

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von *Weissella oryzae* (SG25<sup>T</sup>)  
als Spender- oder Empfängerorganismus  
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

**Allgemeines**

Bei *Weissella oryzae* SG25<sup>T</sup> (= 5JCM 18191<sup>T</sup> = 5DSM 25784<sup>T</sup>) handelt es sich um ein Gram-positives, Katalase-negatives, nicht freibewegliches, nicht sporenbildendes, anaerobes, stäbchenförmiges oder kokkoides Milchsäurebakterium aus der Familie der *Leuconostocaceae*. *W. oryzae* SG25<sup>T</sup> wurde 2013 erstmals von fermentiertem Reis isoliert, der als Tierfutter verwendet wird [1]. *Weissella* spp. kommen weit verbreitet vor, u. a. auf der Haut und in Milch von Tieren, menschlichem Speichel und Muttermilch, auf Fleisch und Fleischprodukten, im Boden, auf Pflanzen und in fermentierten Lebensmitteln [2].

Kürzlich wurden durch bioinformatische Analysen im Genom der Spezies zwei potentielle *open reading frames* (ORF) mit Homologien zu Neurotoxinen aus *Clostridium botulinum* identifiziert [3]. Analysen der kodierten Aminosäuresequenzen zeigen, dass ORF1 eine Domänenstruktur aufweist, die identisch zu der von Botulinum-Neurotoxinen ist. *Weissella* sp. und *Clostridium* sp. gehören beide zum Phylum der *Firmicutes*. Die 16S rRNA von *W. oryzae* ist zu ~83 % identisch mit der von *C. botulinum*. Bis auf die beiden ORFs wurden keine weiteren DNA Abschnitte im Genom von *W. oryzae* SG25<sup>T</sup> gefunden, die Homologien zu Genen des Neurotoxinbiosynthese-Genclusters aus *Clostridium* aufweisen. Die molekulare Modellierung und biochemische Charakterisierung des *orf1*-kodierten Enzyms bestätigt, dass es eine Metalloprotease ist [4]. Wie auch Botulinum-Neurotoxine spaltet das Enzym in *in vitro*-Experimenten Vesikel-assoziierte Membranproteine (VAMP) von Ratten, allerdings an einer untypischen Peptidbindung (Trp89-Trp90). Durch die Spaltung wird die Funktionalität der VAMP zerstört. Es wird vermutet, dass *orf1* für ein neuartiges Toxin kodiert. Ob dieses Toxin das pflanzliche VAMP-basierte Abwehrsystem beeinflusst [3] oder *W. oryzae* SG25<sup>T</sup> in seiner ökologischen Nische möglicherweise der Abwehr von Würmern und Amöben dient, ist nicht geklärt. Es sind weitere Untersuchungen nötig, um die biologische Rolle dieses Toxins aufzuklären [4].

Für eine andere *Weissella*-Spezies, *W. ceti*, wurde bereits eine Pathogenität für Tiere (Brasilianische Regenbogenforelle) gezeigt [5]. *W. ceti* wird in der TRBA 466 „Einstufung von Prokaryoten in Risikogruppen“ der Risikogruppe 2 zugeordnet. In der TRBA 466 sind alle weiteren *Weissella*-Spezies, auch *W. oryzae*, der Risikogruppe 1 zugeordnet. Die einzige derzeit von der ZKBS bewertete *Weissella*-Spezies, *W. confusa*, ist der Risikogruppe 2 zugeordnet, da Hinweise auf eine Pathogenität für den Menschen vorliegen (2008, Az. 6790-05-01-88).

## Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Weissella oryzae* SG25<sup>T</sup> als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

## Begründung

*Weissella* spp. sind sehr weit verbreitet. *W. oryzae* SG25<sup>T</sup> wurde dabei insbesondere von fermentiertem Reis, der als Tierfutter verwendet wird, isoliert. Auch wenn molekularbiologische Analysen auf die mögliche Bildung eines potenziellen Toxins hinweisen, gibt es keine Hinweise auf eine Pathogenität von *W. oryzae* SG25<sup>T</sup> für Menschen, Tiere oder Pflanzen.

## Literatur

1. **Tohno M, Kitahara M, Inoue H, Uegaki R, Irisawa T, Ohkuma M, Tajima K** (2013). *Weissella oryzae* sp. nov., isolated from fermented rice grains. *Int J Syst Evol Microbiol* **63**(4):1417-1420.
2. **Fusco V, Quero GM, Cho GS, Kabisch J, Meske D, Neve H, Bockelmann W, Franz CM** (2015). The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Front Microbiol* **17**(6):155.
3. **Mansfield MJ, Adams JB, Doxey AC** (2015). Botulinum neurotoxin homologs in non-*Clostridium* species. *FEBS Lett* **589**(3):342-8.
4. **Zornetta I, Azarnia Tehran D, Arrigoni G, Anniballi F, Bano L, Leka O, Zanotti G, Binz T, Montecucco C** (2016). The first non Clostridial botulinum-like toxin cleaves VAMP within the juxtamembrane domain. *Sci Rep* **6**:30257. doi:10.1038/srep30257.
5. **Ladner JT, Welch TJ, Whitehouse CA, Palacios GF** (2013). Genome Sequence of *Weissella ceti* NC36, an Emerging Pathogen of Farmed Rainbow Trout in the United States. *Genome Announc* **1**(1): e00187-12. doi:10.1128/genomeA.00187-12.