

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. V.L.W.A. Heijnen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 20 september 2023
KENMERK CGM/230920-01
ONDERWERP Briefadvies omlaagschaling retroviraal getransduceerde cellen


Geachte mevrouw Heijnen,

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met retroviraal getransduceerde humane cellen, n.a.v. een vergunningaanvraag van Byondis B.V. met als titel “Inschalingsverzoek GGO op niveau ML-I” (IG 23-130_2.8-000). Deze adviesvraag is gesteld naar aanleiding van een eerder COGEM-advies over hetzelfde dossier, zoals hieronder beschreven.

De aanvrager heeft een drietal humane genetisch gemodificeerde (gg-)cellijnen aangekocht (KILR Jurkat cell pool, Pathhunter Jurkat SIRPa en PathHunter U2OS TSHR B-arrestin) en wil werkzaamheden (celkweek en functionele assay's) met deze cellen uitvoeren op ML-I. Omdat deze cellijnen verkregen zijn door transductie met een gammaretrovirale vector, kan omlaagschaling naar ML-I alleen plaatsvinden wanneer voldaan wordt aan bepaalde voorwaarden zoals beschreven in het generieke COGEM-advies over de inschaling van werkzaamheden (productie, transductie, en werkzaamheden met getransduceerde cellen) met lenti- en retrovirale vectoren.^a Deze voorwaarden zijn:

- De te gebruiken cellijnen zijn van humane oorsprong en zijn bewezen vrij van (replicatiecompetente) gammaretrovirussen (aangetoond met een gevalideerde test) teneinde het ontstaan van een recombinant virus, of mobilisatie van het vectorgenoom uit te sluiten;
- De voor transductie te gebruiken gammaretrovirale vectorbatch is vrij van replicatiecompetent retrovirus (RCR);

^a COGEM (2021). Heroverweging inschaling werkzaamheden met replicatiedeficiënte lenti- en gammaretrovirale vectordeeltjes onder Ingeperkt Gebruik. COGEM advies CGM/210218-01

- 
- Er vindt een scheiding plaats in tijd en ruimte tussen de werkzaamheden met gammaretroviraal getransduceerde cellen en cellen die behoren tot een soort waarvan bekend is dat ze vaak intacte (of vrijwel intacte) endogene gammaretrovirussen bevatten (o.a. muizen-, vogel-, varkens-, katten-, en rattencellen) om kruiscontaminatie te voorkomen. Voor de scheiding van werkzaamheden kan gedacht worden aan gescheiden laboratoriumruimtes of het gescheiden gebruik van veiligheidskabinetten;
 - Bij gelijktijdige werkzaamheden met andere cellen, dient (eerst) aangetoond te zijn dat deze negatief zijn voor gammaretrovirussen.

De aanvrager heeft aangegeven dat alle werkzaamheden zullen plaatsvinden in een veiligheidskabinet klasse II (VK-II) waarbij handschoenen worden gedragen. Ook zullen de cellijnen tijdens de werkzaamheden en de incubatie gescheiden gehouden worden van animale cellijnen afkomstig van muizen of ratten. Hiervoor zijn aparte veiligheidskabinetten en incubatoren beschikbaar. Tevens wordt het werkoppervlak na werkzaamheden in het VK-II schoongemaakt met een 0,1% SDS-oplossing en wordt minimaal 30 minuten gewacht voordat er andere werkzaamheden zullen plaatsvinden.

Om te bevestigen dat er geen RCR of (retro)virussen in de cellijnen aanwezig zijn, heeft de aanvrager bij de initiële aanvraag gegevens aangeleverd van verschillende testen, waaronder die van een 'cel marker rescue test'.

De COGEM heeft in april van dit jaar over de initiële aanvraag geadviseerd.^b De humane oorsprong van de cellen werd in de bijgeleverde testgegevens bevestigd, echter met betrekking tot de 'cell marker rescue assay', merkte de COGEM op dat deze test in principe geschikt is om RCR aan te tonen, maar dat in de aangeleverde gegevens een goede positieve controle ontbreekt. Zij concludeerde: "Omdat met de huidige aangeleverde gegevens geen definitieve uitspraak gedaan kan worden over de uitslag van de RCR-test en eerdere validatiegegevens ontbreken, kan de COGEM niet instemmen met omlaagschaling naar ML-I. Indien validatiegegevens van de 'cell marker rescue test' aangeleverd worden, of een geschikte positieve controle geïncorporeerd wordt, zoals een replicerend Moloney Murine Leukemia Virus (MoMLV), of bijvoorbeeld de resultaten van een gevalideerde PERT test overlegd worden, kan de COGEM ermee instemmen dat de voorgenomen handelingen op ML-I plaatsvinden."

Naar aanleiding van het COGEM-advies heeft de aanvrager de drie aangevraagde cellijnen door een commerciële partij laten testen met een gevalideerde 'product-enhanced reverse transcriptase' (PERT)-test. De PERT-test is een zogenoemde functionele assay waarmee 'reverse transcriptase' (RT-)activiteit van eventueel aanwezige RCR of (complementerende) gammaretrovirussen in

^b COGEM (2023). Omlaagschaling van werkzaamheden met gammaretroviraal getransduceerde humane cellen naar ML-I. COGEM advies 230405-01



cellijnen kan worden aangetoond.^{c,d} De PERT-testen van de drie cellijnen waren negatief. De aanvrager heeft het dossier opnieuw ingediend, tezamen met het protocol, de validatiegegevens en de resultaten van de PERT-testen.

De PERT-test is een algemeen geaccepteerde en gevoelige methode om eventueel aanwezige RCR of andere (gamma)retrovirussen aan te kunnen tonen. De COGEM heeft het protocol, de validatie en de resultaten van de uitgevoerde PERT-testen op de drie cellijnen ingezien. Aangezien de drie cellijnen negatief getest zijn in de PERT-testen, concludeert de COGEM dat de aangevraagde cellijnen vrij zijn van RCR en complementerende (gamma)retrovirussen. Daarmee is voldaan aan de voorwaarden voor omlaagschaling van retroviraal getransduceerde cellen. De COGEM stemt in met de inschaling van werkzaamheden met de cellijnen (KILR Jurkat cell pool, Pathhunter Jurkat SIRPa en PathHunter U2OS TSHR B-arrestin) naar ML-I met de aanvullende voorschriften zoals die zijn voorgesteld in de aanvraag.

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

- Drs. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

^c Van der Meulen K & Rüdelsheim PLJ (2023). Detection of replication competent virus formation during production and use of lenti- and gammaretroviral vectors - An inventory and description of test methods and their characteristics. COGEM onderzoeksrapport CGM 2023-01

^d Sastry L *et al.* (2005). Product-enhanced reverse transcriptase assay for replication-competent retrovirus and lentivirus detection. *Hum. Gene Ther.* 16: 1227-1236