

Aan te leveren informatie nieuwe cellijn

Om een nieuwe cellijn toe te kunnen voegen aan een kennisgeving/vergunning dient informatie over deze cellijn beschikbaar te zijn. In onderstaand formulier staat aangegeven welke informatie ingeleverd dient te worden, eventuele literatuur dient separaat aangeleverd te worden. Relevante stukken in de literatuur dienen gearceerd te worden, indien verwezen wordt naar andere stukken dan dienen deze ook meegeleverd te worden.

Op de volgende pagina's is een uitgebreide toelichting opgenomen voor het invullen van formulier 3. Raadpleeg deze toelichting altijd bij het aanleveren van gegevens om te controleren dat de informatie volledig en correct is.

Stuur onderstaand ingevuld formulier voorzien van bijlagen naar de BVF
(v.vanleeuwen@maastrichtuniversity.nl en n.kisters@maastrichtuniversity.nl).

INFORMATIE GGO KENNISGEVING/VERGUNNING	
IG-nummer waar cellijn aan toegevoegd moet worden	
Nummer(s) van het lid/de leden waar cellijn aan toegevoegd moet worden	
SPECIFICATIES CELLIJN	
Naam cellijn	
<i>Synoniem</i>	
ATCC/DSMZ nummer	
Origine van de cellijn	☐ humaan ☐ muis ☐ rat ☐ overig:
Is de cellijn genetisch gemodificeerd?	☐ nee ☐ ja, beschrijf hoe:

Toelichting m.b.t. aan te leveren informatie nieuwe cellijn

Om nieuwe cellen toe te kunnen voegen aan een kennisgeving/vergunning dient informatie over de cellen aangeleverd te worden. In formulier 3 staat weergegeven welke informatie aangeleverd dient te worden. In deze instructie zal in meer detail worden uitgelegd welke informatie precies aanwezig dient te zijn en waarom.

Informatie ggo kennisgeving/vergunning:

In dit deel van het formulier dient het IG nummer van de kennisgeving/vergunning te worden vermeld en de specifieke leden waaraan deze cellijn moet worden toegevoegd.

Specificaties cellijn:

Van elke cellijn dient informatie aangeleverd te worden hoe deze vervaardigd is. In veel gevallen betreft het een niet gemodificeerde cel. Ondanks dat, dient toch informatie aangeleverd worden over deze cellijn. Bekijk de ATCC of DSMZ informatie altijd nauwkeurig, vaak blijkt een cellijn toch genetisch gemodificeerd te zijn. In sommige gevallen staat beschreven dat cellen (retro)viraal getransduceerd zijn om ze te immortaliseren. In geval van een virale immortalisatie dient bekend te zijn hoe het virus, waarmee de immortalisatie is uitgevoerd, vervaardigd is. Hiervoor dient de volgende informatie aangeleverd te worden:

- De productie cellijn,
- De gebruikte vectoren, en
- De vectormappen van die vectoren (zie voorbeeld 1)

Naast cellijnen verkrijgbaar via DSMZ of ATCC worden er ook regelmatig cellen afkomstig van genetisch gemodificeerde muizen toegevoegd aan kennisgevingen/vergunningen. In dat geval dient men informatie aan te leveren hoe de betreffende muis vervaardigd is. In de aangeleverde informatie moeten alle gebruikte elementen en vectoren duidelijk beschreven staan. Alleen de beschrijving “via homologe recombinatie” is niet voldoende (zie voorbeeld 2 en 3).

Speciale aandacht is vereist voor iPS cellen (iPSCs). Voor veel van deze cellen wordt door de fabrikant aangegeven dat ze footprint-free zijn, wat betekend dat na vervaardiging geen residuen van genetisch materiaal achterblijven. Echter vallen ook deze footprint-free iPSCs in Nederland onder de ggo-wet en regelgeving en dienen toegevoegd te worden aan een kennisgeving of vergunning.

Voorbeeld 1:

VK2/E6/7 cellen verkrijgbaar via de ATCC. Als de cellijn bij de ATCC opgezocht wordt lijkt het een cellijn die uit een patiënt is geïsoleerd.

Wanneer er verder gekeken wordt op de ATCC website dan is er onder de gedetailleerde informatie te lezen dat deze cellijn vervaardigd is door middel van een transductie met een retrovirale vector

VK2/E6E7

CRL-2616™

VK2/E6E7 is an epithelial cell line that was isolated in 1996 from the mucosa of a 32-year-old, female patient undergoing a hysterectomy for endometriosis. This cell line was deposited by D Anderson, RN Fichorova, and JG Rheinwald.

95/100 Bioz Stars [318 Product Citations](#)

Product category	Human cells
Organism	<i>Homo sapiens</i> , human
Cell type	epithelial cell
Morphology	epithelial
Tissue	Vagina; Mucosa
Disease	Endometriosis
Applications	3D cell culture
Product format	Frozen
Storage conditions	Vapor phase of liquid nitrogen

The VK2/E6E7 cell line was established in 1996 from the normal vaginal mucosal tissue taken from a premenopausal woman undergoing anterior-posterior vaginal repair surgery.

The ectocervical Ect1/E6E7 ([ATCC CRL-2614](#)) and endocervical End1/E6E7 ([ATCC CRL-2615](#)) cell lines were established in 1996 from normal epithelial tissue taken from a premenopausal woman undergoing hysterectomy for endometriosis.

Cells at passage 3 were immortalized by transduction with the retroviral vector LXS-16E6E7 in the presence of polybrene. Clones were selected in medium containing G418.

Om deze cellijn te kunnen toevoegen aan een kennisgeving of vergunning dient de vectormap van de LXC-16E6E7 vector te worden aangeleverd en dient uitgezocht te worden welke productieceldij gebruikt is voor de productie van dit retrovirus. Deze informatie is vaak terug te vinden in een van de referenties die de ATCC geeft. In dit voorbeeld bleek de informatie in de eerste referentie van de betreffende ATCC pagina te staan.

The primary cell lines were immortalized by transduction with a retroviral vector (LXS-16E6E7) packaged by the amphotropic fibroblast line PA317 (kindly provided by Denise Galloway, Fred Hutchinson Cancer Institute, Seattle, WA). Culture supernatants from the PA317 producer

Het is dan nog zaak om informatie over die PA317 cellijn te achterhalen. Het blijkt dat de PA317 cellijn via de ATCC verkrijgbaar is en als volgt vervaardigd is:

PA317 (ATCC® CRL-9078™)

Organism: [Mus musculus, mouse](#) / Tissue: [embryo](#) /

GENERAL INFORMATION	CHARACTERISTICS	CULTURE METHOD	HISTORY	DOCUMENTATION
---------------------	-----------------	----------------	---------	---------------

Derivation

The PA317 cell line was derived from TK- NIH/3T3 cells by cotransfection with packaging construct DNA (pPAM3) carried in pBR322 and the herpes simplex virus thymidine kinase (TK) gene carried in pBR322.

Om de informatie helemaal compleet te maken dient er een vectormap van de pBR322 vector aangeleverd te worden en informatie over de NIH/3T3 cellijn

Voorbeeld 2:

De AML12 cellijn is een muizen cellijn die commercieel verkrijgbaar is bij de ATCC. De eerste informatie zichtbaar op de ATCC website geeft niet aan dat de cellijn afkomstig is van een genetisch gemodificeerde muis.

AML12

CRL-2254™

AML12 (alpha mouse liver 12) cells are hepatocytes isolated from the normal liver of a 3-month-old mouse. Use these cells as a transfection host or in toxicology research applications.

★ 98/100 Bioz Stars [1,371 Product Citations](#)

Product category	Animal cells
Organism	<i>Mus musculus</i> , mouse
Classification	Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata, Tetrapod
Cell type	hepatocyte
Morphology	epithelial
Tissue	Liver
Disease	Normal
Applications	3D cell culture High-throughput screening Toxicology
Product format	Frozen
Storage conditions	Vapor phase of liquid nitrogen

Wanneer de gedetailleerde informatie op deze site bekeken wordt is te lezen dat deze cellen afkomstig zijn van een muis die transgeen voor humaan TGF alpha is.

Characteristics	
Growth properties	Adherent
Derivation	The AML12 (alpha mouse liver 12) cell line was established from hepatocytes from a mouse (CD1 strain, line MT42) transgenic for human TGF alpha.
Age	3 months
Gender	Male

Om deze cellijn te kunnen gebruiken moet deze aan een kennisgeving of vergunning worden toegevoegd, hiervoor is noodzakelijk om te achterhalen hoe deze muis vervaardigd is. Door referenties in de eerst genoemde referentie op de ATCC website te lezen valt te achterhalen dat de CD1 muis als volgt vervaardigd is. *The CD1 strain was created by microinjection of MT-TGFα fragment (770 bp of the mouse MT1 promoter, 917bp of the human TGFα and 625bp of the 3' end of the human growth hormone gene) into pronuclei of one-cell mouse embryos from the outbred strain CD1. Embryos were implanted into CD1 pseudopregnant foster mothers.*

De betreffende referenties dienen samen met deze beschrijving aangeleverd te worden bij de BVF.

Voorbeeld 3:

Via een samenwerking kan de muizen cellijn HY15549 worden verkregen. Dit blijkt een cellijn te zijn geïsoleerd uit een pancreatic ductal adenocarcinoma van een KPC muis (p48-Cre+, Kras^{LSL-G12D/+}, Trp53^{lox/+}). Deze muis is vervaardigd door het kruisen van 3 muizenlijnen; Kras^{LSL-G12D}, p48-Cre en een P53 conditional knockout muis. Om deze cellijn toe te kunnen voegen aan een kennisgeving of een vergunning dient de vervaardiging van alle drie deze muizen beschreven te zijn.

- De Kras-muis werd gegenereerd door electroporatie van het gelineariseerde pK-ras^{D12-LA} targetingconstruct in ES-cellen. C57BL/6 blastocyst stadium embryo's werden geïnjecteerd met K-ras^{LA} ES-cellen en vervolgens overgebracht naar pseudozwangere muizen.
- De p48-Cre (Ptf1a-cre)-muis werd gegenereerd door electroporatie van het gelineariseerde Ptf1a-cre-targetingconstruct in ES-cellen. Deze ES-cellen werden geïnjecteerd in C57BL/6-blastocysten die vervolgens werden overgebracht naar pseudozwangere ICR-muizen.
- Voor het genereren van de P53-knockoutmuizen werd een Trp53-targetingconstruct geconstrueerd, dat Trp53 exonen 1-11 omvatte. Dit gelineariseerde targetingconstruct werd geëlectroporeerd in ES-cellen.