

Aan de minister van
Infrastructuur en Waterstaat
dhr. M.G.J. Harbers
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 17 juni 2024
KENMERK CGM/240617-01
ONDERWERP Advies over de EC uitspraak ggo-status van 'viral replicon particles' (publieksversie)

Geachte heer Harbers,

De Europese Commissie (EC) heeft een besluit genomen over de status van zogenaamde 'viral replicon particles' (VRP's). De EC stelt dat VRP's geen genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) zijn. Echter VRP's zijn afgeleid van virussen, die genetisch gemodificeerd zijn om in dierlijke of menselijke cellen een gen afkomstig van een ander organisme tot expressie te brengen. VRP's kunnen voor verschillende toepassingen, waaronder vaccins, worden ingezet. De verklaring van de EC betekent dat bij marktaanvragen voor toepassingen met VRP's geen milieurisicobeoordeling meer plaatsvindt. De COGEM wijst er middels deze brief op dat dit besluit onduidelijkheden oproept, wetenschappelijke en juridische onderbouwing mist en negatieve implicaties heeft op het gebied van veiligheid en het maatschappelijk draagvlak.

1. Achtergrond informatie over 'viral replicon particles' (VRP's)

VRP's vallen onder de bredere term 'replicons' en zijn verkregen door virussen genetisch te modifieren. Het virusgenoom (RNA of DNA, afhankelijk van het virus) is ingepakt in deeltjes. Virussen kunnen cellen infecteren, zich in de cel vermeerderen, nieuwe virusdeeltjes maken en zich verspreiden naar andere cellen. VRP's daarentegen kunnen na infectie van een cel, geen nieuwe virusdeeltjes meer maken. Dit komt doordat de genen die coderen voor de eiwitten waaruit het virusdeeltje is opgebouwd (de structurele eiwitten), zijn verwijderd uit het virale genoom. Dit gemodificeerde virale genoom bevat nog wel de genen die coderen voor de eiwitten die de vermeerdering (replicatie) van het virale genoom in de cel verzorgen. De productie van VRP's vindt plaats door de ontbrekende structurele genen los ('in trans') aan te bieden, en zo het virale genoom in te pakken in de structurele eiwitten. De geproduceerde VRP's kunnen hierdoor cellen (in dieren of mensen) infecteren. Na infectie worden de genen op het virale genoom afgelezen, wat resulteert in replicatie van dit virale genoom, waardoor het virale genoom langere tijd in de cellen aanwezig



blijft. Er kunnen echter geen nieuwe virusdeeltjes meer gevormd worden, omdat de benodigde virale structurele genen niet meer op het genoom aanwezig zijn. Hierdoor kunnen in principe geen nieuwe cellen geïnfecteerd worden.

VRP's en andere replicons worden gebruikt om zogenaamde 'vreemde' genen (genen van een ander organisme dan het organisme dat geïnfecteerd wordt, ook wel transgenen genoemd) tot expressie te brengen in cellen, en kunnen worden ingezet als vaccin. De transgenen worden geplaatst op de plek van de verwijderde structurele genen in het virale genoom. Of de virale genomen van de VRP's daadwerkelijk niet verspreid kunnen worden naar andere cellen, hangt mede af van de ingebrachte genen.

2. De uitspraak van de Europese Commissie

De EC heeft uitgesproken dat VRP's niet voldoen aan de definities van een 'organisme' en een 'genetisch gemodificeerd organisme' zoals opgenomen in de Richtlijn 2001/18 (Introductie van ggo's in het milieu¹). In deze richtlijn wordt verstaan onder:

1. *'organisme': een biologische entiteit met het vermogen tot replicatie of tot overdracht van genetisch materiaal;*
2. *'genetisch gemodificeerd organisme (GGO)': een organisme, met uitzondering van menselijke wezens, waarvan het genetische materiaal veranderd is op een wijze welke van nature door voortplanting en/of natuurlijke recombinate niet mogelijk is.*

Kort samengevat stelt de EC in haar uitspraak dat VRP's geen organismen zijn, omdat er na infectie van een gastheercel geen nieuwe virusdeeltjes gevormd worden, en er daardoor geen nieuwe cellen geïnfecteerd zouden kunnen worden. De EC is van mening dat viraal genetisch materiaal, hetzij RNA of DNA, op zich geen organisme is. Of de EC deze redenatie ook zal toepassen op andere replicons, zoals zogenaamde 'naakte replicons' of 'self-amplifying' mRNAs die bestaan uit het gemodificeerde virale genoom zonder het omhullende virusdeeltje zoals bij een VRP, is niet duidelijk.

3. Analyse van de COGEM

De COGEM acht de uitspraak van de EC niet wetenschappelijk onderbouwd en inconsistent ten opzichte van andere organismen en biologische entiteiten, zoals viroïden, bepaalde wildtype virussen (die juridisch als organismen worden beschouwd) en replicatie-deficiënte virale vectoren (die wel als ggo worden beschouwd). Tevens acht de COGEM de EC-interpretatie juridisch niet houdbaar. Hieronder worden deze punten verder uiteengezet.

3.1 Een VRP wordt verkregen door een virus genetisch te modificeren

VRP's worden verkregen door genetische modificatie van virussen en voldoen, evenals replicatie-deficiënte virale vectoren (zie ook paragraaf 3.3), wel aan de juridische definitie van een ggo.



Volgens de Richtlijn 2001/18^a is de definitie van een ggo: “*een organisme, met uitzondering van menselijke wezens, waarvan het genetische materiaal veranderd is op een wijze welk van nature door voortplanting en/of natuurlijke recombinatie niet mogelijk is*”.¹ VRP's zijn virussen waaruit met behulp van genetische modificatie genen zijn verwijderd die coderen voor de structurele eiwitten van het virusdeeltje en waarin transgenen zijn aangebracht.

Volgens de Richtlijn 2009/41^b zijn virussen (micro-)organismen: “*elke cellulaire of niet-cellulaire microbiologische entiteit met het vermogen tot replicatie of tot overbrenging van genetisch materiaal, met inbegrip van virussen, viroïden en dierlijke en plantencellen in cultuur*”.² VRP's kunnen derhalve worden beschouwd als gemodificeerde ('uitgeklede') virussen en dus als ggo's.

De EC stelt dat VRP's geen organismen zijn, en dus geen ggo's kunnen zijn, omdat ze niet langer virusdeeltjes kunnen vormen. Zij haalt daarbij de definitie aan van een organisme zoals beschreven in Richtlijn 2001/18: een organisme is “*een biologische entiteit met het vermogen tot replicatie of tot overdracht van genetisch materiaal*”.¹ Echter, een VRP is een entiteit, iets dat wezenlijk bestaat, en kan per definitie repliceren. Een VRP bevat immers de genen die coderen voor de eiwitten die de replicatie van het gemodificeerde virale genoom verzorgen. Hierdoor repliceert het gemodificeerde virale genoom in de geïnfecteerde gastheercel. Bovendien is er sprake van 'overdracht van genetisch materiaal': VRP's bestaan uit genetisch materiaal, het virale genoom wordt tijdens de infectie ingebracht in de cellen, wat gebruikt wordt om transgenen tot expressie te brengen in deze gastheercellen. Derhalve voldoet een VRP ook op deze wijze aan de definitie van een organisme in de Richtlijn 2001/18, en is een VRP dus een ggo.

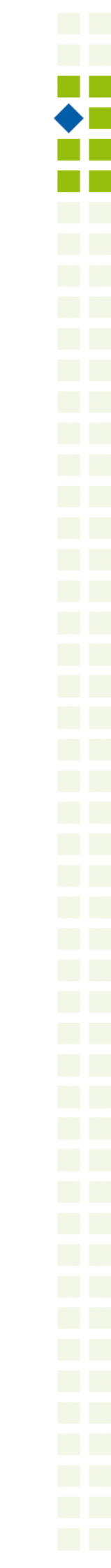
3.2 De uitspraak is inconsistent ten opzichte van de juridische status van viroïden en bepaalde virussen

De EC stelt dat het virusdeeltje het organisme is, en dat viraal genetisch materiaal op zich geen organisme is. Deze uitspraak is inconsistent ten opzichte van de juridische status van viroïden en bepaalde virussen. Viroïden en een aantal virussen vormen geen virusdeeltjes, maar worden volgens de Richtlijn 2009/41/EC wel als organisme beschouwd.²

Viroïden zijn kleine circulaire replicerende RNA-moleculen die geen deeltjes vormen en geen genen bevatten.³ Viroïden kunnen planten infecteren en economisch belangrijke ziekten veroorzaken in gewassen.⁴ Daarnaast zijn er virussen (onder meer de familie *Endornaviridae*) die geen virusdeeltjes vormen. Ze komen voor als infectieuze RNA-genomen die geassocieerd zijn met cytoplasmatische membraanblaasjes, eender aan VRP's.^{5,6} En het Hepatitis D virus bestaat uit een infectieus DNA-genoom dat is ingepakt in de eiwitten van een ander virus (Hepatitis B virus).⁷ Volgens de beredenering van de EC zouden deze virussen en viroïden geen organismen zijn, omdat zij geen

^a Richtlijn 2001/18 betreft de doelbewuste introductie van ggo's in het milieu, zoals klinische studies en veldproeven.

^b Richtlijn 2009/41 betreft het ingeperkt gebruik van gg-micro-organismen, zoals laboratoriumwerkzaamheden.



virusdeeltjes vormen. Dit is onder meer in tegenspraak met de Richtlijn 2009/41/EC, waarin is vastgelegd dat viroïden organismen zijn.

3.3 De uitspraak is inconsistent ten opzichte van replicatie-deficiënte virale vectoren

De EC beschouwt VRP's niet als ggo omdat genetisch materiaal *an sich* geen ggo zou zijn en er geen nieuwe virusdeeltjes gevormd worden. Anderzijds vallen virale vectoren die zich niet kunnen vermeerderen (replicatie-deficiënt) en gebruikt worden als gentherapie onder de reikwijdte van de ggo-regelgeving, zoals het geval is bij markttoelatingen. Volgens de lijn van redeneren van de EC zouden replicatie-deficiënte virale vectoren ook als niet-ggo beschouwd moeten worden.

Veelgebruikte replicatie-deficiënte virale vectoren, in onderzoek of als gentherapie, zijn afgeleid van het adeno-associated virus (AAV). AAV is een virus met een DNA-genoom dat alleen kan repliceren in cellen die geïnfecteerd zijn met een ander DNA-virus dat als helpervirus functioneert (meestal adenovirussen of herpesvirussen).^{8,9,10,11} In van AAV-afgeleide vectoren zijn alle genen verwijderd en vervangen door transgenen, en zijn alleen de uiteinden van het oorspronkelijke virusgenoom nog aanwezig. Na infectie van een cel met een dergelijke AAV-vector kan er geen replicatie plaatsvinden en geen virusdeeltje gevormd worden, omdat alle AAV-genen verwijderd zijn. Ook in de aanwezigheid van een helpervirus zijn ze niet langer in staat tot replicatie.

Andere veelgebruikte replicatie-deficiënte vectoren zijn afgeleid van adenovirussen. Bij deze adenovirale vectoren is minimaal het gebied dat essentieel is voor replicatie uit het virale genoom verwijderd. Hierdoor zijn de vectoren niet in staat zelfstandig te repliceren en kunnen zij ook geen nieuwe virusdeeltjes vormen.^{12,13,14} Vaccins die bestaan uit adenovirale vectoren, zoals de coronavaccins tegen COVID-19 van AstraZeneca en Janssen, zijn eerder aangemerkt als ggo en vergunningplichtig.^{15,16}

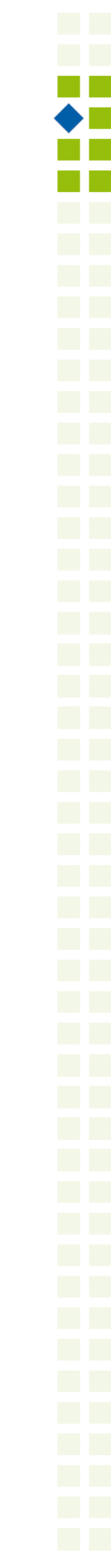
Ook zijn er replicatie-deficiënte vectoren afgeleid van lentivirussen (veelal HIV-1) en gammaretrovirussen. Deze zogenaamde lentivirale en retrovirale vectoren worden veel gebruikt voor de ontwikkeling van gentherapieën omdat zij hun genoom kunnen inbouwen in het genoom van de geïnfecteerde cel.^{17,18}

De bovengenoemde AAV, adenovirale, lentivirale en retrovirale vectoren kunnen niet repliceren, ook niet binnen een cel. Deze vectoren vallen wel onder de reikwijdte van de ggo-regelgeving, dat in contrast staat met de uitspraak van de EC over de status van VRP's.

3.4 Het is onduidelijk of de uitspraak juridisch houdbaar is

Het is onduidelijk of de uitspraak van de EC juridisch correct, dan wel houdbaar is. Zoals beschreven in de bovenstaande paragrafen, komt de uitspraak niet overeen met de definitie van een ggo in Richtlijn 2009/41.² Daarnaast is de uitspraak inconsistent ten opzichte van andere virussen, viroïden en replicatie-deficiënte virale vectoren. De uitspraak lijkt tevens in tegenspraak met één van de definities van technieken voor genetische modificatie, zoals opgesteld in Bijlage I A van de Richtlijn 2001/18:

“De in artikel 2, lid 2, onder A), bedoelde genetische modificatietechnieken zijn onder andere:



(1). Recombinant-nucleïnezuurtechnieken waarbij nieuwe combinaties van genetisch materiaal worden gevormd door de invoeging van ongeacht op welke wijze buiten een organisme vervaardigde nucleïnezuurmoleculen in een virus, bacterieel plasmide of ander vectorsysteem en de opneming daarvan in een gastheerorganisme waarin ze van nature niet voorkomen maar waarin ze blijvend vermenigvuldigd kunnen worden.”

De uitspraak van de EC lijkt er van uit te gaan dat deze definitie niet van toepassing is, omdat er bij VRP's geen sprake zou zijn van 'blijvend vermenigvuldigen'. Een VRP is per definitie in staat tot replicatie en dus vermeerdering. Bovendien kunnen VRP's in sommige gevallen wel een andere cel infecteren in dezelfde gastheer (zie ook paragraaf 4.1).^{19,20} Daarmee lijkt de uitspraak van de EC dat VRP's geen ggo zijn, mogelijk in tegenspraak met de Richtlijn 2001/18. De juridische status van VRP's kan daarbij alleen bepaald worden door het Europese Hof.

4. De uitspraak kan consequenties hebben op het gebied van milieurisico's, de regelgeving en het maatschappelijk draagvlak

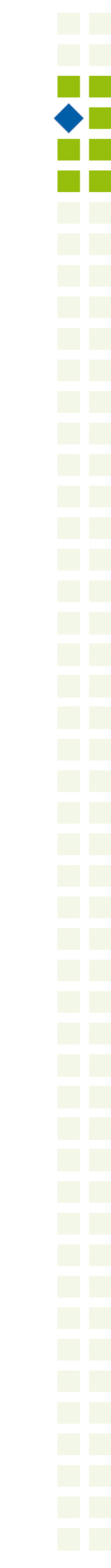
De uitspraak van de EC dat VRP's geen ggo zijn, heeft op verschillende vlakken consequenties. Het heeft als gevolg dat er bij EMA-marktaanvragen voor VRP's geen milieurisicobeoordeling meer plaatsvindt. De COGEM wijst er op dat aan handelingen met VRP's milieurisico's verbonden kunnen zijn, die bij het uitblijven van een beoordeling over het hoofd worden gezien. Daarnaast heeft deze uitspraak mogelijk consequenties voor de nationale regelgeving en wat in Nederland als ggo wordt aangemerkt. Tot slot kan de uitspraak gevolgen hebben voor het maatschappelijke draagvlak voor handelingen met ggo's. Onderstaand worden de mogelijke consequenties van de EC-uitspraak verder toegelicht.

4.1 Mogelijke milieurisico's verbonden aan het gebruik van VRP's worden niet beoordeeld

De uitspraak van de EC heeft als gevolg dat er bij markttoelatingen geen milieurisicobeoordeling meer plaatsvindt. De COGEM merkt op dat als iets niet wordt erkend als ggo, dit niet betekent dat er geen milieurisico's zijn.

VRP's missen essentiële genen waardoor zij niet zelfstandig de structurele eiwitten kunnen produceren die nodig zijn om virusdeeltjes te vormen. Indien vergelijkbare genen (of fragmenten van genen) aanwezig zijn in de cellen, bijvoorbeeld door een infectie met een ander virus, kunnen door complementatie de verwijderde eigenschappen gecompenseerd worden, waardoor de VRP-genomen zich wel kunnen verspreiden naar andere cellen. Daarnaast kunnen de verwijderde eigenschappen in het VRP-genoom hersteld worden door recombinatie met andere virussen, waarbij er een verspreidend genetisch gemodificeerd virus zou kunnen ontstaan. Door het uitblijven van een milieurisicobeoordeling wordt de kans op, en de risico's van, complementatie en recombinatie niet beoordeeld.

De verwijderde eigenschappen in VRP's kunnen ook gedeeltelijk gecompenseerd worden door sommige transgenen. Het gebruikte transgen is derhalve van invloed op de veiligheid en aard van het VRP. Dit element lijkt echter niet overwogen in het standpunt van de EC.



Volgens de redenering van de EC zouden, naast VRP's, ook andere virale vectoren geen ggo zijn als ze niet kunnen verspreiden. Op welke wijze deze niet verspreidende eigenschap (fenotype) tot stand is gekomen, is niet gedefinieerd. Dit fenotype kan al ontstaan door het aanbrengen van kleine deleties (of puntmutaties) in het virale genoom. De uitspraak van de EC gaat voorbij aan de mogelijkheid dat ook voor deze virale vectoren de verwijderde functies hersteld kunnen worden, bijvoorbeeld herstel van deleties door recombinatie met wildtype virussen, of door complementatie van het transgen, waarna toch verspreiding kan plaatsvinden. Aangebrachte puntmutaties kunnen soms terugmuteren. Dit zijn scenario's die bij een milieurisicobeoordeling worden beoordeeld.

In het besluit van de EC wordt geen rekening gehouden met de vorming van 'virus-like vesicles' (VLV's). VLV's zijn membraanblaasjes die het VRP-genoom bevatten, en kunnen ontstaan bij de replicatie van het virale genoom. VLV's kunnen cellen infecteren en zich verspreiden naar andere cellen.²⁰ Er kunnen infectieuze VLV's ontstaan door complementatie, bijvoorbeeld wanneer het transgen bestaat uit sequenties voor envelopeiwitten van andere virussen. Ook zouden infectieuze VLV's kunnen ontstaan als er slechts één structureel gen uit het virale genoom is verwijderd. Via infectieuze VLV's kan het VRP-genoom naar andere cellen binnen het organisme worden overgebracht.^{21,22}

De COGEM heeft in 2022 onderzoek laten uitvoeren naar virale replicons – zoals VRP's – die zijn afgeleid van positief- of negatiefstrengs RNA-virussen.²³ Mede op basis van de onderzoeksresultaten, bleek dat een generieke milieurisicobeoordeling voor replicons, anders dan die afgeleid van alfavirussen en flavivirussen, niet mogelijk bleek door onvoldoende wetenschappelijke gegevens.²³ Het is daarom niet uit te sluiten dat het generiek wegvallen van de milieurisicobeoordeling voor alle mogelijke VRP's tot nadelige gevolgen voor mens en milieu zal leiden.

4.2 De uitspraak heeft mogelijk gevolgen voor de regelgeving

De uitspraak van de EC komt niet overeen met de Nederlandse interpretatie van een ggo. In Nederland vallen VRP's tot op heden onder de ggo-regelgeving. Deze inconsistentie tussen de Europese en de Nederlandse interpretatie is niet wenselijk. Het is te verwachten dat de uitspraak van de EC zijn doorwerking zal hebben naar werkzaamheden met VRP's in de Nederlandse laboratoria. Omdat er onvoldoende bekend is over de risico's – zie bovenstaand – is de COGEM van mening dat het uitsluiten van VRP's van de wet- en regelgeving die gericht is op veilige handelingen met ggo's, tot risicovolle situaties kan leiden.

4.3 De uitspraak kan gevolgen hebben voor het maatschappelijk draagvlak

De uitspraak van de EC roept vragen op over de definitie van een organisme. Een VRP wordt verkregen door met behulp van genetische modificatie genen uit een virus te verwijderen. Onduidelijk is of andere organismen na verwijdering van essentiële structurele genen door genetische modificatie dan ook geen organismen meer zijn. De uitspraak van de EC kan invloed hebben op het beeld wat de maatschappij heeft van genetische modificatie. Als de redenering van de EC niet aansluit bij wat in de maatschappij als organisme of als ggo wordt gezien, kan dit mogelijk gevolgen

hebben voor het maatschappelijk draagvlak van deze toepassingen. Daarbij kan het de vraag oproepen of de veiligheid van de betreffende werkzaamheden en producten wel voldoende wordt beoordeeld en gewaarborgd.

5. Conclusie

De COGEM signaleert dat de uitspraak van de EC tot gevolg heeft dat er geen milieurisicobeoordeling meer plaatsvindt bij marktaanvragen van VRP's, terwijl er geen sprake is van volledige afwezigheid van risico's voor mens en milieu. De COGEM wijst erop dat het niet de intentie van de wetgever geweest kan zijn dat genetische modificatie van een organisme leidt tot de situatie dat het niet langer onder de reikwijdte van de ggo-regelgeving valt, terwijl er nog sprake is van mogelijke resterende risico's voor mens en milieu.

De COGEM is daarbij van oordeel dat de EC-uitspraak niet wetenschappelijk onderbouwd is, onduidelijkheden oproept, en mogelijke nadelige consequenties kan hebben op het gebied van milieurisico's en maatschappelijk draagvlak.

De COGEM wijst verder op de noodzaak voor overleg en afstemming tussen de EC en de EU-lidstaten over de status van VRP's.

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
- Dr. ir. M.M.C. Gielkens, Loket Gentherapie
- Dr. K.R.J. Vanmolkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
- Drs. K.E. Kok, Ministerie van VWS



Referenties

1. Richtlijn 2001/18/EC - Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001. On the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02001L0018-20210327> (bezocht op 17/06/2024)
2. Richtlijn 2009/41/EC - Directive 2009/41/EC of the European Parliament and of the Council of 6 May 2009. On the contained use of genetically modified micro-organisms. Official Journal of the European Union <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2009/41/oj> (bezocht op 17/06/2024)
3. Wang Y (2021). Current view and perspectives in viroid replication. *Curr. Opin. Virol.* 47: 32–37
4. Tsagris EM *et al.* (2008). Viroids. *Cell. Microbiol.* 10: 2168–2179
5. Valverde RA *et al.* (2019). ICTV Virus Taxonomy Profile: Endornaviridae. *J. Gen. Virol.* 100: 1204–1205
6. Lefebvre A *et al.* (1990). The double-stranded RNA associated with the ‘447’ cytoplasmic male sterility in *Vicia faba* is packaged together with its replicase in cytoplasmic membranous vesicles. *Plant Mol. Biol.* 14: 477–490
7. Thiyagarajah K *et al.* (2023). Cellular factors involved in the hepatitis d virus life cycle. *Viruses* 15: 1687
8. Berns KI & Parrish CR (2013). Parvoviridae. In: *Fields virology*, volume 2, 6th edition. Edited by Knipe DM en Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
9. Cotmore SF *et al.* (2019). ICTV Virus Taxonomy Profile: Parvoviridae. *J. Gen. Virol.* 100: 367–368
10. Zinn E & Vandenberghe LH (2014). Adeno-associated virus: fit to serve. *Curr Opin Virol.* 8: 90–97
11. ICTV report: Dependoparvovirus
<https://ictv.global/report/chapter/parvoviridae/parvoviridae/dependoparvovirus> (bezocht op 17/06/2024)
12. Wold WSM & Ison MG (2013). Chapter 56 Adenoviruses. In: *Fields virology*, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM et al., Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
13. Bergmans JEN *et al.* (2017). Omlaagschaling van werkzaamheden met replicatie-defectieve AAV- en adenovirale vectoren. COGEM rapport CGM 2017-4
14. Kovcsdi I. & Hedley SJ (2010). Adenoviral producer cells. *Viruses* 2: 1681–1703
15. European Medicines Agency. Vaxzevria (previously COVID-19 Vaccine AstraZeneca).
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca#ema-inpage-item-product-info>
16. European Medicines Agency. Jcovden (previously COVID-19 Vaccine Janssen).
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/jcovden-previously-covid-19-vaccine-janssen>
17. Goff SP (2013). Retroviridae. In: *Fields virology*, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM et al. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
18. Freed EO & Martin MA (2013). Human Immunodeficient Viruses: Replication. In: *Fields virology*, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM et al. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
19. COGEM (2023). Inschaling werkzaamheden met VEEV-replicondeeltjes met structurele genen van retrovirussen BLV en FeLV. COGEM advies CGM/231019-01
20. Rose NF *et al.* (2014). In vitro evolution of high-titer, virus-like vesicles containing a single structural protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 111: 16866–16871



21. Ruiz-Guillen M *et al.* (2016). Capsid-deficient alphaviruses generate propagative infectious microvesicles at the plasma membrane. *Cell Mol. Life Sci.* 73: 3897–3916
22. Jia F *et al.* (2017). Pseudo-typed Semliki Forest virus delivers EGFP into neurons. *J. Neurovirol.* 23: 205–215
23. Van der Meulen K & Rüdelsheim PLJ (2022). Viral replicon systems and their biosafety aspects. COGEM report CGM/2022-06