



## Stellungnahme der ZKBS

### zur Einstufung des *Streptococcus pneumoniae* Stammes R6 als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten

#### I. Einführung:

*Streptococcus pneumoniae* wird gemäß der Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten nach § 5 Abs. 6 GenTSV in die **Risikogruppe 2** eingeordnet (vgl. auch Merkblatt B006 der BG-Chemie), da diese humanpathogenen, Gram-positiven Bakterien zu den häufigsten Verursachern von Pneumonien, Mittelohrentzündungen und Meningitis gehören. Neben den bei der Lyse von *S. pneumoniae* freigesetzten Teichonsäuren und Peptidoglycan-Fragmenten wird auch dem von *S. pneumoniae* gebildeten Pneumolysin eine Rolle bei den inflammatorischen Prozessen zugesprochen. Bei Pneumolysin handelt es sich um ein Thiol-aktiviertes Cytotoxin von 52,8 kDa Größe.

Als hauptsächlicher Virulenzfaktor für *Streptococcus pneumoniae* wird jedoch die Bildung einer Kapsel angesehen. Diese Kapsel verhindert weitestgehend die Phagozytose; kapsellose Stämme werden hingegen durch Phagozyten schnell abgetötet.

Der *Streptococcus pneumoniae* Stamm R6 (Avery et al. (1944), J. Exp. Med. 79, 137-157), der seit vielen Jahren weltweit in bakteriologischen Laboratorien eingesetzt wird, bildet im Gegensatz zu Wildtypstämmen keine Kapsel. Spontane Revertanten sind in der Literatur nicht beschrieben. Kürzlich wurde berichtet, daß der Stamm R6 eine etwa 7,5 kb große Deletion im Gencluster für die Kapselbildung besitzt (siehe Stellungnahme R. Hakenbeck). Der Stamm R6 besitzt weiterhin Auxotrophien für eine Reihe von Aminosäuren und benötigt Cholin im Medium. Zudem trägt die hohe autolytische Kapazität dieses Stammes dazu bei, daß er nach Erreichen der stationären Wachstumsphase extrem schnell lysiert.

#### II. Empfehlung der ZKBS zur Einstufung des *Streptococcus pneumoniae* Stammes R6 als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten

Der *Streptococcus pneumoniae* Stamm R6 ist gemäß § 5 Abs. 2 i.V.m. Anhang I Teil B GenTSV der **Risikogruppe 1** zuzuordnen, wenn er bei gentechnischen Arbeiten als Empfängerorganismus verwendet wird. Gentechnische Arbeiten, bei denen bakterielle Nukleinsäuresequenzen in die Mutante eingeführt werden, die eine Überlebensfähigkeit des Stammes erhöhen können, seine Kapselbildung wieder herstellen können oder die für Virulenzfaktoren pathogener Bakterien kodieren können, sind zur Einstufung der ZKBS vorzulegen.

Abfälle, die gentechnisch veränderte Zellen der Mutante enthalten, sind zur Entsorgung zu inaktivieren.

Als Spenderorganismus für gentechnische Arbeiten ist der *Streptococcus pneumoniae* Stamm R6 der **Risikogruppe 2** zuzuordnen, da davon auszugehen ist, daß er über Virulenzgene verfügt, die, z.B. in einem Gemisch von DNA-Sequenzen (Genbanken), auf einen Empfängerorganismus übertragen werden können.