – integrácia do chromozómu.

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: *Escherichia coli* K12 a jej deriváty
Kvasinka: *Saccharomyces cerevisiae* BY4743

Organizmy darcu:

Kvasinky: *Saccharomyces cerevisiae*

Vektory:

pET21 (Amp^R), pEx-1 (Amp^R), pYES2 (Amp^R)

Vložený genetický materiál:

ELM1 – gén kódujúci kinázu proteínov zo *S. cerevisiae*;
BNI5 – gén kódujúci septín-viažúci proteín zo *S. cerevisiae*;
KCC4 – gén kódujúci kinázu proteínov zo *S. cerevisiae*.

Organizmy prijímateľa:

Baktérie: *Escherichia coli* K12 a jej deriváty

Organizmy darcu:

Baktérie: *Escherichia coli* K12, *Streptomyces coelicolor*, *Bacillus subtilis*
Cicavce: *Homo sapiens*

Vektory:

pBeloBAC (Kan^r), pCDFDuet (Sm^R), pCOLADuet (Kan^r), pRARE (Cm^r)

Vložený genetický materiál:

rpoA – gén kódujúci alfa podjednotku RNA polymerázy z *E. coli* K12;
deoR (*deoR::loxP*) – gén kódujúci regulátor syntézy pyrimidínu z *E. coli* K12, dizubovaný – integrácia do chromozómu;
recA (*recA::loxP*) – gén kódujúci opravný systém DNA z *E. coli* K12, dizubovaný – integrácia do chromozómu;
hisB (*hisB::FRT*) – gén kódujúci syntézu histidínu z *E. coli* K12, dizubovaný – integrácia do chromozómu;
dnaK, *dnaJ*, *GroESL* – gény kódujúce chaperóny z *E. coli* K12;
Egr1(327-421) – gén kódujúci DNA viažúcu doménu transkripčného faktora z *Homo sapiens*;
acpS – gén kódujúci fosfopanteteinyl transferázu zo *S. coelicolor* – integrácia do chromozómu;
pccAB – gén kódujúci propionyl-CoA karboxylázu zo *S. coelicolor*;
sfp – gén kódujúci fosfopanteteinyl transferázu z *B. subtilis* – integrácia do chromozómu;
acpS a *sfp* (*pyrF::acpS-sfp*) – gény kódujúce fosfopanteteinyl transferázu zo *S. coelicolor*, respektíve z *B. subtilis*, ktoré budú použité na dizubciu *pyrF*, génu kódujúceho syntézu uracilu v prijímateľovi, *E. coli* K12 – integrácia do chromozómu;

metagenóm z prírodných vzoriek – gény kódujúce syntézu sekundárnych metabolitov.

Organizmy prijímateľa:

Baktéria: *Pseudomonas putida* KT2440

Organizmy darcu:

Baktéria: *Escherichia coli* K12

Vektory:

pMRS101 (Sm^r)

Vložený genetický materiál:

trfA (*pyrF::trfA*) a *dnaBC* (*pyrF::dnaBC*) – gény kódujúce iniciáciu replikácie BAC vektora z *E. coli* K12, ktoré budú použité na dizubciu *pyrF*, génu kódujúceho syntézu uracilu v prijímateľovi, *Pseudomonas putida* KT2440 – integrácia do chromozómu

Organizmy prijímateľa:

Baktéria: *Bacillus subtilis*

Organizmy darcu:

Baktéria: *Bacillus subtilis*

Vektory:

pSG1154 (Spc^R, Ery^R) – Ery^R sa prejaví len v prípade, ak je plazmid vložený do *E. coli*, pDG1664 (Amp^R, Ery^R, Spc^R)

Vložený genetický materiál:

amyE (*amyE::cat^r*) – gén kódujúci alfa-amylázu z *B. subtilis* dizubovaný chloramfenikolovým blokom rezistencie – integrácia do chromozómu;
thrC (*thrC::kan^r*) – gén kódujúci syntézu treonínu z *B. subtilis* dizubovaný kanamycínovým blokom rezistencie – integrácia do chromozómu.

Toto rozhodnutie nenahrádza ďalšie súhlasy a konania potrebné podľa zákona.

O d ô v o d n e n i e:

Dňa 04. 09. 2014 žiadateľ Ústav molekulárnej biológie SAV, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava podal návrh o vydanie súhlasu na prvé použitie uzavretých priestorov v zmysle § 13 ods. 1 písm. a/ zákona.

Ministerstvo preskúmalo predložené doklady, a to najmä žiadosť používateľa o vydanie súhlasu na prvé použitie uzavretých priestorov, adresu a všeobecný popis zariadenia, opis ochranných opatrení uzavretých priestorov, informáciu či uzavreté priestory umožňujú dodržiavať zásady správnej mikrobiologickej praxe, napojenie zariadenia na verejné dopravné a technické vybavenie územia vrátane údajov o odpadovom hospodárstve a o nakladaní s odpadmi, údaje o počte, štruktúre a kvalifikačnej skladbe zamestnancov, ktorí sa zúčastňujú používania v uzavretých priestoroch, účel kontrolovaného použitia vrátane očakávaných výsledkov, údaje o vedúcom projekte, plán vnútorného stavebno-technického a prevádzkového usporiadania uzavretých priestorov s vyznačením umiestnenia uzavretých priestorov a označením, prevádzkový poriadok uzavretých priestorov, zoznam uskutočnených výskumných úloh zariadenia, ktoré majú vzťah k používaniu geneticky modifikovaných organizmov, rozhodnutie Regionálneho úradu verejného zdravotníctva č. PPL/14989/2014 o vydaní súhlasu na uvedenie priestorov určených pre činnosti súvisiace s expozíciou biologickým faktorom 1. skupiny do prevádzky a na zmenu v prevádzkovaní laboratória č. 01-422, rozhodnutie Regionálneho úradu verejného zdravotníctva č. PPL/11594/2012 o vydaní súhlasu na uvedenie pracovných priestorov laboratórií do prevádzky, schválenie prevádzkového poriadku pre činnosti súvisiace s expozíciou chemickým a karcinogénnym faktorom pri práci, schválenie činností spojených so skladovaním a manipuláciou s veľmi toxickými látkami a zmesami a schválenie činností spojených s manipuláciou a skladovaním chemických karcinogénov a mutagénov na pracoviskách laboratórií, rozhodnutie Regionálneho úradu verejného zdravotníctva č. RÚVZ/51-12698/2006 o vydaní súhlasu na uvedenie pracovných priestorov do prevádzky, na používanie biologických faktorov a na činnosti, ktoré môžu mať za následok vystavenie zamestnancov biologickým faktorom 2. skupiny a na schválenie „prevádzkového poriadku zariadenia pre prácu s biologickými faktormi“, zriaďovaciu listinu č. 484/G/12/2008, dodatok č. 1 k zriaďovacej listine č. 484/G/12/2008, posudky z posudzovania rizika.

Ministerstvo vykonaním kontroly technického vybavenia uzavretých priestorov zistilo, že uzavreté priestory spĺňajú požiadavky podľa §3 a prílohy vyhlášky MŽP SR č. 399/2005 Z. z., ktorou sa vykonáva zákon v znení vyhlášky MŽP SR č. 312/2008 Z. z. a č. 86/2013 Z. z..

Na základe uvedených skutočností a kladného stanoviska Komisie pre biologickú bezpečnosť zo dňa 12. 12. 2014, ministerstvo vyhodnotilo podmienky na vydanie súhlasu na prvé použitie uzavretých priestorov s úrovňou ochrany 1 a začatie činnosti zatriedenej do rizikovej triedy 1 v týchto uzavretých priestoroch, ako splnené.

Poučenie: Proti tomuto rozhodnutiu možno podľa § 61 zákona č. 71/1967 Zb. o správnom konaní v znení neskorších predpisov podať do 15 dní odo dňa jeho doručenia rozklad na Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky, Námestie Ľudovíta Štúra 1, 812 35 Bratislava. Rozhodnutie možno preskúmať súdom.

Ing. Henrieta Čajková
riaditeľka odboru

Doručí sa:

Ústavu molekulárnej biológie SAV, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava

Na vedomie:

SIŽP, Ústrediu inšpekcie biologickej bezpečnosti, Karloveská 2, 842 22 Bratislava