

11. juni

Aftale mellem Undervisningsministeriet og Arbejdstilsynet om retningslinjer for godkendte forsøg med genteknologi i henhold til Bekendtgørelse om genteknologi og arbejdsmiljø, bek. nr. 910 af 11. september 2008.

Aftalen vedrører undervisning i genteknologi i biologi, bioteknologi A, teknikfag og teknologi A i STX (det almene gymnasium), HTX og HF. Undervisningen skal varetages af en gymnasielærer, som har en biologisk uddannelsesbaggrund mindst svarende til de af VTU udstukne faglige mindstekrav i biologi. Når eksperimenter, som er omfattet af aftalen, gennemføres i forbindelse med enkeltfaglig eller tværfaglig undervisning, har gymnasielæreren ansvar for at forsøgene gennemføres efter de gældende retningslinjer.

Aftalen mellem Arbejdstilsynet og Undervisningsministeriet skal sikre elevernes og lærernes sikkerhed i omgang med gensplejsede organismer i laboratoriet og forhindre udslip af gensplejsede organismer til miljøet. I aftalen indgår følgende elementer:

1. Beskrivelse af procedurer
2. Sikkerhedsforanstaltninger
3. Aftale vedr. efteruddannelse af gymnasielærere
4. Indberetningsskema

1. Beskrivelse af procedurer

A. Transformation af bakterier.

For alle godkendte forsøg skal følgende retningslinjer overholdes:

- Der anvendes udelukkende E.coli K12 stammer.
- Nødvendige bakteriestammer indkøbes i forbindelse med forsøgsperioden fra godkendt laboratorium.
- Opformering sker gennem udstrykning på LB medium (selektivt, hvis det er påkrævet) i petriskåle.
- Colistammen uden plasmid kan også opformeres i 5-100 mL flydende LB medium.
- Bakteriekulturen gøres kompetent, dvs. modtageligt for plasmidoptagelse ved brug af calciumchlorid og/eller fysisk påvirkning (f.eks. varmepåvirkning).
- Plasmid, godkendt til transformation, tilsættes.
- De transformerede celler dyrkes på selektivt medium.
- Destruktion efter endt forsøg (se sikkerhedsbeskrivelsen om dette).

De fremstillede transformerede kloner kan eventuel analyseres som beskrevet i punkt C.

Alle de kits med transformation af E.coli, som godkendes i forbindelse med denne aftale, jfr Bilag 2, følger den ovenfor beskrevne procedure.

B. Transformation af gær.

For alle godkendte forsøg skal følgende retningslinjer overholdes:

- Der anvendes *Saccharomyces cerevisiae*.
- Nødvendige gærstammer indkøbes i forbindelse med forsøgsperioden fra et godkendt laboratorium.

- Opformering sker gennem udstrykning på YPD medium i petriskåle.
- Gærstammen uden plasmid opformerer i 5-100 mL flydende YPD medium.
- Stammen gøres kompetent, dvs. modtagelig for plasmidoptagelse ved brug af polyethylenglycol og/eller lithiumacetat og/eller fysisk påvirkning (f.eks. varmepåvirkning).
- Plasmid, godkendt til transformation, tilsættes.
- De transformerede celler dyrkes på selektivt medium.
- Destruktion efter endt forsøg (se sikkerhedsbeskrivelsen om dette).

De fremstillede transformerede kloner kan eventuel analyseres som beskrevet i punkt C.

C. Analyse af produkter fra transformerede E.coli K12 stammer

Analysen har til formål at påvise produkter (oftest enzymer) fra de transformerede organismer. Følgende procedurer følges:

- De transformerede organismer overføres til selektivt medium (flydende eller fast)
- Genproduktet påvises enten direkte eller efter oprensning
- Destruktion efter endt forsøg (se sikkerhedsbeskrivelsen om dette).

Kittet ”pGLO Secrets of the Rainforest”, jfr. Bilag 2, følger den ovenfor beskrevne procedure.

D. Oprensning af plasmider

For alle godkendte forsøg skal følgende retningslinjer overholdes:

- Der anvendes udelukkende E.coli K12 stammer.
- Nødvendige bakteriestammer indkøbes i forbindelse med forsøgsperioden fra et godkendt laboratorium.
- Stammen opformerer i eller på selektivt medium (flydende, max 200 mL, eller fast).
- Oprensning af råplasmidfraktionen fra øvrige cellekomponenter ved selektiv udfældning.
- Destruktion efter endt forsøg (se sikkerhedsbeskrivelsen om dette).

E. Overlevelsesforsøg af E.coli K12 i forskellige miljøer

For alle godkendte forsøg skal følgende retningslinjer overholdes:

- Nødvendige bakteriestammer inklusiv stammen med plasmid indkøbes i forbindelse med forsøgsperioden fra et godkendt laboratorium.
- Stammerne opformerer i eller på LB medium, (flydende, max. 200 mL, eller fast)
- Stammen sættes til sterilt havvand eller steril jord med eller uden frøspirer under kontrollerede miljøbetingelser i et begrænset tidsrum i laboratoriet (1-8 dage).
- Bakterier fra hhv. jord eller havvand dyrkes på LB medium.
- Overlevende E.coli bakterier dyrkes på selektivt medium.
- Destruktion efter endt forsøg (se sikkerhedsbeskrivelsen om dette).

De overlevende bakterier kan eventuel analyseres som beskrevet i punkt C.

F. Transformation af Arabidopsis thaliana

Procedure som beskrevet i Kit 1 i ”Tjek på Biotek” fra KVL

- Der anvendes kun planter udleveret af KVL.

- Til transformation anvendes *Agrobacterium tumefaciens* linie pGV 3850 C58C1 udleveret af KVL. Bakteriens plasmider indeholder bl.a. generne nptII (kanamycinresistens) og uidA (beta-glukoronidase = GUS genet).
- Læreren kvitterer hver gang for modtagelse af frø, planter, laboratoriekulturer og andre materialer til KVL.
- Frø fra transformerede planter skal udsås på selektive agarplader indeholdende kanamycin.
- Læreren fører protokol over hele tidsrummet, hvor der arbejdes med transformation af planterne.
- Læreren indsender efter endt forsøg kopi af protokollen til KVL, som opbevarer denne i 5 år.
- Destruktion efter endt forsøg (se sikkerhedsbeskrivelsen om dette).
- Rengøring af arbejdsområdet foretages som beskrevet i ”Tjek på Biotek”.

G. Påvisning af genprodukter i transformerede *Arabidopsis thaliana*

Forsøgene har til formål at påvise produkter i de transformerede planter.

Kit 1 i ”Tjek på Biotek”:

- Der anvendes transformerede *Arabidopsis* kimplanter indeholdende generne nptII (kanamycinresistens) og uidA (beta-glukoronidase = GUS genet) selekteret på kanamycinholdige agarplader.

Kit 2 i ”Tjek på Biotek”:

- Der anvendes dhurrinholdige planterosetter fra transgene *Arabidopsis thaliana*, der sammen med jordlopper udleveres fra KVL.
- De dhurrinholdige planterosetter må kun opbevares i 14 dage og skal destrueres sammen med jordlopperne efter retningslinjerne beskrevet i ”Tjek på Biotek”.
- Kun læreren må håndtere de dhurrinholdige planterosetter, og eleverne må kun få afskårne blade til at fodre jordlopperne med.
- Eventuelle anlæg til blomsterknopper skal straks fjernes.

Forudsætningen for at nye forsøg, der følger de ovenstående procedurer kan omfattes af aftalen er, at der foreligger danske vejledninger med tilhørende sikkerhedshenvisninger til forsøgene.

2. Retningslinjer for undervisning omfattende eksperimentelt arbejde med genteknologi i ikke-klassificerede laboratorier.

Sikkerhedsbeskrivelser - kemikalier

Alle kemikalier, som benyttes i forbindelse med de genteknologiske forsøg, er beskrevet i databasen Chemicare, der er oprettet til mærkning af kemikalier og fremstilling af arbejdspladsbrugsanvisninger i gymnasieskolen. Databasen opdateres løbende.

Hovedparten af de kemikalier, som benyttes af eleverne i genteknologiske forsøg, benyttes i meget lave koncentrationer (millimolær) og i meget små mængder (mikroliter). Der arbejdes med automatpipetter og engangsmateriale af plast. Mundpipettering er ikke tilladt.

Ved brug af X-mærkede kemikalier (også i små mængder) f.eks. ethidiumbromid (kræftfremkaldende) og congorødt (muligvis kræftfremkaldende), skal anvendes handsker. Stofferne afleveres separat og mærket til kommunekemi under affaldsgruppe Z.

Ved brug af eventuelt allergifremkaldende stoffer (organiske komponenter til vækstmedier - især Yeast Extract, ampicillin og kanamycin) bruges støvmaske under afvejning.

Sikkerhedsbeskrivelser – vektorer og værtsorganismer (mikroorganismer)

Vektorerne er genteknologisk modificerede plasmider af kendt oprindelse, og deres genom er beskrevet af forskningslaboratorier. Vektorerne godkendes af Arbejdstilsynet efter anmodning fra Undervisningsministeriet.

Som modtagerorganismer bruges rene stammer af E.coli K12 og Saccharomyces cerevisiae. Alle stammer er auxotrofe, dvs. mangler evnen til at kunne fremstille mindst ét livsvigtigt næringsstof. Stammernes genomer er beskrevet af forskningslaboratorier. Stammerne godkendes af Arbejdstilsynet efter anmodning fra Undervisningsministeriet. Genmodificerede bakterier eller gærstammer må ikke opbevares på skolen udenfor forsøgsperioden. Vektorer og værtsorganismer skal indkøbes hos de godkendte leverandører, som fremgår af indberetningsskemaet.

Sikkerhedsbeskrivelser – transgene planter

Modtagerorganismen er Arabidopsis thaliana, og vektoren indføres via Agrobacterium tumefaciens. Genomet er beskrevet i ”Tjek på Biotek”. Transgene planter må ikke bringes udenfor klasseværelset. Uden for undervisningstimerne opbevares de transgene planter i aflåst rum. Pollen spredes ikke, da Arabidopsis selvbestøver og bestøves i knopstadiet. De transgene planter placeres i plastikbakker, så spildte frø opsamles. Der foretages støvsugning af forsøgsarealet i forbindelse med frøspild og altid ved forsøgets afslutning. Efter forsøget autoklaveres alt materiale inkl. støvsugerpose.

I øvrigt gælder følgende sikkerhedsprocedurer til begrænsning af spredningsrisiko:

- Eleverne instrueres grundigt om både de generelle risikofaktorer ved GM planter og specifikt for GM Arabidopsis.
- Alle forsøgsbakker og beholdere mærkes med de medfølgende mærkater.
- Elevernes håndtering af forsøgs materialet foregår under konstant opsyn af den forsøgsansvarlige biologilærer.

Sikkerhedsbeskrivelser – destruktion og affaldshåndtering

På bordene ved arbejdspladserne skal der opstilles dels affaldsbeholder til brugt engangsmateriale og lignende fast affald dels affaldsbeholder til væsker, der kan indeholde mikroorganismer eller kemikalier. Affaldsbeholderne med indhold steriliseres efter endt arbejde.

Glas- og metalvarer, der genbruges, steriliseres i desinficerende bad eller i autoklave før opvask. Materialer indeholdende giftige kemikalier opsamles særskilt og sendes efter evt. sterilisering til kemikaliedestruktion ifølge regler om kemikalielovgivning.

Instruktion i generel hygiejne og god laboratoriepraksis

Kun elever, der er instruerede i mikrobiologiske arbejdsmetoder, må udføre eksperimenter med genteknologisk modificerede organismer i laboratoriet.

Instruktionen skal omfatte følgende:

Håndtering af kulturer i flydende næringsmedium.

Kulturer i flydende medium opbevares i lukkede men ikke lufttætte beholdere. Eleverne skal have lært mikrobiologiske arbejdsmetoder, herunder at pøde sterilt og tage prøver sterilt ud. Der må kun pipetteres ved brug af pipettehjælp eller automatpipetter.

Håndtering af kulturer på agarplader.

Eleverne skal være instrueret i podning med podenåle eller engangspodepinde, samt sikker brug af drigalskyspatler og flamberingsteknik. Desuden skal de være instrueret i, at sterile flader (f.eks. indersiden af lågene) ikke må berøres med fingrene.

Instruktion i generel hygiejne.

Der må hverken medbringes mad- eller drikkevarer eller ryges i laboratoriet for at undgå mikrobiel overførsel fra hænderne eller redskaber til munden. Slimhinderne må ikke berøres f.eks. ved at pudse næse. Elever med rifter på hænderne skal bære handsker.

Hænderne skal i øvrigt vaskes hyppigt og hver gang, man forlader laboratoriet for at undgå spredning af organismer.

Elevernes påklædning.

Eleverne skal bære kitler i laboratoriet, enten engangskitler eller bomuldskitler, der tåler kogevask.

Forlader man laboratoriet, skal kitlen tages af.

Laboratorieindretning, affaldsbehandling og sikker destruktion

Laboratorierne på gymnasierne svarer ikke til klassificerede laboratorier. De laboratorier, hvor de genteknologiske skoleeksperimenter gennemføres, skal opfylde en række krav, der gør arbejdet med genteknologisk modificerede organismer sikkert:

Laboratoriet skal være udstyret med håndvask, håndsæbe, desinfektionsmiddel samt papirservietter el. lign.

Eleverne skal vaske hænder hyppigt. Desinfektionsmiddel og papirservietter skal bruges til at rense arbejdsflader og til oprydning af eventuelt spild.

Bordene skal dækkes med papir, enten vandafvisende papir eller papir med høj sugsevne.

Bordene dækkes for at markere arbejdsområderne og for at opsamle spild fra f.eks. dryppende pipetter eller inficerede redskaber. Man skal derfor sørge for at formindske forurening fra bordpladen. Efter endt arbejde rulles papiret sammen og sendes til destruktion i lukkede plastiksække. Bordene afvaskes derefter med desinfektionsmiddel.

Opsamling af affald og engangsmateriale samt varmesterilisering af brugte redskaber.

På bordene ved arbejdspladserne skal der opstilles dels affaldsbeholder til brugt engangsmateriale og lignende fast affald dels affaldsbeholder til væsker, der kan indeholde mikroorganismer eller kemikalier. Affaldsbeholderne med indhold steriliseres efter endt arbejde.

Glas- og metalvarer, der genbruges, steriliseres i desinficerende bad eller i autoklave før opvask.

Materialer indeholdende giftige kemikalier opsamles særskilt og sendes efter evt. sterilisering til kemikaliedestruktion ifølge regler om kemikalielovgivning.

Sikker arbejdsgang og gode laboratoriearbejdsvaner

Eleverne skal gennem almindeligt laboratoriearbejde have lært gode arbejdsvaner. Her skal alligevel fremhæves arbejdsvaner, der er nødvendige for en sikker arbejdsgang i omgang med genteknologisk modificerede organismer:

- Eleverne må ikke løbe i laboratoriet. Arbejdet skal foregå i roligt tempo.

- Mad- og drikkevarer må ikke forefindes i laboratoriet.

- *Arbejdsredskaber skal være tæt ved arbejdspladsen.*
- *Kun absolut nødvendige redskaber og skrivemateriale må findes på arbejdspladsen.*
- *Alle kulturer skal være entydigt mærket.*
- *Døre og vinduer holdes lukket for at undgå gennemtræk.*
- *Spild og ulykker skal rapporteres til læreren med det samme.*
- *Overnats- og stamkulturer opbevares i aflåst rum.*
- *Brug af engangsmaterialer mindsker risikoen for spild og spredning af mikroorganismer.*
- *Brug af tykke glasvarer (f.eks. blue cap flasker) mindsker risiko for glasbrud.*
- *Eleverne skal være fortrolige med affaldssortering og behandling.*

3. Efteruddannelse

Den ansvarlige gymnasielærer skal - for at kunne udføre eksperimenter med genteknologisk modificerede organismer - have gennemgået et kompetencegivende kursus af 2 dages varighed. Kursets indhold:

Kurset omfatter arbejde med mikrobiologiske arbejdsmetoder, herunder sterilteknik og genteknologiske undersøgelsesmetoder, undervisning i god laboratoriepraksis samt affaldshåndtering. I kurset indgår gennemgang af de bestemmelser i bekendtgørelsen, som vedrører aftalen mellem UVM og AT og som omfatter arbejde i ikke-klassificerede laboratorier. Kun gymnasielærere med de ovenfor beskrevne kvalifikationer må være ansvarlige for arbejdet med de tilladte genmodificerede organismer (se indberetningsskemaet).

Det skal sikres, at fire forhold belyses:

1. Instruktion i generel hygiejne og steril arbejdsteknik.
2. Laboratorieforhold, affaldsbehandling og sikker destruktion
3. Sikker arbejdsgang og gode arbejdsvaner i laboratoriet
4. Regler for anmeldelse af forsøg med genmodificerede organismer.

4. Indberetningsskema