

#### Institute-Specific Safety Instruction for work with Genetically Modified Organisms (GMOs) at Containment Level S1 according to §12 (3) GenTSV 08.12.2025

The following rooms are considered part of the genetically modified organism (GMO) facilities/laboratories. All work with genetically modified organisms at level S1 must be conducted exclusively within these designated areas: Baden-Württemberg Baden-Württemberg REGIERUNGSPRÄSIDIUM TÜBINGEN REGIERUNGSPRÄSIDIUM TÜBINGEN Regierungspräsidium Tübingen - Postläch 26 66 - 72016 Tübingen Tübingen 18.01,2012 Tübingen 18.01.2012 Name Dr. Klaus-D. Richter Universität Hohenheim Name Dr. Klaus-D. Richter Durchwahl (0.70.71) 7.57- 5210 Durchwahl (0.70.71) 7.57- 5210 Garbenstraße 30 Aktenzeichen 58-11/8817.40-020/ Aktenzeichen 58-11/8817.40-020/ Herm Javanshir Hosseinzadeh UNI.HO.12.05 Arheitssicherheit 028 Baden-Württemberg 70599 Stuttgart REGIERUNGSPRÄSIDIUM TÜBINGEN Anzeige einer gentechnischen Anlage zur Durchführung von Arbeiten der Anzeige einer gentechnischen Anlage zur Durchführung von Arbeiten der Tübingen 28.02.2012 Sicherheitsstufe 1 Universität Hohenheim Name Dr. Klaus-D. Richter Eingangsbestätigung Garbenstraße 30 Durchwahl (0 70 71) 7 57- 5210 Ihr Schreiben vom 02.01.2012 (Eingang 03.01.2012); Az.: 714.7/Inst.360 Ihr Schreiben vom 02.01.2012 (Eingang 03.01.2012); Az.: 714.7/Inst.360 Herrn Javanshir Hosseinzadeh Aktenzeichen 58-11/8817.40-020. Arbeitssicherheit 028 Sehr geehrte Damen und Herren, 70599 Stuttgart Ihre Unterlagen zur Anzeige einer gentechnischen Anlage zur Durchführung von Arbeiten Ihre Unterlagen zur Anzeige einer gentechnischen Anlage zur Durchführung von Arbeiten der Sicherheitsstufe S1 sind beim Regierungspräsidium Tübingen am 03.01.2012 einge der Sicherheitsstufe S1 sind beim Regierungspräsidium Tübingen am 03.01.2012 einge-Institut für Phytomedizin (360). Institut für Phytomedizin (360). chnischen Anlage, UNI.HO.12.01 Otto-Sander-Str. 5, 70599 Stuttgart Otto-Sander-Str. 5, 70599 Stuttgart .02.2012 (Eingang 24.02.2012); Az.: 714.7/Inst.36 bestehend aus den Räumen bestehend aus den Räumen Gebäude 03.24: Gewächshaus 1 (Zellen 1, 2, 3, 4, 5, 6), Gebäude 03.21 Neubau, UG: -118 (Flur), -181, -182, -183, -184, -185, -186, -187; Gewächshaus 2 (Zellen 7, 8, 9, 10, 11), verbindender Flur, EG: 019 (Flur), 081, 082 (Autoklav), 083, 084, 085, 086, Phytokammern 1, 2, 3, 4, Flur, ibingen hat Ihr Schreiben erhalten und die Stilllegu Applikationsstand (am Ende des Verbinders) OG: 117 (Flur), 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187 .HO.12.01 mit der gentechnischen Arbeit UNI.HO Sollten noch Ergänzungen erforderlich sein, werden wir Sie mit einem gesonderter Sollten noch Ergänzungen erforderlich sein, werden wir Sie mit einem gesonderten Schreiben informieren. Mit freundlichen Grüßen Mit freundlichen Grüßen Dr. Klaus-D. Richter

Dr. Klaus-D. Richter

BIA

Universität Hohenheim

Arbeitssicherheit 028

Herrn Javanshir Hosseinzadeh

Sicherheitsstufe 1

Mit freundlichen Grüßen

Dr. Klaus-D. Richter

Eingangsbestätigung

Sehr geehrte Damen und Herren,

Garbenstraße 30

70599 Stuttgart



### **Overview**

#### Laboratory and Greenhouse Structure

Overview of the laboratory and greenhouse layout, designated work areas, and access restrictions.

- Safety and Handling Rules for Genetically Modified Organisms
- Working with Genetically Modified Organisms
- Guidelines for Handling Transgenic Plants
- Disposal of Genetically Engineered Waste
- Procedures in Case of Emergency or Accident
- What to do in an emergency or fire
- Handling Accidents with S1 Organisms
- Records of Genetic Engineering Work

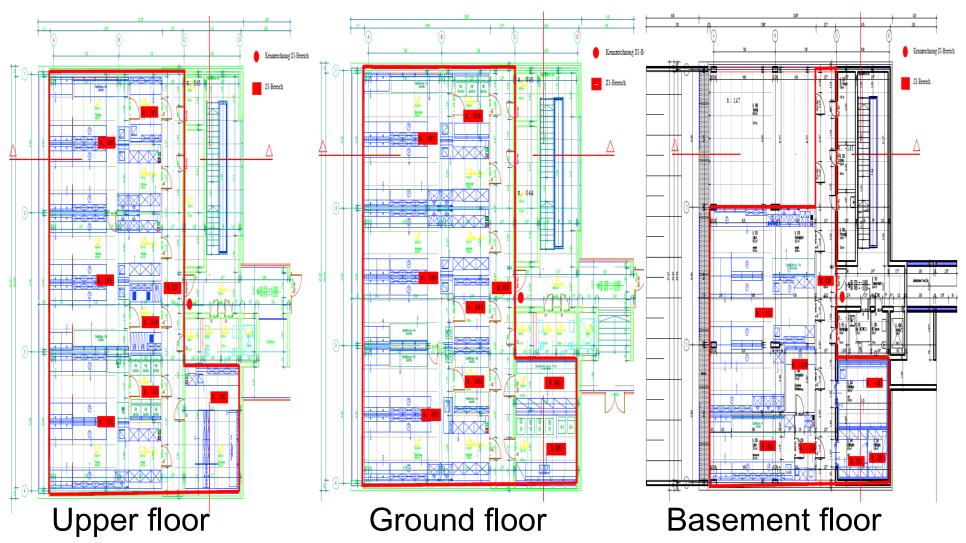
Documentation requirements for experiments with GMOs.

Operating Instructions



### **Laboratory Structure**

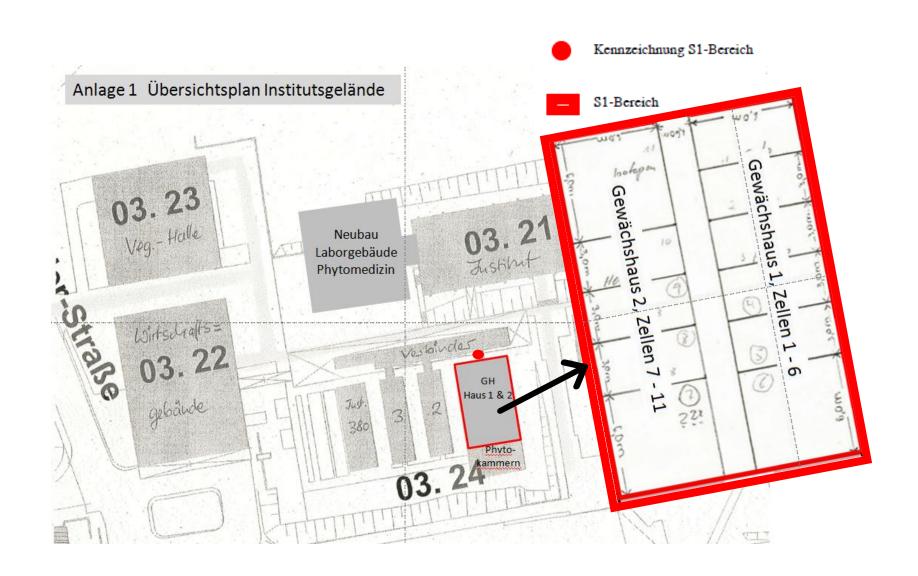
Red-outlined area is the S1 area.





### Greenhouse

S1 area includes House 1, and House 2





## Working with Genetically Modified Organisms (GMOs)

#### Hazard potential of the organisms handled

According to the criteria listed, all genetic engineering work carried out in the laboratories of the Institute of Phytomedicine, Otto-Sander-Str. 5, is classified as risk group 1 under the Genetic Engineering Act.

- The primary escape route is the stairwell.
- Secondary escape route: via the laboratory balconies on the west side, or at the end of the newly attached LKP building.
- No emergency power supply is available.
- Keep windows and doors closed while working.
- Wear lab coat, closed shoes, long pants and safety goggles in designated areas.
- Eating, drinking and storing food is prohibited in all areas, including the "thinking cells."
- Do not pipette by mouth.
- Avoid using sharp or pointed objects whenever possible.
- Keep laboratory spaces tidy and clean:
- Only keep the equipment and materials on the workbench that are actually needed.
- Store supplies in storage rooms or cabinets whenever possible.



#### Working with GMOs

- Good microbiological practices must be followed at all times.
- Avoid aerosol formation.
- Contaminated areas must be disinfected immediately.
- Equipment that has come into direct contact with GMOs must be autoclaved or disinfected before cleaning
- After completing work and before leaving the laboratory, wash hands.
- Genetic engineering work is only permitted at designated workstations (washable surfaces resistant to disinfectants, e.g., stoneware or melamine).
- Strict separation of work and writing areas must be maintained.
- GMOs, including contaminated waste, may only be transported in break-proof, closed containers.
- Appropriate records of the genetic engineering work performed must be maintained.
- Proper documentation of all genetic engineering activities is required



#### **Guidelines for Handling Transgenic Plants**

- All transgenic plants or plants containing transgenic microorganisms must be clearly labeled as such.
- The occupancy plan on the entrance door of the greenhouse cabin must indicate the name of the person responsible for the experiment.
- Transgenic plants may only be transported between greenhouse cabins.
- Transgenic plants or plant parts may be transported to other S1 areas only with care to prevent loss of material. Use boxes or plastic bags as appropriate.
- The transport container must be appropriately labeled.
- If possible, bag flowers at the bud stage or remove pollen-producing parts.
- Ensure that no dying or mature parts, particularly seeds, fall from transgenic plants.
- Seeds from transgenic plants may be stored in a sealed container in the institute's S1 laboratories. They must be clearly labeled.



#### Disposal of Genetically Engineered Waste

- After completing work, GMOs must either be properly stored or inactivated by autoclaving.
- All waste contaminated with GMOs (disposable vessels, gloves, wipes, etc.)
  must be autoclaved before disposal (autoclaves available in Room 082). Follow
  the operating instructions when using the autoclaves.
- Transgenic plants or plant parts must be shredded, placed in autoclave bags, and autoclaved in Room 082. Fully inactivated plant material can then be composted. Plants with potential pollen transfer from transgenic plants must be treated and disposed of in the same way.
- Used soil must either be steamed for twelve hours in the greenhouse in consultation with the head gardener or autoclaved in small quantities. After inactivation, soil is composted like the plant material.



### What to do in an emergency or fire

#### Call the emergency number:

From a mobile phone: 112

From office or laboratory phones: 0-112

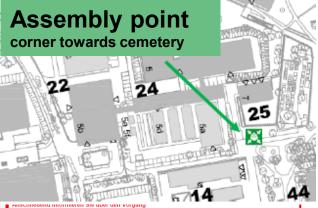
Speak slowly, clearly, and loudly, providing the following information:

- Who is reporting?
- What has happened?
- Where did it happen? Provide precise location details: street, house number, fire plan number: 5/336
- How many people are injured?
- What type of injuries are present?
- Stay on the line and wait for further instructions
- In case of fire:
- Leave the building immediately.
- Assist other persons if possible.
- Call emergency services Who, What, Where.



Gebäude Nr.: 03.21

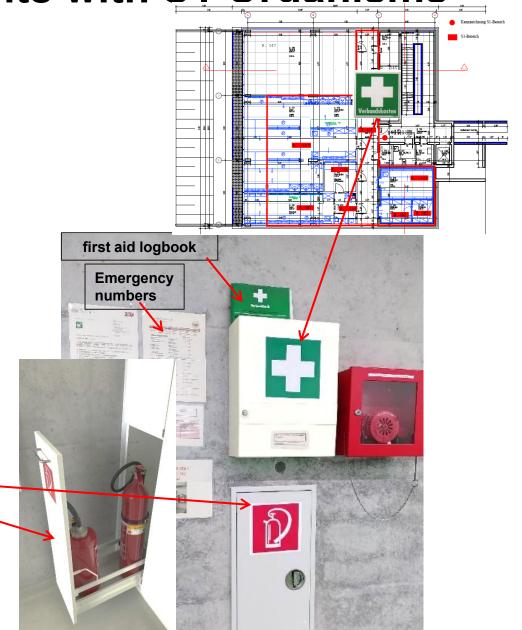
Verhalten im Brandfall





Handling Accidents with \$1 Organisms

- Stay calm and immediately inform the lab manager.
- Disinfect contaminated areas and materials immediately.
- Autoclave or dispose of contaminated items as GMO waste.
- Rinse affected skin or eyes thoroughly using the safety shower or eye wash station.
- First aid supplies are available in first aid boxes in the corridors on every floor.
- Fire extinguishers are located in corridors or at the entrances to the laboratories.
- Report and document all incidents according to the institute's safety guidelines.





# Records of Genetic Engineering Work – Organization and Content

#### **Documentation requirement!**

The documentation consists of three parts

- General information on the project / facility (Part I)
- Vector- and organism-specific information (Part II)
- Details of the genetic engineering experiment (Part III)

The collection and maintenance of records are delegated to the respective group leaders.



### General information on the project / facility

Formblatt Aufz 0

#### Aufzeichnung von gentechnischen Arbeiten

nach der Gentechnik-Aufzeichnungsverordnung

#### Angaben zur gentechnischen Anlage, in der die gentechnischen Arbeiten durchgeführt werden

A.* Betreiber (Name, A	nschrift):				
B.* Lage (Anschrift, Geb	äude, Stock	werk, Räume	):		
C. Aktenzeichen und D (bzw. ihrer Änderung Aktenzeichen:			enehmigung		
Anmeldung/Genehr	nigung vom				
<ol> <li>Änderung vom</li> </ol>					
<ol><li>Änderung vom</li></ol>					
<ol><li>Änderung vom</li></ol>					
D.' Sicherheitsstufe:	\$1 D	\$2 <b>□</b>	S3 🗆	S4 🗆	
E. Abfall- und Abwass (Gilt für alle Arbeiten; Entsorgung ohne Entsorgung nach Entsorgung nach	Abweichung Vorbehand thermische chemische	g bei der jewe llung r Inaktivierung r Inaktivierung	) (nur auf Antr		
* Diese Angaben sind entbeh	milich, wenn Sie	e den Bescheid d	les RP Tübinger	belfügen	

Part I



### Vector- and organism-specific information

#### Verwendete Stämme: Genotyp und Referenz

E. coli	ine. Genotyp und Keierenz	
TG1	supE, hsdΔ5, thi-1 Δ(lac-proAB) (rK12¯ mK12¯), [F traD36 pro A+B+, lacl4, lacZΔM15]	[Sambrook, 2001 #1397]
BL21 (DE3)	F ompT hsdSB(rB mB) gal dcm (DE3)	Novagen
BL21 (DE3) plysE	F ompT hsdSB(rB mB) gal dcm (DE3) plysE	Novagen
XL1-Blue	recA1 endA1 gyrA96 thi-1 hsdR17 supE44 relA1 lac [F' proA <sup>+</sup> B <sup>+</sup> lacIqZΔM15 Tn10 (TetR)]	Stratagene
XL1-Blue MRA	Δ(mcrA)183 Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173 endA1 supE44 thi-1 gyrA96 relA1 lac	Stratagene
XL1-Blue MRA (P2)	Δ(mcrA)183 Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173 endA1 supE44 thi-1 gyrA96 relA1 lac (P2 lysogen)	Stratagene
XL1-Blue MRF	Δ(mcrA)183 Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173 endA1 supE44 thi-1 recA1 gyrA96 relA1 lac [F' proAB lacIqZΔM15 Tn5 (KanR)]	Stratagene
NM514	hsdR514(rK <sup>-</sup> mK <sup>-</sup> ) argH galE galX lycB7 strA (Hft <sup>+</sup> )	Stratagene
DH10b	F-mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) φ80lacZΔM15 ΔlacX74 recA1 endA1 araD139 Δ(ara, leu)7697 galU galK λ-rpsL nupG	Invitrogen
DH5α	F, φ80dlacZΔM15, Δ(lacZYA-argF)U169, deoR, recA1, endA1, hsdR17(rk, mk <sup>+</sup> ), phoA, supE44, λ, thi-1, gyrA96, relA1	Invitrogen
XLOLR	Δ(mcrA)183 Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173 endA1 thi- 1 recA1 gyrA96 relA1 lac [F proAB lacIqZΔM15 Tn10 (Tetr)] Su- (nonsuppressing) λR (lambda resistant)	Stratagene
Rosetta (DE3)	F ompT hsdSB(rB mB) gal dcm (DE3) pRARE2 (CmR)	Novagen
OrigamiB (DE3)	F ompT hsdSB(rB mB) gal dem lacY1 aphC gor522::Tn10 (TcR) trxB::kan (DE3)	Novagen
RosettaBlue	endA1 hsdR17(rK12 <sup>+</sup> mK12 <sup>+</sup> ) supE44 thi-1 recA1 gyr496 relA1 lac [F' proA <sup>+</sup> B <sup>+</sup> lacf <sup>2</sup> Z ΔM15 ::Tn10(TcR)] pR4RE2 (CmR)	Novagen
RosettaBlue (DE3)	endA1 hsdR17(rK12 <sup>+</sup> mK12 <sup>+</sup> ) supE44 thi-1 recA1 gyr496 relA1 lac [F' proA <sup>+</sup> B <sup>+</sup> lacf <sup>2</sup> Z ΔM15 ::Tn10(TcR)] (DE3) pRARE2 (CmR)	Novagen
RosettaBlue (DE3) plysS	endAl hsdR17(rK12 <sup>-</sup> mK12 <sup>+</sup> ) supE44 thi-1 recA1 gyr496 relA1 lac [F' proA <sup>-</sup> B <sup>+</sup> lacf <sup>2</sup> Z ΔM15 ::Tn10(TcR)] (DE3) pLysSR4RE2 (CmR)	Novagen
GM2163	dam	NEB
LE392	e14 (McrA) hsdR514 supE44 supF58 Δ(lacIZY)6 galK2 galT22 metB1 trpR55	Stratagene
SURE	e14"(McrA") \(\Delta(mcrCB\)-hsdSMR-mrr\)171 endA1 supE44 thi-1 gyrA96 relA1 lac recB recJ sbcC umuC::Tn5 (KanR) uvrC [F' proA"B* lacIqZ\(\Delta\)M15 Tn10 (TetR) Amy CmR]	Stratagene

### Part II

#### VerwendeteVektoren:

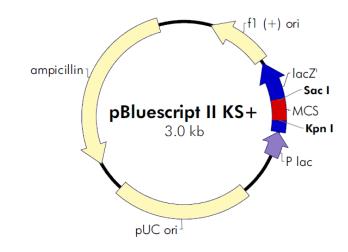
	Plasmid	Resistance	Feature	Supplier	Link / Ref
I	pTZ19R	Amp	T7 Promotor	MBI	PTZ19R.SEQ
II	pTRC99B	Amp	trc Promoter	Pharmacia	PTRC99B.SEQ
III	pBluescript II KS (+)	Amp	BW Screening	NEB	Sequenzen\Plasmide\pbluescript II KS(+).seq
			large MCS		Plasmide/pBluescript II KS (+) Map.pdf
IV	pDR195	Amp	E. coli – S. cerevisiae	D. Rentsch	Sequenzen\Plasmide\PDR195.seq
		URA3	shuttle vector		[Rentsch, 1995 #48]
V	pBF1	Amp	Oocyte Vector	C. Struck	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/p6013.seq
			identical to p6013		
VI	pET32a(+)	Amp	His-Tag T7	Novagen	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/Pet32a.seq
			Expressionvector		<u>c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pET32a.pdf</u>
VII	pET28a(+)	Kan	His-Tag T7	Novagen	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/Pet28a.seq
			Expressionvector		<u>c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pET28a.pdf</u>
VIII	p6013	Amp	Oocyte Vector	C. Struck	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/p6013.seq
	p6012	Amp	Oocyte Vector	C. Struck	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/p6012.seq
	p6009	Amp	Oocyte Vector	C. Struck	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/p6009.seq
IX	pPIC3.5	Amp	E. coli – P. pastoris	Invitrogen	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pPIC35.seq
		HIS	shuttle vector		
X	pPIC9	Amp	E. coli – P. pastoris	Invitrogen	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pPIC9.seq
		HIS	shuttle vector		
XI	pRV11a	Amp	His-Tag T7	RTV	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pRV11a
			Expressionvector		<u>mod.seq</u>
XII	pDR196	Amp	E. coli – S. cerevisiae	D. Rentsch	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pDR196.seq
		URA3	shuttle vector		
XIII	pBIN19	Kan	Agrobacterium Vector	P. Hooykaas	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pBIN19.seq
					Sequenzen\Plasmide\PBIN19 complete.html
XIV	pAN7.1	Hyg	Fungal	P. Punt	c:\Eigene Dateien\Sequenzen/Plasmide/pAN7-1.seq
			Transformation		Sequenzen\Plasmide\PAN71.SEQ.NCBI.html
			Vector		



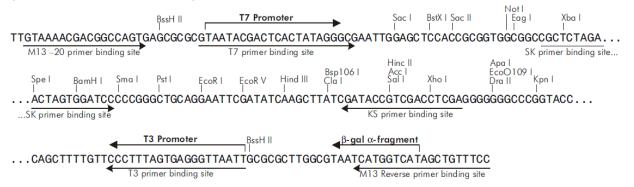
### Vector- and organism-specific information



#### Part II



pBluescript II KS (+/-) Multiple Cloning Site Region (sequence shown 598–826)





### Details of the genetic engineering experiment

P	art	III
	ait	

Datum :
(ggf. auch Zeitraum)
Aufzeichnung nach GenTAufzV Teil III: Einzelne Experimente Konstruktion gentechnisch veränderter Organismen
Zielsetzung:
Sind die Arbeiten nach den Kriterien von §7 (3) Nr.1 GenTSV der Sicherheitsstufe 1 zuzuordnen (Einstufung bitte kurz begründen)? o ja o nein (dann dürfen sie in diesem Labor nicht durchgeführt werden, bitte setzen Sie sich sofort mit dem Beauttragten für die biologische Sicherheit, Tel. 2007, in Verbindung)
Raum: durchgeführt von:
Vektor (Bezeichnung; wenn <u>nicht</u> in der ZKBS-Liste enthalten, dann nähere Angaben in Teil II Blattder Aufzeichnungen):
Insert (Bezeichnung, Beschreibung [z.B. Reinigungsgrad: shotgun, angereichert, charakterisiert], Spenderorganismus [wenn <u>nicht</u> in den Listen aus dem Bundesgesundheitsblatt, der ZKBS-Liste oder den Eingruppierungen der BG Chemie enthalten, dann nähere Angaben zum Spenderorganismus in Teil II Blatt
Angaben zur Konstruktion (z.B. benutzte Restriktionsschnittstellen, deletierte Vektorsequenzen, etc., eventuell Skizze auf der Rückseite):
Empfängerorganismus (Bezeichnung, wenn <u>nicht</u> in den Listen aus dem Bundesgesundheitsblatt, der ZKBS-Liste oder den Eingruppierungen der BG Chemie enthalten, dann nähere Angaben in Teil II Blatt der Aufzeichnungen):
Verbleib des gentechnisch veränderten Organismus (GVO) :
Lagerung (wo, Bezeichnung des GVO):
Zerstörung/Entsorgung (wie, wann) :
Unterschrift :
Version 1203 Teil III. Blatt Nr



### **Operating Instructions**

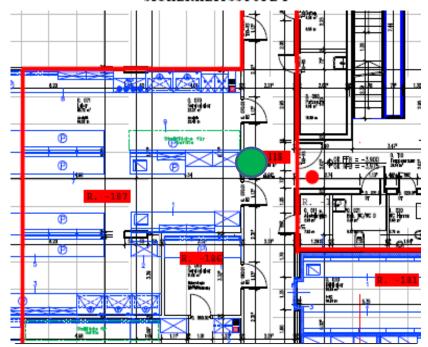
The operating instructions for genetic engineering work in accordance with §12 (2) GenTSV are displayed at the designated locations. In the main building, they are posted in the corridor areas leading to the laboratories on all floors. In the greenhouse, the operating instructions are displayed at the entrances to House 1 and House 2.

The green dot in the graphic indicates where the operating instructions are posted.

Universität Hohenheim

Betriebsanweisung für gentechnische Arbeiten gem. § 12 Abs. 2 GenTSV

#### SICHERHEITSSTUFE 1

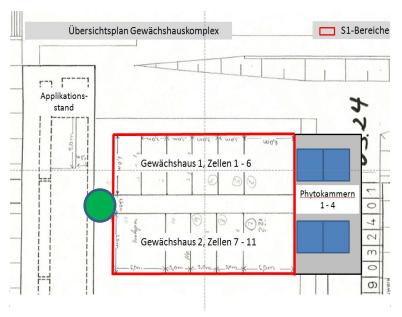


Der Sicherheitsstufe 1 sind gentechnische Arbeiten zuzuordnen, bei denen nach dem Stand der Wissenschaft nicht von einem Risiko für die menschliche Gesundheit und die Umwelt auszugehen ist (§ 7 GenTG). In der gentechnischen Anlage wird mit rekombinanten Pflanzen sowie mit rekombinanten Bakterien und Pilzen der Sicherheitsstufe 1 gearbeitet. Von diesen Organismen geht nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft keine Gefahr für Mensch oder Umwelt aus.

#### Universität Hohenheim

Betriebsanweisung für gentechnische Arbeiten gem. § 12 Abs. 2 GenTSV

IM GEWÄCHSHAUS - SICHERHEITSSTUFE 1



Der S1-Gewächshausbereich ist an der Eingangstür zum Verbindungsgang zwischen den Häusern 1 und 2 als gentechnische Anlage gekennzeichnet. Der Applikationsraum ist ebenfalls an der Eingangstür als S1-Bereiche gekennzeichnet.

Die Tür am Ende des Verbindungsgangs mündet in den Phytokammern-Bereich. Die Außentür zum Phytokammernbereich ist abgeschlossen und darf nur vom Projektleiter, dem Gärtnermeister oder einem Stellvertreter aufgeschlossen werden.