

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung des
Acanthocystis turfacea chlorella virus 1
als Spender- und Empfängerorganismus
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Acanthocystis turfacea chlorella virus 1 (ATCV-1) gehört innerhalb der Familie *Phycodnaviridae* zur Gattung *Chlorovirus*. Das Genom des Virus besteht aus einer dsDNA mit einer Gesamtlänge von ca. 288 kb und enthält auch Gene, für die ein pro- oder eukaryotischer Ursprung angenommen wird [1].

ATCV-1 wurde erstmalig im Jahr 2005 aus einem Teich im Botanischen Garten der Universität Hohenheim isoliert [2]. Es infiziert die einzellige Grünalge *Chlorella heliozoae*, die als Endosymbiont mit dem Sontentierchen *Acanthocystis turfacea* vergesellschaftet ist. Dabei sind nur die frei vorkommenden, nicht jedoch die endosymbiontisch lebenden Algen suszeptibel für eine ATCV-1-Infektion [3]. Die Infektion führt zur Lyse der Grünalgen.

Chloroviren sind weltweit in Süßwasservorkommen verbreitet, wobei die Konzentration jahreszeitlich und regional stark schwanken kann [4]. In der Regel enthält Süßwasser 1 bis 100 freie Viren/ml (ohne den Algenwirt), in Einzelfällen wurden jedoch auch bis zu 10^5 Viren/ml nachgewiesen [4, 5].

Der Wirtsbereich von Chloroviren beschränkt sich meist auf einen oder wenige *Chlorella*-Stämme. So kann ATCV-1 nur den Stamm SAG 3.83 von *C. heliozoae* produktiv infizieren, nicht jedoch andere Stämme, die als Wirte nah verwandter Chloroviren beschrieben sind [2]. Als Grund dafür werden stammspezifische Besonderheiten der Zellwand der jeweiligen Grünalgen angenommen [2].

Ungeachtet dieser beschriebenen strengen Wirtsspezifität wurde jedoch bei einer metagenomischen Sequenzierung von Proben aus Rachenabstrichen gesunder Erwachsener in den USA bei 43,5 % der untersuchten Personen ATCV-1-DNA nachgewiesen [6]. Die Anwesenheit der ATCV-1-DNA war dabei mit einer signifikant schlechteren Bewältigung von bestimmten kognitiven Tests assoziiert. Mäuse, denen aufgrund dieses Befunds mithilfe einer Schlundsonde 4×10^7 ATCV-1-infizierte *C. heliozoae* zugeführt wurden, schnitten bei Verhaltenstests sechs Wochen nach der Verabreichung in verschiedenen kognitiven Bereichen ebenfalls schlechter ab als nicht mit ATCV-1-infizierten Grünalgen inokulierte Kontrolltiere, z. B. bei Tests zum Erkennungsgedächtnis und zur sensorischen

Reizverarbeitung [6]. Zudem war die Expression pro-inflammatorischer Gene im Hippocampus (der eine entscheidende Rolle bei Lern- und Gedächtnisprozessen spielt) der exponierten Mäuse erhöht. Die Tiere wiesen jedoch über den gesamten Versuchszeitraum keine Anzeichen einer Erkrankung auf. Auch wenn Mäusen 5×10^8 *plaque forming units* (PFU) ATCV-1 (ohne den Algenwirt) intrakranial injiziert wurden, zeigten die Tiere vier Wochen nach der Verabreichung ein schlechteres verzögertes Erkennungsgedächtnis (*delayed recognition memory*) und eine geringere Kontaktfreudigkeit im Vergleich zu nicht-inokulierten Kontrolltieren [7]. In diesem Tierversuch wurde ebenfalls eine erhöhte Expression pro-inflammatorischer Gene im Hippocampus sowie im gesamten Gehirn der exponierten Mäuse festgestellt. Darüber hinaus wurde der Einfluss von ATCV-1 auf den Krankheitsverlauf in einem transgenen Mausmodell für die familiäre Form der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS) untersucht, die im Zusammenhang mit Polymorphismen im Gen für die Superoxid-Dismutase (SOD) steht. In diesem Tiermodell beschleunigte die intrakranielle Injektion von 5×10^8 PFU ATCV-1 die Pathogenese (Degeneration der Motoneuronen), erhöhte jedoch nicht die Sterblichkeit [5]. Zudem führte die Expression der SOD von ATCV-1 in murinen Makrophagen zu einer Erhöhung der Produktion pro-inflammatorischer Faktoren und einer verstärkten Expression Interferon-stimulierter Gene. Sowohl im Zusammenhang mit den beobachteten kognitiven Defiziten als auch mit der Entwicklung von ALS werden immunpathologische Effekte als zugrundeliegender Mechanismus diskutiert [4, 6, 8]. Ferner kodiert das virale Genom für Proteine, die Zellmembrankanäle bilden können oder am Ionentransport beteiligt sind (z. B. Kaliumionenkanalprotein, Kaliumionentransportprotein, Aquaglyceroporin) [1]. Der Einfluss dieser Proteine auf die Signalübertragung oder die Steuerung neurologischer Aktivität ist bislang noch nicht untersucht.

Weiterführende *in vitro*-Experimente zum Wirtsbereich zeigten, dass ATCV-1 von murinen Makrophagen aufgenommen wird und in diesen geringfügig repliziert [8]. Zudem wurde die Expression pro-inflammatorischer Gene in den Makrophagen induziert. In BHK-21-Zellen konnte sich ATCV-1 hingegen nicht vermehren.

Mögliche Übertragungswege von ATCV-1 auf den Menschen sind bislang nicht untersucht, es wird jedoch die orale, nasale oder respiratorische Aufnahme von Süßwasser diskutiert [5]. Auch eine alimentäre Übertragung von ATCV-1 kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, da *Chlorella*-Algen in getrockneter Form als Nahrungsergänzungsmittel kommerziell erhältlich sind und möglicherweise neben den zumeist verwendeten Spezies *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris* und *Chlorella luteoviridis* auch noch weitere *Chlorella*-Spezies enthalten können [4].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV wird *Acanthocystis turfacea chlorella virus 1* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Acanthocystis turfacea chlorella virus 1 infiziert die Grünalge *C. heliozoae*. Es ist derzeit nicht auszuschließen, dass eine Exposition des Menschen oder von Säugetieren gegenüber dem Virus zur Ausbildung kognitiver Defizite oder neurologischer Erkrankungen beitragen kann.

Literatur

1. **Fitzgerald L, Graves M, Li X, Hartigan J, Pfitzner A, Hoffart E, and Van Etten J.** (2007). Sequence and annotation of the 288-kb ATCV-1 virus that infects an endosymbiotic chlorella strain of the heliozoon *Acanthocystis turfacea*. *Virology* **362**(2):350-61.
2. **Bubeck J & Pfitzner A.** (2005). Isolation and characterization of a new type of chlorovirus that infects an endosymbiotic Chlorella strain of the heliozoon *Acanthocystis turfacea*. *J Gen Virol* **86**:2871-7.
3. **Van Etten J, Agarkova I, and Dunigan D.** (2019). Chloroviruses. *Viruses* **12**:20.
4. **Zhernov Y, Vysochanskaya S, Basov A, Sukhov V, Simanovsky A, Fadeeva I, Polibin R, Sidorova E, Shcherbakov D, and Mitrokhin O.** (2023). The Role of Chloroviruses as Possible Infectious Agents for Human Health: Putative Mechanisms of ATCV-1 Infection and Potential Routes of Transmission. *Trop Med Infect Dis* **8**(1):40.
5. **Petro T, Agarkova I, Esmael A, Dunigan D, Van Etten J, and Pattee G.** (2022). Chlorovirus ATCV-1 Accelerates Motor Deterioration in SOD1-G93A Transgenic Mice and Its SOD1 Augments Induction of Inflammatory Factors From Murine Macrophages. *Front Neurol* **13**:821166.
6. **Yolken R, Jones-Brando L, Dunigan D, Kannan G, Dickerson F, Severance E, Sabunciyan S, Talbot C Jr, Prandovszky E, Gurnon J, Agarkova I, Leister F, Gressitt K, Chen O, Deuber B, Ma F, Pletnikov M, and Van Etten J.** (2014). Chlorovirus ATCV-1 is part of the human oropharyngeal virome and is associated with changes in cognitive functions in humans and mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**(45):16106-11.
7. **Petro M, Agarkova I, and Petro T.** (2016). Effect of Chlorovirus ATCV-1 infection on behavior of C57Bl/6 mice. *J Neuroimmunol* **297**:46-55.
8. **Petro T, Agarkova I, Zhou Y, Yolken R, Van Etten J, and Dunigan D.** (2015). Response of mammalian macrophages to challenge with the chlorovirus *Acanthocystis turfacea* chlorella virus 1. *J Virol* **89**(23):12096-107.