

Advies betreffende: **Gebruik van HeLa cellijnen getransformeerd met HIV-1 genen voor het laden van dendritische cellen voor in vitro antigeen presentatie studies**

Kennisgever: **Stichting Biomedical Primate Research Centre**

COGEM kenmerk
CGM/010726-01

BGGO nummer
GGO 01-111

Datum advies
26 juli 2001

Inleiding

De aanvrager gaat gebruik maken van Hela cellijnen, getransformeerd met HIV-1 genen t.b.v. het "laden" van dendritische cellen voor in vitro antigeenpresentatie studies. De voorgenomen experimenten maken deel uit van in vitro onderzoek naar de presentatie van HIV-1 eiwitten door dendritische cellen van rhesusaap en chimpansee. Hiertoe worden Hela cellen die de HIV-1 eiwitten tat of HIV-1 gag, env, tat, rev en nef tot expressie brengen met een apoptose-inducer tot apoptose gebracht en vervolgens geïncubeerd met dendritische cellen (DC's). Vervolgens worden autologe T-cellen met deze met eiwitten geladen DC's gestimuleerd. Van deze T-cellen wordt vervolgens de mate van proliferatie en cytokine productie gemeten in een thymidine incorporatie- of Elisa assay.

Om de DC's te laden maakt de aanvrager gebruik van een tweetal getransformeerde cellijnen.

HLtat is stabiel getransfecteerd met pL3tat en brengt het eerste exon van het HIV-1 tat gen tot expressie onder de controle van de HIV-1 LTR.

HL2/3 is stabiel getransfecteerd met pHXB2/3gpt en bevat meerdere kopieën van de full-length HIV-1 kloon HXB2/3gpt en brengt de HIV-1 eiwitten gag, env, tat, rev en nef tot expressie. Volgens de aanvrager en de bijgeleverde data sheet produceert deze cellijn geen detecteerbare virale reverse transcriptase of mature virusdeeltjes. De cellijn wordt beschreven in een artikel van Ciminale et al., 1990. Hierin worden ook de assays beschreven waarmee wordt gescreend voor reverse transcriptase en infectieuze virusdeeltjes. Tevens wordt in dit artikel aangegeven dat kloon HXB2/3gpt van origine infectieus is maar na transfectie in humane cellen geen infectieus virus produceert waarschijnlijk ten gevolge van mutaties in regio's van het genoom betrokken bij protease en reverse transcriptase activiteit (Ciminale et al., 1990, p1285). Er is echter wel sprake van de productie van immature niet-infectieuze virusdeeltjes. Een precieze moleculaire karakterisatie van de aard van de mutaties ontbreekt echter.

Overweging en inschaling

Het gebruik van de HLtat cellijn leidt in eerste instantie op basis van de pathogeniteitsklasse van HIV-1 (klasse 3) tot een C-I inschaling (artikel 6.5.1.c van de

Regeling)¹. Echter, de aanwezigheid van virale sequenties is beperkt tot een gekarakteriseerd HIV-1 LTR en een synthetisch eerste exon van het HIV-1 tat gen. De COGEM acht het onaannemelijk dat deze sequenties genetische informatie bevatten die coderen voor een schadelijk genproduct. Daarnaast is de COGEM van mening dat deze sequenties geen aanleiding kan geven tot de vorming van replicatie-competente virudeeltjes. Op grond van het voorgaande is de COGEM van mening dat voor het gebruik van de HLtat cellijn inschaling op VMT niveau gerechtvaardigd is (artikel 6.5.1.e van de Regeling).

Voor de inschaling van de HL2/3 cellijn is er uitgegaan van een volvirulent HIV-1 virus (pathogeenklasse 3). De COGEM vindt dat er niet zo zeer sprake is van een virale vector. De historie van de cellijn en de aard van de mutaties, die er voor zorgen dat er geen autonoom replicerend virus kan worden gevormd zijn onbekend. De bijbehorende data wijzen op de afwezigheid van infectieuze HIV-1 virusdeeltjes in de HL2/3 cellijn. Echter een precieze en recente moleculaire analyse om de aard hiervan te onderbouwen met het oog op het mogelijk optreden van revertanten ontbreekt. Het is niet onwaarschijnlijk dat deze cellijn inmiddels nieuwe mutaties heeft geaccumuleerd. De COGEM besluit daarom het gebruik van de HL2/3 cellijn uitgaande van een volvirulent HIV-1 virus (pathogeenklasse 3) met de mogelijkheid tot vorming van infectieuze virusdeeltjes op C-II niveau in te schalen (artikel 6.5.1.b van de Regeling). Pas wanneer de onderzoekers middels state-of-the-art co-cultivaties assays kunnen aantonen dat er geen virus wordt overgedragen door de te gebruiken cellen, zou van een lagere inschaling dan C-II sprake kunnen zijn.

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