

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Waterstaat  
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 08 juni 2018  
**KENMERK** CGM/180608-01  
**ONDERWERP** Advies over voorgenomen wijzigingen in de Regeling ggo

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Aan de hand van een voorpublicatie in de Staatscourant heeft de COGEM kennisgenomen van het voornemen van het Ministerie van IenW om de Regeling ggo te wijzigen. In het onderhavige advies stelt de COGEM betreffende deze wijzigingen een aantal verbeteringen voor.


## 1. Wijzigingen ten aanzien van werkzaamheden met lentivirale vectoren

### ***1.1 Onderscheid tussen het 'lenti-X lentiviraal' en het 'translenti lentiviraal' vectorsysteem***

In de voorgenomen wijziging van artikel 2 worden twee begrippen aan de Regeling ggo toegevoegd: 'lenti-X lentiviraal vectorsysteem' en 'translenti lentiviraal vectorsysteem'. De COGEM merkt op dat op deze wijze een onderscheid wordt gemaakt op basis van commerciële naamgeving van producten.

Lenti-X (Takara/Clontech) en Trans-Lentiviral (Dharmacon) zijn commerciële namen voor hetzelfde *packagingsysteem*, gebaseerd op Wu *et al.* Mol. Ther. 2000.<sup>1</sup> De COGEM adviseert om het onderscheid op basis van commerciële naamgeving te laten varen en als alternatief te spreken van een trans-lentiviraal packagingsysteem (eventueel met als toevoeging: ook bekend als Lenti-X of Trans-Lenti vectorsysteem), welke gebruikt kunnen worden met niet-SIN, 3' SIN en dubbelzijdig 5' en 3' SIN transfervectoren.

Een belangrijk kenmerk van zowel Lenti-X als Trans-Lentiviral is dat de Pol eiwitten reverse transcriptase (RT) en integrase (IN) van een ander plasmide ("*in trans*") worden geproduceerd dan de Gag eiwitten en het Pol protease (PR) eiwit. Hierdoor onderscheidt dit packagingsysteem zich van bijvoorbeeld een 3<sup>e</sup> generatie packagingsysteem, waarbij de Gag



eiwitten en alle Pol eiwitten door één plasmide worden gecodeerd. Zowel Lenti-X als Trans-Lentiviral zijn in principe geschikt voor gebruik van diverse lentivirale transfervectoren (niet-SIN, enkelzijdig 3' SIN, dubbelzijdig 5' en 3' SIN). Hierdoor is er geen reden voor het thans aangebrachte onderscheid tussen beide begrippen ('lenti-X lentiviraal vectorsysteem' en 'translenti lentiviraal vectorsysteem') in artikel 2 in begripsomschrijving c ('*het plasmide met het transgen....*'), waarin expliciet is aangegeven dat in het geval van het 'lenti-X lentiviraal vectorsysteem' sprake is van de combinatie met een niet-SIN transfervector en in het geval van het 'translenti lentiviraal vectorsysteem' sprake is van de combinatie met een enkelzijdig (3') SIN transfervector.

### **1.2 Pseudotypering met de ecotrope muizen lentivirus (MuLV) receptor**

Naar aanleiding van de voorgenomen wijziging van artikel 2 waarbij de begrippen 'lenti-X lentiviraal vectorsysteem' en 'translenti lentiviraal vectorsysteem' aan de Regeling ggo worden toegevoegd, merkt de COGEM op dat begripsomschrijving e. onvolledig is. Begripsomschrijving e. luidt:

*'de overige genen voor replicatie en packaging zijn verdeeld over de andere vier plasmiden, het packaging signaal en de LTR's ontbreken en het pseudotyperingsenvelopeiwit is afkomstig van het vesiculaire stomatitis virus'*

De COGEM adviseert om in deze begripsomschrijving '*of het pseudotyperingsenvelopeiwit is afkomstig van de ecotrope muizen lentivirus receptor*' toe te voegen.

Naast de pseudotypering van lentivirale deeltjes met het envelopeiwit van het vesiculaire stomatitis virus (ook wel VSV-G genoemd), is een andere, veel gebruikte optie om, met beide vectorsystemen, lentivirale deeltjes te produceren die gepseudotypeerd zijn met de ecotrope muizen lentivirus (MuLV) receptor. Pseudotypering van lentivirale deeltjes met de ecotrope MuLV receptor zorgt voor een tropisme voor rat- en muizencellen. Lentivirale deeltjes met de ecotrope MuLV receptor zijn daarmee meer biologisch ingeperkt dan lentivirale deeltjes die gepseudotypeerd zijn met VSV-G.

## **2. Wijzigingen ten aanzien van werkzaamheden met gg-poliovirussen**

Ten aanzien van werkzaamheden met genetische gemodificeerde (gg-)poliovirussen zijn wijzigingen voorgenomen in Bijlage 5.4.3, die gerelateerd zijn aan de opschaling van poliovirus type 2 naar pathogeniteitsklasse 3:

*De onderdelen c en h worden als volgt gewijzigd:*

*1°. Na 'klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III' wordt ingevoegd 'klasse 2 en betreft Enterovirus C Poliovirus type 1 of 3 of Enterovirus C Coxsackievirus type A1, A11, A13, A17, A19 tot en met A22, A24 en de donorsequentie is afkomstig van Enterovirus C Poliovirus type 2: ML-III'.*



2°. De zinsnede ‘de donorsequentie is afkomstig van Enterovirus C Poliovirus type 1, 2 of 3’ wordt vervangen door ‘de donorsequentie is afkomstig van Enterovirus C Poliovirus type 1 of 3’.

De COGEM wijst erop dat in de voorgenomen wijzigingen wordt gerefereerd naar de ‘donorsequentie’ van poliovirus type 2. Dit heeft als gevolg dat *elke* sequentie afkomstig van poliovirus type 2 in combinatie met de genoemde Enterovirus C poliovirussen en coxsackievirussen op ML-III ingeschaald worden. De COGEM merkt op dat het begrip ‘donorsequentie’ in deze context tekort schiet. Het is niet duidelijk of met donorsequentie nucleotiden of aminozuren wordt bedoeld, en hoe lang deze sequentie is. Dit kan van belang zijn voor de milieurisicobeoordeling. In het geval er bijvoorbeeld werkzaamheden met poliovirus type 3 uitgevoerd worden en daarbij een donorsequentie van 6 nucleotiden (coderend voor 2 aminozuren) aan het genoom worden toevoegen, dan zal inschaling op ML-II vanuit milieuveiligheidsoverwegingen gerechtvaardigd zijn, mits de donorsequentie niet resulteert in een hogere pathogeniteit of immunogeniteit van het gg-poliovirus. Het is echter zeer aannemelijk dat de toegevoegde sequentie van 2 aminozuren ook in één van de eiwitten van poliovirus type 2 zal voorkomen. In het licht van de voorgenomen wijzigingen zou dit resulteren in inschaling van de betreffende werkzaamheden op ML-III, terwijl dat vanuit milieuveiligheidsoverwegingen niet noodzakelijk is.

Tevens wijst de COGEM erop dat de risico’s die verbonden zijn aan werkzaamheden met gg-poliovirussen gerelateerd zijn aan de manteleiwitten die tot expressie komen. De manteleiwitten bepalen de immunogeniteit tegen het virus. Als gevolg van de wereldwijde lage vaccinatiegraad voor poliovirus type 2, kunnen chimere poliovirussen die manteleiwitten van poliovirus type 2 tot expressie brengen, een verhoogd risico vormen. De COGEM is daarom van oordeel dat werkzaamheden met bovengenoemde chimere Enterovirus C poliovirussen en coxsackievirussen welke manteleiwitten van poliovirus type 2 tot expressie brengen, op ML-III uitgevoerd worden.

De COGEM concludeert dat het gebruik van het begrip ‘donorsequentie’ in de context van de voorgenomen wijzigingen niet goed bruikbaar is. Mits passend bij de besluiten van de World Health Organization (WHO) in het kader van het wereldwijde eradicatieplan van poliovirus type 2, stelt de COGEM voor een formulering te kiezen waarbij het begrip ‘donorsequentie’ wordt vermeden, bijvoorbeeld met de volgende strekking:

“een chimeer poliovirus dat een of meerdere manteleiwitten van poliovirus type 2 tot expressie brengt wordt op ML-III ingeschaald”



### 3. Toelichting bij de voorgenomen wijzigingen is beperkt

De COGEM wil erop wijzen dat de toelichting bij de voorgenomen wijzigingen in een aantal gevallen zeer beknopt of afwezig is. Voor de direct betrokkenen in de uitvoering van ggo-werkzaamheden, waaronder onderzoekers en bioveiligheidsfunctionarissen, is een heldere en duidelijke toelichting over de voorgenomen wijzigingen van de Regeling ggo erg belangrijk. Bij een aantal van de voorgenomen wijzigingen is nu niet duidelijk wat de onderliggende reden is, of de wijziging voorziet in een situatie die in de praktijk voorkomt en welk milieurisico door de wijziging wordt afgedekt. Een voorbeeld hiervan betreft de aanpassing van de inschaling van cellen afkomstig van dieren of planten in Bijlage 5.4.4. De achterliggende redenen ter aanscherping van 5.4.4.a en 5.4.4.d, en verruiming van 5.4.4.c en 5.4.4.f zijn niet inzichtelijk.

Een ander voorbeeld betreft de wijzigingen m.b.t. de voorschriften voor activiteiten met gg-planten. Enkele voorschriften die worden voorgeschreven voor werkzaamheden in de ene situatie, worden voor werkzaamheden in een andere vergelijkbare situatie niet vermeld. Het betreft:

- het voorschrift om handen bij het verlaten van een werkruimte te wassen of ontsmetten;
- het voorschrift om beschermende kleding te dragen;
- het voorschrift om met een gevalideerde methode vast te stellen of gg-planten die m.b.v. een gg-micro-organisme zijn vervaardigd en daarna in een andere werkruimte gebruikt worden, vrij zijn van het betreffende micro-organisme.

Daarnaast is de terminologie die gebruikt wordt niet altijd eenduidig. In de meeste gevallen wordt gesproken over gg-planten die het stadium van bloei bereiken, maar in de voorgestelde wijziging wordt de term 'bloeiende gg-planten' gebruikt.

De COGEM adviseert om ten aanzien van het bovenstaande consistentie aan te brengen in formulering en de hantering van voorschriften.

De COGEM merkt daarnaast op dat er verwarring kan ontstaan bij de voorgenomen wijziging in Bijlage 9.1.1.3.3.9. Daar wordt gesteld:

- c. De geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed;*
- d. De dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet van klasse II geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd;*

De COGEM wijst erop dat er niet gesproken kan worden van een 'gesloten' vloeistofdichte doos, aangezien de eieren belucht dienen te worden. De COGEM adviseert om een andere formulering te kiezen, waarbij het woord 'gesloten' wordt vermeden en als alternatief gesproken wordt over een 'luchtdoorlaatbare, vloeistofdichte doos'.



Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap  
Voorzitter COGEM

c.c.           Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo  
                  Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

---

i Wu X. *et al.* (2000). Development of a novel trans-lentiviral vector that affords predictable safety. *Mol. Ther.* 2: 47-55