

# **HAVARIJNÝ PLÁN**

## **pre činnosť s GMO v zariadení zatriedenom do rizikovej triedy 1.**

### **A. Všeobecná časť.**

**Identifikačné údaje o zariadení a konkrétnom uzatvorenom priestore, v ktorom sa vykonávajú činnosti s použitím génových techník**

Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV

Registračné číslo

Vlárska 5, 833 34 Bratislava

Laboratórium pre elektrofyziológické experimenty, II. poschodie, miestnosť č. 118

Laboratórium spadá pod rizikovú triedu I a stupeň ochrany I

Havarijný plán vypracovala RNDr. Ľubica Lacinová, DrSc. 12. 4. 2004.

Schválené riaditeľom pracoviska Ing. Albertom Breierom, DrSc. 12. 4. 2004.

### **B. Pohotovostná časť**

#### **1. Plán vyrozumienia o havárii resp. nekontrolovanom úniku GMO z laboratória:**

Treba upovedomiť poverených pracovníkov v nasledovnom poradí:

RNDr. Ľubica Lacinová, DrSc., tel. 5477 2311 v mimopracovnom čase 0903 460447

Ing Albert Breier, DrSc., tel. 5477 5266 v mimopracovnom čase 0903 472605

Ing. Oľga Križanová, DrSc. tel. 5477 2211 v mimopracovnom čase 0904 830615

#### **2. Identifikačné údaje o vedúcom projekte**

Vedúca projektu: RNDr. Ľubica Lacinová, DrSc., registračné číslo 27/06/2003

Kontakt v pracovnom čase: klapka 335, resp. 320, resp. 5477 2311

Kontakt v mimopracovnom čase: 0903 460447

Zástupca zodpovedný za riadenie zásahu pri nekontrolovanom úniku GMO: Ing Albert Breier, DrSc.

Kontakt v pracovnom čase: klapka 327, resp. 5477 5266

Kontakt v mimopracovnom čase: 0903 472605

#### **3. Zloženie výboru pre bezpečnosť**

Výbor pre bezpečnosť:

Predseda výboru pre bezpečnosť: : Ľubica Lacinová, RNDr. DrSc., ÚMFG SAV

Zástupca predsedu výboru pre bezpečnosť: Oľga Križanová, doc. Ing. DrSc., ÚMFG SAV

Členovia výboru pre bezpečnosť:

Varečka Ľudovít, Doc. RNDr., DrSc., ChTF STU, telefón : 02 - 59325 514

Jozef Timko, doc.Ing.DrSc., ÚMB SAV, telefón: 02 - 5477 3702

Marta Kollárová, Prof.RNDr.DrSc., PrFUK, telefón: 02 - 60296452

#### **4. Osoby určené na odstraňovanie havárie.**

RNDr. Ľubica Lacinová, DrSc., tel. 5477 2311 v mimopracovnom čase 0903 460447

Ing Albert Breier, DrSc., tel. 5477 5266 v mimopracovnom čase 0903 472605

## **5. Opis vlastností a zoznam GMO, ktoré by v prípade havárie mohli uniknúť zo zariadenia:**

Eukaryotická bunková línia HEK 293 permanentne transfektovaná génom pre  $Ca_v3.1$  vápnikový kanál a génom pre rezistenciu voči antibiotiku G418. Gén pre myšací  $Ca_v3.1$  vápnikový kanál (T-typ) bol klonovaný z mozgu myši pomocou PCR techniky s využitím homológie s  $Ca_v3.1$  kanálom z potkana. Výsledný gén má prístupové číslo AJ012569 v EMBL databáze. Gén bol klonovaný do pcDNA3 vektora spolu s génom pre rezistenciu proti antibiotiku G418, použitom ako markerový gén. HEK 293 bunky boli transfektované elektroporáciou a pozitívne klony boli vyselektované kultivovaním v médiu obsahujúcom G418.

Eukaryotická bunková línia HEK 293 prechodne transfektovaná génom pre  $Ca_v1.2$  vápnikový kanál, génom pre  $\beta 2a$  a  $\alpha 2\delta-1$  podjednotky vápnikového kanála a génom pre rezistenciu voči antibiotiku G418.

Gén CaCB pre hladkosvalový splice-variant  $Ca_v1.2-b$  vápnikového kanála bol klonovaný z pľúc kráľika. Ním kódovaný proteín je prítomný v organizme cicavcov, kde má dôležitú fyziologickú funkciu, preto ani jeho prípadný prenos (pravdepodobnosť ktorého je ale zanedbateľná až nulová) na iné organizmy nepredstavuje riziko pre ľudské zdravie alebo životné prostredie.

Gén *nptII* kódujúci rezistenciu voči antibiotiku G418 by v prípade horizontálneho prenosu na patogénne mikroorganizmy mohol predstavovať zanedbateľné až malé riziko, avšak pravdepodobnosť takéhoto prenosu je zanedbateľná až nulová, takže gén nepredstavuje riziko pre ľudské zdravie alebo životné prostredie.

### **5.1 Charakteristika z hľadiska nebezpečnosti pre človeka a životné prostredie**

Gén pre  $Ca_v3.1$  vápnikový kanál alebo pre  $Ca_v1.2$  vápnikový kanál nie sú geneticky pozmenené a ich prítomnosť v excitabilných tkanivách je fyziologická. Gény preto nepredstavujú riziko pre životné prostredie ani pre ľudí. Spolu s  $Ca_v3.1$  génom je exprimovaný gén rezistencie pre antibiotikum G418, ktoré je analógom neomycínu. Neomycín sa používa aj v klinickej praxi. K prenosu génu rezistencie by mohlo prísť v prípade prežitia bunkovej kultúry v odpadovom systéme alebo pri náhodnej konzumácii buniek. Oba prípady môžeme vylúčiť. Odpadová voda z elektrofyziologických experimentov je odsávaná do špeciálnych nádob a autoklavovaná. Pri manipulácii so sklíčkami sa používajú pinzety. Bunková kultúra nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie ani pre ľudí. Prácu s ňou možno zaradiť **do rizikovej triedy 1.**

### **5.2. Údaje a množstve a druhu GMO, ktoré by mohli uniknúť**

V miestnosti č. 118 bude v elektrofyziologickom experimente jedno krycie sklíčko priemeru 13 mm s rastúcimi bunkami transfektovanými  $Ca_v1.2$  alebo  $Ca_v3.1$  kanálom. Na jednom sklíčku rastie max. 20-30 živých buniek.

**Vzhľadom na tieto vlastnosti ani jeden z potenciálnych únikov mimo bariéru nespĺňa definíciu ani príznaky havárie podľa Zákona č. 151/2002 Z. z. Pod pojmom „havária“ v bodoch 6, 7 a 9 budeme preto rozumieť nekontrolovaný únik GMO.**

## **6. Identifikácia a spôsob používania genetických technológií v zariadení, pri ktorých by mohlo dôjsť k havárii.**

V miestnosti nie sú používané genetické technológie

## **7. Údaj o začatí a predpokladanom ukončení používania genetických technológií v zariadení, pri ktorom by mohlo dôjsť k havárii.**

V miestnosti sú merané elektrické prúdy cez membrány GMO (bunky transfektované Ca<sub>v</sub>3.1 alebo Cav1.2 typom napät'ovo závislého vápnikového kanála), ale nie sú tu používané genetické technológie

## **8. Opis možných následkov havárie.**

Prípadný nekontrolovaný únik GMO predstavuje zanedbateľné riziko.

### **8.1. Účinky na zamestnancov, obyvateľstv a životné prostredie**

Prípadný nekontrolovaný únik GMO nemá žiadne negatívne účinky na zamestnancov, obyvateľstvo alebo životné prostredie. Únik do kanalizačnej siete nemá vplyv na životné prostredie, keďže kanalizácia je napojená na ČOV Fakultnej nemocnice Kramáre.

### **8.2. Odporúčané správanie sa zamestnancov v zariadení a obyvateľstva v okolí zariadenia v prípade havárie.**

Zamestnanci v miestnosti, v ktorej prišlo k nekontrolovaného úniku postupujú podľa bodu I. Operatívnej časti havarijného plánu. Pre ostatných zamestnancov nehrozí žiadne riziko. Pre okolité obyvateľstvo z úniku nevyplýva žiadne riziko.

## **9. Opis ochranných opatrení a bariér na zabránenie vzniku havárie, na odstránenie vzniknutej havárie, spôsob zachytávania a inaktívácie odpadových vôd.**

Pri práci v laboratóriu sú pracovníci povinní dodržiavať prevádzkový poriadok, ktorý je prílohou havarijného plánu. Všetky používané nádoby (kultivačné fľaše, Petriho misky a p.) a manipulačné pomôcky (pipety, špičky a p.) sú plastové, takže je vylúčené ich rozbitie. Odpadové vody sú odsávané do špeciálnych zberných nádob a pred vyliatím do kanalizácie inaktívované autoklávovaním. Kanalizácia je napojená na ČOV Fakultnej nemocnice Kramáre.

## **10. Opis odporúčaného spôsobu odstraňovania následkov havárie:**

Pracovníci budú postupovať podľa bodu I. Operatívnej časti havarijného plánu.

## **C. Operatívna časť.**

### **I. Opis opatrení na odstránenie vzniknutej havárie.**

**Možný únik:** rozliatie kultivačného média obsahujúceho transfektované bunky

#### **Inaktívne opatrenia:**

- Ak je to možné, odstrániť všetky prekážky z kontaminovanej oblasti.
- Pracovať v rukaviciach.
- Nedotýkať sa rozbitého skla alebo ostrých predmetov.
- Presvedčiť sa, či sa kontaminant nešíri cez uzavretú oblasť (kruh), ktorá sa vytvorila dezinfekčnou látkou. Dezinfikovať celú oblasť.
- Zakryť kontaminovaný materiál alebo povrch s papierovou hygienickou vreckovkou alebo filtračným papierom, ktorý bol namočený v 70% alkohole.
- Po 10 minútach vreckovku alebo filtračný papier odstrániť a umiestniť medzi biologický odpad.
- Opäť zakryť kontaminovaný materiál alebo povrch papierovou hygienickou vreckovkou alebo filtračným papierom, aby nasali tekutinu.

- Opakovať tento postup pokiaľ nie je tekutina dokonale absorbovaná.
- Vyčistiť postihnutú oblasť opäť s 70% alkoholom.
- Vyčistiť všetok materiál, nástroje a povrch najprv vodou a mydlom, a potom dezinfekčným roztokom (70% alkohol). Nástroje môžu byť aj sterilizované autoklávaním.
- Všetko kontaminované oblečenie dezinfikovať alebo autoklávať.
- Kontaminovanú pokožku umyť dezinfekčným mydlom.

### **Preventívne opatrenia:**

Všetci pracovníci pracoviska absolvujú pravidelné poučenie o bezpečnosti pri práci s GMO.

### **II. Uplatňovanie zodpovednosti za vzniknuté škody a zabezpečenie ich náhrady.**

Používateľ preberá zodpovednosť za zavinené škody na ľudskom zdraví, majetku a životnom prostredí.

### **III. Prílohy.**

1. Prevádzkový poriadok zariadenia.

## D. Grafická dokumentácia.

### 1. Situačný plán zariadenia.

Laboratórium bunkových kultúr je na druhom poschodí (vyšrafovaná miestnosť)

#### II. POSCHODIE

