

Aneks B: Obrazac kategorije okoliša

DIO: REZULTATI PROCJENE (ispunjava PB)				
UKF sub-project: Functional characterization of the fungal specific protein Taf14 in <i>S.cerevisiae</i> and <i>C. albicans</i>				
Kategorija procjene prema projektnom okviru	A	B +	✓ B -	C
OBRAZLOŽENJE	Projekti kategorije B- se mogu financirati ako se dostavi niže traženo			
DUBINSKO SNIMANJE				
Kategorija A	Neće se financirati iz projekta			
Kategorija B +	PO ako je projekt uključen u aneks br. 2 ili 3 Uredbe o PO			
Kategorija B -*	Materijali za Planove upravljanja okolišem (PUO) zajedno s potrebnim licencama i sigurnosno-tehničkim listovima materijala (MSDS); ili PUO ili kontrolna lista PUO-a			
Kategorija C	Nema dubinskog snimanja			
Potrebno dodatno obrazloženje	<p>Ako se u projektu koriste radioaktivni, kancerogeni, mutageni i teratogeni materijali te u projektu postoji laboratorijsko testiranje na životinjama - detaljnije trebaju biti objašnjeni: postupci nabave i transporta, postupak rukovanja materijalima/ upravljanja životinjama, sigurnosni postupci, postupak čuvanja i skladištenja te tehnike zbrinjavanja otpada/ toksičnog i opasnog otpada.</p> <p>-za kancerogene, mutagene i teratogene materijale/tvari koje će se koristiti u Vašem projektu molimo da u nekoliko rečenica opišete: -Vrstu i količinu, Dozvole za korištenje istih, Postupke za rukovanje tim materijalima (pogotovo postupak zbrinjavanja otpada), Postupak nabave, Transport, Čuvanje/skladištenje, Sigurnosne postupke.</p> <p>Tijekom izvedbe projekta svi eksperimentalni postupci kao i zbrinjavanje otpada te skladištenje ili transport navedenih materijala bit će u skladu sa sigurnosnim postupcima koje propisuje DLP (Dobra laboratorijska praksa) kao i pravilnici IRB-a. Koristi će se: etidij bromid (predviđena ukupna količina je 1mg, radna koncentracija je 0.5µg/ml), hidroksiurea (predviđena ukupna količina je 200 gr, radna koncentracija je 200 mM), akrilamid (predviđena ukupna količina je 200 gr, radna koncentracija je 0,5 gr/gel), sodium dodecilsulfate-SDS (predviđena ukupna količina je 100 gr, radna</p>			

	<p>koncentracija je 10% otopina)</p> <p>Dozvole za rukovanje/akreditacije laboratorija/institucije – Dozvole/Odobrenja za obavljanje djelatnosti od relevantnih institucija (sigurnosni postupci) itd – Institut Ruđer Bošković ima dozvolu za rukovanje/uporabu, odnosno izvođenje eksperimenata u kojima se koriste otrovi Skupine I (dostavljeno UKF-u)</p>
--	--

*Za projekt kategorije B -: potrebna je javna objava dokumenata, kao što je kontrolna lista materijala, na UKF web stranici; tiskana verzija treba biti dostupna po zahtjevu; po potrebi konzultacije s dionicima elektronskim putem temeljem objavljenih dokumenata

Annex F: Kontrolna lista materijala za Plan upravljanja okolišem

MATERIAL EMP

Podkorisnik	IRB
NAZIV PROJEKTA	Functional characterization of the fungal specific protein Taf14 in <i>S.cerevisiae</i> and <i>C. albicans</i>
Opseg projekta i aktivnost–opis projekta	<p>Invazivne gljivične infekcije postale su jedan od značajnijih uzroka smrtnosti kod imunokompromitiranih i kroničnih bolesnika, kako u zemljama u razvoju tako i zapadnim zemljama. Stope smrtnosti od gljivičnih infekcija mogu doseći 50% ili više. <i>Candida albicans</i> je najčešći gljivični patogen kod ljudi, uzrokujući infekcije sluznice i sistemske invazivne bolesti. Značajno obilježje gljivica je da su eukariotski organizmi, srodni svom ljudskom domaćinu, što može predstavljati problem za razvoj sigurne ali u isto vrijeme učinkovite antifungalne terapije.</p> <p>Identificirali smo novi faktor, specifičan za gljive, protein Taf14. Naime, Taf14 nije konzerviran u ljudskom genomu i predstavlja dobar ciljni faktor za razvoj specifičnog antifungalnog lijeka. Trenutne studije sugeriraju da Taf14 igra ulogu u transkripciji i popravka DNA i potencijalno utječe na dva ključna atributa infektivnosti u <i>C. albicans</i>, adheziju i filamentozni rast. Međutim, molekularni mehanizmi djelovanja ovog faktora su nepoznati. Ciljanje Taf14 ili procesa koje taj protein regulira predstavljat će posve novi pristup razvoju antifungalne terapije. U ovom prijedlogu, možemo kombinirati našu stručnost u molekularnim mehanizmima gljivične patogeneze (Traven) s iskustvom u istraživanju regulacije transkripcije / popravka DNA (Sopta), kako bi precizno utvrdili molekularnu ulogu Taf14 koristeći model sustava kvasca <i>S. cerevisiae</i> koji je vrlo zahvalan nepatogeni</p>

modelni organizam, te zatim integrirati otkriveni model djelovanja u istraživanje patogenosti *C. albicans*. Otkrivat ćemo nova fundamentalna znanja o ključnom gljivičnom regulatoru transkripcije te rasvijetliti organizaciju regulatornih genskih mreža koje omogućuju tom ljudskom patogenu stabilnost i preživljavanje usprkos imunološkom odgovoru domaćina i terapiji postojećim antifungalnim lijekovima. Rezultati će biti objavljeni u najboljim svjetskim časopisima i tako pridonijeti konkurentnosti hrvatske znanosti. Štoviše, nova saznanja će biti važan putokaz za razvoj novih, puno učinkovitijih antifungalnih lijekova. Vrijednost ovakvog istraživanja naglašava činjenica da se za globalno tržište anti-gljivičnih lijekova očekuje da će do 2018. doseći vrijednost \$13,9 milijardi. Konačno, zahvaljujući ovom zajedničkom projektu, možemo stvoriti značajan potencijal na polju infektologije i općenito imunologije u Hrvatskoj, važnost čega se ne može podcijeniti. Hrvatski istraživači će proći obuku za najmodernije tehnologije vizualizacije, metode u sistemskoj biologiji i metode istraživanja mikrobne infekcije u životinjskim modelima, sve redom tehnologije koje se lako prenose i široko primjenjuju u područjima stanične mikrobiologije i imunologije. U ovom trenutku u Hrvatskoj nema laboratorija koji su stručni u području molekularne mikologije, te stoga novo iskustvo, koje ćemo izgraditi, predstavlja neprocjenjiv doprinos osnaživanju imunoloških istraživanja u našoj zemlji kao i izvrstan potencijal za buduće kolaboracijske projekte.

Projekt predviđa karakterizaciju proteina Taf14 iz kvasaca. Cilj predloženog projekta je odrediti stanične funkcije proteina Taf14 s domenom YEATS kod kvasaca, *S. cerevisiae* i *C. albicans*. Stanične mehanizme u kojima sudjeluje protein Taf14 istražiti će se primjenjujući metode molekularne i stanične biologije

	<p>koje su razvijene za kvasac <i>S. cerevisiae</i>. Specifični ciljevi projekta su:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Praćenje uloge proteina Taf14 u vezivanju kromatin remodelirajućeg kompleksa na zaustavljenim replikacijskim vilicama 2. Praćenje vezivanja kromatin remodelirajućih kompleksa i proteina Taf14 u ovisnosti o proteinu Mec1 3. Istražit jesu li protein Taf14 i kromatin remodelirajući kompleksi potrebni za oporavak zaustavljene replikacijske vilice.
Institucija koja provodi/nadzire projekt	Institut Ruđer Bošković
Koji su potencijalni utjecaji projekta na okoliš?	Projekt nema utjecaja na okoliš
ISPITIVANJE	
Molimo opišite faze ispitivanja	<p>Faza 1. Priprema molekula DNA koristeći metodu PCR te analizu istih pomoću gel elektroforeze.</p> <p>Faza 2. Ispitati ulogu proteina Taf14 u vezivanju kromatin remodelirajućih kompleksa na zaustavljenim replikacijskim vilicama. Stanice kvasa bit će izložene hidroksiurei i potom će se analizirati kromatin imunoprecipitacijom.</p> <p>Faza 3. Ispitat će se uloga proteina Mec1 u vezivanju potina Taf14 i kromatin remodelirajućih kompleksa na zaustavljenim replikacijskim vilicama. Stanice kvasca bit će tretirane hidroksiureom i potom će se analizirati kromatin imunoprecipitacijom.</p> <p>Faza 4. Ispitat će se jesu li protein Taf14 i kromatin remodelirajući kompleksi potrebni za oporavak zaustavljenih replikacijskih vilica. Stanice kvasca bit će</p>

	izložene hidroksiurei i potom analizirane 2D gel elektroforezom ili PFGE.
DOZVOLE	
Koje dozvole su potrebne za pripremu projekta i/ili ispitivanje? ¹	Dozvola ua korištenje otrova skupine I (priložena) i interni Parvilinici IRB-a, Pravilnik o zaštiti na radu i Pravilnik o zbrinjavanju otpada

Ova lista uključuje identifikaciju materijala i postupaka koji se koriste (mehanički, kemijski, itd.) te dobre laboratorijske i inženjerske prakse.

Treba popisati sve materijale koji će se koristiti u procesu, opasan materijal treba se identificirati u skladu s propisima o kemikalijama (aneks G Okvira za upravljanje okolišem). Obrazac s podacima o sigurnosti materijala i sve dozvole treba priložiti završnom dokumentu.

Opći cilj upravljanja opasnim materijalima je izbjeći ili, kada izbjegavanje nije moguće, smanjiti nekontrolirano oslobađanje opasnih tvari ili nezgode (uključujući eksplozije i požar) za vrijeme proizvodnje, rukovanja, pohrane i uporabe. Ovaj cilj se može postići:

- Gdje je to moguće, izbjegavanjem ili smanjenjem uporabe opasnih materijala.
- Sprečavanjem nekontroliranog ispuštanja opasnih tvari u okoliš ili nekontroliranim reakcijama koje mogu dovesti do požara ili eksplozije;
- Korištenjem inženjerskih kontrolnih mehanizama sukladno naravi opasnosti;
- Provedbom kontrole upravljanja (procedure, inspekcije, komunikacije, obuke i vježbe) za rješavanje zaostalih rizikakoji nisu spriječeni ili pod kontrolom pomoću inženjerskih mjera.

Popis materijala /kemikalija koje će se koristiti	Ako je moguće dodijelite CAS broj materijalu/kemikaliji (identifikacijski broj kemijske supstance) ²	Sukladno Zakonu o kemikalijama, ovaj je materijal opasan	Molimo dodijelite kategoriju prema Zakonu o kemikalijama; članak 2 (Aneks G)
Ethidium bromide	1239-45-8	Y	Mutagen H302 akutna toksičnost- oralna; H330 akutna toksičnost –inhal; H341 mutagen za germinativne stanice
Hydroxyurea	127-07-1	Y	Mutagen

¹ Sve dozvole potrebno je priložiti finalnom dokumentu

--	--	--	--

²Sigurnosno-tehničke listove materijala potrebno je priložiti finalnom dokumentu

AKTIVNOST	PARAMETAR	KONTROLNA LISTA ZA MJERE UBLAŽAVANJA
	Zbrinjavanje otpada	(a) Putevi za skupljanje i odvoz otpada kao i mjesta će se odrediti za sve glavne vrste otpada predviđene za rušenje i nastale građevinskim radovima. (b) Građevinski otpad skupljaju i odlažu licencirani izvođači/ tvrtke (c) Evidencija o odlaganju otpada će se držati kao dokaz ispravnog zbrinjavanja prema zahtjevima. (d) Kad god je moguće, izvođač /tvrtka će ponovno upotrijebiti i reciklirati odgovarajuće i prihvatljive materijale (osim azbesta).
	Zbrinjavanje toksičkog/opasnog otpada	(e) Privremeno skladištenje svih opasnih i toksičkih tvari u sigurnosnim kontejnerima na licu mjesta i s označenim detaljima sastava, svojstava i informacija o rukovanju. (f) Kontejneri opasnih tvari trebaju se pohraniti u hermetičkim kontejnerima radi sprječavanja prolijevanja i curenja. (g) Otpad se prevozi posebnim licenciranim vozilima i odlaže su na licenciranom deponiju. (h) Lakovi koji sadržavaju toksičke sastojke ili otapala ili lakovi izrađeni na temelju olova neće se upotrijebiti. (i) Svi korišteni materijali trebaju biti označeni, a sigurnosno-tehnički listovi tiskani.

Faza montaže i ispitivanja				
Što koji parametar se prati?	Gdje se prati parametar?	Kako se prati parametar (što se treba mjeriti i kako)?	Kada se prati parametar (vrijeme i učestalost)?	Tko prati parametar (tko je odgovoran)?
1. Pratićemo učinak hidroksiure na vezivanje kromatin remodelirajućih kompleksa te na protein Taf14 na zaustavljenim replikacijskim vilicama.	U Laboratoriju za molekularnu i staničnu biologiju (soba 214, V krilo, IRB)	Produkti će biti analizirani kromatin IP metodom kako bi mjerili vezivanje kromatin remodelirajućih kompleksa I proteina Taf14u odnosu na negativnu kontrolu.	Parametri će se monitorirati tijekom dvije godine (višeputno).	Eksperimente će izvoditi ekspertno osoblje osposobljeno za rad za štetnim tvarima koje će se koristiti tijekom izvođenja projektnog plana eksperimenta (M.Sopta, J. Nemet, TBD, doktorand).
2. Pratićemo sintezu DNA koristeći etidijum bromid i gel analizu	U Laboratoriju za molekularnu i staničnu biologiju (soba 214, V krilo, IRB)	Izolirat ćemo i analizirati DNA uzorke dobivene PCR metodom koristeći gel elektroforezu.	Parametri će se monitorirati tijekom dvije godine (višeputno).	Eksperimente će izvoditi ekspertno osoblje osposobljeno za rad za štetnim tvarima koje će se koristiti tijekom izvođenja projektnog plana eksperimenta (M.Sopta, J. Nemet, TBD, doktorand).

<p>3. Ispitat ćemo ulogu proteina Mec1 u vezivanju proteina Taf14 i kromatin remodelirajućih kompleksa na zaustavljenim replikacijskim vilicama. Stanice kvasca bit će izložene hidroksiurei i potom analizirane pomoću kromatin imunoprecipitacije.</p>	<p>U Laboratoriju za molekularnu i staničnu biologiju (soba 214, V krilo, IRB)</p>	<p>Produkti će biti analizirani kromatin IP metodom kako bi mjerili vezivanje kromatin remodelirajućih kompleksa u odnosu na negativnu kontrolu.</p>	<p>Parametri će se monitorirati tijekom dvije godine (višeputno)</p>	<p>Eksperimente će izvoditi ekspertno osoblje osposobljeno za rad za štetnim tvarima koje će se koristiti tijekom izvođenja projektnog plana eksperimenta (M.Sopta, J. Nemet, TBD, doktorand).</p>
<p>4. Ispitat će se jesu li protein Taf14 i kromatin remodelirajući kompleksi potrebni za oporavak zaustavljenih replikacijskih vilica. Stanice kvasca bit će izložene hidroksiurei i potom analizirane 2D gel elektrforzom ili PFGE.</p>	<p>U Laboratoriju za molekularnu i staničnu biologiju (soba 214, V krilo, IRB)</p>	<p>Produkti će biti analizirani koristeći metode 2D gel elektroforeze i “pulse-field” gel elektroforeze (PFGE)</p>	<p>Parametri će se monitorirati tijekom dvije godine (višeputno)</p>	<p>Eksperimente će izvoditi ekspertno osoblje osposobljeno za rad za štetnim tvarima koje će se koristiti tijekom izvođenja projektnog plana eksperimenta (M.Sopta, J. Nemet, TBD, doktorand).</p>

All activities will be carried out in accordance with the Ordinance on Occupational Safety and the Ordinance on Waste of the Ruder Bošković Institute.