



## **Stellungnahme der ZKBS auf eine Anfrage des Regierungspräsidiums Tübingen zur Risikobewertung eines gentechnisch veränderten Organismus**

### **Beschreibung des gentechnisch veränderten Organismus:**

Das Gurkenmosaikvirus (Cucumber mosaic virus, CMV) ist ein Pflanzenvirus mit einem dreigeteilten Einzelstrang-RNA-Genom, auf dem sich fünf Gene befinden. Die Replikase-Proteine 1a (111 kDa) und 2a (97 kDa) werden von den RNAs 1 bzw. 2 kodiert. Ein zusätzliches Protein, 2b (11,3 kDa), dessen Funktion nicht bekannt ist, wird von einem offenen Leserahmen kodiert, der mit dem 3'-Ende des 2a-Gens überlappt und über die Bildung einer subgenomischen RNA (RNA 4A) exprimiert wird. Die RNA 3 trägt das Gen für das Virushüllprotein (24,5 kDa) und für das 3a-Protein (30 kDa), das an der Ausbreitung des Virus in der Pflanze beteiligt ist.

Ein ca. 810 Nukleotide umfassender Nukleinsäureabschnitt innerhalb des 2a-Gens eines „full length“-cDNA-Klons der RNA 2 des CMV-Stammes „K“ wurde durch die entsprechende Sequenz aus dem CMV-Stamm „Fny“ ersetzt. Zur Erzeugung eines rekombinanten Gurkenmosaikvirus („pK-NHd-CMV“) wurden Testpflanzen gleichzeitig mit Transkripten dieses Konstrukts und von „full length“-Klonen der RNAs 1 und 3 des CMV-Stammes „Fny“ infiziert.

### **Risikogruppe des gentechnisch veränderten Organismus:**

Gemäß § 5 Abs. 2 Satz 2 und Anhang I Teil B Nr. 2 GenTSV:

rekombinantes Gurkenmosaikvirus „pK-NHd-CMV“

**Risikogruppe 1**

### Begründung:

Der Spender- und Empfängerorganismus CMV wurde von der ZKBS in einer Stellungnahme vom 19. Februar 1991 als in Europa weitverbreitetes Pflanzenvirus, das nicht in der Pflanzenbeschauverordnung aufgeführt ist, in die **Risikogruppe 1** eingestuft (Az. 6790-01-0088).

Das rekombinante Gurkenmosaikvirus „pK-NHd-CMV“ besitzt nach Untersuchungen von Herrn Dr. K.-H. Hellwald, Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, eine im Vergleich zu den beiden Ausgangsstämmen „K“ und „Fny“ erhöhte Virulenz bei Paprikapflanzen (*Capsicum annuum* L.). Diese erhöhte Virulenz äußert sich in einer verglichen mit „K-CMV“ oder „Fny-CMV“ stärkeren Wachstumshemmung infizierter Pflanzen. Der Virusgehalt war bei Infektionen mit dem rekombinanten Virus mehr als doppelt so hoch wie bei Infektionen mit einem der Ausgangsstämme. Bei mehreren anderen Testpflanzen (Tabak, Tomate, Gurke, Aubergine) wurden dagegen keine signifikanten Unterschiede in der Symptomstärke zwischen dem rekombinanten Virus und Wildtyp-CMV festgestellt.

Eine erhöhte Virulenz im Vergleich zu den beiden Ausgangsstämmen wurde auch bei einer Pseudorekombinante beobachtet, die sich aus den RNAs 1, 3 und 4 von „Fny-CMV“ und der RNA 2 von „K-CMV“ zusammensetzte. Dies deutet darauf hin, daß im Falle von „pK-NHd-CMV“

nicht primär die Rekombination innerhalb der RNA 2 für die Symptomverstärkung verantwortlich ist, sondern die Kombination von RNA 2-Sequenzen von „K-CMV“ mit den RNAs 1, 3 und 4 von „Fny-CMV“.

Für die Einordnung von phytopathogenen Organismen in Risikogruppen ist es nach Ansicht der ZKBS entscheidend, ob bei einem Entweichen dieser Organismen in die Umwelt eine Gefährdung für Wild- oder Kulturpflanzen, z. B. durch eine signifikante Zunahme von Infektionsereignissen, zu erwarten ist.

CMV ist eines der Pflanzenviren mit dem breitesten bekannten Wirtspflanzenkreis. Es infiziert ca. 800 Pflanzenarten aus 40 Familien der Angiospermen. Aus der Tatsache, daß das rekombinante Virus bei einer Wirtspflanzenart stärkere Symptome verursacht, ergeben sich keine Hinweise auf einen gegenüber Wildtyp-CMV veränderten Wirtskreis, insbesondere auf eine Human- oder Tierpathogenität. Dies wurde durch Infektionsversuche mit Bohnen (*Phaseolus vulgaris* L.) bestätigt. Da bekannt ist, daß die beiden Ausgangsstämme „K-CMV“ und „Fny-CMV“ - im Gegensatz zu CMV-Stämmen anderer Stammgruppen - Bohnen nicht infizieren können, wurden Bohnenpflanzen mit dem rekombinanten „pK-NHd-CMV“ inokuliert. Dabei wurden keine Infektionen erzielt. Von einem durch den Umgang mit „pK-NHd-CMV“ gegenüber Wildtyp-CMV erhöhten Risiko ist daher nicht auszugehen. „pK-NHd-CMV“ ist demzufolge in die **Risikogruppe 1** einzuordnen.