

Metagenómica del microbioma intestinal humano

Ana Elena Pérez-Cobas, María José Gosalbes, Amparo Latorre y Andrés Moya.
Unidad Mixta de Investigación en Genómica y Salud-Centro Superior Investigación en Salud Pública (Generalitat Valenciana)/Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva (Universitat de València), Valencia, España



Algunos miembros del grupo de Metagenómica del microbioma intestinal humano. De izquierda a derecha: Andrés Moya, María José Gosalbes, María Pilar Francino, Yvonne Vallès, Vicente Pérez Brocal, Amparo Latorre, Ana Elena Pérez Cobas, Marc García, Giuseppe D'Auria y Maria Dzunková.

A lo largo de la evolución los mamíferos han establecido simbiosis con microorganismos que han colonizado diferentes regiones del cuerpo humano tales como la piel, las mucosas, el tracto gastrointestinal, etc. Al conjunto de ellos se le denomina «microbiota». La mayor densidad de microorganismos se concentra en el tracto gastrointestinal, constituyendo de hecho uno de los ecosistemas más complejos de toda la biosfera. La microbiota gastrointestinal participa en una serie de funciones esenciales para el hospedador, como la digestión de polisacáridos de la dieta, el metabolismo de las grasas, la síntesis de vitaminas esenciales, la renovación del epitelio intestinal, el desarrollo del sistema inmune y la protección contra patógenos. Debido a su importancia, alteraciones en la microbiota tienen una gran repercusión en la salud humana, estando relacionados con enfermedades de gran impacto, como la obesidad, la colitis o el cáncer, por citar algunas. La metagenómica estudia los genomas de los microorganismos de un determinado hábitat sin necesidad de aislarlos y cultivarlos. El uso de esta técnica combinada con las nuevas tecnologías de secuenciación masiva ha permitido un gran avance en el estudio de la ecología y la diversidad de las comunidades microbianas de prácticamente cualquier ambiente.

Nuestro grupo de investigación tiene por finalidad estudiar el microbioma intestinal humano, caracterizando su diversidad y función en determinadas condiciones de salud y enfermedad así como a lo largo del desarrollo. Pretendemos, en última instancia, aportar explicaciones sobre la naturaleza de los complejos procesos implicados en la interacción entre la microbiota y el hospedador humano.

El grupo pertenece al Área de Genómica y Salud del Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP) de Valencia. Las cuatro principales líneas de investigación son: el microbioma gastrointestinal de individuos sanos y de pacientes con diversas patologías, el desarrollo del microbioma intestinal en la infancia, la caracterización del metagenoma viral (o viroma) y el análisis de fracciones específicas del microbioma por citometría y «single-cell genomics». (<http://centros.csisp.gva.es/web/metagenomics>).

EL MICROBIOMA GASTROINTESTINAL EN SALUD Y ENFERMEDAD

La comparación de la microbiota en salud con la que encontramos bajo diferentes enfermedades es clave para entender los procesos que afectan la ecología del conjunto microbiota-hospedador y sirve como guía para una posible restauración. Nuestro grupo ha determinado en un estudio metatranscriptómico el perfil global de expresión de los genes de la microbiota intestinal de un conjunto de individuos sanos (Gosalbes *et al.*, 2011). También hemos realizado un seguimiento diario (basado en el gen 16S rRNA) de las variaciones temporales de la microbiota en un grupo de individuos sanos, mostrando que la composición es relativamente estable a lo largo del tiempo y que existe un patrón específico de interacciones de los microorganismos en cada individuo (Durbán *et al.*, 2012a). Además, se ha realizado un seguimiento de individuos con síndrome del intestino irritable para caracterizar su microbiota, encontrándose una diversidad más baja en estos pacientes. (Durbán *et al.*, 2012b).

Otro campo de trabajo de gran relevancia es el del efecto de los antibióticos sobre la microbiota intestinal. El uso de antibióticos altera el equilibrio del ecosistema, lo que repercute en las interacciones microbiota-hospedador y, consecuentemente, en la salud humana. Además, los antibióticos

promueven la expansión de cepas resistentes en la microbiota, creando un reservorio de genes de resistencia, lo que constituye un grave problema en salud pública. Actualmente estamos investigando el efecto de los antibióticos en las funciones y diversidad de la microbiota intestinal y su relación con la infección por patógenos oportunistas como *Clostridium difficile* (Pérez-Cobas *et al.*, en revisión).

DESARROLLO DEL MICROBIOMA GASTROINTESTINAL INFANTIL

La colonización y establecimiento de la microbiota intestinal a partir del nacimiento es un proceso complejo y altamente variable. En nuestro grupo estamos estudiando el desarrollo del microbioma gastrointestinal durante la infancia. Uno de los objetivos es analizar la composición taxonómica, funciones potenciales y patrones de expresión de genes en distintos momentos desde el nacimiento hasta el primer año de edad. En un seguimiento metagenómico de la microbiota intestinal de una cohorte de madres y bebés hemos encontrado, entre otros resultados, que la composición taxonómica de la microbiota de los bebés cambia fuertemente durante los primeros meses de vida diferenciándose también de la materna (Vallès *et al.*, 2012). El uso de antibióticos en la niñez se ha asociado con enfermedades crónicas como el asma y enfermedades atópicas que se han ido haciendo más frecuentes en poblaciones humanas. Estamos investigando el repertorio de resistencias a antibióticos en la microbiota intestinal de infantes (de Vries *et al.*, 2011), así como la influencia de la microbiota en el desarrollo del sistema inmune y su posible asociación con el desarrollo de enfermedades atópicas.

ESTUDIO DEL VIROMA GASTROINTESTINAL EN HUMANOS

La mayor parte de los estudios de la microbiota intestinal se han concentrado en procariontes, principalmente bacterias. Poco se sabe de los virus y el papel que ellos juegan en el complejo ecosistema de la microbiota intestinal. Nuestro grupo está caracterizando el viroma de individuos sanos y afectados por la enfermedad de Crohn. Este proyecto constituye un gran reto a nivel metodológico, ya que para estudiar la diversidad vírica no se pueden emplear las estrategias generales usadas en bacterias y arqueas que se basan en la presencia de genes universales, como el 16S rRNA (Pérez-Brocá *et al.*, enviado).

CITOMETRÍA DE FLUJO Y «SINGLE-CELL GENOMICS»

La citometría de flujo acoplada a la hibridación con fluorescencia permite la separación de poblaciones microbianas de interés de un conjunto más complejo. Nuestro grupo ha puesto a punto esta técnica para caracterizar a nivel taxonómico fracciones que corresponden a los grupos minoritarios de la microbiota intestinal. Con las fracciones enriquecidas estamos realizando análisis metagenómicos y metatranscriptómicos para

caracterizar la diversidad y las funciones y fomentar la investigación basada en «single-cell genomics». Hemos empleado la citometría de flujo para caracterizar las bacterias que son funcionalmente «activas» dentro del microbioma intestinal en base al contenido del rRNA (Peris-Bondía *et al.*, 2011).

PUBLICACIONES RECIENTES

- Vaishampayan PA, Kuehl JV, Froula JL, Morgan JM, Ochman H, Francino MP (2010) Comparative metagenomics and population dynamics of the gut microbiota in mother and infant. *Genome Biol Evol* 2: 53-66.
- D'Auria G, Jiménez-Hernández N, Peris-Bondía F, Moya A, Latorre, A (2010). A pangenome reveals strain-specific virulence factors. *BMC Genomics* 11: 181.
- Mira A, Martín-Cuadrado AB, D'Auria G, Rodríguez-Valera F (2010). The bacterial pan-genome: a new paradigm in microbiology. *Int Microbiol* 13: 45-57.
- Durbán A, Abellán JJ, Jiménez-Hernández N, Ponce M, Ponce J, Sala T, D'Auria G, Latorre A, Moya A (2011). Assessing gut microbial diversity from feces and rectal mucosa. *Microb Ecol* 61: 123-33.
- Gosalbes M.J., Durbán A., Pignatelli M., Abellán J.J., Jiménez-Hernández N, Pérez-Cobas AE, Latorre A, Moya A (2011). Metatranscriptomic approach to analyze the functional human gut microbiota. *PLoS ONE* 6: e17447.
- de Vries LE, Vallès Y, Agersø Y, Vaishampayan PA, Kuehl JV, Christensen H, Barlow M, Francino, MP (2011). The gut as reservoir of antibiotic resistance: microbial diversity of tetracycline resistance in mother and infant. *PLoS ONE* 6: e21644.
- Peris-Bondía F, Latorre A, Artacho A, Moya A, D'Auria G (2011). The active human gut microbiota differs from the total microbiota. *PLoS ONE* 6(7): e22448.
- D'Auria G, Galán JC, Rodríguez-Alcayna M, Moya A, Baquero F, Latorre A (2011). Complete genome Sequence of *Acidaminococcus intestini* RYC-MR95, a Gram-negative bacterium from the Phylum Firmicutes. *J Bacteriol* 193: 7008-7009.
- Durbán A, Abellán JJ, Jiménez-Hernández N, Latorre A, Moya A (2012). Daily follow-up of bacterial communities in the human gut reveals stable composition and host-specific patterns of interaction. *FEMS Microbiol Ecol* 81: 427-437.
- Gosalbes MJ, Abellán JJ, Durbán A, Pérez-Cobas AE, Latorre A, Moya A (2012). Metagenomics of human microbiome: beyond 16S rDNA. *Clin Microbiol Infect* 18 Suppl 4: 47-49.
- Vallès Y, Gosalbes MJ, de Vries LE, Abellán JJ, Francino MP (2012). Metagenomics and development of the gut microbiota in infants *Clin Microbiol Infect* 18 Suppl 4: 21-26.
- Durbán A, Abellán JJ, Jiménez-Hernández N, Salgado P, Ponce M, Ponce J, Garrigues V, Latorre A, Moya A. (2012). Structural alterations of faecal and mucosa-associated bacterial communities in irritable bowel syndrome. *Environ Microbiol Reports* 4: 242-247.
- Collado MC, D'Auria G, Mira A, Francino MP (2012). Human microbiome and diseases: a metagenomic approach. In *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease*. Watson, R. R. (Ed.) Elsevier, Oxford, UK.
- García-López R, Pérez-Brocá V, Díez-Domingo J, Moya A (2012). Gut microbiota in children vaccinated with rotavirus vaccine. *Pediatr Infect Dis J.* 31: 1300-1302.
- Džunková M, D'Auria G, Pérez-Villarroya D, Moya A (2012). Hybrid sequencing approach applied to human faecal metagenomic clone libraries revealed clones with potential biotechnological applications. *PLoS ONE* (en prensa).