

Aneks B: Obrazac kategorije okoliša

DIO: REZULTATI PROCJENE (ispunjava PB)				
UKF sub-project: Elucidation of the physiological roles of human dipeptidyl peptidase III				
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 materijala/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. Dozvole za rukovanje/akreditacije laboratorija/institucije – molimo navedite i dostavite Dozvole/Odobrenja za obavljanje djelatnosti od relevantnih institucija (sigurnosni postupci) itd – molimo navedite i dostavite</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	Elucidation of the physiological roles of human dipeptidyl peptidase III
Opseg projekta i aktivnost–opis projekta	<p>U sklopu predloženog projekta planiramo utvrditi koji su interakcijski partneri ljudske dipeptidil-peptidaze III (DPP III) u stanici. Pronalaženje interakcijskih partnera dalo bi nam uvid u moguće fiziološke uloge ove peptidaze, kao i njenu potencijalnu važnost u bolesti. Planirano je da se projekt odvija u dvije faze. U prvoj fazi koristili bi metode istraživanja interakcija na velikoj skali (eng. <i>high-throughput</i>) koje omogućuju pronalaženje interakcijskih partnera na razini cijelog staničnog proteoma. Koristit ćemo dvije metode istraživanja na velikoj skali, metodu "<i>yeast two-hybrid</i>" (Y2H) za identifikaciju novih interakcijskih partnera proteina DPP III, kao i metodu obilježavanja stabilnim izotopima putem aminokiselina u staničnoj kulturi (eng. <i>SILAC, stable isotope labeling by amino acids in cell culture</i>) u kombinaciji s masenom spektrometrijom (SILAC-MS), za identifikaciju proteinskih kompleksa koji uključuju DPP III. U drugoj fazi projekta planiramo nastaviti proučavanje odabranih interakcija ciljanim metodama koje se usredotočuju na pojedinačne proteine i na taj način potvrditi interakcijske partnere proteina DPP III dobivene metodama Y2H i SILAC-MS. Koristit ćemo metode povlačenja GST- i His-obilježenih proteina iz bakterijskih lizata (eng. GST-, His-pulldown), metode imunoprecipitacije proteina obilježenih FLAG-om iz lizata eukariotskih stanica te konfokalnu mikroskopiju za proučavanje interakcija DPP III fuzioniranog sa zelenim fluorescentnim proteinom (eng. EGFP, <i>enhanced green fluorescent protein</i>) te potencijalnog interaktora fuzioniranog s crveno fluorescirajućim mCherry proteinom u živim ili fiksiranim stanicama. U završnoj fazi istraživanja pojedinačnih interakcija planiramo koristiti metodu izotermalne titracijske kalorimetrije (eng. ITC, <i>isothermal titration calorimetry</i>) za određivanje kvantitativnih parametara pojedinih interakcija. Planiramo testirati i da li su novoidentificirani interakcijski partneri proteina DPP III također i njegovi supstrati. Potvrđeni interakcijski partneri pomoći će nam u identifikaciji signalnih puteva koji uključuju DPP III i omogućiti usmjeravanje budućih istraživanja.</p>
Institucija koja provodi/nadzire projekt	Institut Ruđer Bošković
Koji su potencijalni utjecaji projekta na okoliš?	Nema utjecaja na okoliš.
ISPITIVANJE	

Molimo opišite faze ispitivanja	<p>U prvoj fazi radit će se pokusi na velikoj skali korištenjem metoda Y2H i MS da bi se na nivou cijelog ljudskog proteoma pronašli protein koji ulaze u interakciju s DPP III. Aktivnosti u prvoj fazi će se u najvećem dijelu obavljati u Frankfurtu. U drugoj fazi radit će se istraživanja metodama usmjerenim na interakcije DPP III sa specifičnim proteinima identificiranim u prvoj fazi projekta. Planiramo koristiti metode povlačenje GST- i His-obilježenih proteina iz bakterijskih lizata te metodu ko-immunoprecipitacije proteina iz lizata eukariotskih stanica s DPP III proteinom obilježenim FLAG-om te analizu proteina iz bakterijskih i lizata eukariotskih stanica tzv. Western analizom, koja uključuje razdvajanje proteina na poliakrilamidnom gelu te njihov prijenos na membranu i zatim detekciju odgovarajućim antitijelima. Također planiramo analizirati kolokalizaciju, odnosno interakciju DPP III i potencijalnih interaktora pomoću konfokalne mikroskopije živih ili fiksiranih eukariotskih stanica koje će eksprimirati EGFP-om obilježeni DPP III te potencijalni interaktor obilježen mCherry fluorescentnim proteinom. U završnoj fazi ispitivanja planiramo koristiti ITC metodu da bi ispitali kvantitativne parametre interakcije između DPP III i potencijalnih interaktora na pročišćenim proteinima dobivenim heterolognom ekspresijom u bakterijama.</p>
DOZVOLE	
Koje dozvole su potrebne za pripremu projekta i/ili ispitivanje? ¹	<p>Institut Ruđer Bošković posjeduje Rješenje Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske kojim se utvrđuje da ispunjava sve propisane uvjete u pogledu prostora, opreme, uposlenika i zaštite na radu za korištenje otrova skupine I (u prilogu).</p>

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;

¹ Sve dozvole potrebno je priložiti finalnom dokumentu

- 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)
Akrilamid u obliku 30%-tne otopina akrilamid/bis-akrilamid 29:1	79-06-1/ 110-26-9	Da	Carc. 1B; Muta. 1B; Repr. 2; Acute Tox. 3; STOT RE 1; Acute Tox. 4; Eye Irrit. 2; Skin Irrit. 2; Skin Sens. 1; H372, H319, H315, H301, H312, H317, H332, H340, H350, H361f
SDS (natrijev dodecil-sulfat)	151-21-3	Da	Flam. Sol. 2; Acute Tox. 4; Skin Irrit. 2; Eye Dam. 1; STOT SE 3; Aquatic Chronic 3; H228, H302, H332, H315, H318, H335, H412
metanol	67-56-1	Da	Flam. Liq. 2; Acute Tox. 3; STOT SE 1; H225, H301, H311, H331, H370

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?	How se prati parametar (što se treba mjeriti i kako)?	Kada se prati parametar (vrijeme i učestalost)?	Tko prati parametar (tko je odgovoran)?
1. Analiza proteina koji ulaze u interakciju s DPP III	U Laboratoriju za celularnu biokemiju na Institutu Ruđer Bošković	Razdvajanje proteina na SDS-poliakrilamidnom gelu, prijenos proteina s gela na membranu i detekcija proteina pomoću odgovarajućih antitijela za što će se koristiti akrilamid za pripremu gelova, SDS za gelove i pufer za elektroforezu te metanol za otopinu za bojanje i odbojavanje gelova te prijenos proteina na membranu. 30 % otopina akrilamid/bis-akrilamid može se nabaviti od različitih proizvođača (Sigma, BioRad, Roth itd.) i nije	Nekoliko puta tjedno od 6. mjeseca izvođenja projekta do kraja projekta. Procijenjena potrošnja akrilamida oko 0,5 g/gelu. Planirano napraviti 200-300 gelova u tijeku trajanja projekta za koje ćemo upotrijebiti oko 100-150 g akrilamida (oko 300-450 ml 30% akrilamid/bis-akrilamid otopine). Procijenjena potrošnja SDS-a oko 0,3 g/gelu (gel i pufer za elektroforezu), odnosno oko 60-90 g u tijeku trajanja projekta. Potrošnja metanola oko 50 ml/gelu (bojanje gelova i pufer za prijenos	Suradnici na projektu uključeni u rad na analizi proteinskih interaktora DPP III, Mihaela Matovina i postdoktorski istraživač (koji će biti zaposlen kad projekt starta) koji su prošli (ili će proći) program obuke o Zaštiti na radu propisan Pravilnikom o zaštiti na radu Instituta Ruđer Bošković (u prilogu)

		<p>deklarirana kao opasna roba za transport. Pohranjuje se u čvrsto zatvorenoj originalnoj ambalaži na +2°C to +8°C. SDS se također može nabaviti od različitih proizvođača i nije deklariran kao opasna roba za transport, a pohranjuje se u originalnoj ambalaži na 15 - 25 °C.</p> <p>Metanol se također može nabaviti od različitih proizvođača, a u količinama u kojima ga mi planiramo koristiti ne predstavlja opasan teret za transport, a pohranjuje se u čvrsto zatvorenoj originalnoj ambalaži na 15 - 25 °C.</p> <p>Prilikom rada s akrilamidom, SDS-om i metanolom koristit će se sredstva zaštite (kuta, nitrilne rukavice, zaštitne naočale), radit će se u digestoru te će se svi materijali kontaminirani akrilamidom, SDS-om ili metanolom zbrinjavati sukladno Pravilniku o zbrinjavanju svih vrsta otpada iz tehnološkog procesa i iz procesa obrade otpadnih voda Instituta Ruđer Bošković (u prilogu)</p>	<p>proteina na membranu), odnosno oko 10-15 L u tijeku trajanja projekta.</p>	
--	--	---	---	--

Sve aktivnosti u fazi ispitivanja, uključujući i zbrinjavanje opasnog otpada provodit će se u skladu s Pravilnikom o zaštiti na radu i Pravilnikom o zbrinjavanju svih vrsta otpada iz tehnološkog procesa i iz procesa obrade otpadnih voda Instituta Ruđer Bošković (u prilogu).