

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von *Vibrio natriegens*
und *Vibrio natriegens*-Stamm Vmax™
als Spender- oder Empfängerorganismus
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Vibrio natriegens (früher als *Pseudomonas natriegens* und *Beneckeia natriegens* bezeichnet) ist ein gramnegatives, nicht humanpathogenes Meeresbakterium aus der Familie der *Vibrionaceae* [1]. *V. natriegens* ist halophil und benötigt für sein Wachstum einen NaCl-Gehalt von ungefähr 2 %. Es ist in Mündungsgebieten (Ästuaren) verbreitet und wurde erstmals von Salzwiesen in Georgia, USA, isoliert [2]. Für viele *Vibrio*-Spezies ist eine geringe Kältetoleranz beschrieben [3], so wurde für kultivierte *V. natriegens* eine schlechte Lagerfähigkeit und verringerte Katalaseaktivität bei 4 °C gezeigt [4].

V. natriegens wird als apathogen beschrieben [1, 5, 6]. Hinweise auf eine Pathogenität für Menschen liegen nicht vor. Der Stamm *V. natriegens* XA1 wurde jedoch als Pathogen für die Gazami-Krabbe (*Portunus trituberculatus*), eine der am häufigsten gefischten Krabbenarten, identifiziert. So waren Infektionen mit dem Stamm mit einer hohen Mortalität kultivierter Gazami-Krabben im Juli 2010 in China assoziiert [7]. Bei einer Konzentration von 10⁷ cfu/ml in Meerwasser lag die Mortalität der Krabben nach 48 Stunden bereits bei 93,3 %. *V. natriegens*-Infektionen wurden auch für Chinesische Weiße Garnelen (*Penaeus chinensis/ Fenneropenaeus chinensis*), Atlantische Jakobsmuscheln (*Argopecten irradians*) und die Atlantische Venusmuschel (*Meretrix meretrix*) beschrieben [7]. Keine dieser Arten kommt natürlicherweise in europäischen Küstengebieten vor.

V. natriegens zeichnet sich durch eine sehr hohe Teilungsrate (< 10 min Verdopplungszeit unter optimalen Bedingungen) aus [8, 9] und ist natürlich kompetent [10]. Es wächst schneller und zu höheren Dichten als *Escherichia coli*, lässt sich über Elektroporation transformieren, eignet sich zur Isolation von Plasmiden und zur Expression und Sekretion von Proteinen und ist als Kryokultur bei -80 °C lagerbar. Es wurde daher als neuer Bakterienstamm zur Verwendung für biotechnologische Anwendungen optimiert [4].

Der gentechnisch veränderte *V. natriegens*-Stamm Vmax™ ist das Produkt dieser Optimierung. Vor der Optimierung wurden die Genome verschiedener *V. natriegens*-Stämme sequenziert und bioinformatisch auf das Vorhandensein von Genen hin untersucht, die für bekannte Toxine pathogener *Vibrio*-Spezies kodieren. Zwei Stämme mit potentiellen Toxingenen wurden vorsorglich nicht für die Entwicklung von *V. natriegens* Vmax™ verwendet. Zur Herstellung dieses Stammes wurde das Gen für die extrazelluläre Nuklease Dns (homolog zu der Nuklease EndA von *E. coli*) ausgeschaltet, um die Qualität von isolierter Plasmid-DNA zu verbessern. Eine T7-RNA-Polymerasekassette unter der Kontrolle des IPTG-induzierbaren *lacUV5* Promoters wurde in das bakterielle Chromosom inseriert. *V. natriegens* Vmax™ sind daher für die induzierbare Genexpression unter der Kontrolle des T7-Promoters zur Produktion rekombinanter Proteine geeignet [4].

In der TRBA 466 ist *V. natrie*gens in die Risikogruppe 1 eingruppiert [11].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Vibrio natrie*gens als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Der gentechnisch veränderte *Vibrio natrie*gens-Stamm VmaxTM wird gemäß § 5 Abs. 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV ebenfalls der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

*Vibrio natrie*gens kommt natürlicherweise in Mündungsgebieten vor. Es gibt keine Hinweise auf eine Pathogenität für den Menschen, ein Gefährdungspotenzial ist lediglich für in milderen klimatischen Gebieten verbreitete Krebse und Mollusken beschrieben. Es sind bisher keine Fälle beschrieben, die eine Infektion von in europäischen Küstengebieten lebenden Tieren belegen. *V. natrie*gens hat eine geringe Kältetoleranz und bekannte Wirtsorganismen sind in Deutschland und angrenzenden Staaten nicht verbreitet.

Der gentechnisch veränderte *Vibrio natrie*gens-Stamm VmaxTM ist gut charakterisiert. Es wurde gezeigt, dass der Ausgangsstamm keine bekannten Toxingene enthält, wodurch sein Gefährdungspotential gegenüber anderen Stämmen mit potentiellen Toxingenen noch einmal geringer ist. Mit einem Risiko für Mensch, Tier und Umwelt muss unter hier gegenwärtig gegebenen, klimatischen Bedingungen nicht gerechnet werden.

Literatur

1. **Lee HH, Ostrov N, Wong BG, Gold MA, Khalil AS, Church GM** (2016) *Vibrio natrie*gens, a new genomic powerhouse. bioRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/058487>.
2. **Payne WJ, Eagon RG, Williams AK** (1961) Some Observations on the Physiology of *Pseudomonas natrie*gens nov. spec. *Antonie van Leeuwenhoek* **27**:121-128.
3. **Oliver JD** (2010) Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev* **34**(4):415-425.
4. **Weinstock MT, Heseck ED, Wilson CM, Gibson DG** (2016) *Vibrio natrie*gens as a fast-growing host for molecular biology. *Nat Method* **13**(10):849-51.
5. **Ruwandeeepika HAD, Jayaweera TSP, Bhowmick PP, Karunasagar I, Bossier P, Defoirdt T** (2012) Pathogenesis, virulence factors and virulence regulation of vibrios belonging to the *Harveyi* clade. *Rev Aquacult* **4**:59-74.
6. **Kokashvili T, Whitehouse CA, Tskhvediani A, Grim CJ, Elbakidze T, Mitaishvili N, Tediashvili M** (2015). Occurrence and Diversity of Clinically Important *Vibrio* Species in the Aquatic Environment of Georgia. *Front Public Health* **3**:232.
7. **Bi K, Zhang X, Yan B, Gao H, Gao X, Sun J** (2016) Isolation and Molecular Identification of *Vibrio natrie*gens from Diseased *Portunus trituberculatus* in China. *J World Aquacult Soc.* **47**:854-861.
8. **Eagon RG** (1962) *Pseudomonas natrie*gens, a marine bacterium with a generation time of less than 10 minutes. *J Bacteriol* **83**:736-737.
9. **Maida I, Bosi E, Perrin E, Papaleo MC, Orlandini V, Fondi M, Canganella F** (2013) Draft Genome Sequence of the Fast-Growing Bacterium *Vibrio natrie*gens Strain DSMZ 759. *Genome Announc* **1**(4):e00648-13.

10. **Dalia TN, Hayes CA, Stolyar S, Marx CJ, McKinlay JB, Dalia AB** (2017) Multiplex genome editing by natural transformation (MuGENT) for synthetic biology in *Vibrio natriegens*. *ACS Synth Biol* **6**(9):1650-1655.
11. **TRBA** (2015) Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen (TRBA 466). <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA-466.html>. 31.03.2017.

