

Advies betreffende: **Karakterisering van virale factoren betrokken bij replicatie van single-stranded DNA virussen**

Kennisgever: **Universiteit Leiden**

COGEM kenmerk  
**CGM/011001-02**

BGGO nummer  
**GGO 01-156**

Datum advies  
**1 oktober 2001**

## Inleiding

De aanvrager is voornemens full-length moleculaire kloons te genereren van het humane TT virus (TTV) en het TTV-like minivirus (TLMV). De infectiviteit van de gegenereerde kloons zal worden getest in een panel van humane primaire cellen, tumorcellijnen en in Epstein Barr Virus (EBV)-geïmmortaliseerde lymfocyten. De open reading frames (ORF) 1 tot en met 3 van elk virus zullen tot expressie worden gebracht in *E. coli* ten behoeve van functionele en bindingsstudies. Tevens zullen de ORF's met behulp van een baculovirus systeem tot expressie gebracht worden. Hierbij zal onderzocht worden of in afwezigheid van genomisch DNA lege (capside) deeltjes worden gevormd die in dat geval gebruikt kunnen worden voor bindingsstudies aan gastheercellen.

## Overwegingen

Het TT virus (TTV) is een naakt enkelstrengig DNA-virus dat werd geïdentificeerd in het bloed van een Japanse hepatitis patiënt. Deze patiënt bleek de infectie opgelopen te hebben ten gevolge van een bloedtransfusie. Geconcludeerd werd dat TTV betrokken is bij de pathogenese van humane hepatitis en de daaraan gerelateerde leverziekte. De associatie van TTV met hepatitis is niet geheel duidelijk aangezien wereldwijd infectie met TTV in de populatie als een normaal voorkomende infectie wordt gezien. TTV kent een brede range van genetische variëteiten. Mogelijkerwijs zijn bepaalde specifieke genotypen gerelateerd aan hepatitis.

Het genoom van TTV bestaat uit een negatief-strengig circulair DNA molecuul van circa 3.8 kb. Sequentie-analyse suggereert dat het virus gerelateerd is aan het chicken anemia virus (CAV) dat behoort tot de familie Circoviridae. In de zoektocht naar genetische varianten van TTV werd TTV-like mini virus (TLMV) geïdentificeerd, fylogenetisch gezien een intermediair tussen TTV en CAV met een circulair enkelstrengig antisense DNA genoom van circa 2.9 kb. Momenteel worden zowel TTV als TLMV geclassificeerd onder de familie Paracircoviridae.

TTV en TLMV bezitten een vergelijkbare genoomorganisatie hoofdzakelijk bestaande uit een drietal deels overlappende ORF's die coderen voor respectievelijk VP1, 2 en 3. De functie van deze eiwitten is vrijwel niet gekarakteriseerd. Opgemerkt dient te worden dat bij sommige TTV en TLMV isolaten ORF 3 ontbreekt. Naar analogie van CAV spelen de producten van VP1 en VP3 een rol bij respectievelijk de encapsidatie en de replicatie van het virus. Over het replicatie-mechanisme van beide virussen is weinig bekend. Over het algemeen vindt replicatie van circovirussen plaats in de nucleus terwijl assemblage

van de virusdeeltjes plaatsvindt in het cytoplasma. Propagatie van de virussen kan plaatsvinden in lymfoïde cellijnen.

### **Inschaling**

Voor de te gebruiken virussen TTV en TLMV is in de Regeling nog geen pathogeniteitsklasse vastgesteld. Momenteel zijn er geen ziektebeelden bekend die direct gekoppeld kunnen worden aan één van beide virussen, behalve een mogelijke link van TTV met hepatitis. Gezien echter de "recente" isolatie van beide virussen, is wellicht een langere tijd nodig om de virussen aan een ziektebeeld te koppelen en de etiologie van het virus vast te stellen. In ieder geval is voor TTV bekend dat een actieve infectie onder de populatie vaak voorkomt maar asymptomatisch lijkt te verlopen. Indien één van beide virussen gerelateerd zou zijn aan hepatitis dan zou voor de geassocieerde ziekte therapeutische interventie beschikbaar zijn. Verder is er vrijwel niets bekend over de pathogeniciteit, route van transmissie en het gastheerspectrum van beide virussen.

De COGEM adviseert pathogeniteitsklasse 2 toe te kennen aan zowel het TTV als het TLMV virus, en de inschaling van de werkzaamheden conform de Regeling [Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en Richtlijnen van de COGEM bij deze regeling (1998)] en het inschalingsvoorstel van het Bureau GGO uit te werken.