



**Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von
Protochlamydia amoebophila
als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Protochlamydia amoebophila ist ein Gram-negatives Chlamydien-ähnliches Bakterium aus der Familie der *Parachlamydiaceae*. Entdeckt wurde es als Endosymbiont der Amöbe *Acanthamoeba* sp., welche aus einer Bodenprobe isoliert worden ist [1, 2]. Phylogenetisch am nächsten mit *Parachlamydia acanthamoebae* verwandt (92,5 % Identität in der 16S rRNA-Analyse [2]), durchläuft es einen für Vertreter der Ordnung *Chlamydiales* typischen Entwicklungszyklus. Die infektiösen Elementarkörper werden von der eukaryoten Zelle durch einen Phagozytose-ähnlichen Mechanismus aufgenommen und verbleiben als *inclusion bodies* im Zytoplasma der Zelle. Hier differenzieren sie sich zu metabolisch aktiven Retikularkörpern, die auch zur Zellteilung befähigt sind. Eine wiederholte Differenzierung zu Elementarkörpern und die Exozytose aus den *inclusion bodies* ermöglicht die Infektion weiterer Zellen. Die Exozytose der Elementarkörper kann dabei mit der Lyse der Wirtszelle einhergehen. Im Unterschied zu Vertretern der *Chlamydiaceae* ist *P. amoebophila* fähig, eine Langzeit-Wechselwirkung mit seinem Wirt einzugehen, in welcher sich Amöben und Bakterien gleichermaßen vermehren [3]. *P. amoebophila* ist ein obligat intrazelluläres Bakterium. Neben der Fähigkeit sich in *Acanthamoeba* spp. zu vermehren, ist dies auch für entfernt verwandte Amöben wie z. B. *Dictyostelium discoideum* gezeigt worden [4, 5]. Eine Kultivierung in zellfreiem Medium bzw. in anderen Zellkulturen ist bisher nicht beschrieben. Lediglich die *in vitro* Infektion von Insektenzellen konnte gezeigt werden. Die Bakterien bildeten jedoch keine Inklusionen und replizierten in diesen Zellen nicht [6].

Aufgrund des vollständig sequenzierten und annotierten Genoms repräsentiert *P. amoebophila* einen Modellorganismus für Studien zur Interaktion intrazellulärer Bakterien mit dem jeweiligen Wirt [7]. Vergleichende Proteom-Analysen weisen darauf hin, dass *P. amoebophila* und die pathogenen Vertreter der *Chlamydiaceae* analoge Proteinkomplexe für eine Interaktion mit der Wirtszelle nutzen. Dies betrifft sowohl Komponenten der *inclusion body*-Membran als auch Proteinkomplexe der äußeren Membran der infektiösen Elementarkörper [8, 9, 10].

Eine Verbindung von *P. amoebophila* zu humanen Infektionen ist bisher nur für einen Fall einer respiratorischen Erkrankung gezeigt. In einer Studie mit respiratorischen Proben von 387 Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie wurde im Sputum einer Patientin mithilfe eines kombinierten PCR-Assays eine Nukleinsäuresequenz nachgewiesen, die zu 99,6 % identisch mit der 16S rRNA-Sequenz von *P. amoebophila* war [11].

Bewertung

Gemäß § 5 Abs. 1 GenTSV i.V.m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Protochlamydia amoebophila* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Protochlamydia amoebophila ist ein gut charakterisierter Organismus, dessen Genom sequenziert und dessen Proteom in mehreren Studien analysiert worden ist. Mithilfe dieser Studien wurden Strukturelemente nachgewiesen, die im Analogieschluss zu Kenntnissen über humanpathogene Chlamydien als Pathogenitäts- bzw. Virulenzfaktoren funktionelle Wirksamkeit haben könnten. *P. amoebophila* ist phylogenetisch eng mit *P. acanthamoebae* verwandt. Dieser Organismus wird mit Pneumonien und Aborten bei Mensch und Tier in Verbindung gebracht und ist als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der Risikogruppe 2 zugeordnet. Routinemäßige Nachweisverfahren für *P. amoebophila* sind in der Diagnostik bisher nicht etabliert. Dies könnte ein Grund dafür sein, dass *P. amoebophila* derzeit nur in einer Studie mit einer respiratorischen Erkrankung assoziiert worden ist.

Literatur

- [1] Fritsche TR, Gautom RK, Seyedirashti S, Bergeron DL, Lindquist TD (1993). Occurrence of bacterial endosymbionts in *Acanthamoeba* spp. isolated from corneal and environmental specimens and contact lenses. J Clin Microbiol 31(5): 1122-1126.
- [2] Fritsche TR, Horn M, Wagner M, Herwig RP, Schleifer KH, Gautom RK (2000). Phylogenetic diversity among geographically dispersed *Chlamydiales* endosymbionts recovered from clinical and environmental isolates of *Acanthamoeba* spp.. Appl Env Microbiol 66(6): 2613-2619.
- [3] Collingro A, Toenshoff ER, Taylor MW, Fritsche TR, Wagner M, Horn M (2005). Candidatus *Protochlamydia amoebophila*, an endosymbiont of *Acanthamoeba* spp.. Int J Syst Evol Microbiol 55(Pt 5): 1863-6.
- [4] Fritsche TR, Sobek D, Gautom RK (1998). Enhancement of in vitro cytopathogenicity by *Acanthamoeba* spp. following acquisition of bacterial endosymbionts. FEMS Microbiol Lett 166(2): 231-6.
- [5] Skriwan C, Fajardo M, Hägele S, Horn M, Wagner M, Michel R, Krohne G, Schleicher M, Hacker J, Steinert M (2002). Various bacterial pathogens and symbionts infect the amoeba *Dictyostelium discoideum*. Int J Med Microbiol 291(8): 615-24.
- [6] Sixt BS, Hiess B, König L, Horn M (2012). Lack of effective anti-apoptotic activities restricts growth of parachlamydiaceae in insect cells. PLoS One 7(1): e29565.
- [7] Horn M, Collingro A, Schmitz-Esser S, Beier CL, Purkhold U, Fartmann B, Brandt P, Nyakatura GJ, Droege M, Frishman D, Rattei T, Mewes HW, Wagner M (2004). Illuminating the evolutionary history of chlamydiae. Science 304: 728-730.
- [8] Sixt BS, Heinz C, Pichler P, Heinz E, Montanaro J, Op den Camp HJM, Ammerer G, Mechtler K, Wagner M, Horn M (2011). Proteomic analysis reveals a virtually complete set of proteins for translation and energy generation in elementary bodies of the amoeba symbiont *Protochlamydia amoebophila*. Proteomics 11: 1868-1892.
- [9] Heinz E, Rockey DD, Montanaro J, Aistleitner K, Wagner M, Horn M (2010). Inclusion membrane proteins of *Protochlamydia amoebophila* UWE25 reveal a conserved mechanism for host cell interaction among the Chlamydiae. J Bacteriol 192(19): 5093-5102.

- [10] Heinz E, Pichler P, Heinz C, Op den Camp HJ, Toenshoff ER, Ammerer G, Mechtler K, Wagner M, Horn M (2010). Proteomic analysis of the outer membrane of *Protochlamydia amoebophila* elementary bodies. *Proteomics* 10(24): 4363-76.
- [11] Haider S, Collingro A, Walochnik J, Wagner M, Horn M (2008). *Chlamydia*-like bacteria in respiratory samples of community-acquired pneumonia patients. *FEMS Microbiol Lett* 281: 198-202.