



Empfehlung der ZKBS zur Herabstufung der Zelllinie BEAS-2B als Spender- oder Empfängerorganismus gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Die Etablierung der Zelllinie BEAS-2B wurde 1988 in einer Publikation von Reddel *et al.* beschrieben [1]. Es handelt sich um humane Bronchialepithelzellen, die durch Infektion mit einem zum damaligen Zeitpunkt replikationskompetenten Hybridvirus aus Adenovirus Typ 12 (Ad12) und *Simian virus 40* (SV40) immortalisiert wurden. Es gibt Hinweise darauf, dass im Verlauf der Zell-Kultivierung Veränderungen im viralen Genom auftraten, die mit einem Replikationsdefekt einhergehen. Derzeit wird die Zelllinie jedoch als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der Risikogruppe 2 zugeordnet, da ein experimenteller Nachweis über den Replikationsdefekt des Hybridvirus bislang nicht vorliegt. Aufgrund der Empfehlung des Ausschusses für Biologische Arbeitsstoffe (ABAS), mit der Zelllinie unter Bedingungen der Schutzstufe 1 umzugehen [2], sieht sich die ZKBS veranlasst, die Literatur noch einmal dahingehend zu überprüfen, inwieweit von der Zelllinie ein Gefährdungspotenzial durch eine Abgabe viraler Partikel ausgeht.

Das Ad12-SV40-Hybridvirus entstand durch eine Ad12-Super-Infektion von Nierenzellen der Afrikanischen grünen Meerkatze, die bereits zuvor mit SV40 infiziert worden waren [3]. Die Hybridviren replizieren in diesen Affenzellen und werden in den Zellkulturüberstand abgegeben. Sie zeichnen sich durch ein hohes Transformationspotenzial aus und wurden vielfach für die Herstellung immortalisierter Zelllinien verwendet [4, 5]. Für die Herstellung von BEAS-2B waren die Hybridviren in Vero-Zellen (Nierenzellen von adulten Afrikanischen grünen Meerkatzen) amplifiziert worden, bevor sie für die Infektion verwendet wurden. Während in der Schwesterzelllinie BEAS-2A virale Partikel auch nach mehreren Passagen im Elektronenmikroskop sichtbar waren und zytopathische Effekte bei Co-Kultivierung mit Verozellen auf eine noch vorliegende Replikationskompetenz der Hybridviren hinweisen, konnte dies für BEAS-2B nicht gezeigt werden. Zudem weisen Northern Blot-Experimente darauf hin, dass die adenovirale *early region 1* nicht exprimiert wird; so ließen sich weder eine E1a- noch eine E1b-spezifische mRNA nachweisen [1].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird die Zelllinie BEAS-2B als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Auch wenn bislang die Sequenz des viralen Genoms nicht vorliegt, und somit der Replikationsdefekt des Virus nicht auf viraler DNA-Ebene gezeigt ist, kann anhand der oben geschilderten Ergebnisse auf eine Replikationsinkompetenz des Hybridvirus geschlossen werden. Es

werden keine viralen Partikel von den Zellen in den Überstand abgegeben, so dass von der Kultur der Zelllinie BEAS-2B kein Gefährdungspotenzial für Mensch, Tier und Umwelt ausgeht.

Literatur

- [1] **Reddel RR, Ke Y Gerwin BI et al.** (1988). Transformation of human bronchial epithelial cells by infection with SV40 or Adenovirus-12 SV40 hybrid virus, or transfection via strontium phosphate coprecipitation with a plasmid containing SV40 early region genes. *Cancer Res.* **48**:1904-1909.
- [2] **Beschluss des Ausschusses für Biologische Arbeitsstoffe (ABAS)** zur Herabstufung bei Tätigkeiten mit der Zelllinie BEAS-2B in Schutzstufe 1 vom April 2015.
- [3] **Schell K, Lane WT, Casey MJ, Huebner RJ** (1966). Potentiation of oncogenicity of Adenovirus Type 12 grown in African green monkey cell cultures preinfected with SV40 virus: Persistence of both T antigens in the tumors and evidence for possible hybridization. *Pathol.* **55**:81-88.
- [4] **Rhim JS, Trimmer R, Arnstein P, Huebner R** (1981). Neoplastic transformation of chimpanzee cells induced by adenovirus type 12-simian virus 40 hybrid virus. *PNAS.* **78**(1):313-317.
- [5] **Khan CR, Young E, Lee IH, Rhim JS** (1993). Human corneal epithelial primary cultures and cell lines with extended life span: In vitro model for ocular studies. *Invest Ophth Vis Sci.* **34**(12):3429-3441.