

Synthetische bakterielle Gemeinschaften

Das Oligo-MM-Modell in der Darmmikrobiomforschung

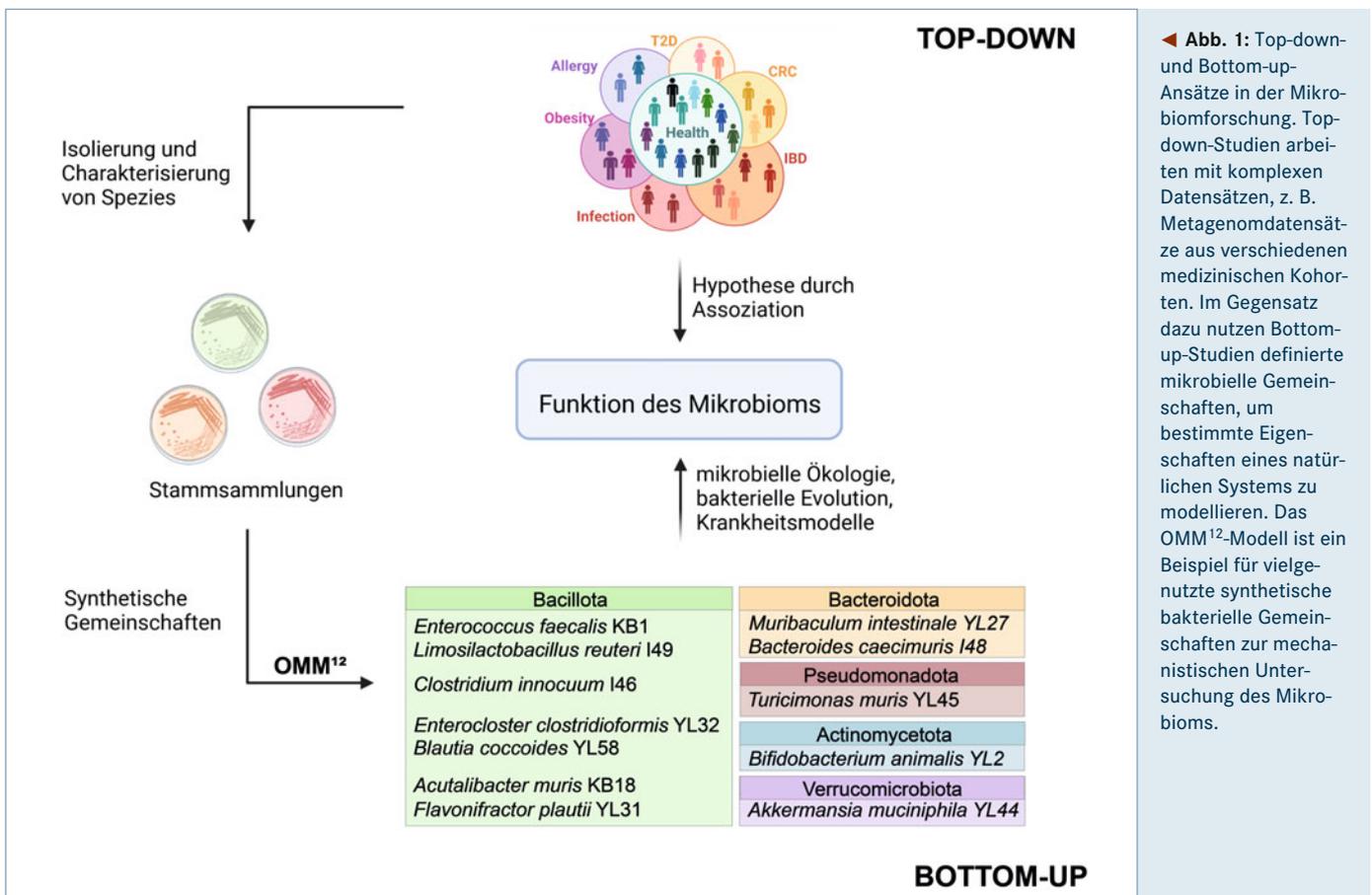
ANNA S. WEISS, ANNA BURRICHTER, BÄRBELE STECHER
 MAX VON PETTENKOFER INSTITUT, LMU MÜNCHEN

The mammalian gut microbiome is a dynamic and complex community of microorganisms that provides its host with a number of health benefits. Understanding the key factors that shape community composition, stability and ecology is essential to maintain or establish a functional microbiome. Studying the ecology of synthetic model communities, like the Oligo-Mouse-Microbiota (OMM¹²) consortium, can help to elucidate mechanisms of inter-bacterial and host-bacterial interactions that shape microbiome function.

DOI: 10.1007/s12268-023-1875-1
 © Die Autorinnen 2023

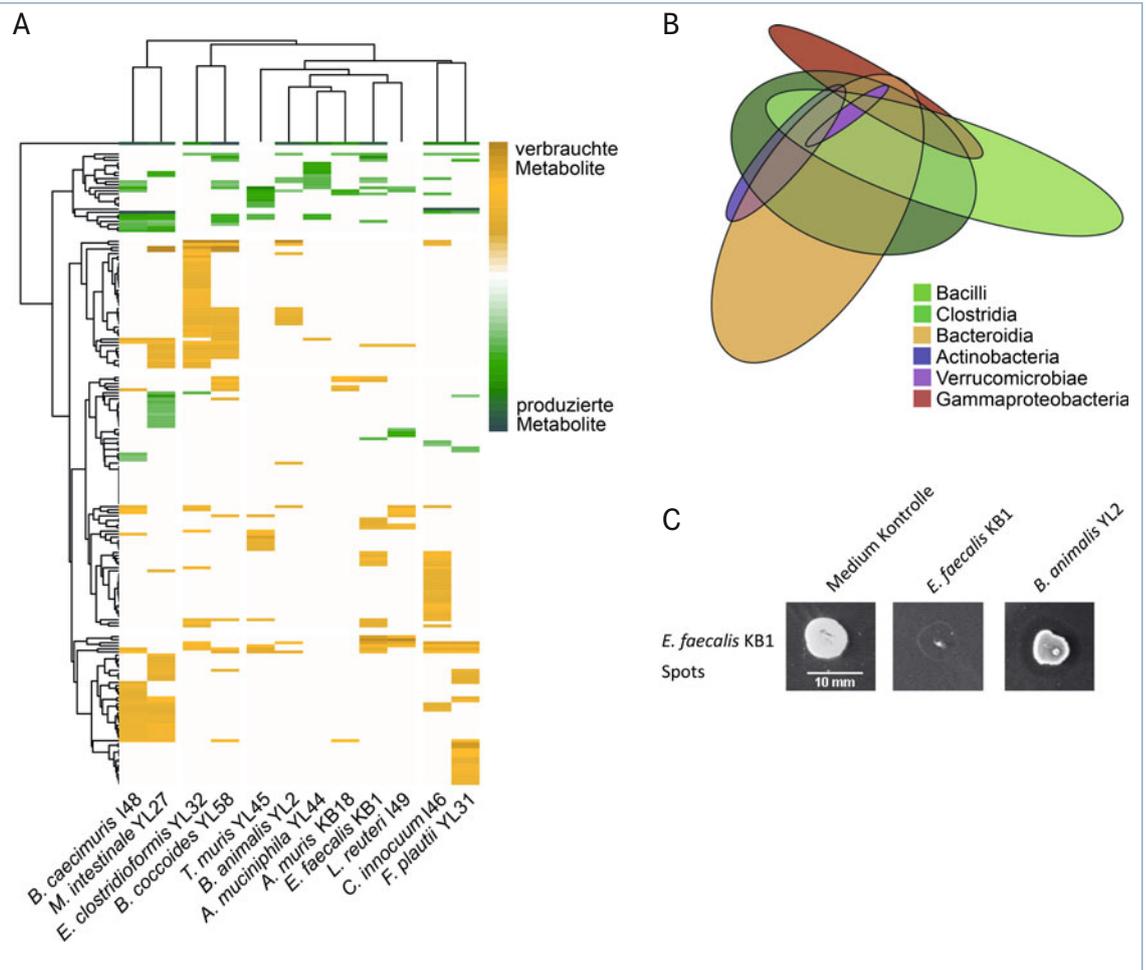
■ Der Mensch ist ein Holobiont. Das bedeutet, dass der menschliche Körper in Symbiose mit einer Vielzahl an Mikroorganismen lebt, allen voran Bakterien verschiedenster

Spezies. Das eindrucklichste Beispiel für diese Vielfalt findet man im Magen-Darm-Trakt mit mehr als einer Billion bakteriellen Zellen pro Milliliter im Kolon und ungefähr 300 verschiedenen Bakterienarten. Wichtige Funktionen des Darmmikrobioms – wie Verdauung, Immunregulation und Schutz vor Infektionserregern – sind schon lange bekannt, seine enorme Bedeutung darüber hinaus wurde allerdings erst in den letzten zwei Jahrzehnten erkannt. Die rasante Weiterentwicklung von neuen DNA-Sequenziermethoden erlaubte ungeahnte Einblicke in die mikrobielle Diversität der Symbionten des menschlichen Körpers. Ein Meilenstein ist die Identifizierung von krankheitsassoziierten Mikrobiomsignaturen – charakteristische taxonomische oder funktionelle Muster – durch vergleichende Mikrobiomanalysen



◀ **Abb. 1:** Top-down- und Bottom-up-Ansätze in der Mikrobiomforschung. Top-down-Studien arbeiten mit komplexen Datensätzen, z. B. Metagenomdatensätze aus verschiedenen medizinischen Kohorten. Im Gegensatz dazu nutzen Bottom-up-Studien definierte mikrobielle Gemeinschaften, um bestimmte Eigenschaften eines natürlichen Systems zu modellieren. Das OMM¹²-Modell ist ein Beispiel für vielgenutzte synthetische bakterielle Gemeinschaften zur mechanistischen Untersuchung des Mikrobioms.

► **Abb. 2:** Mechanismen der gegenseitigen Beeinflussung im OMM¹²-Konsortium. **A**, verbrauchte und produzierte Metabolite der Stämme in Einzelkultur (*untargeted metabolomics*). **B**, Euler-Diagramm, das Überschneidungen in den metabolischen Verbrauchsprofilen zeigt, gruppiert nach bakteriellen Klassen. **C**, Bacteriocin-basierte Hemmung von *Bifidobacterium animalis* YL2 durch *Enterococcus faecalis* KB1 in einem Spotassay. Eine *E. faecalis* KB1-Kolonie wächst auf der Mediumkontrolle (links) sowie einem Zellrasen aus *E. faecalis* KB1 (Mitte) sowie *B. animalis* YL2 (rechts).



zwischen Patient:innen und gesunden Proband:innen. Dies deutet auf eine bisher unterschätzte Rolle des Mikrobioms bei der Entstehung verschiedenster Erkrankungen des Menschen hin. Eine große Herausforderung der Mikrobiomforschung ist es heute, kausale Zusammenhänge zwischen bestimmten Mikrobiomsignaturen und der Pathogenese von Erkrankungen aufzuklären.

Forschungsansätze der funktionellen Mikrobiomforschung

Zur Entschlüsselung von Mikrobiomsignaturen verwendet man einerseits Top-down-Ansätze, welche direkt mit hoch komplexen Datensätzen arbeiten (**Abb. 1**). So können bestimmte Funktionen oder Spezies mit Krankheitsbildern oder anderen Phänotypen korreliert werden, eine Kausalität lässt sich daraus jedoch nicht unbedingt ableiten. Ein Beispiel für einen komplementären Bottom-up-Ansatz ist die Verwendung von synthetischen Mikrobengemeinschaften („Syncom“). Diese werden aus Monokulturen, welche im Labor hinsichtlich ihrer Taxonomie oder metabolischen Kapazität charakterisiert wer-

den können, künstlich zusammengestellt, um bestimmte Eigenschaften eines natürlichen Systems zu modellieren oder gezielt die Rolle oder Funktion bestimmter Mikroorganismen im Mikrobiom zu überprüfen. So können funktionelle Zusammenhänge eindeutig und mechanistisch bis hin zur biochemischen Ebene aufgeklärt werden. Diese synthetischen Gemeinschaften können auch in keimfreie Mäuse übertragen werden, was gerade für die

Erforschung der Interaktion zwischen einzelnen Bakterien sowie der Symbionten mit dem murinen Wirt eine wertvolle Methode ist. Diese gnotobiotischen Mausmodelle, die kein oder nur ein bekanntes Mikrobiom besitzen, ermöglichen so eine Vielzahl von Anwendungen in der funktionellen Mikrobiomforschung zu Themen wie chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Infektionsabwehr, bakterieller Evolution und vieles mehr.

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

OMM¹²: ein Modellsystem zur Erforschung von Ökologie und Funktionalität des Darmmikrobioms

Eine immer häufiger verwendete Syncom ist die Oligo-Maus-Mikrobiota (OMM¹²). Dieses bakterielle Konsortium wurde 2016 erstmals beschrieben und besteht aus zwölf Bakterien, die ursprünglich aus Labormäusen isoliert wurden (**Abb. 1**, [1]). OMM¹² repräsentiert fünf prävalente Phyla des Mausmikrobioms und vermittelt zahlreiche physiologisch relevante Funktionen eines komplexeren Mikrobioms. Die Genome der ausgewählten zwölf Stämme sind sequenziert und können außerdem sowohl über qPCR quantifiziert als auch mithilfe von FISH-Sonden für die Mikroskopie markiert werden [2, 3]. Die einzelnen Stämme sowie das komplette Konsortium können reproduzierbar *in vitro* kultiviert werden, kolonisieren aber auch den Darm von gnotobiotischen Mäusen stabil über mehrere Generationen. Die Bakterien des Modellkonsortiums sind frei für nicht kommerzielle Anwendungen über das Leibniz Institut Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) im Rahmen der „Mouse intestinal Bacterial Collection“ (miBC) verfügbar (www.dsmz.de/miBC). Neben den zwölf Bakterien der OMM¹² enthält die miBC, welche von Prof. Thomas Clavel (RWTH Aachen) in Zusammenarbeit mit der DSMZ etabliert wurde, derzeit 212 verschiedene Bakterienstämme (141 Spezies, [12]). Aufgrund der freien Verfügbarkeit wird das OMM¹²-Modell in über 50 verschiedenen Laboren weltweit verwendet und zeichnet sich durch vielseitige Anwendungsmöglichkeiten im Bereich der Darmmikrobiomforschung aus. Des Weiteren dient es zur Beantwortung verschiedener Forschungsfragen zum Thema entzündlicher und metabolischer Erkrankungen, der Infektionsforschung und dem kolorektalen Karzinom im Rahmen des DFG-geförderten Sonderforschungsbereichs SFB1371 sowie für als Modell für präklinische Studien zu Darminfektionen innerhalb des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung (DZIF).

Das OMM¹²-Modell leistet einen wichtigen Beitrag zur Erforschung der Kolonisationsresistenz gegen Darminfektionen

Eine wichtige Aufgabe des Darmmikrobioms im Zusammenspiel mit dem Wirt ist der Schutz vor Infektionen mit pathogenen Erregern, wie Salmonellen (Kolonisationsresistenz). *Escherichia coli* spielt bekanntermaßen

eine entscheidende Rolle beim Schutz vor einer Salmonelleninfektion. Das Probiotikum *E. coli* Nissle 1917 (Mutaflor[®]) wird daher auch zur Bekämpfung von Darminfekten angewendet. Obwohl *E. coli* zu einem der am besten erforschten bakteriellen Modellorganismen zählt, sind die Mechanismen und Bedingungen, die seiner Interferenz mit krankheitserregenden Salmonellen zugrunde liegen, immer noch unvollständig aufgeklärt.

Salmonelleninfektionen in gnotobiotischen Mäusen mit verschiedenen Syncoms zeigten [4], dass *E. coli* den Wirt vor einer Infektion mit *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (S. Tm) nur in Verbindung mit bestimmten mikrobiellen Gemeinschaften schützt: Mäuse, die mit dem OMM¹²-Konsortium in Kombination mit *E. coli* besiedelt wurden, zeigten eine deutlich niedrigere Salmonellenlast als Mäuse, die mit der deutlich weniger komplexen Altered-Schaedler-Flora kolonisiert waren. Für den Infektionsverlauf war also der mikrobielle Kontext, insbesondere dessen metabolisches Potenzial entscheidend. Nach Rolf Freters' Nischen-Hypothese [5, 6] kann sich ein neu hinzukommendes Bakterium in einem bestehenden System nur erfolgreich etablieren, wenn es wenigstens eine metabolische Nische effizienter belegt als ein bereits vorhandenes Bakterium. Im OMM¹²-Konsortium verbrauchen die zwölf Stämme bereits viele wichtige Kohlenstoffquellen. Transkriptomanalysen zeigten, dass *E. coli* in diesem Kontext hauptsächlich Galaktitol (auch Dulcitol, ein aus der Nahrung stammender Zuckeralkohol) nutzt und damit die letzte verbleibende Nische von S. Tm belegt. Diese Studie zeigte eindrücklich, dass der Beitrag von *E. coli* zur Kolonisationsresistenz direkt von mikrobiellen metabolischen Interaktionen abhängt.

Metabolische Netzwerke – ein wichtiger Faktor der Funktionalität des Mikrobioms

Das metabolische Zusammenspiel einzelner Bakterien ist zentral für die Funktionalität des Darmmikrobioms. Das metabolische Netzwerk innerhalb des OMM¹²-Konsortiums wurde daher bereits eingehend und systematisch untersucht [7, 8]. Einerseits wurden genom-basierte metabolische Modelle der einzelnen Stämme erstellt und diese andererseits durch die Auswertung metabolischer Profile aus *in vitro*-Kulturen verifiziert und komplementiert.

Diese Metabolomuntersuchungen lieferten Hinweise darauf, wie stark sich die Nahrungsnischen und die Metabolitspektren ver-

schiedener Arten überlappen (**Abb. 2A, B**). Daraus können sowohl kompetitive als auch synergistische Interaktionen entstehen. Ein Beispiel für erstere ist die Konkurrenz um Zucker oder Aminosäuren, für letztere das *crossfeeding*, d. h., Stoffwechselprodukte eines Bakteriums (z. B. Dicarboxy- oder Aminosäuren) werden ausgeschieden und von einem anderen genutzt. Negative Effekte eines Bakteriums auf ein anderes können auf Konkurrenz um Metabolite oder Vitamine beruhen, auf unvorteilhaften Umweltveränderungen, z. B. ein Ansäuern des Mediums, oder auch auf direkter Hemmung durch Toxinbildung (**Abb. 2C**, [7]). In der Gemeinschaft können diese Effekte allerdings unterschiedlich stark auf verschiedene Mitglieder wirken oder sich gegenseitig verstärken oder abschwächen. Andererseits verändern viele Bakterien das Kulturmedium auch zum Vorteil anderer Spezies. Solche positiven Wechselwirkungen entstehen z. B. durch den Aufschluss komplexer Nahrungsquellen (u. a. Polysaccharidabbau durch *Bacteroides* spp.) [8].

Dieses komplexe Bild deutet darauf hin, dass die Struktur der gesamten Gemeinschaft *in vivo* deutlich mehr durch positive Interaktionen gekennzeichnet ist, als aus einzelnen *in vitro*-Versuchen und paarweisen Interaktionen angenommen werden könnte. Diese Beobachtung wurde auch für mikrobielle Modellgemeinschaften anderer Ökosysteme gemacht und ist Gegenstand weiterführender Forschung.

Ausblick

Die Mitglieder des OMM¹²-Modells wurden ursprünglich lediglich ausgewählt, um eine möglichst breite Biodiversität des murinen Darmmikrobioms zu repräsentieren. Es spiegelt ohne Frage nur einen Bruchteil der Funktionalität einer komplexen natürlichen Darmgemeinschaft wider. Wir und andere Forschungsgruppen sind bestrebt, das Modell kontinuierlich zu verbessern und es je nach Forschungsfrage anzupassen. Ein Beispiel dafür ist die oben erwähnte Zugabe von *E. coli*, um komplette Kolonisationsresistenz gegen Salmonellen zu erreichen. Die Zugabe von *Clostridium scindens* dehnt die Kolonisationsresistenz auch auf *Clostridioides difficile* aus [9]. *C. scindens* sowie der aus Mäusen isolierte *Extibacter muris* [10] erweitern das Funktionsspektrum um die Bildung von sekundären Gallensäuren; *Taurinivorans muris* [11] bringt die Bildung von Schwefelwasserstoff hinzu. In dieser Hinsicht besteht noch weites Potenzial, das OMM¹²-Modell zu

erweitern, um sich dem Phänotyp eines natürlichen komplexen Darmmikrobioms anzunähern. Kürzlich entwickelten Afrizal *et al.* ein erweitertes OMM¹⁹-Modell, das auch im Vergleich zu OMM¹²-kolonisierten Mäusen veränderte Immunparameter des Wirts induziert [12]. So nähern wir uns Schritt für Schritt einer Modellgemeinschaft an, die letzten Endes viele – vielleicht sogar alle – Funktionen eines natürlichen Darmmikrobioms abbilden kann – sofern uns diese bekannt sind.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe und Kollaborationspartnern für die produktive und inspirierende Zusammenarbeit. Diese Arbeiten wurden vom DFG-Sonderforschungsschwerpunkt CRC1371 unterstützt. ■

Literatur

- [1] Lagkouvardos I, Pukall R, Abt B *et al.* (2016) The Mouse Intestinal Bacterial Collection (miBC) provides host-specific insight into cultured diversity and functional potential of the gut microbiota *Nat Microbiol* 10: 16131
- [2] Brugiroux S, Beutler M, Pfann C *et al.* (2016) Genome-guided design of a defined mouse microbiota that confers colonization resistance against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Nat Microbiol* 2: 16215
- [3] Brugiroux S, Berry D, Ring D *et al.* (2022) Specific localization and quantification of the oligo-mouse-microbiota (OMM12) by fluorescence *In Situ* hybridization (FISH). *Current Protocols* 2: e548
- [4] Eberl C, Weiss AS, Jochum LM *et al.* (2021) *E. coli* enhance colonization resistance against *Salmonella* Typhimurium by competing for galactitol, a context-dependent limiting carbon source. *Cell Host & Microbe* 11:1680–1692.e7
- [5] Freter R, Brickner H, Botney M *et al.* (1983) Mechanisms that control bacterial populations in continu-

- ous-flow culture models of mouse large intestinal flora. *Infect Immun* 39: 676–685
- [6] Freter R, Brickner H, Fekete J *et al.* (1983) Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infect Immun* 39: 686–703
 - [7] Weiss AS, Burrichter AG, Durai Raj AC *et al.* (2022) *In vitro* interaction network of a synthetic gut bacterial community. *ISME J* 16: 1095–1109
 - [8] Pérez Escriba P, Fuhrer T, Sauer U (2022) Distinct N and C Cross-Feeding Networks in a Synthetic Mouse Gut Consortium. *mSystems* 7: e0148421
 - [9] Studer N, Desharnais L, Beutler M *et al.* (2016) Functional Intestinal Bile Acid 7- α -Dehydroxylation by *Clostridium scindens* Associated with Protection from *Clostridium difficile* Infection in a Gnotobiotic Mouse Model. *Front Cell Infect Microbiol* 6: 191
 - [10] Streidl T, Karkossa I, Segura Muñoz RR *et al.* (2021) The gut bacterium *Exibacter muris* produces secondary bile acids and influences liver physiology in gnotobiotic mice. *Gut Microbes* 13: 1
 - [11] Ye H, Borusak S, Eberl C *et al.* (2022) A novel taurine-respiring murine gut bacterium contributes to colonization resistance against enteropathogens. *bioRxiv*, DOI: <https://doi.org/10.1101/2022.10.05.510937>
 - [12] Afrizal A, Jennings SAV, Hitch TCA *et al.* (2022) Enhanced cultured diversity of the mouse gut microbiota enables custom-made synthetic communities. *Cell Host & Microbe* 30: 1630–1645.e25

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Bärbel Stecher
Max von Pettenkofer-Institut
LMU München
Pettenkofer Straße 9A
D-80336 München
stecher@mvp.lmu.de

AUTORINNEN



Anna Weiß

2012–2018 Studium der Physik und Biophysik an der LMU München; dort im Anschluss Promotion im Bereich der klinischen Mikrobiologie unter Prof. Dr. B. Stecher am Max von Pettenkofer-Institut der LMU München.



Anna Burrichter

2008–2015 Studium der Life Science an der Universität Konstanz; dort bis 2020 Promotion im Bereich Mikrobielle Ökologie unter Prof. Dr. D. Schleheck. Seit 2020 Postdoktorandin am Max von Pettenkofer-Institut der LMU München.



Bärbel Stecher

1995–2001 Biologiestudium an der LMU München und Universität Warwick, UK. 2005–2009 Promotion zur bakteriellen Pathogenität, ETH Zürich, Schweiz, danach Postdoc an der ETH Zürich und an der McMaster Universität, Hamilton, Kanada. Seit 2011 W2-Professur für Hygiene und Mikrobiologie, LMU München. Seit 2019 Stellvertretende Sprecherin des SFB1371. Seit 2022 Koordinatorin der TTU Gastrointestinale Infektionen, Deutsches Zentrum für Infektionsforschung.

Hier steht
eine Anzeige.

