

Svar fra VKM på oppdrag om vurdering av søknadskjema og veiledningsdokumenter utarbeidet i GMO-interplay: del II

Vurdering av EUs generelle søknadskjema for adeno-assosierte virus vektorer

Common application form for viral vectors contained in investigational medicinal products for human use (Version 2, December 2020)

Kort om Adeno-assosierte virus

Adeno-assosierte virus (AAV) tilhører familien *Parvoviridae*, genus *Dependoparvovirus* og er små ikosaederformede partikler uten viruskappe og med et 4,7 kb enkeltrådet DNA-genom. Ved naturlig infeksjon kan AAV bare formere seg dersom vertscellen samtidig infiseres av et annet virus, et såkalt hjelpevirus fra blant annet virusfamiliene *Adenoviridae* eller *Herpesviridae* (Meier et al. 2020). AAV er et «replikasjonsdefekt» virus og replikerende AAV vil ved naturlig infeksjon alltid finnes sammen med hjelpevirus.

Det er mange forskjellige varianter av AAV, de kan smitte mange dyrearter, inkludert mennesket og de finnes globalt. Kunnskapen om naturlig infeksjon med AAV er begrenset, men man antar at AAV kan infisere mange ulike celletyper og smitter naturlig via luftveier, mage-tarmkanal og reproduksjonskanalen (Hüser et al. 2017). De er ikke kjent for å være sykdomsfremkallende (Daya & Berns 2008).

Virusreplikasjon foregår i cellekjernen, og AAV kan integreres i arvematerialet til cellen og gi latent infeksjon ved fravær av hjelpevirus (Dhungel et al. 2020).

Kort om Adeno-assosierte virus vektorer (AAV-vektorer)

Når AAV brukes som vektor (AAV-vektor) er det bare de terminale endene (inverted terminal repeats, ITR) som er blitt beholdt av det opprinnelige AAV genomet. ITR utgjør ca 145 baser i hver ende av AAV genomet på opprinnelig ca. 4,7 kilobaser (Yan et al. 2005). I en AAV-vektor er genomsekvensen mellom de to ITR erstattet med det genet man ønsker å transudere («transgenet») og tilhørende reguleringssekvenser. Disse DNA sekvensene pakkes inn i AAV partikler i celler som uttrykker de nødvendige AAV- og hjelpevirus-genene. AAV-vektor som inneholder det aktuelle transgenet kan brukes til infeksjon av humane celler for ekspresjon av transgenet.

AAV-vektor kan pakke vanligvis inntil 4,4-4,7 kb enkeltrådet DNA. En AAV-vektor kan ikke inneholde både gener for virusreplikasjon og partikkeldannelse og samtidig transgenet, da dette overskrider hva viruspartiklene kan pakke av DNA.

AAV-vektor DNA finnes hovedsakelig som ekstrakromosomalt DNA («episom») i transduerte celler og integreres i vertcellens arvemateriale kun i liten grad siden AAV-vektorer mangler de virusgener som disponerer for integreringen. Ved celledeling går det episomale DNA tapt (Wang et al. 2019).

Skal en AAV-vektor kunne formere seg i en celle må det foreligge en trippel infeksjon av cellen; det vil si at cellen må infiseres med AAV-vektor, villtype AAV og hjelpevirus. Sannsynligheten for at dette skal skje er svært liten.

AAV-vektorer er effektive vektorer. De har evne til å transduere både delende og ikke-delende celler, og til å opprettholde langvarig transgen ekspresjon (Brommel et al. 2020). Virus i familien *Parvoviridae* som AAV tilhører er stabile i miljøet over lang tid (Howard & Harvey 2017).

Spørsmål fra MDir:

1.1 Etter VKMs vurdering, er søknadskjemaet i tråd med kravene til vurdering av helse og miljørisiko, og vil VKM kunne foreta en helse- og miljørisikovurdering av GMOen brukt i det kliniske studiet på bakgrunn av opplysninger som fremkommer i skjema med vedlegg?

VKM kan gjerne besvare dette spørsmålet todelt, i form av en tabell som viser at alle deler av søknadsskjemaet er vurdert, og med en påfølgende konklusjon som skriftliggjør på hvilket grunnlag har VKM gjort denne vurderingen, og at de momenter i vurderingen som er tillagt mest vekt av VKM kommer tydelig frem.

VKM har vurdert om søknadsskjemaet «Common application form for investigational medical products for human use that contain or consist of AAV vectors» er i tråd med kravene til vurdering av helse og miljørisiko. VKM har ikke vurdert skjema etter juridiske krav, men har gjort en vitenskapelig vurdering av om innholdet i søknadskjema med vedlegg er tilstrekkelig for å kunne utføre en helse- og miljørisikovurdering av AAV vektorer som skal benyttes i kliniske studier på mennesker. Alle deler av skjema er vurdert i tabellen under.

Tabell. VKMs vurdering av søknadsskjemaet: «Common application form for investigational medical products for human use that contain or consist of AAV vectors».

Del av skjema	VKMs omtale av innhold i skjema	VKMs vurdering
Forside	Her omtales skjemaets tittel, og hvilke 19 land som har tilsluttet seg bruk av skjema. Skjemaet er ikke vedtatt av Europa-kommisjonen.	VKM vurderer informasjonen gitt på

	<p>Skjemaet inneholder versjonslogg (sist endret desember 2020).</p> <p>I tillegg opplyses det om at dersom søknaden omfatter utsetting av GMO i miljø etter Utsettingsdirektivet (2001/18/EF) skal søker legge ved Summary Notification Information Format (SNIF).</p>	<p>forsiden av skjema som relevant.</p>
<p>1. Introduction</p>	<p>Her gis først en kort omtale av at kliniske forsøk utført i EU med legemidler som inneholder eller består av GMO må overholde lovgivningen for godkjenning av kliniske studier og oppfylle kravene i direktiv 2001/18/EF (utsettingsdirektivet) og/eller direktiv 2009/41/EF om innesluttet bruk av genmodifiserte mikroorganismer.</p> <p>Det angis at søknadsskjema implementerer kravene i overnevnte direktiver, men er tilpasset de spesifikke egenskapene til adeno-assosierte virusvektorer (AAV-vektorer) som skal brukes i kliniske studier hos mennesker. GMO legemidler av/ med AAV-vektorer omtales som «kliniske vektorer».</p> <p>Hvis søknaden omhandler et legemiddel som inneholder eller består av AAV-vektorer som allerede har fått markedsføringstillatelse, bør skjema for bruk ved kliniske studier med godkjente legemidler brukes (hvis tilgjengelig).</p> <p>Det gjentas hvilke 19 land som har godkjent bruk av skjema.</p>	<p>VKM anser skjemaets introduksjon som relevant og tilstrekkelig.</p> <p>Land som er tilsluttet bruk av skjema er allerede oppgitt på forsiden. Det hadde vært tilstrekkelig om dette ble nevnt ett sted.</p>
<p>2. Explanatory notes</p>	<p>Forklarende merknader.</p> <p>Det oppgis at søknadsskjemaet ikke berører konsultasjonskrav som finnes i henhold til direktiv 2001/18/EF.</p> <p>I tillegg vises det til at det kan være enkelte nasjonale særkrav man må ta hensyn til før søknad sendes inn. Kravene for de ulike landene er listet opp.</p>	<p>VKM anser at informasjonen her er relevant. Dersom det skal lenkes til spesifikke krav fra ulike land er det viktig at lenkene virker over tid. Lenken til Østerrike virker f.eks. ikke. VKM har ikke tatt stilling til eventuelle særkrav for Norge (utenfor mandat).</p>

SECTION 1 –ADMINISTRATIVE INFORMATION		
1.1.	Identifikasjon av søker og kontaktinformasjon.	Administrativ informasjon. Relevant og tilstrekkelig.
1.2.	Identifikasjon av sponsor (dersom ulik søker) og kontaktinformasjon.	Administrativ informasjon. Relevant og tilstrekkelig.
1.3	Identifikasjon av produsenten av den kliniske vektoren. Navn og lokalisasjon.	Administrativ informasjon. Relevant og tilstrekkelig.
SECTION 2 –INFORMATION RELATING TO THE INVESTIGATIONAL MEDICINAL PRODUCT		
2.1.	Søker skal beskrive produksjonssystemet: kart over vektorer og beskrivelse av cellelinjer (celletype, opphav og evt. modifikasjoner av genom) brukt underveis i produksjon, og av endelig klinisk vektor. I tillegg skal evt. interaksjon mellom genetisk materiale i cellen med klinisk vektor f.eks. rekombinasjon angis. Testmetode benyttet for påvisning av evt. kontaminasjon av cellelinjen med villtype AAV eller hjelpevirus skal beskrives.	VKM anser dette som viktig og tilstrekkelig informasjon for vurderingen av helse og miljørisiko, men det forutsetter tilgang til eventuell konfidensiell informasjon omtalt i anneks. Informasjonen kan brukes til å vurdere risiko for dannelse av replikasjonskompetent virus i produksjonssystemet.
2.2.	Søker skal demonstrere fravær av dannelse av replikasjonskompetent virus. Risikoen for generering av et replikasjonskompetent virus gjennom rekombinasjon av bestanddelene i det virale vektorsystemet bør minimeres. Metoder for deteksjon av replikasjonskompetent virus skal derfor beskrives inkl. sensitivitet og spesifisitet. Testresultater fra flere trinn av produksjonen skal fremlegges) og hvilke kriterier man har lagt til grunn.	VKM anser dette som viktig og tilstrekkelig informasjon for vurderingen av helse og miljørisiko, men det forutsetter tilgang til eventuell konfidensiell informasjon omtalt i anneks. Dette angår kvalitet og sikkerhet ved produksjonen av den kliniske vektoren og vurdering av risiko for at det ferdige produktet

		inneholder replikasjonskompetent virus som kan tenkes dannet i celler som brukes til pakkingen av AAV vektoren.
2.3.	Kart over klinisk vektor skal angis.	VKM anser dette som relevant og tilstrekkelig informasjon, men det forutsetter tilgang til eventuell konfidensiell informasjon omtalt i annekset.
2.4.	Molekylær karakterisering av klinisk vektor. Annotert sekvens av genomet skal angis (inkl. posisjon til transgen og regulatoriske sekvenser.) Søker må også angi hvordan klinisk vektor avviker fra «vill-type viruset» på molekylært nivå. I tillegg etterspørres data som viser genetisk stabilitet av klinisk vektor.	VKM vurderer dette som relevant, tilstrekkelig og viktig informasjon for vurderingen av helse og miljørisiko, men det forutsetter tilgang til eventuell konfidensiell informasjon omtalt i annekset.
2.5.	Søker må beskrive insert. Ekspresjonskassetten (transgen, inkludert regulatorisk og kodende sekvens) skal beskrives, spesielt om det uttrykte produktet er toksisk eller på andre måter skadelig for miljø. Dersom transgenet gir klinisk vektor, fordeler for replikasjon/overlevelse sammenlignet med vill-type viruset bør dette oppgis.	VKM anser dette som viktig og tilstrekkelig informasjon for å kunne avgjøre om det er helse- eller miljørisiko forbundet med transgenet, men det forutsetter tilgang til eventuell konfidensiell informasjon omtalt i annekset.
2.6.	Biodistribusjon og utskillelse. Søker skal oppgi detaljerte data om utskillelse av klinisk vektor fra tidligere kliniske studier (administrert dose, administrasjonsrute og – hvis tilgjengelig-immunstatus for studiedeltakerne). Biodistribusjonsdata bør angis dersom relevant for studien. Dersom det ikke foreligger tidligere klinisk erfaring med den samme kliniske vektoren, bør potensialet for utskillelse diskuteres basert	VKM anser dette som viktig og tilstrekkelig informasjon for vurderingen av helse og miljørisiko.

	på ikke-kliniske data og/eller klinisk erfaring fra relaterte kliniske vektorer. Hvis søkeren baserer seg på data fra relaterte kliniske vektorer, bør dataenes relevans for produktet som er gjenstand for denne søknaden, forklares spesielt med tanke på dosering og administrasjonsvei. Dersom utskillelse forekommer, bør estimert varighet spesifiseres. Metoder som brukes for påvisning av utskillelse, inkludert informasjon om spesifisiteten og sensitivitet skal oppgis.	
SECTION 3 – INFORMATION RELATING TO THE CLINICAL TRIAL		
3.1.	Generell informasjon om den kliniske studien. Her inngår EudraCT-nummer, «Deliberate release»-referansenummer, tittel på studien, navn på sjefsforsker, mål for studien, start- og sluttdato, antall studieobjekter. Søker må også oppgi om det er sendt/planlegges sendt en søknad relatert til samme kliniske vektor til andre medlemsland og evt. hvilke.	VKM anser dette som relevant og tilstrekkelig informasjon. Av betydning for vurdering av helse og miljørisiko er antall studiedeltakere og varighet av studien.
3.2.	Stuedsted(er). Søkeren skal gi informasjon om studiestedene i landet søknaden sendes til. I noen land etterspørres tilleggsinformasjon som: Beliggenheten(e) av laboratorier, sted for lagring av klinisk vektor og pasientprøver som inneholder GMO. I tillegg skal søker angi kontaktinformasjon til studiested(er) og ansvarlig person, samt angi planlagte aktiviteter og inneslutningsnivå.	VKM anser dette som relevant og tilstrekkelig informasjon. Av betydning for vurdering av helse og miljørisiko er spesielt studiested og inneslutningsnivå. VKM har ikke tatt stilling til hvilken tilleggsinformasjon som evt. kreves for Norge.
3.3.	Lagring av klinisk vektor på studiested. Søker skal oppgi sted for lagring, lagringsbetingelser (inkl. tilgangsbegrensning), og maksimal varighet av lagring. Noen land krever at søker spesifiserer om dosen klargjøres i sykehusapotek. Ved klargjøring utenfor sykehusapotek, må dette beskrives.	VKM anser dette som relevant og tilstrekkelig informasjon. Av betydning for vurdering av helse og miljørisiko. Viktig for å vurdere sjansen for uhell/søl med klinisk vektor eller at den kommer på avveie.
3.4.	Beskrivelse av logistikk for transport av klinisk vektor på studiested. Fra lokal lagring til administrasjonssted og evt. til der dosen	VKM vurderer dette som relevant og tilstrekkelig informasjon. Av

	klargjøres for administrering. Transportbeholdere, samt prosedyrer for desinfeksjon og merking skal oppgis.	betydning for vurdering av helse og miljørisiko. Viktig for å vurdere sjansen for uhell/søl med klinisk vektor eller at den kommer på avveie.
3.5.	Informasjon om rekonstituering, ferdig legemiddel og administrering til pasienter. Her må søker beskrive prosedyre for rekonstituering (dersom aktuelt), farmasøytisk form og styrke, administrasjonsrute, dosering og administrasjonsplan. Informasjon om samtidig medisineringsom kan påvirke utskillelse av kliniske vektor-/miljørisikoen.	VKM vurderer dette som relevant og tilstrekkelig informasjon. Av betydning for vurdering av helse og miljørisiko. Både når det gjelder å vurdere fare for uhell og utskillelse av klinisk vektor.
3.6.	Søker skal beskrive tiltak for å forhindre spredning til miljøet som: a) Kontrolltiltak under rekonstituering, håndtering og administrering, b) bruk av personlig verneutstyr, c) dekontaminering /rengjøringstiltak etter administrering eller ved tilfeldig søl. Desinfeksjonsprosedyrer og evidens for at den valgte metoden er tilstrekkelig, d) eliminering eller inaktivering av rester av det ferdige produktet, e) avfallsbehandling og identifisere selskap ansvarlig for avfallshåndtering, f) anbefalinger gitt til kliniske forsøkspersoner for å forhindre spredning, g) anbefalinger om donering av blod/celler/vev/organer fra den kliniske forsøkspersonen, og (i) andre tiltak.	VKM anser dette som viktig og tilstrekkelig informasjon som har betydning for vurdering av helse og miljørisiko. Gir grunnlag for å vurdere om riktige og tilstrekkelige risikoreducerende tiltak er planlagt for studien.
3.7.	Prøvetaking og analyser av prøver som kan inneholde GMO fra studiedeltakerne. Noen land krever at søker oppgir a) hvordan prøver skal håndteres/lagres/transporteres, b) prøvetakingstidspunkt, lagringssted og lagringsforhold av prøver og om det utføres ikke-rutinemessig testing av prøvene, og om den kliniske vektoren genereres de novo under testen.	VKM anser at dette er relevant, og tilstrekkelig informasjon.
SECTION 4 –OTHER DATA REQUIREMENTS		

4.1.	Plan for studiested(er). For noen land kreves en plan for aktuelt/aktuelle studiested/studiesteder.	Det er noe uklart hvilken plan det refereres til, men VKM antar at dette er en beredskapsplan eller biosikkerhetsplan. Dette er relevant informasjon for å belyse planlagte risikoreduserende tiltak ved hendelser/uhell.
4.2	Annen informasjon. Her listes det opp spesielle biosikkerhetskrav for en rekke ulike land med referanse til andre punkter i skjema f.eks. krav om å beskrive beliggenhet av autoklav og sikkerhetsbenker, oversikt over rom involvert i studien, hva skal foregå hvor og inneslutningsnivå, om rester av klinisk vektor lagres på studiested og hvor lenge, beliggenhet av PSMII, eller tilsvarende enhet, desinfeksjon, logistikk for transport på studiested, avfallshåndtering, lagring, beredskapsplan for uhell.	VKM anser dette som relevant informasjon. Risikoreduserende tiltak på laboratorier som forhindrer utslipp. VKM har ikke tatt stilling til tilleggskrav for Norge (utenfor mandat)
SECTION 5-ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT		
Spesifikk ERA	Til slutt i skjema må søker vurdere om de spesifikke egenskapene til den kliniske vektoren som beskrevet i del 2 av søknadsskjema er i tråd med spesifikk ERA i vedleggets del 2. Hvis ja, kreves ingen ekstra ERA utover dette. Hvis nei, kreves det for innsendinger gitt i henhold til direktiv 2001/18/EF en miljørisikovurdering i samsvar med vedlegg II, mens det for innsendinger fremsatt i henhold til direktiv 2009/41/EF: kreves en vurdering av risikoen for menneskers helse og miljøet i samsvar med artikkel 4.	VKM anser informasjonen som relevant, tilstrekkelig og viktig for vurdering av helse og miljørisiko.

VKM konkluderer med at søknadskjemaet er i tråd med kravene til vurdering av helse og miljørisiko gitt i vedlegget. VKM har i sin gjennomgang lagt vekt på om informasjonen som innhentes i søknadsskjema vil være tilstrekkelig for å avgjøre om den spesifikke ERAen i del 2 av vedlegget «Good Practice on the assessment of GMO related aspects in the context of clinical trials with AAV clinical vectors» kan benyttes.

VKM vurderer at informasjonen om den kliniske vektorens egenskaper i del 2 i søknadsskjema vil være spesielt relevant for vurdering av helse og miljørisiko. Det er ut fra denne delen at man skal kunne vurdere om kravet om fravær av replikasjonskompetent virus eller skadelig transgen er oppfylt, noe som er en forutsetning for at man skal kunne benytte den forhåndsutfylte, spesifikke ERAen. VKM har også vurdert at en stor del av informasjonen om den kliniske studien i del 3 av skjema er relevant for vurdering av helse og miljørisiko, herunder antall studiedeltakere, sted for gjennomføring av studien og studiens varighet. Del 3, spesielt punkt 3.6 inneholder relevant informasjon om tiltak for å hindre spredning av klinisk vektor til miljøet, noe som er viktig for å kunne vurdere om risikoreducerende tiltak rundt f.eks. evt. utskillelse og uhell/søl er tilstrekkelige. Skjemaets del 5 er av betydning da det er der søker angir om spesifikk ERA kan benyttes eller ikke. VKM anser informasjonen i søknadsskjema som tilstrekkelig og i tråd med vedlegget.

VKM vil kunne foreta en helse- og miljørisikovurdering av AAV vektorer til bruk i humane kliniske studier på bakgrunn av opplysninger som kommer frem i skjema med vedlegg.

1.2 Søknadsskjemaet kommer med en ferdig utfylt miljørisikovurdering (ERA) som kan finnes i det tilhørende good practice dokumentet. Denne ferdig utfylte ERAen kan søker benytte seg av dersom søker kan dokumentere (1) fravær av dannelse av replikasjonskompetent virus og at (2) det innsatte transgenet i AAV-vektoren ikke er skadelig. Etter VKMs vurdering, er det tilstrekkelig med ferdigskrevet ERA for AAV-vektorer til bruk i humane kliniske studier?

Direktoratet ber VKM ta høyde for at en klinisk studie eventuelt kan innebære mange testpersoner og stort omfang.

VKM har gjort en vurdering av om det er tilstrekkelig med ferdigutfylt ERA for AAV-vektor til bruk i humane kliniske studier ved bruk av søknadsskjemaet «Common application form for investigational medical products for human use that contain or consist of AAV vectors»

1. Angående «*fravær av dannelse av replikasjonskompetent virus*»

AAV-vektorer er ikke replikasjonskompetente. AAV-vektor DNA kan ikke samtidig inneholde transgenet og de gener som er nødvendige for replikasjon av virus DNA og dannelse av nye partikler. Dette er mer DNA enn hva viruspartiklene kan pakke. Skal en AAV-vektor replikere og sammensette seg i en celle for dermed kunne skilles ut og

potensielt kunne infisere nye celler må det foreligge en trippel infeksjon av den samme cellen; den transgene AAV-vektoren, villtype AAV og hjelpevirus.

I "Common application form" punkt 2.2. står det:

"Test methods for detection of replication-competent virus should be described including information on the specificity and sensitivity thereof. Data from RCV testing at different manufacturing steps should be provided (e.g. virus seed bank, final product). Release criteria with regard to RCV testing should be specified."

2. Angående «innsatte transgenet i AAV-vektoren ikke er skadelig»

Adeno-assosierte virus er ikke kjent å være sykdomsfremkallende. Transgenet med tilhørende regulatoriske sekvenser skal beskrives av søker under punkt 2.5 og det skal gis en vurdering av om det uttrykte produktet kan være skadelig for andre mennesker enn den kliniske forsøkspersonen eller andre vertsdyr. Dersom transgenet i AAV-vektor koder for et protein som ikke er vurdert som skadelig, er konsekvensen av eksponering av andre mennesker eller vertsdyr med AAV-vektorer svært lav / neglisjerbar. Ved episoder med for eksempel søl eller kontaminering må AAV-vektor tas opp av mennesker/vertdyr og infisere disse. Skal AAV-vektoren videre replikere og sammensettes i en celle for dermed kunne skilles ut og potensielt kunne infisere nye celler må det, som nevnt ovenfor, foreligge en trippel infeksjon av den samme cellen; den transgene AAV-vektoren, villtype AAV og hjelpevirus.

I "Common application form" punkt 2.5. står det:

"The expression cassette e.g. transgene, including regulatory and coding sequences, should be described. In particular, it should be explained if the expressed product is toxic or otherwise harmful to humans (other than the clinical trial subject) or other hosts. Additionally, if the applicant considers that the transgene could confer any advantage for replication/survival of the clinical vector (vis-à-vis the parental virus), this should be explained."

VKM vurderer det som tilstrekkelig med ferdigskrevet ERA for AAV-vektorer til bruk i humane kliniske studier.

1.3 VKM har tidligere vurdert søknadskjema for humane celler modifisert med retro/lentivirus- eller AAV-vektorer, hvor også dette søknadskjemaet kom med en

tilhørende ferdig utfylt ERA. Sammenlignet med søknadsskjema for humane genmodifiserte celler, hvordan vurderer VKM at en ferdig utfylt ERA kan være tilstrekkelig for å vurdere helse- og miljørisiko i en klinisk studie med AAV-vektorer?

Selv om det er noen viktige forskjeller mellom modifiserte humane celler og AAV-vektorer (se under) er disse etter VKMs mening ikke så store at de prinsipielt bør behandles forskjellig med hensyn til ERA. Konklusjonen fra en ERA vil være basert på den samme type informasjon: hva er sannsynligheten for dannelse av RCL/RCA og hvor mye virus vil slippes ut i miljøet fra pasientene (shedding). For begge disse typer preparater (modifiserte celler vs AAV-vektor) inneholder skjemaet kritisk informasjon (Punkt 2.2 og 2.6).

Det er ulikheter mellom AAV-vektorer og retro/lentivirusvektorer som for eksempel: retro/lentivirusvektorer vil være mindre bestandige i miljøet enn AAV-vektorer; AAV-vektorer er ikke replikasjonskompetente i seg selv i den forstand at de trenger infeksjon med andre virus for å fullføre replikasjon og dannelse av nye viruspartikler.

Dekontaminering etter administrering og inaktivering av restprodukter / avfallsbehandling må ta hensyn til at AAV-vektorer er mer bestandige i miljøet.

VKM mener at det er faglig hensiktsmessig å inkludere AAV-vektorer i skjemaet. Miljørisikoen vurderes for AAV-vektorer til å være lavere enn for retro/lentivirusvektorer. Sentralt for denne vurderingen er AAV-vektorer formerer seg i en celle kun når det foreligger en trippel infeksjon av cellen.

Persistens – ved bruk av AAV baserte vektorer til genterapi er det i prinsippet ønskelig med et varig uttrykk av transgenet som er satt inn i AAV-vektoren. Dette kan oppnås på to måter: ved at vektoren integreres i mottagerens kromosomer eller ved at vektoren kopieres som et ekstrakromosomalt sirkulært episomalt element. Med villtype AAV er begge mekanismer påvist i cellekultur, men det er bare et dokumentert eksempel på integrasjon etter infeksjon med wtAAV i humant vev (Mehrle et al., 2004). Til tross for 35 års bruk er det ingen eksempler på integrasjon av rekombinante AAV baserte vektorer selv om ekspresjon av insert kan vare i opptil et år. Denne persistensen blir forklart med fraværet av alle andre genetiske elementer enn ITR og transgenet (som for eksempel *rep*) stabiliserer episomet og redusere apoptose i transduserte celler (Berns et al., 2017). Denne typen persistens er i prinsippet ønskelig, men kun relevant for pasienten som mottar vektoren siden den ikke vil replikeres og spres i miljøet.

1.4 Man kan se for seg at søknadsskjemaet også kan brukes til AAV-vektorer konstruert med CRISPR eller andre nye teknikker. Etter VKMs vurdering, kan søknadsskjemaet brukes til

dette formålet? I en slik vurdering, hva vil VKM legge vekt på, og om søknadsskjemaet kunne brukes til dette, må søker i så fall legge ved noen ekstra informasjon?

Etter VKMs vurdering er det ingenting som tilsier at bruk av CRISPR-teknologien for fremstilling av AAV til medisinsk bruk endrer kravene til substansen i en ERA eller hvilken form denne skal ha (bruk av skjema). Det som vurderes er det ferdige produkt, produktkontrollen og hvor godt dette er dokumentert. Om det brukes CRISPR eller andre metoder i fremstillingen bør ikke ha noe å si for hvordan ERA dokumenteres i dette skjema. Bioteknologirådet har utgitt en rapport som omhandler CRISPR og juridiske spørsmål:

<https://www.bioteknologiradet.no/temaer/genredigering-crispr/genredigeringcrispr-juridiske-aspekter/genredigeringcrispr-juridiske-sporsmal-oversikt/>

1.5 Etter VKMs vurdering, er det andre aspekter ved dokumentene som bør tillegges vekt i vurderingen av dokumentene, som ikke dekkes av spørsmålene 1.1 - 1.x?

Som nevnt i tabell under "SECTION 2 –INFORMATION RELATING TO THE INVESTIGATIONAL MEDICINAL PRODUCT" har man forutsatt at man får tilgang til eventuell konfidensiell informasjon omtalt i anneks.

Referanser

Berns KI, Muzyczka N. AAV: An Overview of Unanswered Questions. *Hum Gene Ther.* 2017;28(4):308-313. doi:10.1089/hum.2017.048

Brommel, C. M., Cooney, A. L. & Sinn, P. L. (2020). Adeno-Associated Virus-Based Gene Therapy for Lifelong Correction of Genetic Disease. *Human Gene Therapy*, 31 (17-18): 985-995.

Daya, S. & Berns, K. I. (2008). Gene therapy using adeno-associated virus vectors. *Clinical microbiology reviews*, 21 (4): 583-593.

Dhungel, B. P., Bailey, C. G. & Rasko, J. E. J. (2020). Journey to the Center of the Cell: Tracing the Path of AAV Transduction. *Trends in Molecular Medicine*.

Howard DB, Harvey BK. Assaying the Stability and Inactivation of AAV Serotype 1 Vectors. *Hum Gene Ther Methods*. 2017 Feb;28(1):39-48. doi: 10.1089

Hüser D, Khalid D, Lutter T, Hammer EM, Weger S, Heßler M, Kalus U, Tauchmann Y, Hensel-Wiegel K, Lassner D, Heilbronn R. High Prevalence of Infectious Adeno-associated Virus (AAV) in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells Indicative of T Lymphocytes as Sites of AAV Persistence. *J Virol.* 2017. 91(4):e02137-16. doi: 10.1128

Meier AF, Fraefel C, Seyffert M. The Interplay between Adeno-Associated Virus and its Helper Viruses. *Viruses.* 2020;12(6):662. Published 2020 Jun 19. doi:10.3390/v12060662

Mehrle S, Rohde V, Schlehofer JR. Evidence of chromosomal integration of AAV DNA in human testis tissue. *Virus Genes* 2004;28:61–69

Wang, D., Tai, P. W. L. & Gao, G. (2019). Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nature reviews Drug discovery*, 18 (5): 358-378.

Yan, Z., Zak, R., Zhang, Y. & Engelhardt, J. F. (2005). Inverted terminal repeat sequences are important for intermolecular recombination and circularization of adeno-associated virus genomes. *Journal of virology*, 79 (1): 364-379.