

# Umsókn um leyfi til afmarkaðrar notkunar erfðabreyttra lífvera, í flokki IV

Umhverfisstofnun / 18.3.2019 13:28



## Upplýsingar um umsækjanda

Nafn	Mátis ohf.
Kennitala	670906-0190
Heimilisfang	Vínlandsleið 12
Póstfang	113
Sími	4225000
Bréfsími (Fax)	4225001
Netfang	olafur@matis.is

## Upplýsingar um rannsóknarstofu/athafnarsvæði

Heimilisfang	Vínlandsleið 12
Háttalag og einkenni lífvera ef breytingar verða á lokuðu rými þar sem hin afmarkaða notkun fer fram, eða ef þeim er sleppt út í umhverfið	
Sótt er um leyfi fyrir <i>Bacillus subtilis</i> og <i>Lactobacillus reuterii</i> . Báðar falla undir GRAS, unnt er að nota þær í matvælaíðnaði, teljast ekki hættulegar. Notaðar við framleiðslu matvæleisima	
Þjálfun og hæfni starfsfólks	Sérhæft starfsfólk með þjálfun í meðhöndlun og notkun erfðabreyttralífvera vinnur með örverurnar.

## Eðli og umfang starfseminnar

Hvaða lífverur á að nota	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus reuterii</i>
Hvaða genaferju/r á að nota?	plasmíð ferjur, óstöðugar án sýklalyfja ónæmisvals
Hvert er meðalrúmmál rækta?	1 lítri
Hvaða tækniferli er fyrirhugað að nota?	Klónun ferja í stofna. Skimun lítilla rækta (30 ml). Uppsköpun, 1-10 lítrar

Lýsing á ríkjandi veðurfari og hugsanlegar hættur sem staðsetning rannsóknarstofu/athafnarsvæðis

Örverur einungis notaðar innan rannsóknarstofu. Aðskildar verkefnastöðvar í stað fastra starfsmannastöðva. Því eru rannsóknir og tilraunir á erfðabreyttum örverum betur aðskilin frá annarri starfsemi

## Upplýsingar um eiginleika arfþega og arfgjafa eða (þar sem við á) móðurlífveru

Heiti og flokkun

Báðar Gram\* (1) Species#: #*B. subtilis*, Class#: #Bacilli; Family#: #Bacillaceae Phylum#: #Firmicutes (2) Species#: #*L. reuterii*; Phylum#: #Firmicutes  
Family#: #Lactobacillaceae Class#: #Bacilli

Skyldleiki lífveru eða lífvera	Báðar Gram+, Firmicutes
Uppruni lífveru eða lífvera	<i>B. subtilis</i> 3NA rannsóknarstofustofn frá Háskólanum í Stuttgart. <i>L. reuterii</i> frá DSMZ.
Æxlunarkerfi (kynæxlun/kynlaus æxlun) arfgjafa	Kynlaus
Stöðugleiki móðurlífveru eða arfgjafa m.t.t. erfðaeinkenna sem skipta máli fyrir erfðabreytinguna	Plasmíð ferja óstöðug án sýklalyfjaónæmisvals
Eiginleikar genaferju - nukleótíðaröð:	
Dæmi um genaferju fyrir <i>B. subtilis</i> : pNG501, 4852 bp. spectinomycin ónæmi sorbitol stýrill. Dæmi um genaferju fyrir <i>L. reuterii</i> : pTRKH3-slpGFP (Addgen), 7493 bp, p15A ori, erytromycin ónæmi	
Eiginleikar genaferju - fartíðni (frequency of mobilization)	Ummyndun - electrophoration - rafgötun: <i>B. subtilis</i> , 10 í 3-4 veldi per míkrogram DNA. <i>L. reuterii</i> 10 í 2. veldi kól per µg DNA
Eiginleikar genaferju - gen sem valda þoli (t.d. sýklalyfjapoli)	<i>Bacillus subtilis</i> pNG501 - spectinomycin ónæmisgen; <i>Lactobacillus reuterii</i> - erythromycin ónæmisgen
Hýsilsvið	Plasmíð eru "shuttle vectors" eftirmyndast í <i>E. coli</i> og <i>Bacillus subtilis/L. reuterii</i>

Önnur lífeðlisfræðileg einkenni sem máli skipta varðandi stöðugleiki þeirra

Óstöðug án vals með sýklalyfjum. Til að fá stöðuga framleiðslu þarf að ummynda fyrir hvern framleiðsluferil. B.subtilis 3NA er erfðabreytt þannig að hún myndar ekki gró. L. reuteri myndar ekki gró.

Náttúruleg búsvæði og landfræðileg dreifing	Rannsóknarstofustofnar á rannsóknarstofum víða um heim.
Víxlverkun og áhrif á aðrar lífverur í umhverfinu (þar með taldar líklegar samkeppnislífverur eða hýslar)	Komast ekki í snertingu við aðrar lífverur í umhverfinu. Dauðhreinsun á ræktum og frumuhрати fer fram eftir framleiðslu
Háttalag og einkenni lífvera ef breytingar verða á lokuðu rými þar sem hin afmarkaða notkun fer	Hvorki B. subtilis 3NA né L. reuterii mynda gró. Drepaft eftir nokkra daga/vikur við 25°C án kolefnis og orkugjafa
Hliðarafurðir sem verða til samfara fyrirhugaðri afurð erfðabreyttu lífveranna	Frumuhрат - prótein, fita, sykrur.
Yfirlit yfir hugsanlegar afleiðingar þess að erfðabreyttar lífverur sleppi út í umhverfið	Hvorki B. subtilis 3NA né L. reuterii mynda gró. Drepaft eftir nokkra daga/vikur við 25°C án kolefnis og orkugjafa

## Eiginleikar erfðabreyttu lífverunnar(anna)

Lýsing á erfðabreytingum svo og aðferð við að koma genaferju-innskoti fyrir í arfþega eða sú aðferð sem notuð er til að ná fram erfðabreytingum

Genum ensíma sem notuð eru í matvælaíðnaði er komið fyrir í ferjum (klipping/líming eða Gibson endurröðun). E.coli frumur eru ummyndaðar með afurðum (rafgötun), DNA einangrað og B.S og L.R ummyndaðar

Tilgangur erfðabreytingarinnar eða hlutverk nýja erfðaefnisins	Framleiðsla ensíma til notkunar við þróun matvæla eða fæðubótarefna.
Eðli og uppruni genaferju	B.subtilis genaferju (Háskólinn í Stuttgart, Þýskalandi); L.reuteri Addgene <a href="https://www.addgene.org/">https://www.addgene.org/</a>
Bygging eða fjöldi kjarnsýra úr genaferju eða arfgjafa sem verður eftir í erfðabreyttu lífverunni	Stærð plasmíða <10 kb. Yfirleitt 5-10 kbp með genum sem ferjuð eru. Eintakafjöldi plasmíða er 50-200 eintök per frumu (low copy)
Stöðugleiki svipfarseinkenna (traits) erfðabreyttu lífverunnar	Stöðugleiki lítill. Eiginleikar hverfa eftir 10 -20 kynslóðir. Ummynda þarf á ný í upphafi hverra framleiðslutilraunar
Fartíðni innfeldu genaferjunnar og/eða hæfileiki til genaflutnings	Ummyndun - electrophoration - rafgötun: B. subtilis, 10 í 3-4 veldi per míkrogram DNA. L. reuteri 10 í 2. veldi kól per µg DNA
Magn og tjáningarhraði nýja erfðaefnisins	Afar mismunandi eftir genum sem tjáð eru. "stýrlar" skilgreindir sem sterkir. Framleiðsla erfðabreyttra próteina yfirleitt ekki meiri en 0,1-0,5 gr per lítra rækt
Virkni hins tjáða próteins	Ensím notuð til að brjóta niður eða umbreyta sykrum. Dæmi: amylasar, chitinasar, laminarinasar, alginasar, cellulasar.

## Heilbrigðissjónarmið

Ofnæmis- og eiturverkun ólífvænlegra lífvera og/eða efnaskiptaafurða þeirra	Bæði B. subtilis og L. reuterii eru GRAS (generally recognized as safe).
Hættur sem tengjast afurðum	Ensím brjóta niður eða umbreyta fjölsykrum. Engar þekktar hættur
Samanburður á erfðabreyttum lífverum og arfgjafa, arfþega eða (þar sem við á ) móðurlífveru m.t.t. meinvirkni	Enginn munur á að vera á erfðabreyttu lífverum og móðurlífverum m.t.t. meinvirkni

## Sé lífvera meinvirk mönnum með heilbriggt ónæmiskerfi þurfa eftirtaldar upplýsingar að koma fram

Sjúkdómur sem hún veldur	Lífverur ekki meinvirkar
Smitleiðir	Lífverur ekki meinvirkar
Skammtur sem veldur smiti	Lífverur ekki meinvirkar
Hýsilsvið	Lífverur ekki meinvirkar

Lífsmöguleikar lífveru utan mennskis hýsils	Lífverur ekki meinvirkar
Tilvist genaferju eða dreifingarleiðir	Lífverur ekki meinvirkar
Mynstur sýklalyfjapöls	Lífverur ekki meinvirkar
Líffræðilegur stöðugleiki	Lífverur ekki meinvirkar
Ofnæmisvirkni	Lífverur ekki meinvirkar
Tiltæk læknismeðferð	Lífverur ekki meinvirkar

## Umhverfissjónarmið

Þættir sem hafa áhrif á lífslíkur, fjölgun og dreifingu erfðabreyttu lífveranna í umhverfinu

Bakteriurnar þurfa að hafa kolefnis og orkugjafa til að fjölga sér. Mynda ekki gró og drepast innan nokkurra daga við herbergishita. Geymdar í glyceroli við -120°C

Tiltæk tækni við að finna, greina og hafa eftirlit með erfðabreyttu lífverunni	Matis á Malditof tæki sem notað er til að bera kennsl á örverur á fljótlegan og einfaldan ódýran máta.
Tiltækar aðferðir við að hreinsa svæði ef erfðabreyttar lífverur berast út í umhverfið	Ræktir þurrkaðar upp, klútar dauðhreinsaðir, svæði sprittað (etanól, ísóprópanól)
Þekkt og fyrirsjáanleg búsvæði erfðabreyttu lífverunnar	Rannsóknarstofustofnar.
Lýsing á vistkerfum þar sem erfðabreyttum lífverum kynni að vera dreift fyrir slysi	Rannsóknarstofustofna gætu borist í afrennislagnir fyrir slysi. Þurfa sérhæft umhverfi og lífslíkur því litlar
Væntanlegur gangur í og afleiðingar víxlverkana milli erfðabreyttu lífveranna og lífvera sem kynnu að verða fyrir áhrifum ef erfðabreyttar lífverur berast fyrir slysi út í umhverfið	
Erfðaefnið brotnar niður þegar frumurnar drepast í síðla í stöðufasa. Litlar líkur eru á því að heilt erfðaefni berist í umhverfið og litlar líkar að það valdi skaða ef svo ber undir	
Þekkt og fyrirsjáanleg áhrif á dýr og plöntur svo sem meinvirkni, smitnæmi, eiturverkun, smithætta, ofnæmisvirkni og myndun kólónía	GRAS lífverur - meinvirkni ekki þekkt.

## Meðferð úrgangs

Tegund, magn og hugsanlegar hættur af úrgangi sem á rætur að rekja til notkunar lífvera	Frumuhrat sem inniheldur protein, fitur, sykrur, vatn. Allt dauðhreinsað.
Tæknilegt fyrirkomulag við meðferð úrgangs, þar með talin söfnun úrgangs í vökvaformi, og aðferðir til að gera hann óvirkan	Allur úrgangur sem fellur til við vinnslu baktería dauðhreinaður fyrir förgun
Endanlegt form og förgunarstaður útgangs sem gerður hefur verið óvirkur	Agarskálum og föstum úrgangi er hent í gám eftir dauðhreinsu (autoklaveringu). Vökvaræktir eru dauðhreinsaðar og helt í frárennsli

## Slysavarnir og viðbragðsáætlanir

Rót hættu og skilyrði sem kynnu að skapa hættu	Mest hætta er á að glervara brotni og starfsmenn skeri sig. Ræktir geta sullast niður á borð og gólf.
Forvarnaráðstafanir, t.d. varðandi öryggisbúnað, viðvörunarkerfi, einangrunaraðferðir og ráðstafanir ásamt tiltækum hjálparúrræðum	
Strangar reglur um vinnulag og öryggi á Rannsóknarstofum eru við lýði á Matis. Öryggisnefnd og aðgerðarplan er til staðar. Hlíðarfatnaður og sturtur.	
Þær upplýsingar sem starfsfólk fær í hendur	Allir starfsmenn rannsóknarstofu þurfa að kynna sér öryggisreglur og rannsóknarstofustjóri heldur námskeið þar að lútandi.
Nauðsynlegar upplýsingar sem veita þarf hlutaðeigandi yfirvöldum til þess að þau geti hannað og komið upp viðhlítandi öryggisáætlunum til nota fyrir utan rannsóknarstofuna/athafnasvæðið	Viðkomandi bakteríur eru í flokki 1. Ekki er verið að sækja um leyfi til afmarkaðrar notkunar erfðabreyttra lífvera, í flokki IV!

## Dagsetning

Dagsetning umsóknar	18.03.2019
---------------------	------------