



## **Stellungnahme der ZKBS zur Neueinstufung der Zelllinie RAW 264.7 gemäß § 5 Abs. 1 GenTSV**

### **Allgemeines**

Die Mausmakrophagen-ähnliche Zelllinie RAW 264.7 wurde aus einer Makrophagen-Präparation einer BAB/14 Maus etabliert, die aufgrund einer Infektionen mit dem Abelson-Maus-Leukämievirus (Ab-MLV) und einem ecotropen MLV Tumore entwickelt hatte [1]. Damalige Tests auf Anwesenheit eines replikationskompetenten Virus' waren negativ. Aufgrund einer Publikation von Hartley et al. 2008 [2] wurde die Zelllinie RAW 264.7 im August 2011 als Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten von der Risikogruppe 1 in die Risikogruppe 2 hochgestuft.

Die Autoren konnten neben replikationskompetenten, ecotropen MLV auch polytrophe MLV im Zellkulturüberstand der Zelllinie nachweisen. Bei den polytropen MLV handelt es sich um Vertreter der Familie der Gammaretroviren mit C-Typ-Morphologie. Es wird diskutiert, dass diese Viren durch eine Rekombination zwischen dem Genom infektiöser ecotroper MLV und endogenen retroviralen Sequenzen der Mauszelle entstehen [3]. Neben murinen Zellen können auch nicht-murine, einschließlich humaner Zellen, von diesen Viren infiziert werden. Der Zelleintritt wird, wie auch bei xenotropen MLV, durch den Phosphat-Transporter Xpr1 vermittelt.

### **Bewertung**

Die Zelllinie RAW 264.7 wird gemäß § 5 Abs. 1 i.V.m. Anhang I GenTSV der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

### **Begründung**

Obwohl Infektionen beim Menschen mit polytropen MLV nicht beschrieben sind, wird das von ihnen ausgehende Gefährdungspotenzial bei gentechnischen Arbeiten mit dem von amphotropen MLV als vergleichbar bewertet. Entscheidend für die Einstufung in die Risikogruppe 2 ist der Wirtsbereich der von der Zelllinie abgegebenen Viren [5].

### **Hinweis**

Die replikationskompetenten, polytropen MLV wurden von Hartley et al. mithilfe eines XC *plaque assays* auf NIH3T3 Zellen und anschließender Immunfluoreszenz-Titration unter Anwendung monoklonaler Antikörper spezifiziert.

Kann eine Anwesenheit infektiöser polytroper MLV mithilfe dieses oder eines vergleichbaren Testsystems für einzelne Sublinien der Zelllinie RAW 264.7 ausgeschlossen werden, können diese unter Maßnahmen der Sicherheitsstufe 1 verwendet werden.

## Literatur

- [1] Raschke WC, Baird S, Ralph P, Nakoinz I (1978) Functional macrophage cell line transformed by Abelson leukemia virus. *Cell* 15:261-267.
- [2] Hartley JW, Evans LH, Green KY, Nagashfar Z, Macias AR, Zervas PM, Ward JM (2008) Expression of infectious murine leukemia viruses by RAW 264.7 cells, a potential complication for studies with a widely used mouse macrophage cell line. *Retrovirology* 5:1
- [3] Kozak CA & Ruscetti S (1992) *The Retroviridae* ed. Levy JA (Plenum New York) 1:405-481.
- [4] Hartley JW, Wolford NK, Old LJ, Rowe WP (1977) A new class of murine leukemia virus associated with development of spontaneous lymphomas. *PNAS* 74:789-792]
- [5] Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zu häufig durchgeführten gentechnischen Arbeiten mit den zugrunde liegenden Kriterien der Vergleichbarkeit: Gentransfer mit Hilfe retroviraler Vektoren (Az. 6790-10-41, November 2011).