

Sosial- og helsedepartementet  
Pb 8011 Dep.  
0030 OSLO

Oslo, 11. juni 1997.  
Ref. 97/58-2/RKA/401

### **GENTEKNOLOGISK ARBEID MED NAKENT DNA**

Det vises til brev fra Sosial- og helsedepartementet datert 28.05.97 der man ønsker Bioteknologinemndas vurdering om den kunnskap som har fremkommet i løpet av det siste året vedrørende horisontal genoverføring endrer den uttalelse nemnda ga til departementet 2. mai 1996.

Bakgrunnen for den siste henvendelsen fra departementet er et vedtak i Stortinget 7. mars -97 om å oversende følgende forslag fra Senterpartiet til regjeringen:

1. "Regjeringa vert oppmoda om å fremja forslag om regler for bruk av nake arvestoff (DNA) i genteknologilova"
2. "Regjeringa vert oppmode om å syte for at forskriftene som gjeld for handsaming av bakteriar og virus snarast blir gjort gjeldande for nake DNA".

### **SAMMENDRAG**

Bioteknologinemnda er opptatt av at sikkerheten i forbindelse med utviklingen av moderne bioteknologi skal ivaretas.

Bioteknologinemnda vil *ikke* tilrå at man utvider genteknologilovens virkeområde til også å omfatte arbeid med DNA når formålet ikke er å føre dette inn i en organisme.

Dagens genteknologilov og krav til god laboratoriepraksis, slik dette er formulert til veilder fra Arbeidstilsynet og som vil bli nedfelt i Arbeidstilsynets planlagte forskrift om sikkerhet og arbeidsmiljø i laboratorier, er tilstrekkelig når det gjelder sikkerhet ved bruk av infeksjøs agens. For å sikre at genetisk informasjon i DNA ikke spres til det ytre miljø bør denne slettes f.eks. ved syrebehandling før deponering. Krav om dette kan innarbeides i den samme planlagte forskrift til Arbeidsmiljøloven.

Nemnda mener videre at det er behov for en større forskningsinnsats når det gjelder økologisk virkning av nukleinsyrer. Det er også viktig at disse problemstillingene drøftes i en internasjonal sammenheng.

### **BAKGRUNN**

#### **Begrepet nakent DNA**

Begrepet "nakent DNA" blir av nemnda tolket som DNA frigjort fra de proteiner/RNA som finnes assosiert med DNA i kromosomer og i virus. Oligonukleotider syntetisert i laboratorier, enten kjemisk eller ved hjelp av PCR-teknikken, vil også være ren DNA eller "naken".

Det er altså laboratoriearbeid med DNA-molekyler og oligonukleotider, enten brukt innen forskning eller til diagnostikk, som nå foreslås lagt inn under genteknologiloven.

Bioteknologinemnda er opptatt av at sikkerheten i forbindelse med utviklingen av moderne bioteknologi skal ivaretas. I sin uttalelse av 2. mai -96 fremmet nemnda konkrete forslag om hvordan man burde sikre gode arbeidsrutiner i laboratorier slik at all informasjon i DNA ble slettet etter bruk, f.eks. ved syrebehandling, før deponering.

Bioteknologinemnda kan ikke se at det foreligger vitenskapelig dokumentert kunnskap om overføring av DNA fra denne typen laboratorievirksomhet som fører til at nemnda endrer sitt syn på bruk av DNA innen forskning og diagnostikk. Et 1000 basepar langt DNA oppformert en million ganger med PCR tilsvarer 0,001 mikrogram DNA. Til sammenlikning ble det gitt 50 mikrogram DNA per foring i det nedfor refererte museforsøk (et menneske inneholder ca. 60 gram DNA).

Bioteknologinemnda vil minne om at alt arbeid med arvestoff i den hensikt å føre det inn i en levende organisme eller virus/plasmider er omfattet av genteknologiloven. Tilsvarende vil DNA brukt innen genterapi og til vaksiner omfattes av genteknologiloven og lov om medisinsk bruk av bioteknologi. Dette gjelder også kloning av gener til forskningsformål og fremstilling av gensøkere i mikroorganismer for senere diagnostisk bruk. Nemnda vil i denne sammenheng vise til sin tidligere uttalelse som følger vedlagt.

### **Overføring av gener i naturen**

Genetisk informasjon overføres mellom arter både via virus og plasmider, og ved direkte opptak av DNA i bakterier (transformasjon). Overføring av genetisk informasjon mellom beslektede arter, horisontal genoverføring, har alltid funnet sted og er en viktig forutsetning for evolusjonen.

Det spres betydelige mengder DNA i naturen gjennom virksomhet som ikke involverer genteknologi, dette gjelder for eksempel ved utslipp og nedbryting av biologisk materiale. Slik spredning anses for å være uproblematisk, f.eks. når døde planter og dyr brytes ned. I andre tilfeller kan en stille spørsmål ved om ikke en spredning kan føre til uheldige effekter, f.eks. når døde eller levende bakterier med plasmider som koder for antibiotikaresistens spres via kloakken fra sykehus.

Det foreligger forholdsvis lite og sporadisk informasjon om hva som skjer med DNA i naturen, enten dette DNA kommer fra menneskelig virksomhet eller fra organismer som dør.

I et nylig publisert arbeid i PNAS Vol. 94 pp 961 - 966 (1997) rapporteres det om opptak av virus-DNA, via tarmepitelet, til hvite blodceller, lever og milt i mus som ble gitt virus-DNA (50 mikrogram M13mp18-DNA per foring). M13-virus har et genom på 7250 bp. I timene etter virus-DNA foring kunne man påvise virus-DNA-fragmenter i tarm og feces, vanligst 100 - 400 bp. Et døgn etter foring var det ikke virus-DNA tilstede i mange-tarm trakten. M13 er en bakterievirus, med det kunne ikke påvises produksjon av virus i dyrenes tarmbakteriene, dvs hele virus synes ikke å passere gjennom magesekk til tarm.

I det samme arbeidet undersøkte man også blodceller (leukocytter) og celler i lever og milt. I det første døgnet var det spor av virus-DNA i disse cellene, men virus-DNA kunne ikke påvises etter 24 timer. Ved PCR-teknikk ble det også vist at virus-DNA fragmenter ble inkorporert i muse-DNA. Fragmenter av DNA slipper altså gjennom mage-tarm kanalen, og kan tas opp av epitelcellene i tynntarmen. Derfra synes det som DNA fraktes via leukocytter til lever og milt. Etter 24 timer var det ikke mulig å påvise fremmed DNA i lever eller milt.

Det er ikke mye tilgjengelig informasjon om nedbryting av naturlig forekommende DNA i mage-tarm kanal hos pattedyr, men dette forsøket viser at sekvenser av DNA fra naturlig forekommende virus kan tas opp, og i enkelte sjeldne tilfeller inkorporeres i kromosomene. At dette skjer er egentlig ikke så merkelig, vi har alle retrovirus/virussekvenser i våre kromosomer.

Menneskeheten og hele biosfæren er på en måte "badet" i DNA. Vi spiser DNA, vi har bakterier som lager DNA osv. Opptak av genfragmenter kan ikke spille noen rolle på kort sikt, men i et evolusjonsperspektiv. Denne kilden til DNA spredning må enten foreligge i stor konsentrasjon eller med

stor seleksjonsfordel dersom nakent DNA skal kunne ha betydning i kort tidsperspektiv. Artene har beholdt sin genetiske identitet selv med kontinuerlig eksponering av gener fra andre organismer fra mat, tarmflora og infeksjoner. Det finnes betydelige barrierer for denne typen genoverføring, men dette har man liten kunnskap om. Man vet heller ikke hvilke mekanismer som fremmer og hvilke som hemmer overføring av genmateriale, men at det finnes barrierer viser artsmangfoldet.

### **Behov for kunnskap om horisontal genoverføring**

I lys av den økte aktivitet innen genteknologi vil Bioteknologinemnda peke på behovet for videre forskning og kunnskapsoppbygging når det gjelder horisontal genoverføring. Dette vil være en forutsetning før vi kan være i stand til å trekke noen endelige konklusjoner vedrørende eventuelle risiki og konsekvenser forbundet med genteknologisk arbeid.

Som et bidrag til kunnskapsoppbygging om horisontal genoverføring arrangerer Bioteknologinemnda et nordisk seminar 12.-13. juni -97 i Oslo hvor bl.a. dette vil bli diskutert som et ledd i belysningen av risiko ved bruk av antibiotikaresistensgener som hjelpegener i genmodifisering av planter.

### **Arbeid med DNA som ikke omfattes av genteknologiloven**

Isolering av DNA/RNA og arbeid med arvestoffmolekyler utenfor levende organismer, omfattes ikke av genteknologiloven hvis ikke arbeidet inngår i fremstilling av en genmodifisert organisme.

I praksis vil dette omfatte følgende områder:

- \* DNA sekvensering og kjemiske, biokjemiske og fysikalske undersøkelser av nukleinsyrer/oligonukleotider
- \* testing og diagnostikk ved hjelp av gensøkere
- \* biokjemisk oppformering av DNA-sekvenser (PCR)

Disse tre bruksområdene bør vurderes under ett.

Det er et forholdsvis nytt fenomen at man i laboratoriet kan lage DNA med spesifikke sekvenser. Dette kan være oligonukleotider som skal brukes til gensøkere i diagnostisk sammenheng, eller oppformering av gener eller deler av gener i forbindelse med genkartlegging eller til direkte innføring i forbindelse med genterapi eller vaksinasjon.

Arbeidstilsynets veileder om sikkerhet og arbeidsmiljø i laboratorier gir bl.a. regler for hvordan man arbeider med helsefarlige eller smittefarlige agens og hvordan man skal behandle alle typer søl og avfall. Forskriften som skal omhandle det samme vil snart trå i kraft opplyser Direktoratet for arbeidstilsynet til Bioteknologinemnda 10. juni 1997.

Alt arbeid med smittefarlige agens foregår, etter dagens veileder og i kommende forskrift, i særlige sikkerhetskabinett og man bruker hansker og maske. Levende materiale skal autoklaveres før deponering. Laboratoriernes inneslutningsgrad skal være tilpasset mikroorganismenes farlighetsgrad.

PCR-oppformert DNA uten biologisk aktive sekvenser kan behandles som andre kjemikalier/oligonukleotider, og det er ikke nødvendig med særlige krav til arbeid i avtrekk.

Etter nemndas syn bør PCR-oppformert DNA med sekvenser som tilsier det kan være risiko for overføring av gensekvenser behandles etter vanlig god mikrobe laboratoriepraksis, dvs arbeidet bør foregå i avtrekk. Etter bruk bør den genetiske informasjon i DNA slettes f.eks. ved depurinering ved syrebehandling. Varmeinaktivering og lutbehandling er ineffektive når det gjelder å slette genetisk informasjon.

### **Bioteknologinemndas vurdering**

Det bør være en selvfølge at man ikke forurenses verken med vanlige kjemikalier eller med gensekvenser eller biter av gensekvenser. Bioteknologinemnda mener det bør utarbeides rutiner som sikrer at DNA blir inaktivert når det har tjent sitt formål.

Bioteknologinemnda kan imidlertid ikke se at utvidelse av genteknologiloven vil føre til at man oppnår det som er ønskelig, nemlig at bruk av DNA brukt innen forskning og diagnose (innesluttet bruk) ikke kommer i kontakt med det ytre miljø. Dette oppnår man mest hensiktsmessig ved å sørge for at DNA blir genetisk inaktivert før deponering.

Siden genteknologiloven er begrenset til fremstilling og bruk av genmodifiserte organismer, ville en hjemling i genteknologiloven ikke omfatte de samme DNA-sekvensene tatt fra en naturlig forekommende organisme. I denne sammenheng, nemlig den hensikt å hindre at gensekvenser spres til økosystemet, vil det være kunstig å skille mellom genmodifisert DNA og annet DNA. Alle gensekvenser har sitt opphav i en eller annen naturlig forekommende organisme, og det er informasjonen man vil hindre spredning av. Skulle man legge denne typen arbeid under genteknologiloven ville det bare omfatte DNA sekvenser oppformert fra genmodifiserte organismer og ikke samme sekvens tatt fra mor-organismen - et ulogisk skille av samme type genetisk informasjon.

Det foreligger forholdsvis lite og sporadisk informasjon om hva som skjer med DNA i naturen, enten dette DNA kommer fra menneskelig virksomhet eller fra organismer som dør. I lys av den økte aktivitet innen genteknologi vil Bioteknologinemnda peke på behovet for videre forskning og kunnskapsoppbygging når det gjelder horisontal genoverføring. Dette vil være en forutsetning før vi kan være i stand til å trekke noen endelige konklusjoner vedrørende eventuelle risiki og konsekvenser forbundet med med DNA i økosystemet.

### **Konklusjon**

Bioteknologinemnda er opptatt av at sikkerheten i forbindelse med utviklingen av moderne bioteknologi skal ivaretas.

Bioteknologinemnda vil *ikke* tilrå at man utvider genteknologilovens virkeområde til også å omfatte arbeid med DNA når formålet ikke er å føre dette inn i en organisme.

Dagens genteknologilov og krav til god laboratoriepraksis nedfelt i Arbeidstilsynets veileder og den planlagte forskrift om sikkerhet og arbeidsmiljø i laboratorier er tilstrekkelig når det gjelder sikkerhet ved bruk av infeksjøs agens. For å sikre at genetisk informasjon i DNA ikke spres bør denne slettes f.eks. ved syrebehandling før deponering. Krav om dette kan innarbeides i forskrift til arbeidsmiljøloven.

Nemnda mener videre at det er behov for en større forskningsinnsats når det gjelder økologisk virkning av nukleinsyrer. Det er også viktig at disse problemstillingene drøftes i en internasjonal sammenheng.

Med hilsen

Julie Skjæraasen  
leder

Ruth Kleppe Aakvaag  
sekretariatsleder