

Advies betreffende: **Molecular and cellular aspects of picornavirus replication**

Kennisgever: **UMC St. Radboud Nijmegen**

COGEM kenmerk
CGM/020823-06

BGGO nummer
GGO 01-230

Datum advies
3 september 2002

Inleiding

Het doel van het onderzoek is te achterhalen welke mechanismen picornavirussen hanteren om genomisch RNA te repliceren en hoe deze virussen diverse gastheercel functies en structuren modificeren. Picornavirussen zijn een diverse groep van virale pathogenen die voor een groot deel verantwoordelijk zijn voor de meeste humane virale infecties, variërend van verkoudheid tot polio (1). Het virale RNA van picornavirussen bevat complexe tertiäre structuren in de 5' en 3' niet-coderende regio's (NCR). Van bepaalde structuren in de 5' NCR is aangetoond dat zij een rol spelen in de translatie van het virale RNA. Andere structuren in de 5'NCR en 3'NCR spelen een rol bij de replicatie van het virale RNA. Het onderzoek is erop gericht te onderzoeken welke RNA sequenties of structuren in de 3'NCR een rol spelen in de initiatie van de virale RNA replicatie en hoe deze structuren opgebouwd zijn. Daarnaast zal er getracht worden om de specifieke eiwitten van het picornavirus te identificeren die een rol spelen bij het modificeren van bepaalde gastheer cel functies zoals die waar te nemen zijn in de geïnfecteerde cel. Hierbij spelen de L, 2A, 2B, 2C en 3A eiwitten van het picornavirus een belangrijke rol. De L en 2A eiwitten spelen een rol in signaaltransductie processen en de remming van de gastheer translatie (2). De 2B, 2C en 3A eiwitten zijn betrokken bij de modificatie van intracellulaire membraan structuren (1). In de genen coderend voor deze eiwitten en in zowel de 5'NCR alsde 3'NCR van picornavirussen (coxsackie- en mengovirus) zullen mutaties aangebracht worden, waarna het effect van deze mutaties op de groeisnelheid van deze recombinant picornavirussen in vitro onderzocht zal worden. Daarnaast zullen er ook chimere picornavirussen geproduceerd worden.

Advies en overweging

Het betreft hier de productie van genetisch gemodificeerde (chimere) picornavirussen. Voor de inschaling wordt uitgegaan van volvirulente replicatie-competente virussen van pathogeniteitklasse 2. Er zullen constructen gemaakt worden bestaande uit coxsackievirus, poliovirus en mengovirus sequenties. Uit de kennisgeving blijkt dat er mutaties worden aangebracht in de voor L, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C en 3D eiwitten coderende gebieden, en in de 5'en 3' NCR van full-length cDNA's van coxsackie- en mengovirussen. Het is voor de COGEM niet duidelijk om welke mutaties het precies gaat, en welke, wat structuur betreft, te vervaardigen recombinant virussen uiteindelijk worden beoogd. Daarnaast is de aanvrager voornemens chimere virussen te vervaardigen waarbij zal worden uitgegaan van zowel het coxsackie- als mengovirus als

“backbone”. In deze backbones zullen niet-coderende regio’s en genen coderend voor niet-structurele eiwitten worden uitgewisseld met al dan niet gemuteerde corresponderende regio’s afkomstig van andere niet nader gespecificeerde picornavirussen. Van deze recombinant (chimere) virussen zal het groeigedrag in celweek worden onderzocht. De COGEM is van mening dat de aanvrager de uiteindelijk structuur van de beoogde recombinant (chimere) picornavirussen onvoldoende specificeert. Derhalve is de COGEM van mening dat vanwege de onvoorspelbaarheid van de fitness van de uiteindelijk te genereren recombinant (chimere) virussen, vanuit het voorzorgsprincipe een inschaling op C-II niveau (artikel 4.1.1.4 van de Regeling GGO (3)) gerechtvaardigd is.

¹ Wimmer, E. *et al.*, (1993), *Annual Review of Genetics*, **27**, blz. 353-436

² Li, X. *et al.*, (2001), *Journal of General Virology*, **82**, blz. 397-408

³ Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en Richtlijnen van de COGEM bij deze regeling (1998)