

Sicherheitsunterweisung

Umgang mit Gentechnisch Veränderten Organismen (GVOs)

Botanisches Institut, Allgemeine Botanik

AG Lamparter

Beauftragter für Laborsicherheit

- Ernst Heene (für gesamte Botanik 1 = 4. und 5. Stock in 30.43)

Verantwortliche für Gentechnik

Genanlage KIT Uni-KA 06.01, Botanik I (Geb. 30.43, 4. und 5. Stockwerk),

- Projektleiter Prof. Peter Nick (5. Stock)
- Projektleiter Dr. Michael Riemann (5. Stock)
- Projektleiter Prof. Tilman Lamparter (4. Stock)

Genanlage KIT Uni-KA 06.03, Botanik I, Botanischer Garten (Geb. 50.10)

- Projektleiter Prof. Peter Nick
- Beauftragte für Biologische Sicherheit Dr. Ursula Meier-Dieter

Welche Räume sind für GVO zugelassen ?

- Gebäude 30.43, 4. Stock: Ostflügel, Flur, Laborräume
- Einige Büroräume sind nicht für S1 angemeldet, diese sind gekennzeichnet
- Im Westflügel sind keine Räume zugelassen

- 30.43 5. Stock: Ostflügel, Flur, Laborräume
- Gebäude 50.10 (Botanischer Garten):
- 024.1, 025.1, 025.2, 025.3, 26, 27, 112

Räume

- **Alle S1-Räume sind an der Tür gekennzeichnet, eine Betriebsanweisung hängt aus**
- **In anderen Räumen darf nicht mit GVOs gearbeitet werden**

**Gentechnik Arbeitsbereich
der Sicherheitsstufe 1**

- **Alle S1-Räume sind an der Tür gekennzeichnet, eine Betriebsanweisung hängt aus**
- **In anderen Räumen darf nicht mit GVOs gearbeitet werden**

**Kein gentechnischer
Bereich**

Räume

Betriebsanweisung S1

Botanische Institut, Abteilung Molekulare Zellbiologie und Allgemeine Botanik

Karlsruher Institut für Technologie

57-11/8817.40-020/KITUNI.KA.06.04



Gentechnische Arbeiten der Sicherheitsstufe 1 dürfen nur in Räumen durchgeführt werden, die als „Gentechnik-Arbeitsbereich der Sicherheitsstufe 1“ gekennzeichnet sind:

Gebäude 30.43: 4. OG, S1-Räume Nrn. 409 (Autoklavenraum), 411, 412, 414-419, und 432 (Flur) und 5. OG, S1-Räume Nr. 508.1, 508.2, 508.3, 509.0, 509.1, 509.2, 509.3, 510.1, 510.2, 511.0, 511.1, 511.2, 511.3, 512.1, 512.2, 512.3, 513.1, 513.2, 516.1, 516.2, 519, 520 und Flur Nr. 528.

Die Aufzeichnungen über die gentechnischen Arbeiten im 5. OG führen die Projektleiter Prof. Dr. Peter Nick und Dr. Michael Riemann 5. OG. Herr Prof. Dr. Tilman Lamparter führt diese für das 4. OG.

Gefahren für Mensch und Umwelt

In der gentechnischen Anlage wird mit rekombinanten Organismen der Risikogruppe 1 gearbeitet (*E. coli* K12, *Agrobacterium tumefaciens*, *Oryza sativa*, *Nicotiana sp.*, *Synechocystis PCC 6803*, *Phormidium lacuna* und weitere Cyanobakterien) gearbeitet. Nach dem Stand der Wissenschaft ist nicht von einem Risiko für die menschliche Gesundheit und die Umwelt auszugehen.

Sicherheitsmaßnahmen und Verhaltensregeln

Es dürfen nur qualifizierte und vom Projektleiter unterwiesene Personen gentechnische Arbeiten durchführen. Die Unterweisungen werden einmal jährlich mündlich und arbeitsplatzbezogen wiederholt. Inhalt und Zeitpunkt der Unterweisung werden schriftlich festgehalten und sind von den Unterwiesenen durch Unterschrift zu bestätigen.

- Türen während der Arbeiten geschlossen halten.
- Laborkittel tragen.
- Bei Bedarf Einmalhandschuhe, bei möglicher Gefährdung der Augen Schutzbrille tragen.
- Essen, Trinken, Rauchen, Schnupfen, Schminken und das Aufbewahren von Nahrungs- und Genussmitteln sowie von Kosmetika sind verboten.
- Kein Mundpipettieren. Pipettierhilfen benutzen.
- Aerosolbildung vermeiden.
- Spritzen und Kanülen nur wenn unbedingt nötig benutzen.
- Identität und Reinheit der benutzten Organismen regelmäßig überprüfen.
- Laborräume aufgeräumt und sauber halten.
- Nach Beendigung der Tätigkeit und vor Verlassen des Arbeitsbereiches Hände ggf. desinfizieren, sorgfältig waschen und rückfetten.

Transport und Entsorgung

Gentechnisch veränderte Organismen zwischen gentechnischen Anlagen nur in verschlossenen und gegen Bruch geschützten Behältern transportieren.
Feste und flüssige Abfälle, die mit gentechnisch veränderten Organismen kontaminiert sind, autoklavieren (Autoklaven R. 409 und 520).

Verhalten bei Zwischenfällen - Erste Hilfe

Verschütten: Größere Flüssigkeitsmengen mit Zellstoff aufnehmen und anschließend autoklavieren (R. 409, 520). Kontaminierte Oberflächen und Gegenstände desinfizieren (80% Ethanol).

Augen- oder Schleimhautkontakt: Ausgiebig und mit viel fließendem Wasser spülen.

Verletzungen: Im Rahmen der üblichen Erste-Hilfe-Maßnahmen versorgen. Ggf. Arzt aufsuchen. Jede Verletzung unverzüglich den Projektleitern melden.

Ersthelfer: Frau Sabine Purper (Tel.: 46885) und Frau Nadja Wunsch (Tel.: 44192)

Erste Hilfe Kasten: Fiure Nr. 432 und 528

Aushängende Brandschutzordnung und Räumungspläne beachten; immer wieder durchlesen, damit im Notfall keine unnötige Zeit verloren geht.

Wichtige Telefonnummern

NOTRUF: 3333 (in Notfällen, bei Bränden oder Verletzungen)

Projektleiter: Prof. Dr. Peter Nick (5. OG) Tel.: 42144, 42142
Dr. Michael Riemann (5. OG) Tel.: 42993
Prof. Dr. Tilman Lamparter (4. OG) Tel.: 45441

BBS: Dr. U. Meier-Dieter Tel.: 46058

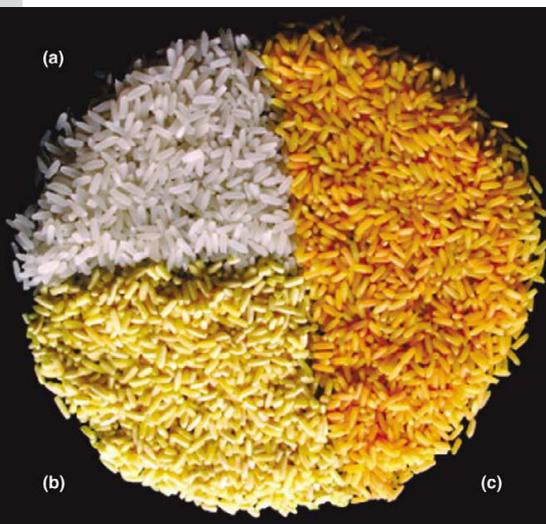
Ersthelfer: Frau Sabine Purper (Tel.: 46885) und Frau Nadja Wunsch (Tel.: 44192)

Stand: November 2016

- Alle S1-Räume sind an der Tür gekennzeichnet, eine Betriebsanweisung hängt aus
- In anderen Räumen darf nicht mit GVOs gearbeitet werden

Was sind GVOs ?

- Organismen, deren Erbanlagen mit gentechnischen Methoden verändert wurden und die nicht auf natürliche Weise oder durch traditionelle Züchtung entstehen können
- Zur Generierung eines GVO wird eine bekannte DNA Sequenz eingeschleust; so lange diese DNA im Wirtsorganismus vorhanden ist, ist dieser ein GVO



Goldener
Reis (*Golden
Rice*)

Transgene
Zebrafische



Beispiele für GVOs

- Transformierte *Escherichia coli* (Darmbakterium). Diese werden eingesetzt um
 - (i) DNA zu klonieren und in größerer Menge bereit zu stellen.
 - (ii) Proteine zu exprimieren

Im Labor verwendete *E. coli* Stämme gehen alle auf den Sicherheits-Stamm K12 zurück

- Transformierte *Phormidium lacuna*
- Transformierte *Synechocystis* PCC6803
- Transformierte *Agrobacterium tumefaciens*

Was kann / muss man tun?

- Keine GVO in die Umwelt entlassen !
- der Kontakt von transgenen Mikroorganismen (*Escherichia coli*, *Agrobacterium*, Hefe) zu anderen Mikroorganismen muss verhindert werden
- Pollen von transgenen Pflanzen darf nicht ins Freiland gelangen, der Kontakt von transgenem Pflanzenmaterial oder anhaftenden transgenen *Agrobacterien* mit der Bodenflora muss verhindert werden.

Was kann / muss man tun?

- Transgene Organismen nur in zugelassenen Räumen und Transport-Behältern.
- GVO nicht ins Abwasser. Vor dem Entsorgen autoklavieren oder anders desinfizieren
- Arbeitsflächen und Geräte desinfizieren!
- Schutzhandschuhe benutzen, Hände regelmäßig desinfizieren
- Schmuck an Händen und Fingern vermeiden

Was kann / muss man tun?

- In einem (S1) Labor darf man nicht essen, nicht trinken, nicht rauchen, nicht schminken.
- Türen und Fenster geschlossen halten.
- Mit Schutzkittel arbeiten. Geschlossene Schuhe tragen! (Keine Sandalen).
- Hautkontakt mit GVOs vermeiden, allgemeine Hauthygiene ist sehr wichtig.
- In einem (S1) Labor sind Sauberkeit und Ordnung absolut zentral.
- Alle Arbeiten, speziell Arbeiten mit GVOs, aufzeichnen

Weitere Punkte

- Arbeits- und Straßenkleidung getrennt aufbewahren
- Nach Beendigung der Arbeiten Hände waschen und rückfetten
- Gegebenenfalls bei der Arbeit Schutzbrille tragen (konzentrierte HCl, organische Lösungsmittel, flüssig Stickstoff)
- Spritzen und Kanülen vermeiden, große Vorsicht bei Glasbruch
- Aerosolbildung vermeiden
- Identität der Organismen regelmäßig überprüfen
- Bei „Unfällen“ umgehend Projektleiter informieren

Entsorgen, Autoklavieren

- **Im Labor:** alle GVOs und Gefäße, in denen sich GVOs befanden, müssen totautoklaviert werden, bevor sie in den Abfall gelangen. Alternativ: zuverlässige Desinfizierung. Autoklavier-Abfall kennzeichnen (markierte Autoklavierbeutel).
- **Ausnahmen** (gelten i.d.R. **nur für S1**): kontaminiertes Abwasser und Abfall kann unbehandelt entsorgt werden bei Verwendung biologischer Sicherheitsmaßnahmen (z.B. *E. coli* K12). Dusch- und Handwaschwasser sowie Abfälle, die nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit gentechnischen Arbeiten stehen, können ohne besondere Vorbehandlung entsorgt werden. (GenTSV § 13)
- **Im Gewächshaus:** alle transgenen Pflanzen und die Erde, in denen sie wuchsen, müssen nach Abernte totautoklaviert werden, bevor sie in den Kompost gebracht werden.

Autoklavieren

■ Vorteile:

- Zuverlässige Wirkung und hohe Sicherheit
- Hohes Durchdringungsvermögen
- Keine Gesundheitsbelastung für Beschäftigte
- Umweltfreundlich
- Keine chemische Belastung

■ Kontrolle:

- Die Temperatur von 121 °C **muss** für 20 min überschritten werden

Autoklavieren

Gefahren:

- Im Inneren hoher Druck und hohe Temperatur

Daher:

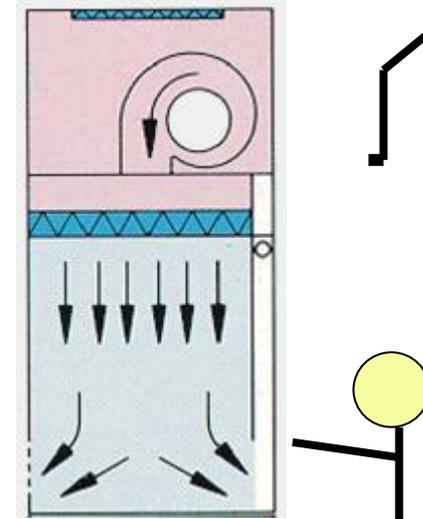
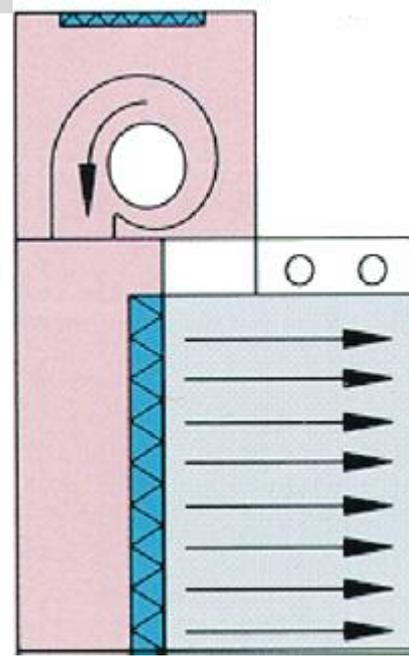
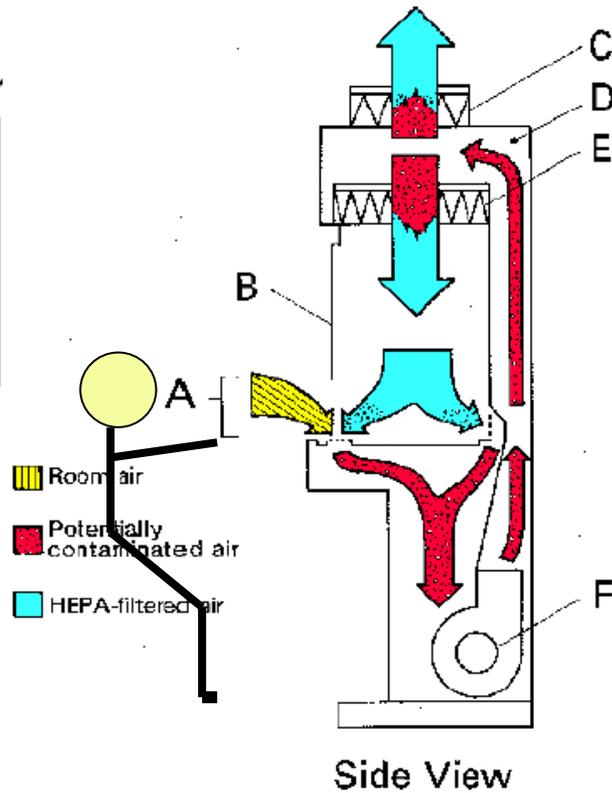
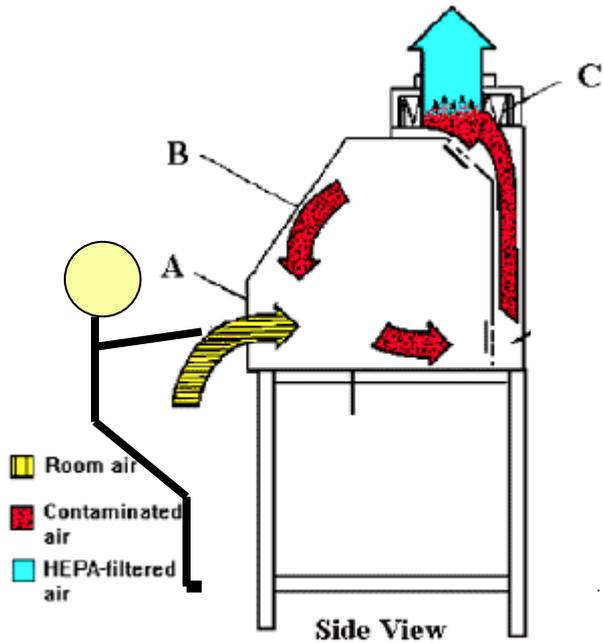
- Einweisung **obligatorisch**
- Mindestalter 18 Jahre (ab 16 Jahre unter Aufsicht)
- Autoklaviersäcke und –Behälter nicht vollständig verschließen
- Temperaturfühler in standfestem Referenzgefäß gefüllt mit mind. genau so viel Wasser wie größtes autoklaviertes Volumen
- Tür erst öffnen wenn Autoklav abgekühlt ist
- Schutzbrille und Hitzehandschuhe tragen
- Seitlich stehen bis Tür offen ist (wegen Dampf)
- Regelmäßige Wartung und Pflege

Mikrobiologische Sicherheitswerkbank



Abbildung ähnlich

Zirkulation bei Mikrobiologischen Sicherheitswerkbanken



Arbeiten an der „mikrobiologischen Sicherheitswerkbank“

- Arbeitsfläche soll weitestgehend frei sein
- Keine Gegenstände im Luftweg
- Arbeitsfläche und andere Bereiche der Sterilbank durch Besprühen mit 80% Ethanol desinfizieren und/oder Arbeitsfläche mit in 80% Ethanol vollständig (!) getränktem Tuch komplett abwischen (von hinten nach vorne)
- UV Licht für 30 min einschalten, ACHTUNG, Gefahr für Augen (Schutzbrille), in der Zeit nicht an der Sterilbank Arbeiten
- Belüftung einschalten Arbeit kann ca. 60 min nach Einschalten der Belüftung beginnen
- Während der Arbeit muss die Belüftung natürlich an bleiben
- Intensität des UV Licht ab und zu überprüfen

Vorsicht beim Umgang mit

Ethanol	Brennbar
Methanol	Giftig und brennbar, Abzug
Acrylamid	Giftig
Flüssiger Stickstoff	Schutzhandschuhe und Schutzbrille, Gefahr von „Verbrennungen“
Glasbruch	Schnittverletzungen
Kanülen	Schnittverletzungen
Rauchende HCl (30%, 10 M)	Ätzend, Kleidung