

Advies betreffende: **Regulatie van de celcyclus**

Kennisgever: **Nederlands Kanker Instituut**

COGEM kenmerk
CGM/010627-01

BGGO nummer
GGO 96-106/4

Datum advies
27 juni 2001

Inleiding

De werkzaamheden beschreven in de kennisgevingen BGGO 96-106, BGGO 96-106/1 en BGGO 96-106/2 richten zich voornamelijk op het gebruik van genetisch gemodificeerde replicatie-defectieve adenovirussen in transgene en knock-out muizen. Het gaat hierbij om viruspartikels met de volgende donorsequenties: Cre, Lac-Z, FLP, BFP, GFP, retrotransposon (humaan). In de destijds afgegeven beschikking (DGM/SVS GGO 96-106/2) zijn de betreffende werkzaamheden ingeschaald op D-II niveau. De kennisgever verzoekt om onder lid 5 genoemde proefdieren (muizen), die zijn geïnjecteerd met genetisch gemodificeerde replicatie-defectieve adenovirussen, twee weken na injectie met het virus uit de te huisvesten in een D-I faciliteit in plaats van de in de beschikking aangegeven D-II faciliteit. De kennisgever onderbouwt dit verzoek met een onderzoeksrapport waarin experimenteel aangetoond wordt dat er na twee weken geen infectieus virus meer aanwezig is.

Overwegingen

Onderzoekers hebben gevraagd de met adenovirus vectoren geïnfecteerde muizen, onder D-I condities te huisvesten vanaf het moment dat er geen virus aangetoond kan worden. Met behulp van een 293T lysis assay en een 293 ACZL assay hebben de onderzoekers aangetoond dat één week na infectie slechts in een van de vier muizen virus in de bloedbaan aanwezig is. Twee weken na injectie kan in de bloedbaan van de geteste muizen geen virus aangetoond worden. Wel is vector DNA in de lever aantoonbaar tot minimaal vier weken na toediening. Deze resultaten zijn geheel in lijn met de verwachting. Adenovirus type-5 vectoren transduceren preferentieel de lever wanneer intraveneus toegediend aan knaagdieren. Delen van het vector DNA kunnen hier langdurig aanwezig blijven, bij immuundeficiënte muizen zelfs levenslang. Vector DNA verblijft intracellulair, extrachromosomaal in de lever-parenchym cellen, en kan niet gerescued of gemobiliseerd worden door humane adenovirussen, immers deze repliceren niet doordat er geen switch gemaakt kan worden van vroege naar late genexpressie. Daarentegen is het onduidelijk of mobilisatie door muizen adenovirussen kan plaatsvinden. Echter, muizenadenovirussen zijn de laatste jaren niet meer in dierverspreiding aangetroffen. Middels de door de onderzoekers uitgevoerde PCR is aangetoond dat de geïnfecteerde dieren enkel drager zijn van het transgen en geen geassocieerd virus bezitten. Relevant is dus dat er twee weken na infectie geen intact virus aangetoond kan worden in de bloedbaan. Uit het oogpunt van de milieuveiligheid

acht de COGEM het niet noodzakelijk de, muizen op D-II niveau te huisvesten. De COGEM is van mening dat huisvesting op D-I niveau toereikend is.

Inschaling

Aangezien er twee weken na toediening van het replicatie-deficiënte adenovirus sprake is van handelingen met (partieel) transgene dieren en niet van handelingen van GGO's in associatie met al dan niet transgene dieren wordt het de onderzoekers toegestaan de dieren over te brengen op D-I niveau. De COGEM is van mening dat inschaling volgens artikel 6.8.2. van de Regeling¹ (D-I) plaats kan vinden. De onderzoekers dienen hierbij de onderstaande aanvullende voorschriften op te volgen.

- tussen de laatste virustoediening en overplaatsing naar het D-I verblijf ligt een periode van minimaal 14 dagen;
- van alle proefdieren is aangetoond dat deze vrij zijn van infectieus adenovirus;
- immuun-deficiënte muizen die een humaan tumor-xenograft dragen dienen na toediening van adenovirus op D-II gehuisvest te blijven.

¹ Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en Richtlijnen van de COGEM bij deze regeling (1998)