

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
dhr. J.J. Atsma
POSTBUS 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 3 mei 2011
KENMERK CGM/110503-01
ONDERWERP Grootschalige productie van monoklonale antilichamen met behulp van PER.C6 cellen in een kweekstelsel voor eenmalig gebruik

Geachte heer Atsma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IG 10-049 met de titel 'Productie grote schaal monoklonale humane antilichamen m.b.v PER.C6 celkweek' van Crucell Holland B.V., deelt de COGEM u het volgende mee.


Samenvatting

De COGEM is verzocht te adviseren over de grootschalige productie van humane monoklonale antilichamen met behulp van genetisch gemodificeerde (gg-) PER.C6 cellen. De aanvrager wil de werkzaamheden in een bioreactor voor eenmalig gebruik (Single-Use Bioreactor, hierna SUB) op MI-I inperkingsniveau uitvoeren, waarbij MI staat voor *Micro-organisme Industriële schaal*. De SUB van het type XDR bestaat uit een plastic zak die wordt opgehangen in een roestvrijstalen omhulsel.

Werkzaamheden in kweeksystemen onder MI-I condities mogen alleen uitgevoerd worden met genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) die erkend veilig zijn bevonden. Dit zijn niet-pathogene ggo's die biologisch ingeperkt zijn en geen risico's voor mens en milieu vormen wanneer zij (bijvoorbeeld als gevolg van lekkage) buiten de bioreactor komen.

De door aanvrager gebruikte ggPER.C6 cellen zijn apathogeen en kunnen alleen onder laboratoriumcondities gekweekt worden. Bij lagere omgevingstemperaturen en afwezigheid van voedingsstoffen zijn deze cellen niet in staat te overleven en te delen.

Gezien de afwezigheid van milieurisico's kan de COGEM instemmen met gebruik van het XDR systeem in combinatie met het onderhavige ggo op MI-I niveau. Voorts is de COGEM van mening dat alle IAB erkende dierlijke cellen in het XDR systeem op MI-I niveau gekweekt kunnen worden. Concluderend acht de COGEM de risico's bij de voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs
Dr. I. van der Leij

Grootschalige productie van monoklonale antilichamen met behulp van PER.C6 cellen in een kweekstelsel voor eenmalig gebruik

COGEM advies CGM/110503-01

Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over een vergunningaanvraag voor de grootschalige productie van humane monoklonale antilichamen met behulp van ggPER.C6 cellen. De aanvrager, Crucell Holland B.V., wil de werkzaamheden uitvoeren in een Single-Use Bioreactor (SUB). Een dergelijke grootschalige productie valt onder MI inschalingscondities. De aanvrager wil de werkzaamheden uitvoeren op MI-I niveau.

De SUB (type XDR) bestaat uit een plastic zak die wordt opgehangen in een roestvrijstalen omhulsel. De plastic zak bevat onder andere geïntegreerde buizen voor het toedienen en afnemen van medium, een druksensor, inlaatopeningen voor additionele metingen, gasleidingen met filter en een magnetisch aangedreven rotor op de bodem van de zak.

De COGEM is verzocht te adviseren of werkzaamheden met de ggPER.C6 cellen op MI-I niveau ingeschaald kunnen worden. Tevens is de COGEM gevraagd te adviseren over het gebruik van het XDR systeem in combinatie met alle andere IAB erkende gg-dierlijke cellen.

Inrichtingsvoorschriften procesinstallaties

Grootschalige kweek van ggo's is gebonden aan regels die worden voorgeschreven in bijlage 4 van de Regeling ggo.¹ Op MI-I inperkingsniveau worden uitsluitend organismen gehanteerd die voldoen aan de zogenoemde IAB criteria. Volgens deze criteria moeten de organismen apathogeen zijn, een veilige vector en ongevaarlijke sequenties bevatten. Na afloop van de werkzaamheden hoeven deze ggo's niet eerst afgedood te worden voordat zij worden geloosd, omdat IAB organismen geen risico vormen voor mens en milieu.

Eerdere COGEM adviezen

In 2010 heeft de COGEM reeds eerder geadviseerd over het grootschalig gebruik van hetzelfde type ggo in dezelfde type SUB. Echter, omdat het ggo op dat moment geen IA of IAB erkenning had, moesten de werkzaamheden op inperkingsniveau MI-III plaatsvinden.² Omdat in deze ruimte het fysisch inperkende systeem de verspreiding van de ggo's moet beperken heeft de COGEM destijds de integriteitstest van het systeem beoordeeld. De COGEM was van mening dat de integriteitstest van het systeem onder druk plaats moest vinden. Gezien de aard van het ggo achtte de COGEM de risico's bij de voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

In 2011 heeft de COGEM twee keer geadviseerd over werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) in een kweekstelsel voor eenmalig gebruik op MI-I niveau. Omdat de ggo's in beide gevallen voldeden aan de IAB criteria, kon de COGEM instemmen met het gebruik van de kweeksystemen voor werkzaamheden met de ggo's op MI-I niveau. De

COGEM achtte de risico's bij de voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.^{3,4}

Overweging

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met ggPER.C6 cellen. De aanvrager wil de werkzaamheden in een SUB op MI-I niveau uitvoeren. Op MI-I inperkingsniveau worden uitsluitend organismen gehanteerd die voldoen aan de IAB criteria. De nadruk bij het hanteren van kweeksystemen onder MI-I condities ligt daarom meer op de veiligheid van het organisme en minder op de fysische inperking.

ggPER.C6 cellen

De PER.C6 cellijn is een cellijn die is voortgekomen uit humane embryonale retinacellen. De PER.C6 cellen zijn geïmmortaliseerd met behulp van adenovirus type 5E1A en E1B gen sequenties.⁵ De cellijn wordt al meer dan 10 jaar in laboratoria gebruikt voor onderzoeksdoeleinden. De lijn is goed gekarakteriseerd en staat bekend om een lange historie van veilig gebruik. De cellijn is in hoge mate biologisch ingeperkt door het ontbreken van een celwand. Hierdoor kunnen de cellen slechts overleven in isotone media. Bij sterk hypotone condities (zoals in oppervlaktewater) gaan de cellen kapot, omdat zij de osmotische druk niet kunnen weerstaan. Tevens zijn de cellen bij lagere omgevingstemperaturen en afwezigheid van voedingsstoffen, zoals essentiële aminozuren, niet in staat te overleven en te reproducieren.

De PER.C6 cellen zijn getransfecteerd met vector pCP9-Mab. Deze vector is volledig gekarakteriseerd en bevat als insertie de lichte en zware keten van een humaan antilichaam. De vector is moeilijk te mobiliseren en vrij van schadelijke sequenties. Tevens bevat de insertie geen schadelijke sequenties of genen die coderen voor potentieel pathogene eigenschappen.

Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat ggPER.C6 cellen veilig gebruikt kunnen worden voor grootschalige productie op MI-I niveau

Veiligheid kweekstelsel

In theorie bestaat er bij gebruik van een SUB, vergeleken met een conventionele roestvrijstalen bioreactor, een verhoogde kans op lekkage waarbij het ggo kan vrijkomen. Deze lekkage kan bijvoorbeeld optreden als gevolg van scheurtjes in de zak. Echter, gezien het feit dat het hier een veilig ggo betreft, leidt eventuele lekkage van het systeem niet tot risico's voor mens en milieu. Bovendien is de veiligheid van het systeem in 2010 al uitvoerig door de COGEM beoordeeld voor werkzaamheden met het ggo op MI-III niveau. Derhalve kan de COGEM instemmen met het gebruik van deze SUB voor werkzaamheden met het ggo op MI-I niveau.

Advies

Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat het ggo veilig kan worden ingezet bij werkzaamheden op MI-I niveau in het XDR systeem onder de in aanvraag beschreven procedures. Voorts is de COGEM van mening dat alle IAB erkende dierlijke cellen in het XDR

systeem op MI-I niveau gekweekt kunnen worden. Concluderend acht de COGEM de risico's bij de voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Referenties

1. Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen. <http://bggo.rivm.nl/Documenten/Documenten%20regelgeving/Regeling-genetisch-gemodificeerde-organismen.pdf> (20-4-2011)
2. COGEM 2010. Advies grootschalige productie monoklonale antistoffen in een Single-Use Bioreactor. COGEM advies CGM/100503-01
3. COGEM 2011. Commerciële productie van genetisch gemodificeerde dierlijke cellen in een Single Use Bioreactor onder MI-I condities. COGEM advies CGM/110110-02
4. COGEM 2011. Grootschalige productie van melkzuur door genetisch gemodificeerde cyanobacteriën in een kweekstelsel voor eenmalig gebruik. CGM/110418-03
5. Fallaux FJ *et al.* (1998). New helper cells and matched early region 1-deleted adenovirus vectors prevent generation of replication-competent adenoviruses. *Hum Gene Ther.* 1998 9: 1909-17