

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. V.L.W.A. Heijnen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 26 juni 2023
KENMERK CGM/230626-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van de choanoflagellaat *Salpingoeca rosetta*

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld “Activiteiten met genetisch gemodificeerde Choanoflagelaten” (IG 23-090_2.8-000) ingediend door de Universiteit Utrecht, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de choanoflagellaat *Salpingoeca rosetta* en de plaatsing van dit organisme op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.

S. rosetta is een choanoflagellaat, een micro-organisme dat gezien wordt als de voorloper van de meercellige dieren (metazoa). Choanoflagellaten zoals *S. rosetta* bevatten een zweepstaartje en voeden zich met bacteriën. Zij kennen zowel één- als meercellige levensstadia, waarbij de overgang tussen levensstadia afhankelijk is van omgevingsfactoren. *S. rosetta* wordt gebruikt als modelorganisme om de evolutionaire overgang van één- naar meercellig leven te onderzoeken.

Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties waarin melding wordt gemaakt dat *S. rosetta* ziekteverwekkend is. De COGEM is van oordeel dat *S. rosetta* apathogeen is en adviseert deze soort in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

- Drs. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

Pathogeniteitsclassificatie van de choanoflagellaat *Salpingoeca rosetta*

COGEM advies CGM/230626-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een vergunningaanvraag van de Universiteit Utrecht (IG 23-090), is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de choanoflagellaat *Salpingoeca rosetta* en over plaatsing van deze soort op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.¹ Deze bijlage bestaat uit een lijst van micro-organismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende micro-organisme ggo's vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (lijst A2 veilige vectoren en lijst A3 inserties)

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo)

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie van een micro-organisme de risico's voor mens en milieu in oenschouw genomen. Daartoe worden de micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen. Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1, die gevormd wordt door apathogene micro-organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene micro-organismen. Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met ggo's van die klasse.

Apathogene micro-organismen worden ingedeeld in *pathogeniteitsklasse 1*. Dergelijke micro-organismen dienen minimaal aan één van de volgende criteria te voldoen:

- a) het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
- b) het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
- c) het micro-organisme behoort tot een soort die vertegenwoordigers bevat van klasse 2, 3 of 4, maar de stam in kwestie bevat geen genetisch materiaal dat verantwoordelijk is voor de virulentie;
- d) van het micro-organisme is het niet-virulente karakter door middel van adequate tests aangetoond.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 2* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is, alsmede een micro-organisme dat bij planten een ziekte kan veroorzaken.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 3* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 4* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

3. *Salpingoeca rosetta*

Salpingoeca rosetta (familie *Salpingoecidae*) is een protist, een ééncellig eukaryoot organisme dat geen dier, plant of schimmel is. Het micro-organisme behoort tot de groep van de choanoflagellata. Choanoflagellaten komen wereldwijd in verschillende aquatische milieus (zoet- en zoutwater) voor en worden beschouwd als de evolutionaire voorlopers van de metazoa, de meercellige dieren.^{2,3} Zij kennen naast ééncellige levensstadia ook meercellige levensstadia. Choanoflagellaten beschikken over een enkel zweepstaartje (flagel) waarmee ze zich kunnen voortbewegen in het water en bacteriën naar zich toe kunnen bewegen om te fagocyteren als voedselbron.^{4,5} De flagel is omgeven door een kraag van kleinere microvilli.

S. rosetta is in het jaar 2000 geïsoleerd uit modder nabij Hog Island in de staat Virginia, in de Verenigde Staten.⁶ Het micro-organisme is ongeveer 2 - 4,5 µm in diameter en de flagel is ongeveer 15 µm lang. De omringende microvilli van *S. rosetta* zijn - afhankelijk van het levensstadium – tot 5 µm lang.⁶ *S. rosetta* kent minstens vijf levensstadia die afhankelijk van stimuli uit de omgeving gevormd worden. Er zijn drie ééncellige levensstadia beschreven: een sedentair stadium waarbij het organisme zich vasthecht aan substraat met behulp van een ‘theca’ (een kelkvormige structuur), en twee mobiele stadia waarbij ‘snelle’ en ‘langzame’ zwemmers onderscheiden worden. Langzame zwemmers hebben microvilli van ongeveer 5 µm, terwijl snelle zwemmers microvilli van <0,5 µm bevatten. Snelle zwemmers kunnen als zij in contact komen met substraat veranderen in thecate (vastgehechte) cellen. Door los te komen van het substraat, of door celdeling, kunnen uit de thecate cellen weer zwemmende cellen gevormd worden. Daarnaast worden twee kolonievormende stadia onderscheiden. Hierbij zijn de flagellaten als een ketting of in rozetten aan elkaar verbonden met cytoplasmatische bruggen, en delen een extracellulaire matrix. Ook worden in sommige levensstadia filopodia gevormd, kleine cytoplasmatische uitsteeksels, die gebruikt worden voor hechting aan substraat of extracellulaire matrix.^{4,6} Aanwezigheid van de bacterie *Algoriphagus machipongonensis* kan kolonievorming stimuleren.⁶

De soort was voorheen bekend als *Proterospongia* sp. ATCC 50818. Echter, *proterospongia* wordt tegenwoordig niet meer als genus erkend, maar de term wordt gebruikt als verwijzing naar het kolonievormende stadium van bepaalde choanoflagellaten. Op basis van kenmerken in het ééncellige levensstadium en moleculaire fylogenie is *Proterospongia* sp. ATCC 50818 in het genus *Salpingoeca* ondergebracht als *S. rosetta*.⁶ Van *S. rosetta* is in 2013 de genomesequentie in kaart gebracht.⁷ Deze choanoflagellaat wordt veelvuldig gebruikt als modelorganisme om te achterhalen welke genen en eiwitten betrokken zijn geweest bij de evolutie van ééncellige naar meercellige organismen.

Beschreven is dat *S. rosetta* zich zowel seksueel als aseksueel kan voortplanten.^{4,8} Uit onderzoek is gebleken dat de beschikbaarheid van voedsel invloed heeft op de ploëdie van de choanoflagellaat. Bij

langdurige voedselschaarste kunnen haploïde choanoflagellaten morfologisch verschillende gameten vormen die kunnen fuseren tot diploïde cellen. Wanneer er weer voldoende voedsel aanwezig is, ondergaan de diploïde cellen meiose en worden er opnieuw haploïde cellen gevormd.⁸ Ook de aanwezigheid van bepaalde bacteriële eiwitten kan de seksuele reproductie van *S. rosetta* stimuleren, zoals het EroS eiwit van de bacterie *Vibrio fischeri*.⁹

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *S. rosetta* of andere choanoflagellaten. Wel heeft zij verscheidene apathogene organismen geïdentificeerd die niet tot de virussen, bacteriën, schimmels of parasieten behoren.¹⁰

5. Classificaties door andere beoordelende instanties

De 'American Type Culture Collection' (ATCC), die pathogeniteit voor de mens in ogenschouw neemt, heeft enkele *S. rosetta* stammen ingedeeld in PG1.¹¹ De inschaling door buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

6. Overweging en advies

S. rosetta is een veelvoorkomende aquatische protist en behoort tot de choanoflagellaten, een groep die evolutionair gezien worden als de zustergroep van de huidige metozoa, de meercellige dieren. Choanoflagellaten zoals *S. rosetta* kennen één- en meercellige levensstadia, waarbij de overgang tussen levensstadia afhankelijk is van omgevingsfactoren, zoals de aanwezigheid van bepaalde bacteriën. Bacteriën dienen tevens als voedingsbron. *S. rosetta* wordt als modelorganisme gebruikt om de evolutionaire overgang van één- naar meercellig leven te onderzoeken. Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties of informatiebronnen waarin melding wordt gemaakt dat *S. rosetta* pathogeen is.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *S. rosetta* apathogeen is. Zij adviseert daarom de choanoflagellaat *S. rosetta* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *S. rosetta* in aanmerking komt voor plaatsing op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013.
<https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2023-04-01> (bezocht: 14 juni 2023)
2. Brunet T & King N (2017). The origin of animal multicellularity and cell differentiation. *Dev. Cell* 43: 124-140
3. King N (2005). Choanoflagellates. *Cur. Biol.* 15: R114
4. Hoffmeyer TT & Burhardt P (2016). Choanoflagellate models - *Monosiga brevicollis* and *Salpingoeca rosetta*. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 39: 42-47
5. Dayel MJ & King N (2014). Prey capture and phagocytosis in the choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. *PLoS One* 9: e95577

6. Dayel MJ *et al.* (2011). Cell differentiation and morphogenesis in the colony-forming choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. *Developmental Biology* 357: 73-82
7. Fairclough SR *et al.* (2013). Premetazoan genome evolution and the regulation of cell differentiation in the choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. *Genome Biology* 14: R15
8. Levin ET & King N (2013). Evidence for sex and recombination in the choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. 4: 2176-2180
9. Woznica A *et al.* (2017). Mating in the closest living relatives of animals is induced by a bacterial chondroitinase. *Cell* 170: 1175-1183
10. COGEM (2021). Overzichtslijst van door de COGEM beoordeelde apathogene een- en meercellige organismen, anders dan virussen, bacteriën, schimmels of parasieten. COGEM advies CGM/211228-02
11. American Type Culture Collection (ATCC). *Salpingoeca rosetta*
<https://www.atcc.org/search?q=salpingoeca%20rosetta&sort=relevancy&numberOfResults=24>
(bezocht: 14 juni 2023)