

//

Praha dne 6. září 2024
Č. j.: MZP/2024/750/3315
Sp. zn.: ZN/MZP/2024/750/165

ROZHODNUTÍ

Ministerstvo životního prostředí jako správní úřad příslušný podle § 5 zákona č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů, (dále jen „zákon“) a § 10 zákona č. 500/2004 Sb., správní řád, ve znění pozdějších předpisů,

rozhodlo

podle § 5 odst. 9 zákona ve věci žádosti Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i., se sídlem Flemingovo náměstí 542/2, 160 00 Praha 6, IČ: 61388963, týkající se uzavřeného nakládání ve třetí kategorii rizika s geneticky modifikovanými kmeny viru HIV a geneticky modifikovanými buněčnými liniemi 293T/17, 293AAV a HepG2-NTCP na pracovišti Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i., takto:

Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.,

se sídlem Flemingovo náměstí 542/2, 160 00 Praha 6

se uděluje povolení

k uzavřenému nakládání s geneticky modifikovanými organismy

ve III. kategorii rizika

Náležitosti povolení podle § 18 odst. 6 zákona:

Oprávněná osoba

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i., Flemingovo náměstí 542/2, 160 00 Praha 6, IČ: 61388963

Specifikace geneticky modifikovaného organismu

- GM buněčná linie 293AAV produkující virové partikule adeno-asociovaného viru (AAV), které ve svém genomu budou obsahovat genetickou informaci kódující násobek genomu viru hepatitidy B (HBV). Transdukci buněčné linie HepG2-NTCP dojde k produktivní infekci HBV.
- GM buněčná linie 293T produkující virové partikule HIV, které mají stejné mutace, které byly zjištěny při *in vitro* selekci pro získání rezistence k příslušné látce. Vzniklý HIV může mít mutace v jakémkoliv genu gag, pol nebo env.

Specifikace genetické modifikace

- GM buněčná linie 293AAV bude vznikat trojitou transfekcí plasmidů, lipofekcí, kalcium fosfátovou transfekcí, elektroporací nebo transfekcí s využitím polyethyleniminu (PEI). V případě buněčné linie HepG2-NTCP bude s využitím AAV virových partikulí do buněk transdukován genom HBV.
- GM buněčná linie 293T bude vznikat transfekcí plasmidu pNL4-3. Vytipované mutace HIV viru se zavádí do tohoto plasmidu buď ligací části HIV viru, kde se mutace nacházejí nebo pomocí cílené mutagenese.

Dárcovské organismy

- Geny pHelper, Rep a Cap geny pochází z adenoviru (Adenoviridae) (pHelper) a adeno-asociovaného viru (Parvoviridae) (Rep a Cap). Zmíněné geny jsou součástí komerčně dostupného expresního systému AAV-DJ Helper Free Expression System (Cell Biolabs), který obsahuje již připravené plasmidy. Adenoviry (Adenoviridae) jsou rozsáhlou skupinou virů, které nejčastěji způsobují onemocnění respiračního traktu člověka, případně jsou spojovány i s respiračním či jaterním onemocněním zvířat. Virus hepatitidy B (Hepadnaviridae, Orthohepadnavirus) je původcem onemocnění člověka hepatitidy typu B. Násobek HBV genomu byl získán z komerčně dostupného (Cat. No. 51294, Addgene) nebo darovaného plasmidu.
- Virus lidské imunodeficiency (Human Immunodeficiency Virus, HIV) je RNA virus z čeledi Retroviridae. Jedná se o laboratorní kmeny viru a laboratorní kmeny po *in vitro* selekci pro získání HIV rezistentního viru ke zkoumaným inhibitorům. HIV má škodlivé účinky na zdraví lidí. Sekvence použité při genetických modifikacích udílí vzniklému GMO HIV srovnatelnou nakažlivost, infekčnost a virulenci jako u klinických a laboratorních kmenů. Vzniklý HIV může být rezistentní vůči jednomu i více antiretrovirálním lékům. HIV je lidským patogenem, obsahuje dvě kopie genomové RNA, což má za následek častý výskyt rekombinace.

Příjemce

- Příjemci jsou komerčně dostupné buněčné linie 293AAV a HepG2-NTCP. Primární buněčná linie HEK293 byla immortalizována s využitím virové DNA z lidského adenoviru 5, jehož část (1-4344 nt) byla integrována do chromozomu 19. Cílenou selekcí parentální linie HEK293 byla odvozena linie 293AAV, která má ideální vlastnosti potřebné pro produkci AAV virových vektorů (větší buněčná plocha zajišťující účinnější transfekci a produkci AAV, či zvýšená schopnost adheze). Parentální buněčná linie HepG2 byla odvozena z jaterní tkáně pacienta s rozvinutým hepatocelulárním karcinomem. Za účelem studia viru hepatitidy B, který pro vstup do buněk využívá NTCP (Na⁺-taurocholátový ko-transportní polypeptid) byla parentální buněčná linie HepG2 stabilně transfekována plazmidem nesoucím gen pro jeho tvorbu, jelikož se u ní přirozeně nevyskytuje.
- Příjemci jsou komerčně dostupné buněčné linie 293T/17, což jsou epiteliální buňky lidské embryonální ledvinové tkáně, do kterých byl vnesen gen pro velký T antigen opičího viru SV40 a klon 17 byl vybrán pro svoji vysokou transfektabilitu. Originální 293 byly připraveny transfekcí normálních lidských embryonálních ledvinových buněk nastříhanou DNA adenoviru 5.

Údaje o insertu

- Geny obsažené v pHelper, Rep a Cap geny jsou nezbytné pro správnou produkci partikulí virového vektoru. GFP a 1,2násobek genomu HBV jsou vnášeny za účelem vytvoření virových vektorů s jejich obsahem (plasmidy) či jejich transdukce do cílových buněk (AAV). V případě transdukce buněčných linií s využitím virových vektorů jsou dané inzerty (1,2násobek genomu HBV) vnášeny za účelem exprese GFP a virových proteinů.
- Matrixový protein se účastní skládání virionu, kapsidový protein tvoří jádro virionu, proteasa štěpí polyproteiny Gag a Gag-Pol na funkční proteiny, reversní transkriptasa přepisuje RNA do DNA a integrasa katalyzuje integraci provirové DNA do hostitelského genomu.

Výsledky hodnocení rizika

- GM buněčná linie 293AAV
Transfekcí plasmidů do buněčné linie 293AAV dojde k vytvoření geneticky modifikované buněčné linie produkující AAV virové vektory, které v rámci svého genomu ponesou informaci kódující 1,2násobek genomu HBV. Všeobecně jsou AAV virové vektory replikačně defektní, tedy neobsahují geny potřebné k replikaci/produkci nových virových částic. Pouze v případě trojitě koinfekce s jiným adeno-asociovaným virem a pomocným virem (např. adenovirus, bakulovirus) by mohlo dojít k produktivní infekci a tvorbě virových částic. Pravděpodobnost, že tento stav nastane, je velice nízká. V případě rizikové expozice AAV VV může dojít k transdukci buněk necílového příjemce, tudíž v případě AAV VV nesoucích 1,2násobek genomu HBV může perzistence daného inzertu v hostitelských buňkách vést k rozvoji chronické hepatitidy B. Vzhledem k možným

způsobům přenosu HBV a jeho úzké tkáňové specifitě je za daných podmínek toto riziko spojeno primárně s traumatickým přenosem (řezná rána, poranění injekční jehlou).

Geny E2A, E4 a VA RNA, které jsou součástí plasmidu pHelper, pochází z adenoviru (Adenoviridae). Geny Rep a Cap jsou původem z adeno-asociovaného viru (Parvoviridae). Zmíněné geny jsou součástí komerčně dostupného expresního systému AAV-DJ Helper Free Expression System (Cell Biolabs), který obsahuje již připravené plasmidy. K manipulaci s hostitelskými organismy tudíž nedochází.

Adenoviry (Adenoviridae) jsou rozsáhlou skupinou virů, které nejčastěji způsobují onemocnění respiračního traktu člověka, případně jsou spojovány i s respiračním či jatrným onemocněním zvířat. Vzhledem k tomu, že v tomto případě je využíváno pouze několik adenovirových genů, riziko vzniku funkčních virových částic, a tudíž i potenciální infekce, je vysoce nepravděpodobné. Infekce adenoasociovanými viry není v současné době spojována s žádným onemocněním, jsou tedy považovány za nepatogenní.

Kotransfekcí 1,2násobku genomu HBV (Hepadnaviridae, Orthohepadnavirus) společně s výše zmíněnými vektorovými plasmidy dojde k produkci AAV VV, které budou ve svém genomu obsahovat právě násobek genomu HBV. Tyto částice představují zvýšené riziko infekce a rozvoji akutní či chronické hepatitidy typu B.

- GM buněčná linie HepG2-NTCP

Za účelem ověření úspěšné produkce AAV budou purifikované částice použity k transdukcí buněčné linie HepG2-NTCP. Výsledkem bude geneticky modifikovaná buněčná linie, ve kterých bude docházet k expresi genomu HBV. Vzhledem k tomu, že dojde k produktivní infekci a produkci virových částic, jsou zde rizika přenosu obdobná jako u linie 293AAV.

Za účelem studia viru hepatitidy B, který pro vstup do buněk využívá NTCP (Na⁺-taurocholátový ko-transportní polypeptid) byla parentální buněčná linie HepG2 stabilně transfekována plazmidem nesoucím gen pro jeho tvorbu, jelikož se u ní přirozeně nevyskytuje. NTCP se přirozeně vyskytuje na povrchu hepatocytů, tudíž z hlediska GMO nepředstavuje zvýšené riziko. Transdukcí 1,2násobku genomu viru HBV dojde k produktivní infekci v cílové buněčné linii HepG2-NTCP, tedy produkci infekčních virových partikulí HBV. Je zde tedy zvýšené riziko potenciální infekce a rozvoje akutní či chronické hepatitidy typu B.

- GM virus HIV

Příjemcem, do něž se genetickou modifikací na úrovni provirové DNA vnáší jiný dědičný materiál, je laboratorní kmen lidského retroviru HIV. Po vnesení dědičného materiálu pocházejícího z klinických izolátů HIV nebo z arteficiálních sekvencí spojených s některými resistencemi k inhibitorům retrovirové replikace bude u GM HIV s vysokou pravděpodobností zachován základní rizikový faktor, infektivita. Škodlivé účinky na zdraví lidí v uzavřeném nakládání mohou tedy obecně nastat po infekci laboratorních pracovníků GM virem HIV produkovaným eukaryotními buňkami a akumulovaným v médiu buněčné

kultury; pod projevy infekce spadají viremie, serokonverze a rozvoj vysoce závažného onemocnění AIDS.

V odborné literatuře se uvádí jako nejčastější cesta infekce (80%) zranění injekční jehlou. Jiné relevantní expozice krvi, tělním tekutinám a zřejmě i médiím tkáňových kultur zahrnují další zranění, otevřená poranění a kontaminace kůže a sliznic. Riziko expozice představují i potřísněné laboratorní plasty, pomůcky, přístroje a podobně. Podíl infekcí pocházejících z expozic je odbornou literaturou uveden jako 0,3 % (tři případy z tisíce), ale jeho stanovení je problematické. Rovněž problematické je stanovení rizika serokonverze v závislosti na koncentraci a kmeni HIV.

Omezení možností profylaxe nebo léčby při infekci rekombinantním HIV se nejvíce jeví jako vyšší ve srovnání s infekcí pocházející z krve nebo tělních tekutin léčených pacientů, kde je také pravděpodobná přítomnost složek HIV rezistentních k inhibitorům/lékům (a podobně i neléčených pacientů infikovaných přímo rezistentními variantami viru).

Z hodnocení shora a dalšího (podle §5, odst. 4 vyhlášky) vyplývá, že pravděpodobnost infekce rekombinantním HIV je při předmětném nakládání nízká, ale že možný škodlivý účinek, rozvoj onemocnění AIDS, je vysoce závažný, protože léčba AIDS vede zpravidla jen k potlačení nemoci, a ne k úplnému vyléčení. K nízké pravděpodobnosti infekce přispívá i převážný způsob nakládání, směřující hlavně k charakterizaci genomu rekombinantního HIV a jeho jednotlivých proteinových složek, což jsou činnosti molekulárního klonování a proteinové biochemie, v jejichž prvních krocích je infekční virus rozložen a inaktivován.

- Buněčná linie 293T/17

Příjemce, buněčná linie 293T/17 je odvozena od linie 293T (293tsA1609neo). Obecně se rizika linií zvířecích a lidských buněk týkají jak jejich inheretních vlastností, tak jejich možné kontaminace patogeny.

Dárcovským organismem jsou klinické izoláty lidského retroviru HIV, použité buď fyzicky ve formě fragmentů z reverzních transkriptů retrovirové genomové RNA anebo jen jako sekvenční vodič pro konstrukty s vnesenými příslušnými bodovými mutacemi nebo jejich krátkými souvislými úseky. Dědičný materiál rekombinantního HIV bude do buněk linie 293T/17 vnášen transfekcí plasmidu. Rekombinantní HIV zakládá možnosti škodlivých účinků na zdraví laboratorních pracovníků v důsledku expozice k němu a následující infekce, jejímiž důsledky jsou popsány výše.

Plánované uzavřené nakládání zahrne pouze zajištění exprese a akumulace GM HIV v kultivačním médiu buněk linie 293T, transfekovaných rekombinantní provirovou DNA, a zpracování těchto supernatantů, zejména s cílem charakterizovat genom a jednotlivé proteinové složky exprimovaného rekombinantního HIV a popřípadě stanovit titry pasážovaného rekombinantního HIV. Uzavřené nakládání nepředpokládá žádné nestandardní činnosti a takovéto činnosti Provozní řád neumožňuje.

Výsledkem hodnocení rizika u všech výše zmíněných GMO je zařazení do kategorie rizika III.

Podmínky nakládání

Nakládat s výše uvedenými geneticky modifikovanými organismy lze jen způsobem popsáním v žádosti č.j. MZP/2024/750/2013 doručené na MŽP dne 29. května 2024, při dodržování všech uvedených podmínek, zejména:

- Na pracovišti bude nakládáno s virem lidské imunodeficiency (HIV) a virem hepatitidy B. Vzhledem k výzkumnému charakteru práce budou kultivována laboratorní množství GMO, tj. maximálně 200 ml/den;
- vstup do prostor úrovně technického zabezpečení 3 (v praxi označované BSL3, dále jen „BSL3“) je umožněn pouze pro povolané zaměstnance, kteří splnili všechny náležitosti a byli řádně proškoleni;
- práce s infekčním materiálem probíhá v biohazardových boxech, které mají odtah přes HEPA filtr mimo laboratoř. Všechny prostory v BSL3 laboratoři lze desinfikovat párami peroxidu vodíku nebo oxidem chloričitým;
- práce probíhá pouze s ventilátorem zapnutým v pracovním režimu, posuvným oknem v pracovní pozici, a pouze nesvítí-li žádný alarm. Nutno se ujistit, že nesvítí alarmová hláška ADJ-0.0% (uzavřené odtahové klapky). Přípustná hodnota je mezi 99%-100%;
- všechny materiál vkládaný do biohazard boxu musí být dezinfikován 70% izopropylalkoholem. Do boxu může být vložen pouze materiál nezbytně nutný pro danou práci;
- při práci je nutné dodržovat řádné aseptické postupy;
- žádný známý nebezpečný materiál nesmí být vložen do červeného odpadového koše mimo biohazard box. Tyto odpadové koše jsou pro pevný odpad, který nebyl uvnitř biohazard boxu a pro větší předměty (kultivační láhve, 50mL zkumavky), které byly předtím desinfikovány přípravkem SAVO;
- po skončení práce je nutné nechat v boxu puštěný ventilátor na 2 až 3 minuty, aby se odstranily kontaminanty z pracovní plochy;
- po skončení práce otřít vnitřek pracovní plochy 70% isopropylalkoholem nebo jiným dekontaminačním přípravkem dle návodu výrobce a nechte oschnout;
- vstupní dveře do BSL3 prostoru jsou označeny nápisem Biologické nebezpečí;
- laboratoř je uzavřena a vstup je pouze na naprogramované karty. U dveří všech propustí je indikace monitorující, zda je možno vejít dovnitř (zelená dovoluje vstup, červená zakazuje vstup). U dveří vstupní propusti je jednak signální světlo ukazující stav vzduchotechniky (zelená = vzduchotechnika v provozu, červená = vzduchotechnika mimo provoz), tlakoměr magnehelic ukazující okamžitou hodnotu rozdílu tlaku mezi vstupní propustí a okolím. Stejný tlakoměr magnehelic je umístěn také ve vstupní propusti, kde monitoruje rozdíl tlaků mezi BSL3 chodbou a okolím. Je nastaven zvukový alarm při současném otevření dvou dveří;

- všichni zaměstnanci v BSL3 laboratoři jsou povinni nosit sanitární obuv s pevnou špičkou s jednorázovým návlekem, celkový overal, dvojité rukavice (spodní klasické rukavice a vrchní prodloužené zpevněné rukavice) a náhlavní díl s mobilním ventilátorem vybaveným HEPA filtrem. Všechny osobní ochranné pracovní prostředky (OOPP) jsou kontrolovány před, v průběhu a po skončení práce. V případě poškození nebo kontaminace návleků, overalu, rukavic jsou okamžitě vyhozeny do odpadu, v případě kontaminace filtroventilační jednotky je tato desinfikována příslušným činidlem (SAVO, 70% isopropylalkohol, Sterillium Virugard). Po skončení práce jsou vícerázové prostředky dekontaminovány příslušným činidlem a jednorázové prostředky jsou vhozeny do biohazard pytlů a odstraňovány v prokládacím autoklávu. Toto pracovní oblečení nesmí opustit prostor, pro který je vyhrazeno;
- v každé laboratoři jsou desinfekční prostředky isopropylalkohol, Sterillium Virugard a SAVO pro dekontaminace;
- ve výstupní propusti je sprcha pro celkovou očistu. Laboratoře jsou vybaveny snadno čistitelnými povrchy. Veškeré odpady jsou autoklávovány. Laboratoř má vlastní vybavení, které se nepřesouvá mimo tento prostor;
- mytí nádobí a pomůcek pro opakované použití probíhá ve výlevkách v laboratořích C1.07 a C1.08;
- prokládací sterilizátor je umístěn v prostoru BSL3. Omezení výskytu nežádoucího hmyzu a hlodavců je realizováno jednak dobrým těsněním všech dveří a oken a jednak pravidelnou dezinfekcí a deratizací v celé budově. Ve vstupní propusti je instalován lapač hmyzu Flytrap firmy P+L Systems Ltd;
- všichni zaměstnanci musí být seznámeni s provozním řádem;
- každý zaměstnanec odpovídá za dodržování bezpečnostních směrnic při vlastní práci;
- zaměstnanec má za povinnost hlásit vedoucímu jakoukoliv záležitost, která se mu jeví nebezpečnou;
- zaměstnanci odcházejí z BSL3 laboratoří skrze dvě výstupní propusti. V první propusti zaměstnanci odstraňují svrchní pár rukavic a dekontaminují filtračně ventilační jednotku a vícerázové OOPP příslušným dekontaminačním činidlem dle charakteru práce. Při viditelné kontaminaci (protržení, natržení či jinému poškození) jsou OOPP odstraněny do odpadu a sterilizovány. Vyžaduje-li to charakter práce, zaměstnanec se osprchuje. Po práci v laboratoři je nutné si vždy omýt ruce teplou vodou a mýdlem. Vrchní ochranné pomůcky (sanitární obuv, rukavice, overal, náhlavní díl) nikdy neopouštějí prostor a jsou dekontaminovány v autoklávu. Spodní laboratorní oděv je prán jedenkrát za týden specializovanou firmou;
- postup sanitace prostorů a zařízení a postup dekontaminace nástrojů při ukončení pracovní činnosti se řídí podle charakteru činnosti a určuje je vedoucí týmu;
- v BSL3 laboratoři se nesmí jíst, pít, kouřit, žvýkat, aplikovat kontaktní čočky, nanášet make-up a používat mobilní telefony. Zaměstnanci nesmí nosit do BSL3 prostoru

osobní věci (např. hodinky, peněženky, a šperky, které by mohli poškodit rukavice nebo jiné ochranné pomůcky). Do BSL3 laboratoře je možno chodit v dioptrických brýlích, které se však musí bez problémů vejít pod náhlavní díl respirátoru;

- veškerý pevný odpad odcházející z BSL3 musí být autoklávován. Do autoklávu se nesmí vkládat hořlaviny a látky uvolňující chlór;
- týdně se provádí úklid všech prostor BSL3 laboratoře na vlhko pomocí mopy s příslušným dezinfekčním činidlem podle výrobcem doporučených koncentrací a úklid pracovních stolů, povrchů nábytku a přístrojů;
- kontroly prostoru, zařízení a ochranných opatření se provádějí podle typu vybavení a řídí se dle provozního řádu jednotlivého zařízení. Za kontroly technického zařízení je zodpovědný vedoucí údržby, o každé kontrole je veden zápis;
- kontrolu funkčnosti biohazard boxů provádí jednou ročně firma, která je dodala a odpovědný za provedení této kontroly je vedoucí BSL3 laboratoře;
- kontroly výskytu GMO bude provádět laborantka nebo osoba určená vedoucím BSL3 laboratoře 4x ročně a vždy v případě nehody. Zápis o průběhu jakékoli kontroly a její výsledek je zaznamenán do provozního deníku BSL3 laboratoře;
- pracovníci údržby jsou povinni při údržbářských pracích v prostorách pro práci s GMO dodržovat pravidla provozního řádu a používat ochranné oděvy pro práci v GMO laboratoři. Jsou povinni dbát pokynů vedoucího BSL3 laboratoře nebo jím pověřeného pracovníka, v jejichž prostorách údržbu provádějí. Musí být vždy doprovázeny pracovníkem proškoleným pro práci s GMO;
- v BSL3 je sada základních nářadí, která je zde trvale umístěna. Ostatní nářadí, které je nezbytné k opravě a nemůže zde zůstat, je před opuštěním BSL3 laboratoře desinfikováno buď v prokládací komoře peroxidem vodíku, nebo jiným vhodným desinfekčním prostředkem. Veškerý materiál, odpady, součástky použité při servisu jsou dekontaminovány buď v prokládacím autoklávu, nebo materiálové komoře peroxidem vodíku. V případě, že se jedná o předmět, který se nevejde do autoklávu nebo materiálové komory, nebo z bezpečnostních důvodů nemůže být autoklávován, se provede jeho dekontaminace v BSL3 chodbě fumigací peroxidem vodíku nebo oxidem chloričitým;
- odpady pevného charakteru z BSL3 laboratoře včetně HEPA filtrů jsou autoklávovány a po zatavení do polyetylenových pytlů odstraňovány jako odpad kat. č. 18 01 03 (Odpady, na jejichž sběr a odstraňování jsou kladeny zvláštní požadavky s ohledem na prevenci infekce), dle zákona o odpadech č.541/2020 Sb., prováděcí vyhlášky MŽP ČR č. 273/2021 Sb. a prováděcí vyhlášky č. 8/2021 Sb., specializovanou firmou Recovera Využití zdrojů a.s.
- odpadní vody z BSL3 laboratoře jsou odstraňovány zařízením dekontaminační stanice DS3, které pracuje na principu chemické dekontaminace. Tekuté odpady a media, která průkazně obsahují infekční materiál, jsou před sterilizací inaktivovány

dezinfekčními činidly (SAVO nebo isopropylalkohol). Při používaných metodách nakládání s GMO žádné nebezpečné plynné zplodiny nevznikají;

- do prostor labortoře je zakázáno přinášet jehly a skalpely. Skleněné předměty musí být nahrazeny plastickými kdykoliv je to možné;
- ke každé kontrole technického zařízení BSL3 je veden zápis, který je uchováván u vedoucího údržby. Evidence kontrol výskytu GMO, oprav vnitřního vybavení BSL3, validací biohazard boxů, prováděných sanitací a dalších záležitostí týkajících se chodu BSL3 jsou vedeny v provozním deníku. Ke každému nákladnému investičnímu přístroji patří záznamník, do kterého se zapisuje využití přístroje, prováděná sanitace a kontroly zabezpečovacích prvků;
- zamýšlená přeprava GMO bude probíhat výhradně mezi laboratořemi ÚOCHB AV ČR, v.v.i., Flemingovo náměstí 542/2, Praha 6, 160 00 a BIOCEVu, Českého centra pro fenogenomiku, Průmyslová 595, 252 50, Vestec, které mají povolení k uzavřenému nakládání ve třetí kategorii rizika. Při přepravě povolených GMO bude vozidlo využito k jednorázovému transportu právě jen těchto GMO;
- přeprava bude realizována podle platných právních norem pro transport GMO materiálu, tj. zákona 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů, a také v souladu se zákonem č. 281/2002 Sb., o některých opatřeních souvisejících se zákazem bakteriologických (biologických) a toxinových zbraní a o změně živnostenského zákona;
- přeprava geneticky modifikovaného organismu bude uskutečněna řidičem ÚOCHB AV ČR, v.v.i., který je držitel platného „ADR osvědčení o školení řidiče“. Řidič bude také proškolen k postupům a zásadám pro uzavřené nakládání s GMO kategorie III. Vzorak GMO (tj. 293AAV, příp. HepG2-NTCP) bude umístěn do primárního kontejneru (např. mikrozkmavka, kryozkmavka, apod.) a bude pevně zajištěna pro zabránění úniku materiálu. Primární kontejner bude položen do sekundárního nepropustného kontejneru pro zabránění úniku materiálu v případě porušení primárního kontejneru během transportu. Sekundární kontejner bude očištěn desinfekčním přípravkem a položen do materiálové propusti. Sekundární kontejner bude vyjmut z materiálové propusti a okamžitě vložen do transportního boxu způsobilého pro přepravu GMO materiálu. Transportní box bude předán řidiči. K přepravě budou využita vozidla ÚOCHB AV ČR náležitě technicky vybavena pro převoz GMO, s oddělenými prostory pro přepravu osob a nákladu, vybavena Havarijním plánem. Transportní box bude v nákladovém prostoru pevně přichycen tak, aby nemohlo dojít k jeho pohybu či poškození během jízdy.

Další podmínky nakládání stanovené podle § 5 odst. 10 zákona

- Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. musí v souladu s § 19 písm. c) zákona každoročně předat ministerstvu v listinné a elektronické podobě vždy k 15. únoru kalendářního roku přehled geneticky modifikovaných organismů, údaje

o jejich množství, o způsobu nakládání s nimi a vyjádření k přezkoumání hodnocení rizika za uplynulý kalendářní rok a v souladu s § 19 písm. d) zákona zaslat do 60 dnů od ukončení nakládání s GMO závěrečnou zprávu o průběhu, důsledcích této činnosti, zejména s ohledem na rizika ohrožení zdraví a životního prostředí.

- Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. musí v souladu s § 19 písm. h) zákona poskytnout správním orgánům (Ministerstvo životního prostředí, ČIŽP) podle § 28 a § 31 až 33 součinnost při kontrole prostor a zařízení určených k nakládání s GMO nebo prostor a zařízení, v nichž k tomuto nakládání dochází nebo může docházet.

Účel nakládání

Účelem nakládání je výzkum se zaměřením na vysoce infekční agens. Očekávaným výsledkem je získání specifických AAV virových vektorů využitelných k následujícím experimentům a objevení nových inhibitorů replikace HIV.

Další požadavky na označení

Pro nakládání s GMO platí obecné podmínky označování geneticky modifikovaného organismu, které je dáno zákonem.

Místo uzavřeného nakládání

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo nám. 542/2, Praha 6, 160 00

Prostory úrovně technického zabezpečení 3 jsou umístěny odděleně v přízemí (1.nadzemní podlaží) budovy C v areálu ÚOCHB AV ČR, v.v.i. Prostory se skládají ze dvou laboratoří C.1.07 a C.1.08, koridorů C.1.11 a C.1.18, místnosti C.1.12 s mrazicími boxy, centrifugační místnosti C.1.13, úklidové místnosti C.1.14, výstupních propustí C.1.15 a C.1.16 vybavených sprchou a vstupní propustí C.1.17. Pro pracovníky je k dispozici klidová místnost C.1.31, která leží mimo rizikový prostor. Udělení akreditace prostor bylo MŽP doloženo.

Požadavky na kontrolu uzavřeného prostoru (§ 15 odst. 3 zákona)

Čtyřikrát ročně bude provedeno zjišťování přítomnosti GMO. Stěry budou provedeny z 12 míst v BSL3 prostoru (po jednom stěru z podlahy v místnosti 1.12, 1.13, 1.15, 1.16, 1.17, 1.18, po dvou stěrech z podlahy v místnosti 1.07 a 1.08 a po jednom stěru z laboratorního stolu v místnosti 1.07 a 1.08 a ze čtyř míst mimo prostor BSL3 (a to po jednom stěru z podlahy v místnostech 1.06 a 1.20 a dva stěry z chodby 1.19). Přesná místa stěrů se budou měnit, aby se během roku otestovala co největší plocha. Místa budou vždy vybrána podle charakteru a intenzity práce od poslední kontroly. Tyto místa budou vždy zaznamenány do protokolu a protokoly těchto kontrol budou uchovávány po dobu min. 5 let u vedoucího BSL3. Vedoucí BSL3 laboratoře bude kontrolovat, že materiál ze stěrů byl skutečně amplifikován a detekován. Přesný postup detekce je

popsán v bodě f) provozního řádu a v příloze 2 je seznam primerů, které budou používány. Pro amplifikaci a sekvenování bude použit stejný primer.

Opatření při vzniku havárie (§ 21)

Havárie je závažný neplánovaný únik GMO mimo bariery. V takovém případě je třeba neprodleně učinit opatření k likvidaci havárie, dle schváleného Havarijního plánu.

Mohou vzniknout tyto typy havárií:

- rozlití tkáňové kultury či jiné tekutiny obsahující HIV nebo HBV mimo biohazardový box;
- expozice vzorkem obsahujícím HIV nebo HBV;
- havárie s možným únikem GMO materiálu během přepravy.

V případě havárie bude vyhotovena zpráva, kde bude specifikováno, kdo dekontaminaci prováděl. Zodpovědným pracovníkem je vedoucí BSL3 laboratoře.

Po ukončení sanace s negativním výsledkem testu přítomnosti HIV či GM HIV bude monitoring uzavřených prostor pokračovat každý měsíc do příští pravidelné kontroly. Tyto kontroly, které se provádějí 4x do roka, provádí laborantka nebo osoba určená vedoucím BSL3 laboratoře. Zápis o průběhu jakékoli kontroly a její výsledek je zaznamenán do provozního deníku BSL3 laboratoře.

Doba platnosti povolení

Povolení pro nakládání s GMO je od doby nabytí právní moci rozhodnutí MŽP na dobu neurčitou.

O d ů v o d n ě n í

Dne 29. května 2024 byla doručena na MŽP žádost od Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. o udělení povolení pro uzavřené nakládání ve třetí kategorii rizika s geneticky modifikovanými kmeny viru HIV a geneticky modifikovanými buněčnými liniemi 293AAV, HepG2-NTCP a 293T/17 na pracovišti Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. Tato žádost byla evidována pod č.j. MZP/2024/750/2013.

Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. bylo zasláno potvrzení o přijetí žádosti dne 3. června 2024.

Ministerstvo životního prostředí posoudilo uvedenou žádost a dne 30. května 2024 ji podle § 5 odst. 4 zákona zaslalo k vyjádření Ministerstvu zdravotnictví, Ministerstvu zemědělství a Magistrátu hlavního města Prahy. Žádost v elektronické podobě byla též

zaslána k posouzení České komisi pro nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty (ČK GMO) a určeným odborným posuzovatelům.

Dne 24. června 2024 vydala své stanovisko k žádosti ČK GMO. Ve svém stanovisku uvedla, že je nutné z formálního hlediska v „žádosti“ doplnit přehled primerů, bližší popis detekce proteinů a GMO, tabulku příjemců a DNA konstruktů a také informace o buněčných liniích 293AAV a HEpG2-NTCP. Dále ČK GMO požadovala upřesnit, jakým způsobem bude prováděna dekontaminaci odpadních vod.

Ministerstvo zdravotnictví podáním doručeným na MŽP dne 17. června 2024 uvedlo připomínku na uvedení již neplatného právního předpisu (zákon č. 185/2001 Sb.).

Na základě nedostatků zjištěných v žádosti byl Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. vyzván dne 1. července 2024 k jejich odstranění dle zaslaných připomínek a zároveň bylo vydáno usnesení o přerušení řízení do doby odstranění vad podané žádosti, nejpozději do 30 dnů ode dne doručení usnesení.

MŽP dne 17. července 2024 obdrželo opravu žádosti dle zaslaných připomínek a po jejím posouzení ČK GMO konstatovalo, že připomínky a doporučení odborných posuzovatelů na doplnění byly akceptovány. MŽP následně dále požadovalo, aby žadatel upřesnil podmínky přepravy GMO mezi pracovišti ÚOCHB a Biocevu. Dne 29. srpna 2024 žadatel tyto informace uspokojivě doplnil.

MŽP dne 23. července 2024 zaslalo v souladu se zákonem č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, žadateli výzvu k zaplacení správního poplatku za vydání povolení k uzavřenému nakládání s GMO 3. kategorie rizika. Dne 8. srpna 2024 žadatel požadovanou částku uhradil.

Vzhledem k tomu, že žádost o udělení povolení k uzavřenému nakládání s GMO 3. kategorie rizika (nakládání s geneticky modifikovanými kmeny viru HIV a geneticky modifikovanými buněčnými liniemi 293AAV, HepG2-NTCP a 293T/17) po všech úpravách a doplnění vyhovuje ustanovením zákona a jeho prováděcích předpisů a nakládání v režimu uzavřeného nakládání s GMO 3. kategorie rizika za daných podmínek nepředstavuje zvýšené riziko pro zdraví člověka a zvířat ani pro životní prostředí, a dále s přihlédnutím ke kladným stanoviskům MZe, MZ ČR a ČK GMO, a dalším výše uvedeným skutečnostem, vydává MŽP žadateli povolení k uzavřenému nakládání s GMO 3. kategorie rizika (s geneticky modifikovanými kmeny viru HIV a geneticky modifikovanými buněčnými liniemi 293AAV, HepG2-NTCP a 293T/17).

P o u č e n í

Proti tomuto rozhodnutí je možno podle § 152 odst. 1 zákona č. 500/2004 Sb., správní řád, podat do 15 dní od jeho oznámení rozklad, o němž rozhodne ministr životního prostředí, a to podáním adresovaným Ministerstvu životního prostředí, Vršovická 65, 100 10 Praha 10.

Ing. Alexandra Skopcová

ředitelka odboru environmentálních rizik a ekologických škod

Toto rozhodnutí obdrží:

A. Účastník řízení do vlastních rukou:

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo nám. 542/2, Praha 6,
160 00

B. Na vědomí po nabytí právní moci:

1. Ministerstvo zdravotnictví
2. Ministerstvo zemědělství
3. Magistrát hlavního města Prahy