



Die Bedeutung des gastrointestinalen Mikrobioms

Jana Seifert

Universität Hohenheim, Institut für Nutztierwissenschaften
Junior-Stiftungsprofessur 'Feed-Gut Microbiota Interaction'



Definitionen

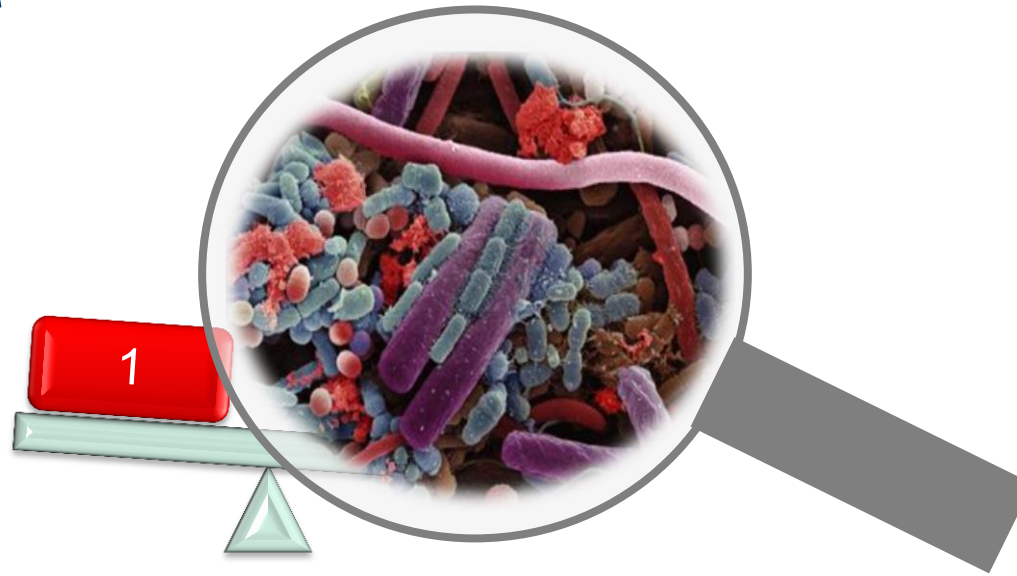
“**microbiome**”: Gesamtheit der Mikroorganismen, inklusive ihrer Genome, Proteome und Metabolome

“**microbiota**”: Ansammlung von Mikroorganismen, definiert durch ribosomale oder andere Marker-Gene

(Marchesi und Ravel, 2015; Whiteside et al., 2015)

Was und wo?

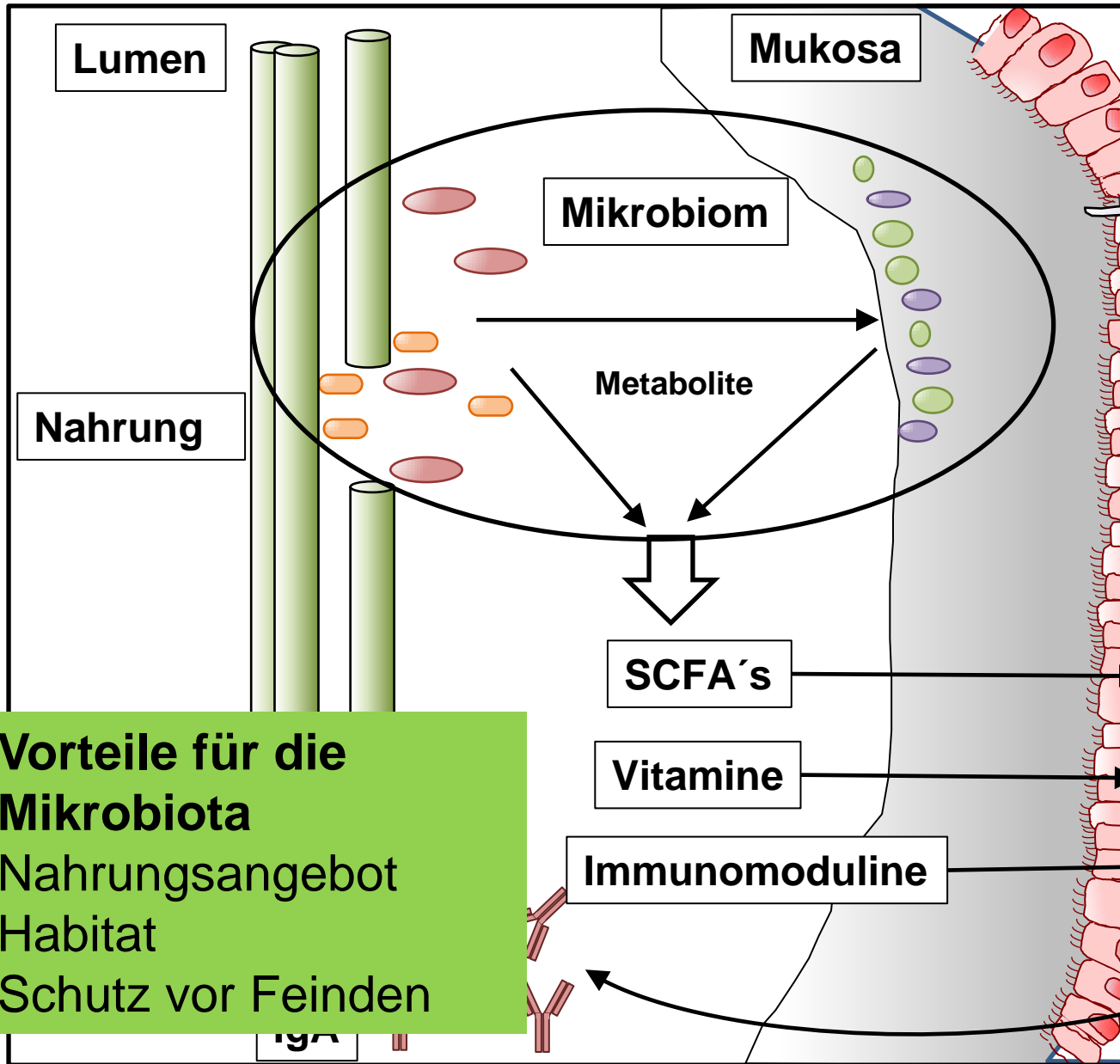
- Bakterien, Archaeen, Viren/Phagen, Hefen/Pilze, Protisten, Würmer, Parasiten etc...
- am ganzen Körper: wo man auch sucht, findet man Mikroorganismen...



Genom vs. Mikrobiom

23T Gene **3.3 Mio Gene**
 10^{14} Bakterien
1-2 kg mikrobielle
Biomasse (Mensch)

Mikrobiom des Verdauungstraktes



Vorteile für den Wirt

Metabolismus:

- Nährstoffaufnahme und Umwandlung
- Vitamine
- Detoxifizierung
- Unterstützung der Darmmotilität

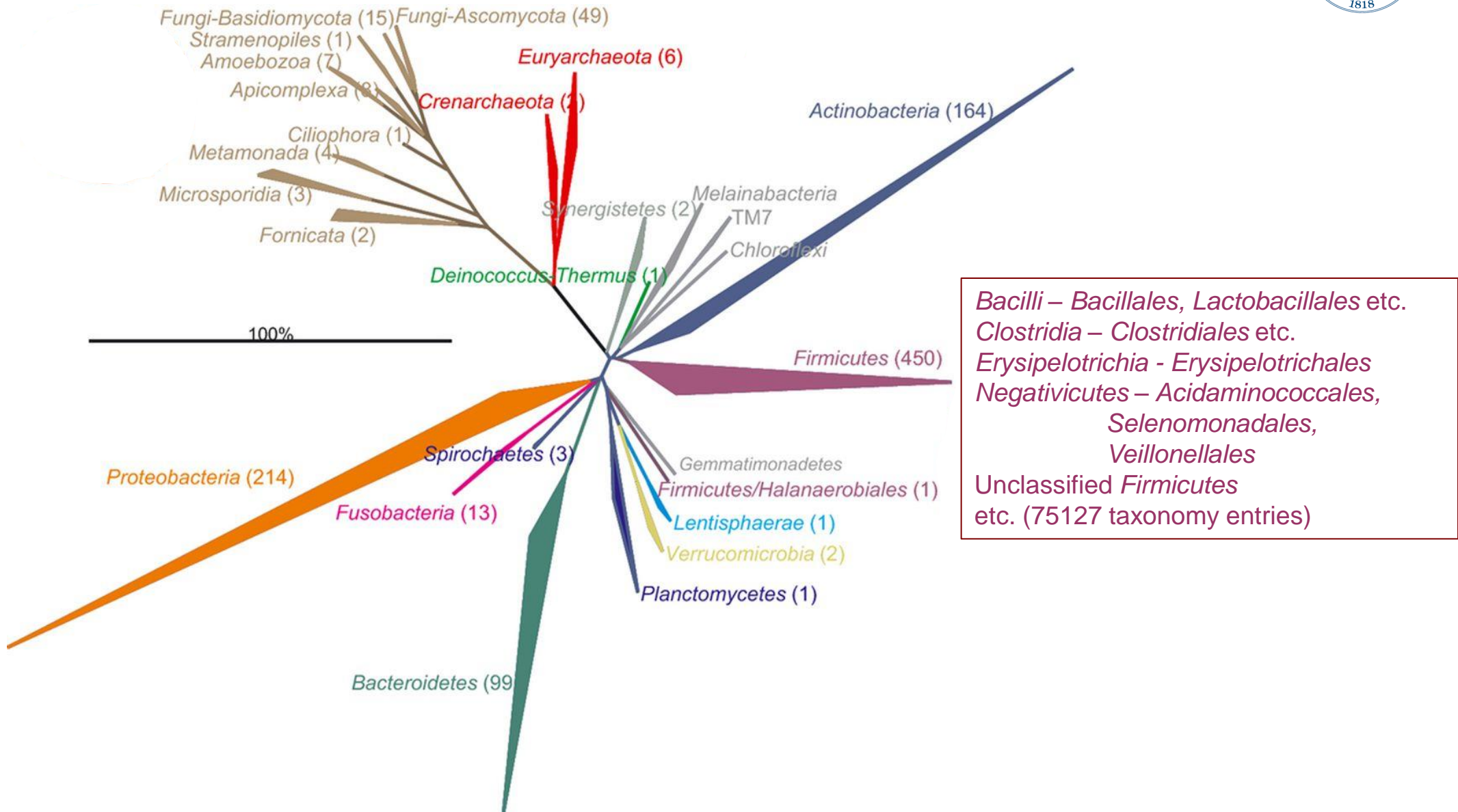
Schutz:

- Aktivierung des Immunsystems
- Antimikrobielle Effekte
- Barriere gegen pathogener Spezies

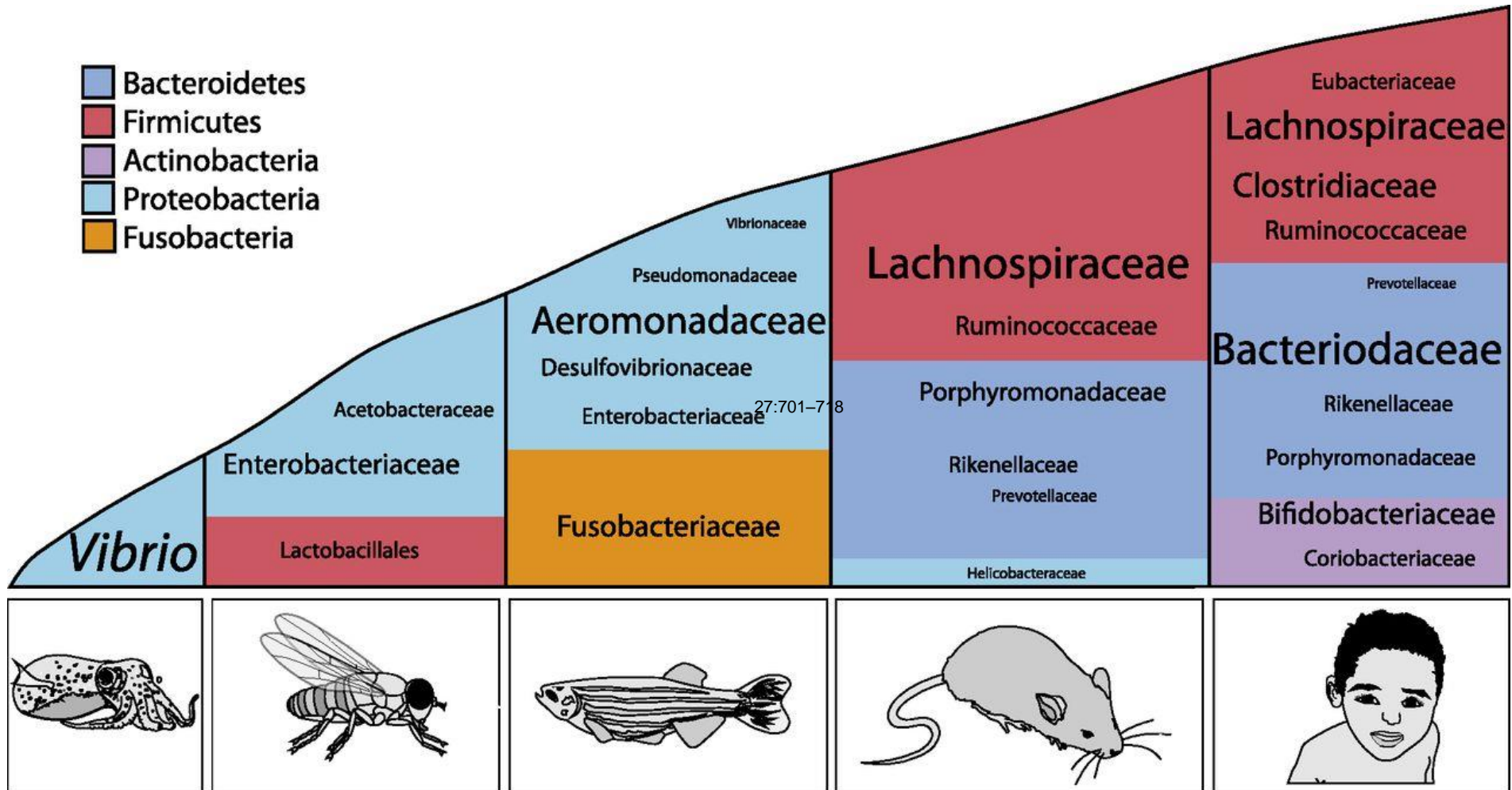
Vorteile für die Mikrobiota

- Nahrungsangebot
- Habitat
- Schutz vor Feinden

Phylogenie



Diversität



A. D. Kostic *et al.* (2013) Exploring host–microbiota interactions in animal models and humans. *Genes Dev.* 27:701-718

Diversität

einfaches System (Mensch, Schwein, Hund)

Dominant gut phyla:

Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia

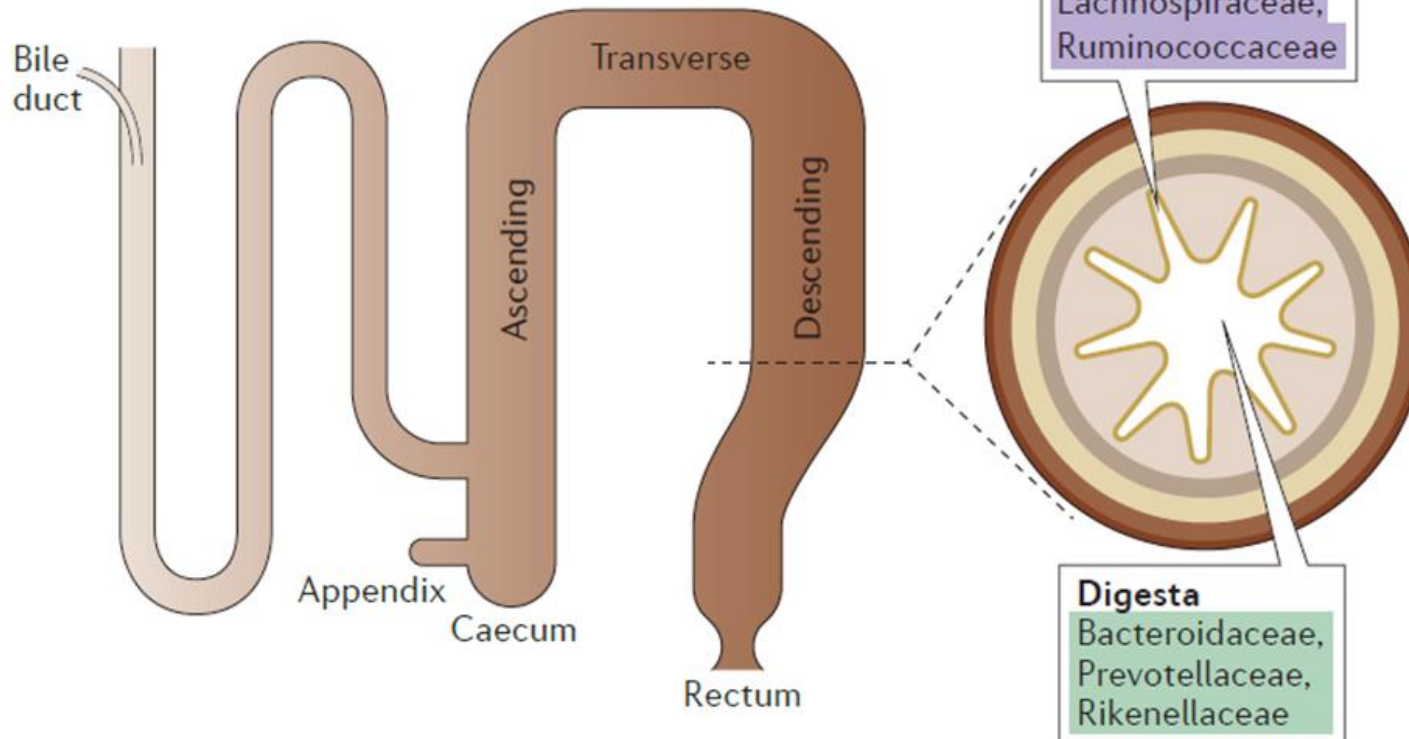
Predominant families in the:

Small intestine

Lactobacillaceae,
Enterobacteriaceae

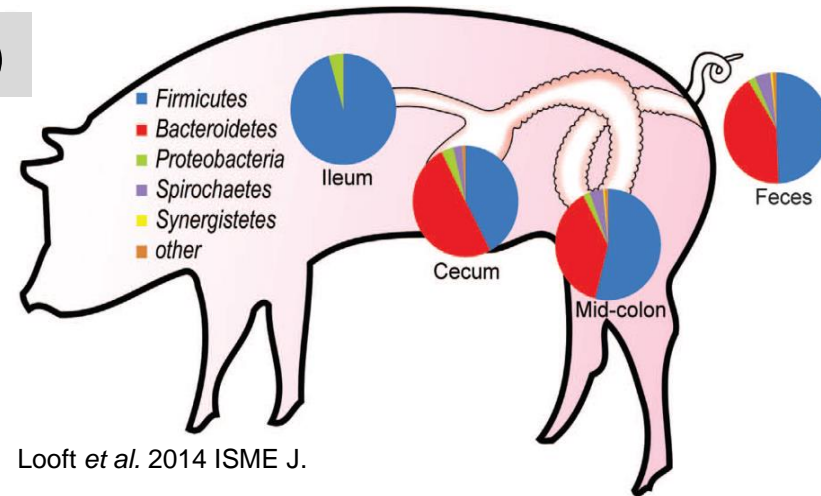
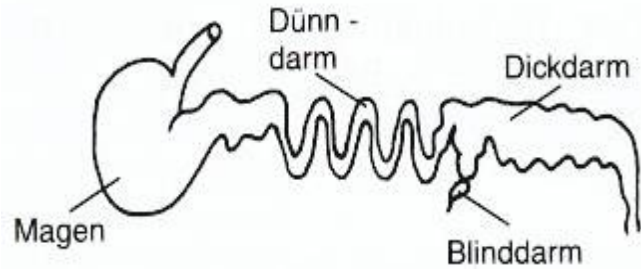
Colon

Bacteroidaceae, Prevotellaceae,
Rikenellaceae, Lachnospiraceae,
Ruminococcaceae



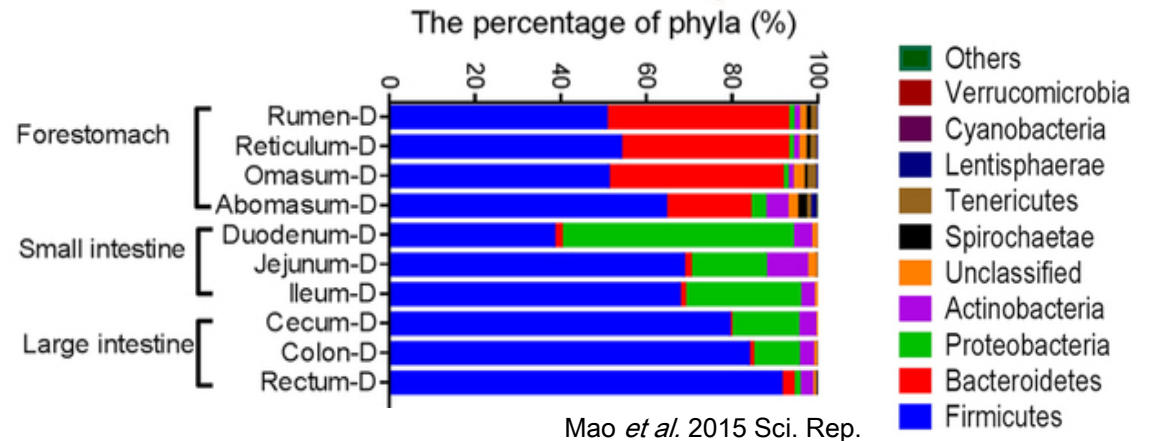
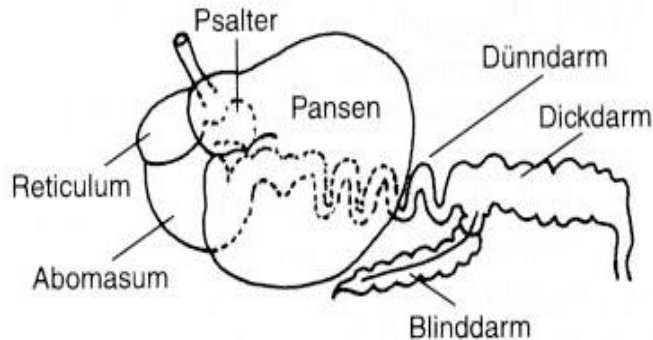
Diversität

einfaches System (Mensch, Schwein, Hund)



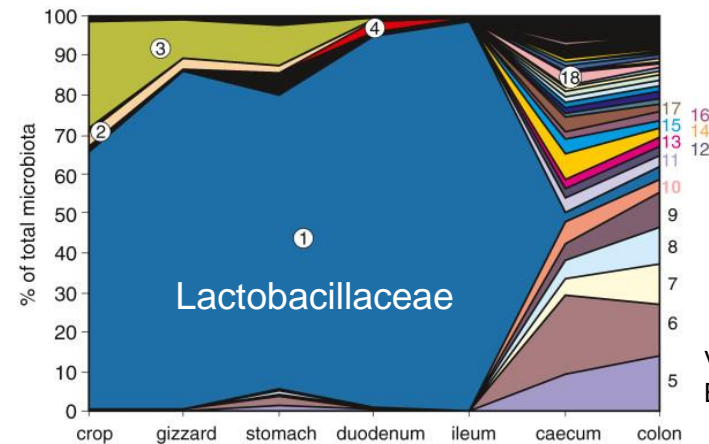
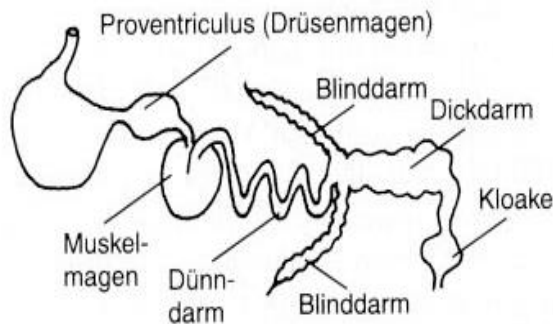
Looft *et al.* 2014 ISME J.

multiples System (Wiederkäuer)



Mao *et al.* 2015 Sci. Rep.

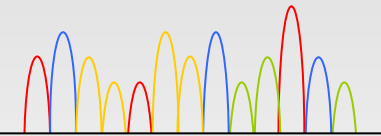
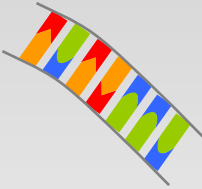
aviäres System (Huhn, Pute, Ente)



Videnska *et al.* 2013 BMC Vet. Res.

Wer ist da?

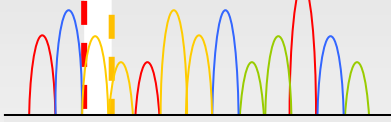
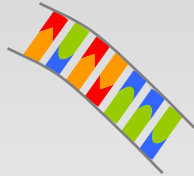
DNA



Metagenomics

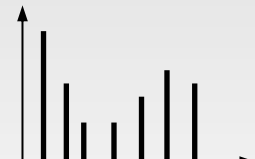
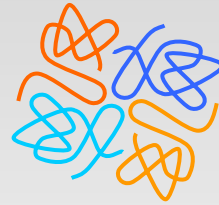
Wer ist aktiv?

RNA



Meta-transcriptomics

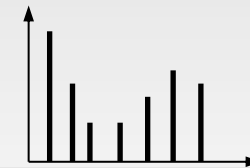
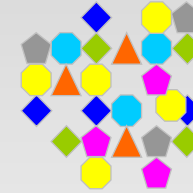
Protein



Meta-proteomics

Was wird gemacht?

Metaboliten



Meta-metabolomics

Phylogenetische Struktur und mögliche Funktionen

Aktive Phyla und exprimierte Proteine

Metabolisches Inventar der Mikrobiota

Phylotyp

Phänotyp



Metagenomics
of the Human Intestinal Tract
European research project

Budget

22 million euros

The 4 year program was financed in large part by the European Union under the FP7 (7th Framework Programme).

Laboratories

8 countries
14 research & industrial

institutions are involved in the consortium, with more than 50 researchers and cooperation between Europe and China.

Observations

↑ **chronic diseases**
↓ **infectious diseases**

Observations made in the past 50 years cannot be solely explained by variations of our genome.

Research themes



Nutrition. Better knowledge of the intestinal microbiota of individuals will enable the nutritional needs to adapt to everyone's specific nutrient needs.

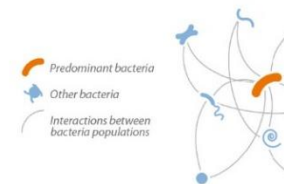
Medicine. With microbiota and genes, we can get an overview of the individuals and discover of the upcoming diagnostic or human health.

Genome sequencing

3,3 million genes

The gut bacterial gene catalog, which can be compared to a *molecular scanner*, was established by metagenomic high throughput sequencing and allows the observation of the human gut microbiome.

Discovery of the



a. Bacteroid

Chronic diseases



Disturbances in the microbiota can be early warning signs for certain diseases like Crohn's disease or diabetes.

Nutritional impact

If it is possible to reveal early warning signs of obesity, one can imagine nutritional intervention and diet advice being used to reestablish a healthy microbiota. The possibility of intervening directly in the flora, in the case of a disturbance to the intestinal ecosystem could also be envisioned.



NIH HUMAN MICROBIOME PROJECT

INTRODUCTION

Since 2008, researchers with the European consortium MetaHIT have been analyzing the collected genomes of the microorganisms present in our intestine: the microbiota.

RESEARCH

Little understood until now, the intestinal microbiota interests researchers as an avenue of inquiry to explain the evolution of chronic diseases.

FINDINGS

The MetaHIT consortium published two major findings in the scientific journal *Nature*: an established catalog of bacterial genes in the intestine; and the discovery of enterotypes.

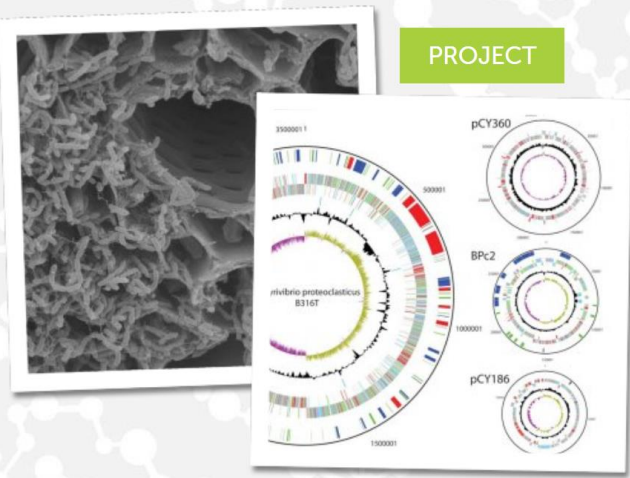
PERSPECTIVES

MetaHIT opens avenues for further efforts in the field of human microbiome research: early detection of chronic diseases, personalized medicine and more healthful food.

PROJECT

Hungate 1000

The Hungate 1000 project aims to produce a reference set of rumen microbial genome sequences by sequencing the genomes of available cultivated rumen bacteria and methanogenic archaea, together with representative cultures of rumen anaerobic fungi and ciliate protozoa.



COST is supported by the EU Framework Programme Horizon 2020

Home About Working groups Participants Activities COST Publications Contact Restricted area



Nukleinsäure Extraktion

In Mikrobiota Forschung des Nutztieres gibt es kein einheitliches Protokoll!
Vergleichbarkeit der Ergebnisse !?

Verschiedene Protokolle:

Lyse der Zellen (mechanisch, chemisch)

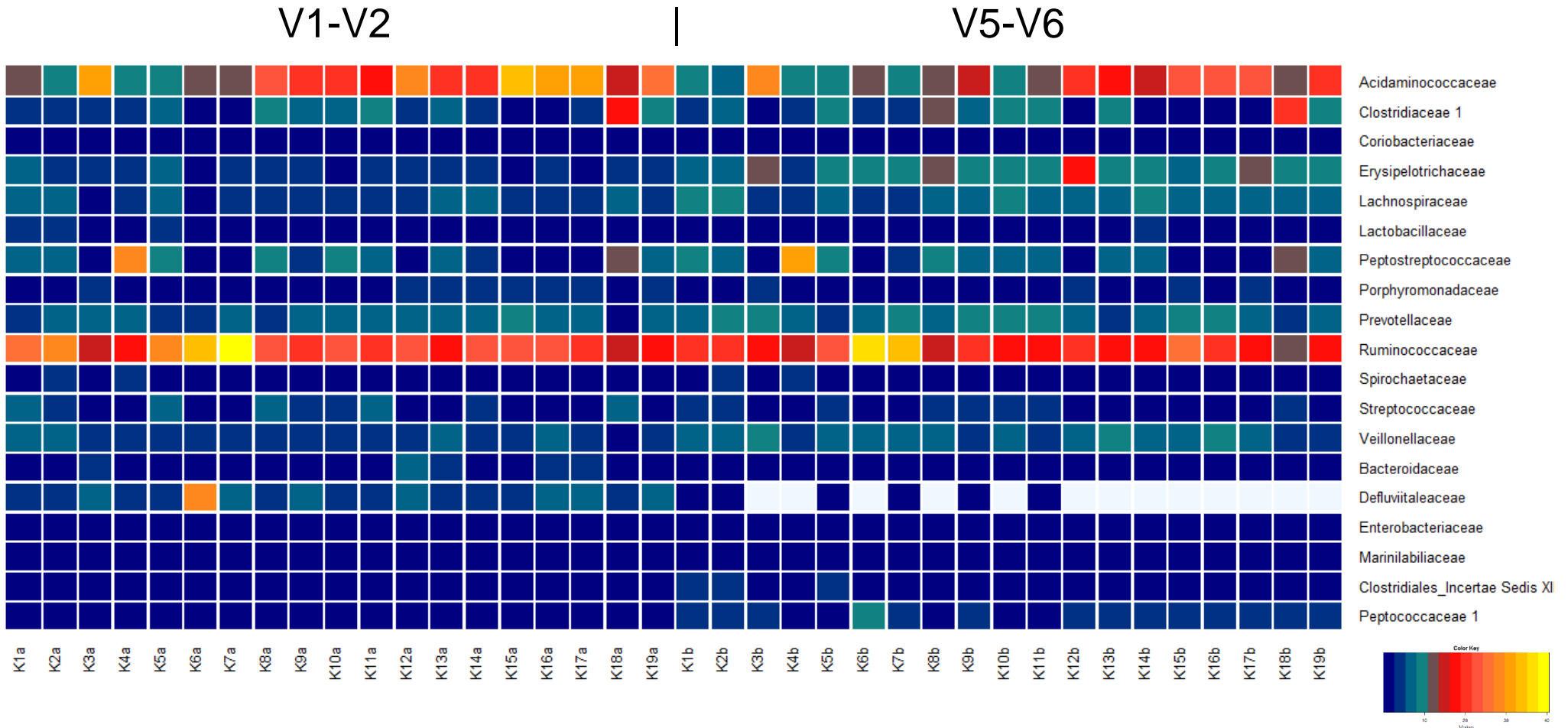
DNA/RNA Aufreinigung



Test von Extraktionsprotokollen und variablen Regionen



Phylogenetische Zusammensetzung der Kotprobe

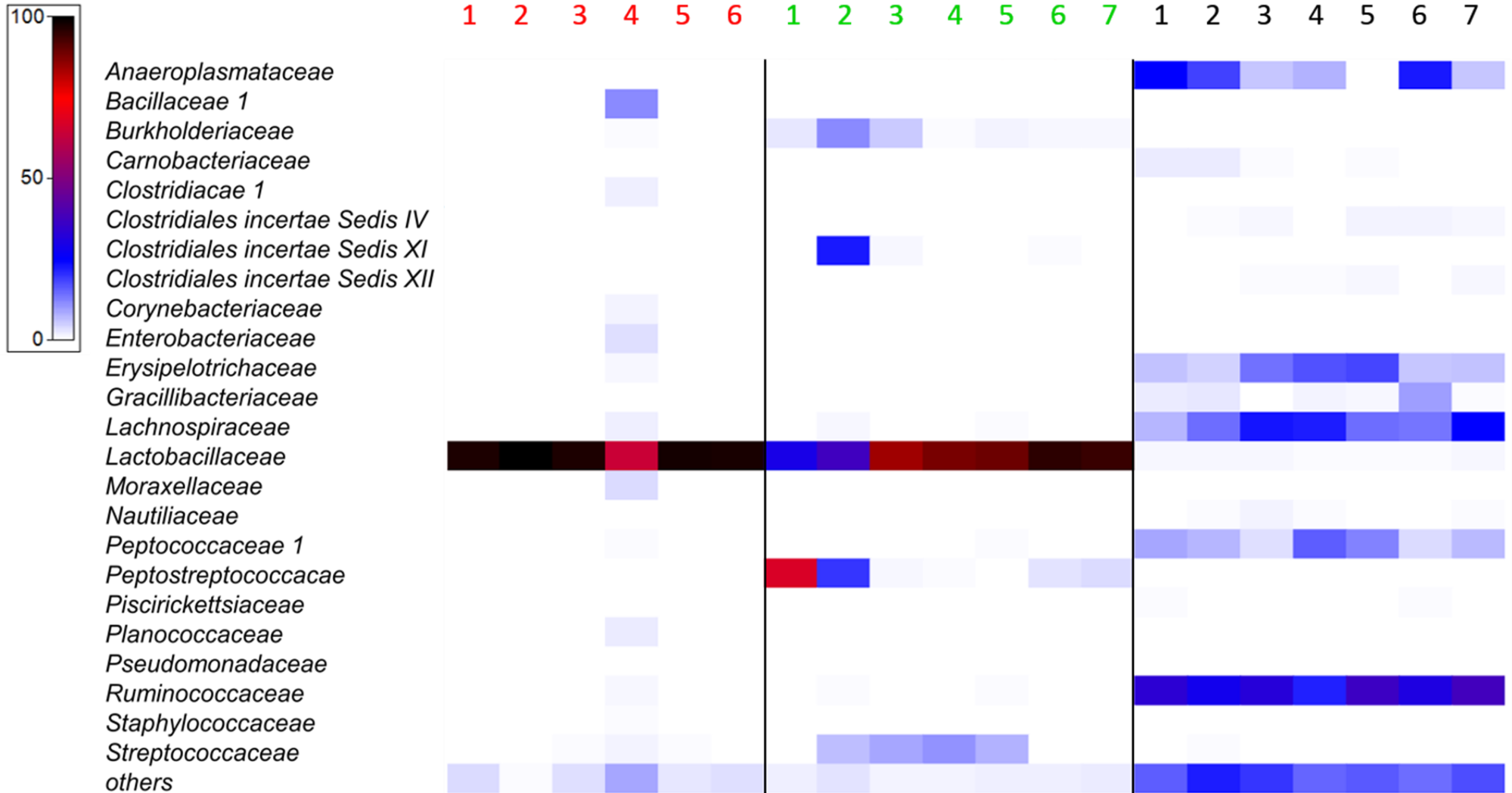


Empfehlung: Protokoll von FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedical).
Beide variable Regionen eignen sich für die phylogenetische Analyse der Mikrobiota.

Variabilität des Mikrobioms

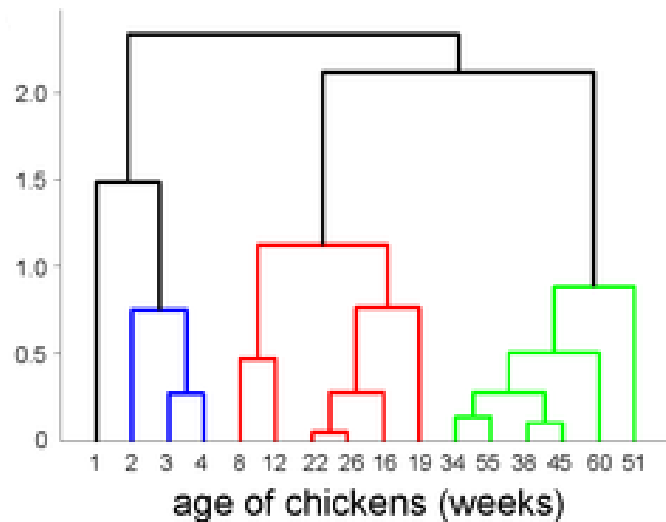


Variabilität des Mikrobioms



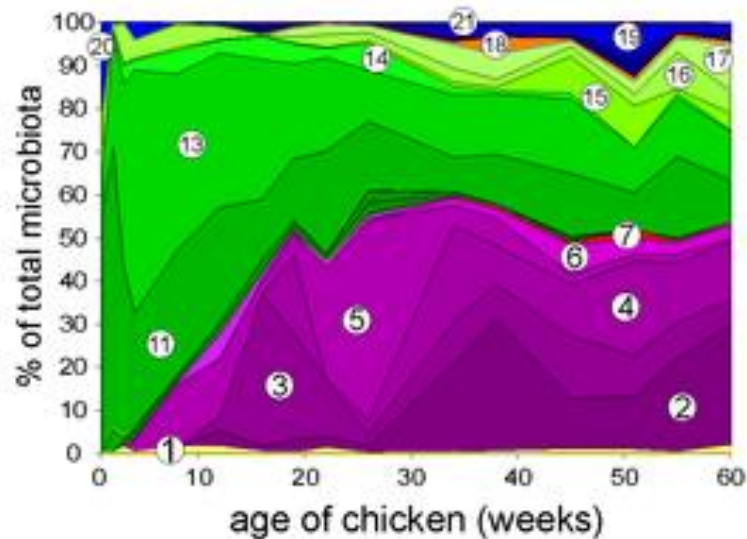
Dynamik des Mikrobioms

Alterung



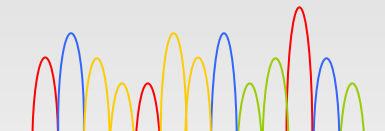
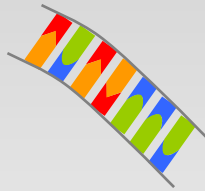
Diät

Wie schnell passt sich das Mikrobiom einer experimentellen Diät an?



Wer ist da?

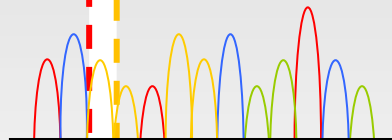
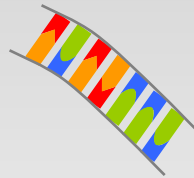
DNA



Metagenomics

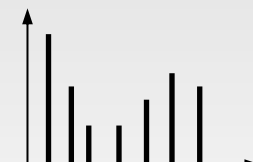
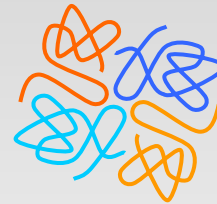
Wer ist aktiv?

RNA



Meta-transcriptomics

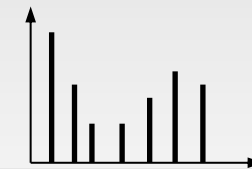
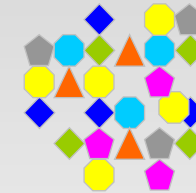
Protein



Meta-proteomics

Was wird gemacht?

Metaboliten



Meta-metabolomics

Phylogenetische
Struktur und
mögliche Funktionen

Aktive Phyla und
exprimierte Proteine

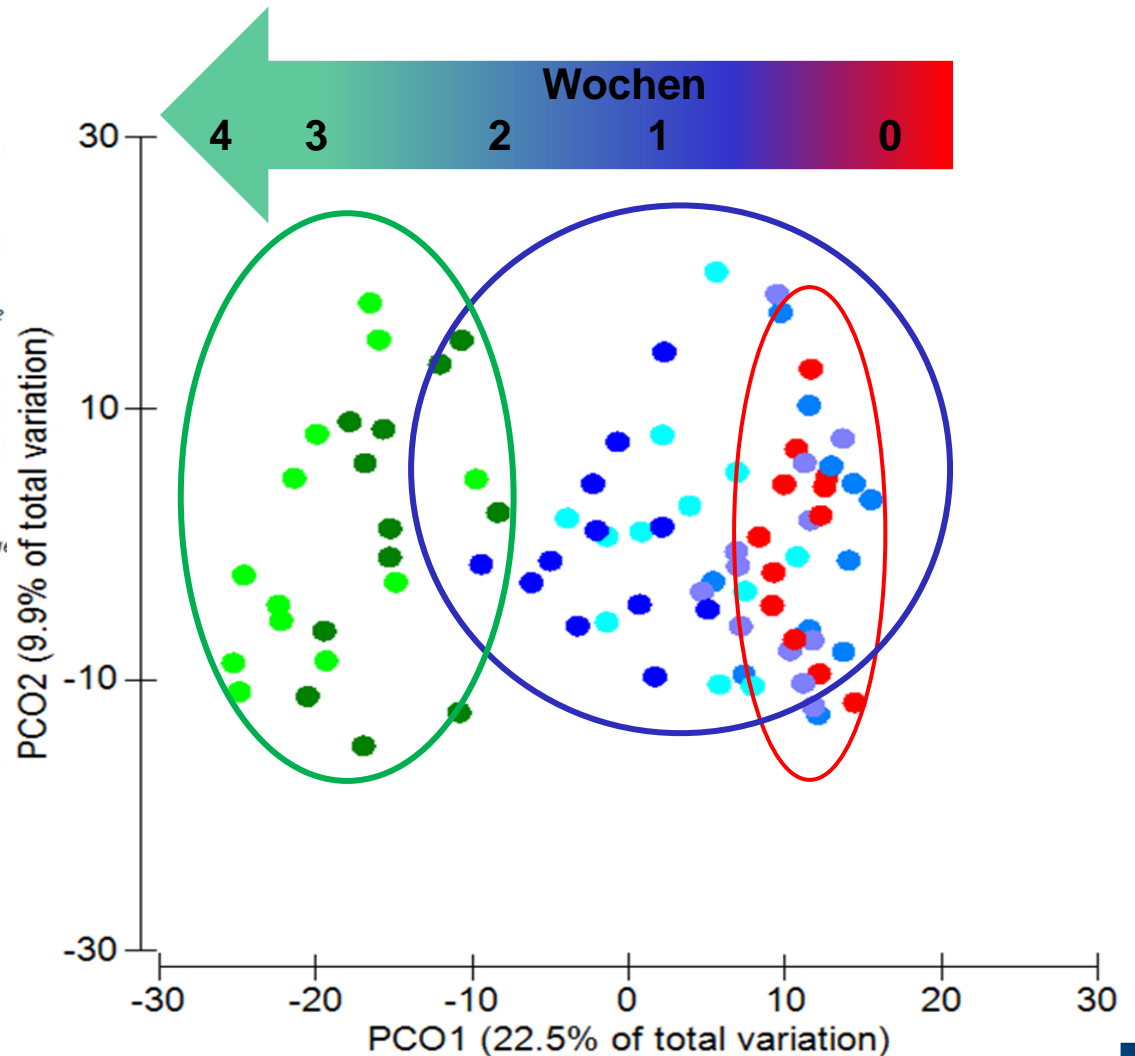
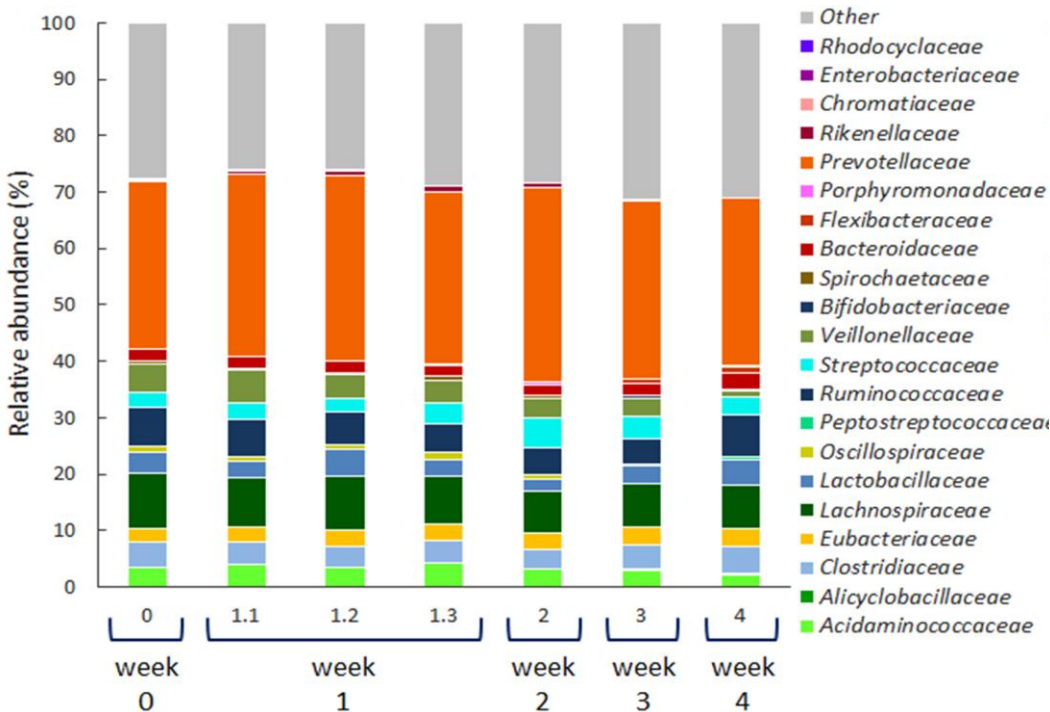
Metabolisches
Inventar der
Mikrobiota

Dynamik des Mikrobioms

Fütterungsversuch mit Schweinen (16 Wochen alt)

Kotprobenahme in den ersten 4 Wochen der Umstellung: 7 Zeitpunkte

Analyse des Metaproteoms: Σ 9500 bakterielle Proteine

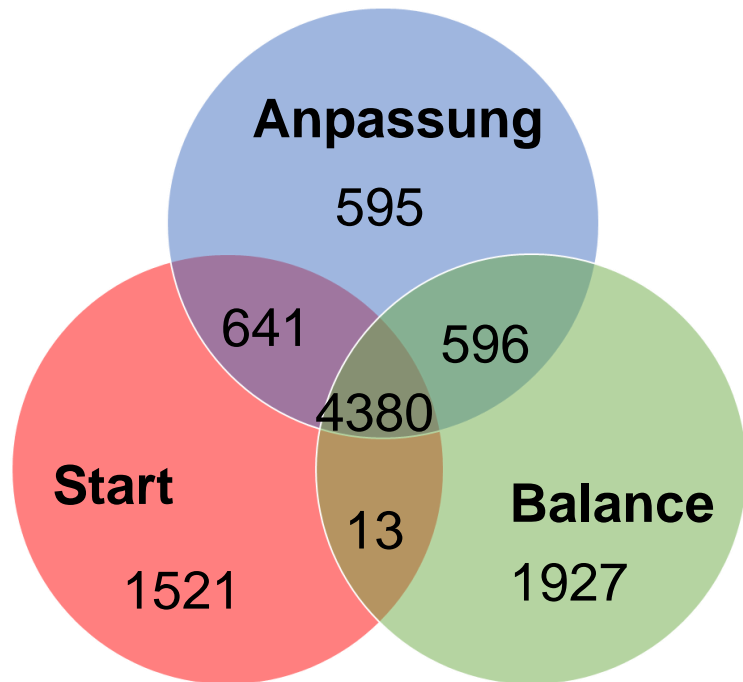


Dynamik des Mikrobioms

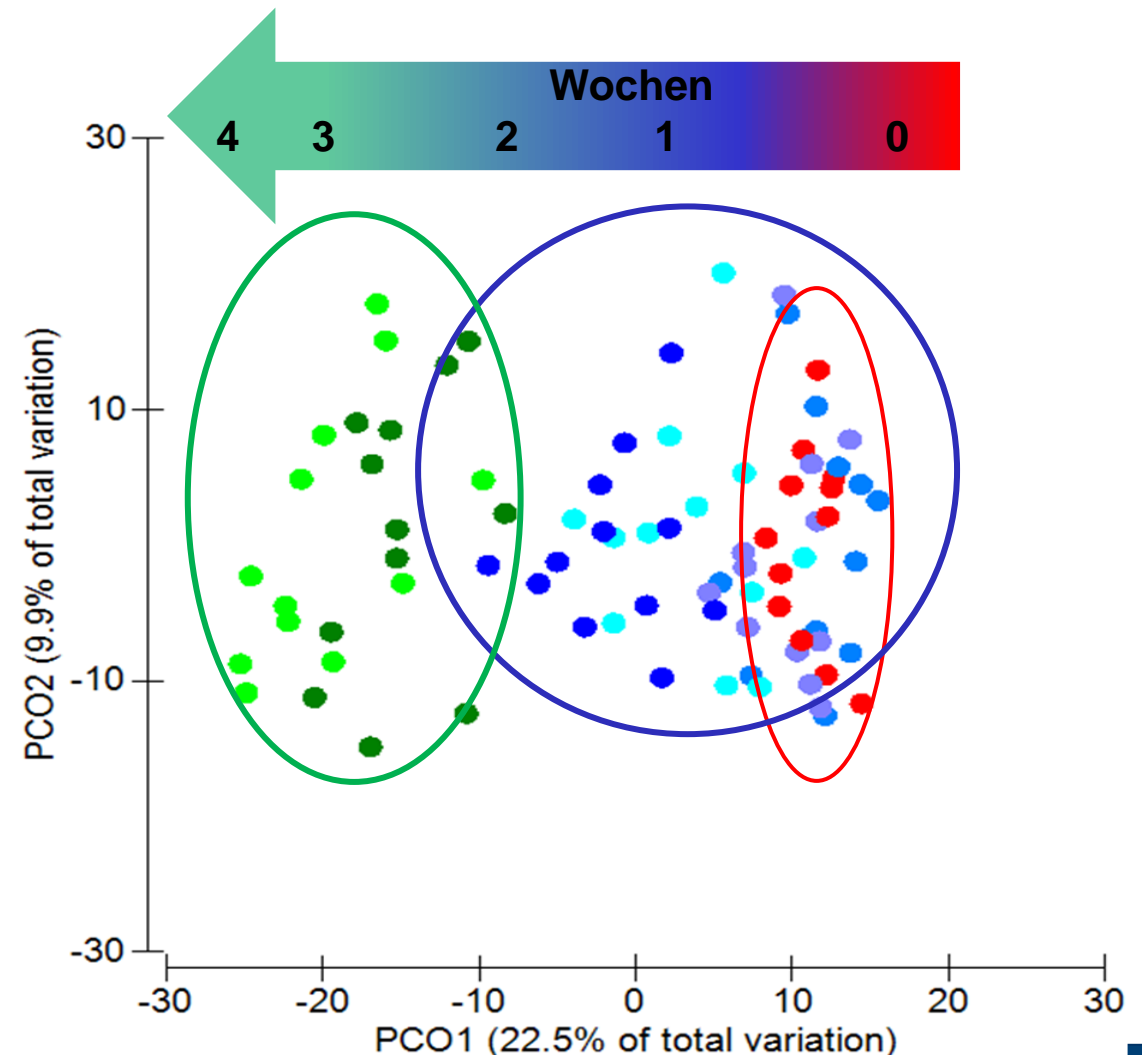
Fütterungsversuch mit Schweinen (16 Wochen alt)

Kotprobenahme in den ersten 4 Wochen der Umstellung: 7 Zeitpunkte

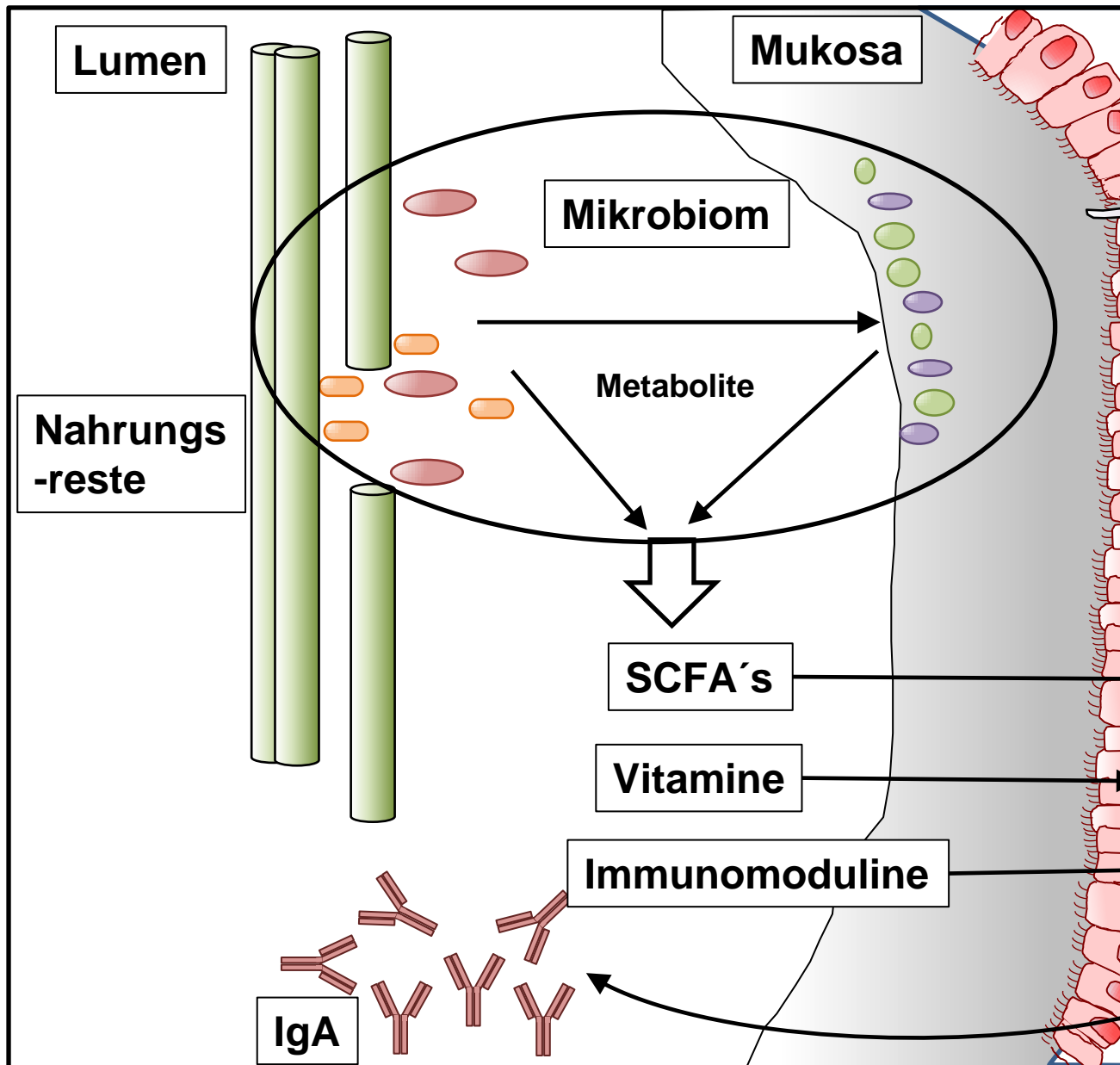
Analyse des Metaproteoms: Σ 9500 bakterielle Proteine



Anpassung des Mikrobioms an Ration sehr dynamisch, stabil erst nach 3-4 Wo. (oder noch länger?)



Funktionen des Mikrobioms



Vorteile für den Wirt

Metabolismus:

- Nährstoffaufnahme und Umwandlung
- Vitamine
- Detoxifizierung
- Unterstützung der Darmmotilität

Schutz:

- Aktivierung des Immunsystems
- Antimikrobielle Effekte
- Barriere gegen pathogener Spezies

Funktionen des Mikrobioms - Broiler

Ausnutzung des Futterangebotes – Bsp. **Phosphor**

Inositol-hexaphosphat (InsP6)

Bestandteil in Pflanzen (Getreide)

- × Nicht direkt verfügbar, geringe endogene Phytaseaktivität
- ✓ Mikrobielle Phytasen:



Veränderung des Mikrobioms bei unterschiedlichen P und Phytasezugaben?

Mikrobiota (16S rDNA Sequenzanalyse) und Metaproteom entlang des Gastrointestinal Traktes im Broilern:

+/- anorganischem Phosphor (BD+/BD-)

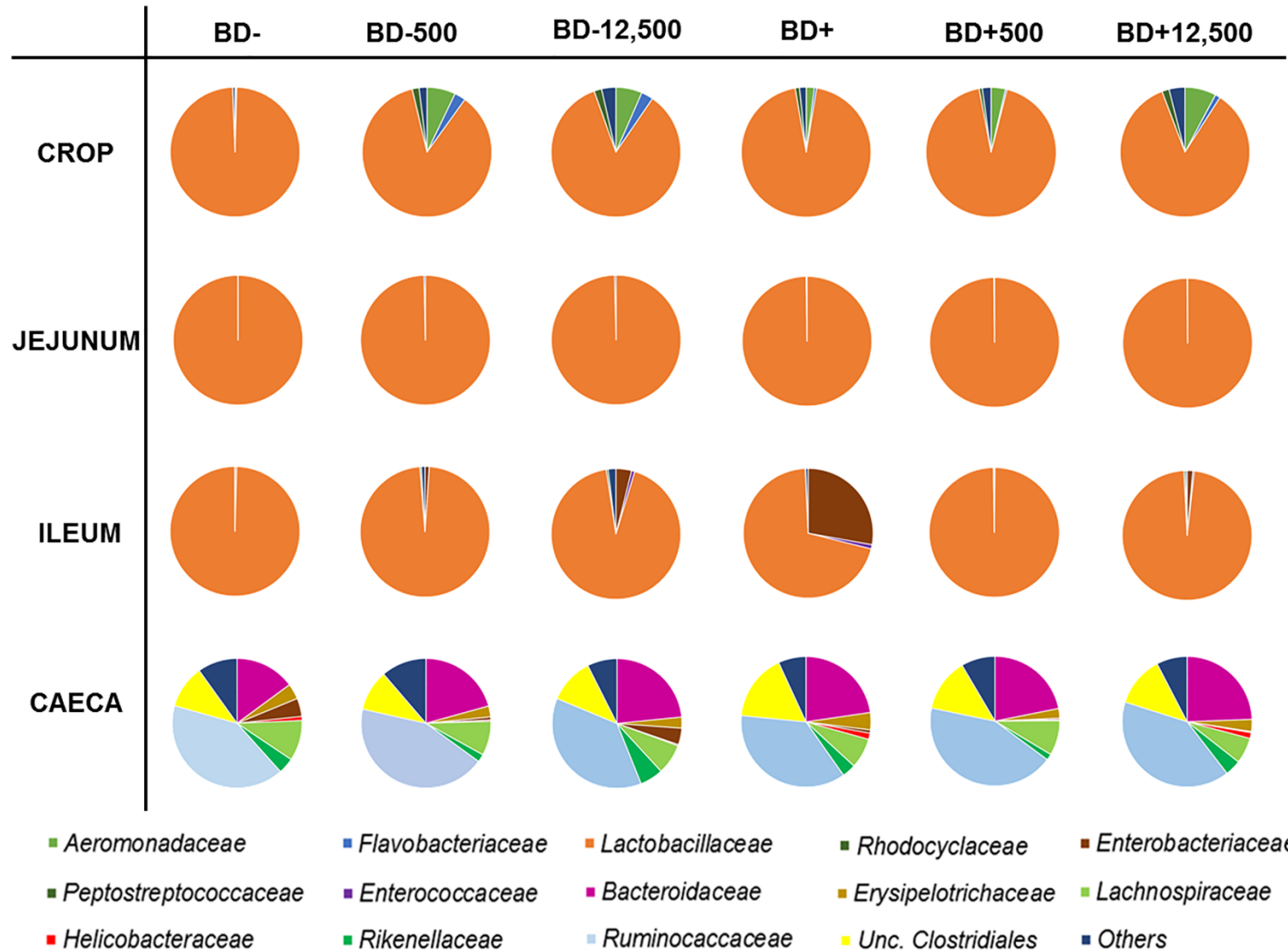
+/-

Phytasezugaben (0, 500, 12500 U)

Ausnutzung des Futterangebotes – Bsp. Phosphor



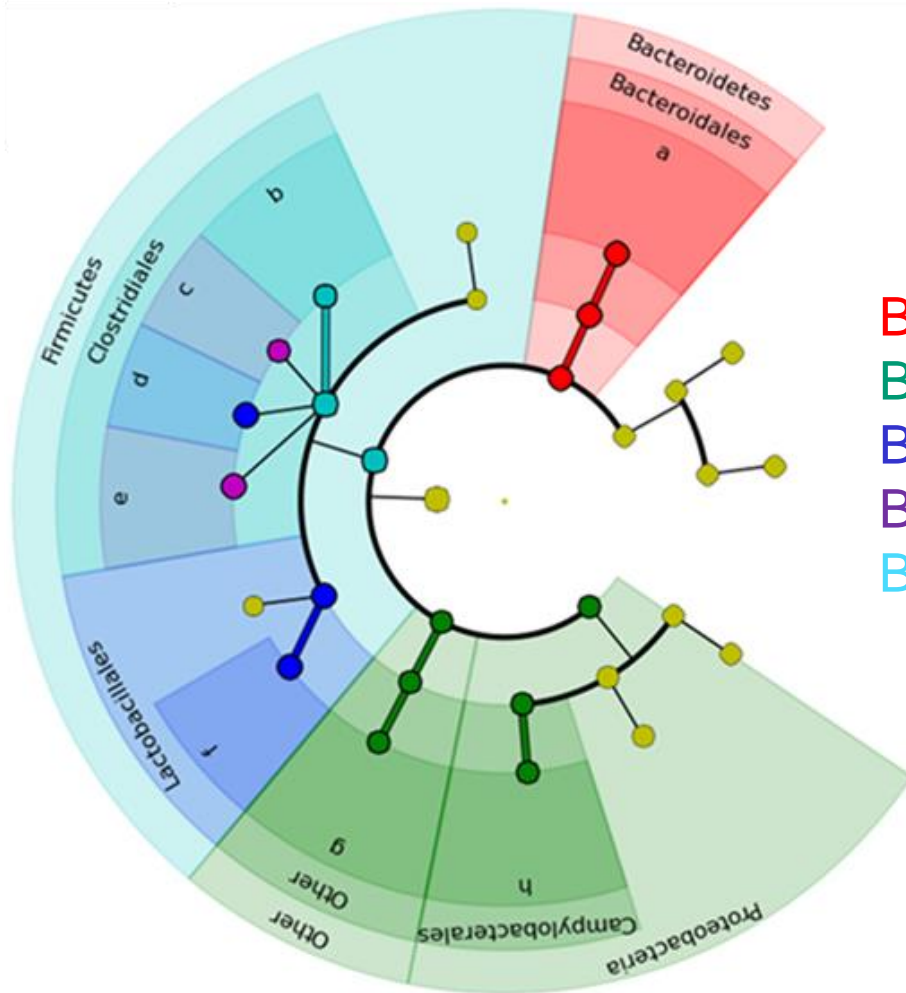
16S rDNA Sequenzanalysen



Ausnutzung des Futterangebotes – Bsp. Phosphor



Metaproteomische Analysen des Caecum



Phosphor-Limitation:

↑ Proteine der *Lactobacillaceae* (f)

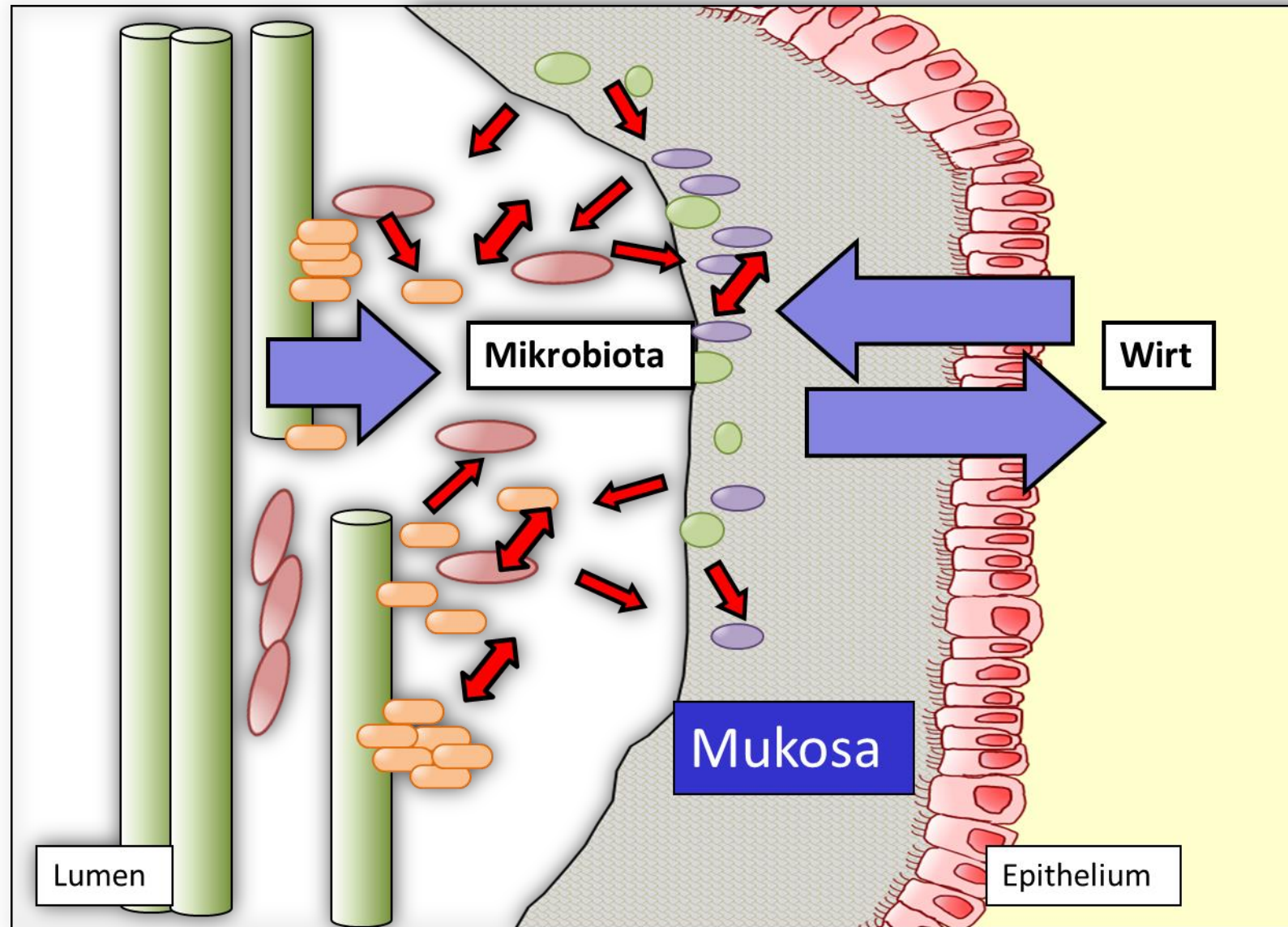
Proteine deuten auf ein gestresstes Mikrobiom hin (Chaperonine, Transporter etc.).

Gute Phosphor-Verfügbarkeit:

↑ Proteine der *Bacteroidaceae* (a), *Ruminococcaceae* (e)

Proteine zeigen ‚normale‘ mikrobielle Zustände. Viel C-Transport und Wachstum.

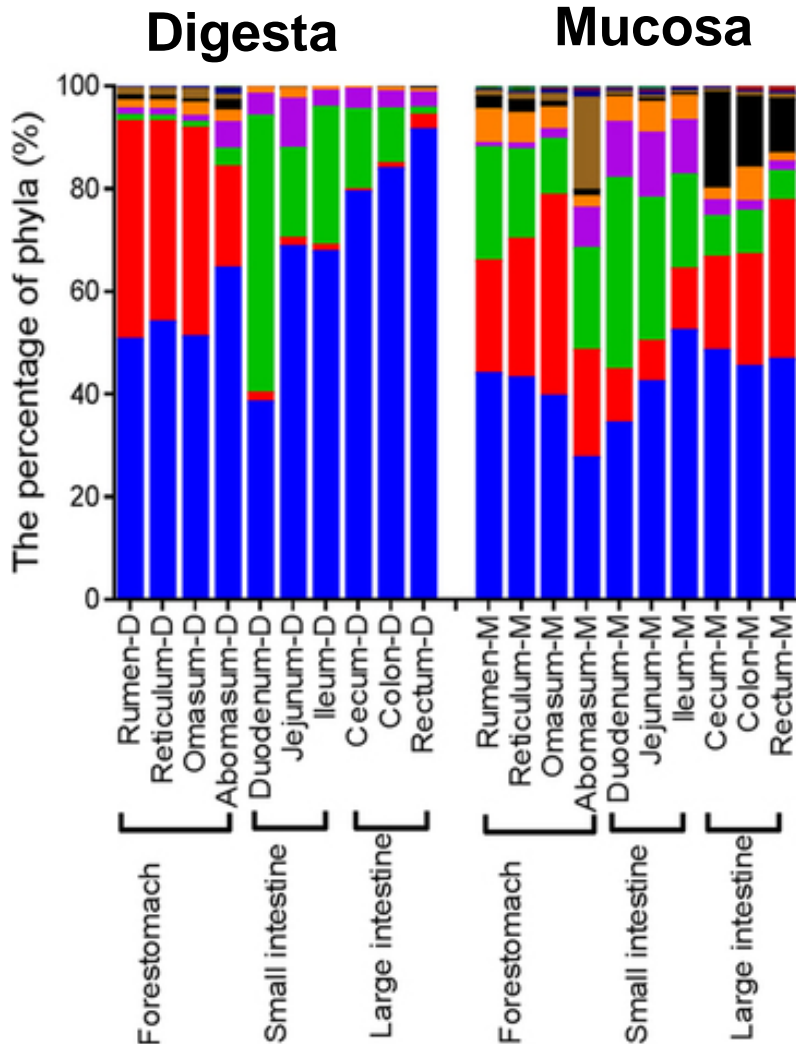
Mikrobiota Forschung in der Zukunft



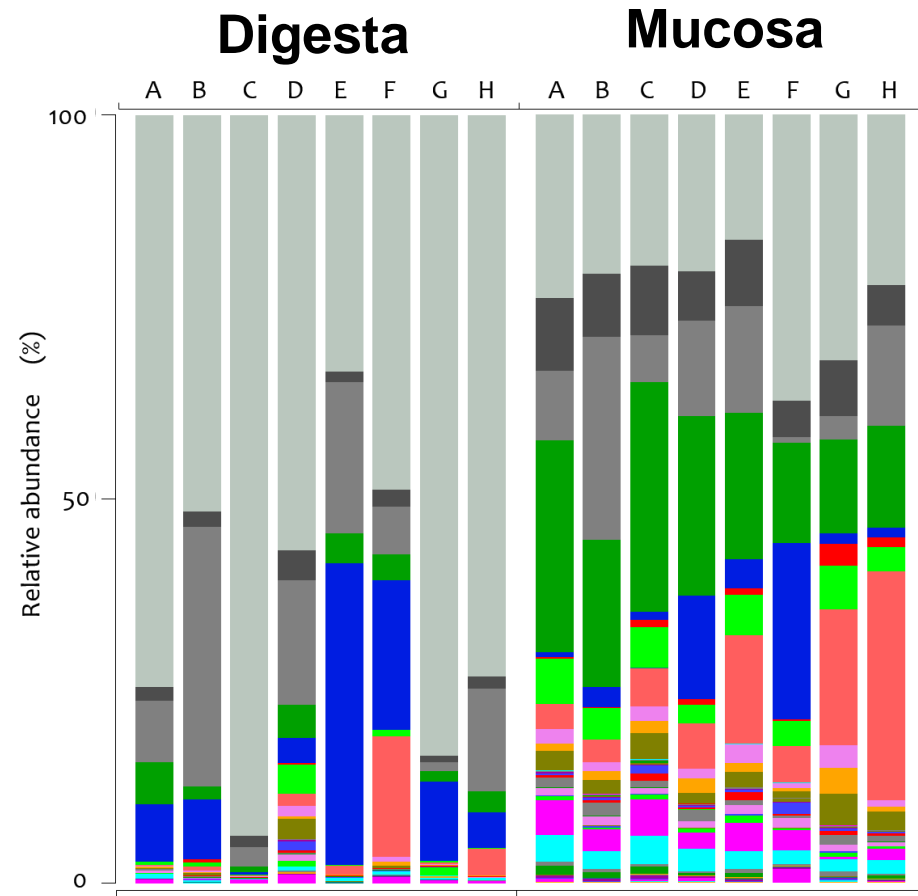
Mikrobiota Forschung in der Zukunft

Mukosa-assoziiertes Mikrobiom: Schnittstelle zum Wirt

Wiederkäuer



Broiler - Ileum



Borda D. *et al.* in Vorbereitung

Mikrobiota Forschung in der Zukunft

Verständnis zur Interaktion

- > innerhalb der Mikrobiota
- > zwischen Mikrobiota und Wirt
- > zwischen Mikrobiota und Futter

zur Unterstützung des Tierwohls,
Ressourcenschonung (Futtermiteinsatz),
Klimaschutz, Identifizierung neuer Enzymfunktionen

„some important points to remember“

Standardisierung der experimentellen Arbeiten

Betrachtung des Einzeltieres

Kombination der Methoden

Vielen Dank für ihre Aufmerksamkeit!



Carl Zeiss Stiftung