

**Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von
Bakterien der SAR86-Gruppe
einschließlich des Monterey Bay Gammaproteobacterium EBAC31A08
als Spender- und Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Das Monterey Bay Gammaproteobacterium EBAC31A08 ist ein bisher nicht kultiviertes Bakterium der SAR86-Gruppe. Es wird auch als *uncultured marine gamma proteobacterium* EBAC31A08 bezeichnet [1].

Das Bakterium wurde im Jahr 2000 anhand seiner DNA in einem BAC-Klon identifiziert, der Teil einer BAC-Bibliothek ist, die aus Proben der obersten Meerwasserschicht an der kalifornischen Küste (Monterey Bay) hergestellt wurde [2]. Der BAC-Klon EBAC31A08 enthält ein 130 kb großes DNA-Fragment, das vollständig sequenziert wurde [3, 4]. Auf dem DNA-Fragment wurde erstmals in einem Bakterium ein Gen für ein Rhodopsin (Proteorhodopsin) entdeckt. Bislang waren ähnliche Gene nur aus halophilen Archaeen bekannt [5]. Aufgrund der kodierten 16S/23S rRNA-Gene konnte das Bakterium der SAR86-Gruppe zugeordnet werden [2, 6].

Bei diesen Bakterien handelt es sich um oligotrophe und chemoheterotrophe marine Bakterien aus dem Phylum *Pseudomonadota* und der Klasse *Gammaproteobacteria* [7, 8]. In der Taxonomie-Datenbank *Taxonomy Browser* des *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) wird die SAR86-Gruppe (dort als SAR86 *cluster* bezeichnet) als Klade eingestuft, der taxonomische Rang ist damit noch unklar (Stand Januar 2024) [1]. Eine Klade bezeichnet eine Gruppe von Organismen, die einen Vorfahren und alle seine Nachkommen umfasst. Kladen können mehrere Klassifizierungsebenen umfassen, wie z. B. Art, Gattung, Familie, Ordnung, Klasse etc. Laut der Klassifikation der *Genome Taxonomy Database* [9] entspricht die SAR86-Gruppe der Rangstufe einer Ordnung, die in vier Familien (AG-339-G14, D2472, SAR86 und TMED112) und 23 Gattungen unterteilt werden kann [10].

Erste Mitglieder der SAR86-Gruppe wurden durch Klonierung und Sequenzierung von 16S rRNA-Genen identifiziert, die aus Bakterioplankton-Proben der obersten Meerwasserschicht (bis ca. 2 m Tiefe) der Sargassosee (Mittelamerikanischer Atlantik) stammen, daher die Bezeichnung „SAR“ [11]. Seitdem wurden Vertreter der SAR86-Gruppe weltweit und häufig in den obersten Meerwasserschichten von überwiegend nährstoffarmen (oligotrophen) Gewässern nachgewiesen [8, 12].

Versuche, Bakterien der SAR86-Gruppe *in vitro* zu kultivieren, sind fehlgeschlagen [13], so dass mit Stand von 2023 bisher keine kultivierten Vertreter der SAR86-Gruppe bekannt sind [7]. Die Bakterien wachsen *in situ* (marines Freiwasser) langsam, mit nur ~ 0,5 Teilungen pro Tag, was mithilfe von Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung-basierten Methoden bestimmt werden konnte [7, 14].

Mittels bioinformatischer Techniken wurden aus mehreren *single-amplified genomes* nahezu vollständige Genome von Vertretern aller vier Familien zusammengestellt [10]. Die Vertreter der SAR86-Gruppe haben im Vergleich zu anderen marinen Bakterien, deren Genome zwischen 2 bis 5 Mbp groß sind, kleine Genome von ~1 bis 2 Mbp [8, 10, 15]. Entsprechend der *streamlining theory*, einer Theorie aus der Evolutionsbiologie [16], wird angenommen, dass im Laufe der Evolution eine starke Reduktion des Genoms stattgefunden hat, womöglich als Anpassung an nährstoffarme Habitate [10]. Viele Gene für Synthesewege von Aminosäuren und Vitaminen fehlen [8]. Bisher gibt es keine Hinweise darauf, dass Genen für Virulenzfaktoren im Genom vorliegen [8, 10].

Phylogenetische Analysen wurden basierend auf 16S rRNA-Sequenzen und Sequenzen von konservierten *Gammaproteobacteria*-Proteinen durchgeführt. Die SAR86-Gruppe ist phylogenetisch weit von anderen kultivierten *Gammaproteobacteria* entfernt. Die nächsten kultivierten Verwandten stammen aus den Ordnungen *Oceanospirillales*, *Alteromonadales* und *Pseudomonadales* [8]. Diese Ordnungen enthalten zahlreiche marine Bakterien der Risikogruppe 1, aber auch die Gattung *Pseudomonas* mit tier- und humanpathogenen Spezies der Risikogruppe 2.

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV werden Vertreter der SAR86-Gruppe, einschließlich des Monterey Bay Gammaproteobacterium EBAC31A08, als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Vertreter der SAR86-Gruppe sind weltweit verbreitete, bisher nicht kultivierte marine oligotrophe Bakterien. Gemäß der „Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von prokaryotischen Umweltisolaten bei gentechnischen Arbeiten“ (Az. 6790-10-43, aktualisiert Februar 2022) ist ein Bewertungskriterium, ob Isolate aus Lebensräumen stammen, an denen Organismen mit geringen Nährstoffansprüchen vorherrschen. Bakterien können meist als Krankheitserreger ausgeschlossen werden, wenn sie auf komplexen Medien nur sehr schwach oder überhaupt nicht wachsen. Die gescheiterten Kultivierungs-Versuche von Vertretern der SAR86-Gruppe deuten indirekt darauf hin, dass ihr Wachstum auf komplexen Nährmedien gehemmt ist.

Zudem liegen bisher keine Hinweise auf ein Gefährdungspotenzial für den Menschen, Tiere, Pflanzen oder die Umwelt in ihrem Wirkungsgefüge vor.

Literatur

1. **NCBI** (2024). Taxonomy Browser <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>. Besucht am 18.01.2023.
2. **Béjà O, Suzuki MT, Koonin EV, Aravind L, Hadd A, Nguyen LP, Villacorta R, Amjadi M, Garrigues C, Jovanovich SB, Feldman RA, DeLong EF** (2000). Construction and analysis of bacterial artificial chromosome libraries from a marine microbial assemblage. *Environ Microbiol* **2**(5):516–29.
3. **Béjà O, Aravind L, Koonin EV, Suzuki MT, Hadd A, Nguyen LP, Jovanovich SB, Gates CM, Feldman RA, Spudich JL, Spudich EN, DeLong EF** (2000). Bacterial rhodopsin: evidence for a new type of phototrophy in the sea. *Science* **289**(5486):1902–6.
4. **La Torre JR de, Christianson LM, Béjà O, Suzuki MT, Karl DM, Heidelberg J, DeLong EF** (2003). Proteorhodopsin genes are distributed among divergent marine bacterial taxa. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**(22):12830–5.
5. **Béjà O, Spudich EN, Spudich JL, Leclerc M, DeLong EF** (2001). Proteorhodopsin phototrophy in the ocean. *Nature* **411**(6839):786–9.
6. **Mullins TD, Britschgi TB, Krest RL, Giovannoni SJ** (1995). Genetic comparisons reveal the same unknown bacterial lineages in Atlantic and Pacific bacterioplankton communities. *Limnol Oceanogr* **40**(1):148–58.
7. **Brüwer JD, Orellana LH, Sidhu C, Klip HCL, Meunier CL, Boersma M, Wiltshire KH, Amann R, Fuchs BM** (2023). In situ cell division and mortality rates of SAR11, SAR86, Bacteroidetes, and Aurantivirga during phytoplankton blooms reveal differences in population controls. *mSystems* **8**(3):e0128722.
8. **Dupont CL, Rusch DB, Yooseph S, Lombardo M-J, Richter RA, Valas R, Novotny M, Yee-Greenbaum J, Selengut JD, Haft DH, Halpern AL, Lasken RS, Nealson K, Friedman R, Venter JC** (2012). Genomic insights to SAR86, an abundant and uncultivated marine bacterial lineage. *ISME J* **6**(6):1186–99.
9. **GTDB** (2023). Genome Taxonomy Database <https://gtdb.ecogenomic.org/>. Besucht am 18.01.2023.
10. **Roda-Garcia JJ, Haro-Moreno JM, Rodriguez-Valera F, Almagro-Moreno S, López-Pérez M** (2023). Single-amplified genomes reveal most streamlined free-living marine bacteria. *Environ Microbiol* **25**(6):1136–54.
11. **Britschgi TB, Giovannoni SJ** (1991). Phylogenetic analysis of a natural marine bacterioplankton population by rRNA gene cloning and sequencing. *Appl Environ Microbiol* **57**(6):1707–13.
12. **Treusch AH, Vergin KL, Finlay LA, Donatz MG, Burton RM, Carlson CA, Giovannoni SJ** (2009). Seasonality and vertical structure of microbial communities in an ocean gyre. *ISME J* **3**(10):1148–63.
13. **Eilers H, Pernthaler J, Glöckner FO, Amann R** (2000). Culturability and In situ abundance of pelagic bacteria from the North Sea. *Appl Environ Microbiol* **66**(7):3044–51.
14. **Teira E, Martínez-García S, Lønborg C, Alvarez-Salgado XA** (2009). Growth rates of different phylogenetic bacterioplankton groups in a coastal upwelling system. *Environ Microbiol Rep* **1**(6):545–54.
15. **Chen J, Guo Y, Jia Y, Liu G, Li D, Xu D, Wang B, Zhou L, Peng L, Zhao F, Zhu Y, Sun J, Ye C, Wang J, Zhang H, Liu S, Seim I, Liu X, Xu X, Yang H, Kristiansen K, Fan G** (2021). Diversity, function and evolution of marine microbe genomes. *bioRxiv* 2021.10.26.465843
16. **Giovannoni SJ, Cameron Thrash J, Temperton B** (2014). Implications of streamlining theory for microbial ecology. *ISME J* **8**(8):1553–65.