

Advies betreffende: **Werkingsmechanisme van membraan-geassocieerde signaal-transductie systemen**

Kennisgever: **Stichting Katholieke Universiteit, UMC St Radboud**

COGEM kenmerk
CGM/020513-02

BGGO nummer
GGO 01-280

Datum advies
13 mei 2002

Inleiding

Het onderzoek is gericht op ontrafeling van de structuur en het werkingsmechanisme van membraan-gebonden signaal-eiwitten zoals receptoren, kanalen, transporters, translocasen en ionenpompen en daarmee geassocieerde transductie-modulatoren zoals GTP-bindende eiwitten, calcium-bindende eiwitten, chaperones, phospholipasen, phosphodiesterasen, lipiden- en proteïne-kinasen en cyclasen. Voor functionele analyse worden deze eiwitten tot expressie gebracht in zoogdiercellijnen. Voor een structurele analyse worden expressie systemen gehanteerd die gebaseerd zijn op *E. coli*, gist of insectencellen.

De aanvragers geven aan dat voor de expressie van complexe membraangebonden eiwitten onder andere gebruik gemaakt zal worden van zoogdiercellen als gastheer in combinatie met recombinante alpha virale vectoren (Semliki Forest virus en Sindbis virus). Recombinante virusdeeltjes zullen worden gegenereerd in BHK cellen met behulp van helper plasmides.

Overwegingen en advies

Het gebruik van het Sindbis systeem wordt doorgaans ingeschaald op C-I niveau. Eerder heeft de COGEM geadviseerd over het gebruik van dit systeem, bestaande uit één helperplasmide, gebaseerd op een artikel van Bredenbeek . Uit het artikel van Bredenbeek blijkt echter dat het ontstaan van infectieuze replicatie-competente viruspartikels door middel van replicatie niet uitgesloten kan worden.

De kennisgever heeft aangegeven bij de huidige zoogdiercellen experimenten met dit recombinante virus te willen uitvoeren op VMT niveau. Hiertoe heeft de kennisgever een artikel van Frolov meegezonden, waarin het betreffende Sindbis systeem is beschreven. Uit het artikel van Frolov blijkt dat bij toepassing van twee verschillende helpervectoren de vorming van replicatie-competent recombinant virus niet wordt waargenomen.

Daar het te gebruiken Sindbis systeem nu twee helpervirussen gebruikt, één met de genen voor de "spike"eiwitten en één met het capsid gen, betekent dat dat er meerdere recombinaties noodzakelijk zijn om een replicatie-competent virus te genereren. De COGEM acht het echter onvoldoende onderbouwd dat de vorming van replicatie-competent virus niet zou optreden. Uit de informatie van de aanvragers blijkt niet welke combinaties van vectoren gebruikt worden. Hierdoor kan geen zekerheid worden

verkregen omtrent de veiligheid van het systeem. Derhalve adviseert de COGEM de werkzaamheden in te schalen op CI niveau.