

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 823**

51 Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)
A23L 5/00 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.04.2014** **PCT/GB2014/051123**
87 Fecha y número de publicación internacional: **16.10.2014** **WO14167338**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2014** **E 14717823 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.11.2017** **EP 3010523**

54 Título: **Flagelinas Roseburia y modulación inmune**

30 Prioridad:

10.04.2013 GB 201306536

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
26.03.2018

73 Titular/es:

4D PHARMA RESEARCH LIMITED (100.0%)
Life Sciences Innovation Building Cornhill Road
Aberdeen AB25 2ZS, GB

72 Inventor/es:

KELLY, DENISE;
PATTERSON, ANGELA;
MONNAIS, EDOUARD y
MULDER, IMKE

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 660 823 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

Flagelinas Roseburia y modulación inmune**Descripción****5 CAMPO DE LA INVENCION**

10 **[0001]** La presente invención se refiere a flagelinas *Roseburia*, y/o secuencias de polinucleótidos que codifican dichas flagelinas *Roseburia*, y/o vectores que comprenden dichas secuencias de polinucleótidos, y/o células anfitrionas, incluyendo bacterias, que comprenden dichos vectores, las células y/o huésped, incluyendo bacterias, que comprenden dichas secuencias de polinucleótidos, para diversos usos terapéuticos y nutricionales.

ANTECEDENTES

15 **[0002]** Se cree que El intestino humano es estéril *en el útero*, pero se expone a una gran variedad de microbios maternos y ambientales inmediatamente después del nacimiento. Posteriormente, se produce un período dinámico de colonización y sucesión microbiana que está influenciado por factores tales como el modo de administración, el medio ambiente, la dieta y el genotipo del huésped, todo lo cual afecta la composición de la microbiota intestinal, particularmente durante los primeros años de vida. Posteriormente, la microbiota se estabiliza y se vuelve adulta (Spor, Koren & Ley 2011). La microbiota intestinal humana contiene más de 500-1000 filotipos diferentes que pertenecen esencialmente a dos divisiones bacterianas principales, los Bacteroidetes y los Firmicutes (Eckburg *et al.*, 2005). Las exitosas relaciones simbióticas que surgen de la colonización bacteriana del intestino humano han producido una amplia variedad de funciones metabólicas, estructurales, protectoras y otras beneficiosas. Las actividades metabólicas mejoradas del intestino colonizado aseguran que los componentes dietarios no digeribles se degraden con la liberación de subproductos que proporcionan una importante fuente de nutrientes para el huésped. De forma similar, la importancia inmunológica de la microbiota intestinal es bien conocida y se ejemplifica en animales libres de gérmenes que tienen un sistema inmunitario deteriorado que se reconstituye funcionalmente después de la introducción de bacterias comensales (Macpherson y *otros* 2001, Macpherson, Martinic & Harris 2002, Mazmanian *et al.* 2005).

30 **[0003]** En fuerte contraste con la producción de IgA secretora intestinal, que está influenciada por la colonización microbiana *per se* (Chung, Kasper 2010, Macpherson 2006), el desarrollo de células T y la diferenciación parecen requerir la colonización por microorganismos comensales específicos. Las especies de Clostridium, y en particular las bacterias filamentosas segmentadas formadoras de esporas (SFB), parecen ser un potente estímulo para la diferenciación y maduración de Th1, Th17 y Tregs intestinal y colónico (Gaboriau-Routhiau *et al.*, 2009, Ivanov *et al.* 2009). Estudios recientes han demostrado ahora que otras bacterias intestinales, incluidas las de grupos de Clostridium IV y XIVa y la Altered Schaedler Flora (ASF), pueden inducir la generación *de novo* de células T reguladoras mientras que la mono-colonización con *Bacteroides fragilis* puede corregir el desequilibrio Th1/Th2 en ratones libres de gérmenes promoviendo la expansión de Tregs (Mazmanian *et al.*, 2005; Geuking *et al.*, 2011, Atarashi *et al.*, 2011). Estos datos infieren importantes efectos inmunitarios reguladores de otras bacterias intestinales residentes. Claramente, los efectos de las bacterias comensales en las vías de diferenciación de las células T son variables y, como se postuló anteriormente, pueden estar influenciados por la serie de ligandos TLR encontrados asociados con bacterias específicas (Nutsch, Hsieh 2012). Por ejemplo, el mecanismo por el cual SFB influye en las respuestas de las células T es actualmente desconocido, pero estudios genómicos recientes que confirman la presencia de genes de flagelina sugieren que las respuestas innatas mediadas a través de interacciones Tlr5-flagelina pueden ser importantes (Prakash *et al.*, 2011, Szczesnak *et al.* 2011). Además, los efectos potenciadores de Treg de *B. fragilis* se han relacionado con el PSA y la mediación por los eventos de señalización de TLR2 (Round *et al.*, 2011).

50 **[0004]** Los cambios dramáticos en la composición de la microbiota se han documentado en los trastornos gastrointestinales tales como enfermedad inflamatoria del intestino (EII). Por ejemplo, los niveles de bacterias de grupo de Clostridium XIVa se reducen en pacientes con EII mientras que los números de *E. coli* aumentan, lo que sugiere un cambio en el equilibrio de simbiosis y patobiosis en el intestino (Frank *et al.* 2007, Scanlan *et al.* 2006, Kang *et al.* 2010, Machiels K. *et al.* 2013). Curiosamente, esta disbiosis microbiana también se asocia con desequilibrios en las poblaciones de células efectoras T.

55 **[0005]** *Roseburia* pertenece al grupo filogenético XIVa del Firmicutes phylum. Actualmente, dentro del género *Roseburia*, se han identificado y caracterizado cinco especies: *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia hominis*, *Roseburia intestinalis*, *Roseburia inulinivorans* (Stanton y Savage 1983, Duncan *et al.* 2006). Las bacterias son anaerobios comensales flagelados y también son grandes productores de butirato (Duncan *et al.*, 2006). Aunque los números precisos de estas bacterias que colonizan el intestino humano no se han estimado con precisión, *Roseburia* spp. son dominantes en el intestino humano sano y están subrepresentados en pacientes con EII (Machiels K. *et al.*, 2013).

65 **[0006]** Se dan a conocer las funciones de los genes bacterianos, en particular flagelina, que participan en la colonización y la adaptación al intestino murino, así como los genes inmunes del huésped en respuesta a la colonización por bacterias *Roseburia*. Los inventores muestran que las estructuras de flagelina específicas de

Roseburia tales como *R. hominis* y *R. intestinalis* inducen respuestas de señalización distintas tanto en las células epiteliales como en las células dendríticas en relación con otras bacterias entéricas flageladas. Se demuestra la importancia de las interacciones de *Tlr5-Roseburia*, como *Tlr5-R.hominis*, en la dirección de la respuesta adaptativa del huésped, en particular las respuestas Treg. La secuencia completa del genoma y la anotación para *R. hominis* descritas en este documento se muestran en GenBank con el número de acceso CP003040 (versión 1). Para *R. intestinalis* (número de acceso de GenBank para la 16S ARNr cepa de gen L1-82: AJ312385) descrito en este documento se muestra la secuencia del genoma de referencia en GenBank bajo número de acceso ABYJ02000000 (versión 2) y consta de las secuencias ABYJ02000001-ABYJ02000409.

DECLARACIONES DE LA INVENCIÓN

[0007] Sorprendentemente, los presentes inventores encontraron que proteínas de flagelina *Roseburia* son importantes en la modulación de la respuesta inmune.

[0008] Además, los presentes inventores sorprendentemente encontraron que las proteínas de flagelina que se derivan o son derivables de *Roseburia hominis* o *Roseburia intestinalis* son importantes en la modulación de la respuesta inmune. La presente invención se define en las reivindicaciones.

[0009] La presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para usar en la modulación de la inflamación de un tejido o un órgano (tal como el intestino) en un sujeto.

[0010] En otro aspecto, la presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la modulación de la producción de células T (por ejemplo, células T reguladoras tales como células T reguladoras capaces de expresar *Tlr5*) en un sujeto.

[0011] La presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en el restablecimiento de la tolerancia inmunológica.

[0012] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la regulación del sistema inmune de un sujeto.

[0013] En otro aspecto, la presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en el tratamiento de un trastorno en un sujeto, en el que dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o desorden autoinmune.

[0014] La presente invención, en otro aspecto, se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la modulación de células dendríticas (tales como células dendríticas de médula ósea) y/o células epiteliales en un tejido o un órgano de un sujeto.

[0015] La presente invención, en un aspecto adicional, se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas de *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la regulación de la producción de IL-10 y/o TGFβ en una célula o células de un sujeto.

[0016] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o que comprende un vector de dicha secuencia de

polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la regulación de la producción de marcadores de superficie celular implicados en respuestas inmunes y reconocimiento de antígenos tales como CD40, I-A/I-E, CD317/BST-2, CD103, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H y/o la especie equivalente en una célula o células de un sujeto.

[0017] En otro aspecto, la presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la regulación (p. ej. regulación negativa) de la expresión de uno o más genes de IFN Tipo I (tales como, pero sin limitarse a, uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en IFN- β 1, IFN- β 3, *Ifi202b*, *Ifi203*, *IFI44*, *IFTI*, *MXI*, *OASI*, *OAS2*, *OAS3*, *OASL*, *Irf3* e *Irf4*) en una célula o células de un sujeto.

[0018] La presente invención, en un aspecto adicional, se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para su uso en la regulación (por ejemplo, regulación negativa) de la expresión de uno o más genes proinflamatorios (tales como uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en, pero no se limita a, *It1*- β , *IL4*, *IL5*, *IL6*, *IL8*, *IL12*, *IL13*, *IL17*, *IL21*, *IL22*, *IL23*, *IL27*, *IFN* γ , *CCL2*, *CCL3*, *CCL5*, *CCL20*, *CXCL5*, *CXCL10*, *CXCL12*, *CXCL13*, y *TNF*- α) en una célula o células de un sujeto.

[0019] La presente invención, en otro aspecto, se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la mejora de la microbiota intestinal en un sujeto.

[0020] En otro aspecto, la presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la regulación del apetito en un sujeto.

[0021] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la regulación (por ejemplo, regulación negativa) de la expresión del gen que codifica colecistoquinina (*Cck*) y/o la expresión del gen que codifica el glucagón (*Gcg*) en una célula o células de un sujeto.

[0022] La presente invención, en un aspecto adicional, se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la mejora de la salud del canal alimentario en un sujeto.

[0023] La presente invención, en otro aspecto, se refiere a una composición farmacéutica que comprende una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula/huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[0024] En otro aspecto, la presente invención se refiere a un suplemento nutricional que comprende una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y un excipiente, vehículo o diluyente nutricionalmente aceptable.

[0025] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un alimento, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario que comprende una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o que comprende un vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o una

célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*).

[0026] La presente invención, en un aspecto adicional, se refiere a un proceso para producir una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención, comprendiendo dicho proceso mezclar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable; opcionalmente, dicha flagelina de *Roseburia*, y/o dicha secuencia de polinucleótidos, y/o dicho vector, y/o dicha célula huésped que comprende dicho vector, y/o dicha célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o dicha *Roseburia* (tal como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), está encapsulada.

[0027] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un suplemento alimenticio de acuerdo con la presente invención, comprendiendo dicho procedimiento mezclar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector comprendiendo dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), con una nutrición excipiente, vehículo o diluyente aceptable; opcionalmente, dicha flagelina de *Roseburia*, y/o dicha secuencia de polinucleótidos, y/o dicho vector, y/o dicha célula huésped que comprende dicho vector, y/o dicha célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o dicha *Roseburia* (tal como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), está encapsulada.

[0028] En otro aspecto, la presente invención se refiere a la modulación de la inflamación de un tejido o un órgano (tal como el intestino) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una flagelina *Roseburia*, o una secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde se modula la inflamación del tejido u órgano (tal como el intestino) en el sujeto.

[0029] La presente invención, en otro aspecto, se refiere a la modulación de la producción de células T (por ejemplo, células T reguladoras, tales como células T reguladoras capaces de expresar *Tlr5*) en un sujeto, que comprende administrar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde se modula la producción de células T (por ejemplo, células T reguladoras tales como células T reguladoras capaces de expresar *Tlr5*) en el sujeto.

[0030] La presente invención, en un aspecto adicional, se refiere a la regulación del sistema inmune de un sujeto, que comprende administrar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o que comprende un vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde está regulado el sistema inmune del sujeto.

[0031] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a flagelina *Roseburia* para uso en un método de tratamiento de un trastorno en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), en donde dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

[0032] En otro aspecto, la presente invención se refiere a la modulación de las células dendríticas (tales como las células dendríticas de la médula ósea) y/o células epiteliales en un sujeto, que comprende administrar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis* o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde las células dendríticas (tales como las células dendríticas de la médula ósea) y/o están moduladas las células epiteliales en el sujeto.

[0033] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a la regulación de la producción de IL-10 y/o TGF β en una célula o células de un sujeto, que comprende administrar una flagelina *Roseburia* y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis* o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para el sujeto, y en donde está regulada la producción de IL-10 y/o TGF β en una célula o células del sujeto.

[0034] La presente invención, en otro aspecto, se refiere a la regulación de la producción de marcadores de superficie celular que participan en la respuesta inmune y el reconocimiento de antígenos, tales como CD40, I-A/I-E, CD317/BST-2, CD103, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H y/o la especie equivalente en una célula o células de un sujeto, que comprende administrar una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde está regulada la producción de marcadores de superficie celular implicada en respuestas inmunes y reconocimiento de antígenos tales como CD40, I-A/I-E, CD317/BST-2, CD103, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H y/o la especie equivalente en una célula o células del sujeto.

[0035] En otro aspecto, la presente invención se refiere a la regulación (por ejemplo, regulación por disminución) la expresión de uno de más genes IFN de tipo I (tales como uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en pero no está limitado a IFN- β 1, IFN- β 3, *Ifi202b*, *Ifi203*, *IFI44*, *IFTI*, *MXI*, *OASI*, *OAS2*, *OAS3*, *OASL*, *Irf3* e *Irf4*) en una célula o células de un sujeto, que comprende administrar una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis* o la especie bacteria *Roseburia intestinalis*), en donde está regulada la expresión de uno o más genes de IFN Tipo I (tales como uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en pero no se limita a IFN- β 1, IFN- β 3, *Ifi202b*, *Ifi203*, *IFI44*, *IFTI*, *MXI*, *OASI*, *OAS2*, *OAS3*, *OASL*, *Irf3* e *Irf4*) en una célula o células del sujeto.

[0036] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a la regulación (por ejemplo, regulación por disminución) de la expresión de uno o más genes pro-inflamatorios (tales como uno o más genes seleccionados del grupo que consiste de, pero no está limitado a IL-1- β , IL4, IL5, IL6, IL8, IL12, IL13, IL17, IL21, IL22, IL23, IL27, IFN γ , CCL2, CCL3, CCL5, CCL20, CXCL5, CXCL10, CXCL12, CXCL13 y TNF- α en una célula o células de un sujeto, que comprende administrar una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), en donde está regulada la expresión de uno o más genes proinflamatorios (tal como uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en, pero no está limitado) a IL1- β , IL4, IL5, IL6, IL8, IL12, IL13, IL17, IL21, IL22, IL23, IL27, IFN γ , CCL3, CCL5, CCL20, CXCL5, CXCL10, CXCL12, CXCL13 y TNF- α) en una célula o las células del sujeto.

[0037] La presente invención, en un aspecto adicional, se refiere a la mejora de microbiota intestinal en un sujeto, que comprende administrar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde está mejorada la microbiota intestinal en un sujeto.

[0038] En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de flagelina *Roseburia* en la regulación del apetito en un sujeto, que comprende administrar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde está regulado el apetito en el sujeto.

[0039] La presente invención, en otro aspecto se refiere al uso de flagelina *Roseburia* en la regulación (por ejemplo, regulación por disminución) de la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (CCK) y/o la expresión del gen que codifica glucagón (GCG) en una célula o células de un sujeto, que comprende administrar una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde está regulada la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (Cck) y/o la expresión del gen que codifica el glucagón (Gcg) en una la célula o las células del sujeto.

[0040] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a mejorar la salud canal alimentario en un sujeto, que comprende administrar una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y en donde se mejora la salud del canal alimentario en un sujeto.

[0041] La presente descripción también se refiere al uso de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para modular la inflamación de un tejido o un órgano (tal como el intestino) en un sujeto. Se describe adicionalmente el uso de una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para modular la producción de células T (por ejemplo, células T reguladoras tales como células T reguladoras capaces de expresar *Tlr5*) en un sujeto. Además, se describe el uso de una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos y/o una célula huésped que comprende dicho vector y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para regular el sistema inmune de un sujeto. La presente descripción se refiere además al uso de una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno en un sujeto, en el que dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune. La presente descripción se refiere además al uso de una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para modular células dendríticas (tales como células dendríticas de la médula ósea) y/o células epiteliales en un tejido o un órgano de un sujeto. La presente divulgación también se refiere al uso de una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para regular la producción de IL-10 y/o TGF β en una célula o células de un sujeto. La presente divulgación se refiere además al uso de una flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para regular la producción de marcadores de la superficie celular implicados en respuestas inmunes y reconocimiento de antígenos tales como CD40, I-A/I-E, CD317/BST-2, CD103, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H y/o las especies equivalentes en una célula o células de un sujeto. También se describe aquí la utilización de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o que comprende un vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las bacterias especies *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para la regulación (por ejemplo, la regulación negativa) la expresión de uno de más genes de IFN de tipo I (tales como uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en pero no se limita a IFN-1 β , IFN- β 3, *Ifi202b*, *Ifi203*, *IFI44*, *Ifi*, *MXI*, *OASI*, *OEA 2*, *OAS3*, *IVSA*, *IRF3* y *IRF4*) en una célula o células de un sujeto. La presente descripción se refiere además al uso de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o que comprende un vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para regular (por ejemplo, regular hacia abajo) la expresión de uno o más genes pro-inflamatorios (tales como uno o más genes seleccionados del grupo que consiste de, pero no se limita a IL1- β , IL4, IL5, IL6, IL8, IL12, IL13, IL17, IL21, IL22, IL23, IL27, IFN γ , CCL2, CCL3, CCL5, CCL20, CXCL5, CXCL10, CXCL12, CXCL13, y TNF- α) en una célula o células de un sujeto. La presente descripción también se refiere al uso de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un

medicamento para mejorar la microbiota intestinal en un sujeto. Descrito en este documento es el uso de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para la regulación del apetito en un sujeto. Además, la presente descripción se refiere a la utilización de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para la regulación (por ejemplo, la regulación negativa) de la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (CCK) y/o la expresión del gen que codifica glucagón (GCG) en una célula o células de un sujeto. La divulgación también se refiere al uso de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o que comprende un vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para mejorar la salud del canal alimentario en un sujeto. Además se describe el uso de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para uso en la medicina.

[0042] En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *hominis Roseburia*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para su uso en la restauración de la tolerancia inmunológica.

[0043] En otro aspecto, la presente descripción se refiere al uso de una flagelina *Roseburia*, y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *hominis Roseburia*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para la fabricación de un medicamento para la restauración de la tolerancia inmunológica en un sujeto.

[0044] La presente descripción se refiere a, en otro aspecto, a un método de restaurar la tolerancia inmunológica en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración de una flagelina *Roseburia* y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia*, y/o que comprende un vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), y en donde se restaura la tolerancia inmunológica en un sujeto.

FIGURAS

[0045]

Figura 1. Secuencia y anotación de genoma *R. hominis*. Se produjo la secuencia completa del genoma de *R. hominis* A2-183. Está representada por un único cromosoma 3.592.125 pb con cuatro operones ribosómicos, 66 ARN y 3.273 proteínas predichas. (A) El mapa de genoma circular *R. hominis* con la ubicación de los experimentos de PCR (Tabla S1) se indica en las regiones seleccionadas por los cebadores. Las pistas del mapa del genoma, a partir de la pista exterior 0, son: pista 0 (azul) - experimentos de PCR en tiempo real indicados por marcas de graduación numeradas; pista 1 (azul claro) - CDS delantera; pista 2 (azul pálido) - CDS inversa; pista 3 (gris) - ARNr; pista 4 (verde) - ARNt; pista 5 (rojo) - regiones marcadoras STS por PCR en tiempo real de marcado; gráfico 1 - contenido de GC; gráfico 2 - sesgo GC. (B) Anotación funcional del genoma *R. hominis* muestra que el mayor número de genes pertenecen a los carbohidratos, metabolismo de las proteínas y amino ácidos y derivados.

Figura 2. *R. hominis* responde al ambiente intestino al regular hacia arriba los genes de motilidad, movilización y quimiotaxis. A ratones machos libres de gérmenes GF C3H/HeN se les dio cultivo de *R. hominis* por medio de una sonda para 28d, y se comparó con los animales de control sin gérmenes. En 14d y 28d, animales tratados con *R. hominis* (N = 5) y animales de control (N = 4) fueron sacrificados y se recogieron íleon, colon y ciego. (A) Validación de PCR en tiempo real de los genes que participan en la transferencia de conjugación/movilización. (B) Validación de PCR en tiempo real de los genes implicados en la motilidad y la quimiotaxis. (C) Transferencia Western de *R. hominis* cultivadas in vitro en presencia de comida murina estándar irradiada con UV inmuno-teñidas con anticuerpo purificado por afinidad FLA1, antisuero específico FLA2 y anticuerpo de girasa A anti-ADN (carril 1: sin dieta, carril 2: 0,01 g dieta/10 mL de cultivo de *R. hominis*, carril 3: 0,02 g dieta/10 mL, carril 4: 0,05 g dieta/10

mL, carril 5: 0,1 g dieta/10 mL, carril 6: 0,2 g dieta/10 mL, carril 7: 0,5 g dieta/10 mL, carril 8: 1 g dieta/10 mL). La fotografía de microscopía electrónica (EM) de *R. hominis* muestra flagelos (flechas negras). La inmunocitoquímica se realizó en bacterias de contenido luminal de ratones colonizados y *R. hominis* cultivadas *in vitro* usando antisuero específico de FlaA1 y FlaA2. Aumento original X1000. (D) Validación de PCR en tiempo real de los genes implicados en el metabolismo de butirato. (E) Análisis de PCR en tiempo real de transcripciones de *R. hominis* durante exposición *in vitro* a las células epiteliales intestinales humanas. Resultados de PCR en tiempo real se presentan como cambio de veces, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Figura 3. Identificación de los transcritos expresados diferencialmente en el intestino murino después de mono-asociación con *R. hominis*. (A) Análisis de micromatrices Affymetrix de genes expresados diferencialmente en ratones colonizados con *R. hominis* (N=5) con respecto a GF (N=4). Los gráficos de barras representan el número de genes superiores e inferiores expresados después de 14 y 28 días. (B) Mapa de calor generada a partir de genes expresados diferencialmente con importancia funcional entre GF y ratones colonizados con *R. hominis* a 14d y 28d. (C) Validación de PCR en tiempo real de los genes que han demostrado ser significativamente diferentes entre ratones colonizados con *R. hominis* y GF. Resultados de PCR en tiempo real se presentan como cambio de veces, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Figura 4. Inducción de células FoxP3 + Treg por *Roseburia hominis*. El análisis de citometría de flujo de células FoxP3 + Treg en lámina propia ($P = 0,0425$ entre el control y tratamiento de *R. hominis*) y los ganglios linfáticos mesentéricos ($P = 0,0683$) de C3H/HeN convencional tratados durante 14 días con *R. hominis*.

Figura 5. Marcadores de células del colon T son inducidos de manera significativa por mono-colonización de *R. hominis*. (A) El análisis de inmunofluorescencia de células de lámina propia de colon ascendente con anti-CD3 y anti-FoxP3 en ratones C3H/HeN mono-colonizados libres de gérmenes y *R. hominis* (N=8) y C57Bl/6 (N=3). (B) El análisis de inmunofluorescencia de las células de lámina propia marcadas con (i) anti-Ly6G, (ii) anti-CD11b, (iii) anti-CD3, y (iv) anti-CD3 y anti-FoxP3 en el colon ascendente de ratones de C3H/HeN tratados con GF y *R. hominis*. Los datos se expresan como número de células positivas por campo de visión en ratones GF (N=7-8) y ratones tratados con *R. hominis* (N=8-10). * $P < 0,05$. Aumento original x630.

Figura 6. Flagelina RH1 de *R. hominis* tiene efectos específicos sobre las células epiteliales intestinales y células dendríticas derivadas de médula ósea murina. (A) Mapa de calor generada a partir de genes expresados diferencialmente en células Caco-2 epiteliales intestinales (N=1) tratadas con diferentes flagelinas bacterianas *Salmonella enteritidis* (SE), *E. coli* K12 (CE), RH1 y RH2. (B) Expresión de (i) CD40; (ii) I-A/I-E y (iii) CD103 por CD11c + B220 + CD317 + Flt3L- células dendríticas derivadas de C3H/HeN convencional, control (azul) y después de 24 horas de incubación con flagelina recombinante (SE, K12, RH1, RH2; verde) determinada por citometría de flujo. Histograma representa los datos de tres experimentos. (C) Frecuencias de poblaciones de células dendríticas derivadas de Flt3L y GM-CSF tratadas con flagelina recombinante (SE, K12, RH1, RH2) de C3H/HeN convencional cerrada en células CD11c+B220+CD317+ y células CD11c+CD11b+B220, respectivamente. Los datos se presentan como porcentaje de células totales, vivas y singletes, media $\pm$ SEM de tres experimentos. (D) La expresión de proteínas de citoquinas IL-10 e IL-12 se midió mediante CBA en sobrenadantes de control (DCs no estimuladas; N=3) y DCs tratadas con RH1 (N=3) derivadas de C3H/HeN y ratones C57BL/6. Los datos se presentan como media $\pm$ SD. *** $P < 0,001$. (E) Análisis cuantitativo de etiquetado de inmunofluorescencia de las células de lámina propia de colon ascendente con anti-CD3 y anti-FoxP3 en ratones *Tlr5KO* mono-colonizados libres de gérmenes y *R. hominis* (N=2).

Figura 7. *R. hominis* atenúa la inflamación en un modelo experimental de colitis. Veintidós ratones hembra C57BL/6 se utilizaron para evaluar el efecto terapéutico de *R. hominis* durante la colitis inducida por DSS. Los ratones tratados fueron dosificados diariamente con 10^9 CFU *R. hominis* durante 14 días. A partir del día 8, se les aplicó DSS a ratones en su agua de beber durante 6 días. Los animales fueron sacrificados en el día 14 y se realizó muestreo de tejido intestinal. (A) Ratones DSS no tratados (N=8) tuvieron una fuerte elevación de todos los genes en comparación con los ratones de control (N=4), mientras que la expresión diferencial de genes fue menor en animales tratados con *R. hominis* (N=10). Resultados de PCR en tiempo real se presentan como cambio de veces, *** $P < 0,001$. (B) Puntuación de tejido de histopatología se presentó como porcentaje medio de campos de visión en un grado determinado. El tratamiento de DSS significativamente alteró todos los campos de visión en los grados 0, 2, 3, y 4. *R. hominis* redujo significativamente el % de campos de vista para la patología de grado 4 ($p = 0,02$) y el aumento de % de los campos de vista para el grado 0. Los datos se presentan como media $\pm$ SD. (C) Colon ascendente (teñido con hematoxilina/eosina) de control, animales IL-10KO tratados con DSS y tratados con DSS/*R. hominis*. Las imágenes mostradas son campos de vista representativos de cada grupo de tratamiento. Aumento original x100.

Figuras complementarias

[0046]

Figura S1. *R. hominis* coloniza preferentemente el colon ascendente de ratones mono-colonizados. (A) *R. hominis* colonizó el colon ascendente del intestino de ratón con estrecha asociación de las bacterias al epitelio

huésped, detectada por FISH utilizando A2-183 (sonda específica de *R. hominis*; FITC), Eub338 (sonda 16S universal; Cy3) y DAPI (núcleos; azul). También se muestran las superposiciones de A2-183 + Eub338 y Eub338 + DAPI. La gamma para el canal rojo se aumentó en la superposición Eub338 + DAPI para ilustrar las bacterias marcadas. El aumento original x630. (B) PCR usando cebadores específicos a *R. hominis* mostró una fuerte señal positiva en post-colonización de ADN fecal, mientras que las heces de los animales GF fueron negativas para la presencia de cualquier bacteria. (C) Análisis de PCR en tiempo real que muestra los niveles de colonización de *R. hominis*/g heces. El ADN bacteriano aislado de heces se comparó contra concentraciones estándar conocidas de *R. hominis* crecidas en cultivo. Los niveles de bacterias similares se detectaron en todos los ratones mono-colonizados, aproximando 1×10^{10} bacterias/g de heces. Las heces de los animales GF fueron negativas para la presencia de cualquier bacteria.

Figura S2. Análisis de ontología genética realizado en genes regulados a los 28 días en el colon ascendente. Interpretación funcional basada en la ontología genética (GO) de los datos se realizó utilizando DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>). Transcripciones significativamente diferentes ($P < 0,05$) se asignaron en la categoría GO 'Proceso biológico' para encontrar los términos de GO enriquecidos significativamente. Los procesos biológicos GO para 'actina polimerización' (GO: 0030041) y 'regulación negativa de la cinasa de I-kappaB/cascada de NF-kappaB' (GO: 0043124) fueron afectados.

Figura S3. La identificación de los transcritos expresados diferencialmente en el intestino murino después de mono-asociación con *E. coli*. (A) Análisis de micromatrices Affymetrix de genes expresados diferencialmente en ratones colonizados con *E. coli* y *R. hominis* con el tiempo. Los gráficos de barras representan el número de genes superiores e inferiores expresados después de 22 y 28 días, respectivamente. (B) Mapa de calor generada a partir de los genes expresados diferencialmente con significado funcional en ratones colonizados con *E. coli* a 22d vs. 10d.

Figura S4. La identificación de los transcritos expresados diferencialmente en el intestino de ratón *Tlr5KO* después de mono-asociación con *R. hominis*. (A) Mapa de calor generada a partir de genes expresados diferencialmente en el colon ascendente de ratones de *Tlr5KO* (N=3) y de tipo salvaje (N=3) colonizados con *R. hominis* a 28d. (B) Mapa de calor generada a partir de genes inmunosociados expresados diferencialmente en el colon ascendente de ratones de *Tlr5KO* y de tipo salvaje colonizados con *R. hominis* a 28d. (C) Mapa de calor generada a partir de genes expresados diferencialmente en íleon de ratones de *Tlr5KO* y de tipo salvaje colonizados con *R. hominis* a 28d. (D) Mapa de calor generada a partir de genes asociados al sistema inmune expresados diferencialmente en íleon de ratones de *Tlr5KO* y de tipo salvaje colonizados con *R. hominis* a 28d.

Figura S5. Análisis de Ontología de genes realizado en genes regulados hacia abajo a los 28 días en el colon ascendente. Procesos biológicos de GO implicados en la regulación del apetito, tales como "la regulación negativa de la respuesta a la alimentación" (GO: 0032096), "regulación negativa del apetito" (GO: 0032099) y "regulación de la secreción de catecolaminas" (GO: 0050433) fueron mayormente afectados.

Figura S6. La colonización de *R. hominis* influencia genes de saciedad y el peso corporal. Se llevó a cabo el análisis de peso corporal seco y de carcasa de lípidos. (A) Pesos de carcasa seca de ratones asociados con *R. hominis* eran significativamente más pesados en comparación con los animales de GF. (B) El Análisis de lípidos de carcasa mostró que la adiposidad total también fue significativamente mayor en animales tratados con *R. hominis* a 14d. Los datos se presentan como media $\pm$ SD.

Figura 1A Representación del vector de clonación pCR-Blunt II-TOPO utilizados para la clonación de flagelinas recombinantes **insolubles después de la lisis celular**. Permite alta eficiencia de clonación de ADN de los productos de PCR de extremos romos. Codifica genes de resistencia de kanamicina y zeocina para la selección en *E. coli*, y el inserto está flanqueado por sitios múltiples de restricción para la escisión.

Figura 2A Representación del vector de expresión T7-MAT-Tag-FLAG- utilizado para la clonación de flagelinas recombinantes insolubles después de la lisis celular. El sitio múltiple de clonación (MCS) está flanqueado por secuencia de MAT (Metal Affinity Tag) y secuencia de péptido de FLAG (Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Lys), lo que resulta en la producción de flagelina de doble etiquetado, que puede purificarse adicionalmente mediante columnas de afinidad. Este vector de expresión también codifica un promotor de pT7/lac (operón de fago T7 lac) para IPTG inducible, la expresión de alto nivel de flagelinas recombinantes MAT-ORF-FLAG, un gen de lacI interno que reprime la transcripción en el estado basal en cualquier huésped de *E. coli*, y un gen AmpR para la selección de ampicilina.

Figura 3A Visualización en un SDS-PAGE de la flagelina recombinante clonada con el vector de clonación pCR-Blunt II-TOPO y se expresa a través del vector de expresión pT7-MAT-Tag-FLAG-2. Descripción de carriles: **1**, estándar de proteínas (kDa); **2**, RH1.

Figura B1A y B1 B muestran un Análisis de SDS de flagelinas recombinantes.

(A) K12 (*Escherichia coli* K12); ER (*Eubacterium rectale* 33656); R11 (*Roseburia intestinalis* Fla 1); R12 (*Roseburia intestinalis* Fla 2);
 (B) RH1 (*Roseburia hominis* Fla 1); RH2 (*Roseburia hominis* Fla 2); R13 (*Roseburia intestinalis* Fla 3); R14 (*Roseburia intestinalis* Fla 4).

Figura C1-C4. Alineación de secuencias múltiples confirmando la secuencia de nucleótidos de flagelina y el número de acceso.

Figura D.2 Análisis comparativo de la inducción de genes CCL20 por diferentes flagelinas. Células HT-29 y Caco-2 se estimularon durante 2 horas con una sola flagelina recombinante a una concentración de 100 ng/mL. El ARN total se extrajo y se sometió a análisis de PCR cuantitativa en tiempo real para los genes CCL20 y β -actina. Los experimentos se realizaron por triplicado en tres ocasiones distintas. La Tabla D2 indica diferencias significativas entre cada tratamiento calculado con la prueba t pareada en HT-29.

Figura D.3 La secreción de quimiocinas mediada por flagelina en células de HT-29 y Caco-2. Las Tablas D3a, D3b, D3c y D3d indican diferencias significativas entre cada tratamiento calculado con prueba t pareada.

Figura D4, neutralización de *Tlr5* con un anticuerpo específico anti-TLR5.

Figura D5A: Frecuencias de células dendríticas derivadas de GM-CSF/IL-4 estimuladas con flagelinas recombinantes, los datos se muestran como el cambio de veces en comparación con células dendríticas derivadas de GM-CSF/IL-4 no estimuladas.

Figura D5B: Las frecuencias de las células dendríticas derivadas de Flt3L estimuladas con flagelinas recombinantes, datos que se muestran como el cambio veces en comparación con células dendríticas derivadas de Flt3L no estimuladas.

Figura D 6 A y B Análisis de citometría de flujo de FoxP3+ Tregs en lámina propia de ratones BOY/J WT y *Tlr5*KO tratados con *R. hominis*.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Flagelina

[0047] La flagelina es el sustituyente principal del flagelo bacteriano, y está presente en grandes cantidades en bacterias casi completamente flageladas. Típicamente, flagelinas son proteínas globulares que se ocupen en un cilindro hueco para formar el filamento en flagelo bacteriano.

[0048] La diversidad de proteínas estructurales de flagelina y secuencias de genes es bien reconocida y varían según las especies bacterianas, geográficas y clínicas y orígenes ambientales. Hay miles de flagelinas y genes de flagelina relacionados. Algunos de los más importantes de bacterias intestinales incluyen las flagelinas FLA, FLiC, FlgC, FLiE, FlaB, MoA y FliG.

[0049] Hay varios tipos de polipéptidos FLA (Fla). FlaA1, FlaA2, FlaA3, FlaA4 y FlaB son ejemplos de polipéptidos de FLA.

Polipéptido FlaA1

[0050] El término "polipéptido FlaA1" como se usa en el presente documento se refiere a la proteína de flagelina FlaA1. Ejemplos de tales polipéptidos incluyen el polipéptido FlaA1 de *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, y *Roseburia inulinivorans*; la secuencia de polipéptido mostrada como SEQ ID NO 2 o SEQ ID NO 6; y polipéptidos que tienen al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad con SEQ ID NO 2 o SEQ ID No 6 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos.

[0051] SEQ ID NO 2 tiene la siguiente secuencia:

```
MVVQHNLTA MNANRQLGITTGAQAKSSEKLSSGYKINRAADDAAGLTISEKMRSQV
RGLNKASDNAQDGVSLIQVAEGALSETHSILQRMNELATQAANDTNTTSDRTAVQQ
EINQLASEITRIASTTQFNTMNLIDGNFTSKKLQVGS LCGQAITIDISDMSATGLGVSG
LVVSSFSAAGKAMSAAQDAISYVSSMRSKLGALQNRLEHTISHLDNISEHTSSAESRI
RDTDMAEEMVEYSKNNILAQAGQSMLAQANQSTQGVLSLLQ
```

[0052] SEQ ID NO 2 se deposita con NCBI bajo el número de acceso ABI8297.1.

[0053] Los términos "polipéptido FlaA1" y "polipéptido FlaA1" se usan indistintamente en el presente documento.

5 [0054] Los términos "FlaA1", "FLA1" y "RH1" pueden usarse indistintamente en este documento.

10 [0055] En una realización, el polipéptido FlaA1 tiene al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad a la SEQ ID NO 2 o a variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos. En un aspecto, los aminoácidos en las posiciones 79 a 117 y las posiciones 408 a 439, así como 411, 412, 420 de la SEQ ID NO 2 (o equivalente de la misma) se consideran importantes. En un aspecto, los aminoácidos en las posiciones 411, 412, 420 de la SEQ ID NO 2 (o equivalente de las mismas) son alanina (A), glutamina (Q) y serina (S), respectivamente.

[0056] En una realización, el polipéptido de FlaA1 es el polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2 o SEQ ID No 6.

15 [0057] Los polipéptidos FlaA1 se pueden derivar de ciertos microorganismos. En un aspecto, el polipéptido de FlaA1 se deriva de una bacteria tal como un Firmicute. En un aspecto adicional, el polipéptido FlaA1 se deriva de un *Roseburia* spp tales como un *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, o *Roseburia inulinivorans*.

20 [0058] *Roseburia hominis* y *Roseburia intestinalis* anaerobios intestinales comensales descritos recientemente del clúster filogenético XIVA dentro de la Firmicutes phylum, que pertenece a un grupo dominante de bacterias en el intestino humano y también son los principales productores de butirato. Un ejemplo de *Roseburia hominis* es la cepa depositada bajo los términos del Tratado de Budapest en National Collections of Industrial, Food and Marine Bacteria (NCIMB) en NCIMB Ltd., Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Reino Unido, AB21
25 9YA, el 21 de octubre de 2004 por el Instituto de Investigación de Rowett bajo el número de acceso NCIMB 14029^T *Roseburia hominis* A2-183^T (DSM = 16839^T). Otro ejemplo es la especie bacteriana *Roseburia hominis* como se describe en Duncan, S. H., Aminov, R. I., Scott, K. P., Louis, P., Stanton, T. B., y Flint, H. J. (2006) Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56: 2437-2441. Un ejemplo de *Roseburia intestinalis* es la cepa depositada bajo el número de acceso NCIMB 13810 *Rosburia intestinalis* L1-82^T (DSM = 14610^T) Otro ejemplo es la especie bacteriana es *Roseburia hominis* como se describe en Duncan, S. H., Aminov, R. I., Scott, K. P., Louis, P., Stanton, T. B., y Flint, H. J. (2006)
30 Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56: 2437-2441.

[0059] El término "secuencia de polinucleótido que codifica el polipéptido FlaA1" tal como se utiliza aquí, se refiere a una secuencia de polinucleótidos que codifica la proteína de flagelina FlaA1. Ejemplos de tales secuencias de
35 polinucleótidos incluyen el gen *FlaA1* de *R. hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, o *Roseburia inulinivorans*; la secuencia de polinucleótido mostrado como SEQ ID NO 1 o SEQ ID NO 5; secuencias de polinucleótidos que codifican el polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2 o SEQ ID NO 6; secuencias de polinucleótidos que tienen al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad a SEQ ID NO 1 o SEQ ID NO 5 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos; y secuencias de polinucleótidos que
40 codifican el polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2 o SEQ ID No 6 o que codifican un polipéptido que tiene al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad con el polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2 o SEQ ID No 6 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos.

45 [0060] SEQ ID NO 1 tiene la siguiente secuencia:

```
ATGGTAGTACAGCACAAATCTTACAGCAATGAACGCTAACAGACAGTTAGGTATCA
CAACAGGGCGCACAGGCTAAGTCTTCTGAGAAGTTATCTTCTGGTTACAAGATCAA
CCGCGCAGCAGATGACGCAGCAGGTCTTACGATTTCCGAGAAGATGAGAAGCC
AGGTTAGAGGCTTAAATAAAGCTTCTGACAACGCACAGGATGGTGTATCCCTTAT
```

TCAGGTAGCTGAGGGTGCATTAAGTGAGACACACTCCATCTTACAGCGTATGAA
 TGAGTTAGCAACTCAGGCAGCAAACGATACCAATACAACCTCAGACAGAACTGC
 AGTTCAGCAGGAGATCAACCAGTTAGCATCTGAGATCACCAGAATCGCTTCTAC
 AACTCAGTTCAACACAATGAACCTGATCGATGGTAACTTCACAAGTAAGAAGCTT
 CAGGTAGGTTCCCTTTGCGGACAGGCTATCACAATCGATATCTCTGATATGTCTG
 CTACAGGTCTTGGCGTTAGCGGATTAGTAGTATCTTCCTTCTCTGCAGCTGGTAA
 GGCAATGTCTGCAGCTCAGGATGCTATCAGCTACGTATCTTCTATGCGTTCTAAG
 CTGGGTGCATTACAGAACAGACTTGAGCACACAATCTCCCACCTGGACAACATT
 TCTGAGCACACATCTTCTGCAGAGTCTCGTATCCGTGATACAGATATGGCTGAA
 GAGATGGTTGAGTACAGCAAGAACAACATCCTTGCTCAGGCAGGACAGTCTATG
 CTTGCTCAGGCTAACCAGTCTACTCAGGGTGTATTATCCTTATTACAGTAA

[0061] SEQ ID NO 1 se deposita con NCBI bajo el número de acceso DQ789140.1.

[0062] En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica el polipéptido FlaA1 tiene al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad con la secuencia de polinucleótido mostrado como SEQ ID NO 1 o SEQ ID NO 5 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos.

[0063] En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica el polipéptido FlaA1 codifica un polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2 o SEQ ID No 6 o un polipéptido que tiene al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97 %, 98%, o 99% de identidad con el polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2 o SEQ ID No 6 o a variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos.

[0064] En una realización, el polipéptido FlaA1 es un polipéptido de FlaA1 truncado. Por ejemplo, el polipéptido truncado comprende al menos 20, 30, 40, 50, 75, 100, 125, 150, 175 o 200 aminoácidos de polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2 o SEQ ID No 6.

[0065] Sin desear estar ligado por la teoría, dos regiones esenciales de la proteína de flagelina que participan en el reconocimiento y la activación de *Tlr5* son los aminoácidos 79-117 de la SEQ ID NO 2 (dominio N-D1) y aminoácidos 408-439 de la SEQ ID NO 2 (dominio C- D1). Sin desear estar ligado por la teoría, aminoácido: A411, Q412, S420 son aminoácidos importantes.

[0066] Los ejemplos de polipéptidos de FlaA1 truncados incluyen: polipéptidos que comprenden los aminoácidos 79-117 y aminoácidos 408-439 de la SEQ ID NO 2; polipéptidos que tienen al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad a los aminoácidos 79-117 y aminoácidos 408-439 de la SEQ ID NO 2; polipéptidos que tienen al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad a los aminoácidos 79-117 y aminoácidos 408-439 de la SEQ ID NO 2 en donde el aminoácido en la posición 411 (o su equivalente) es la alanina (A) y/o el aminoácido en la posición 214 es la glutamina (Q) y/o el aminoácido en la posición 420 es serina (S); polipéptidos que comprenden los aminoácidos 79-439 de la SEQ ID NO 2; polipéptidos que comprenden los aminoácidos 79-439 de la SEQ ID NO 2 en los que el aminoácido en la posición 411 (o su equivalente) es alanina (A); polipéptidos que tienen al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad a los aminoácidos 79-439 de la SEQ ID NO 2; y polipéptidos que tienen al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad a los aminoácidos 79-439 de la SEQ ID NO 2 en los que el aminoácido en la posición 411 (o equivalente a la misma) es alanina (A) y/o el aminoácido en la posición 214 es la glutamina (Q) y/o el aminoácido en la posición 420 es serina (S).

[0067] En un aspecto, los aminoácidos en las posiciones 411, 412, 420 de la SEQ ID NO 2 (o equivalente de la misma) en un polipéptido de FlaA1 truncado son alanina (A), glutamina (Q) y serina (S), respectivamente.

[0068] En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica el polipéptido de FlaA1 codifica un polipéptido de FlaA1 truncado.

[0069] En una realización, el polipéptido de FlaA1 es un polipéptido de fusión. Por ejemplo, el polipéptido se fusiona con glutatión S-transferasa (GST).

Género *Roseburia*

[0070] Las bacterias *Roseburia* son células en forma de varillas ligeramente curvadas que son estrictamente anaeróbicas e indígenas al intestino mamífero. Las bacterias son productoras de butirato y son activamente móviles a través de múltiples flagelos presentes a lo largo del lado cóncavo y en un clúster en un extremo (Stanton y Savage 1983). En la actualidad, dentro del género *Roseburia*, cinco especies se han identificado y caracterizado: *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia hominis*, *Roseburia intestinalis*, y *Roseburia inulinivorans* (Stanton y Savage 1983, Duncan *et al* 2006).

[0071] Stanton y Savage (1983 - *Roseburia cecicola* gen. nov., sp. nov., a motile, obligately anaerobic bacterium from a mouse cecum. Int. J. Syst. Bacteriol., 1983, 33, 618-627) describen *Roseburia cecicola*.

[0072] Duncan *et al.* (2006 - Proposal of *Roseburia faecis* sp. nov., *Roseburia hominis* sp. nov. and *Roseburia inulinivorans* sp. nov., based on isolates from human faeces. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 2006, 56, 2437-2441) describen *Roseburia faecis*.

[0073] Duncan *et al.* (2006 - Proposal of *Roseburia faecis* sp. nov., *Roseburia hominis* sp. nov. and *Roseburia inulinivorans* sp. nov., based on isolates from human faeces. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 2006, 56, 2437-2441) describen *Roseburia hominis*.

[0074] Duncan *et al.* (2002 - *Roseburia intestinalis* sp. nov., a novel saccharolytic, butyrate-producing bacterium from human faeces. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 2002, 52, 1615-1620) describen *Roseburia intestinalis*.

[0075] Duncan *et al.* (2006 - Proposal of *Roseburia faecis* sp. nov., *Roseburia hominis* sp. nov. and *Roseburia inulinivorans* sp. nov., based on isolates from human faeces. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 2006, 56, 2437-2441) describen *Roseburia inulinivorans*.

Flagelina *Roseburia*

[0076] El término "flagelina *Roseburia*" tal como se utiliza aquí se refiere a una proteína de flagelina derivada o derivable de una bacteria *Roseburia* tal como *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, y *Roseburia inulinivorans*.

[0077] La flagelina *Roseburia* puede ser flaA1, flaA2, flaA3, flaA4 o combinaciones de los mismos.

[0078] Los términos "FlaA1", "FlaB1", "flaA1" y "fla1" se usan indistintamente en este documento.

[0079] Los términos "FlaA2", "Fla2", "flaA2" y "fla2" se usan indistintamente en este documento.

[0080] El término Fla se usa aquí para abarcar los polipéptidos que pueden ser flaA1, flaA2, flaA3 flaA4 o fliC.

[0081] En una realización, la presente invención abarca el uso de al menos una flagelina *Roseburia*. Por ejemplo, la presente invención abarca el uso de una combinación de al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco flagelinas *Roseburia*.

[0082] En algunas realizaciones, la combinación de flagelina *Roseburia* comprende flagelinas que se derivan o son derivables de al menos dos, tres, cuatro o cinco especies de *Roseburia* diferentes.

[0083] Ejemplos de flagelinas *Roseburia* incluyen flagelinas que se derivan o son derivables de bacteria *Roseburia* tal como *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, y *Roseburia inulinivorans*. En una realización, la flagelina se deriva o es derivable de *Roseburia hominis*. En otra realización, la flagelina se deriva o es derivable de *Roseburia intestinalis*.

[0084] Ejemplos de flagelina *Roseburia* incluyen secuencias de polipéptidos que tienen al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, o 99% de identidad de SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 10 o SEQ ID NO 12 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos.

[0085] En una realización, la flagelina *Roseburia* tiene la secuencia de polipéptido mostrado como SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 10 o SEQ ID NO 12.

[0086] Ejemplos de flagelinas *Roseburia hominis* son Fla1 y Fla2 *Roseburia hominis*.

[0087] Un ejemplo de Fla1 de *Roseburia hominis* se muestra como SEQ ID NO 2. Fla1 de *Roseburia hominis* también se denomina en el presente documento RhFlaA1, RHFlaA1, RhFla1, RHFla1, RH1 o Rh1.

[0088] SEQ ID NO 2 tiene la siguiente secuencia:

MVVQHNLTA MNANRQLGIT TGAQAKSSEKLSSGYKINRAADDAAGLTISEKMRSQVRGLNK
 ASDNAQDGVSLIQVAEGALSETHSILQRMNELATQAANDTNTTSDRTAVQQEINQLASEITRI
 ASTTQFNTMNLIDGNFTSKKLQVGS LCGQAITIDISDMSATGLGVSGLVVSSFS AAGKAMSA
 AQDAISYVSSMR SKL GALQNRLEHTISHLDNISEHTSSAESRIRD TDMAEEMVEYSKNNILAQ
 AGQSMLAQANQSTQGVL SLLQ

[0089] SEQ ID NO 2 se deposita con NCBI bajo el número de acceso ABI48297.1.

[0090] Un ejemplo de Fla2 de *Roseburia hominis* se muestra como SEQ ID NO 4. Fla2 de *Roseburia hominis* también se denomina en el presente documento RhFla22, RHFlaA2, RhFla2, RHFla2, Rh2 o RH2.

[0091] SEQ ID NO 4 tiene la siguiente secuencia:

MVVNHNMAAICESRQLRYNVKKMEKSSSKLATGYKLNTANDDAAGLQISETMRHHVKGLNK
 ASRNSQDGISMLQTADAALQETQDVLDRMVELTTQAANDINTDSDRRAIQDELDQLNKEVD
 RIAYTTTFNQQYMLAEGTPQAAPGYRIQSGALNGQAIDHFNASKESLGTDKVNVS SHAK
 ASESITMVQDAIEQAALWRDEFGSQQERLEHAVRNTDNTSQNTQSAESGIRDTNMNMEMV
 LYSTNRILVHASQSILAQYND DAKSVLEILK

[0092] Ejemplos de flagelina *Roseburia intestinalis* incluyen *Roseburia intestinalis* Fla1, Fla2, Fla3 y Fla4.

[0093] Un ejemplo de Fla1 *Roseburia intestinalis* se muestra como SEQ ID No 6. *Roseburia intestinalis* también se denomina en el presente documento RiFlaA1, RIFlaA1, RiFla1, RIFla1, Ri1 o RI1.

[0094] SEQ ID NO 6 tiene la siguiente secuencia:

MRINYNVSAAIANKHLLGIEDNLSASMERLSSGLKINHSKDNPA GMAISNKMKAQIDGLNRAS
 QNASDGISVIQIADGALSETTSILQRMRELSVQAASDATMT PADKEAIQKEITSLKDEVDRIST
 DTEYNSKTLDDGSLDTRVYTKNATRVDISDHVKAGQYQLSIDTAATQAGPVTANQNYNSTAP
 VGASGTMSINGSKVEIEAADTYAEAFEKIRNAAETGETTVKIEKNGALSFTAEQYGMSSILEIA
 FDDKQLANALGFTADGGNSVVEDPENKGSYVYGQIQNGKVIVPSGTD AEVTLTKPSDGTGF
 GDTATVKTDGNKITVTDRAGFEMSFLADAGYTGKLD FVDVDIGTMALHIGANEDQETRVRIP
 EVSCKSLYIDDADVTTVNGAGRGITQFDDAISKVSEVRSRLGAYQNRLESTVSSLDTFEENM
 TGAQSRLTDADMASEMTDYTHQNVLNQAAISVLTQANDLPQ

[0095] Un ejemplo de Fla2 de *Roseburia infestinalis* se muestra como SEQ ID NO 8. Fla2 de *Roseburia intestinalis* también se denomina en el presente documento RiFlaA2 o RIFlaA2 o Ri2 o RI2.

[0096] SEQ ID NO 8 tiene la siguiente secuencia:

MVVNHNMALICESRQLRCNVKNMEKSSSKLATGYKLLGANDDAAGLQISETMRHQTRGLN
 KASRNSQDGISMLQTADAALQETQEVLD RMTDLTTQAANDINTDADRRRAIQDEIDQLNQEVD
 RIAYTTNFNQQYILADGTPQARPGYYMIQTGSLAGQGIEIKFVNASKESLGVDKVDVSSHAK
 ATESIAVVQNAIEKAASFRDTFGAQQERLEHALRGTDNTSESTQRAESSRRDTNMNMEMV
 QYSTNRILVQASQSILAQYND DAKYVLEMLKQVLQILQ

[0097] Un ejemplo de Fla3 *Roseburia intestinalis* se muestra como SEQ ID No 10. Fla3 *Roseburia intestinalis* también se denomina en el presente documento RiFla3 o RIFla3 o Ri3 o RI3.

[0098] SEQ ID NO 10 tiene la siguiente secuencia:

MVVQHNMTAMNANRMLGVTTSAQAKSSEKLSSGYRINRAGDDAAGLTISEKMRSQIRGLN
 KASDNAQDGLISLIQVAEGALSETHSILQRMNELATQAANDTNTTADRGAIQDEINQLTSEINRI
 SSTTQFNTQNLIDGTFANKNLQVGSICGQRITVSIDSMSAGSLNVSANLVKNTFSAAGEAM
 SNIQGAISAISTQRSYLGALQNRLEHTISNLDNISENTQSAESRIRDTDMAEEMVTYSKNNILA
 QAGQSMLAQANQSTQGVLSLLQ

[0099] Un ejemplo de Fla4 de *Roseburia intestinalis* se muestra como SEQ ID No 12. Fla4 de *Roseburia intestinalis* también se denomina en el presente documento RiFla4 o RIFla4 o Ri4 o RI4.

[0100] SEQ ID NO 12 tiene la siguiente secuencia:

MAMVVQHNMMSAMNANRNLGVTTGMQAKSSEKLSSGYKINRAADDAAGLSISEKMRSQIR
 GLNKASDNAQDGLISLIQTAEGALNESHHSILQRMRELSVQAANGTETDDDREAVQNEVSQL
 QEELTRISETTEFNTMKLLDGSQSGSTSSTGSGPKFGVVDATLDGALVTSNVKGKIVATAA
 ATTTKAGQETAIWAADGKTLTLNLSKNKVYTQDEIDDLIANAKQEDSSATGAPAEVKVSLK
 NGIFNADADTTAGTVTAGGVKAVSDEGTVTGFVGADTISFTANKYGAEFNDTVFKFKFDKA
 AGKEEVETNTAIEIDGANAVTAGEYTIHLAAGKEYTAEDLEDVLKTAGFDFDKLSGNTPDE
 PNTLFATSGASTVTDITMGAGTAGAGLGSTDAMWQGAGYDSVSSGAGITLQIGANEGQT
 MSFSIDMSARALGVDGNKVDLSTQAGAQAQKATDTIDAAIKKVSQAQRGRMGAIQNRLEHTIS
 NLDTAAENTQTAESRIRDTDMAEEMVEYSKNNILAQAGQSMLAQANQSTQGVLSLLQ

[0101] Los términos "polipéptido FlaA1", "FlaA1 polipéptido", "polipéptido Fla1" y "Fla1polipéptido" se usan indistintamente en el presente documento. Los términos "polipéptido Fla2" y "Fla2 polipéptido" se usan indistintamente en el presente documento. Los términos "polipéptido Fla3" y "Fla3polipéptido" se usan indistintamente en el presente documento. Los términos "polipéptido Fla4" y "Fla4 polipéptido" se usan indistintamente en el presente documento.

[0102] En un aspecto, la flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste en Fla1, Fla2, Fla3 y Fla4. En una realización, la flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste en Fla2, Fla1, Fla4 y combinaciones de los mismos. En una realización adicional, la flagelina *Roseburia* es Fla2.

[0103] En un aspecto, la flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste en *Roseburia hominis* Fla1, *Roseburia hominis* Fla2, *Roseburia intestinalis* Fla1, *Roseburia intestinalis* Fla2, *Roseburia intestinalis* Fla3 y *Roseburia intestinalis* Fla4. En una realización, la flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste en *Roseburia hominis* Fla2, *Roseburia intestinalis* Fla2, *Roseburia intestinalis* Fla1, *Roseburia intestinalis* Fla4 y combinaciones de los mismos. En una realización adicional, la flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste en *Roseburia hominis* Fla2, *Roseburia intestinalis* Fla2 y combinaciones de los mismos. En otra realización, la flagelina *Roseburia* es *Roseburia intestinalis* Fla2.

[0104] En una realización, la presente invención abarca el uso de al menos una secuencia de polinucleótido que codifica una flagelina *Roseburia*. Por ejemplo, la presente invención abarca el uso de una combinación de al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco secuencias de polinucleótidos que codifican flagelina *Roseburia*.

[0105] En una realización, la presente invención abarca el uso de una secuencia de polinucleótido que codifica al menos una flagelina *Roseburia*. Por ejemplo, la presente invención abarca el uso de una secuencia de polinucleótido que codifica una combinación de al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco secuencias de polipéptidos que codifican flagelina *Roseburia*.

[0106] La secuencia de polinucleótido que codifica una flagelina *Roseburia* puede codificar flaA1, flaA2, fla3, fla4 o combinaciones de los mismos.

[0107] En algunas realizaciones, la combinación de secuencias de polinucleótidos que codifican flagelina *Roseburia* comprende secuencias de polinucleótidos que codifican flagelinas que se derivan o son derivables de al menos dos,

tres, cuatro o cinco diferentes especies *Roseburia*.

[0108] En algunas realizaciones, la secuencia de polinucleótido codifica una combinación de flagelina *Roseburia* que se derivan o son derivables de al menos dos, tres, cuatro o cinco diferentes especies *Roseburia*.

[0109] En otra realización, la presente invención abarca el uso de una combinación de al menos una flagelina *Roseburia* y al menos una secuencia de polinucleótido que codifica una flagelina *Roseburia*.

[0110] Los ejemplos de secuencia de polinucleótidos que codifican flagelina *Roseburia* incluyen flagelinas que se derivan o son derivables de bacteria *Roseburia* tal como *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, y *Roseburia inulinivorans*. En una realización, la secuencia de polinucleótido codifica una flagelina *Roseburia* que se deriva o es derivable de *Roseburia hominis*. En otra realización, la secuencia de polinucleótido codifica una flagelina *Roseburia* que se deriva o es derivable de *Roseburia intestinalis*.

[0111] Los ejemplos de secuencias de polinucleótidos que codifican flagelina *Roseburia* incluyen las secuencias de polinucleótidos que codifican un polipéptido que tiene al menos 75% de identidad a la SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 10 o SEQ ID NO 12 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos y las secuencias de polinucleótidos que tienen al menos 75% de identidad con SEQ ID NO 1, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 9 o SEQ ID NO 11 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos.

[0112] En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica flagelina *Roseburia* tiene la secuencia de polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene la secuencia mostrada como SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 10 o SEQ ID NO 12.

[0113] En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* tiene la secuencia de polinucleótido mostrada como SEQ ID NO 1, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 9 o SEQ ID NO 11.

[0114] Los ejemplos de secuencias de polinucleótidos que codifican flagelinas *Roseburia hominis* son secuencias de polinucleótidos que codifican *Roseburia hominis* Fla1 y Fla2.

[0115] Un ejemplo de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia hominis* Fla1 se muestra como SEQ ID NO 1.

[0116] SEQ ID NO 1 tiene la siguiente secuencia:

```

ATGGTAGTACAGCACAATCTTACAGCAATGAACGCTAACAGACAGTTAGGTATCACAAC
AGGCGCACAGGCTAAGTCTTCTGAGAAGTTATCTTCTGGTTACAAGATCAACCGCGCAG
CAGATGACGCAGCAGGTCTTACGATTTCCGAGAAGATGAGAAGCCAGGTTAGAGGCTT
AAATAAAGCTTCTGACAACGCACAGGATGGTGTATCCCTTATTCAGGTAGCTGAGGGTG
CATTAAGTGAGACACACTCCATCTTACAGCGTATGAATGAGTTAGCAACTCAGGCAGCA
AACGATACCAATACAACCTCAGACAGAACTGCAGTTCAGCAGGAGATCAACCAGTTAGC
ATCTGAGATCACCAGAATCGCTTCTACAACCTCAGTTCAACACAATGAACCTGATCGATGG
TAACCTTACAAGTAAGAAGCTTCAGGTAGGTTCCCTTTGCGGACAGGCTATCACAATCG
ATATCTCTGATATGTCTGCTACAGGTCTTGGCGTTAGCGGATTAGTAGTATCTTCCTTCT
CTGCAGCTGGTAAGGCAATGTCTGCAGCTCAGGATGCTATCAGCTACGTATCTTCTATG
CGTTCTAAGCTGGGTGCATTACAGAACAGACTTGAGCACACAATCTCCCACCTGGACAA
CATTTCTGAGCACACATCTTCTGCAGAGTCTCGTATCCGTGATACAGATATGGCTGAAG
AGATGGTTGAGTACAGCAAGAACAACATCCTTGCTCAGGCAGGACAGTCTATGCTTGCT
CAGGCTAACCACTCTACTCAGGGTGTATTATCCTTATTACAGTAA

```

[0117] Un ejemplo de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia hominis* Fla2 se muestra como SEQ ID NO 3.

[0118] SEQ ID NO 3 tiene la siguiente secuencia:

ATGGTGGTTAATCATAATATGGCGGCAATCTGTGAGAGCAGGCAGCTGCGCTATAACGT
 GAAGAAGATGGAAAAATCTTCCAAAAAGCTTGCGACAGGGTACAAGCTGAACACAGCAA
 ATGATGATGCGGCAGGCTTGACAGATATCAGAGACGATGCGGCATCATGTGAAAGGGCT
 GAACAAAGCCTCCCGGAATTCACAGGACGGCATCAGTATGCTGACAGACGGCGGATGCA
 GCGCTCCAAGAGACGCAGGATGTTCTCGATCGTATGGTGGAGCTGACGACGCAGGCAG
 CCAATGACATCAACACAGACTCGGATCGCAGGGCTATTCAGGATGAGTTGGATCAGCTG

AACAAGGAAGTGGACCGCATCGCCTATACGACGCACTTCAATCAGCAGTATATGTTGGC
 GGAGGGAAACGCCGAGGCGGCACCGGGATATTACCGCATACAGTCCGGGGCACTGAA
 CGGACAGGCGATAGATATCCATTTTGTAAATGCGAGCAAGGAGAGCCTTGGCACAGAC
 AAAGTGAATGTATCTTCGCATGCGAAGGCGTCGGAATCCATCACGATGGTTCAGGACGC
 GATTGAACAGGCGGCGCTCTGGAGAGACGAGTTCGGCAGCCAGCAGGAGCGTCTGGA
 ACATGCCGTGCGCAATACGGACAACACATCACAAAATACGCAGAGTGCGGAGTCAGGG
 ATCAGAGACACCAACATGAATATGGAGATGGTATTATATTGACCAACCGGATTCTGGT
 GCATGCATCCCAGAGTATTCTGGCACAGTATAATGATGATGCAAAATCAGTGCTTGAGA
 TTTTGAAATAG

[0119] Ejemplos de secuencias de polinucleótidos que codifican flagelinas *Roseburia intestinalis* son secuencias de polinucleótidos que codifican *Roseburia intestinalis* Fla1, Fla2, Fla3 y Fla4.

5 **[0120]** Un ejemplo de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla1 se muestra como SEQ ID NO 5.

[0121] SEQ ID NO 5 tiene la siguiente secuencia:

10

ATGCGTGGCGGAGACAATAGAAGGAGAAACAGAATGAGAATTAATTACAATGTGTCAGC
 AGCGATTGCGAATAAACATTTACTTTGGAATTGAGGATAATTTAAGTGCATCGATGGAACG
 GCTTTCATCGGGACTTAAGATCAACCATTCGAAGGACAATCCGGCAGGAATGGCTATTT
 CCAACAAGATGAAAGCACAGATTGATGGTTTAAACCGGGCTTCCCAGAATGCATCGGAT
 GGTATTTCTGTTATTCAGATCGCAGATGGTGCGCTGAGTGAAACGACCAGTATTTTACA
 GCGTATGAGAGAACTTTCCGTGCAGGCAGCGAGTGATGCAACAATGACACCGGGCGGAT
 AAAGAAGCAATCCAGAAAGAAATCACTTCATTTAAAGATGAAGTTGACCGTATTTCTACA
 GATACAGAGTATAACAGCAAAACACTTTTAGATGGTTCATTAGATACCAGGGTTTACACC
 AAAAATGCAACAAGAGTGGACATTTCTGATCATGTGAAAGCAGGACAGTATCAGCTTTC
 CATTGATACTGCAGCTACACAGGCCGGACCGGTAACAGCAAATCAGAATTATAATTCCA
 CAGCACCGGTGCGTGCGTCCGGAACAATGAGTATTAATGGTTCATAAGTAGAGATAGAG
 GCAGCCGACACCTATGCGGAGGCTTTTGAGAAGATCAGAAATGCAGCAGAGACTGGTG
 AAACAACCGTTAAGATTGAAAAGAATGGAGCACTTTCATTTACCGCAGAACAGTACGGA
 ATGTCAAGCATCTTAGAGATCGCATTNNTGATGATAAGCAGCTTGCTAATGCACTTGGAT
 TTACAGCAGACGGAGGAAACAGTGTTGTAGAAGATCCAGAGAATAAAGGCAGCTATGTA
 TACGGACAGATTGAGAATGGCAAAGTGATCGTACCTTCCGGTACAGATGCCGAAGTAAC
 GCTCACAAAACCGAGTGATGGAACCGGATTTGGTGATACAGCTACGGTAAAAACAGATG
 GAAATAAGATTACGGTTACAGACAGAGCCGGATTTGAGATGTCATTTCTTGCTGATGCA
 GGTATACGGGTAAGCTGGATTTTGATGTACGGATATCGGAACGATGGCACTTCATAT
 TGGAGCAAATGAGGATCAGGAAACAAGAGTGCGTATTCCGGAGGTTTCCTGCAAGAGC
 CTTTACATTGATGATGCAGACGTGACGACTGTAAATGGAGCAGGCAGAGGTATCACACA

 GTTTGACGATGCCATTTCAAAGGTCAGTGAAGTGCGTTCAAGACTTGGTGCATACCAGA
 ATCGTCTTGAGAGTACGGTATCAAGCCTGGATACGTTTGAAGAAAATATGACAGGAGCC
 CAGTCACGACTGACAGATGCGGATATGGCATCGGAAATGACAGATTATACACATCAGAA
 TGTATTAATCAGGCAGCAATCTCTGTTTTGACACAGGCAAACGATCTGCCACAGCAGG
 TATTGCAGATTCTGCAGTAA

5 [0122] Un ejemplo de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla2 se muestra como SEQ ID NO 7.

[0123] SEQ ID NO 7 tiene la siguiente secuencia:

10

ATGGTAGTTAATCATAATATGGCATTGATCTGTGAGAGTAGACAGTTACGATGTAATGTG
AAGAACATGGAGAAGTCTTCAAAAAAGCTGGCAACAGGTTATAAATTGCTTGGAGCAAA
TGATGATGCAGCAGGATTACAGATATCAGAAACCATGCGTCATCAGACCAGAGGTCTTA
ACAAAGCATCCAGAAATTCGCAAGATGGAATTAGTATGCTGCAGACAGCAGATGCAGCA
TTACAGGAGACACAGGAAGTGTGGATCGAATGACGGATCTGACAACACAGGCAGCTA
ATGATATCAATACGGATGCGGATCGTCGTGCAATTCAGGATGAAATCGATCAGTTAAATC
AGGAAGTGGATCGTATTGCATATACGACGAATTTTAATCAGCAGTATATATTAGCGGATG
GAACTCCGCAGGCAAGACCAGGATACTATATGATACAGACAGGAAGTCTTGCGGGACA
GGGAATAGAGATTAAGTTTGTTAATGCGAGCAAAGAGAGCTTGGGTGTGGACAAGGTTG
ATGTATCATCGCATGCAAAAGCGACAGAATCTATAGCAGTGGTACAGAATGCAATTGAA
AAGGCAGCTTCGTTTAGAGATACATTTGGGGCACAACAGGAGCGGTTAGAACACGCATT
GCGTGGAACGGATAATACATCAGAAAGTACACAGAGGGCAGAATCAAGTAGACGCGAT
ACCAACATGAATATGGAGATGGTACAATATTCTACAAACCGTATTTTAGTACAGGCATCT
CAGAGTATTTTAGCACAGTACAATGATGATGCAAAATATGTGTTGGAAATGTTAAATAG

[0124] Un ejemplo de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla3 se muestra como SEQ ID NO 9.

[0125] SEQ ID NO 9 tiene la siguiente secuencia:

5 ATGGTAGTACAGCACAAATATGACCGCAATGAATGCCAACAGAATGTTAGGCGTTACAAC
AAGCGCACAGGCAAAATCTTCAGAGAAATTATCTTCTGGTTACAGAATCAACCGTGCAG
GTGATGACGCTGCTGGTTTAACAATTTCTGAGAAGATGAGAAGCCAGATCCGTGGATTA
AACAAAGCTTCTGACAACGCACAGGATGGTATTTCTTAATCCAGGTTGCTGAGGGTGC
ATTATCTGAGACACATTCTATCTTACAGCGTATGAATGAGTTAGCTACTCAGGCTGCTAA
CGATACCAATACAACCTGCTGATAGAGGAGCTATTGAGGATGAGATCAACCAGTTAACAT
CTGAGATTAACAGAATCTCTTCTACAACCTCAGTTCAATACTCAGAACCTCATCGATGGTA
CATTGCGAAATAAAAACCTTCAGGTTGGTTCTATCTGTGGACAGAGAATTACTGTTTCTA
TCGACAGTATGTCTGCTGGTAGCTTAAATGTATCTGCTAACTTAGTAAAGGTTAACACTT

TCAGTGCAGCAGGTGAAGCAATGTCCAATATTCAGGGTGCTATTTCTGCAATTTCTACAC
AGCGTTCTTACTTAGGAGCTCTTCAGAATCGTCTGGAGCATACAATCTCCAACCTGGACA
ACATTTCTGAGAATACTCAGTCTGCTGAATCTCGTATCCGTGATACAGATATGGCTGAAG
AGATGGTTACTTACAGCAAGAACAATATTCTTGCTCAGGCAGGACAGTCTATGCTTGCTC
AGGCTAACCACTCTACTCAGGGTGTACTTTCTCTGTTACAGTAA

[0126] Un ejemplo de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla4 se muestra como SEQ ID NO 11.

[0127] SEQ ID NO 11 tiene la siguiente secuencia:

10

ATGGCAATGGTAGTACAGCACAAACATGTCCGCAATGAATGCGAACAGAAATTTAGGTGT
 TACAACAGGAATGCAGGCCAAAATCATCAGAGAAGTTATCTTCCGGTTACAAGATCAACC
 GTGCAGCAGATGATGCAGCAGGACTTTCTATTTCTGAGAAGATGAGAAGCCAGATCCGC
 GGTTTAAATAAAGCATCTGACAATGCACAGGATGGTATCTCTTTAATCCAGACCGCTGAG
 GGAGCATTAAATGAGTCCCCTCTATTTTACAGAGAATGAGAGAGTTATCCGTACAGGC
 AGCCAACGGTACAGAGACAGATGACGACCGCGAGGCAGTACAGAACGAGGTTTCCCAG
 TTACAGGAAGAGCTGACAAGAATTTCTGAGACAACAGAGTTCAACACGATGAAGCTGCT
 GGATGGTTCTCAGAGTGGAAGTACATCTTCAACCGGGTCAGGTCCGAAGTTTGGTGTG
 TAGATGCAACATTAGACGGTGCACTTGTAACTCTAACGTGAAAGGTATTAAAGTAGCAA
 CAGCAGCTGCCACAACAACAAAGGCAGGTGAGGAGACTGCTATCTGGGCTGCTGATGG
 AAAGACATTAACTTTAAATCTTTGAAAAATAAGGTATATACACAGGACGAAATTGATGAC
 TTGATCGCAAATGCAAAACAGGAAGACAGTTCTGCAACGGGTGCACCGGCTGAAGTGA
 AAGTATCTTTAAAGAATGGTATTTTAAATGCAGATGCAGACACAACCTGCCGGAAGTGTAA
 CAGCCGGTGGTGTGAAGGCAGTATCTGATGAAGGAACAGTAACTGGATTTGTTGGTGC
 AGATACAATTTTCAATTTACGGCAAATAAGTATGGAGCAGAGTTCAATGATACTGTATTTAA
 TTCAAATTTGATAAGGCAGCAGGCCAAAGAAGAAGTAGAGACAAATACAGCAATTGAAATT
 GATGGAGCAAATGCGGTAACAGCAGGTGAATATACAATTCATCTTGCAGCAGGCCAAAGA
 ATATACGGCAGAAGATTTAGAAGATGTTCTTAAACGGCAGGATTCGACTTTGATGTTAA
 ATTAAGTGAAATACACCAGATGAGCCAAATACTTTATTTGCAACCAGTGGCGCATCAAC
 TGTGACTGATATTACAATGGGTGCTGGCACC GCCGAGCTGGTCTTGAAGTACAGAT
 GCTATGTGGGGGCAAGCTGGTTATGACAGTTATCTTCTGGTGCTGGCATTACCTTGACG
 ATTGGTGCAAATGAAGGTCAGACCATGAGTTTCTCTATCGATGACATGAGTGCAAGAGC
 ACTTGGCGTAGATGGCAACAAAGTTGATTTAAGCACACAGGCTGGCGCACAGAAAGCAA
 CTGATACCATTGATGCAGCAATCAAGAAAGTATCTGCACAGCGTGGTAGAATGGGTGCG
 ATCCAGAACCGTCTGGAGCACACCATCAGCAACCTTGATACAGCAGCAGAGAATACCCA
 GACTGCAGAGTCCCGTATCCGTGATACAGATATGGCAGAAGAGATGGTTGAGTACTCCA
 AGAACAACATTCTTGACAGGCAGGTGAGTCTATGCTTGACAGGCCGAACCAGTCTACA
 CAGGGTGTACTCTCCTTATTACAGTAA

[0128] En un aspecto, la secuencia de polinucleótido codifica una flagelina *Roseburia* seleccionada del grupo que consiste en Fla1, Fla2, Fla3 y Fla4. En una realización, la secuencia de polinucleótido codifica una flagelina *Roseburia* seleccionada del grupo que consiste en Fla2, Fla1, Fla4 y combinaciones de los mismos. En una

5

[0129] En un aspecto, la secuencia de polinucleótido que codifica flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia hominis* Fla1, una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia hominis* Fla2, una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla1, una
 10 secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla2, una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla3 y una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla4. En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia hominis* Fla2, una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla2, una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla1, una
 15 secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla4 y combinaciones de los mismos. En una realización adicional, la secuencia de polinucleótido que codifica flagelina *Roseburia* se selecciona del grupo que consiste de una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia hominis* Fla2, una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla2 y combinaciones de los mismos. En otra realización, la secuencia de polinucleótido que codifica flagelina *Roseburia* es una secuencia de polinucleótido que codifica *Roseburia intestinalis* Fla2.

[0130] El efecto terapéutico de flagelinas se evaluó por los inventores por ensayos funcionales.

5 **[0131]** En una realización, la flagelina *Roseburia* es una flagelina *Roseburia* truncada. Por ejemplo, la flagelina *Roseburia* truncada comprende al menos 20, 30, 40, 50, 75, 100, 125, 150, 175 o 200 aminoácidos de polipéptido mostrados como SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 10 o SEQ ID NO 12.

[0132] En una realización, la flagelina *Roseburia* truncada es una flagelina *Roseburia hominis* truncada o una flagelina *Roseburia intestinalis* truncada.

10 **[0133]** En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* codifica una FlaA1 truncada, Fla2, Fla3 o Fla4. Por ejemplo, la secuencia de polinucleótido codifica una flagelina *Roseburia* truncada que comprende al menos 20, 30, 40, 50, 75, 100, 125, 150, 175 o 200 aminoácidos de polipéptido mostrados como SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 10 o SEQ ID NO 12.

15 **[0134]** En una realización, la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* codifica una FlaA1 truncada o Fla3.

20 **[0135]** En una realización, la flagelina *Roseburia* es un polipéptido de fusión. Por ejemplo, el polipéptido se fusiona con glutatión S-transferasa (GST).

Tabla A - resumen de las secuencias de flagelina *Roseburia* descritas en este documento y la cepa bacteriana de la que pueden derivarse.

Bacteria y cepa	Abreviatura	Secuencia de nucleótidos ID	Secuencia de nucleótidos	Secuencia de aminoácidos ID	Secuencia de aminoácidos
Roseburia hominis A2-183 (fla 1)	RhFlaA1 o RHFlaA1 o RhFla1 o RH1	SEQ ID 1	ATGGTAGTACAGCACAACTTTACAGCAA TGAACGCTAACAGACAGTTAGGTATCAC AACAGGCGCACAGGCTAAGTCTTCTGA GAAGTTATCTTCTGGTTACAAGATCAAC CGCGCAGCAGATGACGCGCAGGCTCTT ACGATTTCCGAGAAGATGAGAAGCCAG GTTAGAGGCTTAAATAAGCTTCTGACA ACGCACAGGATGGTGTATCCCTTATTCA GGTAGCTGAGGGTGCAATTAAGTGAGAC ACACTCCATCTTACAGCGTATGAATGAG TTAGCAACTCAGGCAGCAACGATACCA ATACAACTCAGACAGAACTGCAGTTCA GCAGGAGATCAACCAGTTAGCATCTGA GATCACCAGAATCGCTTCTACAACCTCAG TTGACACAATGAACCTGATCGATGGTA ACTTCACAAGTAAGAAGCTTCAGGTAGG TTCCCTTTGCGGACAGGCTATCACAATC GATATCTCTGATATGTCTGCTACAGGTC TTGGCGTTAGCGGATAGIAGIATCTTC CTTCTCTGCAGCTGGTAAGGCAATCTCT GCAGCTCAGGATGCTATCAGTACGTAT CTTCTATGCTTCTAAGCTGGGTGCATT ACAGAACAGACTTGAGCAGACAATCTCC CACCTGGACAACATTTCTGAGCACACAT CTTCTGCAGAGTCTCGTATCCGTGATAC AGATATGGCTGAAGAGATGGTTGAGTA CAGCAAGAACACATCCTTCTCAGGC AGGACAGTCTATGCTTCTCAGGCTAAC CAGTCTACTCAGGCTGATTATCCTTAT TACAGTAA	SEQ ID 2	MVVQHNLTAAMNANRQLGITTGA QAKSSEKLSSGYKINRAADDAA GLTISEKMRSQVRGLNKASDNA QDGVSLIQVAEGALSETHSILQR MNELATQAANDNTTSDRTAVQ QEINQLASEITRIASTQFNTMNL DGNFTSKKLQVGLSLCGQAITIDIS DMSATGLGVSLVVSFSAAGK AMSAAQDAISYVSSMRSLGAL QNRLEHTISHLDNISEHTSSAES RIRDTDMAEEMVEYSKNNILAQA GQSMIAQANQSTQGVLSLLQ
Roseburia hominis A2-183 (fla 2)	RhFlaA2 or RHFlaA2 or RhFla2 or RH2	SEQ ID 3	ATGGTGTTAATCATAATATGGCGGCAA TCTGTGAGAGCAGGCAGCTGCGCTATA ACGTGAAGAAGATGGAAAAATCTTCCAA AAAGCTTGCGACAGGGTACAAGCTGAA CACAGCAAATGATGATGCGGCGAGGCTT GCAGATATCAGAGAGGATGCGGCATCA TGTGAAAGGGCTGAACAAAGCCTCCCG GAATTCACAGGACGGCATCAGTATGCT GCAGACGGCGGATGCAGCGCTCCAAGA GACGCAGCATGTTCTCGATCGTATGGT GGAGCTGACGACGCGCAGGCAGCAATGA CATCAACACAGACTCGGATCGCAGGGC TATTCAGGATGAGTTGGATCAGCTGAAC AAGGAAGTGGACCGCATCGCCTATACG ACGCACTTCAATCAGCAGTATATGTTGG CGGAGGGAACGCGCAGGCGGCGACCG GGATATTACCGCATACAGTCCGGGGCA CTGAACGGACAGCGGATACATATCCATT TTGTAATGCGAGCAAGGAGAGCCTTG GCACAGACAAAGTGAATGTATCTTCGCA TGCGAAGGCGTCCGAATCCATCACGAT GGTTCAGGACGCGATTGAACAGGCGGC GCTCTGGAGAGACGAGTTCCGGCAGCCA GCAGGAGCGTCTGGAAACATGCCGTGCG CAATACGGACAACACATCACAAAATACG CAGAGTGCGGAGTCCAGGATCAGAGAC ACCAACATGAATATGGAGTGGTATTAT ATTCCAGCAACCGGATTCTGGTGCATG CATCCCAGAGTATTCTGGCACAGTATAA TGATGATGCAAAAICAGTGCCTTGAGATT TTGAAATAG	SEQ ID 4	MVYNHNMMAICESRQLRYNVKK MEKSSKILATGYKLNANDDAA GLQISETMRHHVGLNKAASRNS QDGISMLQTADAALQETQDVL RMVELTTQAANDINTSDRRAIQ DELDQLNKEVDRIAYTTHFNQY MLAEGTPQAAPGYRIQSGALN GQAIHIFVNASKESLGTDKVNV SSHAKASESITMVQDAIEQAALW RDEFGSQERLEHAVRNTDNTS ONTQSAFSGIRDNTNMNMFVLY STNRLVHASQSILAQYNDDAKS VLEILK

(continuación)

Bacteria y cepa	Abreviatura	Secuencia de nucleótidos ID	Secuencia de nucleótidos	Secuencia de aminoácidos ID	Secuencia de aminoácidos
Roseburia intestinalis L-82 (fla1)	RiFlaA1 o RiFlaA1 RiFla1 o Ri1 o Ri1	SEQ ID 5	ATGCGTGGCGGAGACAATAGAAGGAGA AACAGAATGAGAATTAATTACAATGTGT CAGCAGCGATTGCGAATAAACATTTACT TGGAAITGAGGATAATTTAAGTGCAATCG ATGGAACGGCTTTTCATCGGGACTTAAGA TCAACCATTCGAAGGACAAATCCGGCAG GAATGGCTATTTCCAACAAGATGAAAGC ACAGATTGATGGTTTAAACCGGGCTTCC CAGAATGCATCGGATGGTATTTCTGTTA TTCAGATCGCAGATGGTGCGCTGAGTG AAACGACCAATTTTACAGCGATGAG AGAATTTCCGTGCAGGCGAGTGGA TGCAACAATGACACCGGCGGATAAAGA AGCAATCCAGAAAGAAATCACTTCATTA AAAGATGAAGTTGACCGTATTTCTACAG ATACAGAGTATAACAGCAAAACACTTTT AGATGGTTTCAATGATACAGGGTTTAC ACCAAAATGCAACAAGAGTGGACATTT CTGATCATGTGAAGCAGGACAGTATCA GCTTTCCATTGATGCTGACGCTACACAG GCCGGACCGGTAACAGCAAAATCAGAAT TATAATTCACAGCACCGGCTCGGTGCG TCCGGAACAATGAGTATTAATGGTTCTA AAGTAGAGATAGAGGACGCCGACACCT ATGCGGAGGCTTTTGAAGAGATCAGAA ATGCAAGCAGAGACTGGTGAACAACCG TTAAGATTGAAAAGATGGAGCACTTTC ATTTACCGCAGAACAGTACGGAATGTCA AGCATCTTAGAGATCGCATTTNTGATGA TAAGCAGCTTGCTAATGCATTTGGATTT ACAGCAGACGGAGGAAACAGTGTGTGA GAAGATCCAGAGAATAAAGGCAGCTAT GTATACGGACAGATTGAGAATGGCAAA GTGATCGTACCTTCCGCTACAGATGCC GAAGTAACGCTCAGAAAACCGAGTGAT GGAACCGGATTTGGTGATACAGCTACG GTAAAACAGATGGAAATAAGATTACGG TTACAGACAGAGCCGGATTTGAGATGTC ATTTCTTGCTGATGTCAGGTTATACGGGT AAGCTGGATTTTGTGTCAGGATATCG GAACGATGGCACTTCATTTGGAGCAAA TGAGGATCAGGAACAAGAGTGCCTAT TCCGGAGGTTTCTGCAAGAGCCTTTAC ATTGATGATGCAGAGCTGACGACTGTAA ATGGAGCAGGCAGAGGTATCACACAGT TTGACGATGCCATTTCAAAGGTCAAGTGA AGTGCGTTCAAGACTTGGTGATACCA GAATCGTCTTGAGAGTACGGTATCAAGC CTGGATACGTTTGAAGAAAATATGACAG GAGCCAGTACGCACTGACAGATGCGG ATATGGCATCGGAAATGACAGATTATAC ACATCAGAAATGATTAATCAGGCAGCA ATCTCTGTTTTGACACAGGCAAAACGATC TGCCACAGCAGGTATTGAGATTCTGCA GTAA	SEQ ID 6	MRINYNYSAAIANKHLLGIEDNLS ASMERLSSGLKINHSHKDNPAAGM AISNKMKAQIDGLNRSQNASD GISVIQIADGALSETTSILQRMRE LSVQAASDATMTADKEAIQKEI TSLKDEVDRISTDTEYNSKTLDD GSLDTRVYTKNATRVDISDHVKA GGYQLSIDTAATQAGPVATANQN YNSTAPVAGSGTMSINGSKVEIE AADTYAEAFKIRNAETGETTV KIEKNALSFTEQYGMSSILEIA FDDQLANALGFTADGGNSVVE DPENKGSYVYQIQNGKIVIPS GTDAEVLTKPSDGTGFGDTAT VKTDGNKITVTDRAFGEMSFAD AGYTGKLDFOVDIGTMALHIGA NEDQETRVRIPEVSCSKSLYIDDA DVTTVNGAGRGITQFDDAISKVS EVRSLGAYQNRLESTVSSLDTF EENMTGAQSRLTADMASEM DYTHQNVNLQAASVLTQANDLP Q
Roseburia intestinalis L-82 (fla2)	RiFla2 o RiFla2 o Ri2 o Ri2	SEQ ID 7	ATGGTAGTTAATCATAATATGGCATTGA TCTGTGAGAGTAGACAGTTACGATGTAA TGTGAAGAACATGGAGAAGTCTTCAAAA AAGCTGGCAACAGGTTATAAATTGCTTG GAGCAAAATGATGATGCGAGCAGGATTAC AGATATCAGAAACCATGCGTCAACAGAC CAGAGGTCTTAACAAACCATCCACAAAT TCGCAAGATGGAATTAGTATGCTGCAGA CAGCAGATGCAGCATACAGGAGACAC AGGAAGTGTTGGATCGAATGACGGATC TGACAACACAGGCAGCTAATGATATCAA TACGGATGCCGATCGTGTGCAATTCA GGATGAAATCGATCAGTTAAATCAGGAA GTGGATCGTATTCATATACGACGAATT TTAATCAGCAGTATATATTAGCGGATGG AACTCCGAGGCAAGACGAGGATCTA TATGATACAGACAGGAAGTCTTCCGGG ACAGGGAATAGAGATTAAGTTTGTAAAT GCCAGCAAGAGAGCTTGGGTGTGGAC AAGGTTGATGTATCATCGCATGCAAAAG CGACAGAACTCTATGACAGTGGTACAGAA TGCAATTGAAAAGGCAAGCTTCGTTTGA GATACATTTGGGGCACAACAGGAGCGG TTAGAACACGCAATTGCGTGAACGGAT AATACATCAGAAATACACAGAGGGCA GAATCAAGTAGACGCGATACCAACATGA ATATGGAGATGGTACAATATTCTACAAA CCGTATTTTAGTACAGGCATCTCAGAGT ATTTTAGCACAGTACAATGATGATGCAA AATATGTGTTGGAAATGTTAAATAG	SEQ ID 8	MVYNHNMALICESRLRCNVKN MEKSSKKLATGYKLLGANDDAA GLQISETMRHQTGRNLNKA SRNS QDGISMLQTADAALQETQEVLD RMTDLTTQAANDINTDADRRAIQ DEIDQLNQEVDRYATTFNFNQY ILADQLPQARPGYYMIQTGSLAG QGIEIKFVNASKESLGVDKVDVS SHAKATESIAVVQNAIEKAASFR DTFGAQQERLEHALRGTDNTSE STQRAESSRRDTNMMNMEMVQY STNRILVQASQSILAQYNDDAKY VLEMLKQVLQILQ

(continuación)

Bacteria y cepa	Abreviatura	Secuencia de nucleótidos ID	Secuencia de nucleótidos	Secuencia de aminoácidos ID	Secuencia de aminoácidos
Roseburia intestinalis L1-82 (fla3)	RiFla3 o RiFla3 o Ri3 o Ri3	SEQ ID 9	ATGGTAGTACAGCACAAATATGACCGCAA TGAATGCGAACAGAAATGTTAGGCGTTAC AACAAGCGCAGCAGCAAAATCTTCAGA GAAATATCTCTGTTACAGAAATCAAC CGTGACGGTGATGACGCTGCTGTTTA	SEQ ID 10	MVVQHNMNTAMNANRMLGVTTTS AQAKSSEKLSSGYRINRAGDDA AGLTISEKMRSQIRGLNKAASDNA QDGLISLIQVAEGALSETHSILQRM NELATQAANDNTTADRGAIQDE
			ACAATTTCTGAGAAGATGAGAAGCCAGA TCCGTGGATTAAACAAAGCTTCTGACAA CGCACAGGATGGTATTTCCTTAATCCAG GTTGCTGAGGGTGCAATATCTGAGACA CATTCTATCTTACAGCGTATGAATGAGT TAGCTACTCAGGCTGCTAACGATACCAA TACAACCTGCTGATAGAGGAGCTATTGAG GATGAGATCAACCAGTTAACATCTGAGA TTAACAGAAATCTCTTCAACCTCAGTTT AATACTCAGAACCTCATCGATGGTACAT TCGCAATAAAACCTTCAGGTTGGTTC TATCTGTGGACAGAGAATTACTGTTTCT ATCGACAGTATGCTGCTGGTAGCTTAA ATGTATCTGCTAACTTAGTAAAGGTTAA CACTTTTCAGTGACGAGGTTGAAGCAAT GTCCAATATTGAGGGTCTATTCTGCA ATTTCTACACAGCGTTCTTACTTAGGAG CTCTTCAGAAATCGCTGGAGCATACAAT CTCCAACCTGGACAACATTTCTGAGAAT ACTCAGTCTGCTGAATCTCGTATCCGTG ATACAGATATGGCTGAAGAGATGGTTAC TTACAGCAAGAACAAATATTCTTGTCTAG GCAGGACAGTCTATGCTTGTCTAGGCT AACCAGTCTACTCAGGGTGACTTTCTC TGTTACAGTAA		INQLTSEINRISSTTQFNTQNLID GTFANKNLQVGSICGQRITVSID SMSAGSLNVSANLVKYNFTSAA GEAMSNIQGAISAISTQRSYLGA LQNRLEHTISNLDNISENTQSAE SRIRDTDMAEEMVTYSKNNILAQ AGQSMILAQANQSTQGVLSLLQ
Roseburia intestinalis L1-82 (fla4)	RiFla4 o RiFla4 o Ri4 o Ri4	SEQ ID 11	ATGGCAATGGTAGTACAGCACAAATGT CCGCAATGAATGCGAACAGAAATTTAGG TGTTACAACAGGAATGCGAGGCAAAATCA TCAGAGAAGTTATCTTCCGGTTACAAGA TCAACCGTGACAGCAGATGATGACAGCAG GACTTTCTATTCTTCTGAGAAGATGAGAAG CCAGATCCGCGGTTTAAATAAAGCATCT GACAATGACAGGATGGTATCTCTTTAA TCCAGACCGCTGAGGGGACATTAAATG AGTCCCACTCTATTATACAGAGAATGAG AGAGTTATCCGTACAGGCAGCCAACGG TACAGAGACAGATGACGACCGCGAGGC AGTACAGAACGAGGTTTCCAGTTACAG GAAGAGCTGACAAGAATTTCTGAGACAA	SEQ ID 12	MAMVVQHNMMSAMNANRNLGVT TGMQAKSSEKLSSGYKINRAAD DAAGLSISEKMRSQIRGLNKAASD NAQDGLISLIQTAEGALNESHILQ RMRELSVQAANGTETDDREAV QNEVSQLQEELETRISSETTEFNTM KLLDGSQSGSTSSTGSGPKFGV VDATLDGALVTSNVKGIKVATAA ATTTKAGQETAIWAADGKLTLLN LSKNKYVTQDEIDDLIANAKQED SSATGAPAEVKVSLKNGIFNADA DTTAGTVTAGGVKAVSDEGTVT GFVGADTISFTANKYGAFFNDTV FKFKFDKAAGKEEVEETNTAIEIDG
			CACAGTTCAACACCATGAAGCTGCTGG ATGGTTCTCAGAGTGGAAGTACATCTTC AACCGGGTACGGTCCGAAGTTTGGTGT TGATAGATGCAACATTAGAGCGGTGCATT GTAAACATCTAACGTGAAAGGTTATTAAG TAGCAACAGCAGCTGCCACAACAACAA AGGCAGGTGAGGAGACTGCTATCTGGG CTGCTGATGGAAGACATTAACTTTAA TCTTTGCAAAAATAAGGTATATACACAG GACGAAATTGATGACTTATCGCAAAATG CAAAACAGGAAGACAGTTCTGCAACGG GTGCACCGGCTGAAGTGAAAGTATCTTT AAAGAATGGTATTTTAAATGAGATGCA GACACAACCTGCCGAACTGTAAACAGCC GGTGGTGTGAAGGCAGTATCTGATGAA GGAACAGTAACTGGATTGTTGGTGCA GATACAATTTCAATTTACGGCAAAATAGT ATGGAGCAGAGTTCAATGATAGTGTATT TAAATTCAAATTTGATAAGGCAGCAGGC AAAGAAGAAGTAGAGACAAATACAGCAA TTGAAATTTGATGGAGCAATGCGGTAAC AGCAGGTGAATATACAATTCATCTTGCA GCAGGCAAGAAATATACGGCAGAAAGAT TTAGAAGATGTTCTTAAACGGCAGGAT TCGACTTTGATGTTAAATTAAGTGGAAA TACACCAGATGAGCCAAATACTTATTT GCAACCAAGTGGCGCATCAACTGTGACT GATATTACAATGGGTGCTGGCACCAGCC CGAGCTGCTCTTGGAACTACAGATGCT ATGTGGGGGCAAGCTGTTATGACAGT TATCTTCTGGTGTGGCATTACCTTGCA GATTGGTGCAATCAAGGTCAGACCAT GAGTTTCTCTATCGATGAGATGAGTGCA AGAGCACTTGGCGTAGATGGCAACAAA GTTGATTTAAGCACACAGGCTGGCGCA CAGAAAGCAACTGATACCATTTGATGCAG CAATCAAGAAAGTATCTGCACAGCGTG GTAGAATGGGTGCGATCCAGAACCCTC TGGAGCACACCATCAGCAACCTTGATAC		ANAVTAGEYTHLAAGKEYTAED LEDVLKTAGDFDVKLSGNTTPDE PNTLFATSGASTVDTITMGAGTA GAGLGSTDAMWQGAGYDSVSS GAGITLQIGANEQGTMSFSIDDM SARALGVDGNKVLDLSTQAGAQA ATDITDAIAIKVSAQRGRMGAIQ NRLEHTISNLDTAENQTAEERI RDTDMAEEMVEYSKNNILAQAG QSMILAQANQSTQGVLSLLQ

(continuación)

Bacteria y cepa	Abreviatura	Secuencia de nucleótidos ID	Secuencia de nucleótidos	Secuencia de aminoácidos ID	Secuencia de aminoácidos
			AGCAGCAGAGAATACCCAGACTGCAGA GTCCCGTATCCGTGATACAGATATGGCA GAAGAGATGGTTGAGTACTCCAAGAAC AACATTCTTGCACAGGCAGGTCAGTCTA TGCTTGCACAGGCGAACCACTCTACAC AGGGTGTACTCTCCTTATTACAGTAA		

Tabla B - resumen de los números de accesoión para flagelina *Roseburia* descrita en este documento.

Bacterias y cepa	Abreviatura	Genoma o número de accesoión de gen	Número de accesoión de proteína (GenBank)	Número de accesoión de proteína (Secuencia de referencia NCBI)
Roseburia hominis A2-183 (fla 1)	RhFlaA1 o RHFlaA1 o RhFla1 o RHFla1 o Rh1 o RH1	DQ789140.1	ABI48297.1	ABI48297.1
Roseburia hominis A2-183 (fla 2)	RhFlaA2 o RHFlaA2 o RhFla2 o RHFla2 o Rh2 o RH2	DQ789141.1	ABI48298.1	ABI48298.1
Roseburia intestinalis L1-82 (fla 1)	RiFlaA1 o RiFlaA1 o RiFla1 o Ri1 o RI1	ABYJ02000009.1	EEV02820	WP_006855378
Roseburia intestinalis L1-82 (fla 2)	RiFla2 o RiFla2 o Ri2 o RI2	ABYJ02000032.1	EEV02466	WP_006855745
Roseburia intestinalis L1-82 (fla 3)	RiFla3 o RiFla3 o Ri3 o RI3	ABYJ02000104.1	EEV00779	WP_006857364
Roseburia intestinalis L1-82 (fla 4)	RiFla4 o RiFla4 o Ri4 o RI4	ABYJ02000202.1	EEU99488	WP_006858703

Modulación/regulación

5 **[0136]** Los términos "modulación" y "regulación" se pueden usar indistintamente en el presente documento.

10 **[0137]** En una realización, el término "modulación" se refiere a un aumento y/o la inducción y/o la promoción y/o activación. En una realización alternativa, el término "modulación" se refiere a una disminución y/o reducción y/o inhibición.

[0138] En una realización, el término "regulación" se refiere a una regulación al alza. En una realización alternativa, el término "regulación" se refiere a una regulación a la baja.

15 **[0139]** En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o polipéptido de Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido de Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), reduce la inflamación de un tejido o un órgano.

[0140] Por ejemplo, se reduce la inflamación del tubo digestivo o parte del mismo (tal como el intestino grueso).

25 **[0141]** El término "inflamación", como se usa aquí se refiere a uno o más de los siguientes: enrojecimiento, hinchazón, dolor, ternura, calor, y la función de un tejido u órgano perturbado debido a un proceso inflamatorio provocado por la sobre-reacción del sistema inmune.

[0142] Una reducción en la inflamación en un sujeto se puede determinar mediante la determinación de los niveles de citocinas y quimiocinas pro-inflamatorias en el tejido, suero y/o muestras de heces en un sujeto antes, y después, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, los niveles de uno o más de los siguientes pueden ser monitoreados: IL-1, IL-4, IL5, IL6, IL-8, IL-12, IL-13, IL-17, IL-21, IL- 22, IL23, TNF α , IFN γ , CXCL1, CXCL10, CCL2, suero CCL20 y calprotectina fecal, proteínas de unión a calcio SA1009/SA1008, y los interferones tipo 1, marcadores CD tales como CD163, CD14, factores de transcripción inflamatorios tales como NF-kB, STAT, y MAPKinasas, proteína C-reactiva (CRP), la velocidad de sedimentación de eritrocitos (ESR), proteínas del complemento, albúmina sérica, la evaluación histológica de los tejidos y órganos diana, índices de actividad de la enfermedad. Además, en los estudios de la calidad de vida humana (CdV) cuestionarios pueden llevarse a cabo antes de, y después de, la flagelina *Roseburia*, y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0143] En una realización, la cantidad de un tejido u órgano que se inflama en un sujeto es al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% menor en comparación con la cantidad de tejido u órgano que es inflamado en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0144] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica la flagelina *Roseburia* y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), reduce la inflamación por las células epiteliales del tejido o el órgano.

[0145] Por ejemplo, las células epiteliales son células epiteliales del canal alimentario o parte del mismo (tal como el intestino grueso).

[0146] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), aumenta la producción de células T en un sujeto.

[0147] En una realización, las células T son células T reguladoras (también conocidas como células T reguladoras), tales como células T reguladoras capaces de expresar *Tlr5* (receptor 5 de tipo Toll).

[0148] Sin desear estar vinculado por la teoría, un aumento en los números de Treg combatirá los efectos de otras células T efectoras (también denominadas Teffs), tales como Th1, Th17 y Th2 que impulsan la inflamación, la autoinmunidad y condiciones alérgicas/atópicas. Por lo tanto esta propiedad de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), pueden ser explotadas para abordar muchas enfermedades en las que se pierde el equilibrio de células Teff/Treg, por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

[0149] En una realización, la producción de células T en un individuo se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más células T, o mayor que 100% más células T, cuando se compara con el número de células T en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0150] El término "sistema inmune" como se usa en el presente documento puede referirse al sistema inmune adaptativo y/o el sistema inmune innato.

[0151] En un aspecto, la invención se refiere a la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), para su uso en la regulación del sistema inmune adaptativo de un sujeto.

[0152] Tal como se utiliza aquí, el término "sistema inmune adaptativo", también conocido como el "sistema inmune específico" se refiere a células sistémicas altamente especializadas y procesos que eliminan o impiden el crecimiento patógeno. La respuesta inmune adaptativa proporciona el sistema inmune de los vertebrados, con la capacidad de reconocer y recordar patógenos específicos (para generar inmunidad), y montar ataques más fuertes cada vez que se encuentra el patógeno.

[0153] Tal como se utiliza aquí, el término "regulación del sistema inmune adaptativo" significa la inducción de la actividad del sistema inmune adaptativo, y/o la promoción de mecanismos homeostáticos inmunes aumentando el nivel de actividad en relación con el nivel basal de actividad. Preferiblemente, el sistema inmune adaptativo es modulado hacia la regulación inmune (y no la activación inmune, reduciendo, por tanto, la inflamación).

[0154] Los defectos y trastornos asociados con el sistema inmune adaptativo, particularmente relacionado con la función de las células T, se asocian con muchas enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Las respuestas de células T asociadas con Th1, Th2 y Th17 están asociadas con enfermedades atópicas, inflamatorias y autoinmunes. Terapias que mejoran o incrementan poblaciones de células T reguladoras (Tregs) son importantes en el control de enfermedades impulsadas por respuestas de células excesivas Th1, Th2 y Th17.

[0155] Otro aspecto de la invención se refiere a la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para su uso en la regulación del sistema inmune innato de un sujeto.

[0156] Como se usa en este documento, el término "sistema inmune innato", también conocido como el sistema inmune no específico, comprende las células y los mecanismos que proporcionan el huésped con la defensa inmediata contra la infección por otros organismos de una manera no específica. Esto significa que las células del sistema innato reconocen y responden a los patógenos de forma genérica, pero a diferencia del sistema inmune adaptativo, no confiere inmunidad de larga duración o de protección al huésped.

[0157] Tal como se utiliza aquí, el término "regulación del sistema inmune innato" significa la inducción de la actividad del sistema inmune innato, y/o aumentando el nivel de actividad en relación con el nivel basal de actividad de tal manera que promueve la homeostasis inmune.

[0158] La pérdida o la desregulación de la función inmune innata, ya sea debido a la pérdida de la barrera epitelial, péptidos inmunes innatos tales como defensinas, quimiocinas y citocinas o la señalización de TLR defectuoso están asociadas con un mayor riesgo de enfermedades inflamatorias, en varios órganos del cuerpo, incluyendo el intestino. Tales enfermedades incluyen la enfermedad inflamatoria intestinal.

[0159] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), restaura la tolerancia inmunológica.

[0160] Tal como se utiliza aquí, el término "tolerancia inmunológica" se refiere al proceso mediante el cual el sistema inmune no ataca a un antígeno tal como un auto-antígeno.

[0161] Tal como se utiliza aquí, el término "restauración de la tolerancia inmunológica" se refiere a una restauración de la tolerancia inmunológica a uno o más antígenos (tales como un auto-antígeno) en un sujeto tal que el nivel de tolerancia inmunológica al antígeno es más alto cuando se compara con los niveles en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (tales como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0162] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el

vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), activa las células dendríticas y/o células epiteliales.

- 5 **[0163]** Tal como se utiliza aquí, el término "activa las células dendríticas" se refiere a una regulación de una o más células marcadoras (tales como marcadores I-A/I-E celulares, CD80 y CD86 y CD40) y/o un aumento en la producción de una o más citoquinas (tales como IL-10 y TGFβ) por células (tales como células dendríticas) en un sujeto en comparación con los niveles en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la codificación de secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla
- 10 (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.
- 15 **[0164]** El término "IA/IE" tal como se utiliza aquí, se refiere a los marcadores celulares de MHC de clase II.
- [0165]** CD40 tiene un papel esencial en la inmunidad, y es una de las moléculas coestimuladoras mejor caracterizadas. Este receptor, un miembro de la familia de receptores del factor de necrosis tumoral, se expresa por las células presentadoras de antígeno profesionales, tales como células dendríticas. CD40 se une a su ligando CD40L, que se expresa transitoriamente en células T y otras células no inmunes en condiciones inflamatorias.
- 20 **[0166]** CD40L es un ejemplo de un marcador de células T. CD3, CD4, CD25, FoxP3, CTLA-4, Ly6G y CD11b son ejemplos adicionales de marcadores de células T.
- 25 **[0167]** CD80 y CD86 se expresan en células presentadoras de antígeno (tales como células dendríticas) y son necesarias para el desarrollo y la coestimulación de respuestas de células T. Las moléculas de CD28 y CTLA-4 en las células T sirven como receptores para los antígenos coestimuladores CD80 y CD86.
- 30 **[0168]** CD3, CD4, CD25, FoxP3, CTLA-4, Ly6G y CD11b son ejemplos de marcadores de células T reguladoras de colon.
- [0169]** Sin desear estar vinculado por la teoría, el agotamiento de Ly6G (por ejemplo Ly6g6c y ly6g6e) aumenta el riesgo de infección, tracto tanto intestino como respiratorio y se asocia con enfermedades tales como la neutropenia. Por lo tanto, en una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), es para uso en el tratamiento de neutropenia.
- 35 40 **[0170]** Otro aspecto de la invención se refiere a la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), para su uso en el mantenimiento de la homeostasis inmune en un sujeto. Tal como se usa en el presente documento "mantenimiento de la homeostasis inmune" se refiere a la auto-regulación del sistema inmunológico del cuerpo para mantener la tolerancia oral o estabilidad inmune en respuesta a las condiciones cambiantes. La tolerancia oral se refiere a las respuestas inmunes normales a bacterias de los alimentos y comensales en un intestino sano. Estos se pierden en la enfermedad celíaca y enfermedades inflamatorias del intestino tales como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Así, en un aspecto, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), es para uso en el tratamiento de la enfermedad celíaca y enfermedades inflamatorias del intestino tales como enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa.
- 50 55 **[0171]** En una realización, el número de un marcador celular en la célula de un sujeto está regulado de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más del marcador celular en la célula, o mayor que 100% más del marcador de células en la célula, cuando se compara con el número del marcador de células en la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de
- 60 65

células en un sujeto que tiene el marcador de células se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de células que tienen el marcador de células, o mayor que 100% más de células que tienen el marcador de células, cuando se compara con el número de células con el marcador de células en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0172] En un aspecto, las células son células T.

[0173] En otro aspecto, las células son células del tubo digestivo (tales como las células del intestino).

[0174] En un aspecto adicional, las células son del colon y/o pequeñas células reguladoras T intestinales y pueden ser positivas para CD4 o CD8.

[0175] En un aspecto, el marcador de células es un marcador de células T. En otro aspecto, el marcador de células es un marcador de células T del colon.

[0176] Los marcadores que son de tipo I-A/I-E son ejemplos de un marcador de células. CD40 es otro ejemplo de un marcador de células encontrado en las células dendríticas.

[0177] En una realización, el nivel de una citocina en un sujeto se incrementa de tal manera que el nivel de citoquinas es al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más alto, o mayor que 100% más alto, cuando se compara al nivel de citoquinas en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0178] Los ejemplos de células dendríticas incluyen células dendríticas de médula ósea y células dendríticas de la mucosa intestinal.

[0179] Tal como se utiliza aquí, el término "activa las células epiteliales" se refiere a un aumento en la expresión de uno o más genes proinflamatorios por las células epiteliales en un sujeto cuando se comparan con los niveles de expresión en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0180] El término "gen pro-inflamatorio" tal como se utiliza aquí se refiere a un gen que, cuando se expresa, promueve inflamación. Ejemplos de genes pro-inflamatorios incluyen genes que codifican pero no limitan IL1- β , IL4, IL5, IL6, IL8, IL12, IL13, IL17, IL21, IL22, IL23, IL27, IFN γ , CCL2, CCL3, CCL5, CCL20, CXCL5, CXCL10, CXCL12, CXCL13, y TNF- α .

[0181] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), regula al alza la producción de una citoquina.

[0182] El término "regula al alza la producción de una citoquina" tal como se utiliza aquí, se refiere a un aumento en el nivel de una citocina en un sujeto en comparación con el nivel de la citocina en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0183] En una realización, el nivel de la citoquina se incrementa de tal manera que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más alto, o mayor que 100% más alto, en comparación con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*,

o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0184] En otra realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), regula al alza la producción de IL-10 y/o TGFβ.

[0185] El término "regula al alza la producción de IL-10", como se usa aquí, se refiere a un aumento en el nivel de IL-10 en un sujeto en comparación con el nivel de IL-10 en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o la célula de huésped que comprende dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0186] En una realización, el nivel de IL-10 se incrementa de tal manera que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más alto, o mayor que 100% más alto, cuando se compara con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0187] En algunos aspectos, IL-10 es producida por células dendríticas tales como células dendríticas derivadas de médula ósea y células dendríticas de la mucosa intestinal en subconjuntos particulares CD103 +.

[0188] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la secuencia de polinucleótido que codifica la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), regula al alza los marcadores de superficie celular de producción involucrados en la respuesta inmune y el reconocimiento del antígeno en una célula o células de un sujeto.

[0189] Los ejemplos de marcadores de superficie celular que participan en la respuesta inmune y el reconocimiento de antígenos incluyen CD40, IA/I- E, CD317/BST-2, CD103, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H y/o las especies equivalentes.

[0190] Se puede referir a marcadores de superficie celular (por ejemplo CD317/BST-2) por diferentes nombres en diferentes especies o el marcador de superficie celular puede todavía no haberse identificado en las células de una especie en particular. El término "especie equivalente" tal como se utiliza en este documento abarca estos marcadores de superficie celular.

[0191] El término "regula al alza la producción de CD40", como se usa aquí, se refiere a un aumento en el nivel de CD40 en un sujeto en comparación con el nivel de CD40 en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que llevan el marcador de células CD40 se incrementa y/o se aumenta el número de marcadores CD40 en una célula.

[0192] En una realización, los números del marcador de células CD40 en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más del marcador de células en la célula, o mayor que 100% más del marcador de células en la célula, cuando se compara con el número del marcador de células en la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tiene el marcador de células CD40 se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de células que tienen el marcador de células, o mayor de 100% más de células que tienen el marcador de células, en comparación con el número de células con el marcador de células en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector,

y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0193] El término "regula al alza la producción de I-A/I-E" tal como se utiliza aquí, se refiere a un aumento en el nivel de I-A/I-E en un sujeto en comparación con el nivel de I-A/I-E en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que portan uno o más marcadores de células I-A/I-E se incrementa y/o se aumenta el número de marcadores de células I-A/I-E en una célula.

[0194] En una realización, los números de los marcadores de células I-A/I-E en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de los marcadores celulares I-A/I-E en la célula, o mayor que 100% más de marcadores de células I-A/I-E en la célula, cuando se compara con el número de marcadores de células I-A/I-E sobre la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tienen marcadores de células I-A/I-E se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más células que tienen marcadores de células I-A/I-E, o mayor que 100% más de células que tienen marcadores de células I-A/I-E, cuando se compara con el número de células con marcadores de células I-A/I-E, en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la codificación de secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0195] El término "regula al alza la producción de CD317/BST-2", como se usa aquí, se refiere a un aumento en el nivel de CD317/BST-2 en un sujeto en comparación con el nivel de CD317/BST-2 en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que portan uno o más marcadores de células CD317/BST-2 se incrementa y/o el número de marcadores de células CD317/BST-2 en una célula es mayor.

[0196] En una realización, los números de los marcadores de células CD317/BST-2 en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de los marcadores de células CD317/BST-2 en la célula, o más que 100% de marcadores de células CD317/BST-2 en la célula, cuando se compara con el número de marcadores de células CD317/BST-2 en la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla, y/o que comprende el vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tienen marcadores de células CD317/BST-2 se aumentan de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más células que tienen marcadores celulares CD317/BST-2, o más que 100% más de células que tienen marcadores de células CD317/BST-2, cuando se compara con el número de células con marcadores de células CD317/BST-2 en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0197] El término "regula al alza la producción de CD103" tal como se utiliza aquí, se refiere a un aumento en el nivel de CD103 en un sujeto en comparación con el nivel de CD103 en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la codificación de secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que llevan uno o más marcadores de células CD103 se incrementa y/o se aumenta el número de marcadores de células CD103 en una célula.

[0198] En una realización, los números de los marcadores de células CD103 en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de marcadores de células CD103 en la célula, o más que 100% de marcadores de células CD103 en la célula, en comparación con el número de marcadores de células CD103 en la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la codificación de secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla, y/o que comprende el vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo dicho vector la célula huésped, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tienen marcadores de células CD103 se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de células que tienen marcadores de células CD103, o más que 100% más de células que tienen marcadores de células CD103, cuando se compara con el número de células con marcadores de células CD103 en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o codificando la secuencia de polinucleótido dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo dicho vector la célula huésped, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0199] El término "regula al alza la producción de CD80" tal como se utiliza aquí, se refiere a un aumento en el nivel de CD80 en un sujeto en comparación con el nivel de CD80 en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la codificación de secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que portan uno o más marcadores de células CD80 se incrementa y/o se aumenta el número de marcadores de células CD80 en una célula.

[0200] En una realización, los números de los marcadores de células CD80 en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de marcadores de células CD80 en la célula, o más que 100% más de marcadores de células CD80 en la célula, en comparación con el número de marcadores de células CD80 sobre la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la codificación de secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla, y/o que comprende el vector de dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo el vector dicha célula huésped, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tienen marcadores de células CD80 se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más células que tienen marcadores de células CD80, o más que 100% más de células que tienen marcadores de células CD80, en comparación con el número de células con marcadores de células CD80 en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0201] El término "regula al alza la producción de CD86" tal como se utiliza aquí, se refiere a un aumento en el nivel de CD86 en un sujeto en comparación con el nivel de CD86 en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la codificación de secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que portan uno o más marcadores de células CD86 se incrementa y/o se aumenta el número de marcadores de células CD86 en una célula.

[0202] En una realización, los números de los marcadores de células CD86 en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de marcadores de células CD86 en la célula, o más que 100% más de marcadores de células CD86 en la célula, en comparación con el número de marcadores de células CD86 en la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o codificando la secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tienen marcadores de células CD86 se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más células que tienen marcadores de células CD86, o más que 100% más células que tienen marcadores de células CD86, en comparación con el número de células con marcadores de células CD86 en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de

polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0203] El término "regula al alza la producción de CD83" tal como se utiliza aquí, se refiere a un aumento en el nivel de CD83 en un sujeto en comparación con el nivel de CD83 en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o codificando la secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que portan uno o más marcadores de células CD83 se incrementa y/o se aumenta el número de marcadores de células CD83 en una célula.

[0204] En una realización, los números de los marcadores de células CD83 en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de marcadores de células CD83 en la célula, o más que 100% más de marcadores de células CD83 en la célula, en comparación con el número de marcadores de células CD83 sobre la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o codificando la secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tienen marcadores de células CD83 se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más células que tienen marcadores de células CD83, o más que 100% más de células que tienen marcadores de células CD83, en comparación con el número de células con marcadores de células CD83 en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o codificando la secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0205] El término "regula al alza la producción de Siglec-H" tal como se utiliza aquí, se refiere a un aumento en el nivel de Siglec-H en un sujeto en comparación con el nivel de Siglec-H en un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o codificando la secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Por ejemplo, el número de células que llevan uno o más marcadores de células Siglec-H se incrementa y/o se aumenta el número de marcadores de células Siglec-H en una célula.

[0206] En una realización, los números de los marcadores de células Siglec-H en la célula de un sujeto están regulados de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más de marcadores de células Siglec-H en la célula, o más que 100% más de marcadores de células Siglec-H en la célula, cuando se compara con el número de marcadores de células Siglec-H en la célula del sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además o alternativamente, el número de células en un sujeto que tienen marcadores de células Siglec-H se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más células que tienen marcadores de células Siglec-H, o más que 100% más de células que tienen marcadores de células Siglec-H, en comparación con el número de células con marcadores Siglec-H de células en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla, y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho Fla, y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0207] En algunos aspectos, la producción de CD40 I-A/I-E, CD317/BST-2, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H es por las células dendríticas (tales como células dendríticas tolerogénicas CD103⁺ expandidas en FLT3L.).

[0208] En una realización, la expresión de uno o más genes de IFN de tipo I en una célula o células de un sujeto se regula hacia abajo.

[0209] En una realización, el nivel de expresión de uno o más genes IFN de Tipo I se reduce de tal manera que el nivel es al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% menos en comparación con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha

secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0210] Ejemplos de genes IFN de Tipo I incluyen, pero no se limitan a IFN- β 1, IFN- β 3, *Ifi202b*, *Ifi203*, *IFI44*, *IFT1*, *MXI*, *OASI*, *OAS2*, *OAS3*, *IVSA*, *irf3* y *irf4*.

[0211] En una realización, la expresión de uno o más genes pro-inflamatorios en una célula o células de un sujeto se regula hacia abajo.

[0212] En una realización, el nivel de expresión de uno o más genes pro-inflamatorios se reduce de tal manera que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% menor en comparación con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0213] El término "microbiota intestinal" tal como se utiliza aquí se refiere a microorganismos que viven en el tracto digestivo de los animales huésped. Estos microorganismos realizan una amplia variedad de funciones metabólicas, estructurales, de protección y otras funciones beneficiarias.

[0214] Tal como se utiliza aquí, el término "mejorar microbiota intestinal" se refiere a aumentar el número y/o tipo de microorganismos presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, la huésped), y/o el aumento de la actividad de dichos microorganismos en términos de sus funciones metabólicas, estructurales, de protección y funciones beneficiarias de otro tipo. Por ejemplo, los números (es decir, niveles) de bacterias de grupo Clostridium XIVa se incrementan y los números de *E. coli* se reducen; tal mejora en microbiota intestinal puede ocurrir en sujetos con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) una vez que la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o codificando la secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicha polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se ha administrado al sujeto.

[0215] En una realización, el número de microorganismos presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), se incrementa de tal manera que el número de microorganismos es por lo menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% mayor, o más que 100% más alto, en comparación con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además, o alternativamente, los tipos de microorganismos presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), se aumentan de tal manera que hay al menos 5%, 10%, o 15% más tipos de microorganismos en comparación con los tipos en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (tales como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0216] Tal como se utiliza aquí, el término "regulación del apetito" se refiere a la capacidad de modular (es decir, aumento o disminución) el deseo de un sujeto para comer comida.

[0217] En una realización, el apetito en el sujeto se estimula (es decir, se incrementa).

[0218] Sin desear estar vinculado por la teoría, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o codificando la secuencia de polinucleótido dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), ejerce un efecto estimulante sobre el apetito de un sujeto mediante la regulación negativa de la expresión de genes asociados con la supresión de apetito (tales como los genes que codifican hormonas de la saciedad). *Agt*, *Cartpt*, *Cck*, *Cxcl12* y *Gcg* son ejemplos de genes asociados con la regulación del apetito y la regulación hacia abajo de uno o más de estos genes asociados con la supresión de apetito.

[0219] *Cck* y la *Gcg* son ejemplos de hormonas de la saciedad.

[0220] En un aspecto, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tales como las especies de bacterias *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), estimula el apetito en el sujeto tal que el sujeto consume al menos 5%, 10%, o 15% más de alimentos cuando se compara al sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Hominis Roseburia*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto. Además, o alternativamente, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), estimula el apetito en el sujeto de tal manera que después de 1 mes de administración, el peso del sujeto es por lo menos 2%, 5%, o 10% superior en comparación con el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (tales como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0221] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), reduce el nivel de colecistoquinina (CCK) y/o de glucagón (GCG) en la sangre de un sujeto.

[0222] En un aspecto, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia infestinalis*), reduce el nivel de colecistoquinina (CCK) y/o de glucagón (GCG) en la sangre de un sujeto en al menos 5%, 10%, 15% o 20% en comparación con el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótidos, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0223] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), regula a la baja la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (CCK) y/o la expresión del gen que codifica glucagón (GCG) en una célula o células de un sujeto.

[0224] En un aspecto, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), disminuye la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (CCK) de tal manera que el nivel de expresión es al menos 5%, 10%, 15% o 20% menor en comparación con el nivel de expresión en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2) y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2) y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0225] En un aspecto, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como las especies bacterianas *Roseburia hominis*, o las especies bacterianas *Roseburia intestinalis*), disminuye la expresión del gen

que codifica glucagón (GCG) de tal manera que el nivel de expresión es al menos 5%, 10%, 15% o 20% menor en comparación con el nivel de expresión en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0226] El término "mejorar la salud del canal alimentario" tal como se utiliza aquí se refiere a la reducción del nivel de inflamación en el canal alimentario o parte del mismo y/o mejorar la microbiota intestinal.

[0227] En una realización, el nivel de inflamación en el canal alimentario es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% menor en comparación con el nivel de inflamación en el tubo digestivo de un sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0228] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), regula la expresión de al menos un gen seleccionado de *Tlr5*, *Tlr1*, *Vnn1*, *Defb37*, *Pla2g*, *Muc16*, *Itln*, *Sprr1a*, *Cldn4*, *Pmp22*, *Crb3*, *Magi3*, *Marveld3*, *Mpp7*, *Defcr20*, *Pcgf2*, *Itbp4*, *Igsf8* y *Tcfe2a*. Muchos de estos genes son los genes y antimicrobianos de la barrera intestinal y por lo tanto trabajan para reducir la invasividad de los patógenos intestinales y también reducen el número de patógenos viables.

[0229] En una realización, la expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en genes relacionados con el TLR (por ejemplo, *Tlr5*, *Tlr1*, y *Vnn1*), genes que codifican péptidos antimicrobianos (por ejemplo *Defb37*, *Pla2g*, *Muc16*, y *Itln*), genes de función de barrera intestinal (por ejemplo *Sprr1a*, *Cldn4*, *Pmp22*, *Crb3*, y *Magi3*), genes inmunes innatos (por ejemplo *Defcr20*, *Pcgf2*, *Itbp4*, *Igsf8* y *Tcfe2a*) en una célula o células de un sujeto se regula al alza.

[0230] En una realización, la expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en genes relacionados con el TLR (por ejemplo, *Tlr5*, *Tlr1*, y *Vnn1*), genes que codifican péptidos antimicrobianos (por ejemplo *Defb37*, *Pla2g*, *Muc16*, y *Itln*), genes de función barrera del intestino (por ejemplo *Sprr1a*, *Cldn4*, *Pmp22*, *Crb3*, y *Magi3*), genes inmunes innatas (por ejemplo *Defcr20*, *Pcgf2*, *Itbp4*, *Igsf8* y *Tcfe2a*) se aumenta de tal manera que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más alto, o más que 100% más alto, en comparación con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0231] En una realización, la expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en *Tlr5*, *Tlr1*, *Vnn1*, *Defb37*, *Pla2g*, *Muc16*, *Itln*, *Sprr1a*, *Cldn4*, *Pmp22*, *Crb3*, *Magi3*, *Marveld3*, *Mpp7*, *Defcr20*, *Pcgf2*, *Itbp4*, *Igsf8* y *Tcfe2a* en una célula o células de un sujeto se regula al alza.

[0232] En una realización, el nivel de expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en *Tlr5*, *Tlr1*, *Vnn1*, *Defb37*, *Pla2g*, *Muc16*, *Itln*, *Sprr1a*, *Cldn4*, *Pmp22*, *Crb3*, *Magi3*, *Marveld3*, *Mpp7*, *Defcr20*, *Pcgf2*, *Itbp4*, *Igsf8* y *Tcfe2a* se incrementa de tal manera que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más alto, o más que 100% más alto, en comparación con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0233] En una realización, la expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en genes que codifican la acetiltransferasa de acetilo-CoA, 3-hidroxiacilo-CoA deshidrogenasa, deshidrogenasa de butiril-CoA y carboxiquinasa de fosfoenolpiruvato [ATP] en una célula o células de un sujeto se modula.

[0234] En una realización, el nivel de expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en genes que codifican la acetiltransferasa de acetilo-CoA, deshidrogenasa de 3-hidroxiacilo-CoA, deshidrogenasa de butirilo-

CoA y carboxiquinasa de fosfoenolpiruvato [ATP] se modula de tal modo que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% superior o inferior cuando se compara con el nivel en el sujeto antes de la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o codificando la secuencia de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se administra al sujeto.

[0235] En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un microorganismo transformado (tal como un Firmicutes por ejemplo, una *Roseburia* spp tales como *R. hominis* o *R. intestinalis*) en el que la expresión de una flagelina (por ejemplo flagelina *Roseburia*) tales como FlaA1 o FlaA2 se mejora en comparación con el microorganismo equivalente antes de la transformación, y usos de los mismos para diversos usos terapéuticos y nutricionales como se describe en el presente documento. Por ejemplo, el microorganismo transformado puede haber sido transformado con una secuencia de nucleótidos (tal como un promotor) de manera que el microorganismo es capaz de regular positivamente la expresión del gen que codifica una flagelina (por ejemplo flagelina *Roseburia*) tales como FlaA1 o FlaA2. En otro ejemplo, el microorganismo transformado puede haberse transformado con un vector de expresión que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una flagelina (por ejemplo flagelina *Roseburia*) tales como FlaA1 o FlaA2 unido operativamente a una secuencia reguladora (tal como un promotor) de manera que el microorganismo es capaz de sobreexpresar el gen que codifica la flagelina (por ejemplo flagelina *Roseburia*) tales como FlaA1 o FlaA2.

[0236] Tal como se utiliza aquí, el término "vector de expresión" se refiere a una construcción de ADN que contiene una secuencia de codificación de ADN (por ejemplo, secuencia de genes) que está unida operativamente a una o más secuencias de control adecuadas capaces de afectar a la expresión de la secuencia codificante en un huésped. Tales secuencias de control incluyen un promotor para efectuar la transcripción, una secuencia operadora opcional para controlar dicha transcripción, una secuencia que codifica sitios de unión de ribosoma ARNm adecuados, y secuencias que controlan la terminación de la transcripción y la traducción. El vector puede ser un plásmido, una partícula de fago, o simplemente un inserto genómico potencial. Una vez transformado en un huésped adecuado, el vector puede replicarse y funcionar independientemente del genoma anfitrión, o puede, en algunos casos, integrarse en el propio genoma. El plásmido es la forma más comúnmente utilizada de vector de expresión. Sin embargo, la descripción pretende incluir tales otras formas de vectores de expresión que sirven funciones equivalentes y que son, o se convierten en, conocidas en la técnica.

[0237] El término "unido operativamente" se refiere a una yuxtaposición en la que los elementos están en una disposición que les permite ser funcionalmente relacionados. Por ejemplo, un promotor está unido operativamente a una secuencia codificante si controla la transcripción de la secuencia de codificación.

Tejidos

[0238] En una realización, el tejido u órgano es el canal alimentario o una sección del mismo (por ejemplo, el esófago, el estómago o el intestino, tales como el intestino delgado o el intestino grueso y el colon) u otros sitios de la mucosa (tales como los pasajes nasales y los pulmones).

[0239] En una realización, el tejido u órgano es el canal alimentario o parte del mismo.

[0240] Ejemplos de partes del tubo digestivo incluyen el esófago, el estómago y el intestino (tales como el intestino delgado (por ejemplo, el duodeno, el yeyuno y el íleon) y/o el intestino grueso (por ejemplo, el intestino ciego, colon ascendente, colon transversal, colon descendente y colon sigmoide)).

Sujeto

[0241] En una realización, el sujeto es un animal monogástrico.

[0242] Los ejemplos de los animales monogástricos incluyen aves de corral, seres humanos, ratas, cerdos, perros, gatos, caballos y conejos.

[0243] En otra realización, el sujeto es un mamífero tal como un mamífero monogástrico.

[0244] Los ejemplos de mamíferos monogástricos incluyen omnívoros (tales como seres humanos, ratas y cerdos), carnívoros (tales como perros y gatos), y herbívoros (como caballos y conejos).

[0245] En una realización, el sujeto es un humano.

[0246] Típicamente, TLE5 es capaz de ser expresada en las células de dicho sujeto.

Trastornos

[0247] La flagelina *Roseburia*, y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótidos, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se puede utilizar en el tratamiento de un trastorno en un sujeto, en el que dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

[0248] En una realización, el trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune afecta el canal alimentario, o una sección del mismo, de dicho sujeto.

[0249] En una realización, el trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune afecta a un sitio de la mucosa de un sujeto. Ejemplos de sitios de la mucosa incluyen el canal alimentario o una sección del mismo (por ejemplo, el esófago, el estómago o el intestino, tales como el intestino delgado o el intestino grueso y colon), las fosas nasales y los pulmones.

[0250] En una realización, el trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedad celíaca, dermatitis atópica, rinitis, síndrome del intestino irritable (SII), colitis, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), colitis ulcerosa, la pouchitis, la enfermedad de Crohn, dispepsia funcional, enfermedades atópicas, enterocolitis necrotizante, y combinaciones de los mismos.

[0251] En un aspecto, el trastorno inflamatorio es colitis. En un aspecto adicional, la enfermedad inflamatoria es la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o pouchitis.

[0252] En un aspecto, el trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune afecta el intestino.

[0253] En un aspecto, el trastorno intestinal es SII. La fisiopatología precisa de SII que queda por esclarecer. Estudios recientes han descrito inflamación de la mucosa y alteraciones en la microbiota intestinal en pacientes con SII y una correlación de la enfermedad con infecciones intestinales.

[0254] En un aspecto adicional, el trastorno intestinal es la enfermedad de Crohn.

[0255] En un aspecto, el trastorno es un trastorno autoinmune.

[0256] En un aspecto, el trastorno autoinmune se selecciona del grupo que consiste en colitis ulcerosa, pouchitis, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, alergias (incluyendo la enfermedad celíaca), dermatitis atópica y rinitis.

[0257] En particular, debido a su función en la restauración de la tolerancia inmune, las enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes de tipo I son de particular relevancia.

[0258] Tal como se utiliza aquí, el término "medicamento" abarca medicamentos para tanto el uso humano como animal en medicina humana y veterinaria. Además, el término "medicamento", como se usa en este documento significa cualquier sustancia, que proporciona un efecto terapéutico y/o beneficioso. El término "medicamento", como se usa en el presente documento no se limita necesariamente a las sustancias, que necesitan la aprobación de comercialización, sino que puede incluir sustancias que se pueden utilizar en cosméticos, nutracéuticos, alimentos (incluyendo alimentos y bebidas, por ejemplo), cultivos probióticos, suplementos nutricionales y remedios naturales. Además, el término "medicamento", como se usa en este documento abarca un producto diseñado para su incorporación en la alimentación animal, por ejemplo de alimentación de ganado y/o alimentos para mascotas.

Aplicaciones profilácticas

[0259] La flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), de acuerdo con la invención también se pueden usar en aplicaciones profilácticas. En aplicaciones profilácticas, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (tales como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), de acuerdo con la invención se administran a un paciente susceptible a, o de otra manera en riesgo de una enfermedad particular en una cantidad que es suficiente para al menos parcialmente reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad. Tal cantidad se define para ser "una dosis efectiva profiláctica". Las cantidades precisas dependen de un número de factores específicos, tales como estado de salud y peso del sujeto.

Encapsulación

[0260] En una realización, la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* del polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se encapsula.

[0261] En una realización adicional, la composición farmacéutica que comprende la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (tales como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, o que comprende la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se encapsulan.

[0262] En otra realización, el suplemento nutricional que comprende la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o la secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (tales como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), se encapsulan.

[0263] En una realización adicional, el pienso, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario se encapsula.

[0264] El término "encapsulado", como se usa aquí se refiere a un medio para proteger el polipéptido, y/o la secuencia de polinucleótido, y/o el vector, y/o la célula huésped, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), desde un entorno incompatible por separación física de modo que pueda administrarse al sitio diana (por ejemplo, el intestino) sin degradación o degradación significativa con el fin de que la secuencia de polipéptido, y/o polinucleótido, y/o el vector, y/o la célula huésped, y/o la *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), pueden tener un efecto en el sitio de destino. Un ejemplo es una cápsula con recubrimiento entérico.

[0265] Incluso cuando el objetivo de la encapsulación es el aislamiento del polipéptido, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o la célula huésped, y/o la *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), de su entorno, la capa protectora o cáscara deben romperse en el momento de acción deseada. La ruptura de la capa protectora o cubierta se lleva típicamente aproximadamente a través de la aplicación de estímulos químicos y físicos tales como presión, ataque enzimático, reacción química y la desintegración física.

[0266] Por ejemplo, la encapsulación asegura que el polipéptido, y/o secuencia/polinucleótido, y/o el vector, y/o la célula huésped, y/o la *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), puede ser ingerida de forma que el polipéptido, y/o secuencia/polinucleótido, y/o el vector, y/o la célula huésped y/o la *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), puede administrarse al intestino (es decir, el sitio diana) en una cantidad que es eficaz para producir un efecto en el intestino.

Composición farmacéutica

[0267] La composición farmacéutica puede ser cualquier composición farmacéutica. En un aspecto, la composición farmacéutica se va a administrar por vía oral, por vía enteral o por vía rectal. Por ejemplo, la composición puede ser una composición comestible. "Comestible" significa un material que está aprobado para el consumo humano o animal.

[0268] Las composiciones farmacéuticas pueden ser para uso humano o animal en medicina humana y veterinaria.

[0269] Los ejemplos de tales excipientes adecuados para las diversas formas diferentes de composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden encontrar en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2ª edición, (1994), editado por A Wade y PJ Weller.

[0270] Portadores o diluyentes aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en Pharmaceutical Sciences de Remington, Mack Publishing Co. (AR Gennaro edit. 1985).

[0271] Los ejemplos de vehículos adecuados incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Ejemplos de diluyentes adecuados incluyen etanol, glicerol y agua.

[0272] La elección del vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración prevista y la práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como, o además de, el portador, excipiente o diluyente cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento, agente solubilizante.

[0273] Los ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietilenglicol.

[0274] Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico y similares.

[0275] Los conservantes, estabilizantes, colorantes e incluso agentes aromatizantes pueden proporcionarse en la composición farmacéutica. Los ejemplos de conservantes incluyen benzoato sódico, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. Los antioxidantes y agentes de suspensión también pueden usarse.

Suplementos nutricionales

[0276] Portadores nutricionalmente aceptables, diluyentes y excipientes incluyen los que sean adecuados para el consumo humano o animal y que se utilizan como estándar en la industria alimentaria. Vehículos, diluyentes y excipientes típicos nutricionalmente aceptables serán familiares para la persona experta en la técnica.

Piensos/productos

[0277] Un aspecto adicional de la invención se refiere a piensos, productos alimenticios, suplementos dietéticos y aditivos alimentarios que contienen flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*).

[0278] Los términos "alimento", "producto alimenticio", "aditivo alimentario" y "suplemento dietético" como se usa en la presente memoria se destina a cubrir todos los productos consumibles que pueden ser sólidos, en gelatina o líquido.

[0279] Productos alimenticios adecuados pueden incluir, por ejemplo, productos funcionales de alimentos, composiciones de alimentos, alimentos para mascotas, alimento para ganado, alimentos saludables, alimentos para animales y similares. En un aspecto, el producto alimenticio es un alimento saludable.

[0280] Tal como se utiliza aquí, el término "producto alimenticio funcional" significa comida que es capaz de proporcionar no sólo un efecto nutricional, sino también es capaz de suministrar un efecto beneficioso adicional al consumidor. Por consiguiente, los alimentos funcionales son alimentos ordinarios que tienen componentes o ingredientes (tales como los descritos en el presente documento) incorporados a los que imparten a la comida un beneficio funcional específico - por ejemplo, médico o fisiológico - diferente a un efecto puramente nutritivo.

[0281] Ejemplos de productos específicos de alimentos que son aplicables a la presente invención incluyen productos a base de leche, postres listos para comer, polvos para reconstitución con, por ejemplo, leche o agua, bebidas de leche de chocolate, bebidas de malta, platos listos para el comer, platos instantáneos o bebidas para seres humanos o composiciones alimenticias que representan una dieta completa o parcial destinada a animales domésticos o ganado.

[0282] En un aspecto, el alimento, producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario de acuerdo con la presente invención están destinados para los seres humanos, animales domésticos o de granja, tales como animales monogástricos. El alimento, producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario pueden estar destinados a animales seleccionados del grupo que consiste en perros, gatos, cerdos, caballos, o aves de corral. En otra forma de realización, el producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario está dirigido a las especies adultas, en particular los humanos adultos.

[0283] El término "producto a base de leche" como se usa en este documento significa cualquier producto a base de leche o suero de leche líquido o semi-sólido que tiene un contenido de grasa variable. El producto a base de leche puede ser, leche por ejemplo, leche de vaca, leche de cabra, leche de oveja, desnatada, leche entera, leche recombinada a partir de leche en polvo y suero de leche sin ningún procesamiento, o un producto procesado, tales como yogur, leche cuajada, requesón, leche agria, leche entera agria, suero de mantequilla y otros productos de leche agria. Otro grupo importante incluye bebidas de leche, tales como bebidas de suero de leche, leches fermentadas, leches condensadas, infantiles o leches para bebés; leches aromatizadas, helado; alimentos como los dulces que contienen leche.

[0284] Los piensos, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de la presente invención pueden ser - o se pueden añadir a - suplementos alimenticios, también denominados aquí como suplementos dietéticos o nutricionales o aditivos alimentarios.

[0285] Los piensos, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de acuerdo con la invención también se pueden usar en la alimentación animal (por ejemplo en la nutrición de cerdo), en particular en el período de destete temprano y creciente período de engorde. Se espera que los piensos productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios mejoren la función inmune para reducir y prevenir enfermedades infecciosas, alteren beneficiosamente la composición de la microbiota, y mejoren el crecimiento y el rendimiento de los animales, por ejemplo, mediante una mayor eficiencia de conversión del pienso.

Producto probióticos o bioterapéutico vivo

[0286] La flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de polinucleótido que codifica dicha flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), puede ser utilizada en un producto probiótico o bioterapéutico vivo.

[0287] Otro aspecto de la invención se refiere a una composición probiótica que comprende la flagelina *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de codificación de dicho polinucleótido de flagelina *Roseburia* y/o dicho polipéptido Fla (tales como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótido, y/o comprendiendo la célula huésped dicho vector, y/o comprendiendo la célula huésped dicha secuencia de polinucleótido, y/o *Roseburia* (tales como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*).

[0288] Tal como se usa en el presente documento, el término "probiótico" significa preparaciones de células microbianas o componentes de células microbianas con un efecto beneficioso sobre la salud o el bienestar del huésped. (Salminen S, Ouwehand A. Benno Y. et al. "Probiotics: how should they be defined" Trends Food Sci. Technol. 1999: 10 107-10).

[0289] En un aspecto, la composición probiótica es una composición administrable por vía oral de bacterias probióticas activadas, irradiadas o lisadas, metabólicamente activas, es decir, vivas y/o liofilizadas, o no viables. La composición probiótica puede contener otros ingredientes. La composición probiótica puede administrarse por vía oral, es decir, en forma de una tableta, cápsula o polvo. La composición probiótica puede comprender la especie bacteriana *R. hominis* o *R. intestinalis*. Los productos encapsulados se favorecen para *R. hominis* y *R. intestinalis* ya que son anaerobios. Otros ingredientes (como la vitamina C, por ejemplo) pueden incluirse como eliminadores de oxígeno y sustratos prebióticos (mejoran la colonización y la supervivencia *in vivo*). Alternativamente, la composición probiótica de la invención puede administrarse por vía oral como un producto alimenticio o nutricional, tal como leche o productos lácteos fermentados a base de suero, o como un producto farmacéutico.

[0290] Una dosis diaria adecuada de las bacterias probióticas es de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{11} unidades formadoras de colonias (CFU); por ejemplo, de aproximadamente 1×10^7 a aproximadamente 1×10^{10} CFU; en otro ejemplo de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{10} CFU.

[0291] En un aspecto, la composición probiótica contiene la especie bacteriana y/o sus componentes celulares, como ingredientes activos, en una cantidad de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{11} CFU/g, con respecto al peso de la composición; por ejemplo, de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} CFU/g. La dosis puede ser de 1g, 3g, 5g y 10g.

[0292] Típicamente, un probiótico se combina opcionalmente con al menos un compuesto prebiótico adecuado. Un prebiótico suele ser un carbohidrato no digerible, como un oligo o polisacárido, o un alcohol de azúcar, que no se degrada ni se absorbe en el tracto digestivo superior. Los prebióticos conocidos incluyen productos comerciales tales como inulina y transgalacto-oligosacáridos.

[0293] En un aspecto, la composición probiótica de la presente invención incluye un prebiótico en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 30% en peso, con respecto a la composición de peso total (por ejemplo, de 5 a 20% en peso). Los carbohidratos se pueden seleccionar del grupo que consiste en: fructooligosacáridos (o FOS), fructooligosacáridos de cadena corta, inulina, isomaltosoligosacáridos, pectinas, xilooligosacáridos (o XOS), quitosanooligosacáridos (o COS), beta-glucanos, almidones modificados y resistentes a la goma arábiga, polidextrosa, D-tagatosa, fibras de acacia, algarrobo, avena y fibras cítricas. En un aspecto, los prebióticos son los fructooligosacáridos de cadena corta (por simplicidad, mostrados a continuación como FOSs-c-c); dichos FOSs-c-c no son carbohidratos digeribles, generalmente obtenidos por la conversión del azúcar de remolacha e incluyendo una molécula de sacarosa a la que se unen tres moléculas de glucosa.

Administración

[0294] Las composiciones farmacéuticas, suplementos nutricionales, alimentos para animales, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de la presente invención se pueden adaptar para administración oral, rectal, vaginal, parenteral, intramuscular, intraperitoneal, intraarterial, intratecal, intrabronquial, subcutánea, vías de administración intradérmica, intravenosa, nasal, bucal o sublingual.

[0295] En un aspecto, las composiciones farmacéuticas, los suplementos nutricionales, los alimentos, los productos alimenticios, los suplementos dietéticos o los aditivos alimentarios de la presente invención están adaptados para las vías de administración oral, rectal, vaginal, parenteral, nasal, bucal o sublingual.

[0296] En un aspecto adicional, las composiciones farmacéuticas, los suplementos nutricionales, los piensos, los productos alimenticios, los suplementos dietéticos o los aditivos alimentarios de la presente invención están adaptados para la administración oral.

[0297] Para la administración oral, se hace un uso particular de tabletas comprimidas, píldoras, tabletas, gotas y cápsulas.

[0298] Otras formas de administración comprenden soluciones o emulsiones que pueden inyectarse por vía intravenosa, intraarterial, intratecal, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal o intramuscular, y que se preparan a partir de soluciones estériles o esterilizables. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden estar en forma de supositorios, pesarios, suspensiones, emulsiones, lociones, ungüentos, cremas, geles, aerosoles, soluciones o polvos para espolvorear.

[0299] Un medio alternativo de administración transdérmica es mediante el uso de un parche para la piel. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede incorporar a una crema que consiste en una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida. En otro ejemplo, el ingrediente activo también se puede incorporar en una pomada que consiste en una base de cera blanca blanda o de parafina blanda junto con los estabilizadores y conservantes que se requieran.

[0300] Las composiciones farmacéuticas, los suplementos nutricionales, alimentos para animales, productos alimenticios, suplementos o aditivos alimentarios en la dieta pueden formularse en forma de dosificación unitaria, es decir, en forma de porciones discretas que contienen una dosis unitaria, o una unidad múltiple o subunidad de una dosis unitaria.

Dosificación

[0301] Una persona medianamente experta en la técnica puede determinar fácilmente una dosis apropiada de la flagelina de *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (tal como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (tal como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), para administración a un sujeto sin excesiva experimentación. Típicamente, un médico determinará la dosificación real que será más adecuada para un paciente individual y dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad de la cepa bacteriana específica empleada, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de esa cepa, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, tasa de excreción, combinación de medicamentos, la gravedad de la afección en particular y el individuo que se somete a la terapia. Las dosificaciones divulgadas en este documento son ejemplares del caso medio. Por supuesto, puede haber casos individuales en los que se merecen intervalos de dosificación mayores o menores, y están dentro del alcance de esta invención.

Combinaciones

[0302] En un aspecto, la flagelina de *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (tal como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia* y/o el polipéptido Fla (tal como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis* o la especie bacteria *Roseburia intestinalis*), se administra en combinación con al menos uno o dos, o tres, cuatro o cinco otros agentes activos. En tales casos, la flagelina de *Roseburia*, y/o el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia* y/o polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), y/o comprendiendo el vector dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis* o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), puede administrarse consecutivamente, simultánea o secuencialmente con uno o más agentes activos adicionales.

[0303] Al menos uno o dos, o tres, cuatro o cinco agentes activos adicionales se pueden seleccionar del grupo que consiste en: flagelinas de *Roseburia*, el polipéptido Fla (como FlaA1 o FlaA2), secuencias de polinucleótidos que codifican dicha flagelina de *Rosaburia*, secuencias de polinucleótido que codifican dicho polipéptido Fla (tal como

FlaA1 o FlaA2), vectores que comprenden dicha secuencia de polinucleótido, células huésped que comprenden dichos vectores, células huésped que comprenden dichas secuencias de polinucleótidos y microorganismos (por ejemplo, *Roseburia* tal como *R. hominis* y/o *R. intestinalis*).

- 5 **[0304]** Al menos uno o dos, o tres, cuatro o cinco otros agentes activos pueden ser un microorganismo (por ejemplo, una *Roseburia* tal como *R. hominis* y/o *R. intestinalis*). Los ejemplos de microorganismos adecuados incluyen: *Roseburia hominis* A2-183 y *Roseburia intestinalis* L1-82.

Identidad de secuencia o homología de secuencia

- 10 **[0305]** Los términos "polipéptido", "secuencia de polipéptido", "proteína" y "secuencia de aminoácidos" se usan aquí de forma intercambiable.

- 15 **[0306]** Los términos "secuencia de polinucleótido" y "secuencia de nucleótidos" se usan indistintamente en este documento.

- 20 **[0307]** La presente invención también abarca el uso de secuencias que tienen un grado de identidad de secuencia o homología de secuencia con secuencias de aminoácidos de un polipéptido descrito en la presente memoria (p. ej. variantes, homólogos y derivados) o de cualquier secuencia de nucleótidos que codifica dicho polipéptido (en lo sucesivo denominado "secuencias homólogas"). Aquí, el término "homólogo" significa una entidad que tiene una cierta homología con las secuencias de aminoácidos en cuestión y las secuencias de nucleótidos diana. Aquí, el término "homología" se puede equiparar con "identidad".

- 25 **[0308]** En el presente contexto, se toma una secuencia homóloga para incluir un aminoácido o una secuencia de nucleótidos que puede ser al menos 50, 60, 70, 75, 80, 85 o 90% idéntica. en algunas realizaciones al menos 95, 96, 97, 98 o 99% idéntica a la secuencia diana. Aunque la homología también se puede considerar en términos de similitud (es decir, residuos de aminoácidos que tienen propiedades/funciones químicas similares), en el contexto de la presente invención se prefiere expresar la homología en términos de identidad de secuencia.

- 30 **[0309]** En algunas realizaciones, se toma una secuencia homóloga para incluir una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos que tiene una o varias adiciones, deleciones y/o sustituciones en comparación con la secuencia diana.

- 35 **[0310]** En algunas realizaciones, la presente invención se refiere al uso de una proteína cuya secuencia de aminoácidos se representa en el presente documento o una proteína derivada de esta proteína (parental) por sustitución, deleción o adición de uno o varios aminoácidos, tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 aminoácidos o más aminoácidos, tales como 10 o más de 10 aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de la proteína original y que tienen la actividad de la proteína original.

- 40 **[0311]** En algunas realizaciones, la presente invención se refiere al uso de una secuencia de ácido nucleico (o genes) que codifica una proteína cuya secuencia de aminoácidos está representada en el presente documento o que codifica una proteína derivada de esta proteína (padre) por sustitución, deleción o adición de uno o varios aminoácidos, como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 aminoácidos o más aminoácidos, como 10 o más de 10 aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de la proteína original y teniendo la actividad de la proteína padre.

- 45 **[0312]** En el presente contexto, se toma una secuencia homóloga para incluir una secuencia de nucleótidos que puede ser al menos 50, 60, 70, 75, 85 o 90% idéntica, en algunas realizaciones al menos 95, 96, 97, 98 o 99% idéntica a una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido descrito en este documento (la secuencia diana). Típicamente, los homólogos comprenderán las mismas secuencias o secuencias equivalentes que codifican el (los) dominio(s), etc. como la secuencia diana. Aunque la homología también se puede considerar en términos de similitud (es decir, residuos de aminoácidos que tienen propiedades/funciones químicas similares), en el contexto de la presente invención se prefiere expresar la homología en términos de identidad de secuencia.

- 55 **[0313]** La secuencia de aminoácidos y/o secuencia de nucleótidos homóloga puede proporcionar y/o codificar un polipéptido que retiene la actividad funcional y/o mejora la actividad del polipéptido.

- 60 **[0314]** En algunos aspectos, una secuencia de aminoácidos como se describe en la presente tiene al menos 50, 60, 70, 75, 80, 85 o 90% de identidad, en algunas realizaciones al menos 95, 96, 97, 98 o 99% de identidad con la secuencia diana.

- [0315]** En algunos aspectos, una secuencia de nucleótidos como se describe aquí tiene al menos 50, 60, 70, 75, 80, 85 o 90% de identidad, en algunas realizaciones al menos 95, 96, 97, 98 o 99% de identidad con la secuencia de diana.

- 65 **[0316]** Las comparaciones de homología se pueden realizar a simple vista, o más habitualmente, con la ayuda de programas de comparación de secuencias fácilmente disponibles. Estos programas informáticos disponibles

comercialmente pueden calcular el % de homología entre dos o más secuencias.

[0317] El % de homología puede calcularse sobre secuencias contiguas, es decir, una secuencia se alinea con la otra secuencia y cada aminoácido en una secuencia se compara directamente con el aminoácido correspondiente en la otra secuencia, un residuo a la vez. Esto se llama una alineación "desacoplada". Típicamente, tales alineaciones no acumuladas se realizan solo en un número relativamente corto de residuos.

[0318] Aunque esto es un método muy simple y consistente, no toma en consideración que, por ejemplo, en un par de secuencias de otro modo idéntico, una inserción o eliminación hará que los siguientes residuos de aminoácidos se desalineen, lo que potencialmente da como resultado una gran reducción en el % de homología cuando se realiza una alineación global. En consecuencia, la mayoría de los métodos de comparación de secuencias están diseñados para producir alineaciones óptimas que tienen en cuenta posibles inserciones y eliminaciones sin penalizar indebidamente el puntaje de homología global. Esto se logra insertando "huecos" en la alineación de secuencia para tratar de maximizar la homología local.

[0319] Sin embargo, estos métodos más complejos asignan "penalizaciones de hueco" a cada espacio que se produce en la alineación, de modo que, para el mismo número de aminoácidos idénticos, una alineación de secuencias con el número mínimo posible de huecos - lo que refleja una mayor relación entre las dos secuencias comparadas - logrará una puntuación más alta que una con muchos huecos. "Costos de hueco afines" son típicamente usados que cobran un costo relativamente alto por la existencia de un hueco y una penalización menor por cada residuo subsiguiente en el hueco. Este es el sistema de calificación de hueco más comúnmente utilizado. Las penalizaciones de alto hueco producirán, por supuesto, alineaciones optimizadas con menos huecos. La mayoría de los programas de alineación permiten modificar las penalizaciones de hueco. Típicamente, los valores predeterminados se usan cuando se usa dicho software para comparaciones de secuencias.

[0320] El cálculo del máximo % de homología, por lo tanto, en primer lugar requiere la producción de una alineación óptima, teniendo en cuenta las penalizaciones de hueco. Un programa informático adecuado para llevar a cabo dicha alineación es Vector NTI (Invitrogen Corp.). Los ejemplos de software que pueden realizar comparaciones de secuencias incluyen, pero no se limitan a, el paquete BLAST (véase Ausubel et al. 1999 Short Protocols in Molecular Biology, 4ª Ed - Capítulo 18), BLAST 2 (véase FEMS Microbiol Lett 1999 174 (2) : 247 - 50; FEMS Microbiol Lett 1999 177 (1): 187 - 8 y tatiana@ncbi.nlm.nih.gov), FASTA (Altschul y col., 1990, J. Mol. Biol. 403 - 410) y AlignX, por ejemplo. Al menos BLAST, BLAST 2 y FASTA están disponibles para la búsqueda fuera de línea y en línea (véase Ausubel et al 1999, páginas 7-58 a 7-60).

[0321] Aunque el % de homología final se puede medir en términos de identidad, el propio proceso de alineación típicamente no se basa en una comparación de pares de todo o nada. En cambio, generalmente se usa una matriz de puntaje de similitud escalada que asigna puntajes a cada comparación por pares en función de la similitud química o la distancia evolutiva. Un ejemplo de una matriz de este tipo comúnmente utilizada es la matriz BLOSUM62, la matriz predeterminada para el conjunto de programas BLAST. Los programas vectoriales NTI generalmente utilizan los valores predeterminados públicos o una tabla de comparación de símbolos personalizada si se suministran (consulte el manual de usuario para obtener más información). Para algunas aplicaciones, se prefiere usar los valores predeterminados para el paquete Vector NTI.

[0322] Como alternativa, las homologías porcentuales pueden calcularse utilizando la característica de alineación múltiple en Vector NTI (Invitrogen Corp.), basado en un algoritmo, análogo a CLUSTAL (Higgins DG y Sharp PM (1988), Gene 73 (1), 237- 244).

[0323] Una vez que el software ha producido una alineación óptima, es posible calcular el % de homología, por ejemplo, el % de identidad de secuencia. El software generalmente hace esto como parte de la comparación de secuencia y genera un resultado numérico.

[0324] En caso de que se usen penalizaciones de hueco al determinar la identidad de secuencia, entonces se pueden usar los siguientes parámetros para la alineación por pares, por ejemplo:

PARA BLAST	
HUECO ABIERTO	0
EXTENSIÓN DE HUECO	0

PARA CLUSTAL	ADN	PROTEÍNA	
TAMAÑO DE PALABRA	2	1	K triple
PENALIZACIÓN DE HUECO	15	10	
EXTENSIÓN DE HUECO	6,66	0,1	

[0325] En una realización, CLUSTAL se puede usar con la penalización de hueco y el conjunto de extensión de hueco tal como se definió anteriormente.

[0326] En una realización, el grado de identidad con respecto a una secuencia de nucleótidos se determina en al menos 20 nucleótidos contiguos, por ejemplo, sobre al menos 30 nucleótidos contiguos, por ejemplo, sobre al menos 40 nucleótidos contiguos, por ejemplo, sobre al menos 50 nucleótidos contiguos, por ejemplo, sobre al menos 60 nucleótidos contiguos, por ejemplo, sobre al menos 100 nucleótidos contiguos, por ejemplo sobre al menos 200 nucleótidos contiguos, por ejemplo sobre al menos 300 nucleótidos contiguos.

[0327] En una realización, el grado de identidad con respecto a una secuencia de nucleótidos puede determinarse a lo largo de toda la secuencia.

Recombinante

[0328] En un aspecto, el polipéptido de flagelina de *Roseburia* y/o la secuencia de polinucleótidos para uso en la presente invención es una secuencia recombinante, es decir, una secuencia que se ha preparado usando técnicas de ADN recombinantes.

[0329] Estas técnicas de ADN recombinantes están dentro de las capacidades de una persona de experiencia ordinaria en la técnica. Dichas técnicas se explican en la bibliografía, por ejemplo, J. Sambrook, E. F. Fritsch, y T. Maniatis, 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Segunda Edición, Libros 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sintético

[0330] En un aspecto, la secuencia de polinucleótido de flagelina de *Roseburia* para su uso en la presente invención es una secuencia sintética - es decir, una secuencia que se ha preparado mediante síntesis química o enzimática *in vitro*. Incluye, pero no se limita a, secuencias hechas con el uso óptimo de codones para organismos hospedadores, tales como las levaduras metilotróficas *Pichia* y *Hansenula*.

Expresión de enzimas

[0331] La secuencia de nucleótidos para uso en la presente invención se puede incorporar en un vector recombinante replicable. El vector puede usarse para replicar y expresar la secuencia de nucleótidos, en forma de proteína, en y/o de una célula huésped compatible.

[0332] La expresión puede controlarse usando secuencias de control, por ejemplo, secuencias reguladoras.

[0333] La proteína producida por una célula huésped recombinante por expresión de la secuencia de nucleótidos puede secretarse o puede contenerse intracelularmente dependiendo de la secuencia y/o el vector utilizado. Las secuencias codificantes pueden diseñarse con secuencias de señal que dirigen la secreción de las secuencias codificantes de la sustancia a través de una membrana celular procariota o eucariota particular.

Vector de expresión

[0334] En un aspecto, la presente invención se refiere a un vector (tal como un vector de expresión) que comprende al menos una secuencia de polinucleótidos que codifica al menos una flagelina de *Roseburia*.

[0335] El término "vector de expresión" significa una construcción capaz de expresión *in vivo* o *in vitro*.

[0336] En una realización, el vector de expresión se incorpora en el genoma de un organismo huésped adecuado. El término "incorporado" en un aspecto cubre la incorporación estable en el genoma.

[0337] La secuencia de nucleótidos de la presente descripción puede estar presente en un vector en el que la secuencia de nucleótidos está operativamente unida a secuencias reguladoras capaces de proporcionar la expresión de la secuencia de nucleótidos por una célula huésped adecuada u organismo huésped.

[0338] Los vectores para uso en la presente invención pueden ser transformados en un organismo de la célula huésped o organismo huésped adecuado tal como se describe en el presente documento para proporcionar la expresión de un polipéptido de la presente descripción.

[0339] La elección del vector, por ejemplo, un plásmido, cósmido o vector de fago dependerá a menudo de la célula huésped en la que se va a introducir.

[0340] Los vectores para uso en la presente invención pueden contener uno o más genes marcadores seleccionables, tales como un gen, que confiere resistencia a antibióticos, por ejemplo, resistencia a ampicilina, kanamicina, cloranfenicol o tetraciclina. Alternativamente, la selección se puede realizar por cotransformación (como se describe en WO91/17243).

[0341] Los vectores pueden usarse *in vitro*, por ejemplo para la producción de ARN o usarse para transfectar, transformar, transducir o infectar una célula huésped.

[0342] Por lo tanto, en una realización adicional, la descripción proporciona un método para preparar secuencias de nucleótidos de la presente descripción introduciendo una secuencia de nucleótidos de la presente descripción en un vector replicable, introduciendo el vector en una célula huésped compatible, y haciendo crecer la célula huésped en condiciones que provocan la replicación del vector.

[0343] El vector puede comprender además una secuencia de nucleótidos que permite que el vector se replique en la célula huésped en cuestión. Los ejemplos de tales secuencias son los orígenes de la replicación de los plásmidos pUC19, pACYC177, pUB110, pE194, pAMB1 y pIJ702.

[0344] Un vector de expresión puede comprender al menos dos, tres, cuatro o cinco secuencias de polinucleótidos que codifican flagelinas de *Roseburia*.

[0345] Los ejemplos de vectores de expresión incluyen pGEX-6P-1, pCR-Blunt II-TOPO y T7-MAT-Tag-FLAG-.

[0346] El vector de expresión pGEX-6P-1 se puede usar para clonar flagelinas recombinantes. El vector de expresión pGEX-6P-1 comprende un promotor tac para expresión de alto nivel químicamente inducible de proteínas recombinantes marcadas con GST, un gen interno lacq para uso en cualquier huésped de *E. coli*, un gen AmpR para selección de ampicilina y un sitio de PreScission Protease para escisión, si se desea, la proteína del producto de fusión.

[0347] El vector de clonación pCR-Blunt II-TOPO se puede usar para clonar flagelinas recombinantes, en particular las que son insolubles después de la lisis celular. Típicamente, este vector permite la clonación de ADN de alta eficiencia de productos de PCR de extremos romos. El vector comprende genes de resistencia a kanamicina y zeocina para la selección en *E. coli*, y el inserto está flanqueado por múltiples sitios de restricción para la escisión.

[0348] El vector de expresión T7-MAT-Tag-FLAG- puede usarse para clonar flagelinas recombinantes, en particular aquellas que son insolubles después de la lisis celular. El sitio de clonación múltiple (MCS) está flanqueado por la secuencia MAT (Metal Affinity Tag) y la secuencia del péptido FLAG (Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Lys), que da como resultado la producción de flagelina de doble etiqueta, que puede ser más purificada por columnas de afinidad. Este vector de expresión también comprende un promotor pT7/lac (fago T7 lac operon) para IPTG inducible, expresión de alto nivel de flagelinas recombinantes MAT-ORF-FLAG, un gen lacI interno que reprime la transcripción en estado basal en cualquier huésped de *E. coli*, y un gen AmpR para la selección de ampicilina.

Secuencias regulatorias

[0349] En algunas aplicaciones, la secuencia de nucleótidos para usar en la presente invención está operativamente unida a una secuencia reguladora que es capaz de proporcionar la expresión de la secuencia de nucleótidos, tal como mediante la célula huésped elegida. A modo de ejemplo, la presente invención cubre un vector que comprende la secuencia de nucleótidos de la presente invención operativamente unida a dicha secuencia reguladora, es decir, el vector es un vector de expresión.

[0350] El término "unido operativamente" se refiere a una yuxtaposición en la que los componentes descritos están en una relación que les permite funcionar de la manera pretendida. Una secuencia reguladora "operativamente unida" a una secuencia codificante se liga de tal manera que la expresión de la secuencia codificante se consigue en condiciones compatibles con las secuencias de control.

[0351] El término "secuencias reguladoras" incluye promotores y potenciadores y otras señales de regulación de la expresión.

[0352] El término "promotor" se usa en el sentido normal de la técnica, por ejemplo, un sitio de unión de polimerasa de ARN.

[0353] La expresión potenciada de la secuencia de nucleótidos que codifica una flagelina de la presente descripción también puede lograrse mediante la selección de regiones reguladoras heterólogas, por ejemplo, promotor, líder de secreción y regiones de terminación.

[0354] En una realización, la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la presente descripción está operativamente unida a al menos un promotor.

[0355] Otros promotores pueden incluso usarse para dirigir la expresión del polipéptido de la presente descripción.

[0356] Ejemplos de promotores adecuados para dirigir la transcripción de la secuencia de nucleótidos en una bacteria, hongos o huésped de levadura son bien conocidos en la técnica.

[0357] El promotor puede incluir adicionalmente características para asegurar o aumentar la expresión en un huésped adecuado. Por ejemplo, las características pueden ser regiones conservadas, como una caja Pribnow o una caja TATA.

5 Constructos

[0358] El término "constructo" - que es sinónimo de términos tales como "conjugado", "casete" e "híbrido" - incluye una secuencia de nucleótidos para su uso según la presente invención directa o indirectamente unida a un promotor.

10 [0359] Un ejemplo de una unión indirecta es la provisión de un grupo espaciador adecuado tal como una secuencia de intrón, tal como el intrón Sh1 o el intrón ADH, intermedio del promotor y la secuencia de nucleótidos de la presente descripción. Lo mismo es cierto para el término "fusionado" en relación con la presente descripción que incluye la unión directa o indirecta. En algunos casos, los términos no cubren la combinación natural de la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína normalmente asociada con el promotor del gen de tipo salvaje y cuando
15 ambos están en su entorno natural.

[0360] La construcción puede incluso contener o expresar un marcador, lo que permite la selección de la construcción genética.

20 [0361] Para algunas aplicaciones, la construcción de la presente descripción comprende al menos la secuencia de nucleótidos de la presente descripción unida operativamente a un promotor.

Células huésped

25 [0362] El término "célula huésped" - en relación con la presente descripción incluye cualquier célula que comprende la secuencia de nucleótidos y/o un vector de expresión como se describe en este documento. Típicamente, la célula huésped es capaz de la producción recombinante de una proteína que tiene las propiedades específicas como se define aquí.

30 [0363] Los ejemplos de células huésped incluyen bacterias tales como *Roseburia* spp. y células competentes. Los ejemplos de *Roseburia* spp son *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis* y *Roseburia inulinivorans*. Los ejemplos de células competentes incluyen células de *E. coli* competentes (tales como *E. coli* BL21 (DE3) pLysS y/o *E. coli* B21 Rosetta).

35 [0364] Por lo tanto, una realización adicional de la presente descripción proporciona células huésped transformadas o transfectadas con una secuencia de nucleótidos de la presente descripción. Además, o alternativamente, una realización adicional de la presente descripción proporciona células huésped transformadas o transfectadas con una secuencia de nucleótidos (por ejemplo, un promotor tal como un promotor heterólogo o un exógeno) que es capaz de regular positivamente (sobreexpresar) la expresión de una secuencia de nucleótidos (p. ej. gen - tal como
40 un gen homólogo o un gen endógeno) que codifica una flagelina de la presente descripción cuando se compara con el microorganismo equivalente antes de la transformación. Las células se elegirán para que sean compatibles con dicho vector y pueden ser, por ejemplo, células bacterianas (por ejemplo, procariotas), fúngicas o de levadura.

45 [0365] La secuencia de nucleótidos que codifica la flagelina de la presente descripción puede ser heteróloga u homóloga a la célula huésped. Típicamente, cuando la secuencia de nucleótidos que codifica la flagelina es homóloga a la célula huésped, la célula huésped comprende múltiples copias de la secuencia de nucleótidos. Además o alternativamente, la secuencia de nucleótidos que codifica la flagelina está operativamente unida a un promotor heterólogo; típicamente, dicho promotor es capaz de regular positivamente (sobreexpresar) la secuencia de nucleótidos homóloga que codifica la flagelina.

50 [0366] En un ejemplo, la célula huésped comprende la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de flagelina de la presente descripción (tal como una secuencia de nucleótidos homóloga o endógena) bajo el control de un promotor heterólogo o exógeno.

55 [0367] En una realización, la célula huésped se transforma o transfecta con una o más secuencias de nucleótidos que codifica al menos una flagelina (por ejemplo, flagelina de *Roseburia*) seleccionada del grupo que consiste en Fla1, Fla2, Fla3 y Fla4. En otra realización, la célula huésped se transforma o transfecta con una o más secuencias de nucleótidos que codifican al menos una flagelina (por ejemplo, flagelina de *Roseburia*) seleccionada del grupo que consiste en Fla2, Fla1 y Fla4. En una realización adicional, la célula huésped se transforma o se transfecta con
60 una secuencia de nucleótidos que codifica la flagelina (por ejemplo flagelina *Roseburia*) Fla2.

[0368] La célula huésped puede comprender múltiples copias de secuencias de polinucleótidos que codifican flagelinas de *Roseburia*.

65 [0369] Una célula huésped puede comprender al menos 1, 2, 3, 4 o 5 secuencias de polinucleótidos que codifican al menos 1, 2, 3, 4 o 5 flagelinas *Roseburia*.

[0370] En una realización, la célula huésped comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica al menos una flagelina de *Roseburia* derivada o derivable de una especie de *Roseburia* y al menos otra secuencia de polinucleótidos que codifica al menos una flagelina de *Roseburia* derivada o derivable de una especie de *Roseburia* diferente. Por ejemplo, la célula huésped comprende al menos una secuencia de polinucleótidos que codifica una flagelina de *R. hominis* (por ejemplo, Fla1 o Fla2) y al menos una secuencia de polinucleótidos que codifica una flagelina de *R. intestinalis* (por ejemplo, Fla1 o Fla2).

[0371] Una célula huésped puede comprender al menos 1, 2, 3, 4 o 5 vectores de expresión que comprenden al menos 1, 2, 3, 4 o 5 secuencias de polinucleótidos que codifican la flagelina de *Roseburia*.

[0372] En una realización, la célula huésped comprende un vector de expresión que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica flagellinas de *Roseburia* derivadas o derivables de una especie de *Roseburia* y al menos un vector de expresión adicional que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica flagellinas de *Roseburia* derivadas o derivables de una especie de *Roseburia*. Por ejemplo, la célula huésped comprende al menos un vector de expresión que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una flagelina de *R. hominis* (por ejemplo Fla1 o Fla2) y al menos un vector de expresión que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una flagelina de *R. intestinalis* (por ejemplo, Fla1 o Fla2).

[0373] La secuencia de nucleótidos que codifica la flagelina puede ser endógena o exógena a la célula huésped. Típicamente, cuando la secuencia de nucleótidos que codifica la flagelina es endógena a la célula huésped, la célula huésped comprende múltiples copias de la secuencia de nucleótidos. Además o alternativamente, la secuencia de nucleótidos que codifica la flagelina está operativamente unida a un promotor exógeno; típicamente dicho promotor es capaz de regular positivamente (que sobreexpresa) la secuencia de nucleótidos endógena que codifica la flagelina.

[0374] Los ejemplos de organismos huésped bacterianos adecuados son especies bacterianas gram positivas o gram negativas.

[0375] En una realización, la célula huésped es un microorganismo.

[0376] En una realización, la célula huésped es una especie bacteria de ácido láctico, especie *Lactococcus*, una especie *Bifidobacterium*, una especie *Lactobacillus* o una especie *Propionibacterium*.

[0377] Los ejemplos de bacterias de ácido láctico incluyen, pero no se limitan a, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Carnobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Oenococcus* spp., *Sporolactobacillus* spp., *Tetragenococcus* spp., *Vagococcus* spp., y *Weisella* spp.

[0378] Ejemplos de *Lactobacillus* spp incluyen *Lactobacillus paracasei*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. jensenii*, *L. rhamnosus*, *L. crispatus*, *L. johnsonii*, *L. salivarius*, *L. acetotolerans*, *L. acidifarinae*, *L. acidipiscis*, *L. agilis*, *L. Álgido*, *L. alimentarius*, *L. amylolyticus*, *L. amylophilus*, *L. amylophobicus*, *L. amylovorus*, *L. animalis*, *L. Antri*, *L. apodemi*, *L. aviarius*, *L. bifermentans*, *L. buchneri*, *L. camelliae*, *L. cateniformis*, *L. ceti*, *L. coleohominis*, *L. collinoides*, *L. composti*, *L. concavus*, *L. coryniformis*, *L. crustorum*, *L. curvatus*, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. dextrinicus*, *L. diolivorans*, *L. equi*, *L. equigenerosi*, *L. farraginis*, *L. farciminis*, *L. fornicalis*, *L. fructivorans*, *L. frumenti*, *L. fuchuensis*, *L. galUnarum*, *L. gastricus*, *L. ghanensis*, *L. graminis*, *L. hammesii*, *L. hamsteri*, *L. harbinensis*, *L. hayakitensis*, *L. hilgardii*, *L. homohiochii*, *L. iners*, *L. ingluviei*, *L. intestinalis*, *L. kalixensis*, *L. kefiranoformis*, *L. kefir*, *L. kimchii*, *L. kitasafonis*, *L. kunkeei*, *L. leichmannii*, *L. lindneri*, *L. malefermentans*, *L. mail*, *L. manihotivorans*, *L. mindensis*, *L. mucosae*, *L. murinus*, *L. nagelii*, *L. namurensis*, *L. nantensis*, *L. oligofermentans*, *L. oris*, *L. panis*, *L. pantheris*, *L. parabrevis*, *L. parabuchneri*, *L. paracollinoides*, *L. parafarraginis*, *L. parakefiri*, *L. paralimentarius*, *L. paraplantarum*, *L. pentosus*, *L. perolens*, *L. pontis*, *L. psittaci*, *L. rennini*, *L. rimae*, *L. rogosae*, *L. rossiae*, *L. ruminis*, *L. saerimneri*, *L. sakei*, *L. sanfranciscensis*, *L. satsumensis*, *L. secaliphilus*, *L. sharpeae*, *L. siliginis*, *L. spicheri*, *L. suebicus*, *L. thailandensis*, *L. ultunensis*, *L. vaccinofermentans*, *L. vaginalis*, *L. versmoldensis*, *L. vini*, *L. vitulinus*, *L. zeae*, y *L. zymae*.

[0379] Ejemplos de *Propionibacterium* incluyen, pero no se limitan a *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* (PAB), *Propionibacterium acidifaciens*, *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium australiense*, *Propionibacterium avidum*, *Propionibacterium cyclohexanicum*, *Propionibacterium freudenreichii subsp. freudenreichii*, *Propionibacterium granulosum*, *Propionibacterium jensenii*, *Propionibacterium microaerophilum*, *Propionibacterium propionicum*, y *Propionibacterium thoenii*.

[0380] En una realización, el *Propionibacterium* es *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* (PAB).

[0381] Los ejemplos de *Bifidobacterium* incluyen, pero no se limitan a, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. thermophilum*, *B. bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium angulatum* y *B. lactis*.

[0382] En otra realización, la célula huésped es una Firmicute - por ejemplo, una especie *Roseburia* como *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, o *Roseburia inulinivorans*). En una realización, la célula huésped comprende al menos una secuencia de polinucleótido heterólogo que codifica una flagelina *Roseburia*. Además o alternativamente, la célula huésped comprende al menos dos copias de una secuencia de polinucleótidos homóloga que codifica una flagelina *Roseburia*; por ejemplo, la célula huésped comprende al menos 3, 4 o 5 copias homólogas de una secuencia de polinucleótido que codifica una flagelina *Roseburia*.

[0383] Dependiendo de la naturaleza de la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de la presente descripción, y/o la conveniencia de un procesamiento adicional de la proteína expresada, huéspedes eucariotas tales como levaduras u otros hongos pueden ser utilizados. En general, las células de levadura se utilizan sobre las células fúngicas porque son más fáciles de manipular. Sin embargo, algunas proteínas son pobremente secretadas de la célula de levadura, o en algunos casos no se procesan adecuadamente (por ejemplo, hiperglucosilación en la levadura). En estos casos, un organismo huésped fúngico diferente debe ser seleccionado.

[0384] El uso de células huésped adecuadas - tales como células huésped de levadura, fúngicas y plantares - podrán prever modificaciones post-traduccionales (por ejemplo miristoilación, glicosilación, truncamiento, lipidación y fosforilación de tirosina, serina o treonina) como puede ser necesario para conferir actividad biológica óptima a los productos de expresión recombinantes de la presente descripción.

[0385] La célula huésped puede ser una proteasa deficiente o proteasa menos cepa. Puede ser por ejemplo la cepa deficiente de proteasa de *Aspergillus oryzae* JaL 125 habiéndose eliminado el gen de proteasa de alcalina llamado "alp". Esta cepa se describe en el documento WO97/35956.

[0386] El término "célula huésped" no cubre secuencias de codificación de nucleótidos nativas en su medio natural cuando están bajo el control de su promotor nativo que está también en su entorno natural.

Organismo

[0387] El término "organismo" en relación con la presente descripción incluye cualquier organismo que podría comprender la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de acuerdo con la presente descripción y/o productos obtenidos de los mismos, y/o en el que un promotor puede permitir la expresión de la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la presente descripción cuando está presente en el organismo.

[0388] Los organismos adecuados pueden incluir una bacteria (tal como un procarionta), un hongo, una levadura o una planta.

[0389] El término "organismo transgénico" en relación con la presente descripción incluye cualquier organismo que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de acuerdo con la presente descripción y/o los productos obtenidos a partir del mismo, y/o en el que un promotor puede permitir la expresión de la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la presente descripción dentro del organismo. En una realización, la secuencia de nucleótidos se incorpora en el genoma del organismo.

[0390] El término "organismo transgénico" no cubre secuencias de codificación de nucleótidos nativas en su medio natural cuando están bajo el control de su promotor nativo que está también en su entorno natural.

[0391] Por lo tanto, el organismo transgénico de la presente descripción incluye un organismo que comprende una cualquiera de, o combinaciones de, la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de acuerdo con la presente descripción, construcciones de acuerdo con la presente descripción, los vectores de acuerdo con la presente descripción, los plásmidos de acuerdo con la presente descripción, las células de acuerdo con la presente descripción, o los productos de los mismos.

[0392] Por ejemplo el organismo transgénico puede comprender la secuencia de nucleótidos que codifica para el polipéptido de la presente descripción (tal como una secuencia de nucleótidos homóloga) bajo el control de un promotor heterólogo.

Transformación de células huésped/organismo

[0393] Como se indicó anteriormente, el organismo huésped puede ser un procarionta o un organismo eucariota. Ejemplos de huéspedes procariontas adecuados incluyen *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, *Roseburia inulinivorans*, *E. coli* y *Bacillus subtilis*.

[0394] Las enseñanzas sobre la transformación de huéspedes procariontas están bien documentadas en la técnica, por ejemplo véase Sambrook et al (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press). Si se utiliza un huésped procariontico entonces puede ser necesario modificarse adecuadamente antes de la transformación de la secuencia de nucleótidos - tal como por eliminación de intrones.

[0395] Las células de hongos filamentosos pueden transformarse utilizando varios métodos conocidos en la técnica -

tales como un proceso que implica la formación de protoplastos y la transformación de los protoplastos seguido de la regeneración de la pared celular de una manera conocida. El uso de *Aspergillus* como microorganismo huésped se describe en EP 0 238 023.

5 [0396] Otro organismo huésped puede ser una planta. Una revisión de las técnicas generales utilizadas para transformar plantas puede encontrarse en los artículos por Potrykus (Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol [1991] 42: 205-225) y Christou (Agro-Food-Industry Hi-Tech marzo/abril de 1994 17-27). Enseñanzas adicionales sobre la transformación de plantas se pueden encontrar en el documento EP-A-0449375.

10 [0397] Enseñanzas generales sobre la transformación de hongos, levaduras y plantas se presentan en las siguientes secciones.

Hongo transformado

15 [0398] Un organismo huésped puede ser un hongo - tal como un molde. Ejemplos de tales huéspedes adecuados incluyen cualquier miembro que pertenece a los géneros *Thermomyces*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Neurospora*, *Trichoderma* y similares.

20 [0399] En una realización, el organismo huésped puede ser un hongo filamentoso.

[0400] La transformación de hongos filamentosos se discute en US-A-5741665 que afirma que las técnicas estándar para transformación de hongos filamentosos y el cultivo de los hongos que son bien conocidos en la técnica. Una extensa revisión de las técnicas aplicadas a *N. crassa* se encuentra, por ejemplo en Davis y de Serres, Methods Enzymol (1971) 17A: 79-143.

25 [0401] Otras enseñanzas que también se pueden utilizar en la transformación de hongos filamentosos se revisan en US-A-5674707.

30 [0402] Además, la expresión de genes en hongos filamentosos se enseña en Punt et al. (2002) Trends Biotechnol 2002 Mayo; 20 (5): 200-6, Archer y Peberdy Crit Rev Biotechnol (1997) 17 (4): 273-306.

[0403] La presente descripción abarca la producción de hongos filamentosos transgénicos de acuerdo con la presente descripción preparada por el uso de estas técnicas estándar.

35 [0404] En un aspecto, el organismo huésped puede ser del género *Aspergillus*, tal como *Aspergillus niger*.

[0405] Un *Aspergillus* transgénico de acuerdo con la presente descripción puede prepararse también mediante el seguimiento, por ejemplo, de las enseñanzas de Turner G. 1994 (Vectors for genetic manipulation. In: Martinelli S.D., Kinghorn J.R.(Editors) *Aspergillus: 50 years on*. Progress in industrial microbiology vol 29. Elsevier Amsterdam 1994. pp 641-666).

Levadura transformada

45 [0406] En otra realización, el organismo transgénico puede ser una levadura.

[0407] Una revisión de los principios de la expresión génica heteróloga en la levadura están dentro de, por ejemplo, Methods Mol Biol (1995), 49: 341-54, y Curr Opin Biotechnol (1997) Oct; 8 (5): 554-60.

50 [0408] A este respecto, la levadura - tales como la especie *Saccharomyces cerevisi* o *Pichia pastoris* (véase FEMS Microbiol Rev (2000 24 (1): 45-66)., se puede utilizar como un vehículo para la expresión génica heteróloga.

[0409] Una revisión de los principios de expresión génica heteróloga en *Saccharomyces cerevisiae* y la secreción de productos génicos viene dada por E Hinchcliffe E Kenny (1993, "Yeast as a vehicle for the expression of heterologous genes ", Yeasts, Vol 5, Anthony H. Rose y J. Stuart Harrison, eds, 2ª edición, Academic Press Ltd.).

55 [0410] Para la transformación de levadura, varios protocolos de transformación se han desarrollado. por ejemplo, un *Saccharomyces* transgénico de acuerdo con la presente descripción se puede preparar siguiendo las enseñanzas de Hinnen et al., (1978, Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 75, 1929); Beggs, J D (1978, Nature, Londres, 275, 104); e Ito, H et al (1983, J. Bacteriology 153, 163-168).

60 [0411] Las células de levadura transformadas pueden seleccionarse utilizando varios marcadores selectivos - tales como marcadores auxotróficos marcadores de resistencia a antibióticos dominantes.

Plantas transformadas/células vegetales

65 [0412] Un organismo huésped adecuado para la presente descripción puede ser una planta. A este respecto, el

principio básico en la construcción de plantas modificadas genéticamente consiste en insertar información genética en el genoma de la planta a fin de obtener un mantenimiento estable del material genético insertado. Una revisión de las técnicas generales puede encontrarse en los artículos por Potrykus (Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol [1991] 42: 205-225) y Christou (Agro-Food-Industry Hi-Tech marzo/abril de 1994 17-27).

[0413] La infección directa de los tejidos vegetales por *Agrobacterium* es una técnica simple que ha sido ampliamente empleada y que se describe en Butcher D.N. et al., (1980), Tissue Culture Methods for Plant Pathologists, eds.: DS Ingrams y JP Helgeson, 203-208.

[0414] Otras técnicas para la transformación de plantas incluyen la transformación balística, la técnica de carburo de whisker de silicio (véase Frame BR, Drayton PR, Bagnaall SV, Lewnau CJ, Bullock WP, Wilson HM, Dunwell JM, Thompson JA y Wang K (1994) Production of fertile transgenic maize plants by silicon carbide whisker-mediated transformation, The Plant Journal 6: 941-948) y técnicas de transformación virales (por ejemplo, véase Meyer P, Heidmann I y Niedenhof I (1992) The use of cassava mosaic virus as a vector system for plants, Gene 110: 213-217).

[0415] Las enseñanzas adicionales sobre la transformación de plantas se pueden encontrar en el documento EP-A-0449375.

[0416] Las células vegetales pueden cultivarse y mantenerse de acuerdo con métodos de cultivo de tejidos bien conocidos, tales como por cultivar las células en un medio de cultivo adecuado suministrado con los factores de crecimiento necesarios tales como aminoácidos, hormonas vegetales, vitaminas, etc.

[0417] En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a un sistema vector que lleva una secuencia de nucleótidos o constructo de acuerdo a la presente descripción y que es capaz de introducir la secuencia de nucleótidos o constructo en el genoma de un organismo, tal como una planta. El sistema vector puede comprender un vector, pero puede comprender dos vectores. En el caso de dos vectores, el sistema vector se denomina normalmente como un sistema vector binario. Sistemas de vectores binarios se describen con mayor detalle en Gynheung An et al., (1980), Binary Vectors, Plant Molecular Biology Manual A3, 1-19.

[0418] Un sistema ampliamente empleado para la transformación de células de plantas utiliza el plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* o un plásmido Ri de *Agrobacterium rhizogenes* An et al., (1986), Plant Physiol. 81, 301-305 y Butcher D.N. et al., (1980), Tissue Culture Methods for Plant Pathologists, eds.: D.S. Ingrams y J.P. Helgeson, 203-208. Después de cada método de introducción del promotor deseado o constructo o secuencia de nucleótidos de acuerdo con la presente descripción en las plantas, la presencia y/o inserción de otras secuencias de ADN puede ser necesario. Si, por ejemplo, para la transformación se utiliza el plásmido Ti o Ri de las células de la planta, por lo menos el límite derecho y a menudo sin embargo, el límite derecho e izquierdo del plásmido Ti y Ri de ADN-T, como áreas de flanco de los genes introducidos, se puede conectar. El uso de T-ADN para la transformación de células vegetales ha sido intensamente estudiado y se describe en el documento EP-A-120516; Hoekema, en: The Binary Plant Vector System Offset-drukkerij Kanter B.B., Alblasserdam, 1985, Capítulo V; Fraley, et al., Crit. Plant Rev. Sci, 4: 1-46; y An et al, EMBO J. (1985) 4:277-284.

Cultivo y producción

[0419] Las células huésped transformadas con la secuencia de nucleótidos de la presente descripción y/o un vector de expresión de la presente descripción pueden cultivarse en condiciones que conducen a la producción del polipéptido codificado, y que facilitan la recuperación del polipéptido de las células y/o medio cultural.

[0420] El medio usado para cultivar las células puede ser cualquier medio convencional adecuado para el cultivo de la célula huésped en preguntas y obtener la expresión del polipéptido.

[0421] La proteína producida por una célula recombinante puede aparecer en la superficie de la célula.

[0422] La proteína puede secretarse de las células huésped y puede convenientemente recuperarse del medio de cultivo usando procedimientos bien conocidos.

Secreción

[0423] En algunas realizaciones, la proteína es secretada desde el huésped de expresión en el medio de cultivo de donde puede recuperarse la proteína. Según la presente descripción, la secuencia líder de secreción puede seleccionarse sobre la base de la huésped de expresión deseada. Secuencias de señal híbridas también se pueden utilizar con el contexto de la presente descripción.

[0424] Los ejemplos típicos de secuencias líder de secreción heterólogas son las que se originan a partir del gen de amiloglucosidasa fúngico (AG) (*glaA* - versiones de aminoácidos tanto 18 como 24, por ejemplo de *Aspergillus*), el gen del factor A (levaduras, por ejemplo *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* y *Hansenula*) o el gen α -amilasa (*Bacillus*).

[0425] A modo de ejemplo, la secreción de proteínas heterólogas en *E. coli* se revisa en Methods Enzymol (1990) 182: 132-43.

Detección

[0426] Una variedad de protocolos para detectar y medir la expresión de la secuencia de aminoácidos son conocidos en la técnica. Los ejemplos incluyen ensayo ligado a enzima de inmunoabsorción (ELISA), radioinmunoensayo (RIA) y clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS).

[0427] Una amplia variedad de marcadores y técnicas de conjugación son conocidas por los expertos en la técnica y se pueden usar en diversos ensayos de ácidos nucleicos y aminoácidos.

[0428] Un número de compañías tales como kits comerciales de suministro de Pharmacia Biotech (Piscataway, NJ), Promega (Madison, WI), y US Biochemical Corp (Cleveland, OH) y protocolos para estos procedimientos.

[0429] Las moléculas indicadoras o marcadores adecuados incluyen los radionúclidos, enzimas, agentes fluorescentes, quimioluminiscentes o cromogénicos, así como sustratos, cofactores, inhibidores, partículas magnéticas y similares. Las patentes que enseñan el uso de tales marcadores incluyen los documentos US-A-3.817.837; US-A-3.850.752; US-A-3.939.350; US-A-3.996.345; US-A-4.277.437; US-A-4.275.149 y US-A-4.366.241.

[0430] Además, las inmunoglobulinas recombinantes se pueden producir como se muestra en US-A-4.816.567.

Proteínas de fusión

[0431] La secuencia de aminoácidos para su uso según la presente descripción se pueden producir como una proteína de fusión, por ejemplo para ayudar en la extracción y purificación. Ejemplos de acompañantes de la proteína de fusión incluyen la glutatión-S-transferasa (GST), 6xHis, GAL4 (unión a ADN y/o dominios de activación transcripcional) y (β -galactosidasa). También puede ser conveniente incluir un sitio de escisión proteolítica entre el acompañante de proteína de fusión y la secuencia de proteína de interés para permitir la eliminación de secuencias de proteínas de fusión.

[0432] Típicamente, la proteína de fusión no dificultará la actividad de la secuencia de la proteína.

[0433] Sistemas de expresión de fusión de genes en *E. coli* se han revisado en Curr Opin Biotechnol (1995) 6 (5): 501-6.

[0434] En otra realización, la secuencia de aminoácidos puede ligarse a una secuencia heteróloga para codificar una proteína de fusión. Por ejemplo, para el cribado de bibliotecas de péptidos para agentes capaces de afectar la actividad de la sustancia, puede ser útil codificar una sustancia quimérica que expresa un epítipo heterólogo que es reconocido por un anticuerpo disponible comercialmente.

[0435] La presente invención se describe adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos no limitativos.

EJEMPLOS

[0436] La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de química, biología molecular, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de las capacidades de una persona de experiencia ordinaria en la técnica. Tales técnicas se explican en la literatura. Véase, por ejemplo, J. Sambrook, EF Fritsch, y T. Maniatis, 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Segunda Edición, Libros 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F. M. et al. (1995 y suplementos periódicos; Current Protocols in Molecular Biology, cap 9, 13, y 16, John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y.); B. Roe, J. Crabtree, y A. Kahn, 1996, DNA Isolation and Sequencing: Essential Techniques, John Wiley & Sons; J.M. Polak y James O'D. McGee, 1990, In Situ Hybridization: Principles and Practice; Oxford University Press; M. J. Gait (Editor), 1984, Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, Irl Press; D.M.J. Lilley y J.E. Dahlberg, 1992, Methods of Enzymology: DNA Structure Part A: Synthesis and Physical Analysis of DNA Methods in Enzymology, Academic Press; y E.M. Shevach y W. Strober, 1992 y suplementos periódicos, Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Nueva York, NY.

Material y métodos

FLAGELINAS DEL GÉNERO ROSEBURIA

Diversidad de flagelina

[0437] Flagelinas de bacterias del género *Roseburia*, en particular, *Roseburia hominis* y *Roseburia intestinalis* se clonaron, se expresaron, se purificaron y se analizaron.

[0438] La Figura B1A y B1B muestran un análisis SDS de flagelinas recombinantes.

[0439] Nomenclatura de proteína flagelina:

5 Género *Roseburia*

Especie *Roseburia*

[0440]

10

Roseburia hominis

Roseburia hominis FlaA1 (Esto también se denomina en este documento RhFlaA1 o Rh1)

Roseburia hominis FlaA2 (Esto también se denomina en este documento RhFlaA2 o Rh2)

15

Roseburia intestinalis

Roseburia intestinalis FlaA1 (Esto también se denomina en este documento RiFlaA2 o Ri1 o RI1)

Roseburia intestinalis FlaA2 (Esto también se denomina en este documento RiFlaA2 o Ri2 o RI2)

20

Roseburia intestinalis FlaA3 (Esto también se denomina en este documento RiFlaA3 o Ri3 o RI3)

Roseburia intestinalis FlaA4 (Esto también se denomina en este documento RiFlaA1 o Ri4 o RI4)

Véase:

25

ELY, B., ELY, T.W., CRYMES, W.B., JR y MINNICH, S.A., 2000. A family of six flagellin genes contributes to the *Caulobacter crescentus* flagellar filament. *Journal of Bacteriology*, 182(17), pp. 5001-5004.
IBRAHIM, G.F., FLEET, G.H., LYONS, M.J. y WALKER, R.A., 1985. Method for the isolation of highly purified *Salmonella* flagellins. *Journal of clinical microbiology*, 22(6), pp. 1040-1044.

30

NEVILLE, B.A., FORDE, B.M., CLAESSE, M.J., DARBY, T., COGHLAN, A., NALLY, K., ROSS, R.P. y O'TOOLE, P.W., 2012. Characterization of pro-inflammatory flagellin proteins produced by *Lactobacillus ruminis* and related motile *Lactobacilli*. *PloS one*, 7(7), pp. e40592.

NG, S.Y., CHABAN, B. and JARRELL, K.F., 2006. Archaeal flagella, bacterial flagella and type IV pili: a comparison of genes and posttranslational modifications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 11(3-5), pp. 167-191.

35

WATSON, R.O. and GALAN, J.E., 2005. Signal transduction in *Campylobacter jejuni*-induced cytokine production. *Cellular microbiology*, 7(5), pp. 655-665.

Condiciones de crecimiento bacterianas

40

[0441] *R. hominis* A2-183^T (= DSM 16839^T = NCIMB 14029^T) se cultivó anaeróbicamente a 37°C en medio YCFA. El cultivo se centrifugó y el sedimento se resuspendió en un mL del medio YCFA, suplementado con 2% de cisteína (p/v, Sigma-Aldrich) y ácido ascórbico al 3% (p/v, Sigma-Aldrich).

45

[0442] *R. intestinalis* L1-82^T (= DSM 14610^T = NCIMB 13810^T) se cultivó anaeróbicamente a 37°C en medio YCFA. El cultivo se centrifugó y el sedimento se resuspendió en un mL del medio YCFA, suplementado con 2% de cisteína (p/v, Sigma-Aldrich) y ácido ascórbico al 3% (p/v, Sigma-Aldrich).

Ratones

50

[0443] C3H/HeN y ratones C57BL/6 fueron adquiridos de Harlan Laboratories. C3H GF/HeN fueron suministrados y mantenidos en la instalación gnotobiótica de cría de roedores INRA en Jouy-en-Josas (ANAXEM platform, Institut Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, Francia). GF TLR5KO y C57BL/6 de tipo salvaje fueron proporcionados por Andrew Gewirtz (Centro para la inflamación, la inmunidad y la infección y el Departamento de Biología de la Universidad Estatal de Georgia, Atlanta, GA 30303, EE.UU.) y se mantuvieron en la instalación de cría de roedores gnotobióticos INRA en Jouy-en-Josas. TLR5KO Convencional y BOY/J de tipo salvaje fueron proporcionados por Adam Cunningham (Centro MRC para la regulación inmune, Instituto de Microbiología e Infección de la División de la Inmunidad e Infección de la Universidad de Birmingham Reino Unido). La gestión y los procedimientos experimentales fueron aprobados por los comités locales de evaluación ética respectivos.

60

Experimentos con animales

65

[0444] Experimentos en animales libres de gérmenes se realizaron en la instalación gnotobiótica de cría de roedores INRA en Jouy-en-Josas (ANAXEM Platform, Institut Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, Francia). Ratones macho GF C3H/HeN se asignaron en el control ($N=8$) y grupos de tratamiento ($N=10$) y se enjaularon individualmente en aisladores de plástico. En el día 0, 1 y 2, los animales en el grupo de tratamiento recibieron 100 μ L de *R. hominis* cultivado por medio de una sonda, mientras que se les administró a los animales de control 100 μ L de medio YCFA.

Se recogieron muestras de íleon, colon ascendente e intestino ciego a 14d y 28d. Seis ratones machos GF C3H/HeN fueron tratados con *E. coli* MG1655 (K12) como se describió anteriormente, y tres animales se sacrificaron a 10d y 22d para dar N=3. Tres ratones GF *Tlr5*KO y tres ratones C57BL/6 WT se inocularon con cultivo *R. hominis* como se describe anteriormente para evaluar la importancia funcional de flagelinas *R. hominis*. Después de 28d estos animales se sacrificaron junto con sus homólogos GF. Veintidós ratones hembra C57BL/6 se dosificaron a diario con 50 µL de 10⁹ CFU *R. hominis* durante 14 días. Los animales de control se dosificaron con medio de cultivo solo. A partir del día 8, se les dio ratones DSS (MW 50 kDa, 30 g/l) en el agua potable durante 6 días. Los animales fueron sacrificados en el día 14 y se realizó la toma de muestras de tejido como se ha descrito anteriormente.

Experimentos de cultivo de tejidos

[0445] Células Caco-2 (células de adenocarcinoma epiteliales colorrectales *Homo sapiens*) y HT29 (de adenocarcinoma colorrectal *Homo sapiens*) se cultivaron en placas Transwell dentro de una estación de trabajo anaeróbica. El cultivo de A2-183 *R. hominis* o *R. intestinalis* L1-82^T se cosecharon en la fase exponencial, y 100 µL de suspensión bacteriana (10⁸ CFU/ml) se añadió a los pocillos experimentales. Las células bacterianas (no adherentes y adherentes) y eucariotas (células Caco-2 y HT-29) se recogieron después de 2 h y 4 h de incubación y se almacenaron en RNAlater. Para los experimentos de cultivo de tejidos con flagelinas recombinantes, células Caco-2 5x10⁴ se cultivaron en placas de 24 pocillos a 37°C en una atmósfera humidificada de 75% de 5% de CO₂. Las células alcanzaron la confluencia en el día 5-6 y se usaron tres días después de la confluencia. Las células se incubaron con flagelinas recombinante a una concentración final de 100 ng/µl durante 2 horas a 37°C en una atmósfera humidificada de 75% de 5% de CO₂.

Análisis FISH

[0446] El análisis FISH se realizó en secciones de tejido intestinal fijadas con formalina tamponada neutra utilizando una sonda bacteriana general Eub338 y una sonda específica A2-183 de *R. hominis* de nuevo diseño y una sonda específica L1-82^T de *R. intestinalis*.

Construcción de biblioteca *R. hominis*

[0447] ADN cromosómico de *R. hominis* para construcción de bibliotecas de pequeño tamaño y pirosecuenciación se aisló utilizando un kit de Aislamiento de ADN microbio UltraCleanTM (Mo Bio Laboratories Inc) y ADN de alto peso molecular para bibliotecas de fósido se aisló utilizando un kit de purificación de ADN genómico Wizard (Promega).

Análisis de micromatriz

Micromatriz bacteriana

[0448] ARN bacteriana fue aislada de contenidos de intestino ciego del ratón y se procesó adicionalmente utilizando kits comerciales según las recomendaciones del fabricante. Productos de PCR amplificados a partir de 6.000 clones en la biblioteca de plásmidos *E. coli* de *R. hominis* fueron dispuestos por duplicado en portaobjetos de microscopio recubiertos de aminosilano (Corning) utilizando un MicroGrid II TAS (BioRobotics).

Análisis de micromatrices de ratón

[0449] El ARN total se extrajo a partir de íleon y tejido de colon ascendente, procesado en ARNc/ARNa marcado con biotina (dependiendo de kit Affymetrix utilizado), y se hibridó a la matriz de ratón GeneChip NuGO y matriz de genoma del ratón GeneChip (Affymetrix) usando técnicas estándar. El análisis de datos se realizó con los paquetes de software R (<http://www.r-project.org>) y bioconductor (<http://www.bioconductor.org>).

Análisis de RT-PCR

[0450] Cebadores específicos a *R. hominis* de 5'-CCCACTGACAGAGTATGTAATGTAC-3' y 5'-GCACCACCTGTCACCAC-3' se utilizaron para análisis de PCR de muestras fecales para validar los niveles de colonización de los intestinos. El análisis de PCR en tiempo real se realizó con un 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) con el Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems). Todas las muestras se realizaron por triplicado. *GyrA* se utilizó como gen de referencia para la normalización. Para la expresión de genes de acogida, se transcribió a la inversa ARN eucariota total aislado del íleon y colon ascendente en ADNc utilizando el High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). El análisis de PCR en tiempo real se realizó con un 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) con el QuantiFast SYBR Green PCR Kit (Qiagen) y QuantiTect Primer Assays (Qiagen). Todas las muestras se realizaron por triplicado. *HPRT* fue seleccionado como un gen de referencia para la normalización. Todos los datos de RT-PCR se analizaron en una escala logarítmica con la base 2 por ANOVA de una vía con una significación de corte de P <0,05. Las diferencias se volvieron a transformar para calcular los cambios de veces.

Transferencia Western

[0451] Los anticuerpos policlonales de conejo Immuno-purificados contra FlaA1 y FlaA2 *Roseburia hominis* fueron producidos como se describe en Duck *et al.* (Duck *et al.* 2007). Para la transferencia Western, *R. hominis* se cultivó en presencia de cantidades variables (0,01 g a la dieta 1 g/10 mL de cultivo) de comida estándar del ratón irradiada con UV durante 3 horas, se filtró para eliminar componentes de la dieta y se diluyó en tampón de Laemmli que contiene urea 8M. Las muestras se cargaron en un gel NuPAGE® Novex® 4-12% Bis-Tris (Invitrogen) y electroforesis, seguido de un procesamiento adicional mediante el sistema de inmunodetección cromogénica WesternBreeze (Invitrogen). FlaA1 y anticuerpos FlaA2 se utilizaron a 1:1000 y girasa A anti-ADN de control de carga (Abcam) a 1:300, seguido de anti-conejo conjugado con fosfatasa alcalina. La detección fue por el desarrollo de color del sustrato en relación con el desarrollo de color de control de carga.

Inmunofluorescencia

[0452] Inmuno-localización de flagelina *R. hominis* se examinó en contenidos del colon de ratones utilizando antisueros específicos generados contra secuencias de péptidos definidas a partir de ambas proteínas de flagelina FlaA2 y FlaA1. El frotis de contenido de intestino se fijo en metanol previamente enfriado, se incubó con antisueros de conejo anti-FlaA1 o anti-FlaA2 (CovaLabs) a 4°C durante la noche y se visualizaron utilizando anti conejo de burro Alexa 488 (Molecular Probes).

[0453] Los marcadores de células T se examinaron en sección criogénica secuencial 8 µm. Secciones de tejido fijadas se incubaron con Ly6G-FITC, CD3-FITC, CD11b-FITC (BD Biosciences), anticuerpo primario doble marcado con FoxP3 (Abcam) y CD3-FITC (BD Biosciences) o IgG isoespecífico. Las secciones se contratiñeron con DAPI y se montaron con Vectashield (Vector Laboratories). Para la cuantificación de células positivas, se examinó un mínimo de cinco campos de visión de cada sección del ratón.

Clonación y purificación de flagelinas recombinantes

[0454] Genes de flagelina se aislaron a partir de cultivos bacterianos líquidos de *R. hominis*, *R. intestinalis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *Eubacterium rectale* 33656 y *E. coli* K12 mediante amplificación por PCR y purificación. Las células Caco-2 fueron incubadas con flagelinas recombinantes a una concentración final de 100 ng/µl durante 2 horas a 37°C en una atmósfera humidificada al 75% de CO₂ al 5%.

Aislamiento de células intestinales y MLN

[0455] Las células fueron aisladas a partir del intestino delgado y el nodo linfático mesentérico como se ha descrito previamente con modificaciones menores (Monteleone *et al.* 2008). Brevemente, las suspensiones celulares se incubaron con 100 U/ml de collagenasa VIII (Sigma-Aldrich) en medio RPMI suplementado con 20% FBS a 37°C durante 20 min (nódulos linfáticos mesentéricos) o 1 hora (piezas intestinales). Suspensiones de células individuales se analizaron entonces mediante citometría de flujo (como se describe).

Generación de células dendríticas derivadas de médula ósea y cultivos

[0456] La médula ósea fue cosechada de fémur y tibia de ratones C3H/HeN y ratones C57Bl6. Para las células dendríticas derivadas de GM-CSF, células de médula ósea se resuspendieron a 1x10⁶/ml en RPMI suplementado con FCS al 10% y 20 ng/mL rmGM-CSF y se sembraron a 10 ml/placa de 100 mm² de placas de cultivo de tejidos. Después de tres días de cultivo, células adherentes sin apretar se recogieron y se volvieron a sembrar con medio suplementado con GM-CSF en 1x10⁶/ml en placas de cultivo de tejido de 12 pocillos.

[0457] En el día 5, las células se estimularon con 100 ng/mL de flagelinas antes de cosecharse en el día 6. Para las células dendríticas derivadas de Flt3L, células de médula ósea se resuspendieron a 2x10⁶/ml en RPMI suplementado con 10% de FCS y 200 ng/mL de rmFlt3 y se sembraron a 2 ml/pocillo en placas de cultivo tisular de 12 pocillos. Las células se cultivaron durante 10 días con medio suplementados con Flt3 añadido a cada pocillo en el día 4. En el día 9, las células se estimularon con 100 ng/mL de flagelinas antes de cosecharse en el día 10 y analizarse por citometría de flujo.

Citometría de flujo

[0458] Las suspensiones de células individuales de células de la lámina propia y células dendríticas se incubaron en tampón de bloqueo (suero que contiene anticuerpo y CD16/CD32) a 4°C durante 15 min antes de la tinción con anticuerpos conjugados con fluorocromo específicos. Las células de lámina propia se marcaron con anticuerpos contra CD4 de ratón-FITC y CD25-APC (eBioscience), CD8-APC-Cy7 y CD3-PerCP (Biolegend), y B220-BV570 (BD Biosciences). FoxP3 etiquetado intracelular se llevó a cabo después de la tinción extracelular y la fijación de células/permeabilización de acuerdo con las instrucciones del fabricante (eBioscience). Células dendríticas derivadas de GM-CSF se marcaron con anticuerpos CD11c-PE-Cy7, CD11-PerCP Cy5. I-A/I-E -APC-Cy7, CD80-PE, CD86-APC, CD8-FITC, B220-BV570. Células dendríticas derivadas de Flt3 se marcaron con CD11c-PE-Cy7-, CD11b- o Siglec-H-PerCP Cy5, I-A/I-E -APC-Cy7, CD317 -PE, CD40-APC, CD103-FITC, B220-BV570. Las células fueron analizadas utilizando un FACSArria (BD Biosciences) y el software FlowJo versión 7.2.5.

Matriz de perlas citométricas (CBA)

[0459] Se aislaron células de médula ósea de fémur y la tibia con medios RPMI de ratones C3H/HeN y C57BL/6 y se expandieron con Flt3L como se describió anteriormente. Las células se estimularon con 100 ng/ml de flagelina (por ejemplo, flagelina *Roseburia*) después de 9 días de cultivo, y el sobrenadante se recogió en el día 10. El experimento se realizó en tres ocasiones separadas para crear N=3.

[0460] El análisis CBA se realizó en sobrenadantes de células utilizando el Cytometric Bead Array Mouse Enhanced Sensitivity Master Buffer Kit (BD Biosciences). Las muestras se cargaron en una placa de 96 pocillos para medición en un matriz FACS (BD Biosciences). Los resultados se analizaron usando el software BD FCAP (BD Biosciences).

Histología

[0461] Las muestras de tejido de colon ascendente se fijaron en formalina tamponada neutra (Sigma), incrustada en resina de curado en frío, y 4 µm de secciones de tejido se tiñeron utilizando métodos de hematoxilina/eosina estándar. Un área de la sección transversal completa de colon de cada animal fue fotografiada con un aumento de x200 en un microscopio Zeiss Axioskop con una cámara de QImaging controlada por software Image Pro Plus. Cada campo de visión entonces se puntuó de 0-4 de acuerdo con un método basado en Berg *et al.* (Berg *et al.* 1996). El porcentaje medio de campos de visión en un grado determinado se calculó y grupos de tratamiento se compararon utilizando el análisis de prueba t de Student.

[0462] Otros protocolos detallados se describen en los materiales y métodos complementarios.

Información complementaria (IC) Materiales y Métodos

Condiciones de crecimiento bacteriano

[0463] *R. hominis* A2-183^T (= DSM 16839^T = NCIMB 14029^T) se cultivó anaeróbicamente en YCFA sintético o medio M2GSC complejo. El cultivo se inoculó a partir de material congelado en tubos Hungate y se incubó durante la noche a 37°C. Las bacterias se hicieron crecer en placas de agar M2GSC durante 48 h en una estación de trabajo anaeróbico MACS-MG-1000 (Don Whitley Scientific) bajo N₂ al 80%, CO₂ al 10%, y H₂ al 10% a 37°C. El efecto de la mucina se investigó mediante la adición de 0,5% (p/v) de mucina de estómago porcino tipo III (Sigma-Aldrich) al medio de YCFA.

[0464] Para la colonización de ratones libres de gérmenes (GF), *R. hominis* se hizo crecer en medios YCFA durante la noche a 37°C. El cultivo se centrifugó y el sedimento se resuspendió en un ml del medio YCFA, suplementado con 2% de cisteína (p/v, Sigma-Aldrich) y ácido ascórbico al 3% (p/v, Sigma-Aldrich).

Ratones

[0465] C3H/HeN y C57BL/6 fueron adquiridos de Harlan Laboratories. Los ratones se alojaron en aisladores con flexi-película con filtros HEPA (Bell Isolation Systems) de la Universidad de Aberdeen. GF C3H/HeN fueron suministrados y mantenidos en la instalación de cría de roedores gnotobiótica INRA en Jouy-en-Josas (ANAXEM Plateform, Institut Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, Francia). TLR5KO libres de gérmenes y C57BL/6 de tipo salvaje fueron proporcionados por Andrew Gewirtz (Centro para la inflamación, la inmunidad y la infección y el Departamento de Biología de la Universidad Estatal de Georgia, Atlanta, GA 30303, EE.UU.) y se mantuvieron en las instalaciones de cría de roedores gnotobiótica INRA en Jouy-en-Josas. Los procedimientos de gestión y experimentales fueron aprobados por los comités de examen ético locales respectivos.

Experimentos con ratones

[0466] Dieciocho ratones macho GF C3H/HeN se asignaron en el control (N=8) y grupos de tratamiento (N=10) y se enjaularon individualmente en aisladores de plástico. Los ratones fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial esterilizada (R03-40; UAR). En el día 0, 1 y 2, los animales en el grupo de tratamiento recibieron 100 µL de *R. hominis* de cultivo por medio de una sonda, mientras que se les administró a los animales de control 100 µL de medios YCFA. En 14d y 28d, cuatro animales de control y cinco animales tratados con *R. hominis* se sacrificaron. El íleon y el colon ascendente se divide en cuatro partes iguales y se transfiere a RNAlater (Ambion), formalina tamponada neutra (NBF; Sigma-Aldrich) o nitrógeno líquido. Todo el ciego fue transferido a RNAlater.

[0467] Para demostrar la especificidad de la respuesta a *R. hominis*, seis ratones machos GF C3H/HeN fueron tratados con *E. coli* MG1655 (K12), y tres animales fueron sacrificados a 10d y 22d como se ha descrito anteriormente para dar N=3.

[0468] Tres ratones GF TLR5KO y tres ratones C57BL/6 WT se inocularon con cultivo *R. hominis* como se describe anteriormente para evaluar la importancia funcional de flagelinas de *R. hominis*. Después 28d estos animales se sacrificaron junto con sus homólogos GF.

[0469] Veintidós ratones hembra C57BL/6 (6 semanas de edad) se utilizaron para evaluar el efecto terapéutico de *R.*

hominis durante la colitis inducida por DSS. Después de un período de aclimatación de 7-10 días, los ratones se dosificaron diariamente con 50 µL de 10^9 CFU *R. hominis* durante 14 días. Los animales de control se dosificaron con medio de cultivo solo. A partir del día 8, se les dio a los ratones DSS (MW 50 kDa, 30 g/l) en su agua potable durante 6 días. Los animales fueron sacrificados en el día 14 y la toma de muestras de tejido se realizó como se ha descrito anteriormente.

Experimentos de cultivo de tejidos

[0470] Todos los reactivos de cultivo celular, a menos que se especifique lo contrario, fueron suministrados por Sigma-Aldrich. Para experimentos de cultivo de tejidos en condiciones anaeróbicas, células 2×10^5 Caco-2 o HT29 en 1,5 mL de medio DMEM (alta glucosa, HEPES) complementado con suero bovino fetal inactivado por calor (Gibco), penicilina, estreptomycin, anfotericina B y L-glutamina se sembraron en los compartimentos superiores de una placa transwell de seis pocillos (Corning). Los compartimentos inferiores contenían 3,0 ml del mismo medio. Las células se incubaron a 37°C en una atmósfera CO_2 al 5% hasta tres días post-confluencia, se lavaron con solución de Hanks para eliminar los antibióticos y FCS y en DMEM suplementado con L-glutamina, selenito de sodio y transferrina durante 24 h sin antibióticos. Inserciones de transwell se transfirieron a una caja de cultivo anaerobio dentro de la estación de trabajo anaeróbica a 37°C. El compartimiento superior de cada inserto se llena con medio celular DMEM anaeróbico, mientras que el compartimiento inferior se llenó con DMEM oxigenada.

[0471] Cultivo A2-183 de *R. hominis* se cosechó en fase exponencial mediante centrifugación a 3.500xg durante 5 min. El sedimento se lavó y se resuspendió en 0,8 ml de DMEM anaeróbico. Cien microlitros de suspensión bacteriana (10^8 UFC/ml) se añadió a los pocillos experimentales. Los pocillos de control recibieron la misma cantidad de medio sin células bacterianas. Controles adicionales incluyeron células bacterianas incubadas sin células Caco-2 o HT29. Se recogieron las células bacterianas y eucariotas después de 2 h y 4 h de incubación. Bacterias tanto no adherentes como adherentes se aspiraron y se almacenaron en RNeasy (Ambion). La viabilidad de células *R. hominis* se ensayó en placas sobre placas de YCFA. Células Caco-2 o células HT-29 se recogieron de los pocillos y también se almacenaron en RNeasy.

[0472] El cultivo de *R. intestinalis* L1-82^T (= DSM 14610^T = NCIMB 13810^T) se recogió en fase exponencial por centrifugación a 3.500xg durante 5 min. El sedimento se lavó y se resuspendió en 0,8 ml de DMEM anaeróbico. Cien microlitros de suspensión bacteriana (10^8 UFC/ml) se añadió a los pocillos experimentales. Los pocillos de control recibieron la misma cantidad de medio sin células bacterianas. Controles adicionales incluyeron células bacterianas incubadas sin células Caco-2 o HT29. Se recogieron las células bacterianas y eucariotas después de 2 h y 4 h de incubación. Bacterias tanto no adherentes y adherentes se aspiraron y se almacenaron en RNeasy (Ambion). La viabilidad de células *R. intestinalis* se ensayó en placas sobre placas de YCFA. Células Caco-2 o células HT-29 se recogieron de los pocillos y también se almacenaron en RNeasy.

[0473] Para el tejido experimentos de cultivo con flagelinas recombinantes, 5×10^4 células Caco-2 se sembraron en placas de 24 pocillos en DMEM (alta glucosa, HEPES) suplementado con suero bovino fetal inactivado por calor (Gibco), penicilina, estreptomycin, anfotericina B y L-glutamina a 37°C en una atmósfera humidificada al 75% de CO_2 al 5%. Las células alcanzaron la confluencia en el día 5-6 y se utilizaron 3 días post-confluencia. Antes de cualquier tratamiento, las células se lavaron dos veces con solución salina equilibrada de Hanks y se mantuvieron en DMEM suplementado con L-glutamina, selenio y transferrina durante 24 horas.

Construcción de biblioteca *R. hominis*

[0474] ADN cromosómico de *R. hominis* para construcción de bibliotecas de pequeño tamaño y pirosecuenciación se aisló utilizando un UltraCleanTM Microbial DNA Isolation Kit (Mo Bio Laboratories Inc) y ADN de alto peso molecular para bibliotecas de fósido se aisló utilizando un kit de purificación de ADN genómico asistente (Promega). La integridad del ADN se comprobó mediante electroforesis en gel.

[0475] ADN se sometió a cizallamiento mecánicamente usando un Nebulizer Kit (Invitrogen) y se fraccionó por electroforesis en gel. Fragmentos de ADN del tamaño deseado se escindieron del gel y se purificaron usando un Wizard[®] SV Gel y PCR Clean-Up System (Promega). La reparación final se realiza con un DNA Terminator End Repair Kit (Lucigen). Fragmentos 1,5-3,5 kb fueron clonados utilizando el CloneSmart[®] LCamp Kit (Lucigen) y una biblioteca de 4-8 kb se construyó usando el pJAZZ[®]-OC Vector (Lucigen). Bibliotecas de fósido se construyeron utilizando el CopyControlTM Fosmid Library Production Kit (Epicentre Biotechnologies). Las colonias se recogieron utilizando un recogedor automático de colonias (BioRobotics BioPick, Genomic Solutions) y se archivaron en placas de microtitulación de 384 pocillos que contenían 70 µL de medio 2xLB suplementado con 10% de glicerol y el correspondiente antibiótico. Las células se cultivaron durante la noche a 37°C con agitación y se almacenaron a -80°C.

Secuenciación, ensamblaje y anotación

[0476] Los moldes para la secuenciación de bibliotecas de pequeño tamaño se generaron por PCR usando un µL de biomasa clonada y los cebadores SL1 y SR2 que rodean el sitio dclonación de pSMART-LCamp. Los productos de

PCR fueron purificados usando placas de filtro Multiscreen PCR Clean-up (Millipore). El ADN recombinante a partir de los clones pJAZZ®-OC fue aislado utilizando el Wizard® SV 96 Plasmid DNA Purification System (Promega). ADN de fósido fue aislado utilizando el FosmidMAX™ DNA Purification Kit (Epicenter). Lecturas finales de fragmentos de ADN de bibliotecas WGS de *R. hominis* con diferentes tamaños de los insertos se obtuvieron utilizando secuenciadores de ADN CEQ8000 (Beckman Coulter) y ABI 3770 (Applied Biosystems). El ADN genómico de *R. hominis* también se secuenció utilizando secuenciadores 454 GS20 (454 Life Sciences) y 454 FLX (Roche). Los datos de Sanger y 454 se ensamblaron con MIRA versión 3 (http://chevreux.org/projects_mira.html; (1) La tubería de anotación RAST (<http://rast.nmpdr.org>; (2)) se utilizó para la anotación automática y manual del genoma y para análisis genómicos comparativos. La secuencia genómica anotada de *R. hominis* A2-183 se presentó a GenBank bajo el número de acceso CP003040.

Análisis de micromatrices

Micromatrices bacterianas

[0477] ARN bacteriana fue aislada de contenidos del intestino ciego de ratón utilizando el RNeasy Mini Kit (Qiagen), y además se procesó con el MICROBEnrich™ Kit (Ambion), el MICROBExpress™ Bacterial mRNA Enrichment Kit (Ambion), y el MessageAmp™ II-Bacteria ARN Amplification Kit (Applied Biosystems). ARN se marcó con dCTP-Cy3 o dCTP-Cy5 durante la síntesis de ADNc (CyScribe First Strand cDNA Labelling Kit; Amersham). Los productos marcados se purificaron usando el CyScribe GFX Purification Kit (Amersham). Productos de PCR amplificados a partir de 6000 clones en la biblioteca RA8 de plásmido de *E. coli* de *R. hominis* fueron dispuestos por duplicado en portaobjetos de microscopio recubiertos de aminosilano (Corning) utilizando un MicroGrid II TAS (BioRobotics). Los fragmentos amplificados de los genes de mantenimiento *rpoD* y *gyrA* se distribuyeron al azar en la matriz como controles. La hibridación de micromatrices se realizó en la estación de hibridación GeneTAC (Genomic Solutions). El marcado de tinte fue intercambiado para una segunda hibridación, y una purificación de ARN separado también se marcó y se hibridó dos veces, para asegurar la reproducibilidad y para obtener resultados estadísticamente significativos. En total, cuatro portaobjetos se hibridaron para cada comparación, para un total de 12 puntos de hibridación por clon amplificado. Se midió la fluorescencia en dos canales utilizando un GeneTAC LS IV (Genomic Solutions) con el software de la versión 3.0.1 GeneTac Integrator. Las intensidades concentradas fueron transformadas por log y normalización de Loess se aplicó para eliminar las diferencias en la sonda de etiquetado y las eficiencias de hibridación. Se utilizó la prueba t de una muestra en los valores de relación de registro para ensayar la expresión diferencial. Los datos se consideraron significativos cuando el cambio de veces era >2 y $P < 0,05$.

Análisis de micromatrices de ratón

[0478] Tejido de ileon y colon ascendente se eliminó del RNAlater y se lisó en Trizol (Invitrogen). Se aisló el ARN usando pasos de cloroformo/isopropanol estándar. El ARN total se purificó adicionalmente con el kit RNeasy (Qiagen), incluyendo una etapa de digestión de DNasa libre de RNasa I (Qiagen). Se determinó la integridad del ARN mediante el Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). El ARN total se procesa en ARNc marcado con biotina usando el One-Cycle Target Labeling Kit (Affymetrix) o ARNa marcado con biotina utilizando el 3' IVT Express Kit (Affymetrix). La hibridación a la GeneChip NuGO Mouse Array y GeneChip Mouse Genome Array (Affymetrix) en una GeneChip Fluidics Station 450 (Affymetrix) se llevó a cabo en el Institute of Medical Sciences Microarray Core Facility (Universidad de Aberdeen, Reino Unido). Los chips fueron escaneados con un escáner Affymetrix GeneChip 3000 (Affymetrix). El análisis de la calidad de imágenes se realizó usando Gene Chip Operating Software (GCOS) (Affymetrix). Además el análisis de datos se realizó con los paquetes de software disponibles libremente R (<http://www.r-project.org>) y Bioconductor (<http://www.bioconductor.org>). La prueba F moderada proporcionada por el paquete Bioconductor limma se utilizó para analizar la expresión diferencial. Los datos se consideraron significativos cuando $P < 0,05$ usando el método de falso descubrimiento Benjamini y Hochberg: El análisis estadístico se realizó por separado para cada uno de los dos puntos de tiempo. Todos los genes expresados diferencialmente ($P < 0,05$) fueron importados en software analítico MetaCore (Gene-Go, St Joseph, MI) para generar mapas de la vía. El análisis de enriquecimiento de vía integrada se realizó utilizando las vías canónicas basadas en el conocimiento y las vías metabólicas endógenas. La clasificación de las vías integradas relevantes se basa en los valores de p calculados utilizando la distribución hipergeométrica. Los valores P representaron la probabilidad de un número dado de genes de la lista de entrada para que coincida con un cierto número de genes en el mapa por casualidad, teniendo en cuenta el número de genes en el experimento frente al número de genes en el mapa dentro del conjunto completo de todos los genes en los mapas.

[0479] La interpretación funcional basada en ontología de genes (OG) de los datos se realizó usando DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>), una versión ampliada del programa de web accesible original (3). Significativamente diferentes transcripciones ($P < 0,05$) se asignaron en la categoría OG 'Proceso biológico' para revelar patrones de expresión génica significativamente enriquecida para términos específicos OG.

[0480] Los datos de micromatriz se presentaron al National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene Expression Omnibus (número de acceso GSE25544; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>).

Análisis de RT-PCR

[0481] Los cebadores específicos de *R. hominis* de 5'-CCCACTGACAGAGTATGTAATGTAC-3' y 5'-GCACCACCTGTCACCAC-3' se utilizaron para el análisis semi-cuantitativo y PCR en tiempo real de muestras fecales para validar los niveles de colonización de los intestinos. Otros cebadores de PCR bacterianas fueron diseñados utilizando la herramienta en línea Primer3Plus (4) y adquiridos de Sigma-Aldrich. El análisis de PCR en tiempo real se realizó con un sistema 7500 Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems) con el Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems). PCR se realizó del siguiente modo: un ciclo a 95°C durante 10 min, seguido de 40 ciclos a 95°C durante 15 seg y 60°C durante 1 min, terminando con una etapa de disociación. Todas las muestras se realizaron por triplicado. *GyrA* se utilizó como gen de referencia para la normalización debido a su baja variación entre muestras.

[0482] Para la expresión génica de huésped, 2 µg de ARN eucariota total aislada del íleon y el colon ascendente se transcribió a la inversa en ADNc utilizando la High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems) con cebadores aleatorios. El análisis de PCR en tiempo real se realizó con un sistema de PCR Fast Real-Time 7500 (Applied Biosystems) con el QuantiFast SYBR Green PCR Kit (Qiagen) y Quantitect Primer Assays (Qiagen). Las condiciones de los ciclos de PCR fueron las siguientes: un ciclo a 95°C durante 5 min, seguido de 40 ciclos a 95°C durante 10 segundos y a 60°C durante 30 segundos, terminando con una etapa de disociación. Todas las muestras se realizaron por triplicado. *Hprt* fue seleccionado como un gen de referencia para la normalización debido a su baja variación entre muestras.

[0483] Todos los datos de RT-PCR se analizaron en una escala logarítmica con la base 2 por ANOVA de una vía con un corte de significación de $P < 0,05$. Las diferencias se volvieron a transformar para calcular los cambios de veces.

Transferencia Western

[0484] Los anticuerpos policlonales de conejo inmuno-purificados contra Fla1 de *Roseburia hominis* y Fla2 fue producido como se describe en Duck *et al.* (5). En resumen, conejos blancos hembra de Nueva Zelanda se inmunizaron con péptido sintético en adyuvante completo de Freund y se reforzaron varias veces. Para Fla1 de *R. hominis*, se usaron el péptido NH₂-CRSQVRGLNKASDNA-CONH₂ y el péptido NH₂-IDGNFTSKKLQVGSCL-COOH, mientras que para Fla2 de *R. hominis*, se utilizaron el péptido C-AQYNDDAKSVLEILKCOOH y el péptido C-GLNKASRNSQDGLS-CONH₂. Después de la inmunización los anticuerpos se purificaron en una columna de inmunoafinidad preparada mediante acoplamiento de los péptidos a 1 ml de perlas de sefarosa activadas.

[0485] Para la transferencia Western, *R. hominis* se cultivó en presencia de cantidades variables (0,01 g a 1 g dieta/10 mL de cultivo) de comida estándar del ratón irradiada con UV durante 3 horas, se filtró para eliminar componentes de la dieta y se diluyeron en tampón de Laemmli que contiene urea 8M. Treinta µL de cada muestra se cargó en pocillos de un gel de NuPAGE® Novex® 4-12% Bis-Tris (Invitrogen) y se sometió a electroforesis, seguida por un procesamiento adicional usando el Sistema de Inmunodetección Cromogénica WesternBreeze (Invitrogen). Anticuerpos Fla1 y Fla2 se diluyeron 1:1000 y control de carga anti-ADN girasa A (Abcam) diluido 1:300 en diluyente de anticuerpo y se incubaron durante la noche a 4°C, seguido de 1 hora a temperatura ambiente con fosfatasa alcalina conjugada anti-conejo. La detección fue por el desarrollo de color del sustrato en relación con el desarrollo de color control de carga.

Análisis FISH

[0486] Los tejidos fijados en formalina tamponada neutra fueron incorporados en Technovit 8100 (Heraeus Kulzer). Secciones de dos micras se cortaron usando un micrótopo rotatorio (Leica/Reichert Autocut). Tres secciones se tomaron por portaobjetos a 100 µm, 200 µm y 300 µm en el tejido, lo que resulta en nueve secciones por animal.

[0487] Los portaobjetos se deshidrataron mediante incubaciones consecutivas en 50% (v/v), 80% y 96% de etanol y se secaron a temperatura ambiente (TA). Las sondas FISH de ARNr 16S utilizadas fueron una sonda general bacteriana Eub338 (GCTGCCTCCCGTAGGAGT; Cy3) y una sonda específica A2-183 de *R. hominis* de nuevo diseño (GTACATTACATACTCTGTCTAGTG; FITC), que fue probado extensamente para la especificidad contra un panel de aislados bacterianos intestinales. La sonda de diez microlitros (30 ng/µL) en 100 µL de tampón de hibridación se aplicó a la muestra deshidratada y se incubó a temperatura de sonda específica. Los portaobjetos se lavaron en tampón de lavado a 50°C durante 30 min, se sumergieron en hielo-agua fría para eliminar el tampón de lavado residual y se secó bajo corriente de aire comprimido. La contratinción se realizó con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI; Vector Laboratories Inc) y portaobjetos se montaron con Vectashield Mounting Medium para fluorescencia (Vector Laboratories Inc) para evitar la decoloración de montaje. Las bacterias se visualizaron utilizando un microscopio de fluorescencia Leica DM RBE (Leitz GMBH) y se fotografiaron con una cámara Penguin 600CL (Pixera) y el software Viewfinder 3.0 (Studio Lite). Las imágenes de alta magnificación (X630) fueron recuperadas usando el sistema Apochromatics (Leica).

Inmunofluorescencia

[0488] Inmuno-localización de flagelina de *R. hominis* se examinó en contenidos del colon de ratones colonizados con *R. hominis* utilizando antisueros específicos generados contra secuencias peptídicas definidas de proteínas de flagelina tanto Fla1 como Fla2. Contenidos de intestino se diluyeron en PBS, dispersados en portaobjetos de vidrio y se secaron al aire. Los frotis se fijaron en metanol pre-enfriado durante 5 min a -20°C, se incubaron con antisueros de conejo anti-Fla1 o anti-Fla2 (1:125, CovaLabs) durante la noche a 4°C y se visualizaron utilizando anti conejo de burro Alexa 488 (1:1000, Molecular Probes).

[0489] Las secciones fueron fijadas en metanol pre-enfriado durante 30 min a -20°C. La inmuno-localización de marcadores de células T se examinó en criosecciones secuenciales (8 µm). Las secciones fueron fijadas ya sea en metanol pre-enfriado durante 30 min a -20°C (Ly6G FITC, CD3 FITC, CD11b FITC, a 1:50 (BD Biosciences)), o, para FoxP3 de doble marcado (1:500, Abcam) con CD3 FITC (1:100, BD Biosciences) fija en 1% de paraformaldehído (PFA) durante 2 min a TA seguido por 3 min en 0,01% de Triton X en PBS. Todas las secciones fueron bloqueadas con 10% de BSA (Sigma) que contiene 10% de suero pre-inmune relevante en PBS (pH 7,4). Tejidos fijados con metanol se incubaron con anticuerpos primarios durante 1 h a TA. Las secciones fijadas de PFA se incubaron con anticuerpos durante la noche a 4°C. FoxP3 se visualizó usando anti conejo de cabra Alexa 594 (1:1000, Molecular Probes). Las secciones fueron contramarcadas con DAPI y se montaron con Vectashield (Vector Laboratories). Para la cuantificación de células positivas, se examinó un mínimo de cinco campos de visión de cada sección del ratón, utilizando el software de imágenes y ajustes del microscopio descrito anteriormente.

Histología

[0490] Muestras de tejido colon ascendente se fijaron durante tres horas en formalina tamponada neutra (Sigma) en temperatura ambiente con agitación constante. Las muestras se enjuagaron en PBS y después se transfirieron a etanol al 70% y se almacenaron a temperatura ambiente hasta estar orientadas para la sección transversal y se embebieron en resina de curado en frío utilizando Technovit 8100 (Heraeus Kulzer) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El tejido embebido se montó sobre Histoblocs utilizando Technovit 3040 (Heraeus Kulzer). Cuatro secciones micras se cortaron usando un micrótopo rotatorio (Leica Autocut) equipado con un cuchillo de vidrio (TAAB Laboratories Equipment Ltd.). Las secciones de tejido fueron teñidas utilizando métodos hematoxilina/eosina estándar. Un área de la sección transversal completa de un colon ascendente de cada animal fue fotografiada con un aumento de x200 en un microscopio Zeiss Axioskop con una cámara de QImaging controlado por software Image Pro Plus. Cada campo de visión entonces se obtuvo de 0-4 de acuerdo con un método basado en Berg *et al.* (6). Las puntuaciones de histopatología eran 0 = criptas superficiales, no hay o hay pocas células inflamatorias infiltrantes, epitelio intacto, células caliciformes aparecen llenas de mucina (sin patología); 1 = Criptas pueden exhibir hiperplasia leve de células epiteliales, algunas células inflamatorias de infiltración difusas se pueden ver entre criptas, epitelio luminal aparece intacto, células caliciformes pueden aparecer levemente privadas de mucina; 2 = Criptas aparecen más profundas con evidencia clara de la hiperplasia epitelial, el agotamiento de mucina de células caliciformes, infiltración de células inflamatorias evidentes y pueden ser multifocales en la naturaleza, aunque infiltrados no se ven en la submucosa; 3 = lesiones implican un área más grande de la mucosa y/o son más frecuentes que lo que se ha visto en el grado 2. Las lesiones no implican la submucosa. Las células epiteliales lumbinales exhiben pequeñas erosiones. Las lesiones no son transmurales; 4 = epitelio de cripta aparece erosionado. Los abscesos pueden estar presentes. Las células epiteliales lumbinales parecen irregulares, a veces con pérdida completa. El infiltrado transmural se observa - a menudo asociado con la pérdida completa de las células epiteliales en el lumen.

[0491] El porcentaje medio de campos de visión en un grado determinado se calculó y grupos de tratamiento se compararon utilizando el análisis de prueba t de Student.

Clonación y purificación de flagelinas recombinantes

[0492] Genes de flagelina se aislaron a partir de cultivos bacterianos líquidos de *R. hominis*, *R. intestinalis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *Eubacterium rectale* 33656 y *E. coli* K12 mediante amplificación y purificación por PCR. El fragmento de flagelina purificada a partir de *R. hominis* se insertó en el vector de expresión pT7-MAT-Tag-FLAG (Sigma) y fragmentos de flagelina de *S. enteritidis* y *E. coli* K12 se insertaron en el vector de expresión pGEX-6P-1 (GE Healthcare). Flagelina recombinante se expresó mediante la transformación de ADN de plásmido en células de *E. coli* BL21 Rosetta y *E. coli* BL21 (DE3), respectivamente y la inducción con 1 mM de IPTG (isopropilo β-D-galactosidasa). Las flagelinas se recuperaron a partir de lisados celulares con perlas de FLAG (Sigma) y perlas de Ni-NTA (níquel-nitriloacético) (Clontech, Takara) según las instrucciones del fabricante. La pureza de la preparación se evaluó por SDS-PAGE teñido con solución de azul de Coomassie. La actividad de los fragmentos de flagelinas se determinó por Luciferase Assay (Promega) según las instrucciones del fabricante utilizando la línea celular Caco-2 transformada por NF-κB.

[0493] Las células Caco-2 fueron incubadas con flagelinas recombinantes a una concentración final de 100 ng/µL durante 2 horas a 37°C en una atmósfera humidificada de 75% de CO₂ al 5%. Después del tratamiento las células se lavaron con solución de PBS dos veces y se recogieron para el aislamiento de ARN total.

Aislamiento de las células intestinales y de MLN

[0494] Las células fueron aisladas desde el intestino delgado y el nodo linfático mesentérico como se ha descrito previamente con modificaciones menores (7). Brevemente, las suspensiones celulares se incubaron con 100 U/ml de colagenasa VIII (Sigma-Aldrich) en medio RPMI suplementado con 20% FBS a 37°C durante 20 min (nódulos linfáticos mesentéricos) o 1 hora (piezas intestinales). Suspensiones de células individuales se analizaron entonces mediante citometría de flujo.

Generación de células dendríticas derivadas de médula ósea y cultivos

[0495] La médula ósea fue cosechada de fémur y tibia de ratones C3H/HeN y los ratones C57Bl6 como se describió previamente (8-11). Para las células dendríticas derivadas de GM-CSF, células de médula ósea se resuspendieron a 1×10^6 /ml en RPMI suplementado con 10% FCS y 20 ng/ml de rmGM-CSF y se sembraron a 10 ml/placa de placas de cultivo de tejidos de 100 mm². Después de tres días de cultivo, células adherentes sin apretar se recogieron y se volvieron a sembrar con medio suplementado con GM-CSF en 1×10^6 /ml en placas de cultivo de tejido de 12 pocillos. En el día 5, las células se estimularon con flagelinas de 100 ng/mL antes de cosecharse en el día 6. Para células dendríticas derivadas de Flt3L, se resuspendieron células de médula ósea en 2×10^6 /ml en RPMI suplementado con 10% de FCS y 200 ng/ml y se sembraron rmFlt3 en 2 ml/pocillo en placas de cultivo tisular de 12 pocillos. Las células se cultivaron durante 10 días con un 2 ml adicional de medio suplementado con Flt3 añadido a cada pocillo en el día 4. En el día 9, las células se estimularon con flagelinas de 100 ng/mL antes de cosecharse en el día 10. Las células se recogieron a partir de placas por pipeteo suave y se analizaron por citometría de flujo.

Citometría de flujo

[0496] Las suspensiones de células individuales de células de la lámina propia, células de nódulos linfáticos mesentéricos y las células dendríticas se incubaron en tampón de bloqueo (que contenía suero y el anticuerpo CD16/CD32) a 4°C durante 15 min antes de la tinción con anticuerpos conjugados con fluorocromo específicos. Células de lámina propia se marcaron con anticuerpos contra CD4-FITC y CD25-APC de ratón (eBioscience), CD8-APC-Cy7, CD3-PerCP Cy5.5 y B220-BV570 (Biolegend). El etiquetado intracelular FoxP3-PE (eBioscience) se llevó a cabo después de la tinción extracelular y la fijación de células/permeabilización de acuerdo con las instrucciones del fabricante (eBioscience). Las células dendríticas derivadas de GM-CSF se marcaron con anticuerpos CD11b-PerCP Cy5.5 (BD Biosciences), CD11c-PE-Cy7, I-A/I-E -APC-Cy7, CD80-PE, CD86-APC, CDB-FITC, B220-BV570 (Biolegend). Las células dendríticas derivadas de Flt3L se marcaron con CD11c-PE-Cy7-, CD11b- o Siglec-H-PerCP Cy5.5 (Biolegend), I-A/I-E -APC-Cy7, CD317-PE, CD40-Alexa Fluor 647, CD103-FITC, B220-BV570. Las células se analizaron usando un FACS AriaII (BD Biosciences) y el software FlowJo versión 7.2.5.

Matriz de perlas citométricas (CBA)

[0497] Se aislaron células de médula ósea de fémur y la tibia con medios RPMI de C3H/HeN y ratones C57BL/6 y se expandieron por Flt3L como se describió anteriormente. Las células se estimularon con 100 ng/ml de flagelina (por ejemplo flagelina *Roseburia*) después de 9 días de cultivo, y el sobrenadante se recogió en el día 10. El experimento se realizó en tres ocasiones separadas para crear N=3.

[0498] El análisis CBA se realizó en sobrenadantes de células utilizando el Cytometric Bead Array Mouse Enhanced Sensitivity Master Buffer Kit (BD Biosciences) según las instrucciones del fabricante. Patrones y las muestras se cargaron en una placa de 96 pocillos para medición en un FACSArray (BD Biosciences). Los resultados se analizaron usando el software BD FCAP (BD Biosciences).

Peso corporal seco y análisis de carcasa de lípidos

[0499] La carcasa de ratón eviscerada se pesó, se liofilizó hasta peso constante y luego se molió para su análisis. El contenido de lípidos se determinó por extracción (1:100 p/v) con cloroformo/metanol (2:1 VLV) como se ha descrito previamente (12).

Clonación de flagelinas de *Roseburia*.

Amplificación por PCR del gen de flagelina de cultivo de bacteria líquida.

[0500] Secuencias de flagelina A2-183 de *Roseburia hominis* fueron recuperadas de la página web del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

[0501] Secuencias de flagelina L1-82^T de *Roseburia intestinalis* (NCIMB = 13810; DSM = 14610^T) se recuperaron del sitio web de Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). *Números de acceso para los genes de flagelina y las proteínas se proporcionan en la Tabla B* (Tabla B - resumen de los números de acceso para flagelina *Roseburia* descritos en este documento) ***

Aislamiento de ARN total a partir de bacterias

[0502] El ARN total se aisló a partir de 1 mL de cultivo líquido de bacterias de fase de registro utilizando el minikit

RNaseasy (Qiagen, Sussex, Reino Unido), acoplado a la digestión de DNasa I libre de RNasa (Qiagen) y basado en el protocolo del fabricante. En resumen, un mililitro de cultivo líquido se colocó en un tubo de 1,5 mL, se centrifugó a 5,000 x g durante 5 min a 4°C y se descartó el sobrenadante. El sedimento bacteriano se resuspendió en 100 µL de tampón TE que contenía lisozima (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0) y se incubó a TA (temperatura ambiente). Bacterias Gram-positivas RH (*Roseburia hominis*) se incubaron durante 10 min con una concentración de lisozima de 3 mg/mL. Trescientos cincuenta microlitros de tampón de lisis contenía 1% de β-mercapto-etanol se añadieron al tubo para romper las células mediante agitación con vórtex y se añadieron 250 µL de etanol al 100% (Molecular Grade, Merck). Setecientos microlitros de la suspensión resultante se aplicó a la columna mini RNaseasy equipada con un tubo de captura, se centrifugó durante 15 segundos a 8,000 xg y se vació la captura. Una vez más, 350 µL de tampón de lavado se aplicó a la columna, que se centrifugó durante 15 s a 8,000 xg y se descartó el flujo. La digestión del ADN se llevó a cabo mediante la adición a cada columna, 30 unidades de DNasa I mezcladas con 70 µL de tampón RDD, e incubación a TA durante 15 min. La columna se lavó de nuevo como se ha descrito previamente con 350 µL de tampón de lavado, después dos veces con 500 µL de tampón RPE. Después de secar al aire la columna por centrifugación de la columna vacía durante 1 min a 8,000 x g, 40 µL de agua libre de RNasa se añadieron directamente en la columna y se incubaron 1 min a TA para centrifugarse durante 1 min a 8,000 x g. El eluato que contiene el ARN total se midió espectrofotométricamente utilizando la técnica de Nanodrop para determinar la concentración. La integridad del ARN se comprobó por el departamento genómico de RINH (Universidad de Aberdeen, Reino Unido) con un Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). El ARN con número de integridad (RIN) fue entre 9,5 y 10 se consideró de excelente calidad. El ARN total se almacenó a -80°C hasta su uso posterior.

Transcripción inversa

[0503] El ARN total se transcribió de forma inversa usando el Quantitect reverse Transcription kit (Qiagen), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, un microgramo de ARN total en un volumen total de 12 µL se incubó durante 2 min a 42°C con 1 tampón wipeout X gADN y se mezcló adicionalmente con tampón 1X Quantiscript TA (3 µL), mezcla de cebadores TA (2 µL) y transcriptasa inversa Quantiscript (1 µL) en un volumen final de 20 µL. El programa de transcripción inversa fue de 15 min a 42°C seguido de 3 min a 95°C para inactivar la enzima. La concentración de ADN complementaria resultante (ADNc) fue de 50 ng/µl y el ADNc se almacenó a -20°C hasta su uso posterior.

Amplificación por PCR de genes de flagelina

[0504] Para amplificar la flagelina de ADN genómico, los cebadores directo e inverso fueron diseñados y adquiridos a Sigma-Aldrich (Poole, Reino Unido) manualmente. La amplificación por PCR de fragmentos de flagelina se realizó con cebador directo insertando un sitio de restricción BglII en el extremo 5', y el cebador inverso insertando una restricción XhoI en el extremo 3'.

Roseburia hominis (fla1)

Cebador directo (5'-3'): CTCGAGATATGGTAGTACAGCACAA
Cebador inverso (5'-3'): CTTAGATCTCTGTAATAAGGATAATA

Roseburia hominis (fla2)

Cebador directo (5'-3'): CTCGAGATATGGTGGTTAATCATAA
Cebador inverso (5'-3'): CTTAGATCTTTTCAAAATCTCAAGCAC

Roseburia intestinalis (Fla1)

Cebador directo (5'-3'): GCAGGATCCATGCGTGGCGGAGACAAT
Cebador inverso (5'-3'): AATGTGGTGGTGGTGGTGGTGCTGCAGAATCTGCAA

Roseburia intestinalis (Fla2)

Cebador directo (5'-3'): CTCGAGATATGGTAGTTAATCATAA
Cebador inverso (5'-3'): CTTAGATCTTTTAAACATTTCACAC

Roseburia intestinalis (Fla3)

Cebador directo (5'-3'): CTCGAGATATGGTAGTACAGCACA
Cebador inverso (5'-3'): CTTAGATCTCTGTAACAGAGAAAGTA

Roseburia intestinalis (Fla4)

Cebador directo (5'-3'): CCGGGATCCATGGTAGTACAGCACAAT

Cebador inverso (5'-3'): TTAGTGGTGGTGATGATGATGCTGTAAACAGAGAAAG

[0505] Mediante el uso de 1 µL de cultivo bacteriano como un molde, los genes de flagelina se amplificaron por PCR. El programa térmico para la amplificación fue adaptado de Fermentas (Fermentas GmbH, Alemania) para funciones de polimerasa de KOD óptima (Novagen, Madison, WI) y fue de 95°C durante 2 min para la activación de la polimerasa seguido de 34 ciclos de amplificación, 95°C durante 20 s, temperatura de hibridación durante 10 s y 70°C durante 20 s que terminan con 2 min a 70°C utilizando polimerasa de KOD. Los detalles de la mezcla de PCR se dan en la Tabla 1. Los productos de la PCR se corrieron en un gel de agarosa al 1% durante 30 min a 120 V y se escandieron las bandas de interés y se purificaron. El inserto se clonó primero en el vector de clonación pCR™-Blunt II-TOPO usando el kit de clonación Zero Blunt TOPO PCR (Invitrogen) según las instrucciones del fabricante y mediante el mezclado como se describe en la Figura 1A y en la Tabla 1.

Tabla 1 Composición de la mezcla para la inserción de producto de PCR en vector de clonación de pCR-Blunt II-TOPO. Solución salina y mezcla de vector-enzima eran soluciones listas para usar.

Componentes	Volumen (μL)
Producto de PCR	2
Solución sálca	1
H ₂ O	2
Mezcla de vector-enzima	1
Total	6

Separación electroforética y purificación de productos de PCR.

[0506] Con el fin de ver el producto flagelina aislado amplificado por PCR, la reacción de PCR se mezcló con 1 X tinte de carga de color Azul-naranja (Promega) y se cargó en un gel de agarosa al 1% (hecho de agarosa al 1% diluido en tampón TAE (40 mM de base Tris, ácido acético al 0,1% (v/v), 1 mM de EDTA) se hirvió y se vertió en una bandeja de gel) que contiene 0,5 µg/ml de bromuro de etidio para teñir los ácidos nucleicos. Las muestras se migraron durante 30 min bajo 120 V usando TAE como tampón de ejecución. Cuando se terminó la migración, el gel se visualizó bajo ultra-violeta (UV) y el producto se identificó utilizando un estándar de referencia y se escindió con un escalpelo limpio. A continuación, la porción de gel se transfirió a un tubo eppendorf previamente pesado y su peso registrado por sustracción del peso de tubo vacío. Se purificó el producto de PCR. La solución de unión a la membrana se añadió a la porción de gel en una proporción de 10 µL de solución por cada 10 mg de porción de gel de agarosa. Después, la mezcla se incubó a 65°C durante 10 min con agitación frecuente hasta que la porción de gel se disolvió completamente. El tubo se centrifugó brevemente en TA para asegurar que todos los contenidos estaban en la parte inferior del tubo antes de progresar a la purificación de ADN. Desde este punto en adelante la purificación de PCR implicó el uso de Gel SV Wizard® y sistema de limpieza PCR (Promega, Southampton, Reino Unido) según las instrucciones del fabricante. Una minicolumna SV por producto PCR se colocó en un tubo de recogida. El producto de PCR se añadió a la asamblea de minicolumna SV y se incubó durante 1 min a temperatura ambiente (TA). La columna se centrifugó a 16,000 x g durante 1 min, y se descartó el flujo. A continuación, la columna se lavó mediante la adición de 700 µL de solución de lavado de la membrana y se centrifugó durante 5 min a TA. El flujo se desechó y el conjunto se volvió de nuevo durante 1 min y se secó a temperatura ambiente durante 2 min para evaporar cualquier etanol residual. La columna se transfirió a un tubo libre de nucleasa de 1,5 mL fresco. Para recuperar el producto de la PCR, 25 µL de agua libre de nucleasa se aplicó al centro de la columna y el ADN se eluyó por 1 min de incubación a TA y 1 min de centrifugado a 16,000 x g. La concentración del eluato se midió espectrofotométricamente usando Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) v se almacenó a -20°C.

Digestión de flagelina y expresión del vector.

[0507] Doscientos microlitros de células competentes DH5 α recién descongeladas se mantuvieron en hielo y 4 μ L de la mezcla de productos PCR, y se dejaron en hielo durante 5 min. El choque térmico se realizó durante 1 min a 42°C y las células regresaron en hielo o 5 min, antes de la adición de 400 μ L de medio SOC. El medio SOC (Sigma) es un medio rico utilizado principalmente en la etapa de recuperación de transformaciones celulares competentes para *Escherichia coli*. El uso de SOC maximiza la eficiencia de transformación de células competentes.

[0508] Las células crecieron a 37°C durante 1 hora, y 200 µL de la mezcla se sembró en placa de agar LB suplementada con Kanamicina 50 µg/mL. Los clones positivos se prepararon como minipreparaciones, con nanogotas y se digirieron con BamH1 y Xho1 durante 2 horas para escindir la flagelina. El vector de expresión pT7-MAT-Tag-FLAG-2 (Sigma), representado en la Figura 2A, también se digirió con BamH1 y Xho1. Después de la separación del producto en un gel de agarosa al 1% y purificación del vector digerido y el fragmento, es decir, el vector y el inserto se ligaron a 4°C durante la noche y se transformaron en *E. coli* DH5a. Los productos de ligación se sembraron en agar LB suplementado con 100 µg/mL de ampicilina. Los clones positivos se prepararon como minipreparaciones y se transformaron en células competentes de *E. coli* BL21 (DE3). Las colonias positivas se secuenciaron con cebadores adecuados para comprobar la presencia de la inserción. Alícuotas de glicerol fueron hechas fuera de los clones positivos. Los vectores de expresión que codifican flagelina *Roseburia* se prepararon

adicionalmente como minipreparaciones y se transformaron en células competentes de *E. coli* para mejorar el rendimiento de la purificación; para Rh1, Rh2 y Ri2 las células competentes de *E. coli* fueron *E. coli* BL21 Rosetta y para Ri3, Ri1 Ri4, Se, St, K12, y Er las células competentes *E. coli* fueron *E. coli* BL21 (DE3).

5 **Expresión y purificación de flagelinas *Roseburia***

[0509] Los *E. coli* transformados (por ejemplo, BL21 Rosetta) que codifica el gen de flagelina (RH1 o FLA1) se cultivaron en 1 litro de medio LB con ampicilina (100 µg/ml), y suplementado con cloranfenicol (50 µg/ml) para las células Rosetta, a 37°C bajo agitación 180 rpm hasta la fase de registro. Se indujo el cultivo durante 3 horas con 1 mM de IPTG en las mismas condiciones, para permitir la expresión específica de la proteína flagelina. Las bacterias se sedimentaron por centrifugación 4,000 x g, 4°C, durante 10 min y se resuspendieron en 60 ml de tampón 1 (50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl) y se sonicaron con un Soniprep 150 (Sanyo, Japón), durante 1 min utilizando BL21 (DE3), o 3 min utilizando Rosetta con 1 min de descanso después de cada minuto. El lisado celular se centrifugó a 9,000 x g durante 10 min a 4°C y el sobrenadante se desechó. El sedimento, que contiene proteínas insolubles se resuspendió en 60 ml de tampón 2 (50 mM Tris (pH 8,0), 100 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0,5% de Triton-X100, DTT 1 mM) se sometió a ultrasonidos de nuevo hasta la completa resuspensión, y se centrifugó a 5,000 x g durante 15 min a 4°C. La fracción insoluble se lavó una segunda y una tercera vez con tampón 2. Un último lavado se llevó a cabo utilizando tampón 2 sin Tx-100 y DTT, como se describe anteriormente. Para solubilizar las proteínas, la fracción insoluble se resuspendió utilizando sonicación en 4 ml de tampón de urea (2 M urea, 50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl) y se centrifugó a 5,000 x g, 5 min a TA. Se desechó el sobrenadante por decantación y el sedimento se resuspendió en 2 ml de 4 M urea, 50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl mediante sonicación y se centrifugó a 5,000 x g, 5 min a TA. Se recogió el sobrenadante por decantación y el sedimento se resuspendió en 2 ml de 8 M urea, 50 mM Tris (pH 7,4), solución de 150 mM NaCl mediante sonicación y se centrifugó a 5,000 x g, 5 min a TA. Se recogió el sobrenadante por decantación y se mezcló a la fracción de 4 M urea, para hacer una solución de 6M urea que contiene flagelinas solubilizadas. Un mililitro de resina Talon (Clontech, Takara, Reino Unido) se lavó dos veces con 2 ml de tampón 1 (50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl) y se centrifugó a 1,000 x g, 2 min a TA. El sobrenadante se descartó y se añadió la fracción de 6 M urea que contiene flagelina, y se dejó durante la rotación a 4°C durante 1 hora. Después de centrifugación a 1,000 x g durante 2 min a TA, la resina se lavó dos veces con tampón que contenía 2 M urea, 50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl, 15 mM imidazol. Después de la centrifugación, la resina se incubó durante 10 min con 300 µL de tampón de elución (360 mM Tris-HCl, 680 mM imidazol, 360 mM NaCl, 0,35 N HCl, 1,43 M de urea), suavemente mezclado, y el eluato se recogió después de la centrifugación a 2,000 x g durante 2 min a TA. La elución se repitió una vez y se mezclaron los dos eluatos. Una segunda etapa de purificación usando perlas magnéticas anti-FLAG M2 (Sigma) se realizó para mejorar la pureza de la preparación de proteína. Cuatrocientos microlitros de agua ultra pura se añadieron lentamente al eluato de la resina Talon, para obtener una concentración final de 0,9 M urea, adecuado para perlas de FLAG. Doscientos cincuenta microlitros de perlas magnéticas FLAG se lavaron dos veces con 750 µL de tampón 1, mezclando y dejándose en un soporte magnético (Ambion) para eliminar el sobrenadante. El Talon-eluato se añadió a las perlas y se hizo girar durante 30 minutos a 4°C. Las perlas se lavaron cinco veces con 1 mL de 0,9 M urea, 50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl. La elución consistió en la adición a las perlas de 250 µL de 200 µg/ml de solución de péptido FLAG que contiene 0,9 M urea, 50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl, mezclando bien e incubándose durante 30 min a TA. Los tubos se colocaron en el soporte magnético y se recogió el producto final. Esta etapa de elución se repitió una vez y 500 µL de productos finales se dializaron más en PBS con 0,9 M de urea durante 1 hora a 4°C, preparado como partes alícuotas y se almacenaron a -80°C. La pureza de las preparaciones se evaluó por SDS-PAGE teñido con solución de azul de Coomassie (Figura 3A). Justo antes de su uso, la alícuota de proteína se dializó contra PBS durante 1 hora, cambiando el tampón dos veces, en Slide-A-Lyser de 20 kDa de peso molecular de corte (Pierce, Reino Unido) y la concentración de proteína se midió utilizando el método de Bradford. Los valores confirmados de medición de endotoxina fueron <0,25 UE/mL.

[0510] La secuencia de nucleótido que codifica Fla1 se muestra en SEQ ID NO 1 y la secuencia de aminoácidos de Fla1 se muestra en SEQ ID NO₂.

ATGGTAGTACAGCACAATCTTACAGCAATGAACGCTAACAGACAGTTAGGTATCACAAAC
 AGGCGCACAGGCTAAGTCTTCTGAGAAGTTATCTTCTGGTTACAAGATCAACCGCGCAG
 CAGATGACGCAGCAGGTCTTACGATTTCCGAGAAGATGAGAAGCCAGGTTAGAGGCTT
 AAATAAAGCTTCTGACAACGCACAGGATGGTGTATCCCTTATTACAGGTAGCTGAGGGTG
 CATTAAGTGAGACACACTCCATCTTACAGCGTATGAATGAGTTAGCAACTCAGGCAGCA
 AACGATACCAATACAACCTCAGACAGAACTGCAGTTCAGCAGGAGATCAACCAGTTAGC
 ATCTGAGATCACCAGAATCGCTTCTACAACCTCAGTTC AACACAATGAACCTGATCGATGG
 TAACTTCACAAGTAAGAAGCTTCAGGTAGGTTCCCTTTGCGGACAGGCTATCACAAATCG
 ATATCTCTGATATGTCTGCTACAGGTCTTGCGGTTAGCGGATTAGTAGTATCTTCCTTCT
 CTGCAGCTGGTAAGGCAATGTCTGCAGCTCAGGATGCTATCAGCTACGTATCTTCTATG
 CGTTCTAAGCTGGGTGCATTACAGAACAGACTTGAGCACACAATCTCCACCTGGACAA
 CATTTCTGAGCACACATCTTCTGCAGAGTCTCGTATCCGTGATACAGATATGGCTGAAG
 AGATGGTTGAGTACAGCAAGAACACATCCTTGCTCAGGCAGGACAGTCTATGCTTGCT
 CAGGCTAACCAGTCTACTCAGGGTGTATTATCCTTATTACAGTAA (SEQ ID NO 1).

MVVQHNLTMANRQLGITGAQAKSSEKLSSGYKINRAADDAAGLTISEKMRSQVRGLNK
 ASDNAQDGVSLIQVAEGALSETHSILQRMNELATQAANDTNTTSDRTAVQQEINQLASEITRI
 ASTTQFNTMNLIDGNFTSKKLQVGLCGQAITIDISMSATGLGVSGLVVSSFS AAGKAMSA
 AQDAISYVSSMRSLGALQNRLEHTISHLDNISEHTSSAESRIRDTDMAEEMVEYSKNNILAQ

AGQSMLAQANQSTQGVLSLLQ (SEQ ID NO 2).

La estructura de flagelina consta de D0, D1, D2 y D3 de cuatro dominios. Véase la Figura 4A.

[0511]

- 5 **D0:** N-terminal α -hélice comienza a partir de Gln 2 y se extiende hasta Ser 32 (ND0). C-terminal α -hélice comienza desde Ala 459 y se extiende hacia abajo a Ser 491 (CD0).
La región de radios, que conecta los dominios D0 y D1, consiste en dos cadenas (Ns y Cs), uno de Ser 32 a Ala 44 y el otro de Glu 454 a Ala 459.
- 10 **D1:** El segmento N-terminal se extiende desde Ala 44 a Gln 176 y el segmento C-terminal de Asn 406 a Glu 454. El segmento N-terminal está hecho de una α -hélice (de Ala 44 a Ala 99) (ND1a), seguido por un bucle de conexión a la segunda α -hélice más corta (ND1b), que va hacia abajo y la cadena continúa a dos β -giros, una β -horquilla que apunta hacia abajo y una cadena extendida que apunta hacia arriba, y el resto de la cadena finalmente va en dominio D2. El C-terminal de α -hélice en el dominio 1 (CD1) comienza a partir de Asn 406 y se extiende a Glu 454.
- 15 Los dominios D0 y D1 se empaquetan en la estructura de protofilamento de modo que N-D0 está orientada hacia el exterior y C-D0 expuesto al canal central.
El dominio de D2 comprende dos segmentos: segmento N-terminal de Lys 177 a Gly 189 y el segmento C-terminal de Ala 284 a Glu 405. Se hace principalmente de hebras β con excepción de dos hélices 285-289 y 288-298.
- 20 **El dominio de D3** comprende un segmento central desde Tyr 190 a Val 283. Mayormente hecho de hebras β con un tramo corto de pliegue helicoidal (199-209).

- 25 **[0512]** Sin desear estar ligado por la teoría, se cree que dos regiones esenciales de proteína flagelina involucradas en el reconocimiento y la activación de TLR5 son aminoácidos en las posiciones 79-117 de la SEQ ID NO 2 (dominio N-D1) y aminoácidos en las posiciones 408-439 de la SEQ ID NO2 (dominio C- D1), así como el aminoácido alanina (A) en la posición 411 de la SEQ ID NO2, el aminoácido glutamina (Q) en la posición 412 de la SEQ ID NO2 y el aminoácido serina (S) en la posición 420 de la SEQ ID NO2.

EJEMPLOS

***R. hominis* preferentemente coloniza el colon**

5 [0513] Los ratones de C3H/HeN libre de gérmenes (GF) fueron inoculados con tres sondas de *R. hominis* en días consecutivos. Los inventores informan de la primera mono-colonización exitosa de ratones libres de gérmenes con una sola especie bacteriana de Firmicutes phylum. La colonización exitosa se logró utilizando un medio de inoculación que contiene ácido ascórbico al 3% y cisteína al 2% para proteger esta bacteria sensible al oxígeno. El análisis de tejido intestinal por hibridación fluorescente *in situ* (FISH) reveló que *R. hominis* colonizó tanto el íleon como el colon, pero se encontró en un número mucho mayor en el colon. Las bacterias fueron también estrechamente asociadas con la mucosa del colon (Fig. S1A). La colonización se validó y se cuantificó mediante PCR utilizando cebadores específicos a *R. hominis* con números que se aproximan a 1×10^{10} bacteria/g heces (Fig. S1 B-C). Las heces de los animales GF dieron negativo para la presencia de cualquier bacteria.

15 **El genoma de *R. hominis* revela genes únicos que promueven las interacciones huésped**

[0514] La secuencia completa del genoma de *R. hominis* A2-183 se generó y se representó por un único cromosoma 3,592,125-pb (Fig. 1A). La anotación automatizada y manual del genoma utilizando la plataforma RAST reveló la presencia de cuatro operones ribosómicos, 66 ARN y 3.273 proteínas predichas. El mayor grupo de genes pertenecía a los hidratos de carbono de categoría de subsistema (271 genes), que codifican proteínas implicadas en el metabolismo de hidratos de carbono, seguido de metabolismo de las proteínas (197) y aminoácidos y derivados (175) (Fig. 1B). Otras categorías funcionales importantes incluyen motilidad y la quimiotaxis (49) y la latencia y la esporulación (12). El análisis comparativo genómico estableció que el pariente más cercano en términos de estructura genómica y la función entre los genomas bacterianos completos es *Eubacterium rectale* (Mahowald *et al.* 2009), lo cual no es sorprendente dada la estrecha relación taxonómica de estos organismos (Duncan *et al.* 2006, Aminov *et al.* 2006). La reconstrucción comparativa de los dos genomas con 1.095 genes reveló que diferían en aproximadamente un 25% de los genes. En particular, estas diferencias abarcaban genes que codifican funciones importantes para la interacción con el huésped. Por ejemplo, los genes de la motilidad y la quimiotaxis que codifican las proteínas de ensamblaje fimbriales PilB y PilC de tipo IV estaban presentes en *E. rectale* pero ausentes en *R. hominis*, mientras que la proteína de varilla de cuerpo basal flagelar FlgC, la proteína de complejo de cuerpo gancho-basal flagelar FliE, la proteína de flagelina FlaB y proteína de interruptor de motor flagelar FliG eran exclusivas de *R. hominis* (Tabla S1). Los dos genomas bacterianos también diferían en 42 genes de hidratos de carbono, lo que refleja sus necesidades nutricionales divergentes. Curiosamente, *R. hominis* es único en que expresa dos genes de flagelina que son ambos de tipo FLA en contraposición a flagelinas homólogas a FliC expresadas por especies bacterianas de Salmonella y *E. coli*.

Tabla S1. Análisis comparativo de los genomas de *R. hominis* y *E. rectale*.

40 [0515] El análisis genómico comparativo mostró que *Eubacterium rectale* es el pariente más cercano conocido de *R. hominis* en términos de estructura y función genómica, y los dos genomas diferían en aproximadamente un 25% de los genes. (A) Genes presentes en *R. hominis*, pero ausentes en *E. rectale* y (B) genes presentes en *E. rectale* pero ausentes en *R. hominis*.

Tabla S1A. Genes presentes en *R. hominis*, pero ausentes en *E. rectale*.

Subcategoría	Papel
Aminoácidos y Derivados	
Alanina, serina, y glicina	Deshidratasa de L-serina, subunidad alfa
Alanina, serina, y glicina	Deshidratasa de L-serina, subunidad beta
Arginina; ciclo de la urea, poliaminas	Proteína reguladora de vía arginina ArgR, represor de arg
Arginina; ciclo de la urea, poliaminas	Deshidrogenasa de glutamato específico a NADP
Arginina; ciclo de la urea, poliaminas	Descarboxilasa de ornitina
Arginina; ciclo de la urea, poliaminas	Putrescina de espermidina ABC permeasa transportadora
Aminoácidos aromáticos y derivados	Biosintética aromática alfa amino aminotransferasa ácido
Aminoácidos de cadena ramificada	Deshidratasa de treonina
Glutamina, glutamato, aspartato, asparagina	Aminotransferasa de aspartato
Glutamina, glutamato, aspartato, asparagina	L-asparaginasa
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Permeasa de sulfato
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Descarboxilasa de lisina
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Adenosilhomocisteinasa
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Transportador de metionina ABC proteína de unión a ATP
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Transportador de metionina ABC proteína de permeasa
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Transportador de metionina ABC proteína de unión a sustrato
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Liase S-ribosilhomocisteína
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Análogo funcional previsto de quinasa de homoserina
Hidratos de carbono	
Aminoazúcares	Beta-hexosaminidasa
Metabolismo central de carbohidratos	6-fosfogluconolactonasa
Metabolismo central de carbohidratos	Aldosa 1-epimerasa
Metabolismo central de carbohidratos	Aldolasa 4-hidroxi-2-oxoglutarato
Metabolismo central de carbohidratos	Piruvato: oxidorreductasa de ferredoxina, subunidad alfa
Metabolismo central de carbohidratos	Piruvato: oxidorreductasa de ferredoxina, subunidad beta
Metabolismo central de carbohidratos	Piruvato: oxidorreductasa de ferredoxina, subunidad delta
metabolismo central de carbohidratos	Piruvato: oxidorreductasa de ferredoxina, subunidad gamma
metabolismo central de carbohidratos	Permeasa de malato
Di- y oligosacáridos	Antiterminador de operón beta-glucósido bgl, familia BglG
Di- y oligosacáridos	Represor del operón de galactosa, familia de GalR-LacI
Di- y oligosacáridos	Sistema de transporte ABC galactósido de galactosa/metilo, proteína de permeasa MglC
Di- y oligosacáridos	Transportador ABC de azúcares múltiples, proteína de unión a ATP
Fermentación	Hidratasa de enoilo-CoA
Fermentación	Deshidrogenasa de D-lactato
Monosacáridos	Quinasa 2-deshidro-3-deoxigluconato
Monosacáridos	Aldolasa 2-deshidro-3-deoxifosfogluconato
Monosacáridos	2-desoxi-D-gluconato 3-deshidrogenasa
Monosacáridos	Alfa-glucosidasa
Monosacáridos	Hidrolasas de altronato
Monosacáridos	Oxidorreductasa de altronato
Monosacáridos	Beta-glucuronidasa
Monosacáridos	Oxidorreductasa D-manonato
Monosacáridos	Deshidratasa de manonato

(continuación)

Hidratos de carbono			
Monosacáridos			Ramnogalacturonidas proteína de degradación Rhin
Monosacáridos			Isomerasa de uronato
Monosacáridos			Regulador de utilización de diácido de azúcar SdaR
Monosacáridos			Sistema de transporte de ribosa ABC, proteína de unión a ATP RbsA
Monosacáridos			Sistema de transporte de ribosa ABC, permeasa de proteína RbsC
Monosacáridos			Fosforilasa de pirimidina-nucleósido
Monosacáridos			Fructoquinasa
Monosacáridos			Represor transcripcional del operón de fructosa, DeoR
Monosacáridos			Guanililtransferasa de manosa-1-fosfato
Monosacáridos			Isomerasa de manosa-6-fosfato
Monosacáridos			Posible transportador de alfa-xilósido ABC, sustrato de unión
Metabolismo de un carbono			Aminotransferasa de serina-piruvato
Alcoholes de azúcar			Proteína de facilitador de captación de glicerol
Alcoholes de azúcar			Transportador de glicerol-3-fosfato ABC, proteína de unión periplásmica glicerol-3-fosfato
Sin subcategoría			Regulador de almacenamiento de carbono
Pared celular y cápsula			
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	D,D-heptosa 7-quinasa de fosfato
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Sintetasa de PIB-L-fucosa
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	dTDP-4-dehidrorhamnosa 3,5-epimerasa
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Peptidoglicano N-acetilglucosamina desacetilasa
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Deacetilasa de polisacárido
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Timidililtransferasa de glucosa-1-fosfato
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Proteína de permeasa de translocación de ácido teicoico TagG
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Reductasa de dTDP-4-dehidrorhamnosa
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	dTDP-glucosa 4,6-deshidratasa
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Sistema de transporte de tipo TRAP, pequeño componente de permeasa, transportador de N-acetilneuraminato predicho
Polisacáridos extracelulares	capsulares	y	Citidililtransferasa de glucosa-1-fosfato
Sin subcategoría			Amidasa de N-acetilmuramoílo-L-alanina
Subsistemas basados en agrupación			
Quimiotaxis, reguladores de respuesta			Ciclasa de diguanilato (dominio GGDEF) con PAS/PAC
Subsistemas basados en agrupación			Proteína de esporulación de etapa II relacionada con metaloproteasas
Biogénesis del citocromo			Aminotransferasa de glutamato-1-semialdehído
¿Exportación de proteínas?			Proteínas de membrana relacionadas con metaloendopeptidasas
¿Exportación de proteínas?			Proteína de la familia/P60 PNL
¿Exportación de proteínas?			Factor de liberación de la cadena del péptido 2
¿Exportación de proteínas?			Proteína hipotética BH3604
Sin subcategoría			Proteína de división celular FtsW
Sin subcategoría			FIG003307: proteína hipotética
Sin subcategoría			SSU proteína ribosomal S1 p

(continuación)

Cofactores, vitaminas, grupos prostéticos, pigmentos	
Coenzima A	2-dehidropantoato 2-reductasa
Coenzima A	Pantotenato: Na + cotransportador
Agrupación Fe-S	Proteína de ensamblaje de clúster hierro-azufre SufD
NAD y NADP	Deshidrogenasa L-aspartato
Piridoxina	Regulador transcripcional pronosticado del metabolismo de la piridoxina
Tetrapirroles	Fosfatasa alfa-ribazol-5'-fosfato
Sin subcategoría	Transportador de hidroximetilpirimidina predicho CvtX
Metabolismo de ADN	
CRISPs	Proteína asociada a CRISPR Cas2
Reparación del ADN	Glicosilasa de uracilo-ADN, familia 1
Reparación del ADN	Excínucleasa ABC subunidad A paralog de función desconocida
Reparación del ADN	Glicosilasa de adenina A/G-específica
Reparación del ADN	Exodeoxiribonucleasa VII subunidad pequeña
Reparación del ADN	Exonucleasa sbcc
Reparación del ADN	Exonucleasa SBCE
Reparación del ADN	Helicasa de ADN dependiente de ATP putativa YjcD
Replicación del ADN	ADN polimerasa III subunidades gamma y tau
Replicación del ADN	Proteína de replicación de ADN DnaC
Sin subcategoría	Proteína de unión de ADN HBSu
Latencia y esporulación	
Protección del ADN de la espora	Proteína de esporas soluble en ácido pequeño, SASP de tipo beta
Sin subcategoría	Proteína de maduración de esporas A
Sin subcategoría	Proteína de maduración de esporas B
Ácidos grasos, lípidos, e isoprenoides	
Ácidos grasos	Transferasa de 4'-fosfopanteteinilo
Triacilglicerol	Lisofosfolipasa
Triacilglicerol	Lisofosfolipasa L2
Triacilglicerol	Lipasa de monoglicérido
Transporte de membrana	
Transportadores ABC	Transportador de fosfonato ABC proteína de unión a ATP
Transportadores ABC	Transportador de fosfonato ABC proteína de permeasa phnE1
Transportadores ABC	Transportador de fosfonato ABC proteína de permeasa phnE2
Transportadores ABC	Transporte de dipéptidos proteína de unión a ATP DppD
Transportadores ABC	Transporte de dipéptidos proteína de unión a ATP DppF
Transportadores ABC	Sistema de transporte de dipéptidos proteína de permeasa DppB
Transportadores ABC	Sistema de transporte de dipéptidos proteína de permeasa DppC
Transportadores ABC	Transportador de unión a dipéptidos ABC, sustrato periplásmico
Sin subcategoría	Componente de ATPasa duplicado BL0693 de energización
Sin subcategoría	Componente de ATPasa duplicado mTSB de energizar módulo de transportador ECF regulado por metionina
Sin subcategoría	Componente de sustrato específico BL0695 de ECF predicho
Sin subcategoría	Componente de sustrato específico MTSA de la metionina regulada
Sin subcategoría	Componente de sustrato específico PdxU2 de piridoxina predicha
Sin subcategoría	Componente de sustrato específico ThiT de ECF de tiamina
Sin subcategoría	Componente de membrana BL0694 del módulo energizante
Sin subcategoría	componente transmembrana MTSC del módulo de activación de

(continuación)

Diverso	
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Aspartilo-ARNt (Asn) amidotransferasa subunidad A
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Aspartilo-ARNt (Asn) amidotransferasa subunidad B
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Glutamilo-ARNt (Gln) amidotransferasa subunidad A
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Glutamilo-ARNt (Gln) amidotransferasa subunidad B
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Mutasa de fosfoglucoamina
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Fosfomanomutasa
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Sistema de transporte ABC, proteína de unión de azúcar
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Alfa-L-arabinofuranosidasa II precursor
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Alfa-N-arabinofuranosidasa
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Alfa-N-arabinofuranosidasa 2
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Proteína secretada COG3533
Proyecto de la planta en procariotas DOE	L-arabinosa de isomerasa
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Represor transcripcional del operón de arabinosa
Proyecto de la planta en procariotas DOE	Acetilesterasa de ramnogalacturonano
Sin subcategoría	Regulador de la actividad de la proteasa putativa de membrana YbbK
Motilidad y quimiotaxis	
Motilidad flagelar en procariotas	Proteína de varilla de cuerpo basal FlgC
Motilidad flagelar en procariotas	Proteína compleja de cuerpo gancho-basal flagelar FliE
Motilidad flagelar en procariotas	Proteína flagelina FlaB
Sin subcategoría	Proteína conmutadora de motor flagelar FliG
Metabolismo de nitrógeno	
Sin subcategoría	Proteína reguladora de nitrógeno P-II
Sin subcategoría	Regulador transcripcional Hcp HCPR (familia Crp/Fnr)
Nucleósidos y nucleótidos	
Purinas	Deaminasa de adenina
Pirimidinas	Quinasa de uridina
Sin subcategoría	Reductasa de ribonucleótido de clase III (anaeróbica), grande
Metabolismo de fósforo	
Sin subcategoría	Exopolifosfatasa
Sin subcategoría	Sistema de transporte de fosfato proteína de permeasa PSTA
Sin subcategoría	Sistema de transporte de fosfato proteína de permeasa PSTC
Sin subcategoría	Transportador de fosfato dependiente de sodio
Metabolismo del potasio	
Sin subcategoría	Potasio de voltaje subfamilia de canal KQT
Metabolismo de proteínas	
Biosíntesis de proteínas	GTPasa probable relacionada con EnqC
Biosíntesis de proteínas	Sintetasa de aspartilo-ARNt (Asn)
Biosíntesis de proteínas	ARNt-Ala-CGC
Biosíntesis de proteínas	ARNt-Gly-CCC
Biosíntesis de proteínas	ARNt-Pro-GGG
Biosíntesis de proteínas	ARNt-Ser-CGA
Biosíntesis de proteínas	ARNt-Ser-GGA
Biosíntesis de proteínas	ARNt-Val-CAC
Plegamiento de proteínas	Proteína de foldasa Prsa precursor
Procesamiento de proteínas y modificación	[NiFe] proteína de incorporación de níquel de hidrogenasa HypA
Procesamiento de proteínas y modificación	[NiFe] proteína asociada a incorporación de níquel de hidrogenasa

(continuación)

Metabolismo del ARN	
Procesamiento y modificación del ARN	Peptidilo-prolilo isomerasa cis-trans
Procesamiento y modificación del ARN	Componente de proteína ribonucleasa P
Transcripción	Regulador de transcripción predicha de la sintasa de cisteína,
Transcripción	Polimerasa de ARN factor sigma SigV
Regulación y señalización celular	
Muerte celular programada y sistemas de toxina-antitoxina	Proteína de toxina YafQ
Sin subcategoría	autolisina bifuncional Atl
Sin subcategoría	Atenuador transcripcional asociado a la envoltura celular LytR-
Sin subcategoría	Regulador transcripcional de utilización de hidrocarburo aromático
Sin subcategoría	Proteína de control de catabolito A
Sin subcategoría	Proteína de tipo HPr de represión catabólica Crh
Respiración	
Sin subcategoría	Ferredoxina
Respuesta al estrés	
Golpe de frío	Golpe de frío proteína CSPG
Virulencia, enfermedad y defensa	
Resistencia a antibióticos y tóxico	Proteína de fusión de membrana de sistema de eflujo Co/Zn/Cd probable
Resistencia a antibióticos y tóxico	Regulador transcripcional, familia Merr
Resistencia a antibióticos y tóxico	Metal pesado-(Cd/Co/Hg/Pb/Zn)-translocación de tipo P
Resistencia a antibióticos y tóxico	Proteína de resistencia de vancomicina de tipo B VanW
Resistencia a antibióticos y tóxico	Proteína de resistencia a tetraciclina TetW

Tabla S1B. Genes presentes en *E. rectale* pero ausentes en *R. hominis*.

5

Subcategoría	Papel
Aminoácidos y derivados	
Arginina; ciclo de urea, poliaminas	Regulador transcripcional, familia Merr, poliamina cercana
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Sulfato de subunidad adeniltransferasa 2
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Sulfato y proteína de importación de unión a ATP de tiosulfato Cysa
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Sistema de transporte de sulfato proteína de permeasa CysW
Lisina, treonina, metionina y cisteína	Transportador de metionina MetT

(continuación)

Hidratos de carbono	
Aminoazúcares	N-acetilo-D-glucosamina sistema de transporte ABC,
Di- y oligosacáridos	Galactósido de galactosa/metilo sistema de transporte ABC,
Di- y oligosacáridos	Glucosidasa de maltodextrina
Di- y oligosacáridos	Sistema PTS, IIB específica a maltosa y glucosa
Di- y oligosacáridos	Sistema PTS, CII específico a maltosa y glucosa
Fermentación	Deshidrogenasa A de butanol dependiente de NADH
Fermentación	Deshidrogenasa de alcohol
Monosacáridos	Transportador ABC de beta-xilósido predicho, sustrato-
Metabolismo de un carbono	Hidratasa de fumarato clase I, aeróbica
Ácidos orgánicos	Serina--aminotransferasa de glioxilato
Polisacáridos	Proteína de biosíntesis de glucógeno GlgD, familia de adeniltransferasa de glucosa-1-fosfato
Polisacáridos	proteína relacionada con enzima de desramificación de glucógeno
Alcoholes de azúcar	Deshidrogenasa de glicerol
Pared celular y cápsula	
Componentes de pared celular gram-positivos	Proteína de familia de anclaje de superficie de la pared celular
Subsistemas basados en agrupación	
División celular	FIG001960: proteína de interacción de FtsZ relacionada con la división celular
Biosíntesis de isoprenoides/pared celular: predicho	proteína de unión a penicilina, putativa
fosfatasa de difosfato de undecaprenyl	
Probablemente resistencia a hidroperóxido orgánico	Quinasa de homoserina
proteína hipotética relacionada	
Sin subcategoría	División celular factor de especificidad topológica MinE
Sin subcategoría	Fosfatasa de tirosina de proteínas de bajo peso molecular
Cofactores, vitaminas, grupos prostéticos, pigmentos	
Biotina	3-cetoacilo-CoA tiolasa
Biotina	Sintasa de biotina
Piridoxina	Deshidrogenasa de 4-hidroxitreonina-4-fosfato
Piridoxina	Quinasa de piridoxal
Cofactores, vitaminas, grupos prostéticos, pigmentos	
Piridoxina	Biosíntesis de piridoxina amidotransferasa glutamina,
Piridoxina	Biosíntesis de piridoxina amidotransferasa glutamina,
Tetrapirroles	Adenosiltransferasa cob(I)alamina
Tetrapirroles	Metiltransferasa de uroporfirinógeno-III
Tetrapirroles	Vitamina B12 transportador ABC, componente de unión a B12
Sin subcategoría	Portador de azufre proteína adeniltransferasa ThiF
Sin subcategoría	Proteína de biosíntesis de tiazol ThiG
Sin subcategoría	Proteína de biosíntesis de tiazol ThiH

(continuación)

Metabolismo de ADN	
CRISPs	Proteína asociada a CRISPR Cas7
Reparación del ADN	Proteína de reparación recombinacional de ADN RecT (profago)
Replicación del ADN	Helicasa de ADN dependiente de ATP RecQ
Ácidos grasos, lípidos, e isoprenoides	
Fosfolípidos	O-fosfatidiltransferasa CDP-diacilglicerol--serina
Fosfolípidos	Quinasa de diacilglicerol
Adquisición de hierro y metabolismo	
Sin subcategoría	Sortasa A, específica LPXTG
Transporte de membrana	
Sin subcategoría	Componente específico a sustrato FolT de transportador ECF de folato
Motilidad y quimiotaxis	
Motilidad social y natación no flagelar en bacterias	Ensamblaje fimbrial de tipo IV proteína PilC
Motilidad social y natación no flagelar en bacterias	Ensamblaje fimbrial de tipo IV, ATPasa PilB
Nucleósidos y nucleótidos	
Desintoxicación	Proteína mutT mutadora (7,8-dihidro-8-oxoguanina)
Purinas	Permeasa de uracilo-xantina
Purinas	Fosforribosiltransferasa de adenina
Purinas	Deaminasa de adenosina
Pirimidinas	Fosforilasa de uridina
Fagos, profagos, elementos de transposición, plásmidos	
Fagos, profagos	Proteína de cinta métrica de longitud de cola de fago
Metabolismo de proteínas	
Biosíntesis de proteínas	Similar a subunidad grande ribosomal sintasa de pseudouridina D, Bacillus subtilis tipo YjbO
Biosíntesis de proteínas	ARNt (Guanina37-N1) metiltransferasa
Biosíntesis de proteínas	Proteína de familia de sintetasa de alanilo-ARNt
Degradación de proteínas	Aminopectidasa C
Degradación de proteínas	Aminopectidasa de desbloqueo
Metabolismo del ARN	
Procesamiento y modificación del ARN	COG1720: proteína conservada no caracterizada
Procesamiento y modificación del ARN	Sintetasa ARNt(Ile)-lisidina
Respiración	
Reaccionesceptoras de electrones	Reductasa de adenililsulfata subunidad alfa
Reaccionesceptoras de electrones	Reductasa de adenililsulfata subunidad beta
Reaccionesceptoras de electrones	Reductasa de sulfito disimiladora (desulfoviridina), alfa y
Respuesta al estrés	
Estrés osmótico	Proteína de unión a colina A
Estrés osmótico	Oxidasa de sarcosina subunidad alfa
Sin subcategoría	Proteína de privación de carbono A
Sin subcategoría	Regulador transcripcional, familia PemK
Metabolismo de azufre	
Sin subcategoría	Beta-galactosidasa subunidad grande
Sin subcategoría	Beta-galactosidasa subunidad pequeña
Virulencia, enfermedad y defensa	
Resistencia a antibióticos y tóxico	Aminoglucósido N6'-acetiltransferasa
Resistencia a antibióticos y tóxico	Proteína homeostasis de cobre citoplasmática cutC

R. hominis responde al ambiente intestino mediante la regulación hacia arriba de genes de motilidad, movilización y quimiotaxis

5 [0516] Para determinar los genes expresados diferencialmente por *R. hominis* en respuesta a la asociación con el

huésped y la dieta, una micromatriz se construyó utilizando 6.000 fragmentos de PCR de la biblioteca de secuenciación de pequeño tamaño de inserción. Validación de PCR subsiguiente en tiempo real se realizó en 42 genes expresados diferencialmente (Tablas S2 y S3), que se agrupan en regiones específicas del genoma de *R. hominis* como se ilustra en la Fig. 2A. Para distinguir entre los efectos del ambiente intestinal y componentes de la dieta, la ARN bacteriana se aisló a partir de cuatro diferentes condiciones experimentales: (i) *in vivo*, desde el ciego de ratones mono-asociados; (ii) *in vitro*, a partir de bacterias cultivadas en medios de cultivo; (iii) *in vitro*, a partir de bacterias cultivadas en presencia de componentes de la dieta; y (iv) a partir de bacterias incubadas en la superficie de confluente Caco-2 y células HT-29.

Tabla S2. Análisis de PCR en tiempo real sobre la ARN bacteriana utilizando cebadores de *R. hominis* específicos.

[0517] Los cebadores de PCR bacterianos fueron diseñados para genes expresados diferencialmente utilizando Primer3Plus. Todas las muestras se ejecutaron por triplicado. *GyrA* se utilizó como gen de referencia para la normalización.

Nombre de gen	Rh14d - Control		Rh28d - Control		Rh14d - In Vitro+dieta		Rh28d - In Vitro+dieta		In Vitro + dieta - In Vitro	
	FC	Valor P	FC	Valor P	FC	Valor P	FC	Valor P	FC	Valor P
Deshidrogenasa 3-hidroxiacilo-CoA	5.62	0.00393	8.62	0.00000	-0.85	0.69927	1.30	0.38670	6.62	0.00124
Acetiltransferasa Acetilo-CoA	10.25	0.00304	18.27	0.00000	1.38	0.51556	2.46	0.01882	7.44	0.00048
Proteína de familia de epimerasa de aldosa	7.20	0.00002	11.09	0.00001	22.65	0.03173	34.89	0.02105	-0.32	0.30489
Cadena alfa de sintasa ATP	1.62	0.12713	2.50	0.00003	3.25	0.00645	5.00	0.00000	-2.00	0.00147
Cadena alfa de sintasa ATP 2	11.94	0.00122	5.50	0.00001	2.71	0.18580	1.25	0.72876	4.41	0.06479
Cadena beta de sintasa ATP	1.85	0.08341	3.14	0.00056	4.00	0.00397	6.80	0.00001	-2.16	0.00241
Cadena beta de sintasa ATP 2	8.27	0.00058	6.13	0.00025	1.64	0.33264	1.21	0.67923	-5.05	0.01400
Cadena gamma de sintasa ATP	2.31	0.02994	3.58	0.00027	4.22	0.00238	6.52	0.00001	-1.82	0.01276
Cadena gamma de sintasa ATP 2	-9.59	0.00081	-10.55	0.00013	-1.59	0.40064	-1.75	0.29398	-6.02	0.01363
Deshidrogenasa de butirilo-CoA	13.31	0.00166	19.32	0.00000	1.48	0.39908	2.14	0.02840	9.03	0.00039
Flavoproteína de transferencia de electrón, subunidad alfa	6.32	0.00729	15.55	0.00000	-0.80	0.61916	1.96	0.03441	7.94	0.00030
Flavoproteína de transferencia de electrón, subunidad beta	7.94	0.00414	12.31	0.00000	1.13	0.78504	1.76	0.08347	7.00	0.00078
Proteína de rotación del motor flagelar MotA	-0.94	0.71937	2.37	0.00023	1.69	0.02442	4.25	0.00001	-0.56	1.00000
Proteína de rotación del motor flagelar MotB	-0.57	0.01030	1.19	0.00938	-0.75	0.14601	1.58	0.01676	-0.76	0.08011
Proteína de flagelina FlaA1	-3.05	0.00125	-1.93	0.01193	3.13	0.01261	4.95	0.00249	-9.57	0.00079
Proteína de flagelina FlaA2	1.04	0.84732	-1.28	0.05814	1.45	0.29909	1.09	0.77089	-1.39	0.28105
Proteína de flagelina FlaA3	1.14	0.41467	1.94	0.00312	1.63	0.08606	2.77	0.00477	-1.43	0.17174
Proteína de flagelina flaB	1.02	0.97319	-4.99	0.00568	1.96	0.40946	-2.60	0.14359	-1.92	0.25258
Permeasa de glucuronida	-9.34	0.00001	-13.81	0.00022	-13.97	0.00001	-20.65	0.00003	-1.50	0.13959
L-treonina 3-O-fosfato descarboxilasa	1.62	0.00963	3.70	0.00002	1.66	0.07350	3.78	0.00186	-0.98	0.92518
Transportador de magnesio	372.00	0.00123	11.20	0.03391	4.42	0.32048	-0.13	0.18758	84.10	0.01672
Proteína de quimiotaxis de aceptar metilo 1	-1.18	0.54522	-1.83	0.02731	-2.90	0.01211	-1.87	0.05778	-0.29	0.00389
Proteína de quimiotaxis de aceptar metilo 2	-2.46	0.00400	-2.95	0.00154	1.48	0.10070	1.24	0.33586	-3.65	0.00043
Proteína de quimiotaxis de aceptar metilo 3	1.13	0.54189	1.86	0.04504	3.17	0.00033	5.25	0.00055	-2.81	0.00020

Nombre de gen	Rh14d - Control		Rh28d - Control		Rh14d - In Vitro+dieta		Rh28d - In Vitro+dieta		In Vitro + dieta - In Vitro	
	FC	Valor P	FC	Valor P	FC	Valor P	FC	Valor P	FC	Valor P
Transductor sensorio de quimiotaxis aceptor de metilo 1	1.33	0.01743	2.15	0.00001	1.58	0.05704	2.56	0.00396	-1.19	0.38997
Transductor sensorio de quimiotaxis aceptor de metilo 2	2.03	0.00671	2.34	0.00017	4.94	0.00007	5.71	0.00003	-2.44	0.00163
Proteína de familia MobA/MobL 4/proteína de transferencia conjugada putativa	94.83	0.00177	5.77	0.01561	3.67	0.34227	-4.00	0.29305	23.10	0.04583
Proteína de MobA/MobL 1	257.93	0.00472	9.27	0.04437	8.72	0.25455	-3.19	0.50297	29.57	0.07733
Proteína de MobA/MobL 2	714.11	0.00172	11.64	0.08286	8.17	0.29225	-7.51	0.31871	87.43	0.04300
Proteína de MobA/MobL 3	362.26	0.00144	11.10	0.03380	7.77	0.27426	-4.20	0.43208	46.62	0.05260
Proteína de MobA/MobL 4	219.76	0.00147	6.52	0.08511	7.99	0.17452	-4.22	0.34388	27.49	0.04519
Transportador de ABC de oligopéptido, proteína de unión a oligopéptido periplásmico oppA	1.26	0.49437	1.11	0.45125	1.28	0.49171	1.13	0.53525	-1.02	0.92102
Proteína de unión a ATP transportadora de oligopéptido oppD	-1.29	0.05256	1.08	0.40375	-1.40	0.07422	-1.00	0.98737	1.09	0.60319
Quinasa a histidina de canal K ⁺ osmosensitivo KdpD	3.98	0.00004	7.07	0.00000	5.58	0.00005	9.91	0.00001	-0.71	0.12049
Proteína de sensor de regulon de fosfato PhoR	2.73	0.00211	1.54	0.04166	3.80	0.00919	2.14	0.07191	-1.39	0.34941
Carboxiquinasa de fosfoenolpiruvato [ATP]	2.30	0.05000	3.22	0.00004	1.15	0.70105	1.51	0.04623	2.00	0.00588
Proteína de captación de potasio, componente de membrana integral, KtrB	7.74	0.00006	10.81	0.00002	50.92	0.02191	71.15	0.01638	-0.15	0.15959
Proteína de transferencia conjugada putativa MobA/MobL	183.02	0.00023	9.49	0.01454	8.09	0.08695	-2.39	0.44355	22.63	0.02615
Oxidoreductasa de piruvato-flavodoxina	-0.52	0.05848	-0.92	0.52386	-0.36	0.01504	-0.65	0.09510	1.42	0.16352
Factor sigma de polimerasa ARN para operón flagelar	-0.76	0.02253	1.93	0.00032	-0.82	0.08962	2.08	0.00013	-0.93	0.40060

Tabla S3. Índice de experimentos PCR de *R. hominis* configurado en el mapa de genoma circular. Lista de experimentos de PCR de *R. hominis* como se ha demostrado en el mapa de genoma circular

Exp	Cebador	Inicio	Fin	Longitud	Gen
1	gyrA-NF	7803	7889	87 pb	gyrA
2	1602-F	95664	95740	77 pb	Proteína del sensor de regulón de fosfato PhoR
3	1653-F	153403	153483	81 pb	Proteína de flagelina FlaA1
4	1686-F	189295	189382	88 pb	Proteína de flagelina FlaA2
5	1718-F	221205	221279	75 pb	Proteína de flagelina FlaA3
6	1735-F	250582	250674	93 pb	Proteína de quimiotaxis de aceptación de metilo1
7	1769-F	290546	290628	83 pb	Transductor sensorial de quimiotaxis de aceptación de metilo1
8	1770-F	291722	291808	87 pb	Proteína de quimiotaxis de aceptación de metilo2
9	1831-NF	348711	348810	100 pb	Proteína MobA/MobL4
10	1842-F	364775	364851	77 pb	Proteína MobA/MobL2
11	1867-2652-F	391044	391120	77 pb	Proteína de familia MobA/MobL4/proteína de transferencia conyugal putativa
12	2055-F	600837	600928	92 pb	Acetiltransferasa de acetilo-CoA
13	2056-F	602279	602363	85 pb	Deshidrogenasa de 3-hidroxiacilo-CoA
14	2057-F	602961	603037	77 pb	Deshidrogenasa de butirilo-CoA
15	2058-F	604411	604504	94 pb	Flavoproteína de transferencia de electrones, subunidad beta
16	2059-F	605434	605516	83 pb	Flavoproteína de transferencia de electrones, subunidad alfa
17	129-F	653987	654066	80 pb	Transportador de oligopéptido ABC, proteína de unión a oligopéptido periplásmico oppA
18	132-F	658435	658516	82 pb	Transporte de oligopéptido proteína de unión al ATP oppD
19	805-R	934310	934406	97 pb	Quinasa de histidina de canal K+ osmosensible KdpD
20	807-R	935306	935394	89 pb	Proteína de familia de epimerasa de aldosa
21	808-R	936111	936190	80 pb	Proteína de captación de potasio, componente de membrana integral, KtrB
22	909-F	1053529	1053604	76 pb	Oxidoreductasa de piruvato-flavodoxina
23	1235-F	1434705	1434785	81 pb	Proteína MobA/MobL 3
24	1296-F	1495460	1495544	85 pb	Proteína de quimiotaxis de aceptación de metilo3
25	1297-R	1497854	1497931	78 pb	Descarboxilasa de L-treonina 3-O-fosfato
26	1335-F	1540579	1540671	93 pb	Motores de rotación del motor flagelar MotA
27	1336-F	1541416	1541511	96 pb	Proteína de rotación del motor flagelar MotB
28	1356-F	1559143	1559227	85 pb	Factor sigma de polimerasa de ARN para el operón flagelar
29	3119-F	2211612	2211705	94 pb	Carboxiquinasa de fosfoenolpiruvato [ATP]
30	3117-R	2213046	2213139	94 pb	Transductor sensorial de quimiotaxis de aceptación de metilo2
31	1867-2652-R	2736100	2736176	77 pb	Proteína de la familia MobA/MobL4/proteína de transferencia conyugal putativa
32	1552M-R	2984489	2984566	78 pb	Transportador de magnesio
33	397-R	3153341	3153427	87 pb	Sintasa de ATP cadena beta2
34	398-R	3153616	3153699	84 pb	Sintasa de ATP cadena gamma2
35	399-R	3155799	3155898	100 pb	Sintasa de ATP cadena alfa2
36	404-R	3159387	3159467	81 pb	Permeasa de glucuronida
37	2399-R	3308172	3308265	94 pb	Proteína de transferencia conyugal putativa MobA/MobL
38	2323-R	3366526	3366615	90 pb	Proteína de flagelina flaB

(continuación)

Exp	Cebador	Inicio	Fin	Longitud	Gen
39	2281-R	3416947	3417042	96 pb	Sintasa ATP de cadena beta
40	2280-R	3418736	3418824	89 pb	Sintasa de ATP de cadena gamma
41	2279-R	3418857	3418942	86 pb	Sintasa de ATP de cadena alfa
42	641-R	3467164	3467255	92 pb	Proteína MobA/MobL 1

[0518] Se identificaron cincuenta genes expresados diferencialmente (*in vivo* frente a *in vitro*). El descubrimiento más sorprendente fue la alta regulación positiva *in vivo* de los genes implicados en la transferencia de conjugación/movilización, los genes similares a *mobA* y *mobL* (Fig. 2A). La presencia de tales genes en los estudios transcripcionales fue sorprendente ya que no se asignaron genes identificables a los fagos, profágenos, elementos transponibles y plásmidos en la característica de categoría del subsistema. Esta diferencia en la detección y asignación de genes probablemente se debe a las limitaciones reconocidas de la anotación de categoría de subsistema. El efecto estimulante de los compuestos dietéticos fue mucho menos pronunciado, lo que sugiere que el entorno intestinal *per se* es un inductor principal de los genes implicados en la transferencia horizontal de genes.

[0519] Otros subsistemas inducidos por el entorno intestinal incluyen transporte de membrana, en particular transporte de magnesio, y motilidad y quimiotaxis que incluyen múltiples proteínas de quimiotaxis que aceptan metilo y genes del operón flagelar (Fig. 2B). *R. hominis* posee múltiples genes de flagelina *flaA1*, *flaA2*, *flaA3* y *flaB*. En el entorno del intestino del ratón, la expresión de flagelina se verificó por transferencia Western e inmunocitoquímica usando bacterias aisladas de ratones colonizados *in vivo* y de cultivos *in vitro* cultivados en presencia de dieta, con anticuerpos específicos producidos contra las proteínas de flagelina recombinantes FlaA1 y FlaA2 (RH1) y RH2) (Fig. 2C). Esta validación positiva de la expresión de flagelina *in vivo* es consistente con informes previos que indican que sólo ciertos subconjuntos de Firmicutes producen flagelos *in vivo* (Turnbaugh *et al.*, 2008) a diferencia de otras especies bacterianas que activamente regulan hacia abajo la expresión de la proteína bacteriana. La expresión de los genes del metabolismo catabólico en *R. hominis* en el entorno intestinal también se vio afectada por el entorno intestinal (Fig. 2D). Los genes implicados incluían acetiltransferasa de acetilo-CoA, deshidrogenasa de 3-hidroxiacilo-CoA, deshidrogenasa de butirilo-CoA y carboxiquinasa de fosfoenolpiruvato [ATP].

[0520] Para investigar adicionalmente los efectos de la adaptación del huésped sobre el transcriptoma de *R. hominis*, se realizó la estimulación *in vitro* de células epiteliales intestinales humanas (Caco-2 y HT-29). Esto demostró que el gen de transferencia de conjugación/movilización *proteína mobA/mobL 1*, que se indujo por adaptación al intestino del ratón, también se incrementó en ambas líneas celulares (Fig. 2E). De acuerdo con los datos *in vivo*, el gen de flagelina *MotA* estaba regulado positivamente en células Caco-2. Los genes implicados en el metabolismo del butirato mostraron diferencias entre las dos líneas celulares, con una regulación a la baja observada en las células Caco-2 y una regulación positiva en las células HT-29.

***R. hominis* influye en las rutas de señalización innatas principalmente en el colon**

[0521] La colonización de ratones GF con *R. hominis* se correlacionó con la expresión del gen del huésped aumentado, que era más alta en el colon (Fig. 3A y Tabla S4). La expresión diferencial fue más profunda a los 28 d después de la colonización, con 159 genes regulados positivamente y 143 genes regulados negativamente. El número de genes expresados diferencialmente en el íleon en el 14d fue similar al del colon ascendente, con 79 genes regulados positivamente y 119 genes regulados negativamente. La expresión diferencial en el íleon fue muy baja a 28d, consistente con niveles de colonización reducidos. La respuesta transcriptómica difirió en los dos puntos de tiempo, como se muestra por la clara separación de transcripciones significativas por análisis de mapa de calor (Fig. 3B). La validación positiva en tiempo real de PCR de los datos de Affymetrix se muestra en la Fig. 3C.

Tabla S4. Datos de Affymetrix entre animales inoculados con *R. hominis* y animales GF.

[0522] El análisis de micromatriz Affymetrix se realizó en la ARN aislada de colon ascendente y el tejido del íleon. Los datos se consideraron significativos cuando $P < 0,05$ con el método de falso descubrimiento Benjamini y Hochberg. (A) Transcripciones expresadas diferencialmente en el colon ascendente a 14d. (B) Transcripciones expresadas diferencialmente en el colon ascendente a 28d. (C) Transcripciones expresadas diferencialmente en el íleon a 14d. (D) Transcripciones expresadas diferencialmente en el íleon a 28d.

Tabla S4A. Transcripciones expresadas diferencialmente en el colon ascendente a 14d entre animales inoculados con *R. hominis* y animales libres de gérmenes.

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1424973_at	Cyp3a25	Citocromo P450, familia 3, subfamilia a, polipéptido 25	26,35	4,09E-05	8,91
1449375_at	Ces6	Carboxilesterasa 6	22,80	5,71E-16	29,28
1428400_at	2200002 K05Rik	Gen RIKEN ADNc 2200002K05	6,22	6,65E-09	17,20
1419393_at	Abcg5	Casete de unión a ATP, subfamilia G (WHITE), miembro 5	5,81	0,002156	4,51
1429726_at	Slc16a9	Familia de portadores de soluto 16 (transportadores de ácido monocarboxílico), miembro 9	4,38	0,001103	5,26
1430641_at	9030605 I04Rik	Gen RIKEN ADNc 9030605I04	4,36	0,000358	6,52
1436575_at	Grin3a	Receptor de glutamato ionotrópico, NMDA3A	3,91	0,018503	1,71
1422749_at	Ly6g6c	Complejo de antígeno linfocítico 6, locus G6C	3,71	0,004044	3,79
NuGO_empt070648_at	Abca12	Casete de unión a ATP, subfamilia A (ABC1), miembro 12	3,69	0,000333	6,62
1428682_at	Zc3h6	Dedo de cinc de tipo CCCH que contiene 6	3,28	0,002747	4,26
1431554_a_at	Anxa9	Anexina A9	3,00	3,25E-05	9,18
1423556_at	Akr1b7	Familia de reductasa aldo-keto 1, miembro B7	2,87	0,018503	1,70
1424451_at	Acaa1b	Acetilo-Coenzima A aciltransferasa 1B	2,70	0,000404	6,33
1418486_at	Vnn1	Vanina 1	2,66	0,001531	4,93
1418606_at	Hoxd10	Homeo box D10	2,60	0,000102	7,97
1435207_at	Dixdc1	Dominio DIX que contiene 1	2,55	0,014337	2,11
1427072_at	Stard8	Dominio START que contiene 8	2,48	0,027058	1,15
1442560_at	NA	NA	2,42	0,006928	3,17
1420998_at	Etv5	Gen variante de Ets 5	2,33	0,017697	1,81
1440925_at	Rhoq	Familia de genes de homólogo Ras, miembro Q	2,32	0,013564	2,22
1428902_at	Chst11	Sulfotransferasa de hidratos de carbono 11	2,30	0,000154	7,46
1416607_at	4931406 C07Rik	Gen RIKEN ADNc 4931406C07	2,28	7,26E-11	21,08
1435673_at	Hoxd3	Homeo box D3	2,26	0,019944	1,60
1426663_s_at	Slc45a3	Familia de portador de soluto 45, miembro 3	2,21	0,007554	3,07
1419651_at	2610200 G18Rik	Gen RIKEN ADNc 2610200G18	2,21	0,000406	6,29
1422188_s_at	NA	NA	2,20	0,000397	6,39
1435468_at	D23002 5D16Rik	Gen RIKEN ADNc D230025D16	2,15	0,018503	1,71
1417991_at	Dio1	Deiodinasa, yodotironina, tipo I	2,12	0,026066	1,24
1451557_at	Hacer encaje	Aminotransferasa de tirosina	2,11	0,046376	0,38
1428989_at	0710001 D07Rik	Gen RIKEN ADNc 0710001D07	2,03	0,04028	0,54

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1456680_at	B3gnt6	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetilglucosaminiltransferasa 6 (sintasa de núcleo 3)	2,01	0,024447	1,35
1443235_at	Eif2ak4	Factor de iniciación de traducción eucariota 2 quinasa alfa 4	1,97	0,002156	4,51
1419759_at	Abcb1a	Casete de unión a ATP, subfamilia B (MDR/TAP), miembro 1A	1,97	0,009639	2,79
1456389_at	Zeb2	Dedo cinc homeobox de unión a E-box 2	1,96	0,013795	2,16
1440840_at	D630004K10Rik	Gen RIKEN ADNc D630004K10	1,96	0,017697	1,80
1457619_at	Ces6	Carboxilesterasa 6	1,94	0,04028	0,55
1449049_at	Tlr1	Receptor de tipo Toll 1	1,92	0,018503	1,72
NuGO_empt049113_at	Ptpbh	Fosfatasa de tirosina de proteína, receptor de tipo H	1,89	0,002961	4,17
1424376_at	Cdc42ep1	Proteína efectora de CDC42 (unión a Rho GTPasa) 1	1,88	0,014337	2,10
1436566_at	Rab40b	Rab40b, miembro de la familia del oncogén RAS	1,87	0,028805	1,04
1432590_at	LOC621549	NA	1,83	0,012459	2,38
1430543_at	Clip3	Proteína enlazadora que contiene el dominio CAP-GLY 3	1,82	6,24E-05	8,47
1435553_at	Pdzd2	Dominio PDZ que contiene 2	1,81	0,048735	0,32
1428271_at	Acbd4	Dominio de unión a Acilo-Coenzima A que contiene 4	1,80	0,014378	2,09
1418059_at	Eltf1	EGF, dominio de siete transmembrana latrofilina que contiene 1	1,79	0,005331	3,47
1456532_at	Pdqfd	Factor de crecimiento derivado de plaquetas, polipéptido D	1,77	0,007554	3,05
1437393_at	AI875142	Secuencia expresada AI875142	1,77	0,03504	0,78
1428332_at	1500004A08Rik	Gen RIKEN ADNc 1500004A08	1,77	0,038684	0,61
1434015_at	Slc2a6	Familia de portador de soluto 2 (transportador de glucosa facilitado), miembro 6	1,75	0,000437	6,19
1449403_at	Pde9a	Fosfodiesterasa 9A	1,71	0,03504	0,79
1428260_at	Spg3a	Paraplejia espástica 3A homólogo (humano)	1,69	0,011437	2,55
1417803_at	1110032A04Rik	Gen RIKEN ADNc 1110032A04	1,66	0,001103	5,27
1430245_at	Fxr1h	Gen de retraso mental frágil X 1, homólogo autosómico	1,66	0,012459	2,36
1422542_at	Gpr34	Receptor acoplado a proteína G 34	1,65	0,031372	0,95
1427020_at	Scara3	Clase de receptor Scavenger A, miembro 3	1,60	0,010425	2,69
1430211_at	4930415O20Rik	Gen RIKEN ADNc 4930415O20	1,57	0,045	0,42
1452809_at	9030607L17Rik	Gen RIKEN ADNc 9030607L17	1,53	0,013564	2,22
NuGO_empt066282_at	Defb37	Defensina beta 37	1,51	0,005422	3,44
1451498_at	BC004853	Secuencia de ADNc BC004853	1,50	0,037045	0,69
1434140_at	Mcf2l	Mcf.2 transformante similar a secuencia	1,49	0,025597	1,30

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1452650_at	Trim62	Motivo tripartito que contiene 62	1,46	0,02652	1,19
1427492_at	Pof1b	Insuficiencia ovárica prematura 1B	1,46	0,004679	3,61
1426601_at	Slc37a1	Familia de portador de soluto 37 (transportador de glicerol-3-fosfato), miembro 1	1,42	0,032433	0,90
1448188_at	Ucp2	Proteína de desacoplamiento 2 (portador de protones mitocondrial)	1,42	0,008209	2,96
1460409_at	Cpt1a	Palmitoiltransferasa de carnitina 1a, hígado	1,40	0,025932	1,26
1460652_at	Esrra	Receptor relacionado con el estrógeno, alfa	1,39	0,038182	0,65
1453869_at	LOC328277	NA	1,36	0,017271	1,86
1435985_at	Farp2	FERM, RhoGEF y proteína de dominio pleckstrin 2	1,34	0,037045	0,70
1454706_at	Uvrag	Gen asociado a la resistencia a la radiación UV	1,34	0,021704	1,51
1451232_at	Cd151	Antígeno CD151	1,31	0,049274	0,31
1423570_at	Abcg1	Casete de unión ATP, subfamilia G (WHITE), miembro 1	1,30	0,04028	0,55
1418817_at	Chmp1b	Proteína modificadora de cromatina 1B	1,25	0,010981	2,61
1441059_at	1700049G17Rik	Gen RIKEN ADNc 1700049G17	1,25	0,028805	1,05
NuGO_empt061346_at	NA	NA	1,24	0,026697	1,17
1420503_at	Slc6a14	Familia de portadores de soluto 6 (transportador de neurotransmisores), miembro 14	1,22	0,012499	2,32
NuGO_empt073103_x_at	NA	NA	1,21	0,01946	1,63
1452592_at	Mqst2	Microstat glutatión S-transferasa 2	1,18	0,038684	0,60
1441135_at	NA	NA	- 1,10	0,01646	1,92
1428482_at	Akap10	Proteína de anclaje de quinasa (PRKA) 10	- 1,20	0,022427	1,47
1426679_at	Zfp706	Proteína de proteína de cinc 706	- 1,26	0,028805	1,05
1415816_at	Cct7	Subunidad de Chaperonina 7 (eta)	- 1,26	0,011936	2,47
1445024_at	Stard7	Dominio START que contiene 7	- 1,27	0,03504	0,79
1453591_at	5730437N04Rik	Gen RIKEN ADNc 5730437N04	- 1,32	0,02652	1,19
1450788_at	Saa1	Suero amiloide A 1	- 1,32	0,002156	4,54
1436157_at	Ccar1	Ciclo de división celular y regulador de apoptosis 1	- 1,33	0,034783	0,81
1450987_a_at	2310004I24Rik	Gen RIKEN ADNc 2310004I24	- 1,35	0,0361	0,73
1433850_at	Ppp4r2	Fosfatasa de proteína 4, subunidad reguladora 2	- 1,36	0,018503	1,71
1434835_at	Wapal	Homólogo de alas separadas (Drosophila)	- 1,37	0,027058	1,14
NuGO_empt090017_s_at	Cdk7	Quinasa dependiente de ciclina 7 (homólogo de Xenopus MO15 quinasa activadora de cdk)	- 1,37	0,044186	0,44
1422579_at	Hspe1	Proteína de choque térmico 1 (chaperonina 10)	- 1,38	0,017697	1,81
1455726_at	Gm71	Modelo de gen 71, (NCBI)	- 1,42	0,029302	1,02

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1420461_at	Mst1r	Receptor estimulador de macrófagos 1 (tirosina cinasa relacionada con c-met)	-1,49	0,046838	0,37
1453264_at	Marveld3	Dominio MARVEL (asociación de membrana) que contiene 3	-1,49	0,005522	3,40
1425030_at	Zfp622	Proteína de dedo de zinc 622	-1,49	0,000586	5,89
1458507_at	2810055 G22Rik	Gen RIKEN ADNc 2810055G22	-1,50	0,032433	0,89
1443988_at	Rbm39	Proteína de unión a ARN adherente 39	-1,51	0,037045	0,68
1460465_at	A930038 C07Rik	Gen RIKEN ADNc A930038C07	-1,51	0,004627	3,64
1428784_at	Gmip	Proteína que interactúa con gema	-1,51	0,045	0,42
1451621_at	5830417 C01Rik	Gen RIKEN ADNc 5830417C01	-1,65	0,014536	2,07
1422837_at	Scel	Scielina	-1,68	0,0361	0,74
1454617_at	Arrdc3	Dominio de arrestina que contiene 3	-1,71	0,038496	0,62
1452047_at	Cacybp	Proteína de unión a calciclina	-1,72	0,018495	1,75
1434724_at	Usp31	Peptidasa específica de ubiquitina 31	-1,75	0,024018	1,39
1417032_at	Ube2g2	Enzima conjugadora de ubiquitina E2G 2	-1,76	0,04028	0,56
1448628_at	Scg3	Secretogranina III	-1,77	0,016351	1,93
1443877_a_at	Rapgef6	Factor de intercambio de nucleótidos de guanina de rap (GEF) 6	-1,82	0,004044	3,80
1427944_at	Caprin2	Miembro de la familia Caprina 2	-1,85	0,04248	0,49
1415909_at	Stip1	Fosfoproteína inducida por estrés 1	-1,89	0,024018	1,38
1422452_at	Bag3	Atanogen asociado a Bcl2 3	-1,89	0,026066	1,24
1438041_at	Pde7a	Fosfodiesterasa 7A	-1,91	0,025597	1,29
1433927_at	Usp1	Peptidasa específica de ubiquitina tipo 1	-1,92	0,024018	1,38
1422860_at	Nts	Neurotensina	-1,94	1,84E-07	14,19
1451194_at	Aldob	Aldolasa 2, isoforma B	-1,94	7,08E-06	10,59
1441662_at	Cyp4x1	Citocromo P450, familia 4, subfamilia x, polipéptido 1	-1,95	0,00019	7,22
1445490_at	C77805	Secuencia expresada C77805	-1,96	0,003479	4,00
NuGO_empt066852_at	NA	NA	-2,07	0,013658	2,19
1442427_at	NA	NA	-2,11	0,033207	0,86
1430185_at	Akap13	Una proteína de anclaje de quinasa (PRKA) 13	-2,12	0,0361	0,74
1452462_a_at	Banp	Proteína nuclear asociada a Btg3	-2,16	0,038182	0,64
1446158_at	Exoc6b	Componente complejo Exocvst 6B	-2,19	0,010302	2,72
1418113_at	Cyp2d10	Citocromo P450, familia 2, subfamilia d, polipéptido 10	-2,24	0,012383	2,42
1426645_at	Hsp90aa1	Proteína de choque térmico de 90 kDa alfa (citósólica), miembro de clase A 1	-2,30	0,012459	2,34
1420150_at	Spsb1	Dominio del receptor SplA/ryanodina y caja SOCS que contiene 1	-2,36	0,015257	2,01
1452382_at	Dnm3os	Dinamina 3, cadena opuesta	-2,37	0,025932	1,26
1460645_at	Chordc1	Cisteína y dominio rico en histidina (CHORD) que contiene proteína de unión a cinc 1	-2,38	0,002156	4,53
1457477_at	NA	NA	-2,39	0,027058	1,14
1430175_at	Tmtc2	Repetición de transmembrana y tetratricopeptida que contiene 2	-2,40	0,028805	1,05
1433266_at	2810416 A17Rik	Gen RIKEN ADNc 2810416A17	-2,43	0,0361	0,73
1416756_at	Dnajb1	Homólogo DnaJ (Hsp40), subfamilia B, miembro 1	-2,50	0,013658	2,19
1415938_at	Spink3	Inhibidor de la serina peptidasa, Kazal tipo 3	-2,53	0,012459	2,35
1429273_at	Bmper	Regulador endotelial de unión a BMP	-2,53	0,012459	2,34
1450518_at	Hnf4g	Factor nuclear hepatocito 4, gamma	-2,53	0,019018	1,66

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1440227_at	BF642829	Secuencia expresada BF642829	-2,58	0,038494	0,63
1451924_a_a t	Edn1	Endotelina 1	-2,63	0,011568	2,51
1425952_a_a t	Gcg	Glucagón	-2,65	2,76E-06	11,57
1459253_at	Arrdc3	Arrestin dominio que contiene 3	-2,69	0,026081	1,23
1416288_at	Dnaja1	Homólogo DnaJ (Hsp40), subfamilia A, miembro 1	-2,75	0,000154	7,45
1435160_at	1110064P 04Rik	Gen RIKEN ADNc 1110064P04	-2,76	0,011568	2,52
1460179_at	Dnaja1	Homólogo DnaJ (Hsp40), subfamilia A, miembro 1	-2,78	0,000251	6,92
1419349_a_a t	Cyp2d9	Citocromo P450, familia 2, subfamilia d, polipéptido 9	-2,78	0,000134	7,68
NuGO_ emt044299_a t	Sstr1	Receptor de somatostatina 1	-2,80	3,73E-07	13,38
1449493_at	Insl5	Insulina 5	-2,91	5,33E-08	15,35
NuGO_ emt054105_a t	D630013 G24Rik	Gen RIKEN ADNc D630013G24	-2,99	0,004044	3,83
1419185_a_a t	MLxipl	MLX que interactúa como proteína	-3,16	4,43E-06	11,08
1449939_s_a t	DIk1	Homólogo delta 1 (Drosophila)	-3,29	9,19E-11	20,69
1458385_at	Hspa4l	Proteína de choque térmico 4	-3,36	0,032433	0,90
1422639_at	Calcb	Polipéptido relacionado con calcitonina, beta	-3,75	0,010981	2,62
1425993_a_a t	Hsp110	Proteína de choque térmico 110	-4,08	0,028805	1,05
NuGO_ emt091063_a t	NA	NA	-6,03	3,11E-07	13,63
1419473_a_a t	Cck	Colecistoquinina	-10,87	4,94E-1	21,66
1452388_at	Hspa1a	Proteína de choque térmico 1A	-25,30	0,02652	1,19

Tabla S4B. Transcritos expresados diferencialmente en el colon ascendente a 28d entre animales inoculados con *R. hominis* y animales libres de gérmenes.

5

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1416809_at	Cyp3a11	Citocromo P450, familia 3, subfamilia a, polipéptido 11	89,84	1,45E-06	12,00
1424973_at	Cyp3a25	Citocromo P450, familia 3, subfamilia a, polipéptido 25	52,30	7,31E-07	12,67
1419393_at	Abcg5	Casete de unión a ATP, subfamilia G (WHITE), miembro 5	42,06	1,60E-09	18,55
1449375_at	Ces6	Carboxilesterasa 6	26,10	1,75E-16	31,66
1422749_at	Ly6g6c	Complejo de antígeno 6 de linfocito, locus G6C	25,49	2,06E-10	20,64
1448964_at	S100g	S100 proteína de unión a calcio G	17,88	4,82E-07	13,11
1455540_at	Cps1	Carbamoilo-fosfato sintetasa 1	11,50	0,010507	1,76
1449133_at	Sprr1a	Pequeña proteína rica en prolina 1A	11,27	0,009303	1,97
NuGO_ emt070648_ at	Abca12	Casete de unión a ATP, subfamilia A (ABC1), miembro 12	7,97	4,05E-08	15,43

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1448485_at	Gut1	Gamma-glutamyltransferasa 1	7,45	0,020934	0,94
1417828_at	Aqp8	Aquaporina 8	6,67	0,001582	4,30
1437060_at	Olfm4	Olfactomedina 4	5,80	0,023469	0,77
1420437_at	Indo	Indoleamina-pirrol 2,3 dioxigenasa	5,18	0,000637	5,44
1425452_s_at	AW125753	Secuencia expresada AW125753	4,97	0,001639	4,20
1439934_at	Slc30a10	Familia de portador de soluto 30, miembro 10	4,68	0,000119	7,49
1430641_at	9030605104Rik	Gen RIKEN ADNc 9030605104	4,47	0,000199	6,89
1423556_at	Akr1b7	Familia Aldo-keto reductasa 1, miembro B7	4,36	0,000304	6,44
1428400_at	2200002K05Rik	Gen RIKEN ADNc 2200002K05	4,31	4,81E-07	13,18
1424626_at	2010003K11Rik	Gen RIKEN ADNc 2010003K11	4,25	0,024887	0,68
1439727_at	Clca6	Calcio de canal de cloruro activado 6	4,09	0,000869	5,07
1450355_a_at	Capg	Proteína (filamento de actina), similar a la gelsolina	3,90	4,67E-05	8,59
1427119_at	Spink4	Inhibidor de peptidasa de serina, Kazal tipo 4	3,67	0,007507	2,25
NuGO_empt092118_s_at	NA	NA	3,51	0,040399	-0,04
1451239_a_at	Slc26a1	Familia de portadores de soluto 26 (transportador de sulfato), miembro 1	3,36	0,004508	2,94
1418283_at	Cldn4	Claudina 4	2,97	0,002809	3,51
1418165_at	Itlna	Intelectina a	2,88	0,0005	5,82
14401972_at	1810054D07Rik	Gen RIKEN ADNc 1810054D07	2,86	0,000108	7,65
1426980_s_at	E130012A19Rik	Gen RIKEN ADNc E130012A19	2,83	0,002052	3,91
1431042_at	Paqr8	Miembro de la familia del receptor de progestina y adipoQ VIII	2,67	0,000637	5,46
1424688_at	Creb3l3	Proteína de unión a elemento responsivo cAMP 3-tipo 3	2,67	0,035165	0,19
NuGO_empt049113_at	Ptprh	Proteína tirosina fosfatasa, tipo de receptor, H	2,54	6,75E-06	10,55
1432358_at	Muc16	Mucina 16	2,47	0,044391	-0,20
1419759_at	Abcb1a	Casete ATP-binding, subfamilia B (MDR/TAP), miembro 1A	2,46	0,00017	7,13
NuGO_empt033610_at	Nox1	NADPH oxidasa 1	2,43	0,035165	0,20
1418661_at	Abhd2	Dominio de abhidrolasa que contiene 2	2,41	0,043727	-0,17
1420499_at	Gch1	GTP ciclohidrolasa 1	2,38	0,040391	-0,03
1416607_at	4931406C07Rik	Gen RIKEN ADNc 4931406C07	2,31	3,39E-11	22,26
1417991_at	Dio1	Deiodinasa, yodotironina, tipo I	2,29	0,006845	2,39
1455455_at	Glt28d2	Glicosiltransferasa 28 dominio que contiene 2	2,16	0,015457	1,33
1417164_at	Dusp10	Fosfatasa de doble especificidad 10	2,13	0,031006	0,40
1428937_at	Atp2b1	ATPasa, transporte de Ca ++, membrana plasmática 1	2,13	1,13E-05	9,98
1429833_at	Ly6g6e	Complejo de antígeno 6 de linfocito, locus G6E	2,10	0,042694	-0,12
1419582_at	Cyp2c55	Citocromo P450, familia 2, subfamilia c, polipéptido 55	2,06	0,022426	0,83
1448562_at	Upp1	Uridina fosforilasa 1	2,06	0,007369	2,29
1444254_at	N/A	NA	2,05	0,009642	1,90
1428936_at	Atp2b1	ATPasa, transporte de Ca ++, membrana plasmática 1	2,05	0,000378	6,15

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1421268_at	Ugcg	UDP-glucosa ceramida glucosiltransferasa	2,05	0,035029	0,21
1419478_at	Sectm1b	Secretado y transmembrana 1B	2,02	0,004814	2,83
1428336_at	Acpat4	1-acilglicerol-3-fosfato O-aciltransferasa 4 (ácido lisofosfatídico aciltransferasa, delta)	2,02	0,047797	-0,32
1456231_at	Pla2g3	Fosfolipasa A2, grupo III	1,99	0,000365	6,21
1421709_at	Fmo5	Flavina que contiene monooxigenasa 5	1,97	0,02187	0,86
1455104_at	NA	NA	1,95	0,010934	1,71
1417133_at	Pmp22	Proteína periférica de mielina	1,95	0,027135	0,58
1418206_at	Sdf2l1	Factor 2 derivado de células estromales tipo 1	1,94	0,045914	-0,25
1436614_at	Al843639	Secuencia expresada Al843639	1,94	0,006795	2,41
1452070_at	Dedd2	Proteína de unión a ADN que contiene el dominio efector de la muerte 2	1,92	0,046848	-0,28
1417404_at	Elovl6	Miembro de la familia ELOVL 6, alargamiento de ácidos grasos de cadena larga (levadura)	1,90	0,012549	1,55
1417277_at	Cyp4f16	Citocromo P450, familia 4, subfamilia f, polipéptido 16	1,87	0,000119	7,50
1422983_at	Itqb6	Integrina beta 6	1,87	0,03266	0,33
NuGO_empt043440_at	2210010C17Rik	Gen RIKEN ADNc 2210010C17	1,73	0,01702	1,21
1430674_at	1700016C15Rik	Gen RIKEN ADNc 1700016C15	1,73	0,036022	0,14
1430890_at	2210010C17Rik	Gen RIKEN ADNc 2210010C17	1,72	0,011201	1,68
1417803_at	1110032A04Rik	Gen RIKEN ADNc 1110032A04	1,71	0,000358	6,25
1449873_at	Bmp8a	Proteína morfogenética ósea 8a	1,71	0,044796	-0,22
1434130_at	Lhfp12	Lipona HMGIC fusion 2	1,71	0,004814	2,83
1448605_at	Rhoc	Familia de genes Ras homólogo, miembro C	1,70	0,001099	4,79
1432363_at	2410018E23Rik	Gen RIKEN ADNc 2410018E23	1,69	0,04853	-0,34
1427878_at	0610010012Rik	Gen RIKEN ADNc 0610010012	1,68	2,48E-05	9,21
1416379_at	Panx1	Pannexina 1	1,67	0,002404	3,74
1434059_at	B230312A22Rik	Gen RIKEN ADNc B230312A22	1,65	0,001763	4,12
1452475_at	Pcsk5	Proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 5	1,65	0,036022	0,12
1454399_at	2010D03H20Rik	Gen RIKEN ADNc 2010003H20	1,62	0,016629	1,24
1460550_at	Mtmr11	Proteína relacionada con miotubularina 11	1,62	0,010762	1,73
NuGO_empt070892_at	NA	NA	1,62	0,020773	0,95
1436710_at	Zswim4	Dedo de cinc, dominio SWIM que contiene 4	1,62	0,009718	1,88
1420663_at	Zbtb7b	Dedo de cinc y dominio BTB que contiene 7B	1,61	0,042694	-0,13
1418991_at	Bak1	BCL2-antagonista/asesino 1	1,61	0,01094	1,71
1417990_at	Ppp1r14d	Proteína fosfatasa 1, subunidad regulatoria (inhibidor) 14D	1,59	0,003746	3,16
1452837_at	Lpin2	Lipina 2	1,58	0,035702	0,16
NuGO_empt021769_s_at	Slc17a4	Familia de portadores de soluto 17 (fosfato de sodio), miembro 4	1,57	0,015878	1,30
1418671_at	Capn5	Calpaína 5	1,57	0,041629	-0,09
1417751_at	Stk10	Serina/treonina quinasa 10	1,57	0,027636	0,55

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1452294_at	Pcdh1	Protocaderina 1	1,56	0,003042	3,42
1429154_at	Slc35f2	Familia de portador de soluto 35, miembro F2	1,56	0,004185	3,02
1450982_at	Slc9a3r1	Familia de portadores de soluto 9 (intercambiador de sodio/hidrógeno), regulador de la isoforma 3 1	1,56	0,008755	2,06
1434015_at	Slc2a6	Familia de portador de soluto 2 (transportador de glucosa facilitado), miembro 6	1,55	0,005093	2,72
1418712_at	Cdc42ep5	Proteína efectora CDC42 (unión a Rho GTPasa) 5	1,55	0,003976	3,09
1424809_at	Crb3	Homólogo de migas 3 (Drosophila)	1,53	0,014107	1,43
1428953_at	Otud7b	Dominio OTU que contiene 7B	1,53	0,035702	0,17
1424090_at	Sdcbp2	Proteína de unión a sindecano (sinténina) 2	1,53	0,023574	0,76
1418215_at	Mep1b	Meprin 1 beta	1,53	0,027636	0,55
1434456_at	Gm440	modelo de gen 440, (NCBI)	1,53	0,032752	0,32
1423521_at	Lmnb1	Lamina B1	1,53	0,007369	2,31
1425298_at	Naip1	Familia NLR, proteína inhibidora de la apoptosis 1	1,51	0,002438	3,70
1456619_at	Liph	Lipasa, miembro H	1,50	0,044796	-0,22
1418976_at	Cideb	Factor de fragmentación de ADN inductor de muerte celular, efector B de subunidad alfa	1,49	0,020944	0,93
1423376_at	Dok4	Proteína de acoplamiento 4	1,49	0,005089	2,73
1415793_at	Pnpo	Piridoxina 5'-fosfato oxidasa	1,48	0,00252	3,63
1435461_at	Magi3	Membrana asociada guanilato quinasa, WW y PDZ dominio que contiene 3	1,48	0,001623	4,23
1444951_at	BC042698	Secuencia de ADNc BC042698	1,45	0,042694	-0,14
1452214_at	Skil	Tipo SKI	1,45	0,020383	0,99
1426284_at	Krt20	Queratina 20	1,43	0,021519	0,88
1460406_at	AI427122	Secuencia expresada AI427122	1,42	0,016225	1,27
1419331_at	Cdh17	Cadherina 17	1,41	0,009399	1,94
1428509_at	Myo1e	Miosina IE	1,41	0,043727	-0,17
1429117_at	Tradd	TNFRSF1A asociado a través del dominio de muerte	1,41	0,020944	0,91
1460681_at	Ceacam2	Molécula de adhesión celular relacionada con CEA 2	1,41	0,036022	0,14
1455678_at	NA	NA	1,41	0,048555	-0,36
1440218_at	BC040758	Secuencia de ADNc BC040758	1,41	0,026321	0,62
1416009_at	Tspan3	Tetraspanina 3	1,40	0,002052	3,91
1456200_at	Ipmk	Multiquinasa de polifosfato de inositol	1,40	0,033108	0,28
1424126_at	Alas1	Sintasa de ácido aminolevulínico 1	1,39	0,040391	-0,03
1434482_at	D4Ertd22e	Segmento de ADN, Chr 4, ERATO Doi 22, expresado	1,39	0,038213	0,05
1416690_at	Gtpbp2	Proteína de unión a GTP 2	1,38	0,035702	0,16
1417895_at	Tmem54	Proteína de membrana 54	1,38	0,001332	4,53
1424245_at	Ces2	Carboxilesterasa 2	1,37	0,020383	0,99
1434559_at	Stx3	Sintaxina 3	1,37	0,032755	0,31
1426733_at	Itpk1	Inositol 1,3,4-trifosfato 5/6 quinasa	1,35	0,010099	1,81
1451139_at	Slc39a4	Familia de portador de soluto 39 (transportador de zinc), miembro 4	1,34	0,04853	-0,34

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1417398_at	Rras2	Oncogén RAS viral (r-ras) relacionado homólogo 2	1,34	0,040085	-0,02
1427203_at	Myo15b	Miosina XVB	1,33	0,020944	0,92
1428331_at	2210016F16Rik	Gen RIKEN ADNc 2210016F16	1,32	0,047659	-0,30
1427128_at	Ptpn23	Proteína tirosina fosfatasa, no receptor tipo 23	1,31	0,042694	-0,13
1420426_at	Myo7b	Miosina VIIb	1,30	0,036022	0,13
1452304_a_at	Arhgef5	Factor de intercambio de nucleótidos de guanina Rho (GEF) 5	1,30	0,047797	-0,31
1434303_at	Raph1	Ras asociado (RalGDS/AF-6) y dominios de homología pleckstrina 1	1,29	0,024887	0,69
1433885_at	A1788777	Secuencia expresada A1788777	1,28	0,018321	1,10
1415765_at	HnrpU2	Ribonucleoproteína nuclear heterogénea tipo U 2	1,28	0,009181	2,00
1448110_at	Sema4a	Dominio de Sema, dominio de inmunoglobulina (Ig), dominio transmembrana (TM) y dominio citoplasmático corto, (semaforina) 4A	1,27	0,00151	4,40
1423960_at	Mboat5	Dominio O-aciltransferasa unido a la membrana contiene 5	1,27	0,043727	-0,18
1415676_a_at	Psmb5	Subunidad proteasoma (prosome, macropaina), tipo beta 5	1,27	0,040399	-0,04
1434345_at	Clrn3	Clarina 3	1,27	0,027133	0,59
1426014_a_at	Mucdhl	Mucina y cadherina	1,27	0,036152	0,11
1420503_at	Slc6a14	Familia de portadores de soluto 6 (transportador de neurotransmisores), miembro 14	1,26	0,001582	4,31
1418817_at	Chmp1b	Cromatina modificando la proteína 1B	1,25	0,004961	2,78
1423686_a_at	Prr13	Proline rica 13	1,25	0,026919	0,60
1420826_at	Letm1	Cremallera de leucina-mano EF que contiene proteína transmembrana 1	1,24	0,036022	0,13
1448618_at	Mvp	Proteína de bóveda principal	1,24	0,031006	0,39
1417178_at	Gipc2	Familia que contiene el dominio PDZ GIPC, miembro 2	1,24	0,014863	1,38
1416627_at	Spint1	Inhibidor de la serina proteasa, Kunitz tipo 1	1,23	0,048555	-0,36
1428163_at	Sar1b	Homólogo del gen SAR1 B (S. cerevisiae)	1,22	0,036022	0,13
1416193_at	Car1	Anhidrasa carbónica 1	1,21	0,009728	1,87
1444884_at	Ppt1	Palmitoyl-proteína tioesterasa 1	1,18	0,032755	0,31
1448279_at	Arpc3	Complejo de proteína 2/3 relacionado con actina, subunidad 3	1,14	0,049367	-0,38
1417282_at	Mmp23	Matriz metalopeptidasa 23	- 1,14	0,024366	0,72
1429615_at	Zfp91	Proteína de dedo de cinc 91	- 1,22	0,038424	0,04
1453577_at	2610018103Rik	Gen RIKEN ADNc 2610018103	- 1,22	0,04853	-0,35

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1417999_at	Itm2b	Proteína de membrana integral 2B	-1,22	0,020944	0,91
1454994_at	Klhl20	Kelch 20 (Drosophila)	-1,24	0,040433	-0,05
1435563_at	Mrps5	Proteína ribosomal mitocondrial S5	-1,25	0,022222	0,84
1445561_at	NA	NA	-1,27	0,04853	-0,34
1436854_at	Trpc2	Canal de cationes potencialmente receptor transitorio, subfamilia C, miembro 2	-1,27	0,002008	3,97
1416452_at	Avena	Aminotransferasa de ornitina	-1,27	0,009757	1,86
1415961_at	Itm2c	Proteína de membrana integral 2C	-1,28	0,007369	2,28
1448933_at	Pcdhb17	Protocadherin beta 17	-1,28	0,048555	-0,35
1440391_at	Gcn11i	GCN1 control general de la síntesis de aminoácidos 1 tipo 1 (levadura)	-1,29	0,030585	0,42
1450788_at	Saa1	Suero amiloide A1	-1,31	0,001623	4,23
1444451_at	Pappa2	Papalisina 2	-1,31	0,038548	0,03
1457029_at	C030010 B13Rik	Gen RIKEN ADNc C030010B13	-1,31	0,023793	0,74
1417088_at	Zfp346	Proteína de dedo de cinc 346	-1,33	0,039077	0,01
1436220_at	Zfp287	Proteína de dedo de cinc 287	-1,33	0,022441	0,82
1445824_at	Zfp458	Proteína de dedo de cinc 458	-1,37	0,044011	-0,18
1420191_s_ at	D16Bwg 1494e	Segmento de ADN, Chr 16, Briqham & Women's Genetics 1494 expresado	-1,37	0,035165	0,19
1415871_at	Tgfb1	Factor de crecimiento transformante, beta inducida	-1,38	0,039653	0,00
1442731_at	9030416 H16Rik	Gen RIKEN ADNc 9030416H16	-1,41	0,012107	1,59
1424889_at	Nupl2	Nucleoporina 2	-1,42	0,001582	4,31
1416178_a_ at	Plekhl1	Homología de Pleckstrin que contiene dominio, miembro de familia B (evectinas) 1	-1,44	0,047797	-0,32
1447946_at	Adam23	Dominio desintegrina y metalopeptidasa 23	-1,44	0,017961	1,13
NuGO_ emt080869_ at	NA	NA	-1,45	0,032755	0,31
1452050_at	Camk1d	Identificación de proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina	-1,45	0,006002	2,56
1442447_at	Znrf3	Cinc y dedo anular 3	-1,45	9,00E-06	10,24
1416865_at	Fgd1	Dominio FYVE, RhoGEF y PH que contiene 1	-1,46	0,049235	-0,37
1442197_at	Al480624	Secuencia expresada Al480624	-1,47	0,033108	0,27
1427020_at	Scara3	Clase de receptor Scavenger A, miembro 3	-1,47	0,029906	0,45
1434961_at	Asb1	Anquirina repetición y SOCS proteína que contiene caja 1	-1,48	0,0093	1,97
1431873_a_ at	Tube1	Epsilon-tubulina 1	-1,48	0,033108	0,26
1424367_a_ at	Homer2	Homer homólogo 2 (Drosophila)	-1,49	0,00269	3,56
1441662_at	Cyp4x1	Citocromo P450, familia 4, subfamilia x, polipéptido 1	-1,50	0,028455	0,51
1429086_at	Grhl2	Grainyhead 2 (Drosophila)	-1,51	0,04298	-0,15
1439078_at	Klhl4	Kelch 4 (Drosophila)	-1,52	0,020679	0,96
1451194_at	Aldob	Aldolasa 2, isoforma B	-1,54	0,002438	3,70
1449913_at	Zfp2	Proteína de dedo de cinc 2	-1,55	0,033108	0,29
1431820_at	4632404 H12Rik	Gen RIKEN ADNc 4632404H12	-1,56	0,036071	0,12
1437900_at	4930523 C07Rik	Gen RIKEN ADNc 4930523C07	-1,56	0,044391	-0,20
1449462_at	3110049 J23Rik	Gen RIKEN ADNc 3110049J23	-1,57	0,041709	-0,09
1457373_at	Cdh19	Cadherina 19, tipo2	-1,57	0,032755	0,31
1423072_at	6720475 J19Rik	Gen RIKEN ADNc 6720475J19	-1,58	0,006244	2,51
1422542_at	Gpr34	Receptor acoplado a proteína G 34	-1,58	0,040399	-0,04
1448475_at	Olfml3	Olfactomedina 3	-1,58	0,032964	0,30

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1417676_a_at	Ptpro	Proteína tirosina fosfatasa, tipo de receptor, O	-1,59	0,001623	4,24
1456763_at	AA536749	Secuencia expresada AA536749	-1,59	0,017774	1,15
1417732_at	Anxa8	Anexina A8	-1,59	0,027267	0,57
1425510_at	Mark1	MAPA/quinasa reguladora de afinidad de microtúbulos 1	-1,60	0,004814	2,85
1417234_at	Mmp11	Matriz metallopeptidasa 11	-1,61	0,036152	0,11
1416194_at	Cyp4b1	Citocromo P450, familia 4, subfamilia b, polipéptido 1	-1,62	0,002404	3,74
1429679_at	Fbxl13	Caja F y proteína repetida rica en leucina 13	-1,64	0,010507	1,76
1428260_at	Spg3a	Parapleja espástica 3A homólogo (humano)	-1,68	0,007369	2,28
1426413_at	Neurod1	Diferenciación neurogénica 1	-1,68	0,009718	1,88
1455500_at	Rnf213	Proteína de dedo anular 213	-1,68	0,017961	1,13
1456532_at	Pdgfd	Factor de crecimiento derivado de plaquetas, polipéptido D	-1,70	0,008375	2,11
1419754_at	Myo5a	Miosina Va	-1,71	0,020595	0,97
1460147_at	NA	NA	-1,71	0,037207	0,08
1440014_at	Pacs1	Proteína de clasificación ácida de fosforina en racimo 1	-1,72	7,34E-05	8,05
1451342_at	Spon1	Espondina 1, proteína de matriz extracelular (f-espondina)	-1,73	0,045023	-0,23
1438530_at	Tfpi	Inhibidor de la vía del factor tisular	-1,76	0,001582	4,29
1449563_at	Cntn1	Contactina 1	-1,77	0,029208	0,48
1435829_at	B930008K04Rik	Gen RIKEN ADNc B930008K04	-1,78	0,004961	2,78
NuGO_empt010210_at	Cacna2d2	Cadena de calcio, dependiente de voltaje, subunidad alfa 2/delta 2	-1,80	0,035702	0,17
1455633_at	Zfp647	Proteína de dedo de cinc 647	-1,80	0,041245	-0,08
1420416_at	Sema3a	Dominio de Sema, dominio de inmunoglobulina (1g), dominio básico corto, secretado, (semaforina) 3A	-1,81	0,000506	5,78
1417644_at	Sspn	Sarcospan	-1,83	0,003984	3,08
1419687_at	D930010J01Rik	Gen RIKEN ADNc D930010J01	-1,83	0,045963	-0,25
1439618_at	Pde10a	Fosfodiesterasa 10A	-1,83	0,017774	1,16
1440430_at	Elp4	Elongación proteína 4 homólogo (S, cerevisiae)	-1,84	0,023065	0,79
1425069_at	BC018285	Secuencia de ADNc BC018285	-1,84	0,042264	-0,11
1419376_at	1110018M03Rik	Gen RIKEN ADNc 1110018M03	-1,85	0,009718	1,88
1434194_at	Mtap2	Proteína asociada a microtúbulos 2	-1,85	0,007048	2,36
1459707_at	Pacs1	Proteína de clasificación ácida de fosforina en racimo 1	-1,86	0,004814	2,86
1434475_at	Ppig	Peptidilo-prolilo isomerasa G (ciclofilina G)	-1,86	0,045576	-0,24
1449158_at	Kcnk2	Canal de potasio, subfamilia K, miembro 2	-1,87	0,004961	2,77
1460606_at	Hsd17b13	Hidroxiesteroide (17-beta) deshidrogenasa 13	-1,88	0,003153	3,38
1436087_at	Dpp10	Dipeptidilpeptidasa 10	-1,89	0,043727	-0,17
NuGO_empt029633_at	Npy2r	Receptor Y del neuropéptido Y2	-1,90	0,000199	6,88
1418606_at	Hoxd10	Homeobox D10	-1,91	0,007866	2,18

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1417411_at	Nap1l5	Proteína de ensamblaje de nucleosoma 1 tipo 5	-1,91	0,047023	-0,29
NuGO_empt034831_at	Nr2e3	Subfamilia de receptores nucleares 2, grupo E, miembro 3	-1,91	0,040798	-0,06
1434740_at	Scarf2	Receptor scavenger clase F, miembro 2	-1,91	0,046195	-0,26
1420858_at	Pkia	Inhibidor de proteína cinasa, alfa	-1,92	0,003616	3,21
1457072_at	Bcl11a	CLL de células B/linfoma 11A (proteína con dedos de zinc)	-1,93	0,04853	-0,35
1428347_at	Cyfp2	Proteína interactiva FMR1 citoplasmática 2	-1,93	0,000484	5,87
1448823_at	Cxcl12	Ligando de quimiocina (motivo CXC) 12	-1,95	0,007369	2,28
1436051_at	Myo5a	Miosina Va	-1,95	0,000596	5,61
1425065_at	Oas2	2'-5'oligoadenilato sintetasa 2	-1,96	0,032484	0,34
1454876_at	Rab23	RAB23, miembro de la familia de oncogenes RAS	-1,97	0,029208	0,48
NuGO_empt022150_at	Cartpt	Prepropéptido de CART	-1,98	0,008035	2,16
1423396_at	Agt	Angiotensinógeno (inhibidor de peptidasa de serpina, clado A, miembro 8)	-1,98	0,017774	1,15
1418213_at	Krt23	Queratina 23	-1,99	0,031284	0,38
1444670_at	Smyd3	SET y MYND dominio que contiene 3	-2,02	0,022766	0,80
1453251_at	Dhx30	Polipéptido en caja DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 30	-2,03	0,027622	0,56
1440925_at	Rhoq	Familia de genes Ras homólogo, miembro Q	-2,05	0,031006	0,40
1422640_at	Pcdhb9	Protocadherina beta 9	-2,07	0,015304	1,34
1450708_at	Scg2	Secretogranina II	-2,09	0,010099	1,81
1435673_at	Hoxd3	Homeobox D3	-2,09	0,029426	0,47
1416710_at	Tmem35	Proteína transmembrana 35	-2,10	0,007507	2,24
1423150_at	Scg5	Secretogranina V	-2,11	0,002438	3,69
1418392_a_at	Gbp3	Proteína de unión a nucleótido de guanilato 3	-2,11	0,020383	0,99
1436566_at	Rab40b	Rab40b, miembro de la familia del oncogén RAS	-2,12	0,003512	3,25
1441231_at	EG665123	Gen predicho, EG665123	-2,14	0,035789	0,15
1419349_a_at	Cyp2d9	Citocromo P450, familia 2, subfamilia d, polipéptido 9	-2,14	0,003512	3,25
1445481_at	Al317158	Secuencia expresada Al317158	-2,18	0,033108	0,26
1443698_at	Fbxo39	Proteína F-box 39	-2,19	0,009359	1,95
1424900_at	Slc29a4	Familia de portador de soluto 29 (transportadores de nucleósidos), miembro 4	-2,22	0,001105	4,77
1419185_a_at	Mlxip1	MLX que interactúa como proteína	-2,23	0,000867	5,09
1435504_at	Clip4	Familia de proteínas enlazadoras que contienen el dominio CAP-GLY, miembro 4	-2,24	0,006244	2,51
1438868_at	Phf11	PHD finfler proteína 11	-2,24	0,000857	5,12
1422860_at	Nts	Neurotensina	-2,28	1,04E-09	19,02
1451860_a_at	Trim30	Proteína de motivo tripartito 30	-2,28	0,038792	0,03
1434788_at	D930050A07Rik	Gen RIKEN ADNc D930050A07	-2,33	0,009359	1,95
1450684_at	Etv1	Gen Ets variante 1	-2,38	0,000606	5,57
1433536_at	Lrp11	Proteína relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad 11	-2,39	0,000793	5,21
NuGO_empt060551_at	9030421 J09Rik	Gen RIKEN ADNc 9030421 J09	-2,44	0,044497	-0,20
1428758_at	Tmem86a	Proteína transmembrana 86A	-2,45	0,004961	2,76

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1445881_at	NA	NA	-2,54	0,031006	0,39
1451426_at	D11Lgp2e	Segmento de ADN, Chr 11, Lothar Hennighausen 2, expresado	-2,55	0,0093	1,98
1416639_at	Sic2a5	Familia de portadores de soluto 2 (transportador de glucosa facilitado), miembro 5	-2,67	0,006738	2,43
1429313_at	Ror1	Receptor receptor huérfano tipo tirosina cinasa 1	-2,70	0,001269	4,59
1433184_at	6720477C19Rik	Gen RIKEN ADNc 6720477C19	-2,72	0,017774	1,16
1419136_at	Akr1c98	Familia Aldo-keto reductasa 1, miembro C18	-2,77	0,0113	1,66
1418113_at	Cyp2d10	citocromo P450, familia 2, subfamilia d, polipéptido 10	-2,79	0,000483	5,90
1417988_at	Resp18	Proteína específica endocrina regulada 18	-2,83	0,003512	3,26
1453196_at	Oasl2	2'-5' oligoadenilato sintetasa tipo 2	-2,84	0,011794	1,62
1423555_at	Ifi44	Proteína inducida por interferón 44	-2,86	0,042694	-0,13
1449939_at	Dlk1	Delta 1-homólogo (Drosophila)	-2,99	5,20E-10	19,73
NuGO_empt091063_at	NA	NA	-3,08	0,000637	5,49
1436998_at	Ankrd43	Dominio de repetición anquirina 43	-3,13	0,001056	4,85
1418293_at	Ifit2	Proteína inducida por interferón con repeticiones tetratricopeptídicas 2	-3,14	0,000637	5,44
NuGO_empt044299_at	Sstr1	Receptor de somatostatina 1	-3,16	2,31E-08	16,00
1421492_at	Ptg2	Prostaglandina D2 sintasa 2, hematopoyética	-3,18	7,03E-05	8,13
1449025_at	Ifit3	Proteína inducida por interferón con repeticiones tetratricopeptídicas 3	-3,34	0,007674	2,21
1455528_at	NA	NA	-3,47	0,002046	3,94
1429273_at	Bmper	Regulador endotelial de unión a BMP	-3,55	0,000199	6,93
1425952_at	Gcg	Glucagón	-3,68	3,98E-09	17,68
1448628_at	Scg3	Secretogranina III	-3,77	1,61E-08	16,39
1448201_at	Sfrp2	Proteína secretada rizada 2 secretada	-4,18	0,000257	6,62
1418191_at	Usp18	Peptidasa específica de ubiquitina 18	-4,45	0,046848	-0,28
1449493_at	Insl5	Insulina 5	-9,54	5,98E-16	30,51
1419473_at	Cck	Colecistoquinina	-11,97	1,17E-11	23,32

Tabla S4C, Transcripciones expresadas diferencialmente en el ileon en 14d entre animales inoculados con *R. hominis* y animales libres de gérmenes.

5

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1427343_at	Rasd2	Familia RASD, miembro 2	4,21	0,008352	3,02
1420673_a_at	Acox2	Acilo-Coenzima A oxidasa 2, cadena ramificada	3,37	0,023445	1,29
1418174_at	Dbp	Proteína de unión del promotor de la albúmina del sitio D	3,26	0,04708	0,16
1434116_at	Cbx2	Cromobox homólogo 2 (clase de la PC de Drosophila)	3,15	0,01298	2,21
1456284_at	Tmem171	Proteína transmembrana 171	2,94	0,011378	2,45
1460713_at	BC048355	Secuencia de ADNc BC048355	2,61	0,035037	0,67
1438689_at	4632433K11Rik	Gen RIKEN ADNc 4632433K11	2,41	0,04048	0,41
1460187_at	Sfrp1	Proteína secuencia secretada rizada 1	2,37	0,021033	1,51
1420645_at	Pcqf2	Dedo de anillo de gomb de Policomb 2	2,31	0,003987	4,19
1455547_at	Zc3h7b	Tipo de CCCH con dedo de cinc que contiene 7B	2,16	0,008352	2,98
1416258_at	Tk1	Timidina quinasa 1	2,12	0,017451	1,78
1449845_a_at	Ephb4	Eph receptor B4	2,12	0,033002	0,77
1455120_at	Hpd1	Dioxigenasa de 4-hidroxifenilpiruvato	2,07	0,023445	1,30
1417399_at	Gas6	Detención del crecimiento específica 6	2,06	0,000167	8,81
1452862_at	Rreb1	Proteína de unión al elemento sensible a Ras 1	2,05	0,03901	0,47
1455246_at	N/A	N/A	2,02	0,032868	0,78
1434322_at	Mical2	MICAL 2	1,99	0,009875	2,69
1428207_at	Bcl7a	CLL de células B/linfoma 7A	1,99	0,04708	0,11
1420845_at	Mrps2	Proteína ribosomal mitocondrial S2	1,97	0,042267	0,36
1444254_at	NA	NA	1,96	0,025132	1,19
1448656_at	Cacnb3	Cadena de calcio, dependiente del voltaje, subunidad beta 3	1,96	0,032019	0,86
1434908_at	AI480556	Secuencia expresada AI480556	1,95	0,029591	0,99
1424376_at	Cdc42ep1	Proteína efectora CDC42 (unión a Rho GTPasa) 1	1,89	0,01298	2,20
1430274_a_at	Stard3nl	STARD3 N-terminal	1,88	0,008596	2,92
1416513_at	Lamb2	Laminina, beta 2	1,87	0,016398	1,89
1416536_at	Mum1	Antígeno asociado al melanoma (mutado) 1	1,86	0,025132	1,17
NuGO_empt084041s_at	Defcr20	Criptina relacionada con defensina 20	1,84	0,020502	1,55
1418320_at	Prss8	Proteasa, serina, 8 (prostasina)	1,83	0,021033	1,49
1455163_at	Guf1	Homólogo de GUF1 GTPasa (S, cerevisiae)	1,80	0,02461	1,22
1436665_a_at	Ltbp4	Proteína de unión beta del factor de crecimiento transformante latente 4	1,80	0,036581	0,57
1420643_at	Lfng	Lunatic gen homólogo de franja (Drosophila)	1,79	0,003248	4,57
1428695_at	9130227C08Rik	Gen RIKEN ADNc 9130227C08Rik	1,79	0,036167	0,59
1453018_at	Nvl	Nuclear VCP	1,77	0,035037	0,65
1419101_at	Sin3a	Regulador transcripcional, SIN3A (levadura)	1,76	0,030882	0,91
1424459_at	Aylt2	Aciltransferasa 2	1,74	0,039921	0,43
1415935_at	Smoc2	SPARC relacionada con el enlace de calcio modular 2	1,73	0,04615	0,19
1424618_at	Hpd	Dioxigenasa de ácido 4-hidroxifenilpirúvico	1,73	0,03901	0,47
1426297_at	Tcf2a	Factor de transcripción E2a	1,73	0,002215	5,11
1425391_a_at	Osbpl5	Oxisterol vinculante proteína 5	1,73	0,04615	0,19
1455719_at	Tubb5	Tubulina, beta 5	1,73	0,032477	0,82
1451912_a_at	Fgfr1	Factor de crecimiento de fibroblastos tipo receptor 1	1,73	0,02321	1,33

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1429582_at	Btbd14a	Dominio BTB (POZ) que contiene 14A	1,72	0,003987	4,21
1454777_at	Slco2b1	Familia transportadora de aniones orgánicos portador de soluto, miembro 2b1	1,70	0,01298	2,22
1424101_at	Hnrpl	Ribonucleoproteína nuclear heterogénea L	1,69	0,044481	0,25
1448691_at	Ubqln4	Ubiquilina 4	1,65	0,016054	1,92
1417604_at	Camk1	Calcio/proteína quinasa dependiente de calmodulina I	1,63	0,033233	0,74
1442757_at	Lrch1	Réplicas ricas en leucina y dominio de homología de calponina (CH) que contiene 1	1,63	0,007505	3,30
1460675_at	Igsf8	Superfamilia de inmunoglobulinas, miembro 8	1,62	0,04708	0,13
1418671_at	Capn5	Calpain 5	1,58	0,04708	0,15
1426897_at	Rcc2	Regulador de la condensación cromosómica 2	1,57	0,035037	0,65
1417594_at	Gkap1	Proteína de anclaje G quinasa 1	1,52	0,019831	1,60
1433539_at	Commd3	Dominio COMM que contiene 3	1,51	0,009875	2,72
1435469_at	Qscn6l1	Quiescin Q6 1	1,51	0,041412	0,38
1448561_at	Ncf2	Factor citosólico neutrófilo 2	1,51	0,044087	0,30
1427022_at	Ddx42	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polipéptido 42	1,50	0,01872	1,67
1416030_a_at	Mcm7	Minicromosoma de mantenimiento deficiente 7 (S, cerevisiae)	1,49	0,02321	1,34
1450023_at	Gtpbp1	Proteína de unión a GTP 1	1,48	0,044113	0,27
1417879_at	Nenf	Factor neurotrófico derivado de la neurona	1,48	0,03901	0,46
1424640_at	Arl8a	ADP-ribosilación factor 8A	1,47	0,044113	0,28
1418982_at	Cebpa	Proteína de unión CCAAT/potenciador (C/EBP), alfa	1,47	0,036167	0,60
1428382_at	Smarcc2	Regulador de la cromatina, subfamilia c, miembro 2 relacionado con SWI/SNF, asociado a la matriz, dependiente de la actina	1,47	0,044113	0,28
1434134_at	Wdr42a	WD repite el dominio 42A	1,45	0,009875	2,74
1450519_a_at	Prkaca	Proteína quinasa, dependiente de cAMP, catalítico, alfa	1,44	0,008352	2,99
1451306_at	Cdca7l	Ciclo de división celular asociado 7	1,44	0,035037	0,65
1426724_at	Cnn3	Calponina 3, ácida	1,44	0,033105	0,76
1424644_at	Tbcc	Chaperón específico para tubulina c	1,42	0,032128	0,85
1417266_at	Ccl6	Quimiocina (CC motif) ligando 6	1,42	0,021206	1,47
1415975_at	Carhsp1	Proteína estable al calor regulada por calcio 1	1,38	0,014132	2,10
1448277_at	Pold2	Polimerasa (ADN dirigido), delta 2, subunidad reguladora	1,38	0,044481	0,24
1433736_at	Hcfc1	Factor de célula huésped C1	1,35	0,035162	0,64
1435149_at	Plcg1	Fosfolipasa C, gamma 1	1,35	0,036167	0,59
1417500_a_at	Tgm2	Transglutaminasa 2, polipéptido C	1,33	0,022457	1,39
1428125_at	4921506 J03Rik	Gen RIKEN ADNc 4921506J03	1,32	0,030752	0,92
1452100_at	Zoquete	Homólogo de Dullard (Xenopus laevis)	1,32	0,030391	0,94
1448148_at	Grn	Granulina	1,30	0,011783	2,33
1451984_at	Hnrpul1	Ribonucleoproteína nuclear heterogénea U tipo 1	1,30	0,016884	1,85
1426401_at	Ppp3ca	Proteína fosfatasa 3, subunidad catalítica, isoforma alfa	1,29	0,009875	2,72
1428380_at	0610007 C21Rik	Gen RIKEN ADNc 0610007C21	1,26	0,043354	0,32
1418364_a_at	Ftl1	Cadena ligera de ferritina 1	1,24	0,01702	1,82
1456854_at	Neurl	Homólogo tipo neuralizado (Drosophila)	-1,18	0,031207	0,89
1448853_at	Synj2bp	Proteína de unión de sinaptojanina 2	-1,19	0,04708	0,15
1416281_at	Wdr45l	Wdr45	-1,22	0,016971	1,84
1418843_at	Slc30a4	Familia de portador de soluto 30 (transportador de cinc), miembro 4	-1,30	0,037239	0,54

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1459557_at	Zbtb16	Dedo de cinc y BTB dominio que contiene 16	-1,31	0,001423	5,62
1418116_at	lfrg15	Gen sensible a interferón alfa	-1,32	0,038411	0,50
1448762_at	Rad17	Homólogo RAD17 (S, pombe)	-1,32	0,044087	0,30
1435461_at	Magi3	Membrana asociada guanilato quinasa, WW y PDZ dominio que contiene 3	-1,33	0,044113	0,26
1434835_at	Wapal	Alas separadas, homólogo (Drosophila)	-1,33	0,046851	0,17
1444328_at	NA	NA	-1,34	0,010408	2,57
NuGO_empt073151_at	Nlrp9b	Familia NLR, dominio de pirina que contiene 9B	-1,34	0,045959	0,20
1427269_at	Sfrs11	Factor de escisión, rico en arginina/serina 11	-1,35	0,02461	1,22
1436157_at	Ccar1	Ciclo de división celular y regulador de apoptosis 1	-1,36	0,021206	1,46
NuGO_empt081039_at	Eif4e1b	Factor de iniciación de traducción eucariótico 4E miembro de familia 1B	-1,38	0,037239	0,54
1422217_a_at	Cyp1a1	Citocromo P450, familia 1, subfamilia a, polipéptido 1	-1,38	0,005253	3,71
1434654_at	Cog3	Componente del complejo de golgi oligomérico 3	-1,38	0,03901	0,46
1421680_at	NA	NA	-1,39	0,044113	0,28
1424296_at	Gclc	Glutamato-cisteína ligasa, subunidad catalítica	-1,41	0,023137	1,36
1440722_at	D19Ert386e	Segmento de ADN, Chr 19, ERATO Doi 386, expresado	-1,41	0,008352	3,15
1429849_at	4632411B12Rik	Gen RIKEN ADNc 4632411B12	-1,44	0,015927	1,94
1451407_at	Jam4	Molécula de adhesión de unión 4	-1,44	0,015521	1,99
1424324_at	Esco1	Establecimiento de cohesión 1 homólogo 1 (S, cerevisiae)	-1,47	0,010277	2,60
1441403_at	6430501K19Rik	Gen RIKEN ADNc 6430501K19	-1,47	0,019952	1,59
1453160_at	Thrap1	Proteína asociada al receptor de la hormona tiroidea 1	-1,48	0,034193	0,71
1432962_at	2610024D14Rik	Gen RIKEN ADNc 2610024D14	-1,49	0,018436	1,70
1456896_at	6720462K09Rik	Gen RIKEN ADNc 6720462K09	-1,50	0,011783	2,34
1444705_at	Aplicación	Proteína precursora amiloide beta (A4)	-1,50	0,032477	0,80
1426886_at	Cln5	Ceroide-lipofuscinosis, neuronal 5	-1,52	0,01702	1,81
1459059_at	2010308F09Rik	Gen RIKEN ADNc 2010308F09	-1,53	0,008352	2,97
1436616_at	R74740	Secuencia expresada R74740	-1,55	0,011378	2,44
1453269_at	Unc5b	Homólogo B de Unc-5 (C, elegans)	-1,55	0,018436	1,70
1424536_at	Oas1e	2'-5' oligoadenilato sintetasa 1E	-1,55	0,008352	3,08
1444565_at	NA	NA	-1,56	0,005253	3,70
1448049_at	Jmjd1c	Dominio Jumonji que contiene 1C	-1,58	0,02321	1,33
1441546_at	Mpp6	Proteína de membrana, palmitoilada 6 (miembro de la subfamilia MAGUK p55 6)	-1,58	0,009875	2,70
1442605_at	Bach2	Homología BTB y CNC 2	-1,59	0,032477	0,80
1451415_at	1810011010Rik	Gen RIKEN ADNc 1810011010	-1,66	0,023445	1,29
1436637_at	Eif4h	Factor de iniciación de traducción eucariota 4H	-1,66	0,011571	2,40
1453457_at	Sri	Sorcina	-1,67	0,024152	1,25
1429680_at	Tra2a	Transformador 2 homólogo alfa (Drosophila)	-1,68	0,033105	0,75
1429624_at	Sltm	Modulador de transcripción tipo SAFB	-1,68	0,036906	0,56
1429870_at	Tnik	TRAF2 y NCK interactuante kinasa	-1,72	0,001356	5,94
1444065_at	Cyb5d2	Dominio del citocromo b5 que contiene 2	-1,72	0,000237	8,03
1424208_at	Ptger4	Receptor de prostaglandina E 4 (subtipo EP4)	-1,74	0,029592	0,98
1452837_at	Lpin2	Lipina 2	-1,74	0,011783	2,33

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor <i>P</i>	B
1448185_at	Herpud1	Miembro del dominio de ubiquitina inducible por el estrés inducible por el estrés inducido por el retículo endoplasmático inducible por la homocisteína 1	-1,75	0,002895	4,81
1432719_at	4833412 K13Rik	Gen RIKEN cDNA 4833412K13	-1,76	0,04708	0,13
1437868_at	BC02389 2	Secuencia de ADNc BC023892	-1,76	0,044113	0,28
1433101_at	9030419 F21Rik	Gen RIKEN ADNc 9030419F21	-1,77	0,008596	2,90
1451621_at	5830417 C01Rik	Gen RIKEN ADNc 5830417C01	-1,77	0,00495	3,81
1432423_a_at	C530008 M17Rik	Gen RIKEN ADNc C530008M17	-1,78	0,01164	2,38
1429399_at	Rnf125	Proteína de dedo anular 125	-1,84	0,033002	0,77
1453264_at	Marveld3	Dominio MARVEL (asociación de membrana) que contiene 3	-1,86	4,82E-05	10,38
1454343_at	Ppapdc1	Dominio de fosfatasa de ácido fosfatídico de tipo 2 que contiene 1	-1,88	0,003658	4,42
1435571_at	A530065 117Rik	Gen RIKEN ADNc A530065117	-1,90	0,015795	1,96
1443164_at	NA	NA	-1,91	0,010163	2,63
1437776_at	Tmcc1	Dominios de bobina transmembrana y bobina 1	-1,91	0,028192	1,04
1442111_at	D430033 H22Rik	Gen RIKEN ADNc D430033H22	-1,91	0,007072	3,40
1424451_at	Acaa1b	Acetilo-Coenzima A aciltransferasa 1B	-1,92	0,035037	0,67
1459879_at	4921513 D23Rik	Gen RIKEN ADNc 4921513D23	-1,92	0,008352	2,99
1428776_at	Slc10a6	Familia de portadores de soluto 10 (familia de cotransportadores de sodio/ácido biliar), miembro 6	-1,92	0,011378	2,45
1458079_at	Usp40	Peptidasa específica de ubiquitina 40	-1,93	0,004696	3,98
1442897_at	2610024 E20Rik	Gen RIKEN ADNc 2610024E20	-1,95	0,00402	4,15
1455744_at	Tmem18 1	Proteína transmembrana 181	-1,97	0,037843	0,52
1449385_at	Hsd17b6	Hidroxiesteroide (17-beta) deshidrogenasa 6	-1,98	0,025132	1,18
1443068_at	D130084 N16Rik	Gen RIKEN ADNc D130084N16	-1,98	0,04708	0,11
1419582_at	Cyp2c55	Citocromo P450, familia 2, subfamilia c, polipéptido 55	-1,99	0,042267	0,35
1457801_at	9930024 M15Rik	Gen RIKEN ADNc 9930024M15	-2,01	0,04708	0,13
1438331_at	Ypel2	Yippee 2 (Drosophila)	-2,02	0,037843	0,51
1428833_at	4930406 D14Rik	Gen RIKEN ADNc 4930406D14	-2,04	0,015418	2,01
1419388_at	Tm4sf20	Transmembrana 4 L seis miembros de la familia 20	-2,05	0,010163	2,65
1455510_at	Spop	Proteína POZ de tipo speckle	-2,08	0,023445	1,29
1444178_at	ENSMU SG0000 0052976	Gen predicho, ENSMUSG00000052976	-2,09	0,029592	0,97
1443159_at	Txnrd1	Tioredoxina reductasa 1	-2,10	0,04708	0,11
1457161_at	9530029 012Rik	Gen RIKEN ADNc 9530029012	-2,11	0,019032	1,65
1459887_at	NA	NA	-2,11	0,003987	4,29

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1459005_at	NA	NA	-2,13	0,007384	3,34
1439283_at	NA	NA	-2,18	0,007823	3,24
1438338_at	Mdh1	Malato deshidrogenasa 1, NAD (soluble)	-2,21	0,001446	5,54
1458452_at	NA	NA	-2,21	0,010277	2,59
1442256_at	Prkcd	Proteína quinasa C, delta	-2,21	0,026633	1,11
1443969_at	Irs2	Sustrato del receptor de insulina 2	-2,22	0,003987	4,22
1452462_a_at	Banp	Btg3 proteína nuclear asociada	-2,30	0,021033	1,52
1454558_at	5430416 B10Rik	Gen RIKEN ADNc 5430416B10	-2,32	1,71E-07	15,68
1430393_at	C030048 B08Rik	Gen RIKEN ADNc C030048B08	-2,32	0,001388	5,78
1446929_at	Bach2	Homología BTB y CNC 2	-2,32	0,027369	1,07
NuGO_empt067737_at	9130230 L23Rik	Gen RIKEN ADNc 9130230L23	-2,34	0,04708	0,15
1441138_at	Foxn2	Caja de cabezales N2	-2,36	0,001356	6,01
1416041_at	Sgk	Kinasa regulada por suero/glucocorticoides	-2,40	0,04048	0,41
1454158_at	Mpp7	Proteína de membrana, palmitoilada 7 (miembro de la subfamilia MAGUK p55 7)	-2,40	0,011571	2,40
1459253_at	Arrdc3	Arrestina que contiene dominio, 3	-2,46	0,044113	0,27
1444376_at	Sesn1	Sestrina 1	-2,48	0,036167	0,59
1430362_at	5730409 N24Rik	Gen RIKEN ADNc 5730409N24	-2,49	0,032477	0,83
1442069_at	D5Wsu1 78e	Segmento de ADN, Chr 5, Wayne State University 178, expresado	-2,50	0,032477	0,80
1433203_at	6030400 A10Rik	Gen RIKEN ADNc 6030400A10	-2,56	0,000747	6,76
1456706_at	1700109 H08Rik	Gen RIKEN ADNc 1700109H08	-2,60	0,004825	3,89
1441561_at	Fbxl3	F-box y proteína repetida rica en leucina 3	-2,60	0,034193	0,70
1437884_at	Arl5b	ADP-ribosilación factor 5B	-2,65	0,022457	1,40
1445843_at	Chd2	Proteína de unión a ADN de helicasa de cromodominio 2	-2,66	0,044481	0,24
1428306_at	Ddit4	Transcripción inducible por ADN 4	-2,66	0,008352	3,09
1421009_at	Rsad2	Radical S-adenosilo metionina dominio que contiene 2	-2,69	0,04708	0,14
1440227_at	BF64282 9	Secuencia expresada BF642829	-2,69	0,026633	1,11
1453595_at	Bcl6	Leucemia/linfoma de células B 6	-2,70	0,004825	3,89
1444775_at	9930033 D15Rik	Gen RIKEN ADNc 9930033D15	-2,71	0,003248	4,61
1439972_at	Etnk1	Etanolamina cinasa 1	-2,74	0,032477	0,83
1440536_at	Slc22a5	Familia de portadores de soluto 22 (transportador de cationes orgánicos), miembro 5	-2,90	0,021033	1,49
1438660_at	Gcnt2	Glucosaminilo (N-acetilo) transferasa 2, enzima de ramificación I	-2,95	0,018436	1,70
1437759_at	Pfkip	Fosfofructoquinasa, plaquetas	-2,97	0,008352	3,11
NuGO_empt050020_at	Amica1	Molécula de adhesión, interactúa con el antígeno CXADR 1	-2,97	0,000981	6,41
1446950_at	Tox	Gen de cuadro HMG asociado a la selección de timocitos	-3,00	0,008352	2,98
1447141_at	AW1077 22	Secuencia expresada AW107722	-3,14	0,013251	2,17
1459219_at	Rapgef2	Factor de intercambio de nucleótidos de guanina de rap (GEF) 2	-3,21	0,000747	6,75

(continuación)

ID	Símbolo	Nombre	FC	Valor P	B
1449496_at	2010109103Rik	Gen RIKEN ADNc 2010109103	-3,22	0,000167	8,69
1458296_at	NA	NA	-3,23	0,001388	5,70
1440749_at	NA	NA	-3,38	0,001388	5,76
1440892_at	BC017647	Secuencia de ADNc BC017647	-3,52	0,004881	3,85
1441115_at	Rnf125	Proteína de dedo anular 125	-3,90	0,000237	8,14
1421365_at	Fst	Folistatina	-4,33	0,04708	0,12
1446972_at	D15Wsu126e	Segmento de ADN, Chr 15, Wayne State University 126, expresado	-7,09	0,003054	4,72

Tabla S4D. Transcripciones expresadas diferencialmente en el íleon a 28d entre animales inoculados con *R. hominis* y animales libres de gérmenes.

ID	Símbolo	Nombre	M	Valor P	B
1458427_at	Brip1	BRCA1 proteína interactiva C-terminal helicasa 1	-1,72	0,002194	4,97

5 **[0523]** Los genes implicados en la inmunidad innata y la función de barrera intestinal se indujeron significativamente por la presencia de *R. hominis* en el colon ascendente. El proceso GO "respuesta inmune innata" (GO: 0045087) se reguló al alza e incluía los importantes genes relacionados con TLR *Tlr5*, *Tlr1* y *Vnn1*. La regulación al alza de *Tlr5* fue de particular interés, dada la correspondiente inducción de genes flagelares y proteína de flagelina en *R. hominis* durante la colonización intestinal, y puede inferir un papel para esta vía de señalización innata en la mediación de respuestas inmunes innatas y adaptativas. Otros genes inmunes innatos afectados en el colon por *R. hominis* incluyen los péptidos antimicrobianos *Defb37*, *Pla2g3*, *Muc16* e *Itln* y los genes de la función de barrera intestinal *Sprr1a*, *Cldn4*, *Pmp22*, *Crb3* y *Magi3*. Los genes del sistema inmune innato que muestran una regulación al alza en el íleon en respuesta a *R. hominis* incluyen *Defcr20*, *Pcgf2*, *Ltbp4*, *Igsf8* y *Tcfe2a*. Interesantemente, en el presente documento se muestra la regulación a la baja de la ruta de NF- κ B (GO: 0043124) (Fig S2) por *R. hominis*, que, como *B. thetaiotaomicron* (Kelly *et al.* 2004), puede contribuir a la homeostasis inmune por la regulación a la baja de esta cascada inflamatoria.

20 **[0524]** Para demostrar que estas respuestas son específicas de *R. hominis*, se investigó la respuesta de los animales libres de gérmenes a otras bacterias comensales. Las respuestas de la expresión génica a la colonización con *E. coli* MG1655 (K12) se compararon con *R. hominis* después de 10-14d y 22-28d después de la colonización. Durante este intervalo de tiempo, se observaron grandes diferencias en la expresión génica en respuesta a *R. hominis* pero no a *E. coli*, lo que indica que *R. hominis* es biológicamente muy activo en el intestino, en contraste con el impacto mínimo de *E. coli* (Fig. S3). La respuesta a *E. coli* deducida a partir de los datos de expresión génica en el colon ascendente parecía ser principalmente una respuesta de anticuerpos mediados por células B.

***R. hominis* afecta las vías de las células T principalmente en el colon**

30 **[0525]** La mayoría de las vías afectadas en 14d se agruparon en las categorías de diferenciación celular, regulación del ciclo celular y remodelación tisular. Es importante destacar que la respuesta inmune fue una vía principal inducida a los 28d en el colon ascendente. Las vías significativamente afectadas en esta categoría estaban principalmente involucradas en la función de las células T, incluida la señalización de IL-10 y la regulación de la función de las células T por CTLA-4 (Tabla S5). Los genes implicados en estas vías mostraron tanto regulación positiva como regulación negativa, por lo que si bien estas vías se vieron afectadas significativamente por la presencia de *R. hominis*, los efectos funcionales netos precisos sobre la diferenciación de las células T requirieron más investigación. Para aclarar el papel de *R. hominis* en relación con la diferenciación de células T, se trataron ratones convencionales con *R. hominis* durante 14 días y se determinó el impacto sobre los subconjuntos de células T tanto en la lámina propia como en los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN). El tratamiento con *R. hominis* aumentó la población de células T CD3⁺CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ en ambas localizaciones (Fig. 4). Se realizó una evaluación de los números de células positivas para CD3⁺FoxP3⁺ en la lámina propia de colon ascendente y descendente de C3H/HeN monoasociado y animales C57Bl6 y se confirmó un aumento significativo en las células T reguladoras en ratones tratados con *R. hominis* (Fig. 5A). El proceso GO para "polimerización de actina" (GO: 0030041) (*Arpc3*, *Capg*, *Cdc42ep5* y *Rhoc*) se regulaba positivamente a 28d en el colon en ratones colonizados con *R. hominis* (Fig. S2). La polimerización de actina en la sinapsis inmune se requiere para la activación de células T y la función efectora. En general, estos datos indican que *R. hominis* efectúa activamente la respuesta inmune adaptativa en el colon al influir positivamente en la regulación de las células T.

[0526] Tabla S5. Análisis de la vía de respuesta del sistema inmune de transcritos expresados diferencialmente en el colon ascendente entre ratones tratados con *R. hominis* y ratones libres de gérmenes a los 28d. Se importaron genes expresados diferencialmente ($P < 0,05$) en el software analítico GeneGo MetaCore para determinar vías canónicas significativamente enriquecidas en cada grupo. * La cantidad de genes en cada mapa expresados diferencialmente en la comparación de tratamiento específico. ** El número total de genes en cada mapa.

Procesos regulatorios/vía de respuesta del sistema inmune	Valor P	Significativo *	Total**
Vía de señalización de la respuesta inmune_IL-10	0,00125	10	26
Vía de señalización de la respuesta inmune_IL-9	0,00592	11	36
Vía de señalización de la respuesta inmune_HMGB1/RAGE	0,00832	14	53
Vía de respuesta inmune_CRC	0,00992	14	54
Señalización de desarrollo_GM-CSF	0,01258	13	50
Señalización de desarrollo_PEDF	0,02618	12	49
Señalización de respuesta inmune_IL-5	0,02840	11	44
Coestimulación respuesta inmune_TCR y CD28 en activación de NF- κ B	0,03611	10	40
Respuesta inmune_Regulación de la función de las células T por CTLA-4	0,04598	9	36
Señalización de la respuesta inmune_CD40	0,04796	14	65
Vía de transducción de señal_JNK	0,04921	10	42

[0527] En relación con estos resultados, se produjo la inducción de la familia del gen Ly6 en el colon ascendente. En particular, el producto génico anclado a GPI de *Ly6g6c* se regulaba positivamente 25 veces, y el gen relacionado *Ly6g6e* se regulaba positivamente dos veces a 28d. La mayoría de las células hematopoyéticas, incluidas los neutrófilos y las células dendríticas plasmacitoides, expresan uno o más miembros de la familia Ly6. Además, se ha propuesto un posible papel de Ly6 en la activación, diferenciación y maduración de las células T (Mallya, Campbell y Aguado 2006). La inmunocitoquímica confirmó la presencia incrementada de células Ly6G⁺, CD11b⁺ y CD3⁺ FoxP3⁺ en ratones colonizados con *R. hominis* (Fig. 5B).

Flagelinas *R. hominis* modulan la diferenciación de células T

[0528] La influencia de las bacterias en la diferenciación de las células T puede reflejar el conjunto de ligandos de TLR mostrados. Por ejemplo, el acoplamiento entre la señalización de TLR5 y las respuestas de las células T de CD4⁺ se ha demostrado recientemente para los patógenos flagelados (Letran *et al.*, 2011). Curiosamente, dependiendo de la configuración experimental, la flagelina puede cebar un rango de respuestas de células T, incluidas las respuestas Th1, Th2, Th17 y Treg (Wilson *et al.*, 2012).

[0529] Se investigó la funcionalidad de las flagelinas bacterianas FlaA1 (RH1) y FlaA2 (RH2) usando nuevas proteínas de flagelina recombinantes solubles, generadas frente a las secuencias únicas de flagelina de *R. hominis*. La capacidad de RH1 y RH2 se comparó y contrastó con diversas flagelinas comensales y patógenas, generadas usando protocolos idénticos, para activar las respuestas de señalización en líneas de células epiteliales intestinales y células dendríticas derivadas de médula ósea expandidas con FLT3L o GM-CSF.

[0530] Las células epiteliales tratadas con concentraciones idénticas de flagelinas bacterianas diferentes revelaron patrones distintos de expresión génica (Fig. 6A). De manera importante, no se detectó contaminación por endotoxina en las preparaciones de proteína recombinante. *Salmonella enteritidis* (SE) fue más potente que *E. coli* K12 (EC) o flagelina RH1. La flagelina RH1 también mostró una respuesta fuerte, pero se agrupó en un revestimiento distinto junto con la EC comensal. Las respuestas demostraron ser dependientes de TLR5 usando células epiteliales que expresan TLR5 dominante negativo. Por el contrario, se demostró que RH2 es mínimamente activa; generalmente no era proinflamatoria ni activaba la firma genética conservada (IL-8, CXCL-1, CXCL-2 y CXCL-10) inducida por otras flagelinas bacterianas recombinantes. La proteína de flagelina RH1 es más activa biológicamente que la RH2 *in vitro*; aunque ambas proteínas recombinantes se expresaron *in vivo*, la RH1 también se regulaba significativamente al nivel de expresión del gen *in vivo*. Se demostró que la flagelina RH1 de *R. hominis* indujo diferentes respuestas en células dendríticas derivadas de Flt3L y GM-CSF en relación con *E. coli* comensal y *Salmonella enteritidis* patógena (Fig. 6B-C). En particular, RH1 fue única en su capacidad para activar DC expandidas con Flt3L, con regulación positiva de IA/IE y CD40 y la producción de IL-10 por DC derivadas de médula ósea de ratones C3H/HeN y C57Bl/6. La relación IL-10/IL-12 fue particularmente elevada en C57Bl/6 DC (Fig. 6D), que se encontró que eran CD103⁺ Siglec-H⁺. De acuerdo con las observaciones en este documento, varios informes recientes también han demostrado que la flagelina puede activar poblaciones CD103⁺DC (Flores-Langarica *et al.*, 2012, Kinnebrew *et al.*, 2012).

[0531] Para evaluar la importancia funcional de *R. hominis* y sus flagelinas, los ratones TLR5KO y WT libres de gérmenes fueron mono-colonizados. El mapa de calor que muestra los genes expresados diferencialmente tanto para TLR5KO como para el tipo silvestre colonizado con *R. hominis* reveló un efecto muy fuerte de TLR5 (Fig. S4). Aunque las vías de las células T todavía estaban influenciadas por la colonización de *R. hominis* en ratones TLR5KO, las respuestas estaban más relacionadas con las rutas IL4, IL5, IL-6, IL-9 y no IL-10 y CTLA-4 (Tabla S6). Además, el tratamiento con *R. hominis* no aumentó el número de células positivas para CD3⁺ FoxP3⁺ en la lámina propia de ratones TLR5KO (Fig. 6E), en contraste con animales C3H/HeN mono-asociados y C57Bl6 (Fig. 5A).

[0532] **Tabla S6. Análisis de la vía de respuesta del sistema inmune de transcritos expresados diferencialmente en el colon ascendente entre ratones TLR5 KO y ratones WT, mono-colonizados con *R. hominis*.** Se importaron genes expresados de forma diferencial ($P < 0,05$) en el software analítico GeneGo MetaCore para determinar rutas canónicas significativamente enriquecidas en cada grupo. * El número de genes en cada mapa que se expresan diferencialmente en la comparación de tratamiento específico. ** El número total de genes en cada mapa.

#	Mapas	Valor p	Relación
1	Respuesta inmune_IL-9 vía de señalización	0,000017	36
2	Respuesta inmune_señalización de histamina en células dendríticas	0,000087	50
3	Respuesta inmune_HMGB1/RAGE vía de señalización	0,000127	53
4	Respuesta inmune_IL-6 vía de señalización	0,000465	31
5	Respuesta inmune_señalización del receptor H1 de la histamina en la respuesta inmune	0,000526	48
6	Respuesta inmune_señalización de oncostatina M a través de MAPK en células de ratón	0,000825	35
7	Respuesta inmune_señalización de oncostatina M a través de MAPK en células humanas	0,001075	37
8	Vía de transducción de señal_JNK	0,001915	42
9	Respuesta inmune_IL-7 Señalización en linfocitos B	0,002135	43
10	Respuesta inmune_vía de señalización mediada por IL-6 e IL-1	0,003624	30
11	Señalización de desarrollo_GM-CSF	0,004155	50
12	Vía de señalización del receptor de células de respuesta inmune	0,004925	52
13	Quimiotaxis_quimiotaxis de leucocitos	0,005286	75
14	Respuesta inmune_señalización de CCL2	0,005795	54
15	Respuesta inmune_señalización de CD28	0,005795	54
16	Respuesta inmune_papel de receptores DAP12 en células NK	0,005795	54
17	Respuesta inmune_Fc epsilon vía RI	0,006265	55
18	Respuesta inmune_papel de PKR en respuesta celular antiviral inducida por estrés	0,007285	57
19	Respuesta inmune_liberación de HMGB1 de la célula	0,011144	41
20	Respuesta inmune_señalización de IL-15	0,011765	64
21	Respuesta inmune_activación de cPLA2 inducida por la HTR2A	0,013134	43
22	Respuesta inmune_vía de señalización de la IL-4	0,014214	44
23	Respuesta inmune_señalización de IL-5	0,014214	44
24	Respuesta inmune_Fc gamma fagocitosis mediada por R en macrófagos	0,016534	46
25	Respuesta inmune_señalización NF-AT e interacciones leucocitarias	0,016534	46
26	Señalización de desarrollo_PEDF	0,020434	49
27	Respuesta inmune_vía de activación y señalización de IL-2	0,020434	49
28	Respuesta inmune_NFAT en la respuesta inmune	0,023324	51
29	Respuesta inmune_vía de activación y señalización de IL-3	0,028033	31
30	Respuesta inmune_vía de CRC	0,028094	54
31	Respuesta inmune_vías de señalización de TLR	0,028094	54
32	Respuesta inmune_formación de sinapsis inmunológica	0,037274	59
33	Respuesta inmune_diferenciación celular Th17	0,038363	35
34	Respuesta inmune_señalización humana de NKG2D	0,047223	38

[0533] La observación en este documento que *R. hominis* influye en Tregs en ratones convencionales y libres de

gérmenes y no en TLR5KO es consistente con informes de interacciones de flagelina-TLR5 que promueven células T reguladoras CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ (Crellin *et al.*, 2005, Hossain *et al.* 2011). De manera similar, recientemente se ha descrito la capacidad de una proteína de fusión flagelina-ovoalbúmina para suprimir la producción de IL-4 por células T CD4(+) receptoras de células OVA a través de un mecanismo dependiente de IL-10 (Schulke *et al.*, 2011). Flagelina puede influir en la diferenciación direccional de subconjuntos de células T. Además, el impacto del TLR5KO en las respuestas de células T conducido por *R. hominis* infiere que RH1 (flagelina de señalización) fue crucial en la mediación de las respuestas Treg y no RH2 (flagelina no señalizadora). Finalmente, una observación adicional fue la mejora de los genes de IFN tipo I en ratones TLR5KO (que incluyen *Irf202b*, *Irf203* e *Irf4*), lo que sugiere que la señalización de TLR5 puede atenuar las respuestas de interferón de tipo I.

***R. hominis* modula genes de respuesta inmune innata en el íleon y el colon y atenúa la colitis en ratones tratados con DSS**

[0534] El modelo de ratón DSS se utilizó para probar la eficacia terapéutica de *R. hominis*, debido al control de las vías inflamatorias, así como a los efectos positivos sobre la inducción de Treg en ratones mono-asociados. Los ratones se dosificaron (~50 µL, 10⁹CFU) diariamente durante un período de 14 días, y se les suministró DSS (MW 50 kDa, 30 g/l) en el agua de bebida desde el día 8 en adelante. La expresión génica de un panel de biomarcadores proinflamatorios mostró que los ratones DSS no tratados tenían una fuerte elevación de todos los genes investigados en comparación con los ratones de tipo salvaje, con una inducción génica que variaba de 4 a 49 veces (Fig. 7A). La inducción de genes pro-inflamatorios fue significativamente inferior en ratones tratados con *R. hominis* en comparación con los no tratados, lo que indica fuertes beneficios terapéuticos de la administración oral de *R. hominis*. El análisis histológico mostró la presencia de una inflamación severa en el colon ascendente de DSS sin tratar, mientras que la mucosa del colon de animales tratados con *R. hominis* fue normal, con inflamación de bajo nivel, consistente con la expresión del gen inflamatorio reducido (Fig. 7B y C).

La colonización de *R. hominis* influye en la composición corporal y la expresión de los genes de la saciedad

[0535] Las acciones metabólicas significativas de *R. hominis* en ratones mono-asociados también fueron evidentes. Los procesos GO "regulación negativa de la respuesta a los alimentos" (GO: 0032096), "regulación negativa del apetito" (GO: 0032099), y "regulación de la secreción de catecolamina" (GO: 0050433) fueron todos regulados negativamente en el colon ascendente después de la colonización con *R. hominis* (Fig. S5). Este dato infiere que *R. hominis* ejerce un efecto estimulante sobre el apetito del huésped. Los genes implicados en estos procesos fueron *Agt*, *Cartpt*, *Cck* y *Cxcl12*, con cambios de pliegues que varían de 2 a 12 veces. *Cck*, en particular, juega un papel importante en la digestión y la saciedad como un supresor del apetito. *Gcg* también mostró una regulación negativa en este sitio intestinal.

[0536] Para establecer si estos cambios genéticos tenían relevancia fisiológica en relación con la ingesta de alimentos y la composición corporal, se realizaron análisis de peso y composición de la carcasa seca. Los pesos de la carcasa seca de ratones homocigóticos emparejados con *R. hominis* fueron significativamente más pesados en comparación con los animales GF, y las diferencias fueron más discernibles en 14d (Fig. S6A). El análisis de lípidos de carcasa adicionales mostraron que la adiposidad total también era significativamente mayor en animales tratados con *R. hominis* en 14d (Fig. S6B). Estos hallazgos son consistentes con datos recientes que revelan el papel de Firmicutes en la cosecha de energía a través de la fermentación dietética, pero también respaldan la noción de que las bacterias intestinales pueden de hecho modular el eje del cerebro-intestino y las hormonas reguladoras del apetito.

Discusión

[0537] La co-evolución a largo plazo del mutualismo huésped-microbio probablemente haya impulsado la selección de especies bacterianas funcionalmente importantes en el intestino, la mayoría de las cuales no están altamente representadas en otros ecosistemas. Actualmente, hay información limitada sobre la contribución de los miembros individuales de la comunidad microbiana a las funciones intestinales, particularmente en relación con el desarrollo del sistema inmune de la mucosa.

[0538] Trabajos recientes usando un modelo de colonización reversible basado en *E. coli* (HA 107) han demostrado que se requieren bacterias vivas en cantidades cercanas a 10⁸ CFU por gramo de contenido para los efectos inductores de inmunidad sobre IgA (Hapfelmeier *et al.*, 2010). Las funciones específicas de SFB y *Bacteroides fragilis* se han investigado en el intestino del ratón para definir sus contribuciones individuales a la biología de las células T y se ha demostrado que ambas bacterias son potentes inductores de células Tregs y Th17 (Mazmanian *et al.*, 2005, Gaboriau-Routhiau *et al.*, 2009, Ivanov *et al.*, 2009). Los efectos de los miembros individuales del grupo XIVa Firmicutes no se han informado anteriormente, aunque se ha observado su presencia en la PPA y la contribución de un cultivo mixto de 46 cepas clostridiales, que también afecta la diferenciación de células T (Geuking *et al.*, 2011, Atarashi *et al.* 2011).

[0539] Se reporta aquí la primera mono-asociación exitosa del intestino del ratón libre de gérmenes con una bacteria anaeróbica, *R. hominis*, que es un miembro del Firmicutes phylum. La extrema sensibilidad al oxígeno de bacterias

como *Roseburia* requiere técnicas estrictas de cultivo anaeróbico, por lo que es difícil realizar una caracterización funcional. La mono-colonización estable de *R. hominis* se ha establecido en ratones libres de gérmenes y se ha producido la secuencia genómica anotada completa para descubrir su organización metabólica, fisiología y propiedades simbióticas. Se encontró que las respuestas transcripcionales de *R. hominis* después de la colonización podrían atribuirse tanto al entorno intestinal del huésped como a la dieta. Los efectos dirigidos por el anfitrión dominaron la respuesta de *R. hominis* después de la mono-asociación. Estos incluyen transferencia de genes, transporte de membrana, quimiotaxis y subsistemas de motilidad. La fuerte regulación positiva de los genes implicados en la transferencia de la movilización apoya la opinión de que el entorno intestinal es altamente propicio para el intercambio horizontal de genes entre los miembros de la microbiota intestinal. Por lo tanto, este entorno puede acelerar la diseminación de genes importantes para la supervivencia bacteriana, la colonización y la función dentro del ecosistema intestinal. El papel de la motilidad y el aparato flagelar en la colonización del huésped está bien elaborado para las bacterias patógenas, pero se sabe mucho menos sobre el papel de las proteínas flagelares en las bacterias comensales. Los experimentos *in vivo* revelaron un efecto estimulante del ambiente intestinal del huésped sobre la expresión de genes de flagelina.

[0540] Un papel claro para *R. hominis* en la promoción de la función de barrera intestinal y la inmunidad innata en el colon de ratón ha sido establecida. Las uniones estrechas, las uniones de hueco y las uniones adherentes operan para limitar la translocación bacteriana a la capa subepitelial (Werth *et al.*, 2010). Tanto la enfermedad de Crohn como la colitis ulcerosa se caracterizan por la pérdida de la función de barrera y la integridad de la unión apretada. Curiosamente, la disbiosis de la microbiota intestinal en la EII se asocia con una reducción en Firmicutes (Spor, Koren & Ley 2011, Qin *et al.*, 2010). La observación en este documento de que *R. hominis* mejora activamente la expresión de genes de barrera sugiere que su pérdida en pacientes con EII puede ser funcionalmente significativa. La activación de complejos de unión ajustada no es solo la prerrogativa de *R. hominis*; otros comensales, como *Bacteroides thetaiotaomicron* y *Lactobacillus acidophilus*, también mejoran la función de barrera de la mucosa (Hooper *et al.*, 2001, Ukena *et al.*, 2007), infiriendo oportunidades probióticas con estas bacterias en la EII humana.

[0541] Los efectos de *R. hominis* en el sistema inmune intestinal son intrigantes. Los efectos más fuertes se observaron en el colon ascendente y genes como *Ly6g6c* estaban fuertemente regulados, así como las vías implicadas en la regulación y diferenciación de células T y la polimerización de actina en la sinapsis inmune, que están implicadas en la activación de las células T y las funciones efectoras. Las vías de células T más afectadas incluyeron aquellas relacionadas con IL-10, ICOS y CTLA-4, que están involucradas en el apoyo de la diferenciación de Treg. Es importante destacar que se ha demostrado que los aumentos significativos en células CD3⁺CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ en el colon de ratones libres de gérmenes y ratones convencionales colonizados con *R. hominis* utilizando tanto citometría de flujo como inmunocitoquímica. Estos hallazgos complementan los datos recientes sobre otras especies de Clostridium que impulsan la diferenciación de Treg. Claramente, *R. hominis* puede, como única especie bacteriana, promover la expansión de las células T de la mucosa e influir en la diferenciación de las células T.

[0542] Las señales de flagelina son percibidas por los receptores TLR5 del huésped y muchas estructuras de flagelina patógenas inducen fuertes respuestas proinflamatorias (Hayashi *et al.*, 2001). La señalización a través de TLR5 en respuesta a los comentarios flagelados residentes puede ser importante para la homeostasis, ya que la eliminación de TLR5 produce colitis espontánea en ratones (Vijay-Kumar *et al.*, 2007). La expresión potenciada de flagelina FlaA1 de *R. hominis* (RH1) *in vivo* y su potencia en la activación de células epiteliales y BMDC es de gran interés. Otros trabajos han demostrado que los mutantes de flagelina de *E. coli* tienen una ventaja de colonización sobre las cepas flageladas de tipo silvestre, posiblemente debido a la ausencia de reconocimiento innato mediante la señalización de TLR5 (De Paepe *et al.*, 2011, Giraud *et al.*, 2008). Aquí se muestra que, para ciertos Firmicutes, la expresión o posiblemente regulación positiva de flagelina es una respuesta natural a la colonización intestinal. La proteína de flagelina de *R. hominis* permanece expresada *in vivo* y se correlaciona con colonización sostenida, ausencia de inflamación evidente y expansión de células T de fenotipo regulador. La reciente confirmación de genes de flagelina en SFB (Prakash *et al.*, 2011, Sczesnak *et al.*, 2011) puede correlacionarse con las respuestas de células T del hospedador inducidas por esta bacteria (Gaboriau-Routhiau *et al.*, 2009, Ivanov *et al.*, 2009). Curiosamente, RH1 indujo un efecto único en cultivos epiteliales y DC en comparación con otras flagelinas, aunque todas las estructuras probadas poseen el Arg90 conservado asociado con flagelinas que unen y activan TLR5 (Yoon *et al.*, 2012) sugiriendo que otras diferencias de secuencia/estructurales pueden explicar las únicas respuestas de señalización mediadas por RH1. El significado de señalización de flagelina-TLR5 en respuestas Treg inducidas por *R. hominis* se confirmó utilizando TLR5KO. Sin desear estar ligado por la teoría, ciertas estructuras de flagelina comensales pueden ayudar a dirigir las respuestas de tolerancia inmune a través de TLR5 expresado en CD103⁺DC o subconjuntos de Treg (Flores-Langarica *et al.* 2012, Kinnebrew *et al.* 2012, Crellin *et al.* 2005) Además, se confirmó el efecto inmune homeostático de *R. hominis* en ratones tratados con DSS, aunque otros restos de señalización, tales como butirato, también pueden contribuir a la tolerancia inmune. Estos datos sugieren un beneficio terapéutico potencial de *R. hominis* en la EII.

[0543] Un efecto biológico adicional interesante de la colonización de *R. hominis* fue la regulación de los genes que influyen en las respuestas a los alimentos y el control del apetito. En particular, las hormonas de la saciedad *Cck* y *Gcg* se redujeron significativamente. Los efectos de *Cck* en la ingesta de alimentos están mediados a través de una vía aferente vagal. Esta es la principal vía neuronal por la cual la información sobre los nutrientes ingeridos llega al

sistema nervioso central para influir tanto en la función intestinal como en el comportamiento de alimentación. *Cck* actúa sobre el sistema vagal para disminuir la expresión de moléculas que estimulan el apetito y la alimentación, y para aumentar la expresión de moléculas que inhiben la alimentación y disminuyen el apetito (*Npy2r* y *Cartpt*, ambos regulados por disminución dos veces en el estudio actual). Hasta ahora no se ha comunicado ningún vínculo entre *Cck*, *Gcg* y bacterias comensales, sin embargo, tanto los ácidos grasos como las proteínas son potentes inductores de *Cck* y *Gcg* (Geraedts *et al.*, 2010). *R. hominis* produce ácidos grasos de cadena corta tales como butirato con colas alifáticas de menos de seis carbonos; se ha informado que esta actividad metabólica reduce el efecto estimulante sobre el *Cck* plasmático observado con ácidos grasos de cadena más larga (McLaughlin *et al.*, 1999). El análisis del peso de la carcasa reveló que tanto el peso corporal como el contenido de lípidos aumentaron significativamente con *R. hominis*, lo que concuerda con los aumentos del peso corporal observados en la convencionalización de ratones libres de gérmenes (Turnbaugh *et al.*, 2006). Aún está por verse si este es un efecto directo de una reducción en las hormonas de la saciedad como se vio en el estudio actual, ya que la participación de *Cck* y *Gcg* no se ha informado anteriormente. Sin embargo, es importante reconocer que se ha demostrado anteriormente un vínculo entre la colonización de la microbiota y la cosecha de energía de la dieta, en parte mediante la liberación de AGCC (Turnbaugh *et al.*, 2006) (Tremaroli, Kovatcheva-Datchary & Backhed 2010). Dado que *R. hominis* es un importante productor de butirato, es probable que este mecanismo también contribuya a la eficiencia metabólica observada después del tratamiento con *R. hominis*.

[0544] En resumen, la mono-asociación del intestino murino con *R. hominis* indujo fuertes eventos de expresión génica bidireccional que culminaron en la adaptación bacteriana comensal y la tolerancia del huésped. El producto de flagelina RH1 parece ejercer un efecto de señalización único, que impulsa preferentemente la expansión de Tregs. Se ha demostrado la importancia de TLR5 para dirigir la diferenciación y expansión de Treg. Colectivamente, estos datos destacan la funcionalidad adicional de las flagelinas comensales, la señalización de TLR5 y la dirección neta de la respuesta de las células T de la mucosa.

Ensayos Funcionales

Modelo *in vitro*

Análisis de la respuesta de las células epiteliales intestinales (IEC) a diferentes flagelinas recombinantes.

[0545] El análisis molecular de la expresión del gen CCL20 (un gen proinflamatorio) después de la estimulación de IEC a diferentes flagelinas recombinantes (Figura D.2) flagelininas patógenas (SE, ST, LF y HM) indujeron niveles similares pero no idénticos de CCL20 ARNm, las flagelinas comensales muestran niveles de inducción mucho más variables. Las *flagelinas* ER (*Eubacterium rectale* 33656), K12 (*Escherichia coli* K12), RH1 y RI3 indujeron CCL20 a niveles similares a las flagelinas patógenas, RI1 y RI4 tuvieron actividad estimulante intermedia, RH2 se reveló como un inductor bajo de CCL20 en HT-29 y carecía de potencial agonista en células Caco-2, y RI2 no tenía actividad observable en ambas líneas celulares. En conclusión, los inventores distinguieron tres categorías de agonistas de TLR5 (i) aquellos con poca o ninguna actividad inmunoestimuladora, (ii) aquellos con actividad inmunoestimuladora intermedia y (iii) aquellos con actividad inmunoestimuladora alta.

Tabla D2.

	No estim	ST	SE	K12	ER	RI1	RI2	RI3	RI4	RH1	RH2
Caco-2	No estim	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	ST	*	**	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	*
	SE	**	NS	*	NS	*	NS	NS	*	NS	**
	K12	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	**
	ER	**	NS	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	**
	RI1	***	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS
	RI2	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	*	*	*
	RI3	**	NS	*	NS	NS	NS	NS	**	NS	**
	RI4	*	NS	**	**	*	NS	NS	NS	NS	*
HT-29	RH1	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	*
	RH2	NS	NS	**	**	**	NS	**	NS	*	NS

[0546] La Tabla D2 indica diferencias significativas entre cada tratamiento calculado con la prueba t pareada en HT-29 (arriba a la derecha) y Caco-2 (abajo a la izquierda). Las pruebas T utilizadas fueron unilaterales para comparar tratamientos con células no estimuladas (no estimulantes) y bilaterales para comparar un tratamiento con otro. NS (no significativo); * (p < 0,05); ** (p < 0,01); *** (p < 0,001).

[0547] El análisis celular e inmunológica de los efectos de las flagelinas recombinantes en la IEC se determinó por medición de citocinas, CXCL8, CXCL10 y CCL2 (MCP-1) secretadas. La IECS se estimuló durante 24 horas con

flagelinas recombinantes (Figura D3).

[0548] Las flagelinas ST, SE, K12, ER, RI3 y RH1 indujeron la secreción de niveles variables pero similares de quimiocinas IL-8, IP-10 y MCP-1, mientras que RI1, RI2, RI4 y RH2, especialmente en Caco-2 se comportaron como agonistas bajos de TLR5, induciendo cantidades significativamente menores de quimiocinas secretadas.

Tabla D3a

	No estim	ST	SE	K12	ER	RI1	RI2	RI3	RI4	RH1	RH2
No estim		*	*	*	*	*	NS	*	*	*	*
ST	NS		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SE	*	NS		NS	NS	NS	**	*	NS	*	*
K12	NS	NS	NS		*	NS	**	*	NS	**	*
ER	NS	NS	NS	*		NS	*	**	NS	*	*
RI1	NS	NS	NS	*	*		NS	NS	NS	NS	NS
RI2	NS	NS	**	NS	*	*		*	NS	**	NS
RI3	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		*	*	*
RI4	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	*
RH1	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		*
RH2	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

Tabla D3b

	No estim	ST	SE	K12	ER	RI1	RI2	RI3	RI4	RH1	RH2
No estim		***	***	*	**	NS	NS	*	*	*	NS
ST	*		**	NS	*	***	***	NS	***	NS	*
SE	*	NS		NS	NS	***	**	NS	**	NS	**
K12	*	NS	NS		NS	*	*	NS	*	NS	**
ER	*	NS	NS	NS		**	**	**	*	*	NS
RI1	NS	*	*	*	*		NS	*	**	NS	NS
RI2	NS	*	*	*	*	NS		*	*	NS	NS
RI3	*	NS	NS	NS	NS	*	*		*	NS	*
RI4	*	NS	*	*	*	*	*	*		NS	NS
RH1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS
RH2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

Tabla D3c

	No estim	ST	SE	K12	ER	RI1	RI2	RI3	RI4	RH1	RH2
No estim		NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ST	NS		*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SE		NS		*	*	*	*	*	*	*	*
K12	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ER	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS	NS	NS
RI1	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS	NS
RI2	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS	NS
RI3	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS
RI4	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS
RH1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS
RH2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

Tabla D3d

	No estim	ST	SE	K12	ER	RI1	RI2	RI3	RI4	RH1	RH2
No estim		*	*	*	**	NS	NS	NS	NS	*	NS
ST	NS		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SE		NS		NS	NS	*	*	NS	*	NS	*
K12	NS	NS	NS		NS	***	**	*	**	NS	**
ER	NS	NS	NS	NS		*	*	NS	*	*	*
RI1	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS	*	NS
RI2	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS	*	NS
RI3	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS	NS
RI4	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		NS	NS
RH1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		**
RH2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	

[0549] Las tablas D3a, D3b, D3c y D3d indican diferencias significativas entre cada tratamiento calculado con la prueba t pareada. El lado superior derecho de la Tabla D3a y D3b da valores t para IL-8 y el lado inferior izquierdo para IP-10, y las Tablas D3c y D3d dan los valores t para MCP-1. NS (no significativo); * (p < 0,05); ** (p < 0,01); *** (p < 0,001).

[0550] Como se muestra en la Figura D4, la neutralización de TLR5 con un anticuerpo específico anti-TLR5 abolió la respuesta inflamatoria mediada por flagelina, independientemente del origen comensal o patológico de la flagelina. Por lo tanto, los efectos proinflamatorios de flagelina observados en células Caco-2 dependen de la activación de TLR5.

Generación de células dendríticas y cultivos derivados de médula ósea

[0551] La médula ósea se recogió del fémur y la tibia de ratones C3H/HeN y C57Bl6. Para las células dendríticas GM-CSF derivadas, células de médula ósea se resuspendieron a 1×10^6 /mL en RPMI suplementado con 10% FCS y 20 ng/mL rmGM-CSF y se sembraron a 10 mL/placa de 100 mm² en placas de cultivo de tejidos. Después de tres días de cultivo, se recogieron células poco adherentes y se volvieron a sembrar con medio suplementado con GM-CSF a 1×10^6 /mL en placas de cultivo tisular de 12 pocillos. En el día 5, las células se estimularon con 100 ng/mL flagelinas antes de ser cosechadas en el día 6. Para las células dendríticas derivadas de Flt3L, células de médula ósea se resuspendieron a 2×10^6 /mL en RPMI suplementado con 10% de FCS y 200 ng/mL y se sembraron rmFlt3 a 2 mL/pocillo en placas de cultivo tisular de 12 pocillos. Las células se cultivaron durante 10 días con medio suplementado con Flt3 añadido a cada pocillo el día 4. En el día 9, las células se estimularon con flagelinas 100 ng/ml antes de ser cosechadas el día 10 y se analizaron mediante citometría de flujo.

[0552] Se llevó a cabo el análisis por citometría de flujo de células dendríticas derivadas por GM-CSF/IL-4 (Figura D5) y células dendríticas derivadas por Flt3L (Figura D6) estimuladas con flagelinas recombinantes. La flagelina Rh1 fue más potente para inducir la respuesta celular en células dendríticas derivadas de GM-CSF/IL-4 con Ri4 y Ri3 que tienen una respuesta similar a las flagelinas comensales K12 y Er y las flagelinas patógenas SE y ST. Por el contrario, Rh2 y Ri2 no indujeron la respuesta celular con las células dendríticas derivadas de GM-CSF/IL-4, pero aumentaron significativamente las respuestas celulares a las células dendríticas derivadas de Flt3L. Estas flagelinas y, en particular, Ri1, son distintivas en su capacidad para provocar diferencias en las respuestas con la activación de las células dendríticas derivadas de Flt3L. Esta respuesta significa la especificidad de las flagelinas en un subconjunto específico de células dendríticas. Estas células dendríticas derivadas de Flt3L se clasifican como células dendríticas plasmocitoides que juegan un papel importante en la tolerancia inmunológica.

Modelo *in vivo*

[0553] Se usaron ratones BOY/J WT y TLR5KO para evaluar la importancia funcional de *R. hominis* y sus flagelinas. Los ratones fueron colonizados con *R. hominis*. Los animales fueron sacrificados y se realizó un muestreo de tejido intestinal. Se recolectó el intestino delgado para el análisis inmunológico mediante citometría de flujo.

[0554] La citometría de flujo de poblaciones de células T, en particular, las células T reguladoras (Treg), en el intestino delgado de lámina propia se llevó a cabo (Figura 6A y B). El porcentaje de células FoxP3+CD25+ en la población de células T CD4+ fue significativamente más alto en los ratones BOY/J WT en comparación con los ratones TLR5KO. Esto indica que *R. hominis* y más específicamente las flagelinas influyen en Treg promoviendo células T reguladoras CD4+FoxP3+CD25+. Por lo tanto, se puede concluir que las flagelinas son importantes para

CLAUSULAS DE RESUMEN

[0555] La presente invención se define en las reivindicaciones. Por conveniencia, otros aspectos de la presente divulgación se presentan aquí a modo de cláusulas numeradas.

1. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en la regulación del sistema inmune de un sujeto.

2. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha *proteína* *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, de acuerdo con la cláusula 1 para uso en la regulación del sistema inmune adaptativo de un sujeto.

3. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha *sustancia* *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, según la cláusula 1 para uso en la regulación del sistema inmune innato de un sujeto.

4. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en el mantenimiento de la homeostasis inmune en un sujeto.

5. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en el tratamiento de un trastorno inmune en un sujeto.

6. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha *proteína* *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso según la cláusula 5, en la que el trastorno inmunitario se selecciona de colitis ulcerosa, reservoritis, otras afecciones autoinmunes que incluyen artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, alergias que incluyen enfermedad celíaca, dermatitis atópica y rinitis.

7. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado de un trastorno inflamatorio, un trastorno inmune y trastorno intestinal en un sujeto.

8. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha *proteína* *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos,

para uso según la cláusula 7, en donde el trastorno se selecciona de síndrome de intestino irritable (SII), colitis, trastorno inflamatorio intestinal (EII), que incluye enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, reservoritis funcional, estreñimiento funcional, diarrea funcional (que incluye diarrea asociada a antibióticos, diarrea del viajero y diarrea pediátrica), dolor abdominal funcional, hinchazón funcional, síndrome de dolor epigástrico, síndrome de angustia posprandial, enfermedad de reflujo gastrointestinal (ERGE), enfermedades autoinmunes como diabetes, artritis, esclerosis múltiple y alergias de psoriasis, enfermedades atópicas, por ejemplo, dermatitis atópica, enterocolitis necrosante, otras infecciones y combinaciones de las mismas.

9. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en la mejora de la microbiota intestinal en un sujeto.

10. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en la regulación del apetito en un sujeto.

11. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en la promoción de la salud intestinal en un sujeto.

12. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en promover células Tregs y mecanismos de tolerancia en el sistema inmune de un sujeto.

13. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso de acuerdo con una cualquiera de las cláusulas 1 a 12, que regula la inducción y/o expresión de al menos un gen de movilización o quimiotaxis.

14. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia infestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha proteína. *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso según la cláusula 13, que regula positivamente la expresión de al menos una movilización o quimiotaxis. gen, y en el que dicho gen se selecciona de *MobA* y *MobL*.

15. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o la flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha proteína. La flagelina *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso de acuerdo con cualquier cláusula anterior, que regula al menos un gen seleccionado de *FlaA1*, *Fla2*, *FlaA3* y *FlaB*.

16. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha proteína. *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso de acuerdo con cualquier cláusula anterior, que regula la expresión de al menos uno de los siguientes: acetiltransferasa de acetilo-CoA, deshidrogenasa de 3-hidroxiacilo-CoA, deshidrogenasa de butirilo-CoA, subunidad beta de flavoproteína de transferencia de electrones, subunidad alfa de flavoproteína de transferencia de electrones.

17. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha proteína. Flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula

huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso de acuerdo con cualquier cláusula anterior, que regula negativamente la expresión de al menos un gen seleccionado de *Agt*, *Cartpt*, *Cck*, *Cxcl12* y *Gcg*.

18. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha proteína. *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso de acuerdo con cualquier cláusula anterior, que activa al menos un gen de respuesta inmune en el colon o ileon.

19. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1 y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso de acuerdo con cualquier cláusula anterior, que activa la respuesta inmune adaptativa regulando la inducción y/o expresión de genes asociados con la regulación de células T.

20. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia infestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha proteína. La flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso de acuerdo con cualquier cláusula anterior que regula positivamente la expresión de al menos un gen seleccionado de *Ly6g6c* y *Ly6g6e* en el colon ascendente.

21. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1 y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso de acuerdo con cualquier cláusula anterior que regula la expresión de al menos un gen seleccionado de *Tlr5*, *Tlr1*, *Vnn1*, *Defb37*, *Pla2g*, *Muc16*, *Itln*, *Spr1a*, *Cldn4*, *Pmp22*, *Crb3*, *Magi3*, *Marveld3*, *Mpp7*, *Defcr20*, *Pcgf2*, *Ltbp4*, *Igsf8* y *Tcf8a*.

22. Uso de *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, en la preparación de un medicamento para regular el sistema inmune de un tema.

23. Uso de *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, según la cláusula 22 en la preparación de un medicamento para regular el sistema inmune innato de un sujeto.

24. Uso de *Roseburia* (como una especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intesfinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o el polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, según la cláusula 22 en la preparación de un medicamento para regular el sistema inmune adaptativo de un sujeto.

25. Uso de *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o un polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, en la preparación de un medicamento para mantener la homeostasis inmune en un sujeto.

26. Uso de *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1 y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno inmunitario en un sujeto.

27. Un método de regulación del sistema inmune de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración al sujeto de una composición que comprende *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos.

28. Un método para activar el sistema inmune innato de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración al sujeto de una composición que comprende *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos.

29. Un método para activar el sistema inmune adaptativo de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración al sujeto de una composición que comprende *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1 y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos.

30. Un método para tratar un trastorno inmune en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración al sujeto de una cantidad farmacéuticamente eficaz de *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos.

31. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha proteína. *Roseburia* flagelina, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos para uso de acuerdo con una cualquiera de las cláusulas 1 a 21, o un método según cualquiera de las cláusulas 27 a 30, o un uso de acuerdo con una cualquiera de las cláusulas 22 a 26, en donde el sujeto es un mamífero.

32. *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha *Roseburia* flagelina, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en medicina.

33. Una composición farmacéutica que comprende *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

34. Un suplemento nutricional que comprende *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y un excipiente, vehículo o diluyente nutricionalmente aceptable.

35. Una composición probiótica que comprende *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos.

36. Un pienso, producto alimenticio, suplemento dietético, suplemento nutricional o aditivo alimentario que comprende *Roseburia* (como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o polipéptido FlaA1, y/o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped que comprende dicho vector, y/o una célula huésped que

comprende dicha secuencia de polinucleótidos.

37. Un proceso para producir una composición farmacéutica de acuerdo con la cláusula 32, comprendiendo dicho proceso el mezclado de *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, con un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

38. Un proceso para producir un suplemento nutricional de acuerdo con la cláusula 33, comprendiendo dicho proceso el mezclado de *Roseburia* (tal como la especie bacteriana *Roseburia hominis*, o la especie bacteriana *Roseburia intestinalis*), y/o el polipéptido FlaA1, y/o la secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido, y/o flagelina de *Roseburia*, y/o un polinucleótido que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o el vector, y/o la célula huésped que comprende dicho vector, y/o la célula huésped que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, con una nutrición adecuada excipiente, portador o diluyente.

PARÁGRAFOS DE RESUMEN

[0556] Por conveniencia, otros aspectos de la presente divulgación se presentan en este documento a modo de párrafos numerados.

1. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la modulación de la inflamación de un tejido o un órgano en un sujeto.

2. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 1 en el que dicho polipéptido o polinucleótido reduce la inflamación del tejido o el órgano.

3. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 2 en el que dicho polipéptido o polinucleótido reduce la inflamación por las células epiteliales del tejido o el órgano.

4. El polipéptido o el polinucleótido según el párrafo 3 en el que dichas células epiteliales son células epiteliales del canal alimentario.

5. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la modulación de la producción de células T en un sujeto; preferiblemente, el polipéptido o el polinucleótido aumenta la producción de células reguladoras T en un sujeto.

6. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la restauración de la tolerancia inmunológica.

7. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la regulación del sistema inmune y restauración de la tolerancia inmunológica de un sujeto.

8. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 7 para uso en la regulación del sistema inmune adaptativo de un sujeto.

9. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 7 para uso en la regulación del sistema inmune innato de un sujeto.

10. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en el tratamiento de un trastorno en un sujeto, en el que dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

11. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 10 en el que dicho trastorno afecta el canal alimentario o una sección del mismo de dicho sujeto.

12. El polipéptido o el polinucleótido según el párrafo 10 en el que dicho trastorno se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedad celíaca, dermatitis atópica, rinitis, síndrome del intestino irritable (SII), colitis, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), colitis ulcerosa, reservoritis, enfermedad de Crohn, dispepsia funcional, enfermedades atópicas, enterocolitis necrosante y combinaciones de los mismos.

13. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la modulación de células dendríticas y/o células epiteliales en un tejido o un órgano de un sujeto.

14. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 13 en el que dicho polipéptido o polinucleótido

activa células dendríticas y/o células epiteliales.

15. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la regulación de la producción de IL-10 y/o TGFβ en una célula o células de un sujeto.

16. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 15 en donde la producción de IL-10 es por células dendríticas.

17. El polipéptido o el polinucleótido de acuerdo con el párrafo 15 o 16, en el que dicho polipéptido o polinucleótido regula positivamente la producción de IL-10 y/o GFβ.

18. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la regulación de la producción de CD40 y/o IA/IE en una célula o células de un sujeto.

19. El polipéptido o el polinucleótido según el párrafo 18 en el que la producción de CD40 y/o IA/I-E es por células dendríticas.

20. El polipéptido o el polinucleótido según el párrafo 18 o 19 en el que dicho polipéptido o polinucleótido regula hacia arriba la producción CD40 y/o I-A/I-E.

21. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la regulación de la expresión de uno o más genes de IFN de Tipo I en una célula o células de un sujeto.

22. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la regulación de la expresión de uno o más genes proinflamatorios en una célula o células de un sujeto.

23. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la mejora de la microbiota intestinal en un sujeto.

24. Polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la regulación del apetito en un sujeto.

25. El polipéptido o polinucleótido de acuerdo con el párrafo 24 en el que dicho polipéptido o polinucleótido estimula el apetito en el sujeto.

26. El polipéptido o polinucleótido según el párrafo 24 o 25 en el que el nivel de colecistoquinina (Cck) y/o glucagón (Gcg) se reduce en la sangre de un sujeto.

27. El polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la regulación de la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (Cck) y/o la expresión del gen que codifica el glucagón (Gcg) en una célula o células de un sujeto.

28. El polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para uso en la mejora de la salud del canal alimentario en un sujeto.

29. El polipéptido o polinucleótido de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 28, en el que dicho polipéptido o polinucleótido está encapsulado.

30. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

31. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 30 en donde dicho polipéptido o polinucleótido está encapsulado.

32. Un suplemento nutricional que comprende el polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido y un excipiente, vehículo o diluyente nutricionalmente aceptable.

33. El suplemento nutricional de acuerdo con el párrafo 32 en el que dicho polipéptido o polinucleótido está encapsulado.

34. Un alimento, producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario que comprende el polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótido que codifica dicho polipéptido.

35. El pienso, producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario de acuerdo con el párrafo 34 en el que dicho pienso, producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario está encapsulado.

36. Un proceso para producir una composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 30, comprendiendo dicho proceso el mezclado de dicho polipéptido o polinucleótido con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable; opcionalmente dicho polipéptido o polinucleótido está encapsulado.

37. Un proceso para producir un suplemento nutricional de acuerdo con el párrafo 32, comprendiendo dicho proceso el mezclado de dicho polipéptido o polinucleótido con un excipiente, vehículo o diluyente nutricionalmente aceptable; opcionalmente dicho polipéptido o polinucleótido está encapsulado.

38. Un método para modular la inflamación de un tejido o un órgano en un sujeto, comprendiendo dicho método administrar al sujeto polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y en el que se modula la inflamación del tejido u órgano en el sujeto.

39. Un método para modular la producción de células T en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y en el que la producción de células T en el sujeto está modulada, en particular, células reguladoras T.

40. Un método para regular el sistema inmune de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y en el que el sistema inmune del sujeto está regulado.

41. Un método para tratar un trastorno en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, donde dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

42. Un método para modular células dendríticas y/o células epiteliales en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y en el que las células dendríticas y/o células epiteliales en el sujeto están moduladas.

43. Un método para regular la producción de IL-10 y/o TGF β en una célula o células de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para el sujeto, y en el que está regulada la producción de IL-10 y/o GF β en una célula o células del sujeto.

44. Un método para regular la producción de CD40 y/o I-A/I-E en una célula o células de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para el sujeto, y en el que está regulada la producción de CD40 y/o I-A/I-E en una célula o células del sujeto.

45. Un método para regular la expresión de uno o más genes de IFN Tipo I en una célula o células de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia polinucleotídica que codifica dicho polipéptido en la que está regulada la expresión de uno o más genes IFN Tipo I en una célula o células del sujeto.

46. Un método para regular la expresión de uno o más genes proinflamatorios en una célula o células de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, donde está regulada la expresión de uno o más genes proinflamatorios en una célula o células del sujeto.

47. Un método para mejorar la microbiota intestinal en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido y en el que se mejora la microbiota intestinal en un sujeto.

48. Un método para regular el apetito en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido y en el que está regulado el apetito en el sujeto.

49. Un método para regular la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (Cck) y/o la expresión del gen que codifica el glucagón (Gcg) en una célula o células de un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia polinucleotídica que codifica dicha polipéptido y en el que está regulada la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (Cck) y/o la expresión del gen que codifica el glucagón (Gcg) en una célula o células del sujeto.

50. Un método para mejorar la salud del canal alimentario en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido, y en el que se mejora la salud del canal alimentario en un sujeto.

51. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para modular la inflamación de un tejido o un órgano en un sujeto.

52. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para modular la producción de células T en un sujeto.

53. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para regular el sistema inmune de un sujeto.

54. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno en un sujeto, en el que dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

55. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para modular células dendríticas y/o células epiteliales en un tejido o un órgano de un sujeto.

56. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para regular la producción de IL-10 y/o TGF β en una célula o células de un sujeto.

57. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para regular la producción de CD40 y/o I-A/I-E en una célula o células de un sujeto.

58. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para regular la expresión de uno o más genes de IFN Tipo I en una célula o células de un sujeto.

59. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para regular la expresión de uno o más genes proinflamatorios en una célula o células de un sujeto.

60. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para mejorar la microbiota intestinal en un sujeto.

61. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para regular el apetito en un sujeto.

62. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para regular la expresión del gen que codifica la colecistoquinina (Cck) y/o la expresión del gen que codifica el glucagón (Gcg) en una célula o células de un sujeto.

63. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para mejorar la salud del canal alimentario en un sujeto.

64. Uso del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido para la fabricación de un medicamento para restaurar la tolerancia inmunológica en un sujeto.

65. Un método para restablecer la tolerancia inmunológica en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración del polipéptido FlaA1 o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicho polipéptido y en el que se restablece la tolerancia inmunológica en un sujeto.

REFERENCIAS

[0557]

Aminov, R.I., Walker, A.W., Duncan, S.H., Harmsen, H.J., Welling, G.W. & Flint, H.J. 2006, "Molecular diversity, cultivation, and improved detection by fluorescent in situ hybridization of a dominant group of human gut bacteria related to Roseburia spp. or Eubacterium rectale", Applied and Environmental Microbiology, vol. 72, n°. 9, pp. 6371-6376.

Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G., Yamasaki, S., Saito, T., Ohba, Y., Taniguchi, T., Takeda, K., Hori, S., Ivanov, I.I., Umesaki, Y., Itoh, K. & Honda, K. 2011, "Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species", Science (New York, N.Y.), vol. 331, n°. 6015, pp. 337-341.

- Berg, D.J., Davidson, N., Kuhn, R., Muller, W., Menon, S., Holland, G., Thompson-Snipes, L., Leach, M.W. & Rennick, D. 1996, "Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4(+) TH1-like responses", *The Journal of clinical investigation*, vol. 98, n°. 4, pp. 1010-1020.
- 5 Chung, H. & Kasper, D.L. 2010, "Microbiota-stimulated immune mechanisms to maintain gut homeostasis", *Current opinion in immunology*, vol. 22, n°. 4, pp. 455-460.
- Crellin, N.K., Garcia, R.V., Hadisfar, O., Allan, S.E., Steiner, T.S. & Levings, M.K. 2005, "Human CD4+ T cells express TLR5 and its ligand flagellin enhances the suppressive capacity and expression of FOXP3 in CD4+CD25+ T regulatory cells", *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, vol. 175, n°. 12, pp. 8051-8059.
- 10 De Paepe, M., Gaboriau-Routhiau, V., Rainteau, D., Rakotobe, S., Taddei, F. & Cerf-Bensussan, N. 2011, "Trade-off between bile resistance and nutritional competence drives *Escherichia coli* diversification in the mouse gut", *PLoS genetics*, vol. 7, n°. 6, pp. e1002107.
- Duck, L.W., Walter, M.R., Novak, J., Kelly, D., Tomasi, M., Cong, Y. & Elson, C.O. 2007, "Isolation of flagellated bacteria implicated in Crohn's disease", *Inflammatory bowel diseases*, vol. 13, n°. 10, pp. 1191-1201.
- 15 Duncan, S.H., Aminov, R.I., Scott, K.P., Louis, P., Stanton, T.B. & Flint, H.J. 2006, "Proposal of *Roseburia faecis* sp. nov., *Roseburia hominis* sp. nov. and *Roseburia inulinivorans* sp. nov., based on isolates from human faeces", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 56, n°. Pt 10, pp. 2437-2441.
- Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S.R., Nelson, K.E. & Relman, D.A. 2005, "Diversity of the human intestinal microbial flora", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 308, n°. 5728, pp. 1635-1638.
- 20 Flores-Langarica, A., Marshall, J.L., Hitchcock, J., Cook, C., Jobanputra, J., Bobat, S., Ross, E.A., Coughlan, R.E., Henderson, I.R., Uematsu, S., Akira, S. & Cunningham, A.F. 2012, "Systemic flagellin immunization stimulates mucosal CD103+ dendritic cells and drives Foxp3+ regulatory T CELL and IgA responses in the mesenteric lymph node", *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, vol. 189, n°. 12, pp. 5745-5754.
- 25 Frank, D.N., StAmand, A.L., Feldman, R.A., Boedeker, E.C., Harpaz, N. & Pace, N.R. 2007, "Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, n°. 34, pp. 13780-13785.
- Gaboriau-Routhiau, V., Rakotobe, S., Lecuyer, E., Mulder, I., Lan, A., Bridonneau, C., Rochet, V., Pisi, A., De Paepe, M., Brandi, G., Eberl, G., Snel, J., Kelly, D. & Cerf-Bensussan, N. 2009, "The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses", *Immunity*, vol. 31, n°. 4, pp. 677-689.
- 30 Geraedts, M.C., Troost, F.J., Tinnemans, R., Soderholm, J.D., Brummer, R.J. & Saris, W.H. 2010, "Release of satiety hormones in response to specific dietary proteins is different between human and murine small intestinal mucosa", *Annals of Nutrition & Metabolism*, vol. 56, n°. 4, pp. 308-313.
- Geuking, M.B., Cahenzli, J., Lawson, M.A., Ng, D.C., Slack, E., Hapfelmeier, S., McCoy, K.D. & Macpherson, A.J. 2011, "Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses", *Immunity*, vol. 34, n°. 5, pp. 794-806.
- 35 Giraud, A., Arous, S., De Paepe, M., Gaboriau-Routhiau, V., Bambou, J.C., Rakotobe, S., Lindner, A.B., Taddei, F. & Cerf-Bensussan, N. 2008, "Dissecting the genetic components of adaptation of *Escherichia coli* to the mouse gut", *PLoS genetics*, vol. 4, n°. 1, pp. e2.
- Hapfelmeier, S., Lawson, M.A., Slack, E., Kirundi, J.K., Stoel, M., Heiken-walder, M., Cahenzli, J., Velykoredko, Y., Balder, M.L., Endt, K., Geuking, M.B., Curtiss, R., 3rd, McCoy, K.D. & Macpherson, A.J. 2010, "Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 328, n°. 5986, pp. 1705-1709.
- 40 Hayashi, F., Smith, K.D., Ozinsky, A., Hawn, T.R., Yi, E.C., Goodlett, D.R., Eng, J.K., Akira, S., Underhill, D.M. & Aderem, A. 2001, "The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5", *Nature*, vol. 410, n°. 6832, pp. 1099-1103.
- 45 Hooper, L.V., Wong, M.H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P.G. & Gordon, J.I. 2001, "Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine", *Science (New York, N. Y.)*, vol. 291, n°. 5505, pp. 881-884.
- Hossain, M.S., Jaye, D.L., Pollack, B.P., Farris, A.B., Tselanyane, M.L., David, E., Roback, J.D., Gewirtz, A.T. & Waller, E.K. 2011, "Flagellin, a TLR5 agonist, reduces graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients while enhancing antiviral immunity", *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, vol. 187, n°. 10, pp. 5130-5140.
- 50 Ivanov, I.I., Atarashi, K., Manel, N., Brodie, E.L., Shima, T., Karaoz, U., Wei, D., Goldfarb, K.C., Santee, C.A., Lynch, S.V., Tanoue, T., Imaoka, A., Itoh, K., Takeda, K., Umesaki, Y., Honda, K. & Littman, D.R. 2009, "Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria", *Cell*, vol. 139, n°. 3, pp. 485-498.
- 55 Kang, S., Denman, S.E., Morrison, M., Yu, Z., Dore, J., Leclerc, M. & McSweeney, C.S. 2010, "Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray", *Inflammatory bowel diseases*, vol. 16, n°. 12, pp. 2034-2042.
- Kelly, D., Campbell, J.I., King, T.P., Grant, G., Jansson, E.A., Coutts, A.G., Pettersson, S. & Conway, S. 2004, "Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear- cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA", *Nature immunology*, vol. 5, n°. 1, pp. 104-112.
- 60 Kinnebrew, M.A., Buffie, C.G., Diehl, G.E., Zenewicz, L.A., Leiner, I., Hohl, T.M., Flavell, R.A., Littman, D.R. & Pamer, E.G. 2012, "Interleukin 23 production by intestinal CD103(+)CD11b(+) dendritic cells in response to bacterial flagellin enhances mucosal innate immune defense", *Immunity*, vol. 36, n°. 2, pp. 276-287.
- Letran, S.E., Lee, S.J., Atif, S.M., Flores-Langarica, A., Uematsu, S., Akira, S., Cunningham, A.F. & McSorley, S.J. 2011, "TLR5-deficient mice lack basal inflammatory and metabolic defects but exhibit impaired CD4 T cell

responses to a flagellated pathogen", *Journal of immunology* (Baltimore, Md.: 1950), vol. 186, n°. 9, pp. 5406-5412.

Machiels K., Joossens M., Sabino J., De Preter V., Arijis I., Ballet V., Claes K., Verhaegen J., Van Assche G., Rutgeerts P. & Vermeire S. 2013, "Predominant dysbiosis in patients with ulcerative colitis is different from Crohn's disease patients", *Inflammatory Bowel Diseases*. 8th Congress of ECCO, Feb 14-16, 2013.

Macpherson, A.J. 2006, "IgA adaptation to the presence of commensal bacteria in the intestine", *Current topics in microbiology and immunology*, vol. 308, pp. 117-136.

Macpherson, A.J., Hunziker, L., McCoy, K. & Lamarre, A. 2001, "IgA responses in the intestinal mucosa against pathogenic and non-pathogenic microorganisms", *Microbes and infection/Institut Pasteur*, vol. 3, n°. 12, pp. 1021-1035.

Macpherson, A.J., Martinic, M.M. & Harris, N. 2002, "The functions of mucosal T cells in containing the indigenous commensal flora of the intestine", *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, vol. 59, n°. 12, pp. 2088-2096.

Mahowald, M.A., Rey, F.E., Seedorf, H., Turnbaugh, P.J., Fulton, R.S., Wollam, A., Shah, N., Wang, C., Magrini, V., Wilson, R.K., Cantarel, B.L., Coutinho, P.M., Henrissat, B., Crock, L.W., Russell, A., Verberkmoes, N.C., Hettich, R.L. & Gordon, J.I. 2009, "Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, n°. 14, pp. 5859-5864.

Mallya, M., Campbell, R.D. & Aguado, B. 2006, "Characterization of the five novel Ly-6 superfamily members encoded in the MHC, and detection of cells expressing their potential ligands", *Protein science : a publication of the Protein Society*, vol. 15, n°. 10, pp. 2244-2256.

Mazmanian, S.K., Liu, C.H., Tzianabos, A.O. & Kasper, D.L. 2005, "An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system", *Cell*, vol. 122, n°. 1, pp. 107-118.

McLaughlin, J., Grazia Luca, M., Jones, M.N., D'Amato, M., Dockray, G.J. & Thompson, D.G. 1999, "Fatty acid chain length determines cholecystokinin secretion and effect on human gastric motility", *Gastroenterology*, vol. 116, n°. 1, pp. 46-53.

Monteleone, I., Platt, A.M., Jaensson, E., Agace, W.W. & Mowat, A.M. 2008, "IL-10-dependent partial refractoriness to Toll-like receptor stimulation modulates gut mucosal dendritic cell function", *European journal of immunology*, vol. 38, n°. 6, pp. 1533-1547.

Nutsch, K.M. & Hsieh, C.S. 2012, "T cell tolerance and immunity to commensal bacteria", *Current opinion in immunology*, vol. 24, n°. 4, pp. 385-391.

Prakash, T., Oshima, K., Morita, H., Fukuda, S., Imaoka, A., Kumar, N., Sharma, V.K., Kim, S.W., Takahashi, M., Saitou, N., Taylor, T.D., Ohno, H., Umesaki, Y. & Hattori, M. 2011, "Complete genome sequences of rat and mouse segmented filamentous bacteria, a potent inducer of th17 cell differentiation", *Cell host & microbe*, vol. 10, n°. 3, pp. 273-284.

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D.R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., Tap, J., Lepage, P., Bertalan, M., Batto, J.M., Hansen, T., Le Paslier, D., Linneberg, A., Nielsen, H.B., Pelletier, E., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., Turner, K., Zhu, H., Yu, C., Li, S., Jian, M., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, X., Li, S., Qin, N., Yang, H., Wang, J., Brunak, S., Dore, J., Guarner, F., Kristiansen, K., Pedersen, O., Parkhill, J., Weissenbach, J., MetaHIT Consortium, Bork, P., Ehrlich, S.D. & Wang, J. 2010, "A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing", *Nature*, vol. 464, n°. 7285, pp. 59-65.

Round, J.L., Lee, S.M., Li, J., Tran, G., Jabri, B., Chatila, T.A. & Mazmanian, S.K. 2011, "The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 332, n°. 6032, pp. 974-977.

Scanlan, P.D., Shanahan, F., O'Mahony, C. & Marchesi, J.R. 2006, "Culture-independent analyses of temporal variation of the dominant fecal microbiota and targeted bacterial subgroups in Crohn's disease", *Journal of clinical microbiology*, vol. 44, n°. 11, pp. 3980-3988.

Schulke, S., Burggraf, M., Waibler, Z., Wangorsch, A., Wolfheimer, S., Kalinke, U., Vieths, S., Toda, M. & Scheurer, S. 2011, "A fusion protein of flagellin and ovalbumin suppresses the TH2 response and prevents murine intestinal allergy", *The Journal of allergy and clinical immunology*, vol. 128, n°. 6, pp. 1340-1348.e12.

Sczesnak, A., Segata, N., Qin, X., Gevers, D., Petrosino, J.F., Huttenhower, C., Littman, D.R. & Ivanov, I.I. 2011, "The genome of th17 cell-inducing segmented filamentous bacteria reveals extensive auxotrophy and adaptations to the intestinal environment", *Cell host & microbe*, vol. 10, n°. 3, pp. 260-272.

Spor, A., Koren, O. & Ley, R. 2011, "Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome", *Nature reviews.Microbiology*, vol. 9, n°. 4, pp. 279-290.

Tremaroli, V., Kovatcheva-Datchary, P. & Backhed, F. 2010, "A role for the gut microbiota in energy harvesting?", *Gut*, vol. 59, n°. 12, pp. 1589-1590.

Turnbaugh, P.J., Backhed, F., Fulton, L. & Gordon, J.I. 2008, "Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome", *Cell host & microbe*, vol. 3, n°. 4, pp. 213-223.

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R. & Gordon, J.I. 2006, "An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest", *Nature*, vol. 444, n°. 7122, pp. 1027-1031.

Ukena, S.N., Singh, A., Dringenberg, U., Engelhardt, R., Seidler, U., Hansen, W., Bleich, A., Bruder, D., Franzke, A., Rogler, G., Suerbaum, S., Buer, J., Gunzer, F. & Westendorf, A.M. 2007, "Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 inhibits leaky gut by enhancing mucosal integrity", *PloS one*, vol. 2, n°. 12, pp. e1308.

Vijay-Kumar, M., Sanders, C.J., Taylor, R.T., Kumar, A., Aitken, J.D., Sitaraman, S.V., Neish, A.S., Uematsu, S., Akira, S., Williams, I.R. & Gewirtz, A.T. 2007, "Deletion of TLR5 results in spontaneous colitis in mice", *The Journal of clinical investigation*, vol. 117, n°. 12, pp. 3909-3921.

Werth, M., Walentin, K., Aue, A., Schonheit, J., Wuebken, A., Pode-Shakked, N., Vilianovitch, L., Erdmann, B., Dekel, B., Bader, M., Barasch, J., Rosenbauer, F., Luft, F.C. & Schmidt-Ott, K.M. 2010, "The transcription factor

grainyhead-like 2 regulates the molecular composition of the epithelial apical junctional complex", *Development* (Cambridge, England), vol. 137, n°. 22, pp. 3835-3845.

Wilson, R.H., Maruoka, S., Whitehead, G.S., Foley, J.F., Flake, G.P., Sever, M.L., Zeldin, D.C., Kraft, M., Garantziotis, S., Nakano, H. & Cook, D.N. 2012, "The Toll-like receptor 5 ligand flagellin promotes asthma by priming allergic responses to indoor allergens", *Nature medicine*, vol. 18, n°. 11, pp. 1705-1710.

Yoon, S.I., Kurnasov, O., Natarajan, V., Hong, M., Gudkov, A.V., Osterman, A.L. & Wilson, I.A. 2012, "Structural basis of TLR5-flagellin recognition and signaling", *Science* (New York, N.Y.), vol. 335, n°. 6070, pp. 859-864.

Lista de referencia para información suplementaria

[0558]

(1) Genome sequence assembly using trace signals and additional sequence information. *Computer Science and Biology: Proceedings of the German Conference on Bioinformatics (GCB)*; 1999.

(2) Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA, et al. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics* 2008 Feb 8;9:75-2164-9-75.

(3) Dennis G,Jr, Sherman BT, Hosack DA, Yang J, Gao W, Lane HC, et al. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. *Genome Biol* 2003;4(5):P3.

(4) Untergasser A, Nijveen H, Rao X, Bisseling T, Geurts R, Leunissen JA. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Res* 2007 Jul;35(Web Server issue):W71-4.

(5) Duck LW, Walter MR, Novak J, Kelly D, Tomasi M, Cong Y, et al. Isolation of flagellated bacteria implicated in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007 Oct;13(10):1191-1201.

(6) Berg DJ, Davidson N, Kuhn R, Muller W, Menon S, Holland G, Thompson-Snipes L, Leach MW, Rennick D. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4(+) TH1-like responses. *J.Clin.Invest.*, 1996, 98, 4, 1010-1020.

(7) Monteleone I, Platt AM, Jaensson E, Agace WW, Mowat AM. IL-10-dependent partial refractoriness to Toll-like receptor stimulation modulates gut mucosal dendritic cell function. *Eur J Immunol*. 2008 38(6): 1533-47

(8) Inaba K, Inaba M, Romani N, Aya H, Deguchi M, Ikehara S, et al. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 1992 Dec 1;176(6):1693-1702.

(9) Brasel K, De Smedt T, Smith JL, Maliszewski CR. Generation of murine dendritic cells from flt3-ligand-supplemented bone marrow cultures. *Blood* 2000 Nov 1;96(9):3029-3039.

(10) Weigel BJ, Nath N, Taylor PA, Panoskaltsis-Mortari A, Chen W, Krieg AM, et al. Comparative analysis of murine marrow-derived dendritic cells generated by Flt3L or GM-CSF/IL-4 and matured with immune stimulatory agents on the in vivo induction of antileukemia responses. *Blood* 2002 Dec 1;100(12):4169-4176.

(10) Xu Y, Zhan Y, Lew AM, Naik SH, Kershaw MH. Differential development of murine dendritic cells by GM-CSF versus Flt3 ligand has implications for inflammation and trafficking. *J Immunol* 2007 Dec 1;179(11):7577-7584.

(12) Olivera L, Canul RR, Pereira-Pacheco F, Cockburn J, Soldani F, McKenzie NH, et al. Nutritional and physiological responses of young growing rats to diets containing raw cowpea seed meal, protein isolate (globulins), or starch. *J Agric Food Chem* 2003 Jan 1;51(1):319-325.

Reivindicaciones

1. Flagelina de Roseburia, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicho vector, y/o una célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para uso en el tratamiento y/o prevención de un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune en un sujeto.
2. La flagelina de Roseburia, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprenden dicho vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para el uso según la reivindicación 1, en el que dicha flagelina de Roseburia se selecciona del grupo que consiste en:
 - polipéptidos que tienen al menos un 75% de identidad a SEQ ID N° 2, SEQ ID N° 4, SEQ ID N° 6, SEQ ID N° 8, SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 12 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos y combinaciones de los mismos; y en donde la secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia se selecciona del grupo que consiste en:
 - secuencias de polinucleótidos que codifican un polipéptido que tiene al menos un 75% de identidad con SEQ ID N° 2, SEQ ID N° 4, SEQ ID N° 6, SEQ ID N° 8, SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 12 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos;
 - secuencias de polinucleótidos que tienen al menos un 75% de identidad con la SEQ ID NO 1, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 9 o SEQ ID NO 11 o variantes, homólogos, fragmentos o derivados de los mismos;
 - y combinaciones de los mismos.
3. La flagelina de Roseburia, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprenden dicho vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso según la reivindicación 1, donde dicho trastorno se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedad celíaca, dermatitis atópica, rinitis, síndrome del intestino irritable (IBS), colitis, trastorno inflamatorio del intestino (IBD), colitis ulcerosa, reservoritis, enfermedad de Crohn, dispepsia funcional, enfermedades atópicas, enterocolitis necrosante y combinaciones de las mismas.
4. La flagelina de Roseburia, o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o una célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho polinucleótido secuencia, para uso según la reivindicación 1 en la que la flagelina de Roseburia, o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia, y/o el vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o la célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos aumenta la producción de células reguladoras T en un sujeto.
5. La flagelina de Roseburia, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector y/o una célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso según la reivindicación 1, en donde la flagelina de Roseburia, o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia, y/o el vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho el vector, y/o la célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos aumenta la producción de IL-10 y/o TGFβ en una célula o células de un sujeto.
6. La flagelina de Roseburia, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o una célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 donde la flagelina de Roseburia, o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de Roseburia, y/o el vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o la célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos aumenta la producción de marcadores de superficie celular implicados en respuestas inmunes y reconocimiento de antígenos tales como CD40, I-A/I-E, CD317/BST-2, CD103, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H y/o la especie equivalente en una célula o células de un sujeto.
7. La flagelina de Roseburia, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprenden dicho vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso según la reivindicación 6 en donde la producción de marcadores de superficie celular implica respuestas inmunitarias y reconocimiento de antígenos tales como CD40, I-A/I-E,

CD317/BST-2, CD103, CD80, CD86, CD83 y/o Siglec-H y/o la especie equivalente es por células dendríticas.

8. La flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicho vector y/o célula huésped, incluidas bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 donde la flagelina de *Roseburia*, o la secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o el vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho el vector, y/o la célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos disminuye la expresión de uno o más genes de IFN tipo I en una célula o células de un sujeto.

9. El uso de flagelina de *Roseburia* y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicho vector, y/o una célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para estimular el apetito en un sujeto.

10. El uso de flagelina de *Roseburia*, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o la célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicho vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, según la reivindicación 9 en el que el nivel de colecistocinina (Cck) y/o glucagón (Gcg) se reduce en la sangre de un sujeto.

11. Una composición farmacéutica y/o un suplemento nutricional que comprende flagelina de *Roseburia*, y/o una secuencia de polinucleótidos que codifica dicha flagelina de *Roseburia*, y/o un vector que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y/o una célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicho vector, y/o una célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéutica y/o nutricionalmente aceptable.

12. La composición farmacéutica y/o suplemento nutricional de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho marcador de flagelina de *Roseburia*, y/o dicha secuencia de polinucleótido, y/o dicho vector, y/o dicha célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o dicha célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, está encapsulada.

13. La composición farmacéutica y/o suplemento nutricional de acuerdo con la reivindicación 11 o la reivindicación 12 para su uso en el tratamiento de un trastorno en un sujeto, en el que el trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

14. La composición farmacéutica y/o la nutrición como complemento de la reivindicación 11 o la reivindicación 12 al estimular el apetito de un sujeto.

15. Un procedimiento para producir una composición farmacéutica y/o suplemento nutricional de acuerdo con la reivindicación 11, comprendiendo dicho proceso el mezclado de dicha flagelina de *Roseburia*, y/o dicha secuencia de polinucleótido, y/o dicho vector, y/o dicha célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o dicha célula huésped, que incluye bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéutica o nutricionalmente aceptable; opcionalmente, la flagelina de *Roseburia*, y/o dicha secuencia de polinucleótidos, y/o dicho vector, y/o dicha célula huésped, que incluye bacterias, que comprenden dicho vector, y/o dicha célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, se encapsula.

16. La flagelina de *Roseburia*, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprenden dicho vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, la composición farmacéutica y/o suplemento nutricional de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 11-14 y el proceso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que dicha flagelina de *Roseburia* se deriva o es derivable de *Roseburia hominis*.

17. La flagelina de *Roseburia hominis*, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para el uso de acuerdo con la reivindicación 16 donde dicha flagelina de *Roseburia hominis* es un polipéptido que tiene al menos 99% de identidad con SEQ ID NO 2 o SEQ ID NO 4, y en donde la secuencia de polinucleótidos que codifica flagelina de *Roseburia hominis* es una secuencia de polinucleótidos que codifica un polipéptido que tiene al menos 99% de identidad con SEQ ID NO 2 o SEQ ID NO 4, o una secuencia de polinucleótidos que tiene al menos 99% de identidad con SEQ ID NO 1 o SEQ ID NO 3.

18. La flagelina de *Roseburia hominis*, y/o la secuencia de polinucleótidos, y/o el vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicho vector, y/o la célula huésped, incluyendo bacterias, que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, para el uso de acuerdo con la reivindicación 16 o 17 en donde dicha flagelina de

Roseburia hominis tiene la secuencia polipeptídica mostrada como SEQ ID NO 2 o SEQ ID NO 4, y en donde la secuencia de polinucleótidos que codifica flagelina de *Roseburia hominis* tiene la secuencia polinucleotídica que codifica un polipéptido que tiene la secuencia mostrada como SEQ ID NO 2 o SEQ ID NO 4, o la secuencia de polinucleótidos mostrada como SEQ ID NO 1 o SEQ ID NO 3.

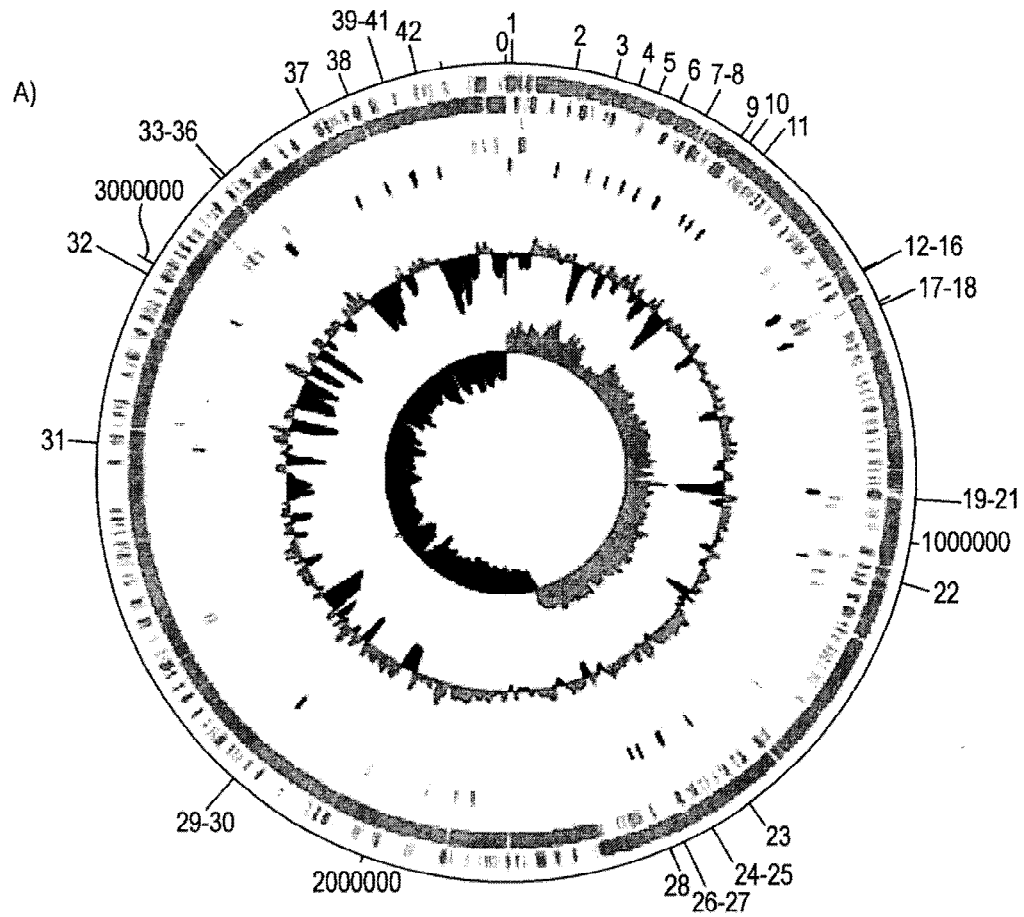


FIG. 1

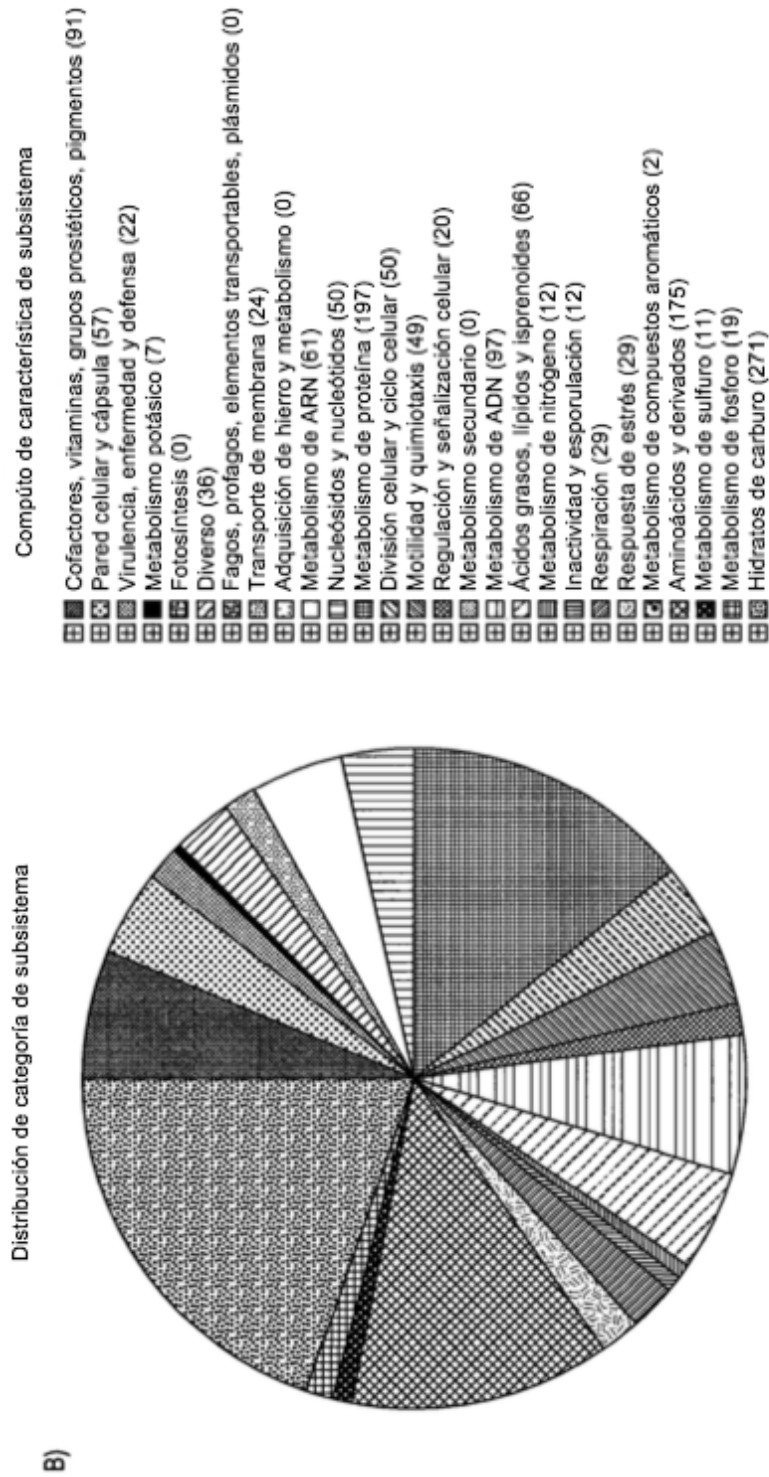


FIG. 1

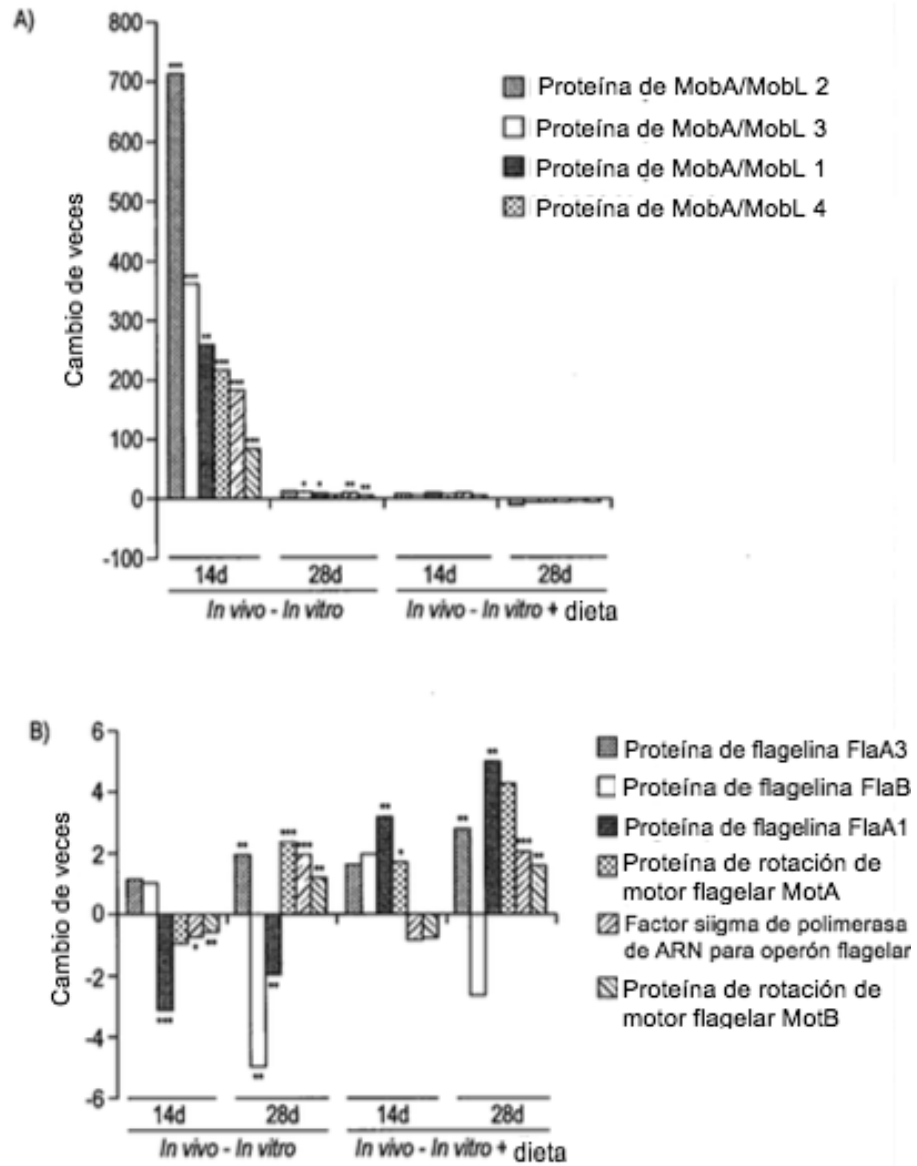


FIG. 2

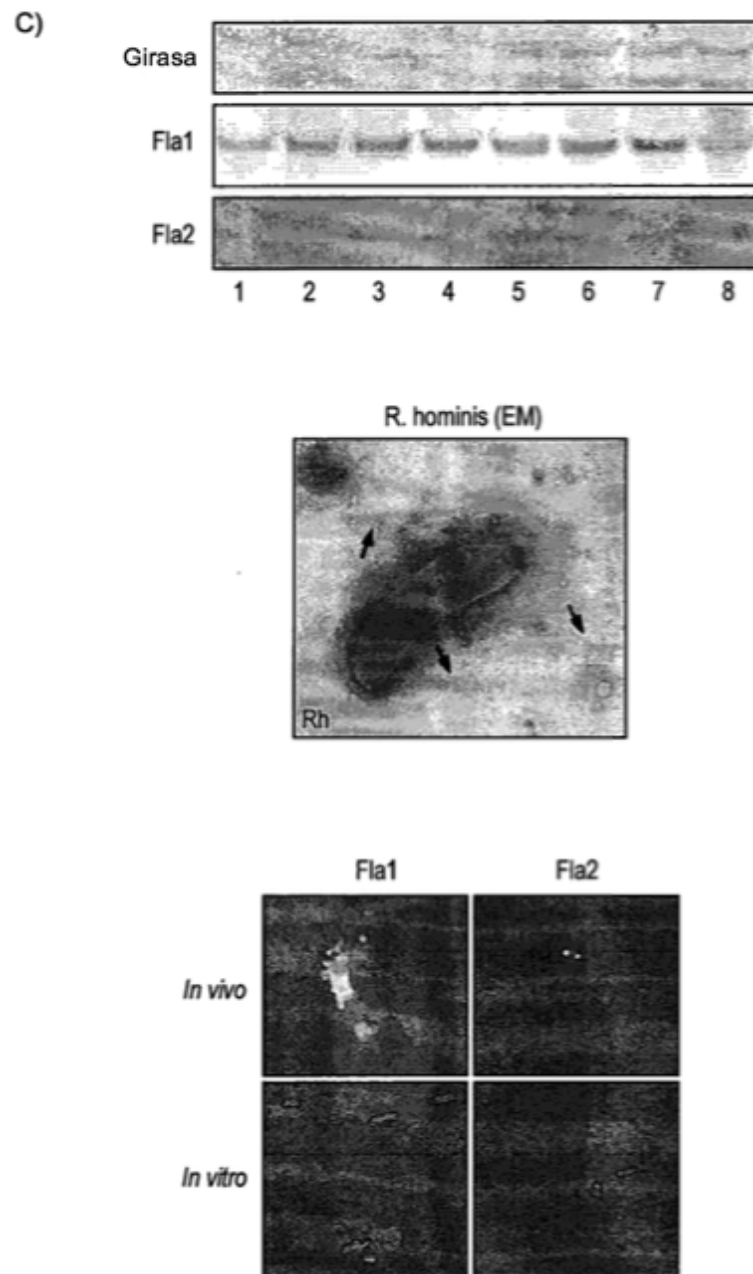


FIG. 2

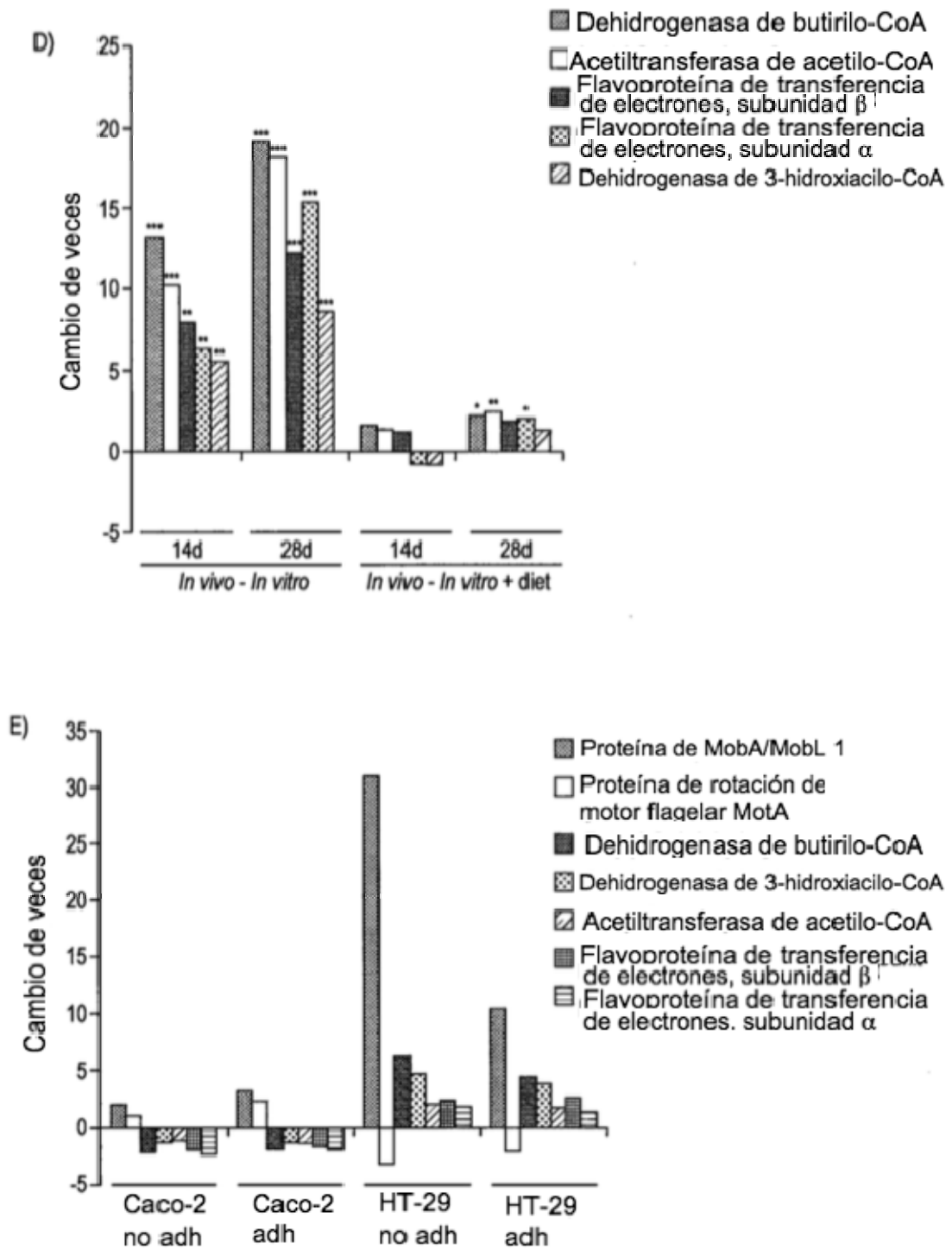


FIG. 2

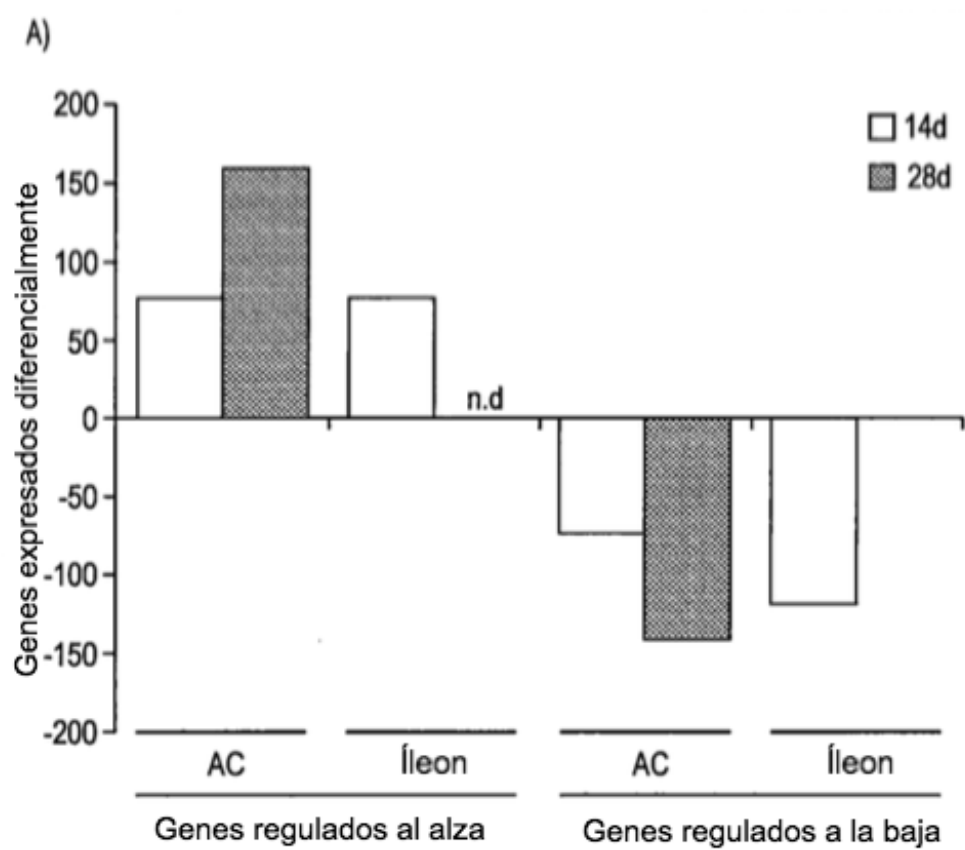


FIG. 3

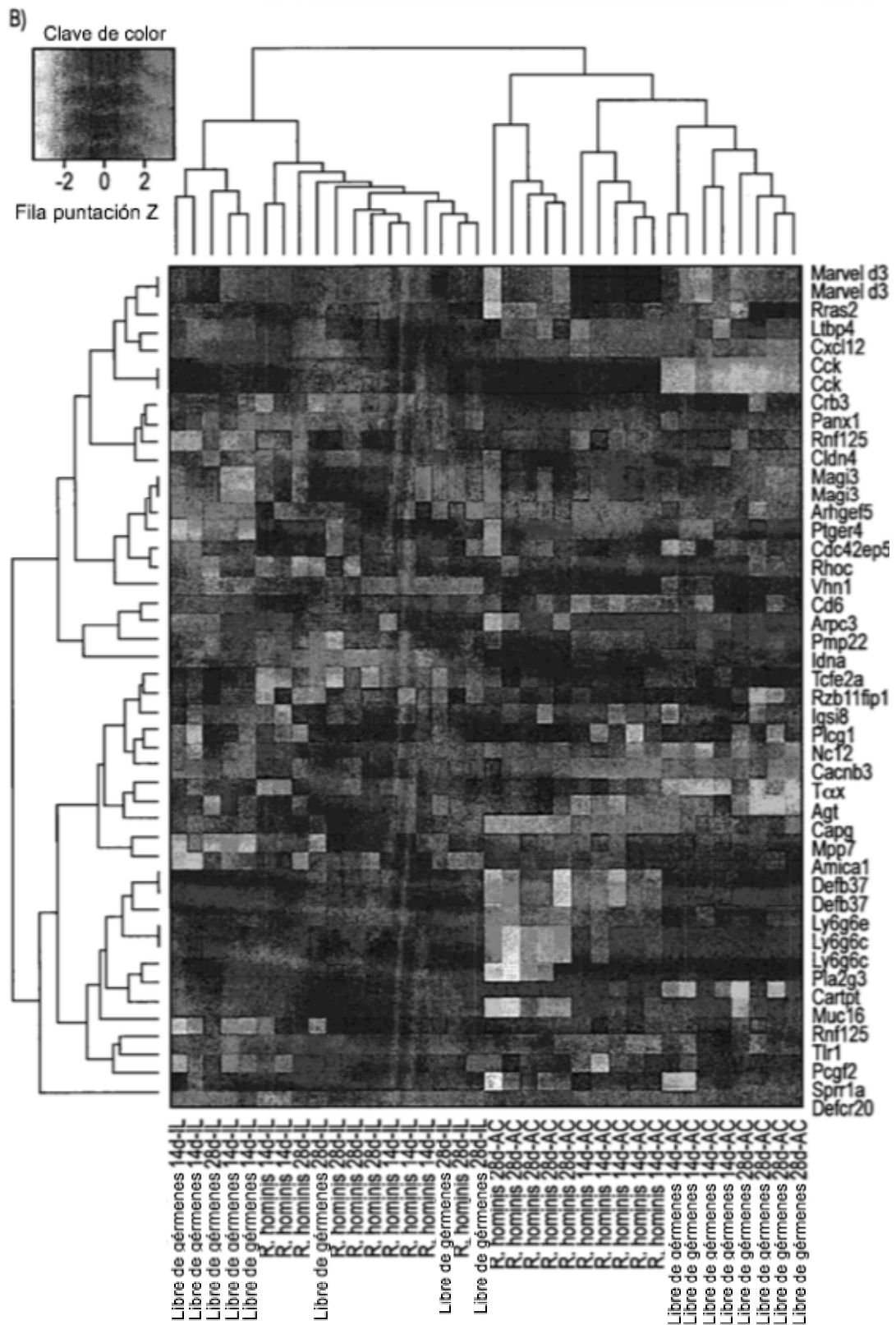


FIG. 3

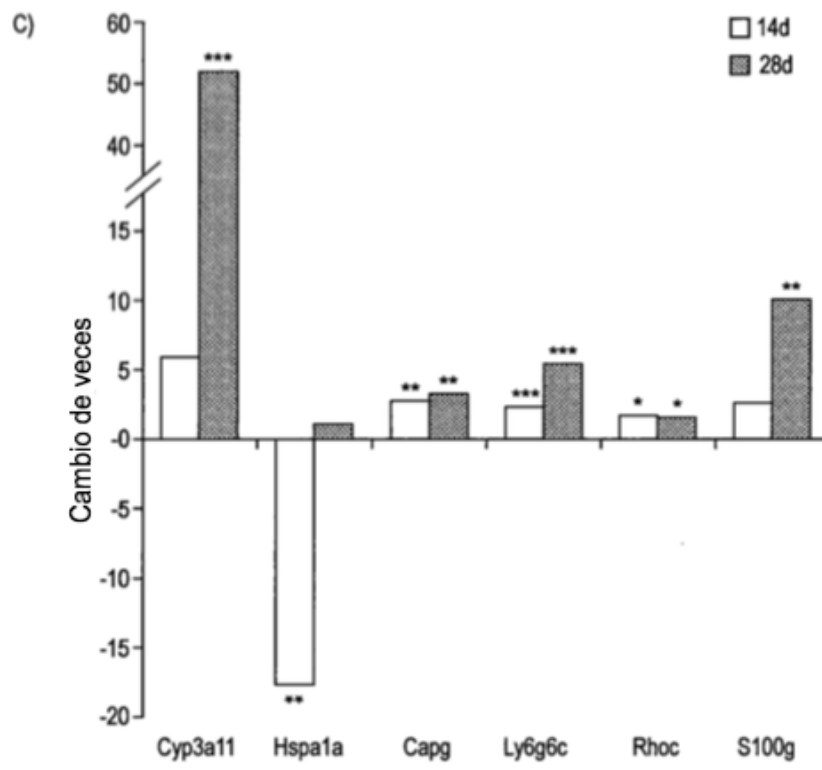
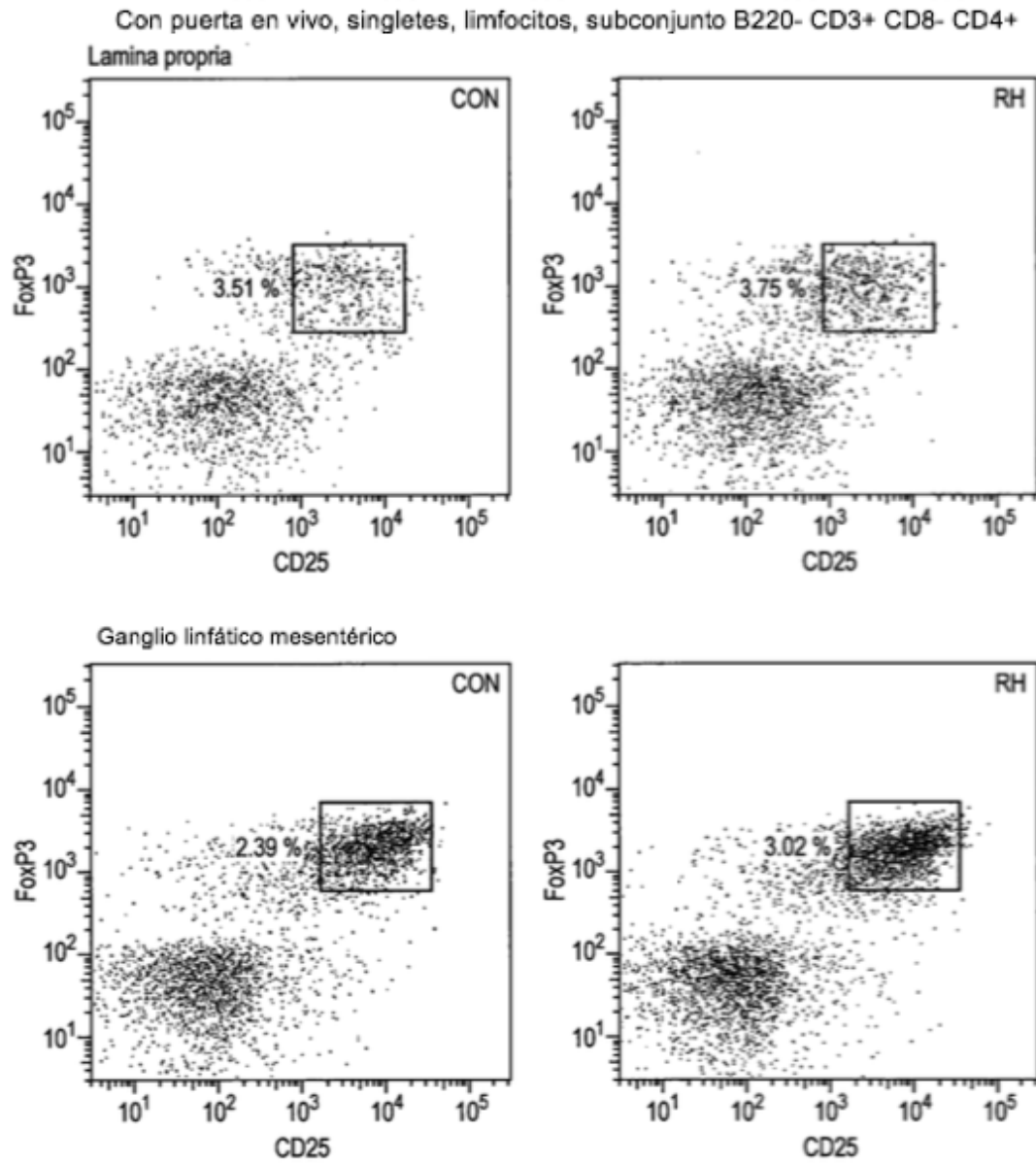


FIG. 3



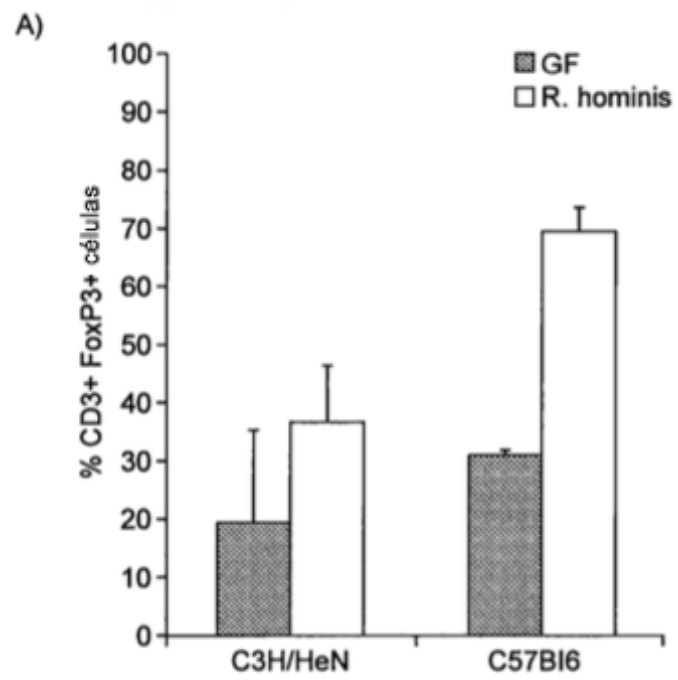


FIG. 5

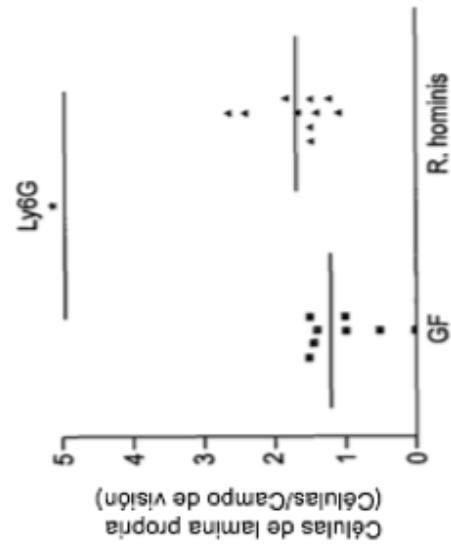
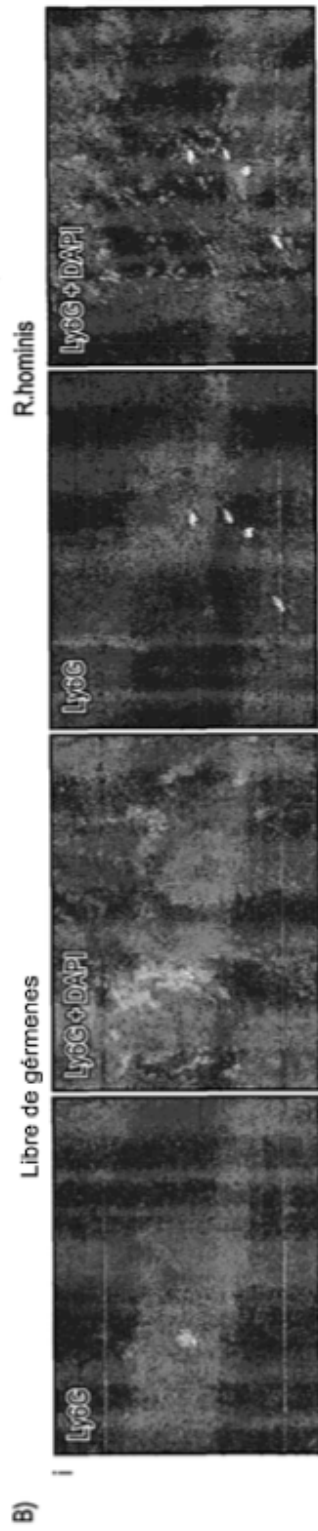
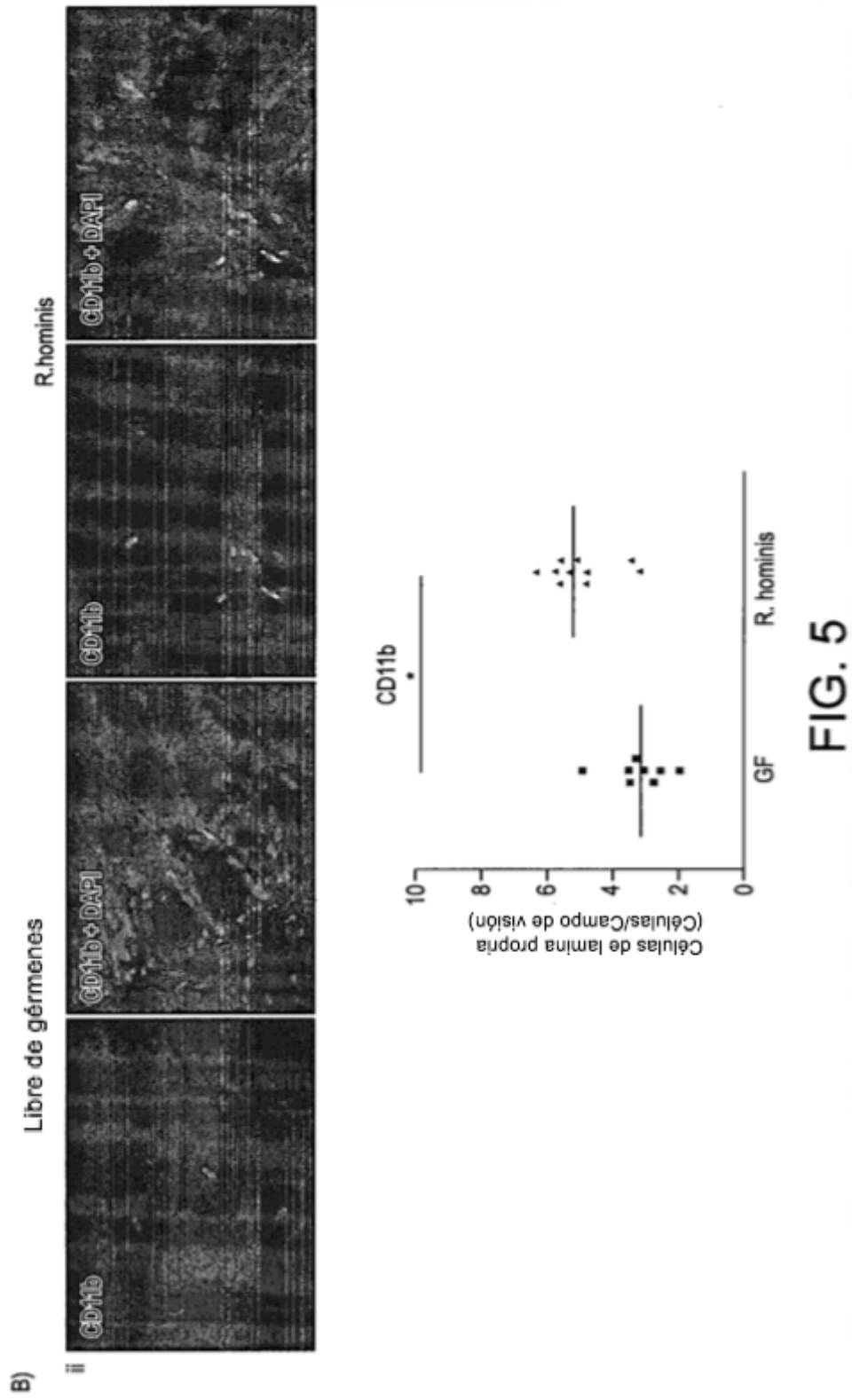
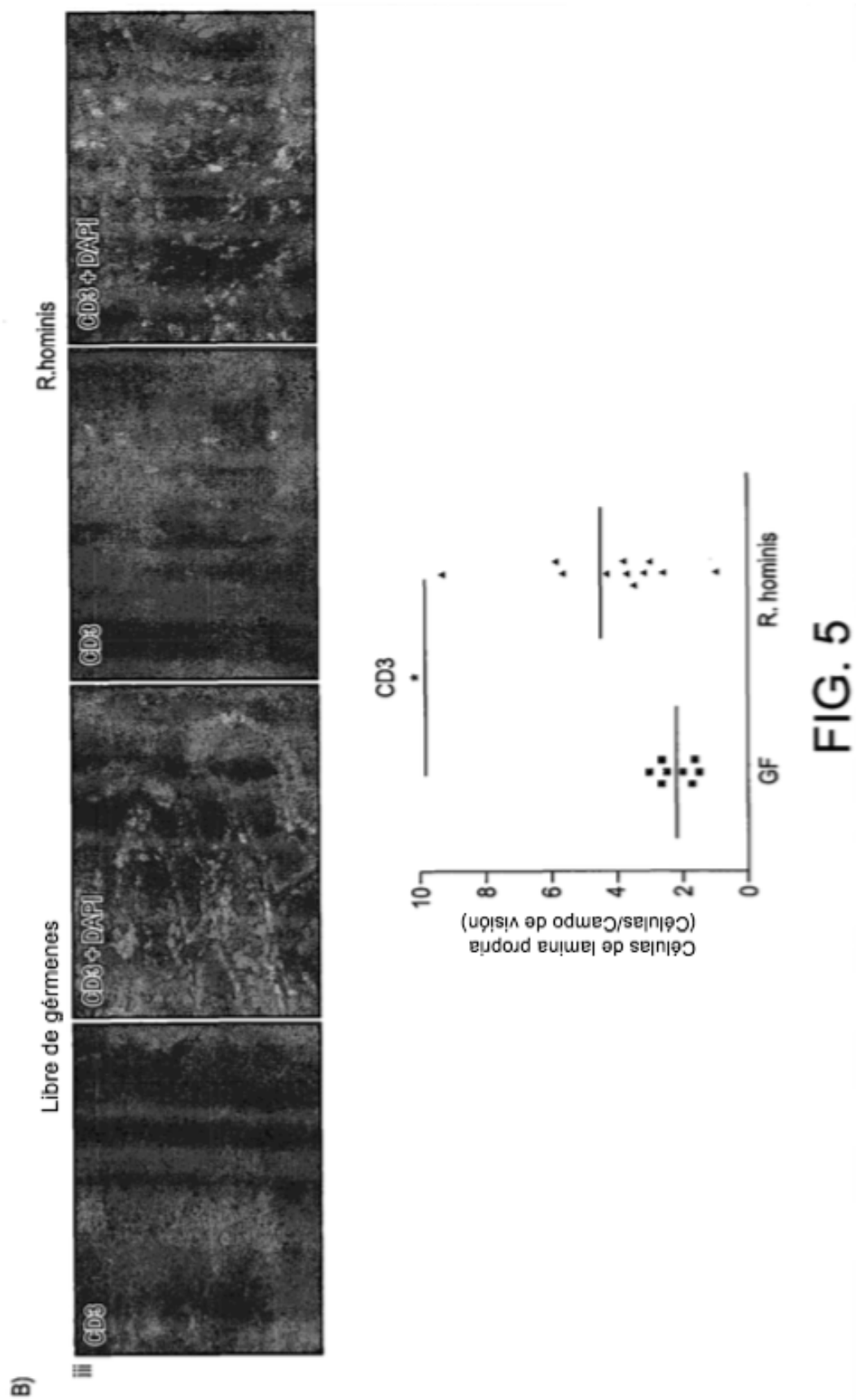
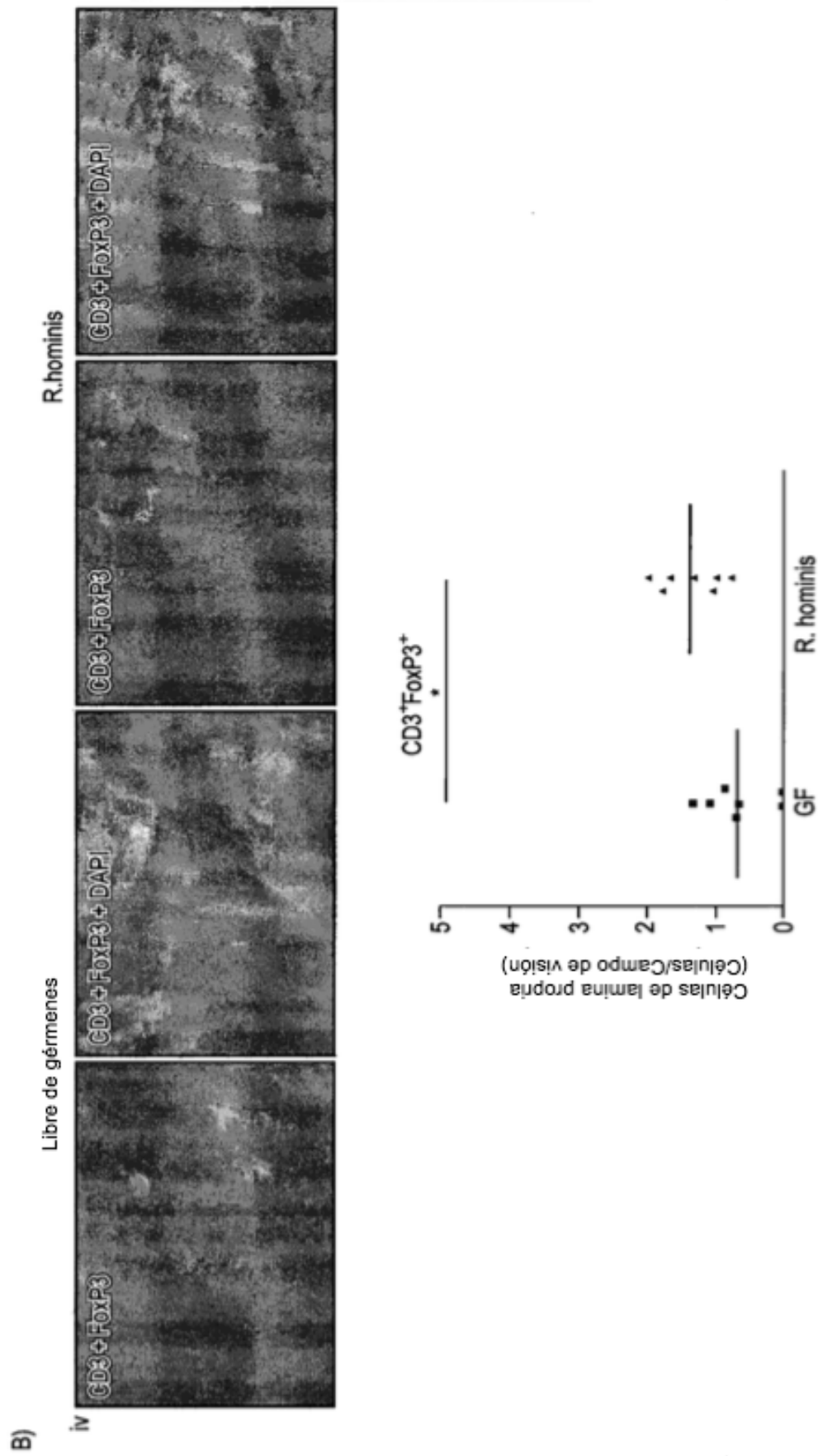


FIG. 5







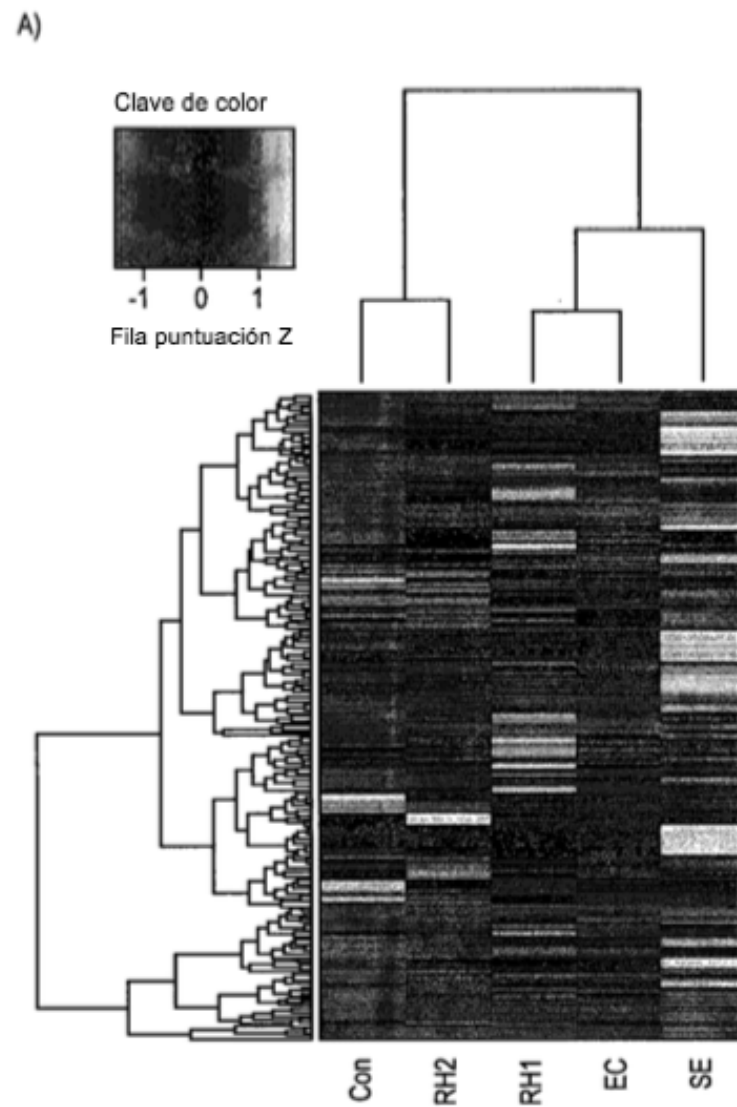


FIG. 6

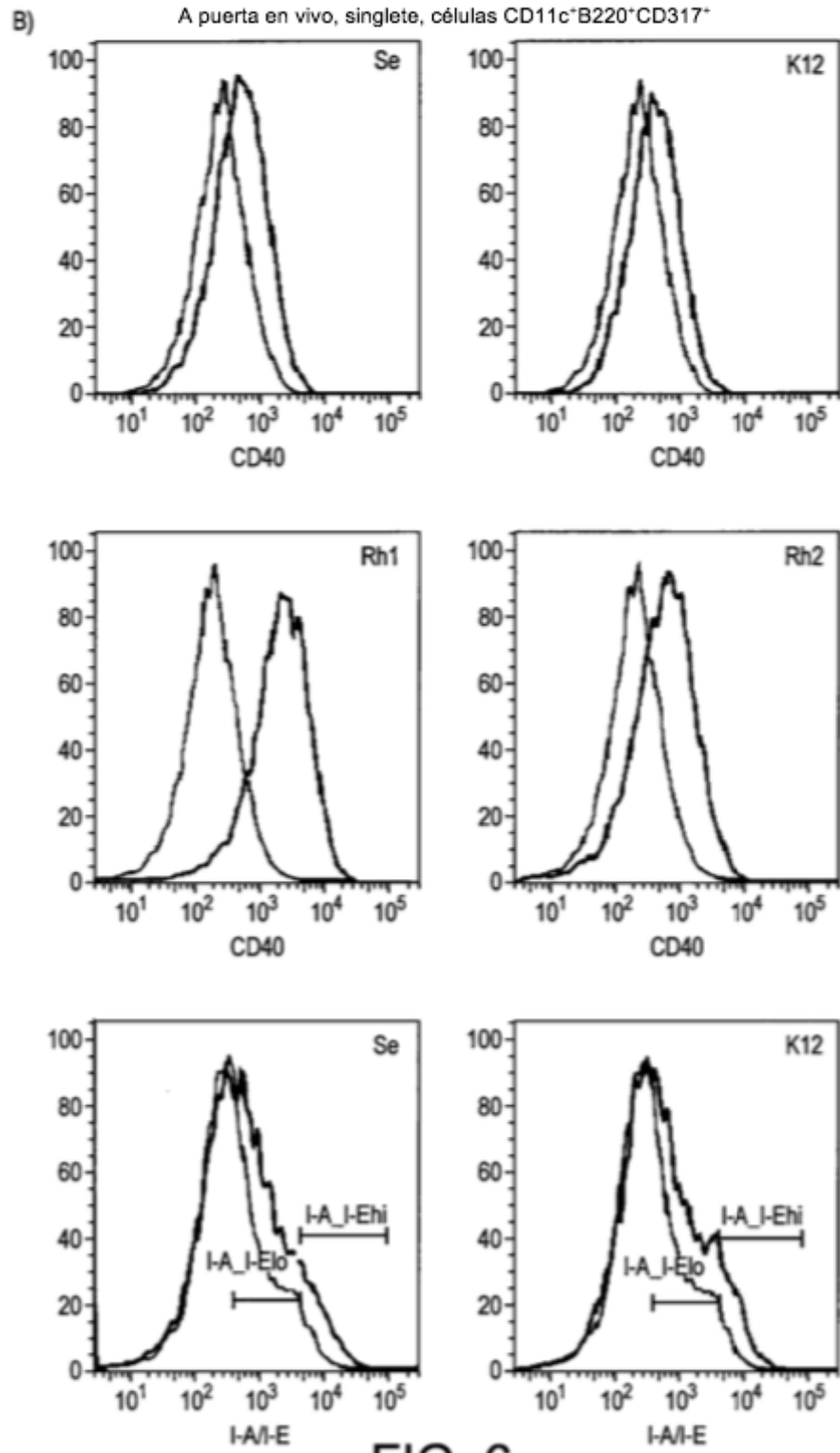


FIG. 6

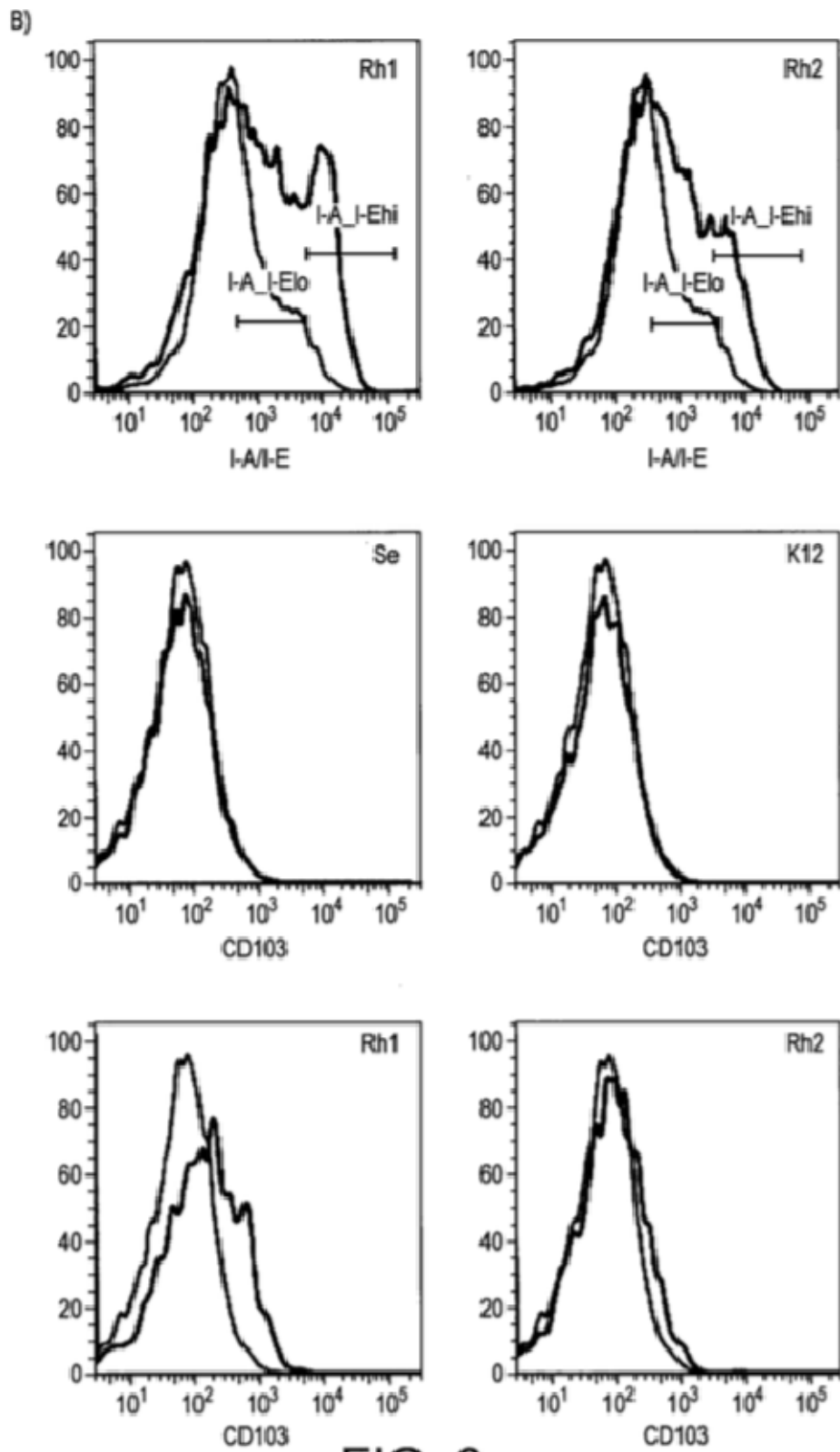


FIG. 6 Cont

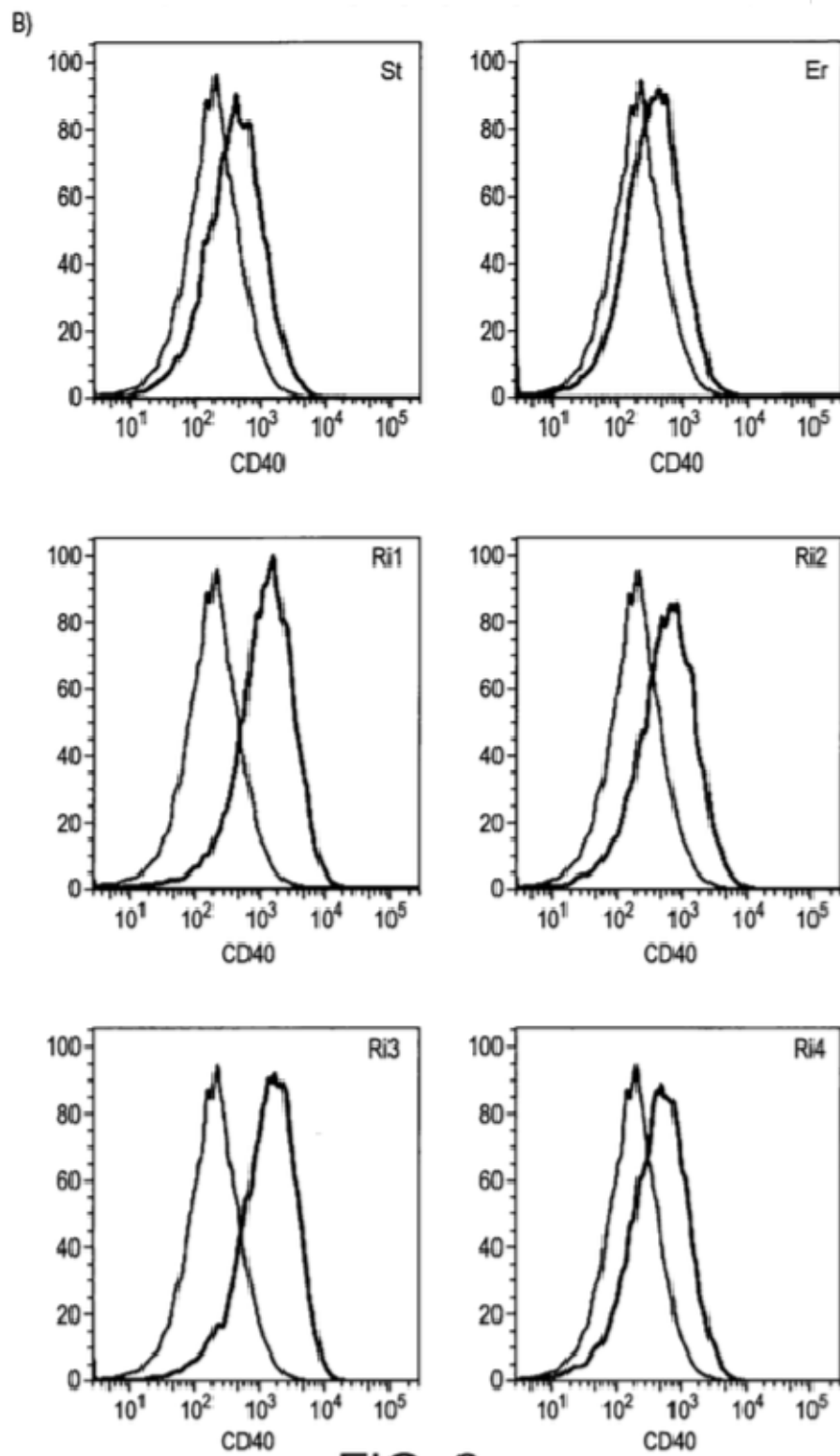


FIG. 6 Cont

B)

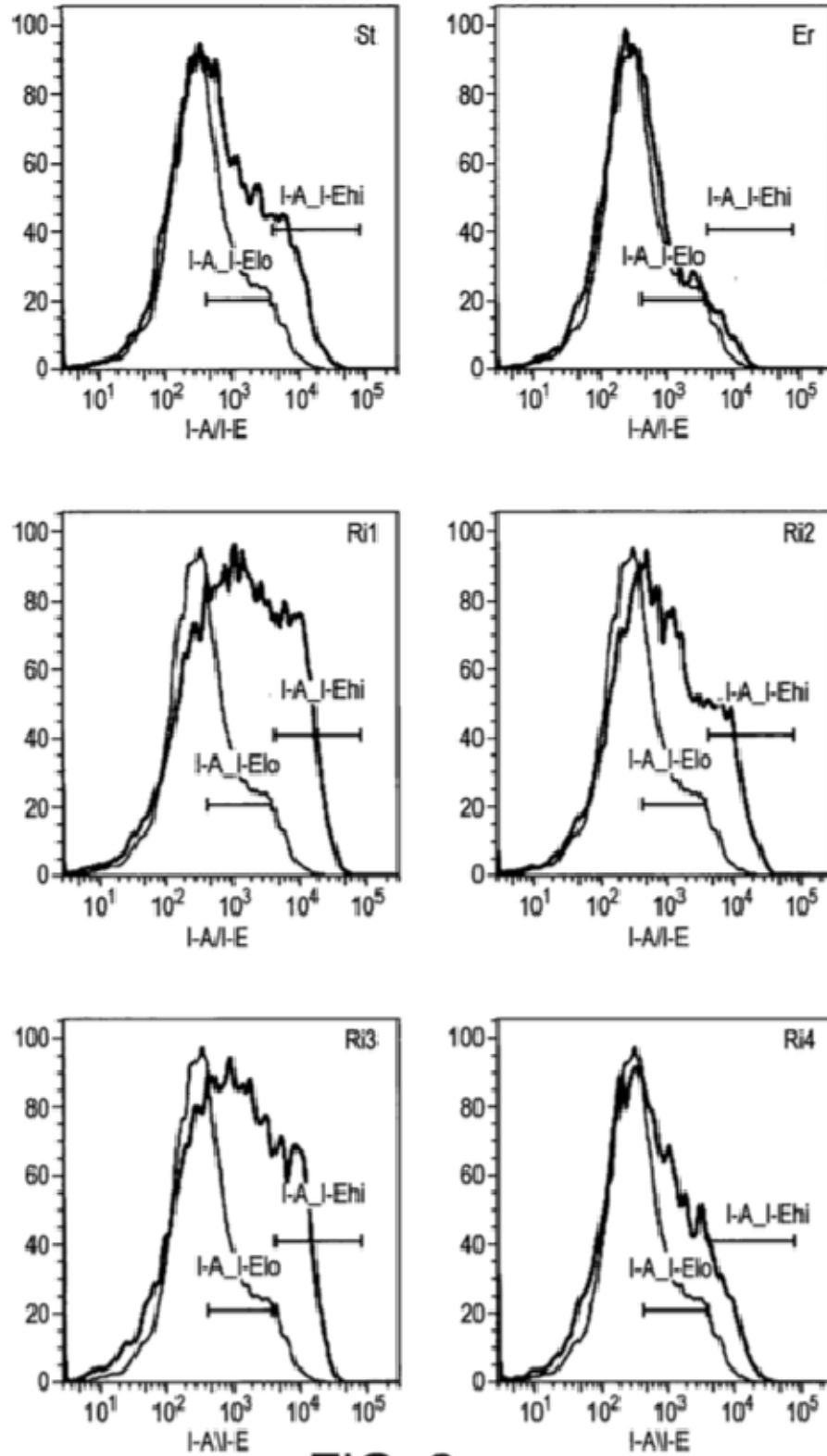


FIG. 6 Cont

B)

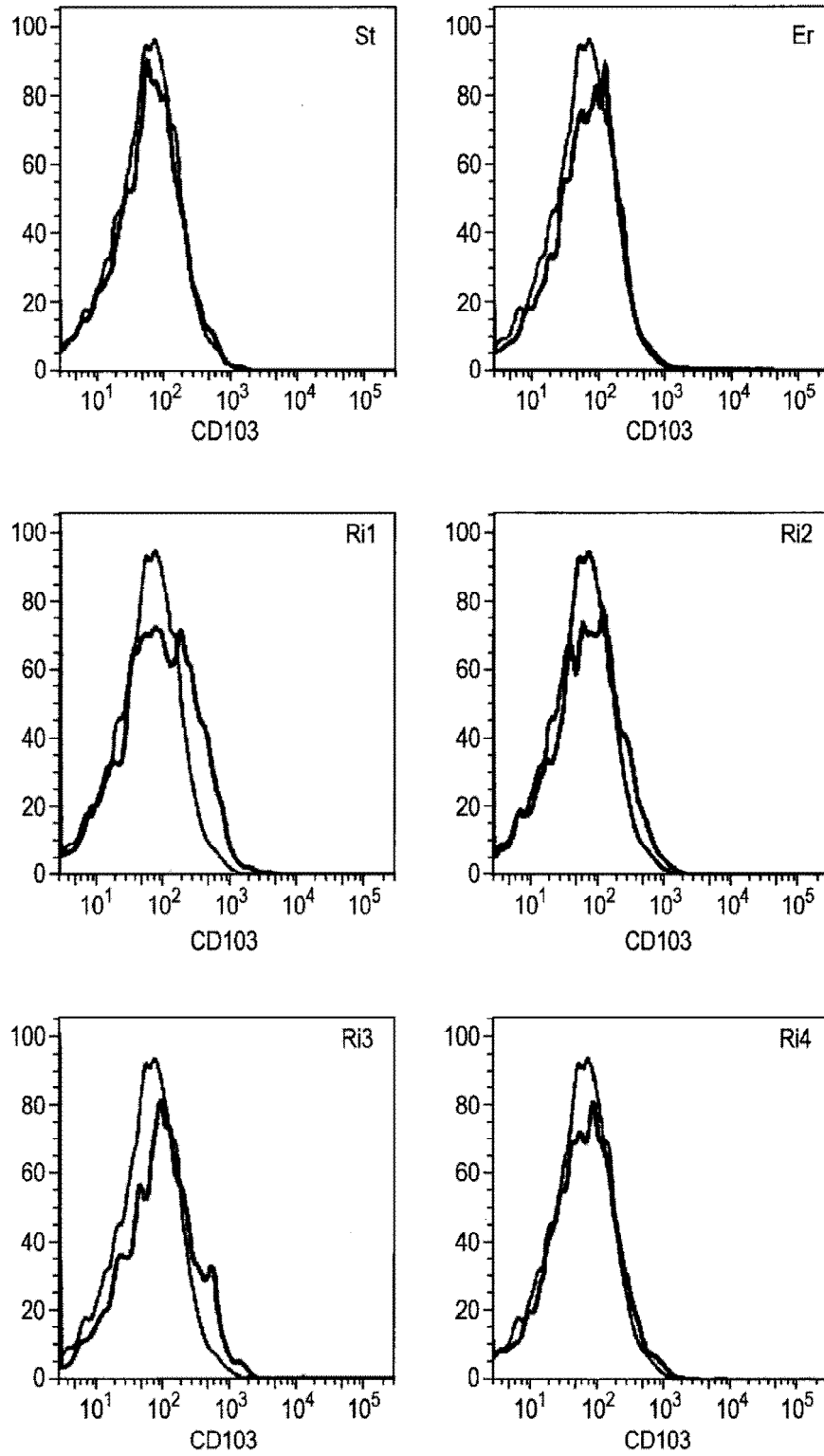
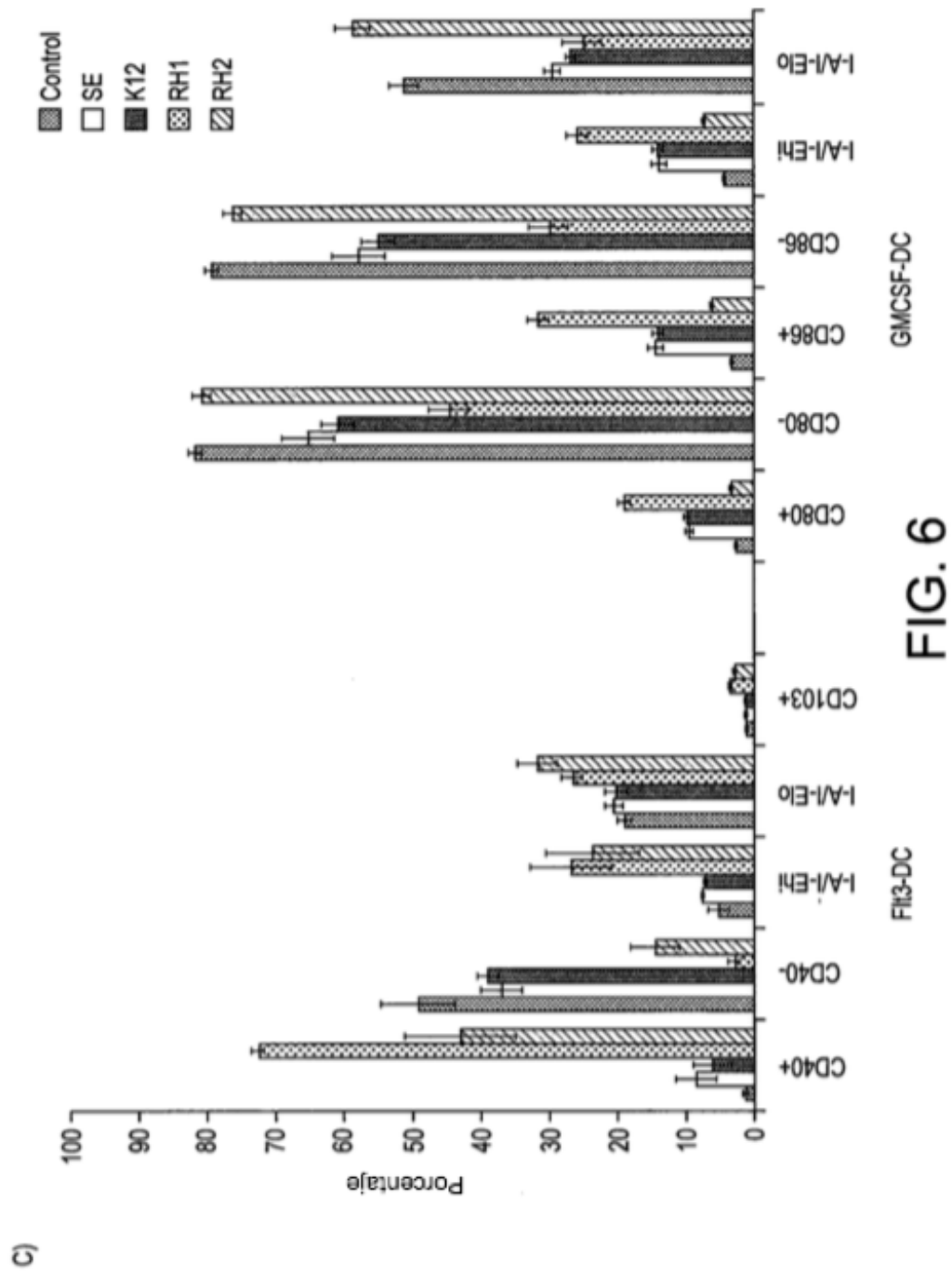


FIG. 6 Cont



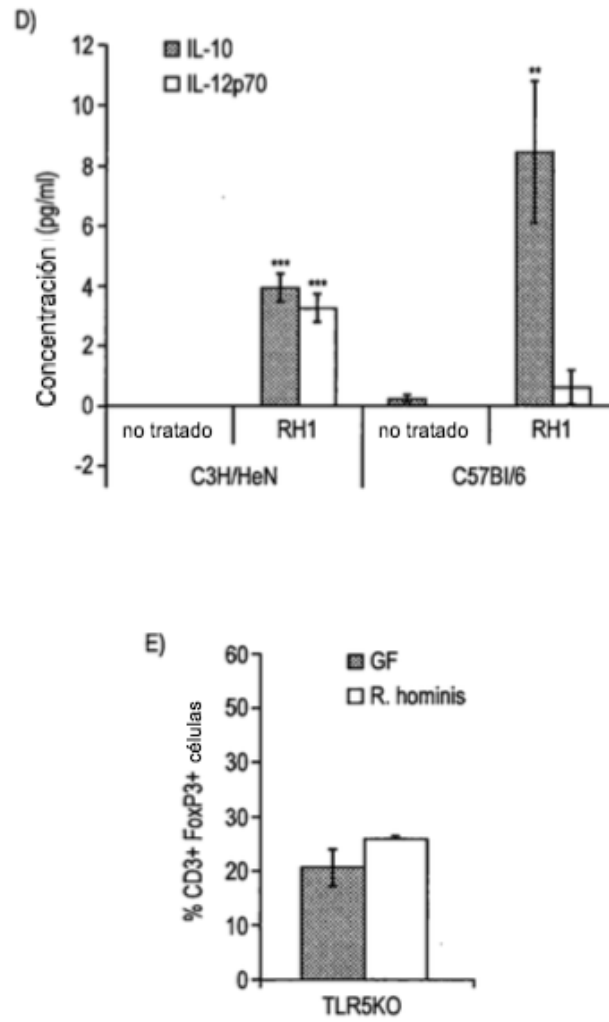


FIG. 6

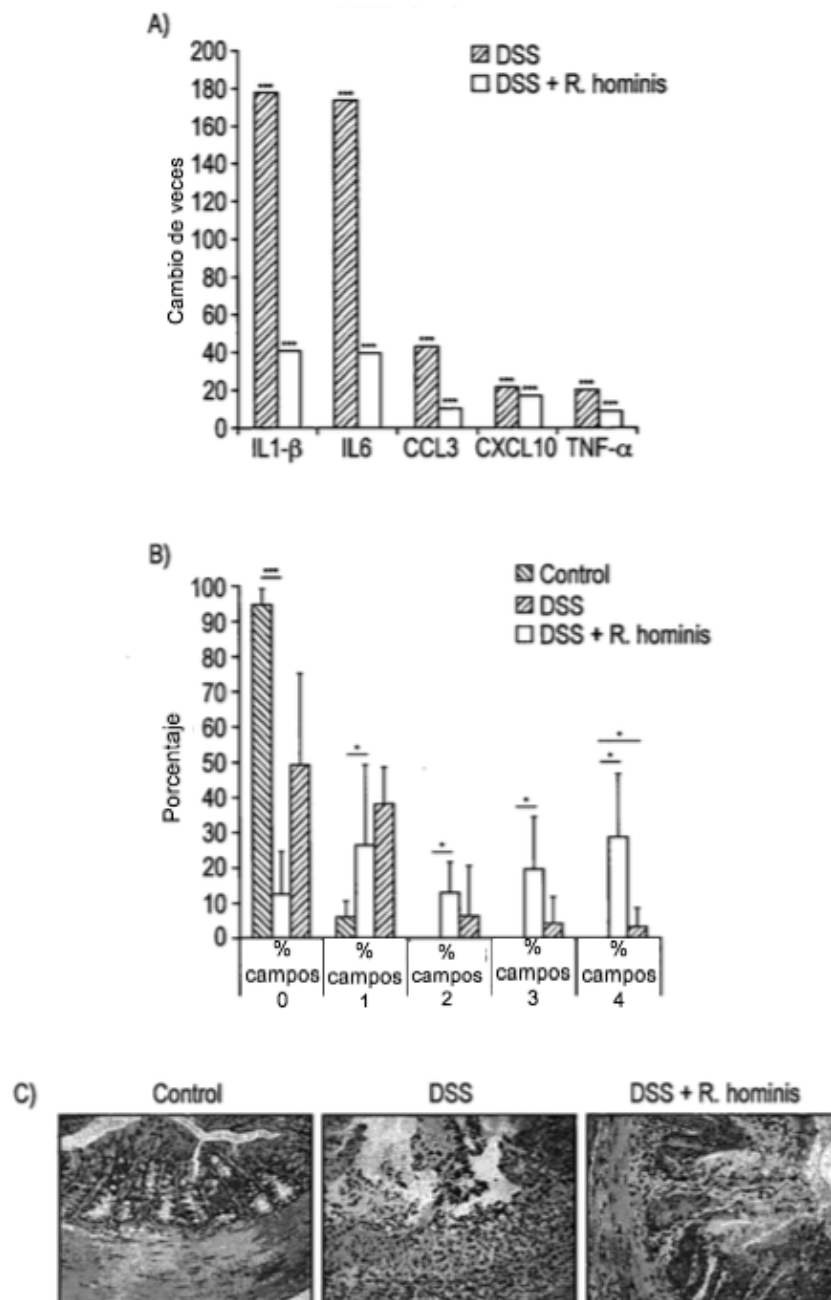


FIG. 7

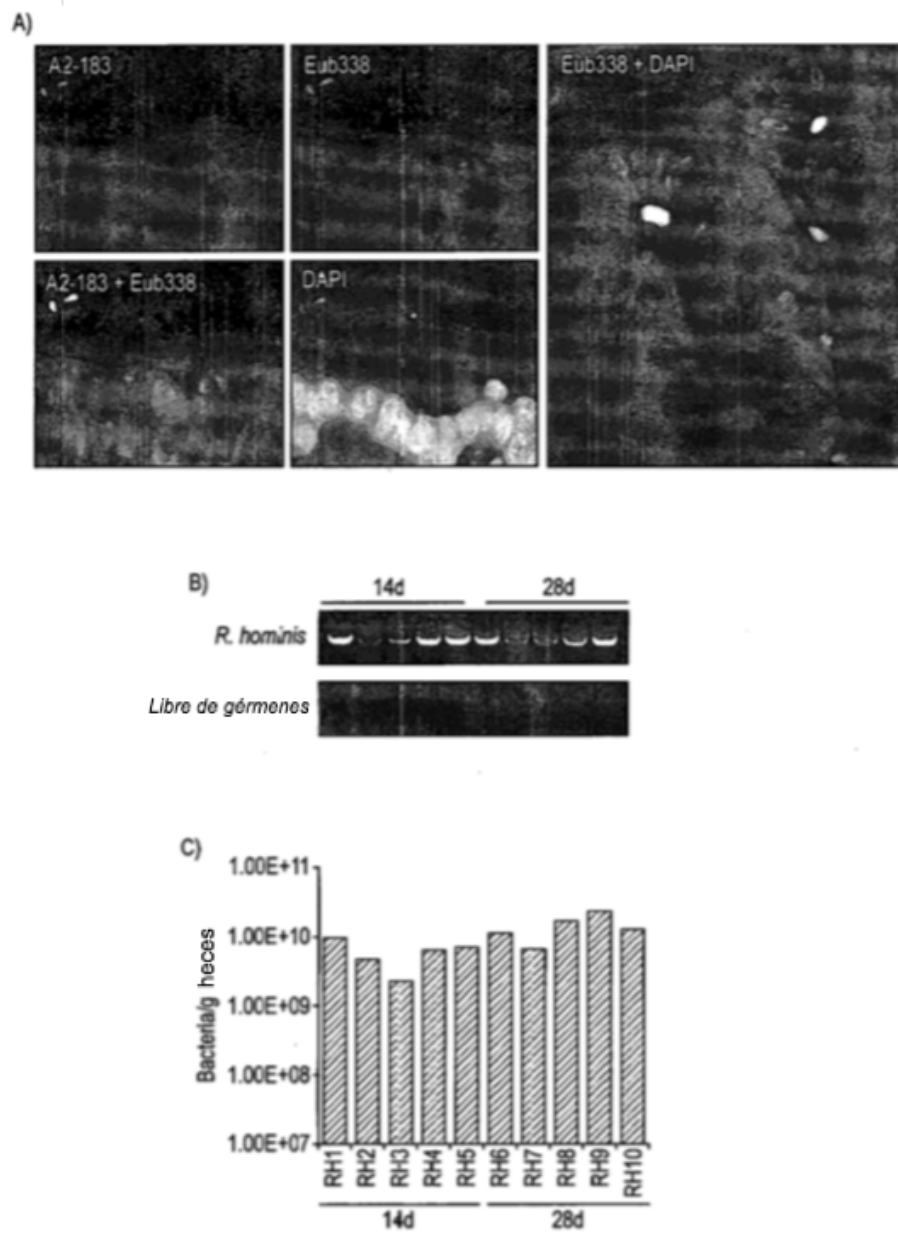


FIG. S1

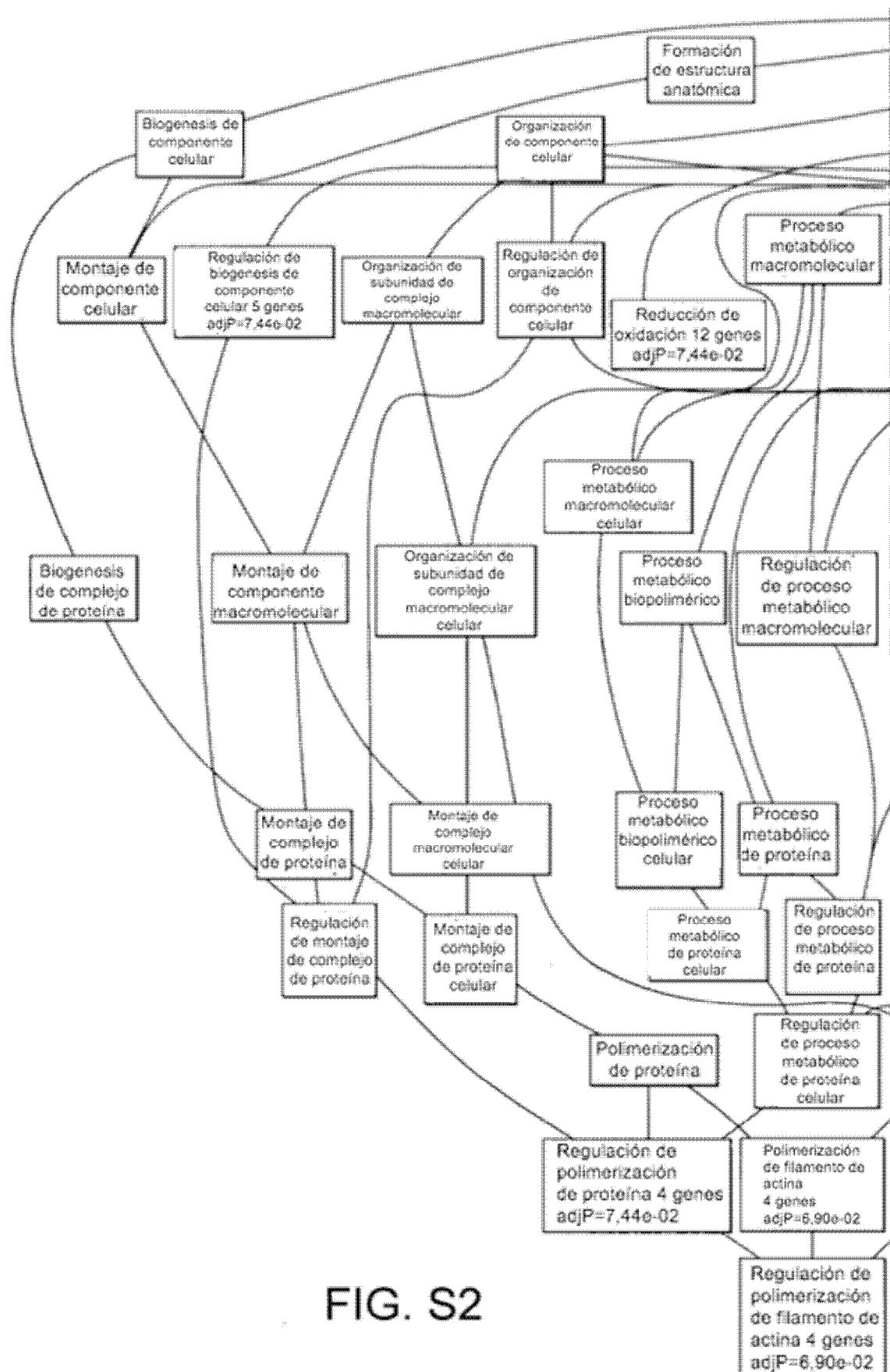
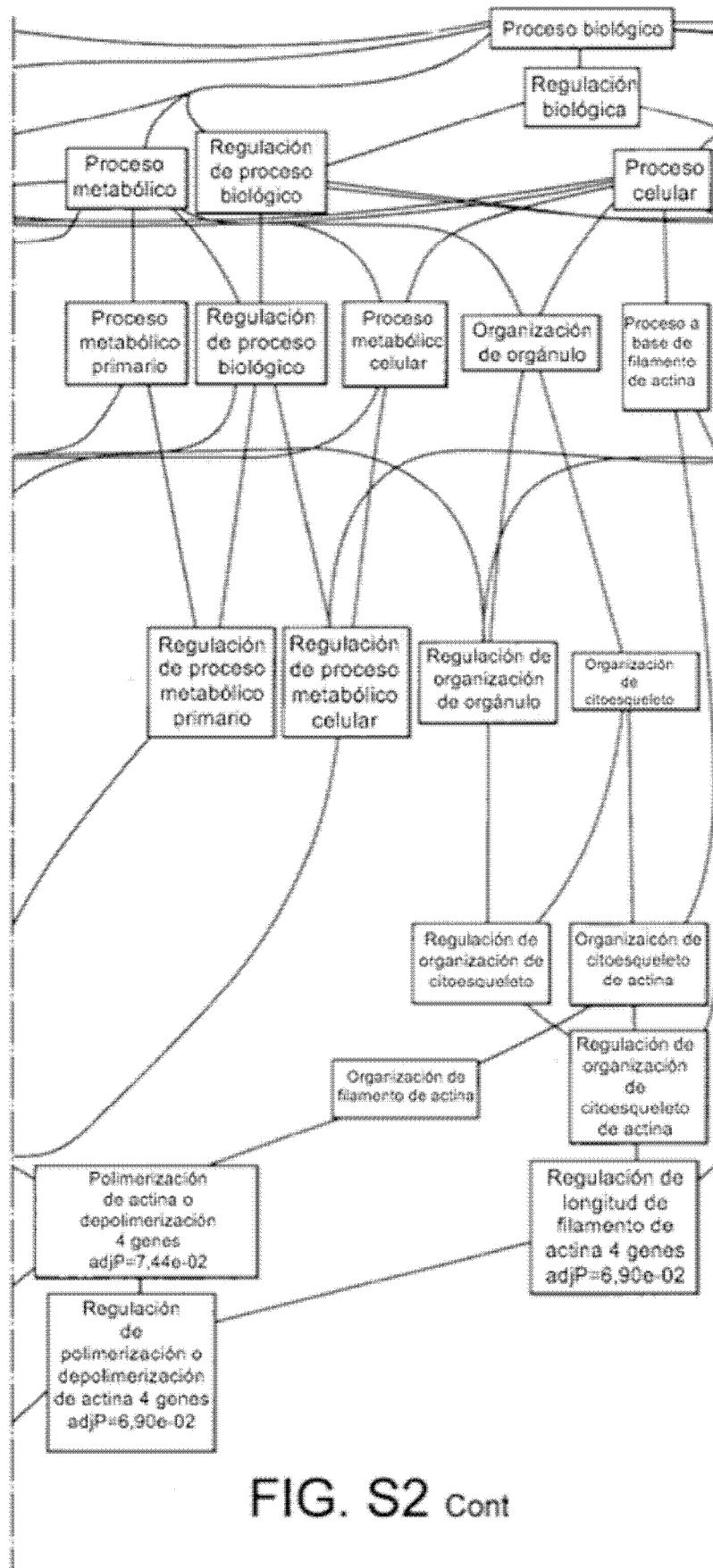


FIG. S2



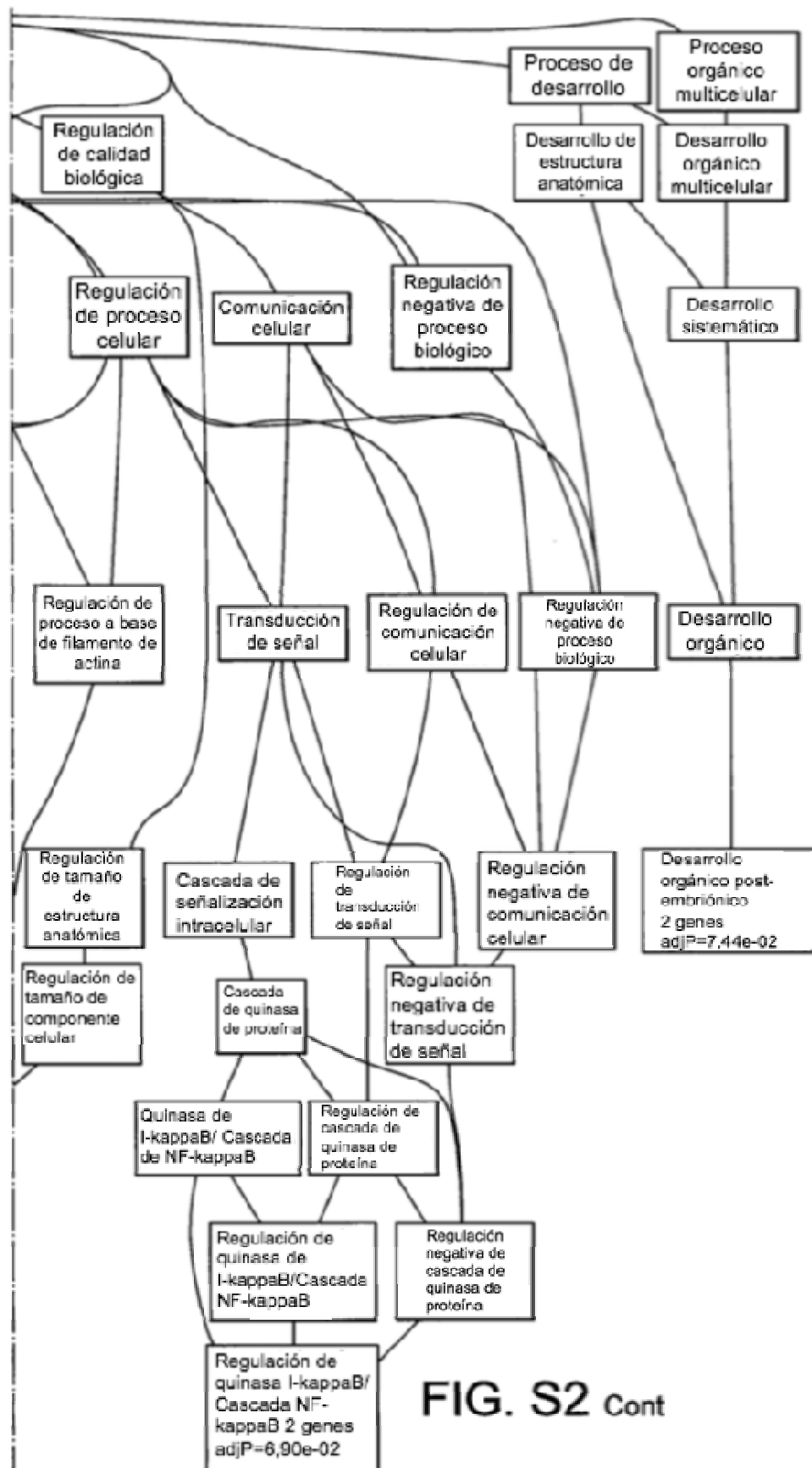


FIG. S2 Cont

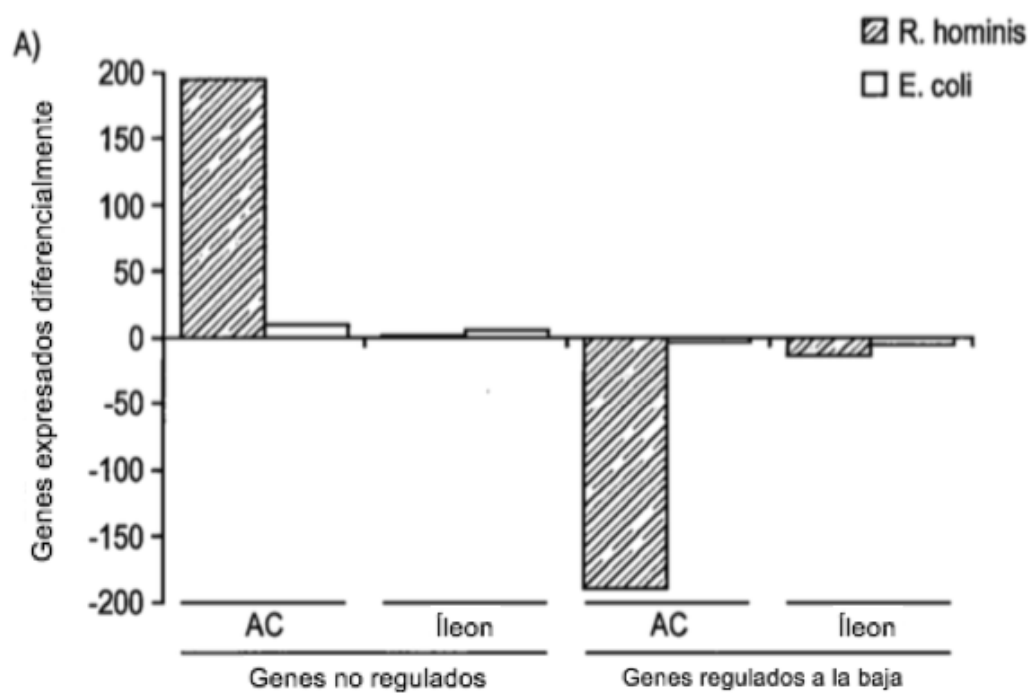


FIG. S3

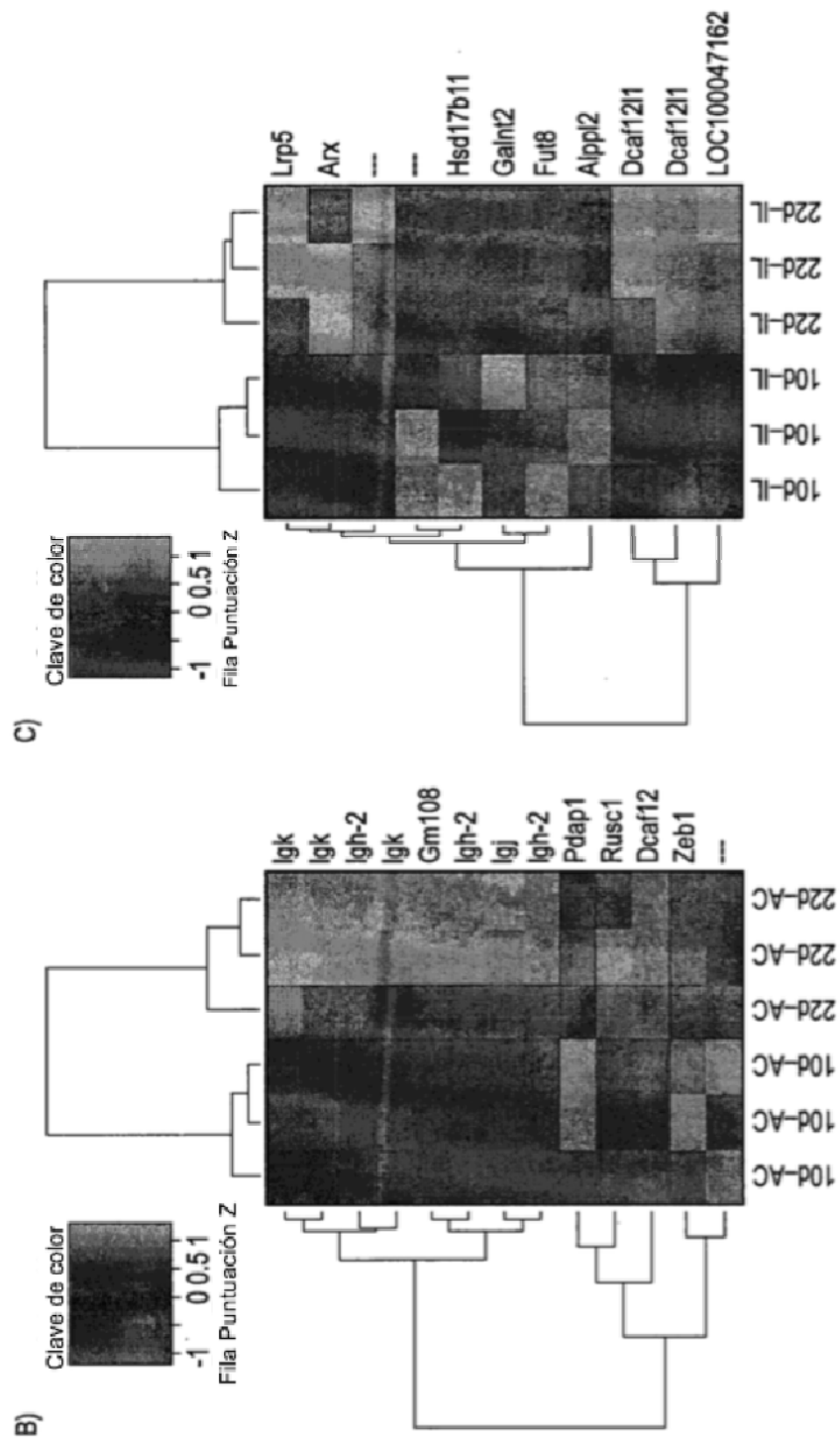


FIG. S3 Cont

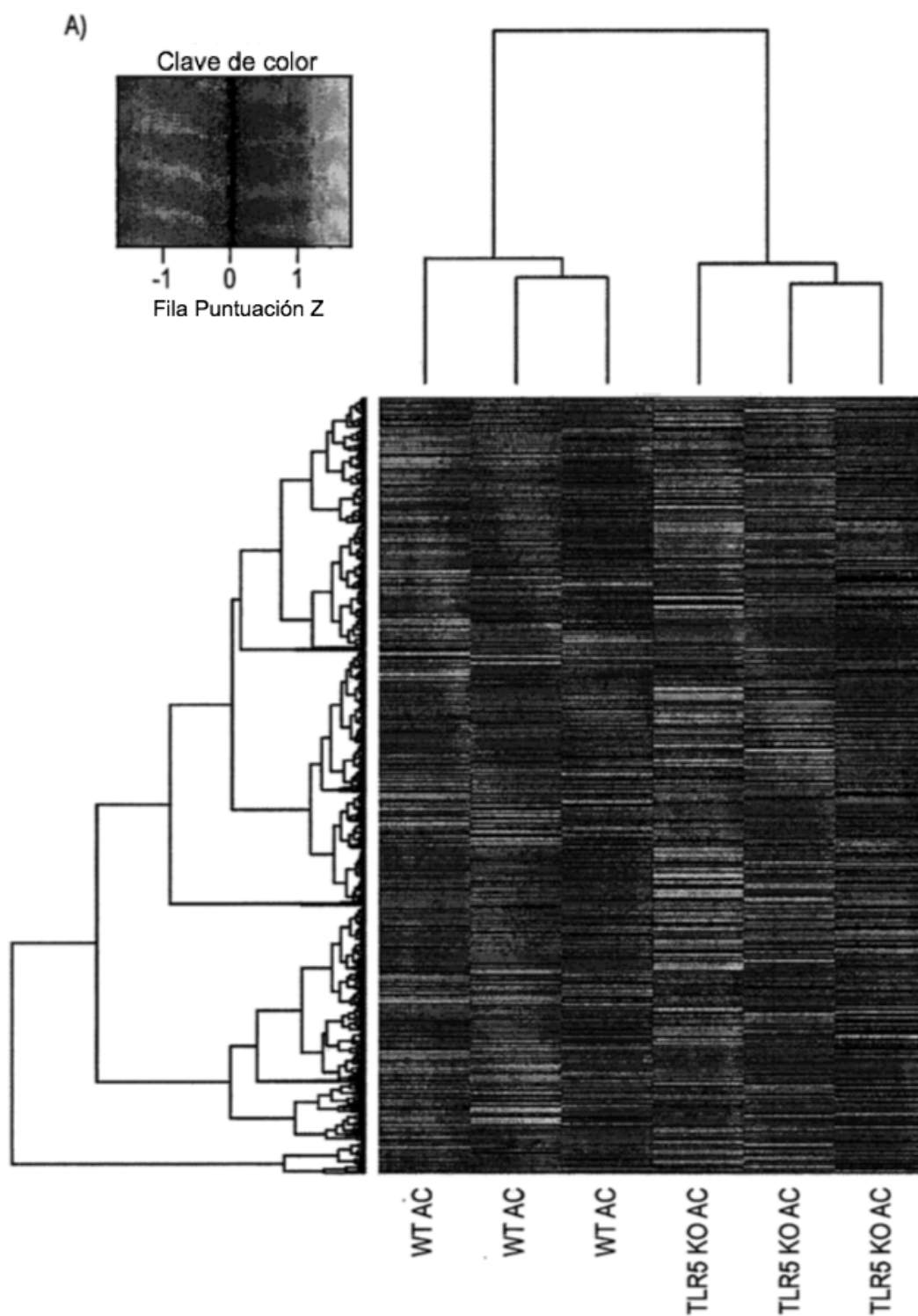


FIG. S4

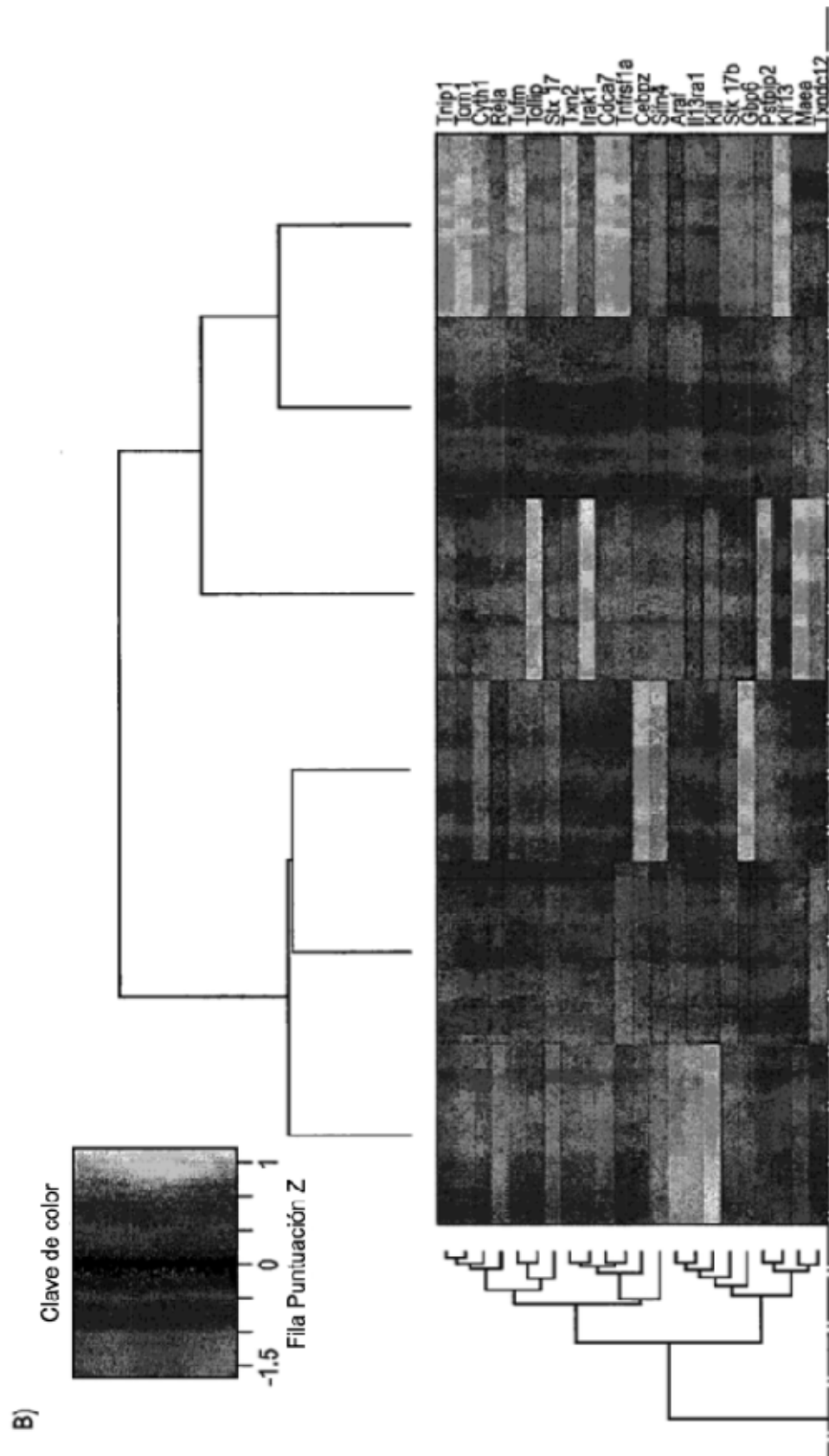
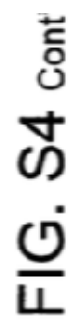


FIG. S4 Cont



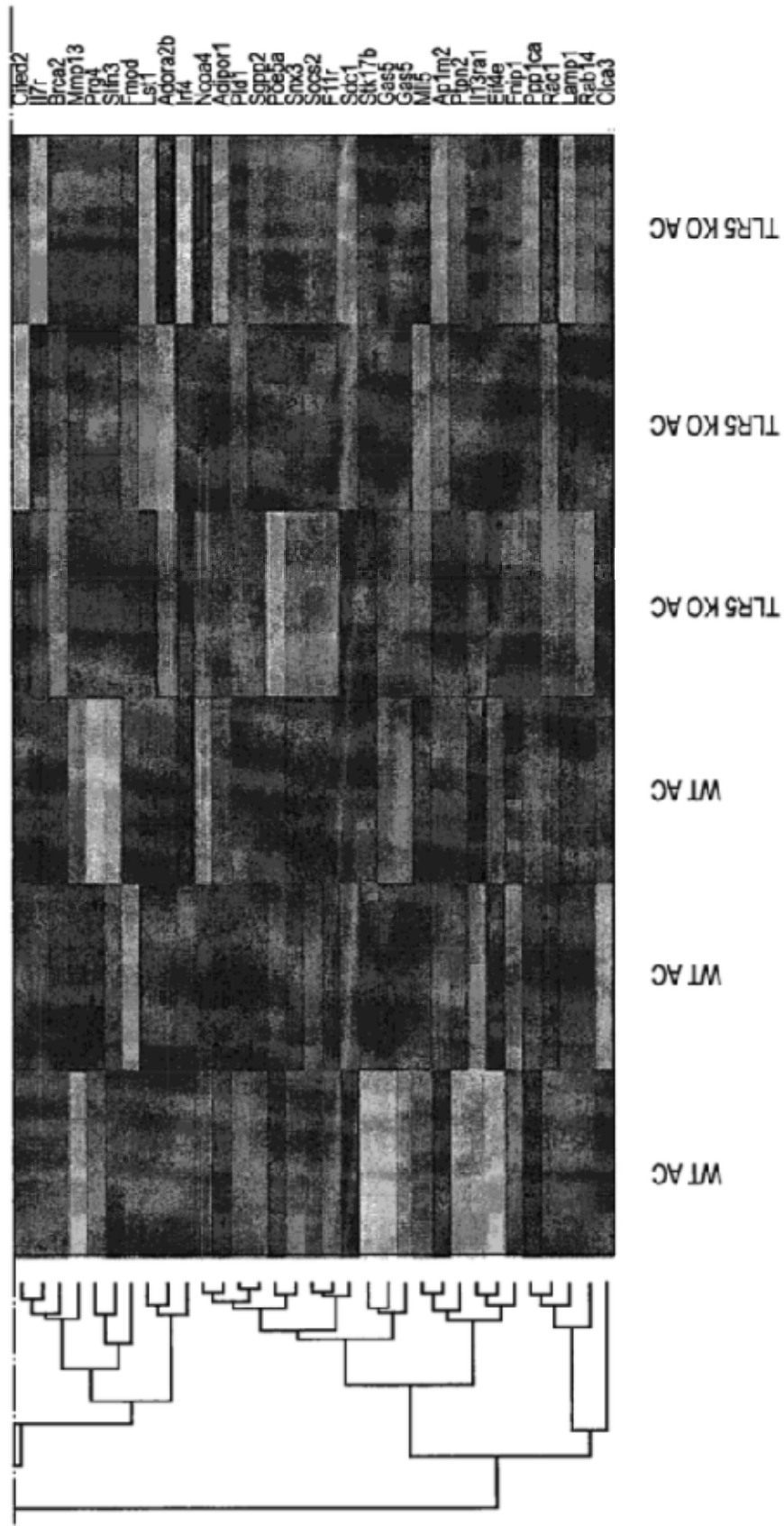


FIG. S4 Cont

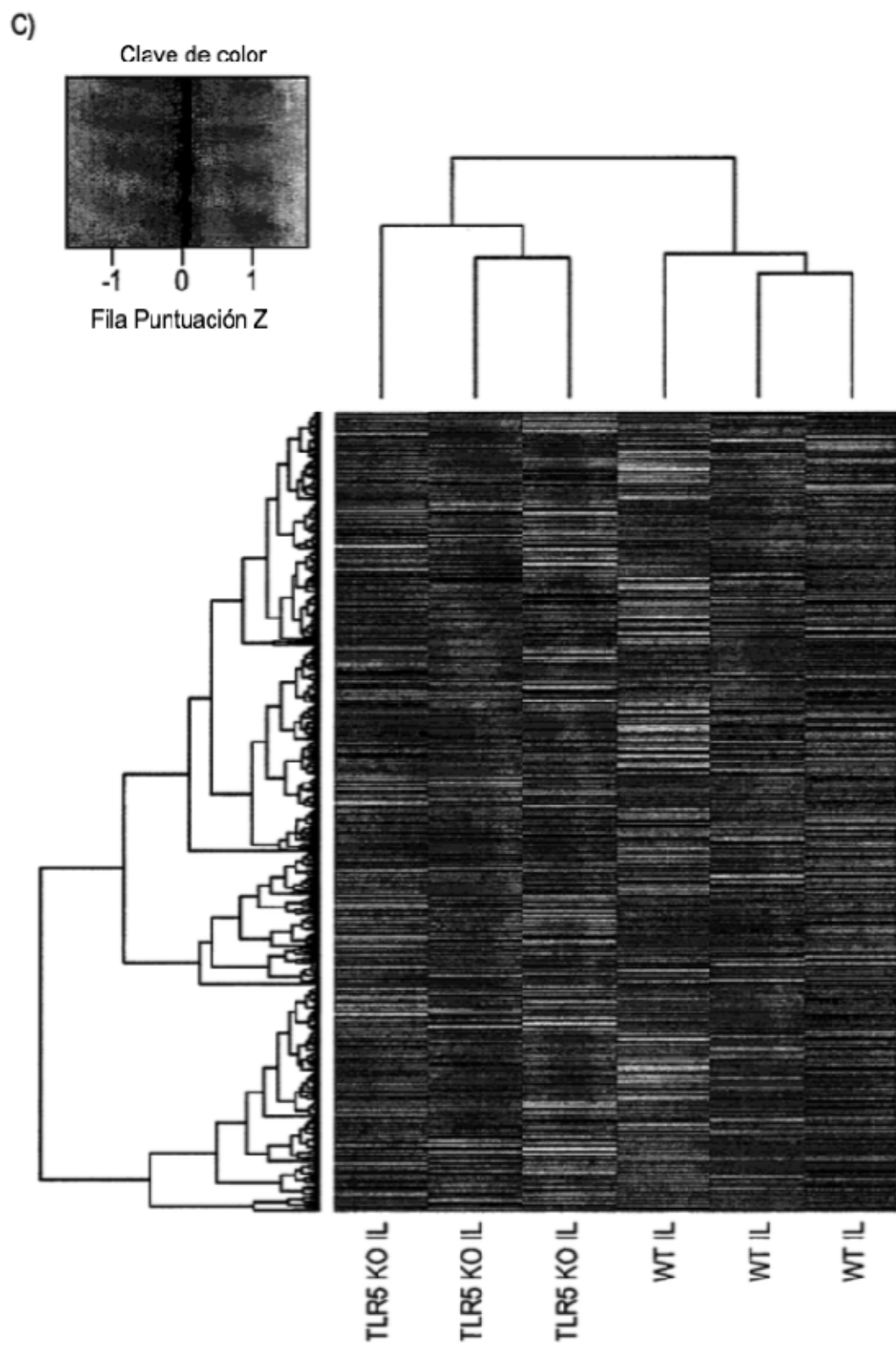


FIG. S4 Cont

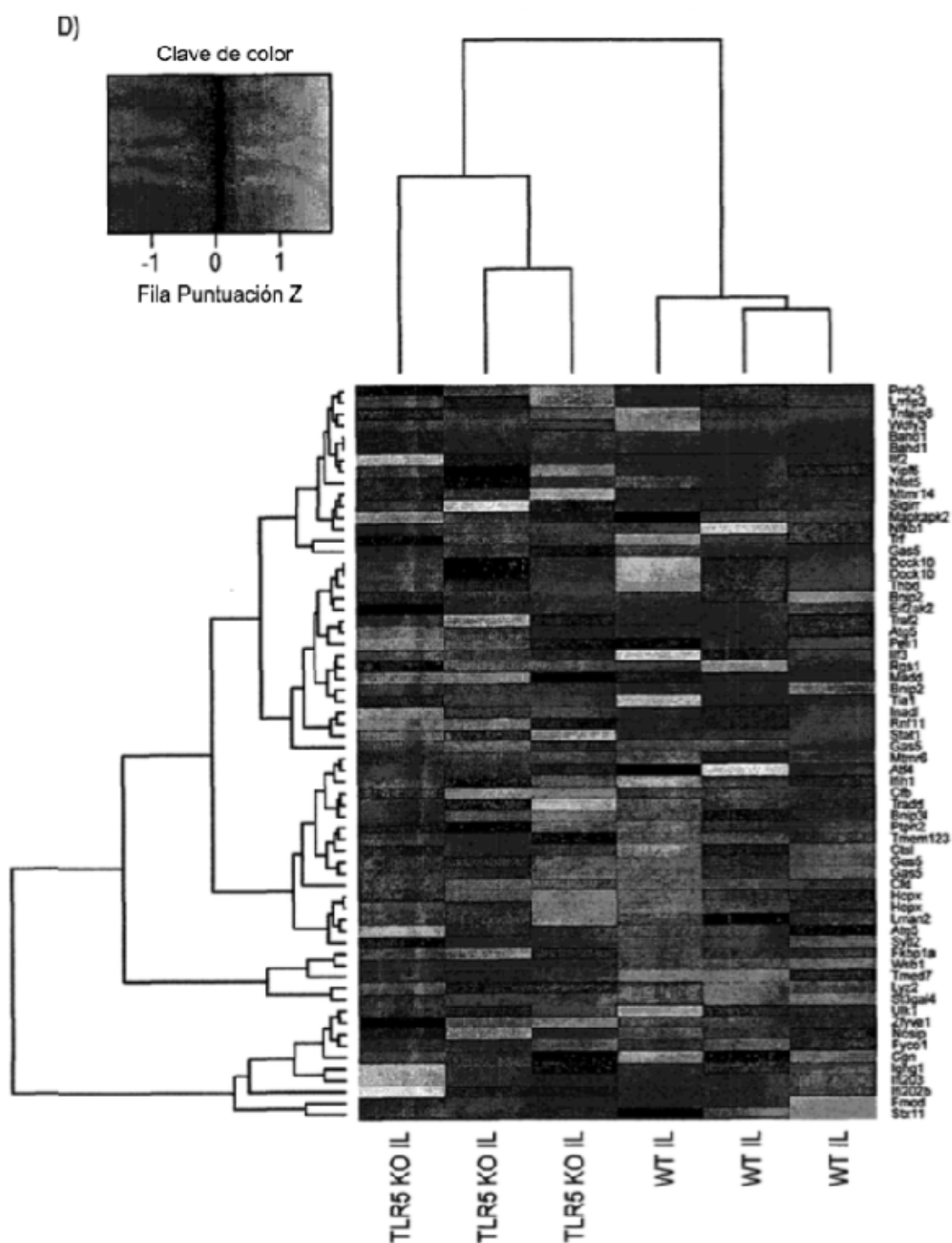


FIG. S4 Cont

FIG. S5	FIG. S5 Cont -1	FIG. S5 Cont -2	FIG. S5 Cont -3
FIG. S5 Cont -4	FIG. S5 Cont -5	FIG. S5 Cont -6	FIG. S5 Cont -7
FIG. S5 Cont -8	FIG. S5 Cont -9		

FIG. S5

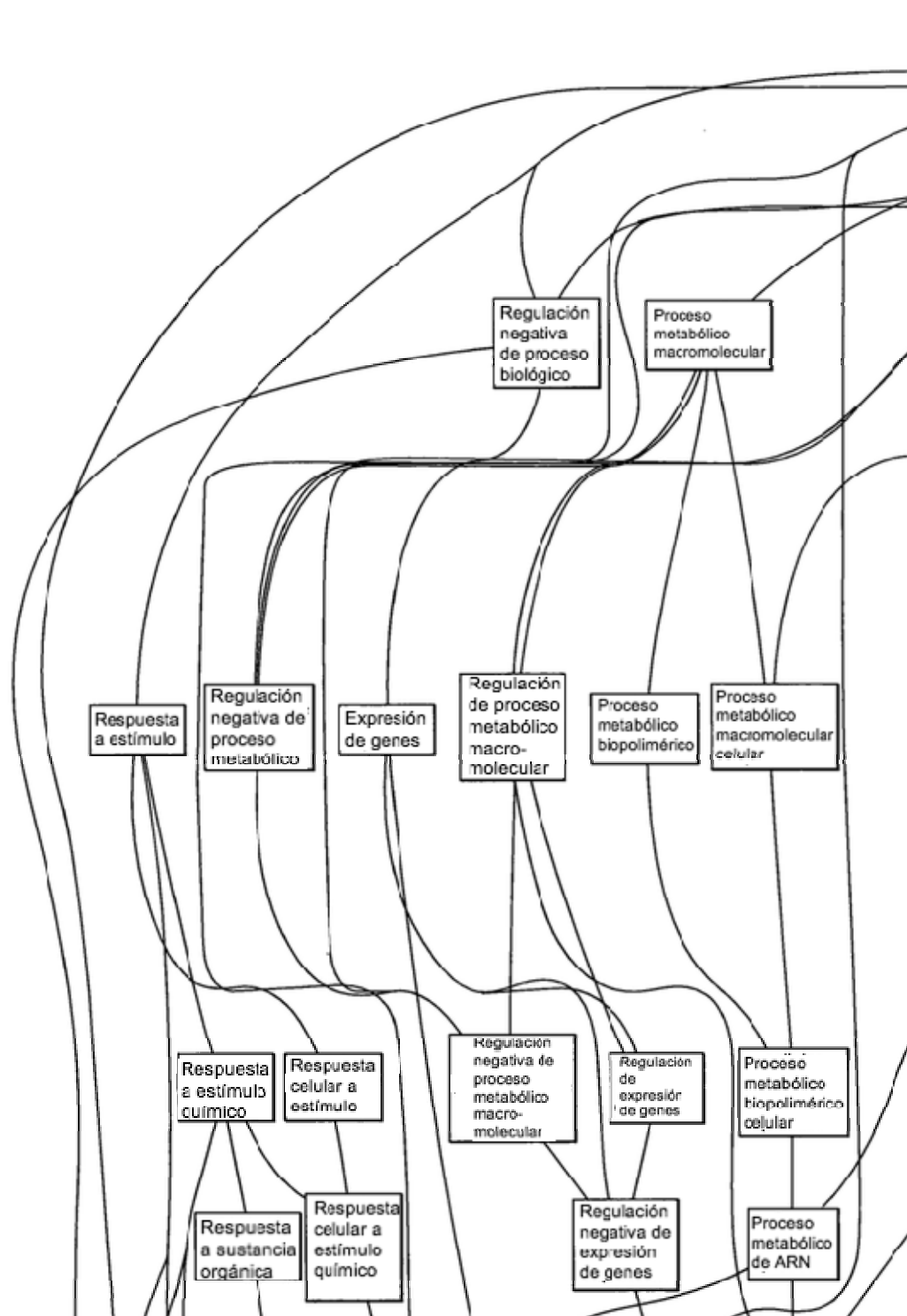


FIG. S5

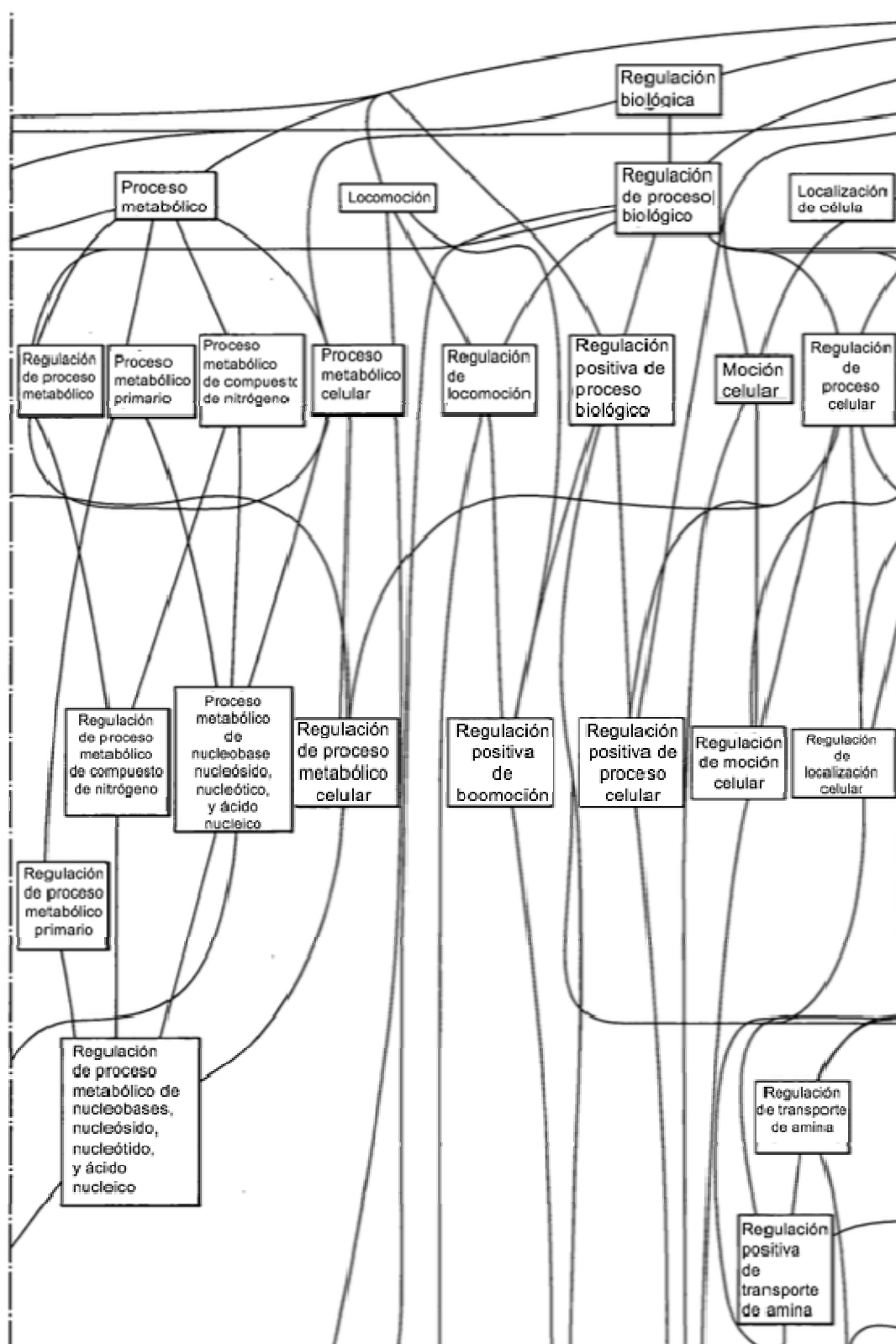


FIG. S5 Cont

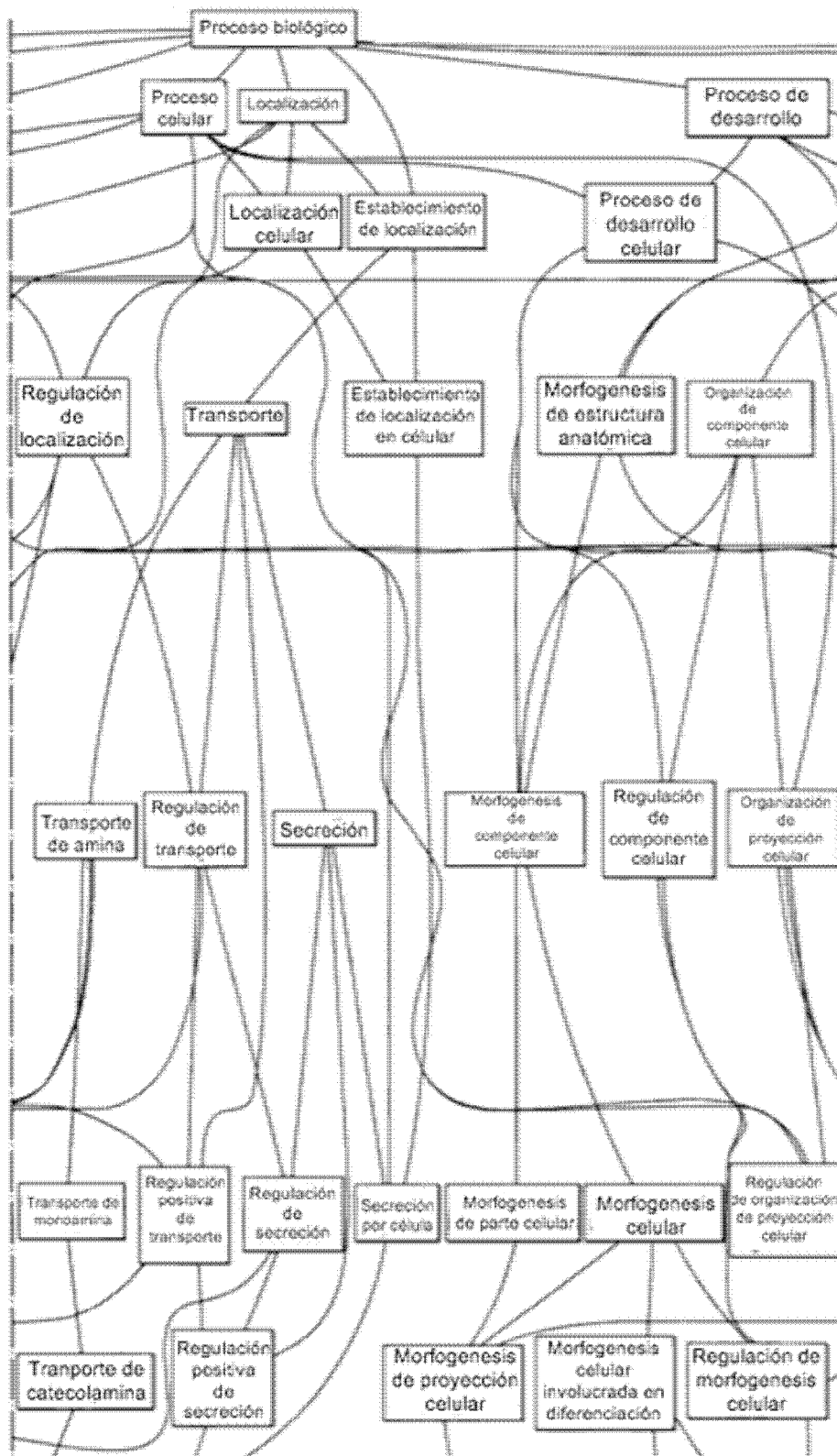


FIG. S5 Cont

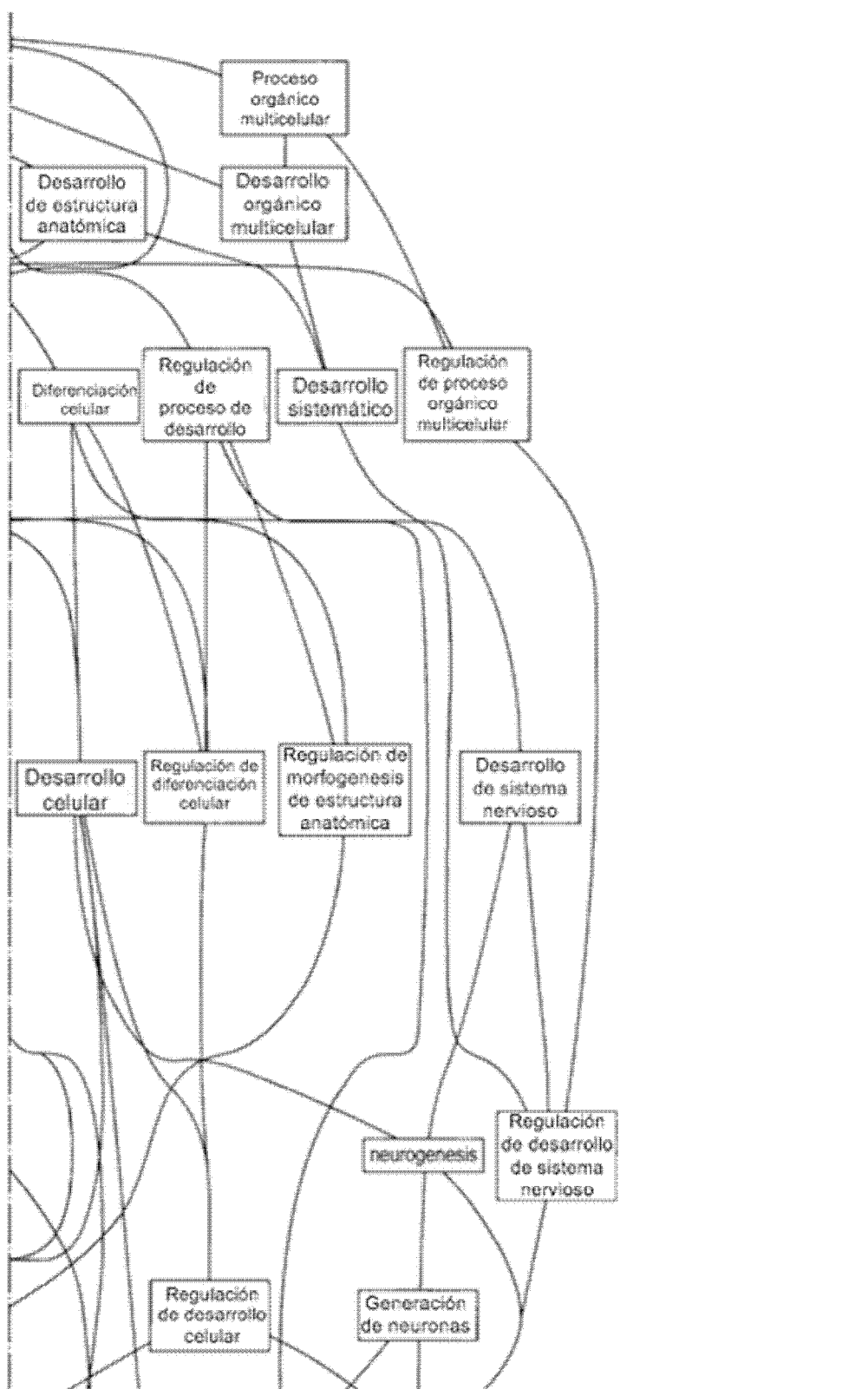


FIG. S5 Cont

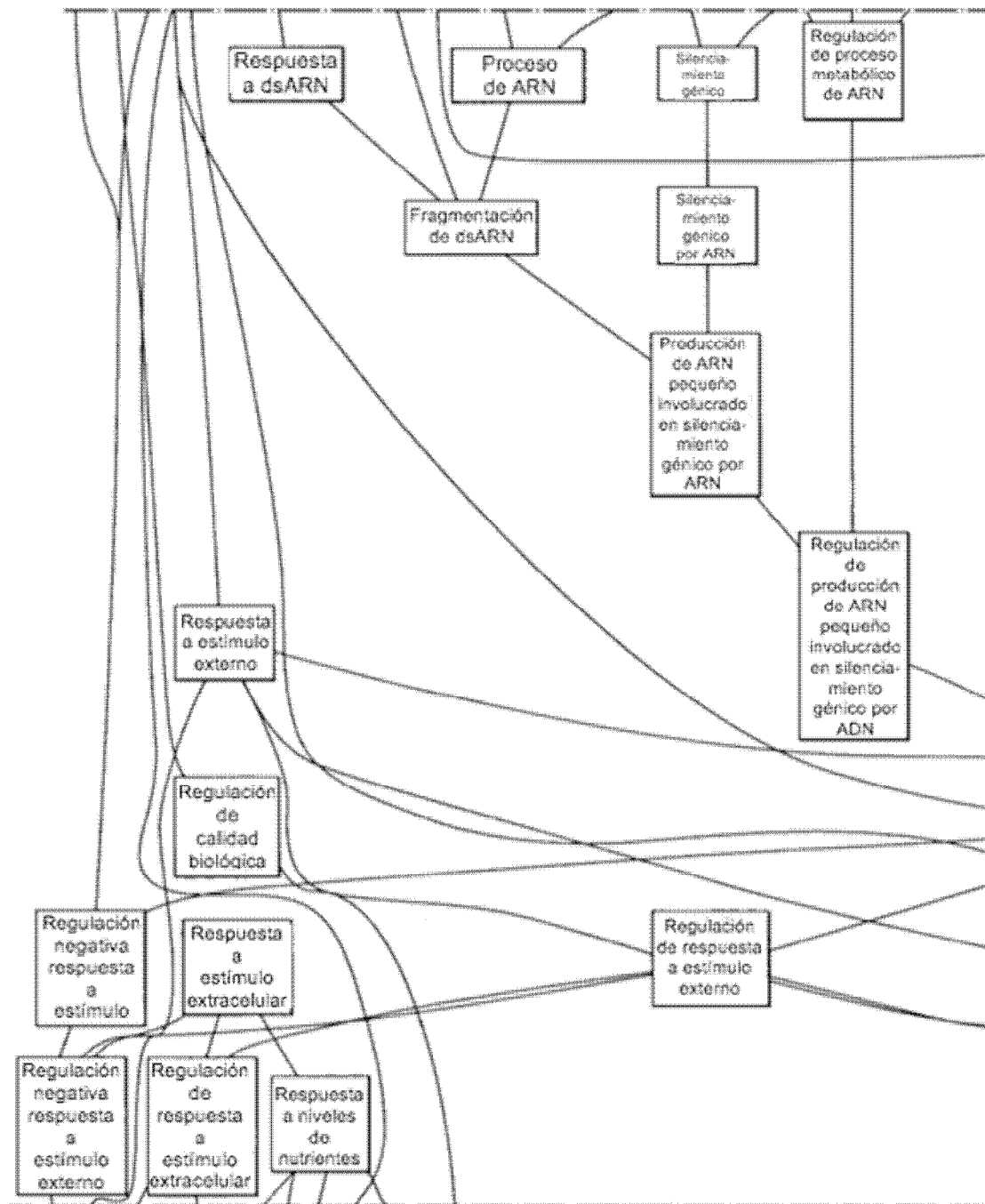


FIG. S5 Cont

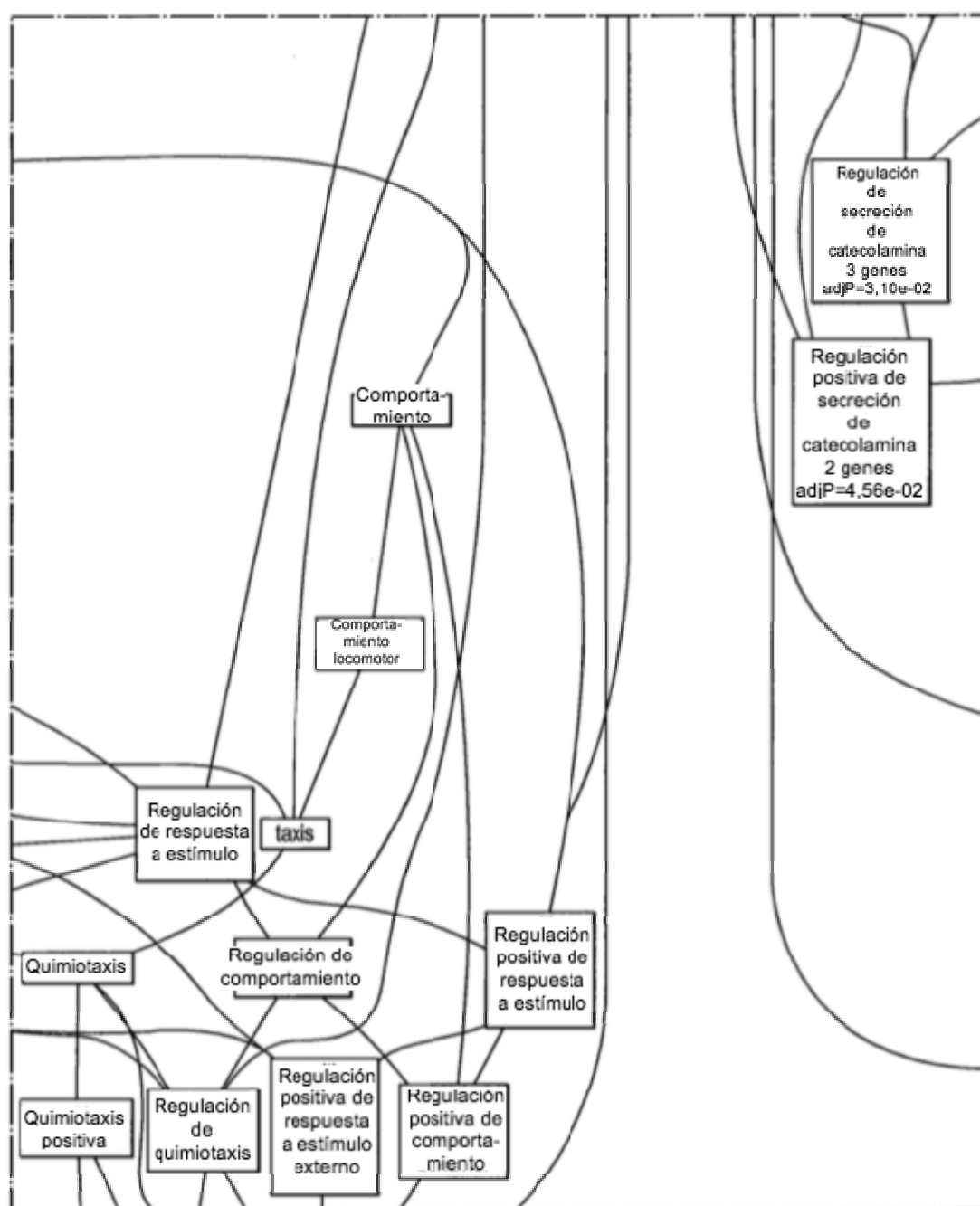


FIG. S5 Cont

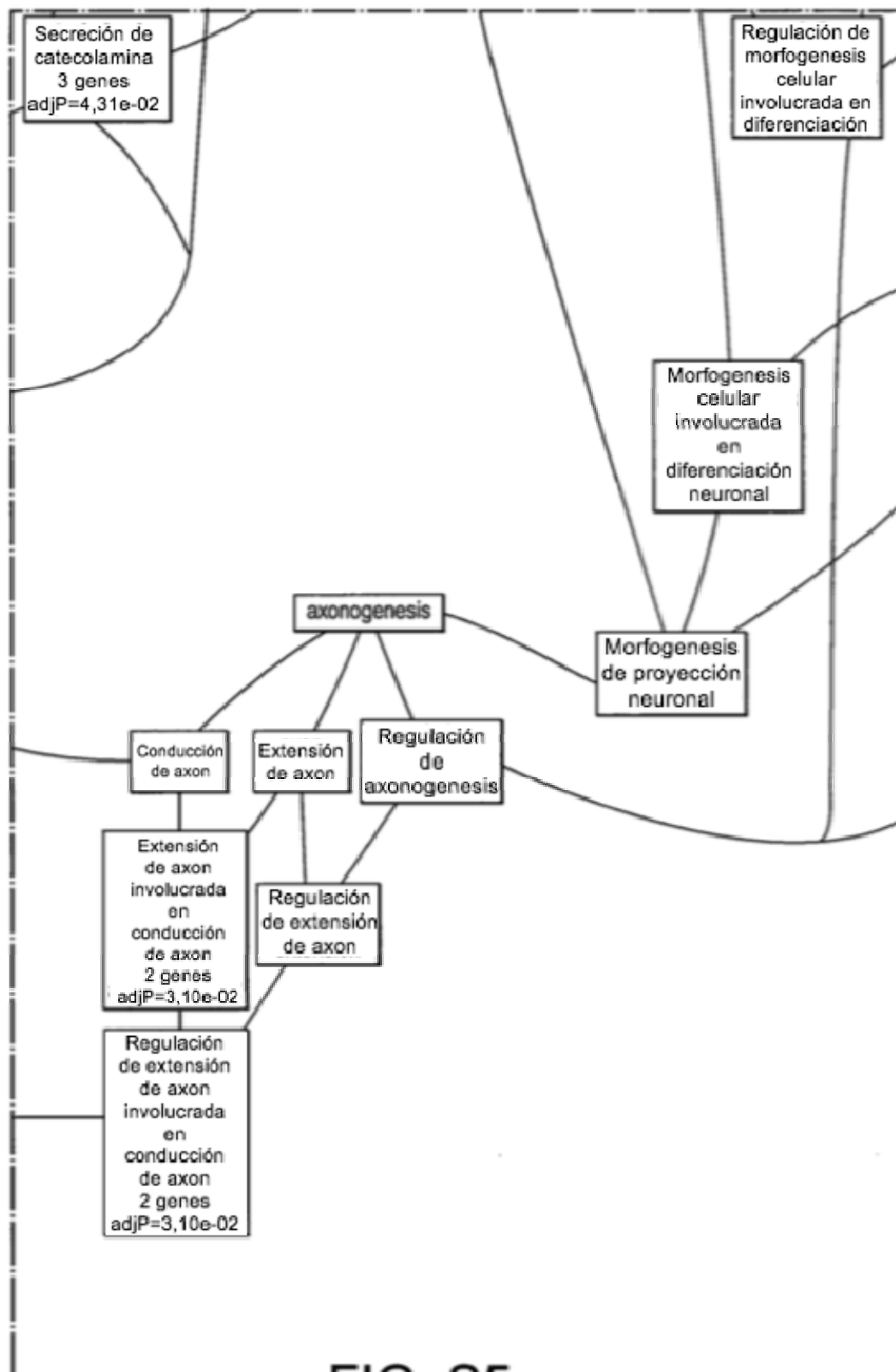


FIG. S5 Cont

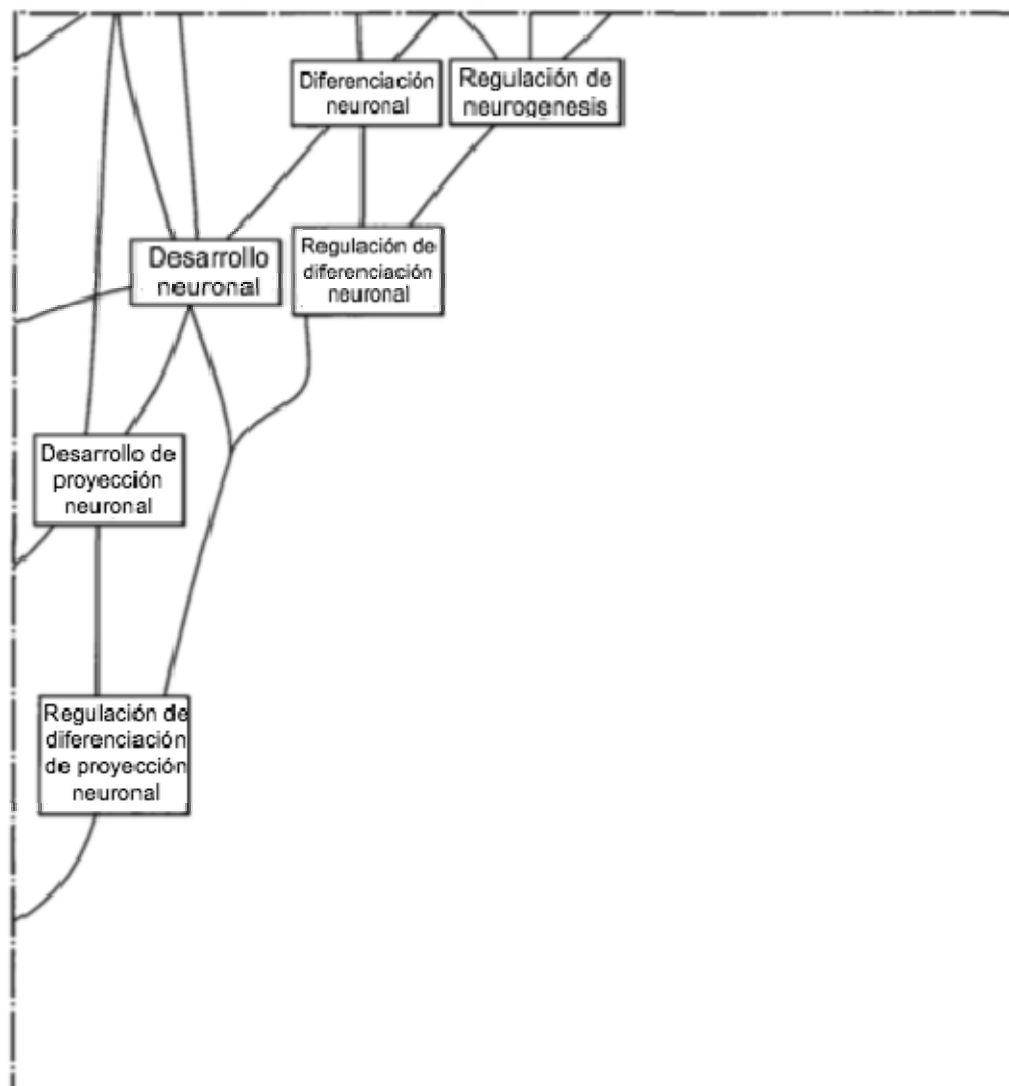


FIG. S5 Cont

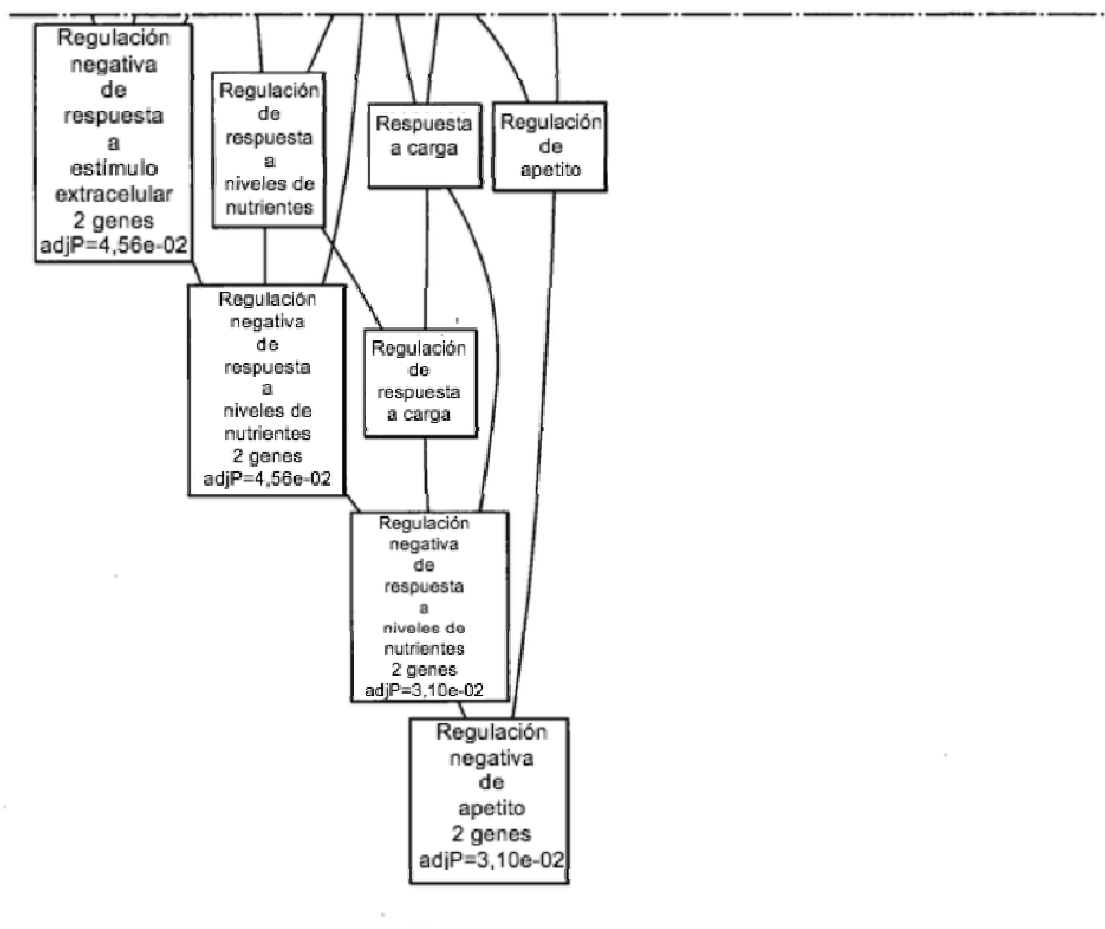


FIG. S5 Cont

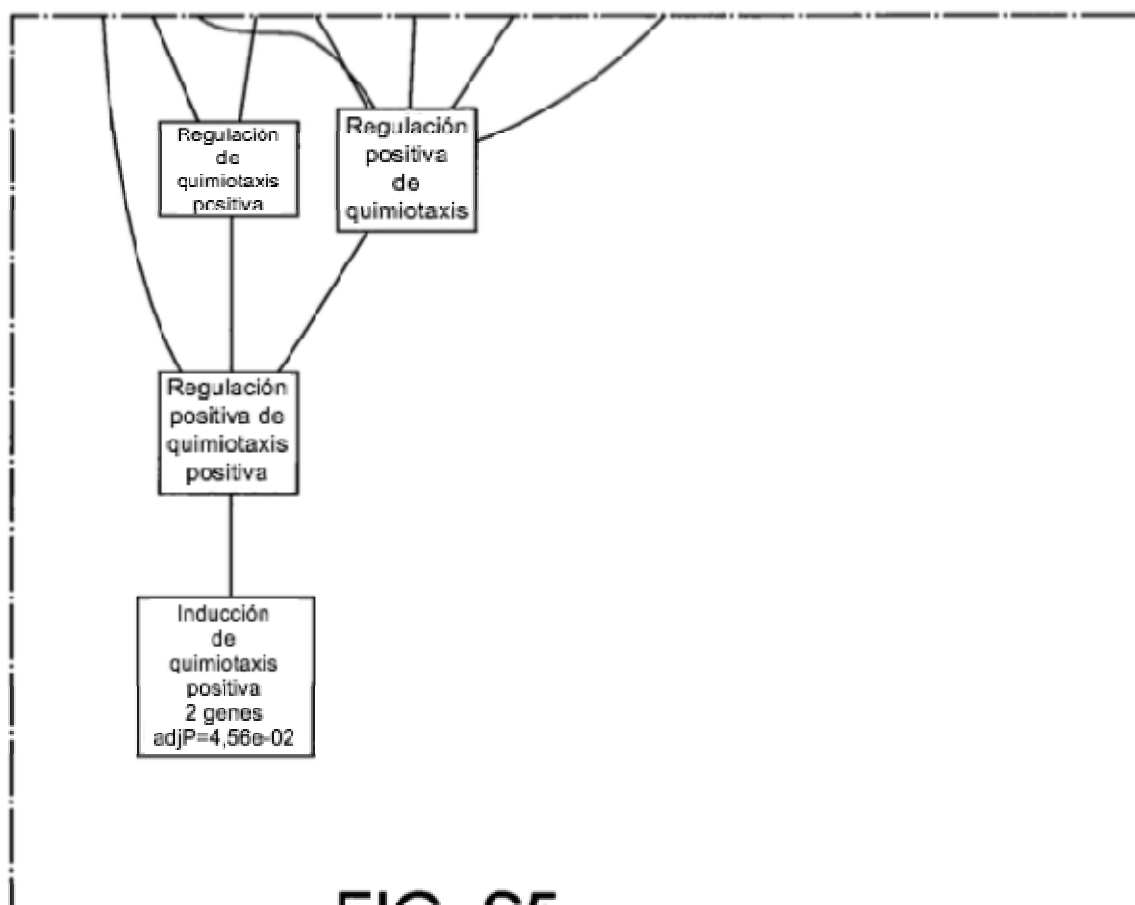


FIG. S5 Cont

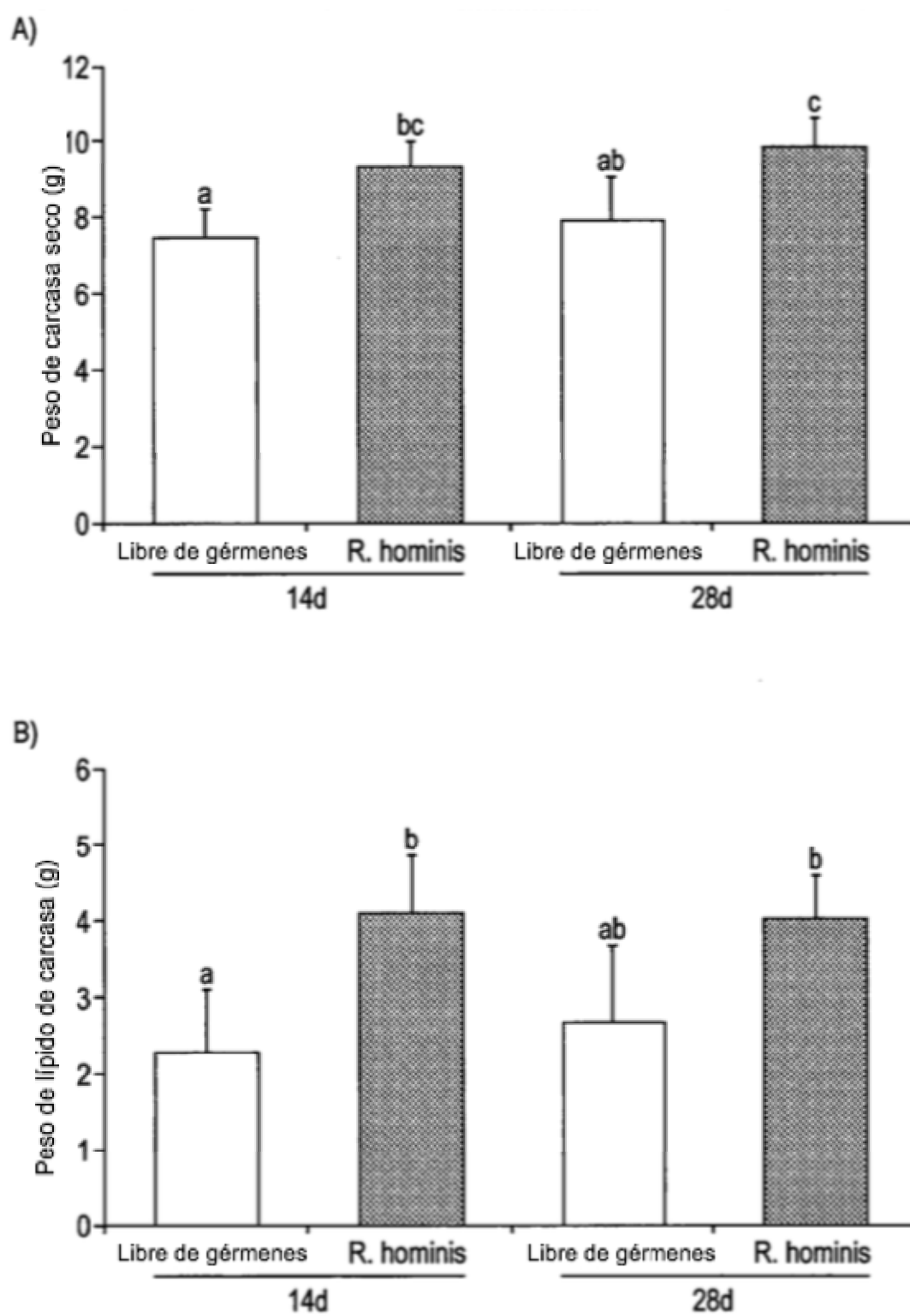


FIG. S6

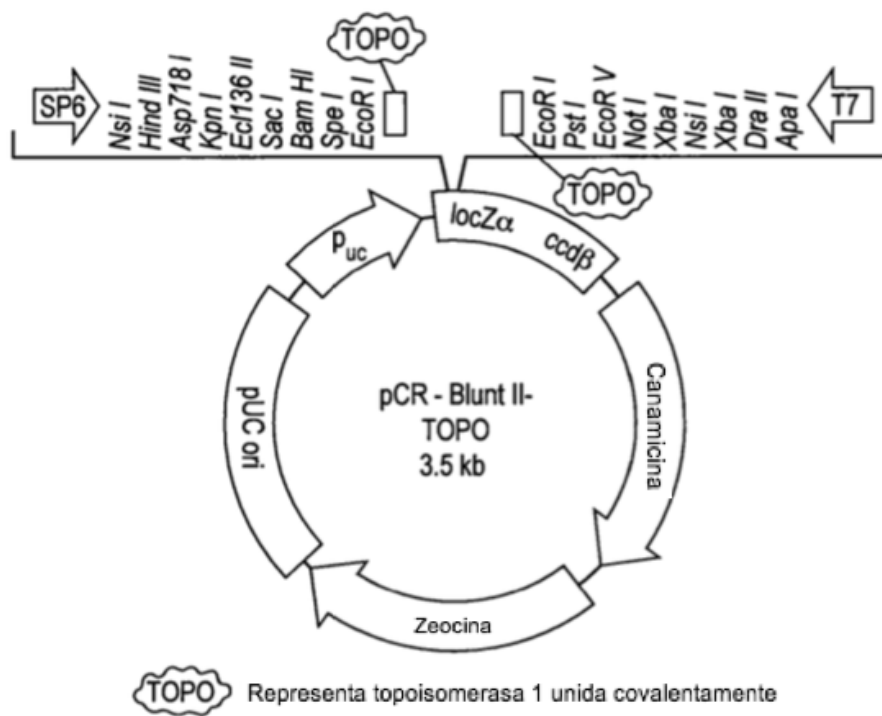


FIG. 1A

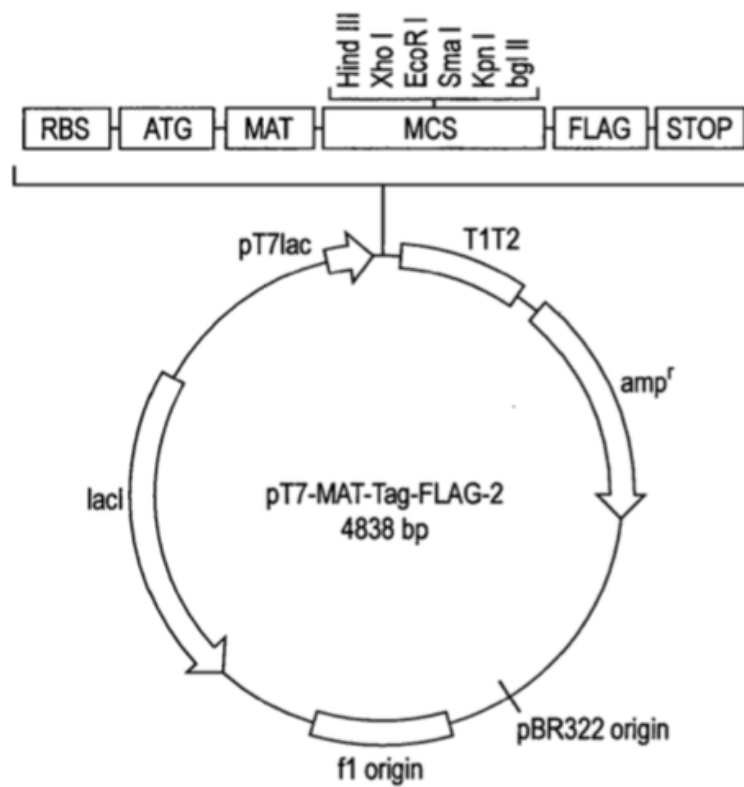


FIG. 2A

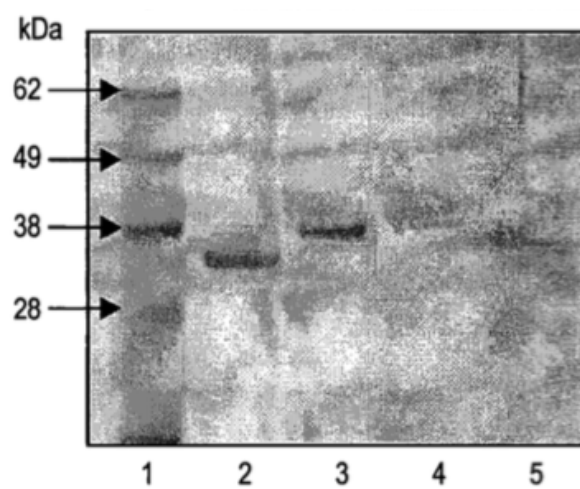


FIG. 3A

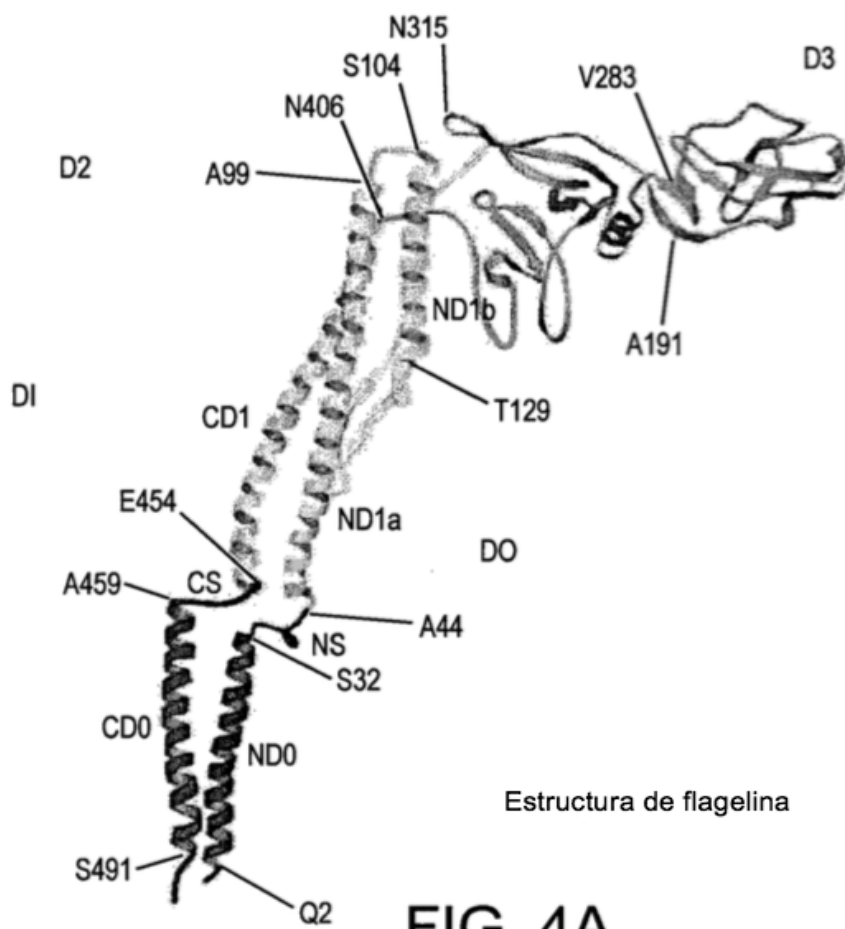


FIG. 4A

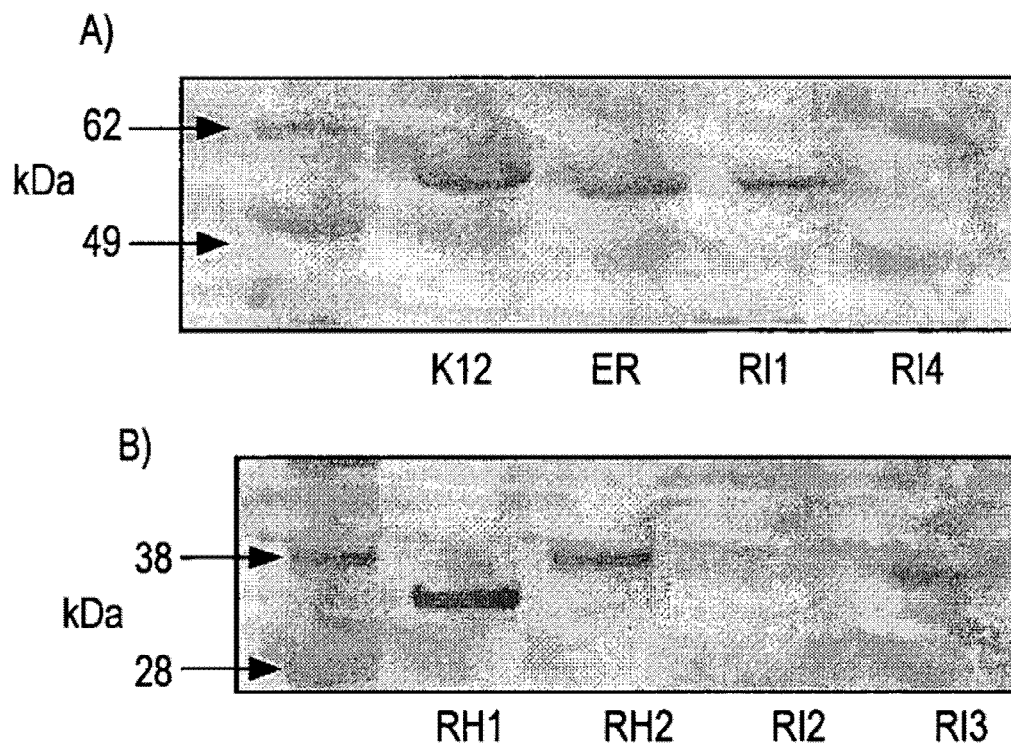


FIG. B1

CLUSTAL 2.1 Alineación de secuencia múltiple que confirma secuencia de nucleótido de flagelina y número de acceso.

RIFla1	ATGCGTGGCGGAGACAATAGAAGGAGAAACAGAATGAGAATTAATTACAATGTGTCAGCA 60
RIEEV02820	ATGCGTGGCGGAGACAATAGAAGGAGAAACAGAATGAGAATTAATTACAATGTGTCAGCA 60
RIFla1	GCGATTGCGAATAAACATTTACTTGGAATTGAGGATAATTTAAGTGCATCGATGGAACGG 120
RIEEV02820	GCGATTGCGAATAAACATTTACTTGGAATTGAGGATAATTTAAGTGCATCGATGGAACGG 120
RIFla1	CTTTCATCGGGACTTAAGATCAACCATTTCCAAGGACAATCCGGCAGGAATGGCTATTTCC 180
RIEEV02820	CTTTCATCGGGACTTAAGATCAACCATTTCCAAGGACAATCCGGCAGGAATGGCTATTTCC 180
RIFla1	AACAAGATGAAAGCACAGATTGATGGTTTAAACCGGGCTTCCAGAATGCATCGGATGGT 240
RIEEV02820	AACAAGATGAAAGCACAGATTGATGGTTTAAACCGGGCTTCCAGAATGCATCGGATGGT 240
RIFla1	ATTTCTGTTATTCAGATCGCAGATGGTGCGCTGAGTGAAACGACCAGTATTTTACAGCGT 300
RIEEV02820	ATTTCTGTTATTCAGATCGCAGATGGTGCGCTGAGTGAAACGACCAGTATTTTACAGCGT 300
RIFla1	ATGAGAGAACTTTCCGTGCAGGCAGCGAGTGATGCAACAATGACACCGGCGGATAAAGAA 360
RIEEV02820	ATGAGAGAACTTTCCGTGCAGGCAGCGAGTGATGCAACAATGACACCGGCGGATAAAGAA 360
RIFla1	GCAATCCAGAAAGAAATCACTTCATTAAGATGAAGTTGACCGTATTTCTACAGATACA 420
RIEEV02820	GCAATCCAGAAAGAAATCACTTCATTAAGATGAAGTTGACCGTATTTCTACAGATACA 420
RIFla1	GAGTATAACAGCAAAACACTTTTAGATGGTTCATTAGATACCAGGGTTTACACCAAAAAT 480
RIEEV02820	GAGTATAACAGCAAAACACTTTTAGATGGTTCATTAGATACCAGGGTTTACACCAAAAAT 480
RIFla1	GCAACAAGAGTGGACATTTCTGATCATGTGAAAGCAGGACAGTATCAGCTTTCCATTGAT 540
RIEEV02820	GCAACAAGAGTGGACATTTCTGATCATGTGAAAGCAGGACAGTATCAGCTTTCCATTGAT 540
RIFla1	ACTGCAGCTACACAGGCCGGACCGGTAACAGCAAATCAGAATTATAATTCACAGCACCG 600
RIEEV02820	ACTGCAGCTACACAGGCCGGACCGGTAACAGCAAATCAGAATTATAATTCACAGCACCG 600

FIG. C1

RIFla1	GTCGGTGCGTCCGGAACAATGAGTATTAATGGTTCTAAAGTAGAGATAGAGGCAGCCGAC 660
RIEEV02820	GTCGGTGCGTCCGGAACAATGAGTATTAATGGTTCTAAAGTAGAGATAGAGGCAGCCGAC 660
RIFla1	ACCTATGCGGAGGCTTTTGAGAAGATCAGAAATGCAGCAGAGACTGGTGAAACAACCGTT 720
RIEEV02820	ACCTATGCGGAGGCTTTTGAGAAGATCAGAAATGCAGCAGAGACTGGTGAAACAACCGTT 720
RIFla1	AAGATTGAAAAGAATGGAGCACTTTTCATTTACCGCAGAACAGTACGGAATGTCAAGCATC 780
RIEEV02820	AAGATTGAAAAGAATGGAGCACTTTTCATTTACCGCAGAACAGTACGGAATGTCAAGCATC 780
RIFla1	TTAGAGATCGCATTTGATGATAAGCAGCTTGCTAATGCACTTGGATTTACAGCAGACGGA 840
RIEEV02820	TTAGAGATCGCATTTGATGATAAGCAGCTTGCTAATGCACTTGGATTTACAGCAGACGGA 840
RIFla1	GGAAACAGTGTTGTAGAAGATCCAGAGAATAAAGGCAGCTATGTATACGGACAGATTCAG 900
RIEEV02820	GGAAACAGTGTTGTAGAAGATCCAGAGAATAAAGGCAGCTATGTATACGGACAGATTCAG 900
RIFla1	AATGGCAAAGTGATCGTACCTTCCGGTACAGATGCCGAAGTAACGCTCACAAAACCGAGT 960
RIEEV02820	AATGGCAAAGTGATCGTACCTTCCGGTACAGATGCCGAAGTAACGCTCACAAAACCGAGT 960
RIFla1	GATGGAACCGGATTTGGTGATACAGCTACGGTAAAAACAGATGGAAATAAGATTACGGTT 1020
RIEEV02820	GATGGAACCGGATTTGGTGATACAGCTACGGTAAAAACAGATGGAAATAAGATTACGGTT 1020
RIFla1	ACAGACAGAGCCGGATTTGAGATGTCATTTCTTGCTGATGCAGGTTATACGGGTAAGCTG 1080
RIEEV02820	ACAGACAGAGCCGGATTTGAGATGTCATTTCTTGCTGATGCAGGTTATACGGGTAAGCTG 1080
RIFla1	GATTTTGATGTCACGGATATCGGAACGATGGCACTTCATATTGGAGCAAATGAGGATCAG 1140
RIEEV02820	GATTTTGATGTCACGGATATCGGAACGATGGCACTTCATATTGGAGCAAATGAGGATCAG 1140
RIFla1	GAAACAAGAGTGCGTATTCCGGAGGTTTCTGCAAGAGCCTTTACATTGATGATGCAGAC 1200
RIEEV02820	GAAACAAGAGTGCGTATTCCGGAGGTTTCTGCAAGAGCCTTTACATTGATGATGCAGAC 1200
RIFla1	GTGACGACTGTAAATGGAGCAGGCAGAGGTATCACACAGTTTGACGATGCCATTTCAAAG 1260
RIEEV02820	GTGACGACTGTAAATGGAGCAGGCAGAGGTATCACACAGTTTGACGATGCCATTTCAAAG 1260
RIFla1	GTCAGTGAAGTGCGTTCAAGACTTGGTGCATACCAGAATCGTCTTGAGAGTACGGTATCA 1320
RIEEV02820	GTCAGTGAAGTGCGTTCAAGACTTGGTGCATACCAGAATCGTCTTGAGAGTACGGTATCA 1320
RIFla1	AGCCTGGATACGTTTGAAGAAAATATGACAGGAGCCCAGTCACGACTGACAGATGCGGAT 1380
RIEEV02820	AGCCTGGATACGTTTGAAGAAAATATGACAGGAGCCCAGTCACGACTGACAGATGCGGAT 1380
RIFla1	ATGGCATCGGAAATGACAGATTATACACATCAGAATGTATTAAATCAGGCAGCAATCTCT 1440
RIEEV02820	ATGGCATCGGAAATGACAGATTATACACATCAGAATGTATTAAATCAGGCAGCAATCTCT 1440
RIFla1	GTTTTGACACAGGCAAACGATCTGCCACAGCAGGTATTGCAGATTCTGCAGTAA 1494
RIEEV02820	GTTTTGACACAGGCAAACGATCTGCCACAGCAGGTATTGCAGATTCTGCAGTAA 1494

FIG. C1 Cont

CLUSTAL 2.1 Alineación de secuencia múltiple

RIFla2	ATGGTAGTTAATCATAATATGGCATTGATCTGTGAGAGTAGACAGTTACGATGTAATGTG 60
RIEEV02466	ATGGTAGTTAATCATAATATGGCATTGATCTGTGAGAGTAGACAGTTACGATGTAATGTG 60
RIFla2	AAGAACATGGAGAAGTCTTCAAAAAAGCTGGCAACAGGTTATAAATTGCTTGGAGCAAAT 120
RIEEV02466	AAGAACATGGAGAAGTCTTCAAAAAAGCTGGCAACAGGTTATAAATTGCTTGGAGCAAAT 120
RIFla2	GATGATGCAGCAGGATTACAGATATCAGAAACCATGCGTCATCAGACCAGAGGTCTTAAC 180
RIEEV02466	GATGATGCAGCAGGATTACAGATATCAGAAACCATGCGTCATCAGACCAGAGGTCTTAAC 180
RIFla2	AAAGCATCCAGAAATTCGCAAGATGGAATTAGTATGCTGCAGACAGCAGATGCAGCATT 240
RIEEV02466	AAAGCATCCAGAAATTCGCAAGATGGAATTAGTATGCTGCAGACAGCAGATGCAGCATT 240
RIFla2	CAGGAGACACAGGAAGTGTGGATCGAATGACGGATCTGACAACACAGGCAGCTAATGAT 300
RIEEV02466	CAGGAGACACAGGAAGTGTGGATCGAATGACGGATCTGACAACACAGGCAGCTAATGAT 300
RIFla2	ATCAATACGGATGCGGATCGTCGTGCAATTCAGGATGAAATCGATCAGTTAAATCAGGAA 360
RIEEV02466	ATCAATACGGATGCGGATCGTCGTGCAATTCAGGATGAAATCGATCAGTTAAATCAGGAA 360
RIFla2	GTGGATCGTATTGCATATACGACGAATTTAATCAGCAGTATATATTAGCGGATGGAAC 420
RIEEV02466	GTGGATCGTATTGCATATACGACGAATTTAATCAGCAGTATATATTAGCGGATGGAAC 420
RIFla2	CCGCAGGCAAGACCAGGATACTATATGATACAGACAGGAAGTCTTGCGGGACAGGGAATA 480
RIEEV02466	CCGCAGGCAAGACCAGGATACTATATGATACAGACAGGAAGTCTTGCGGGACAGGGAATA 480
RIFla2	GAGATTAAGTTTGTAAATGCGAGCAAAGAGAGCTTGGGTGTGGACAAGGTTGATGTATCA 540
RIEEV02466	GAGATTAAGTTTGTAAATGCGAGCAAAGAGAGCTTGGGTGTGGACAAGGTTGATGTATCA 540
RIFla2	TCGCATGCAAAAGCGACAGAATCTATAGCAGTGGTACAGAATGCAATTGAAAAGGCAGCT 600
RIEEV02466	TCGCATGCAAAAGCGACAGAATCTATAGCAGTGGTACAGAATGCAATTGAAAAGGCAGCT 600
RIFla2	TCGTTTAGAGATACATTTGGGGCACAACAGGAGCGGTTAGAACACGCATTGCGTGGAACG 660
RIEEV02466	TCGTTTAGAGATACATTTGGGGCACAACAGGAGCGGTTAGAACACGCATTGCGTGGAACG 660
RIFla2	GATAATACATCAGAAAGTACACAGAGGGCAGAATCAAGTAGACGCGATACCAACATGAAT 720
RIEEV02466	GATAATACATCAGAAAGTACACAGAGGGCAGAATCAAGTAGACGCGATACCAACATGAAT 720
RIFla2	ATGGAGATGGTACAATATTCTACAAACCGTATTTTAGTACAGGCATCTCAGAGTATTTTA 780
RIEEV02466	ATGGAGATGGTACAATATTCTACAAACCGTATTTTAGTACAGGCATCTCAGAGTATTTTA 780
RIFla2	GCACAGTACAATGATGATGCAAAATATGTGTTGGAAATGTTAAAATAG 828
RIEEV02466	GCACAGTACAATGATGATGCAAAATATGTGTTGGAAATGTTAAAATAG 828

FIG. C2

CLUSTAL 2.1 Alineación de secuencia múltiple

RIFla3	ATGGTAGTACAGCACAATATGACCGCAATGAATGCGAACAGAATGTTAGGCGTTACAACA 60
RIEEV00779	ATGGTAGTACAGCACAATATGACCGCAATGAATGCGAACAGAATGTTAGGCGTTACAACA 60
RIFla3	AGCGCACAGGCAAAATCTTCAGAGAAATTATCTTCTGGTTACAGAATCAACCGTGCAGGT 120
RIEEV00779	AGCGCACAGGCAAAATCTTCAGAGAAATTATCTTCTGGTTACAGAATCAACCGTGCAGGT 120
RIFla3	GATGACGCTGCTGGTTTAAACAATTTCTGAGAAGATGAGAAGCCAGATCCGTGGATTAAAC 180
RIEEV00779	GATGACGCTGCTGGTTTAAACAATTTCTGAGAAGATGAGAAGCCAGATCCGTGGATTAAAC 180
RIFla3	AAAGCTTCTGACAACGCACAGGATGGTATTTCTTAATCCAGGTTGCTGAGGGTGCATTA 240
RIEEV00779	AAAGCTTCTGACAACGCACAGGATGGTATTTCTTAATCCAGGTTGCTGAGGGTGCATTA 240
RIFla3	TCTGAGACACATTCTATCTTACAGCGTATGAATGAGTTAGCTACTCAGGCTGCTAACGAT 300
RIEEV00779	TCTGAGACACATTCTATCTTACAGCGTATGAATGAGTTAGCTACTCAGGCTGCTAACGAT 300
RIFla3	ACCAATACAACCTGCTGATAGAGGAGCTATTCCAGGATGAGATCAACCAGTTAACATCTGAG 360
RIEEV00779	ACCAATACAACCTGCTGATAGAGGAGCTATTCCAGGATGAGATCAACCAGTTAACATCTGAG 360
RIFla3	ATTAACAGAATCTCTTCTACAACCTCAGTTCAATACTCAGAACCTCATCGATGGTACATTC 420
RIEEV00779	ATTAACAGAATCTCTTCTACAACCTCAGTTCAATACTCAGAACCTCATCGATGGTACATTC 420
RIFla3	GCAAATAAAAAACCTTCAGGTTGGTTCTATCTGTGGACAGAGAATTACTGTTTCTATCGAC 480
RIEEV00779	GCAAATAAAAAACCTTCAGGTTGGTTCTATCTGTGGACAGAGAATTACTGTTTCTATCGAC 480
RIFla3	AGTATGTCTGCTGGTAGCTTAAATGTATCTGCTAACTTAGTAAAGGTTAACTTTTCAGT 540
RIEEV00779	AGTATGTCTGCTGGTAGCTTAAATGTATCTGCTAACTTAGTAAAGGTTAACTTTTCAGT 540
RIFla3	GCAGCAGGTGAAGCAATGTCCAATATTCAGGGTGCTATTTCTGCAATTTCTACACAGCGT 600
RIEEV00779	GCAGCAGGTGAAGCAATGTCCAATATTCAGGGTGCTATTTCTGCAATTTCTACACAGCGT 600
RIFla3	TCTTACTTAGGAGCTCTTCAGAATCGTCTGGAGCATACAATCTCCAACCTGGACAACATT 660
RIEEV00779	TCTTACTTAGGAGCTCTTCAGAATCGTCTGGAGCATACAATCTCCAACCTGGACAACATT 660
RIFla3	TCTGAGAATACTCAGTCTGCTGAATCTCGTATCCGTGATACAGATATGGCTGAAGAGATG 720
RIEEV00779	TCTGAGAATACTCAGTCTGCTGAATCTCGTATCCGTGATACAGATATGGCTGAAGAGATG 720
RIFla3	GTTACTTACAGCAAGAACAATATTCTTGCTCAGGCAGGACAGTCTATGCTTGCTCAGGCT 780
RIEEV00779	GTTACTTACAGCAAGAACAATATTCTTGCTCAGGCAGGACAGTCTATGCTTGCTCAGGCT 780
RIFla3	AACCAGTCTACTCAGGGTGTACTTTCTCTGTTACAGTAA 819
RIEEV00779	AACCAGTCTACTCAGGGTGTACTTTCTCTGTTACAGTAA 819

FIG. C3

CLUSTAL 2.1 Alineación de secuencia múltiple

RIFla4	ATGGCAATGGTAGTACAGCACAAACATGTCCGCAATGAATGCGAACAGAAATTTAGGTGTT 60
RIEEU99488	ATGGCAATGGTAGTACAGCACAAACATGTCCGCAATGAATGCGAACAGAAATTTAGGTGTT 60
RIFla4	ACAACAGGAATGCAGGCAAAATCATCAGAGAAGTTATCTTCCGGTTACAAGATCAACCGT 120
RIEEU99488	ACAACAGGAATGCAGGCAAAATCATCAGAGAAGTTATCTTCCGGTTACAAGATCAACCGT 120
RIFla4	GCAGCAGATGATGCAGCAGGACTTTCTATTTCTGAGAAGATGAGAAGCCAGATCCGCGGT 180
RIEEU99488	GCAGCAGATGATGCAGCAGGACTTTCTATTTCTGAGAAGATGAGAAGCCAGATCCGCGGT 180
RIFla4	TTAAATAAAGCATCTGACAATGCACAGGATGGTATCTCTTTAATCCAGACCGCTGAGGGA 240
RIEEU99488	TTAAATAAAGCATCTGACAATGCACAGGATGGTATCTCTTTAATCCAGACCGCTGAGGGA 240
RIFla4	GCATTAAATGAGTCCCACTCTATTTTACAGAGAATGAGAGAGTTATCCGTACAGGCAGCC 300
RIEEU99488	GCATTAAATGAGTCCCACTCTATTTTACAGAGAATGAGAGAGTTATCCGTACAGGCAGCC 300
RIFla4	AACGGTACAGAGACAGATGACGACCGCGAGGCAGTACAGAACGAGGTTTCCAGTTACAG 360
RIEEU99488	AACGGTACAGAGACAGATGACGACCGCGAGGCAGTACAGAACGAGGTTTCCAGTTACAG 360
RIFla4	GAAGAGCTGACAAGAATTTCTGAGACAACAGAGTTCAACACGATGAAGCTGCTGGATGGT 420
RIEEU99488	GAAGAGCTGACAAGAATTTCTGAGACAACAGAGTTCAACACGATGAAGCTGCTGGATGGT 420
RIFla4	TCTCAGAGTGGAAGTACATCTTCAACCGGGTCAGGTCCGAAGTTTGGTGTTGTAGATGCA 480
RIEEU99488	TCTCAGAGTGGAAGTACATCTTCAACCGGGTCAGGTCCGAAGTTTGGTGTTGTAGATGCA 480
RIFla4	ACATTAGACGGTGCACTTGTAAACATCTAACGTGAAAGGTATTAAGTAGCAACAGCAGCT 540
RIEEU99488	ACATTAGACGGTGCACTTGTAAACATCTAACGTGAAAGGTATTAAGTAGCAACAGCAGCT 540
RIFla4	GCCACAACAACAAAGGCAGGTGAGGAGACTGCTATCTGGGCTGCTGATGGAAAGACATTA 600
RIEEU99488	GCCACAACAACAAAGGCAGGTGAGGAGACTGCTATCTGGGCTGCTGATGGAAAGACATTA 600
RIFla4	ACTTTAAATCTTTCGAAAAATAAGGTATATACACAGGACGAAATTGATGACTTGATCGCA 660
RIEEU99488	ACTTTAAATCTTTCGAAAAATAAGGTATATACACAGGACGAAATTGATGACTTGATCGCA 660
RIFla4	AATGCAAAACAGGAAGACAGTTCTGCAACGGGTGCACCGGCTGAAGTGAAAGTATCTTTA 720
RIEEU99488	AATGCAAAACAGGAAGACAGTTCTGCAACGGGTGCACCGGCTGAAGTGAAAGTATCTTTA 720
RIFla4	AAGAATGGTATTTTAAATGCAGATGCAGACACAACCTGCCGGAAGTGAACAGCCGGTGGT 780
RIEEU99488	AAGAATGGTATTTTAAATGCAGATGCAGACACAACCTGCCGGAAGTGAACAGCCGGTGGT 780

FIG. C4

RIFla4	GTGAAGGCAGTATCTGATGAAGGAACAGTAACTGGATTTGTTGGTGCAGATACAATTTCA 840
RIEEU99488	GTGAAGGCAGTATCTGATGAAGGAACAGTAACTGGATTTGTTGGTGCAGATACAATTTCA 840
RIFla4	TTTACGGCAAATAAGTATGGAGCAGAGTTCAATGATACTGTATTTAAATTCAAATTTGAT 900
RIEEU99488	TTTACGGCAAATAAGTATGGAGCAGAGTTCAATGATACTGTATTTAAATTCAAATTTGAT 900
RIFla4	AAGGCAGCAGGCAAAGAAGAAGTAGAGACAAATACAGCAATTGAAATTGATGGAGCAAAT 960
RIEEU99488	AAGGCAGCAGGCAAAGAAGAAGTAGAGACAAATACAGCAATTGAAATTGATGGAGCAAAT 960
RIFla4	GCGGTAACAGCAGGTGAATATACAATTCATCTTGAGCAGGCAAAGAATATACGGCAGAA 1020
RIEEU99488	GCGGTAACAGCAGGTGAATATACAATTCATCTTGAGCAGGCAAAGAATATACGGCAGAA 1020
RIFla4	GATTTAGAAGATGTTCTTAAACGGCAGGATTCGACTTTGATGTTAAATTAAGTGGAAAT 1080
RIEEU99488	GATTTAGAAGATGTTCTTAAACGGCAGGATTCGACTTTGATGTTAAATTAAGTGGAAAT 1080
RIFla4	ACACCAGATGAGCCAAATACTTTATTTGCAACCAGTGGCGCATCAACTGTGACTGATATT 1140
RIEEU99488	ACACCAGATGAGCCAAATACTTTATTTGCAACCAGTGGCGCATCAACTGTGACTGATATT 1140
RIFla4	ACAATGGGTGCTGGCACC GCCGAGCTGGTCTTGGAAGTACAGATGCTATGTGGGGGCAA 1200
RIEEU99488	ACAATGGGTGCTGGCACC GCCGAGCTGGTCTTGGAAGTACAGATGCTATGTGGGGGCAA 1200
RIFla4	GCTGGTTATGACAGT-TATCTTCTGGTCTGGCATTACCTTGACAGATTGGTGCAAATGAA 1259
RIEEU99488	GCTGGTTATGACAGTGTATCTTCTGGTCTGGCATTACCTTGACAGATTGGTGCAAATGAA 1260
RIFla4	GGTCAGACCATGAGTTTCTCTATCGATGACATGAGTGCAAGAGCACTTGGCGTAGATGGC 1319
RIEEU99488	GGTCAGACCATGAGTTTCTCTATCGATGACATGAGTGCAAGAGCACTTGGCGTAGATGGC 1320
RIFla4	AACAAAGTTGATTTAAGCACACAGGCTGGCGCACAGAAAGCAACTGATACCATTGATGCA 1379
RIEEU99488	AACAAAGTTGATTTAAGCACACAGGCTGGCGCACAGAAAGCAACTGATACCATTGATGCA 1380
RIFla4	GCAATCAAGAAAGTATCTGCACAGCGTGGTAGAATGGGTGCGATCCAGAACCGTCTGGAG 1439
RIEEU99488	GCAATCAAGAAAGTATCTGCACAGCGTGGTAGAATGGGTGCGATCCAGAACCGTCTGGAG 1440
RIFla4	CACACCATCAGCAACCTTGATACAGCAGCAGAGAATACCCAGACTGCAGAGTCCCGTATC 1499
RIEEU99488	CACACCATCAGCAACCTTGATACAGCAGCAGAGAATACCCAGACTGCAGAGTCCCGTATC 1500
RIFla4	CGTGATACAGATATGGCAGAAGAGATGGTTGAGTACTCCAAGAACAACATTCTTGACAG 1559
RIEEU99488	CGTGATACAGATATGGCAGAAGAGATGGTTGAGTACTCCAAGAACAACATTCTTGACAG 1560
RIFla4	GCAGGTCAGTCTATGCTTGACAGGCGAACCAGTCTACACAGGGTGTACTCTCCTTATTA 1619
RIEEU99488	GCAGGTCAGTCTATGCTTGACAGGCGAACCAGTCTACACAGGGTGTACTCTCCTTATTA 1620
RIFla4	CAGTAA 1625
RIEEU99488	CAGTAA 1626

FIG. C4 Cont

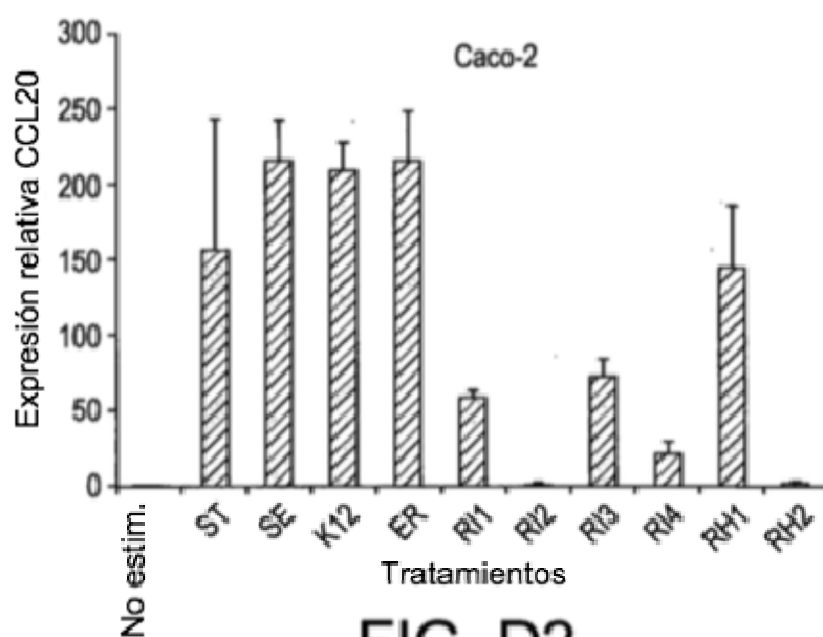
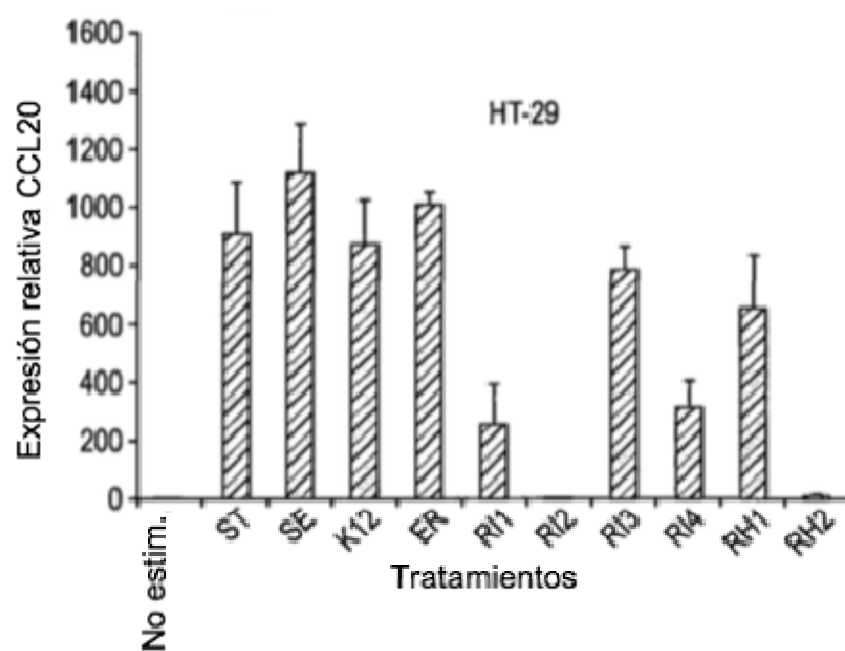


FIG. D2

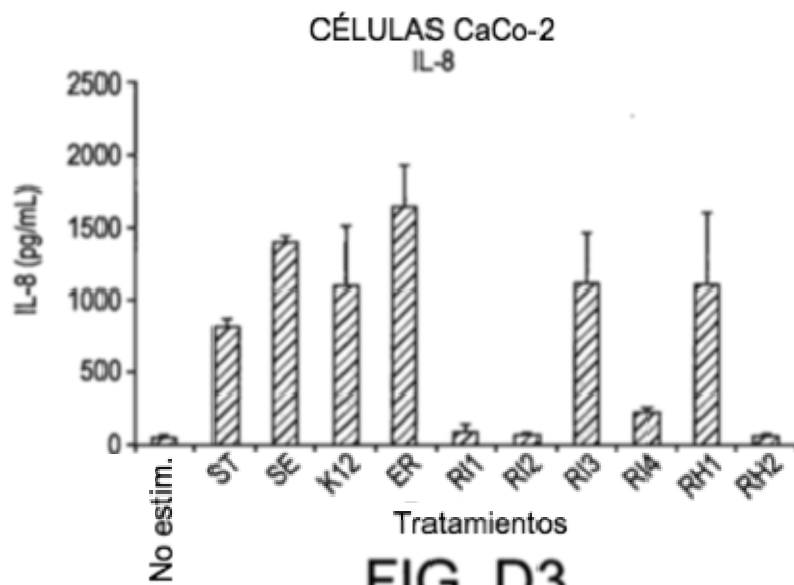
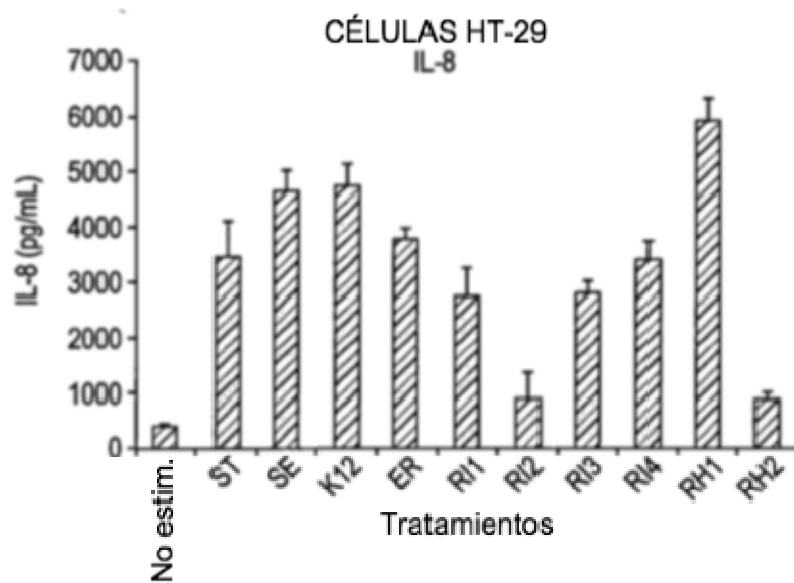
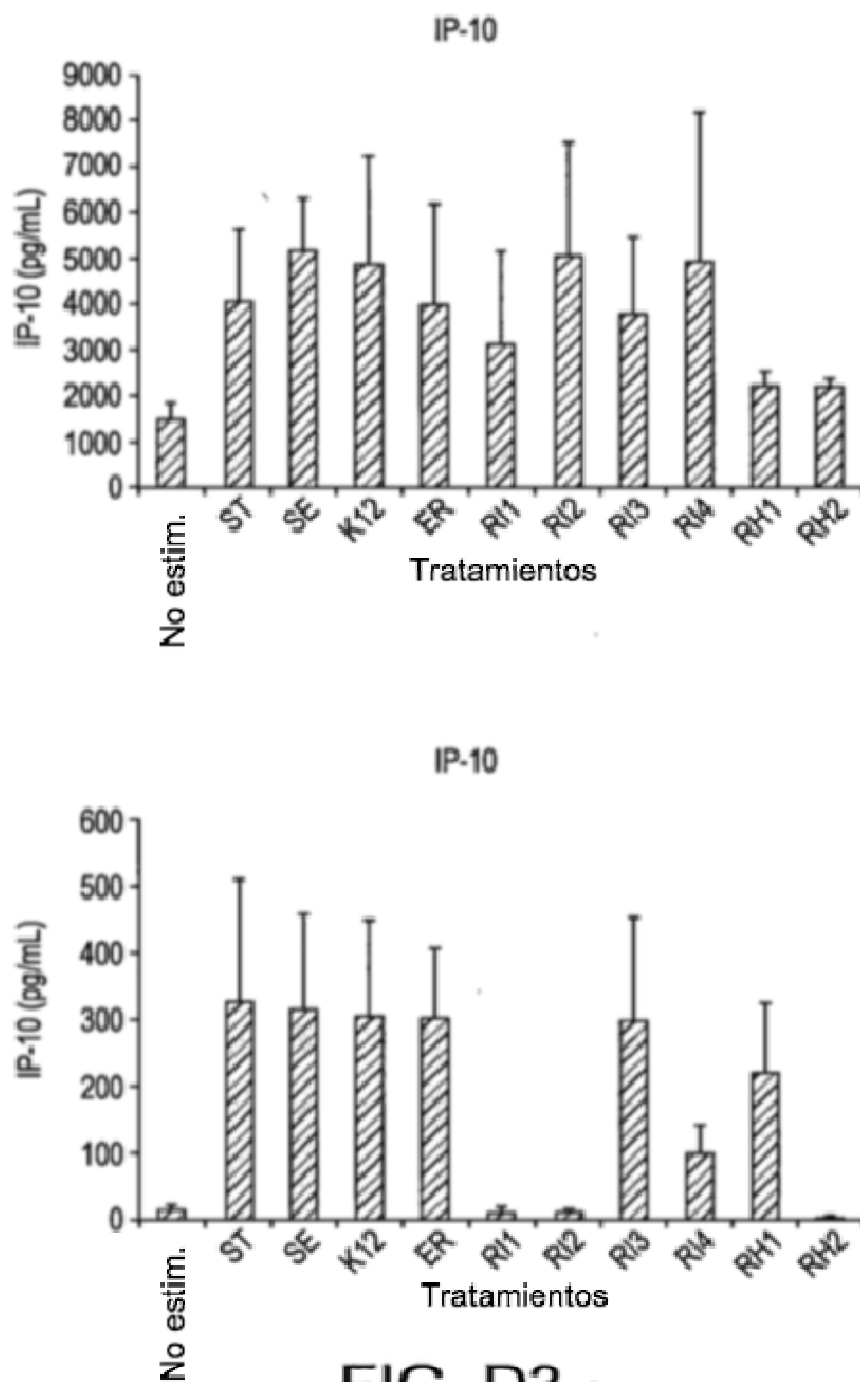


FIG. D3



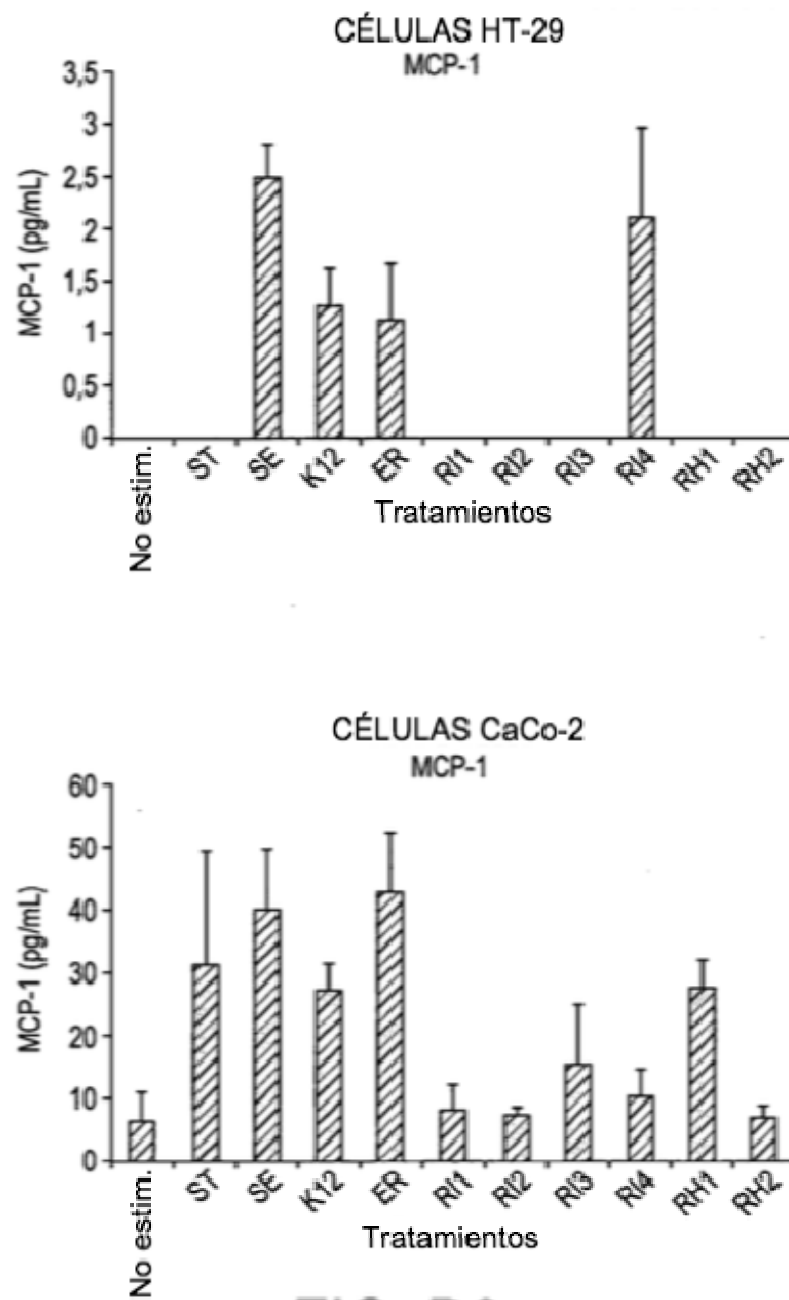


FIG. D3 Cont

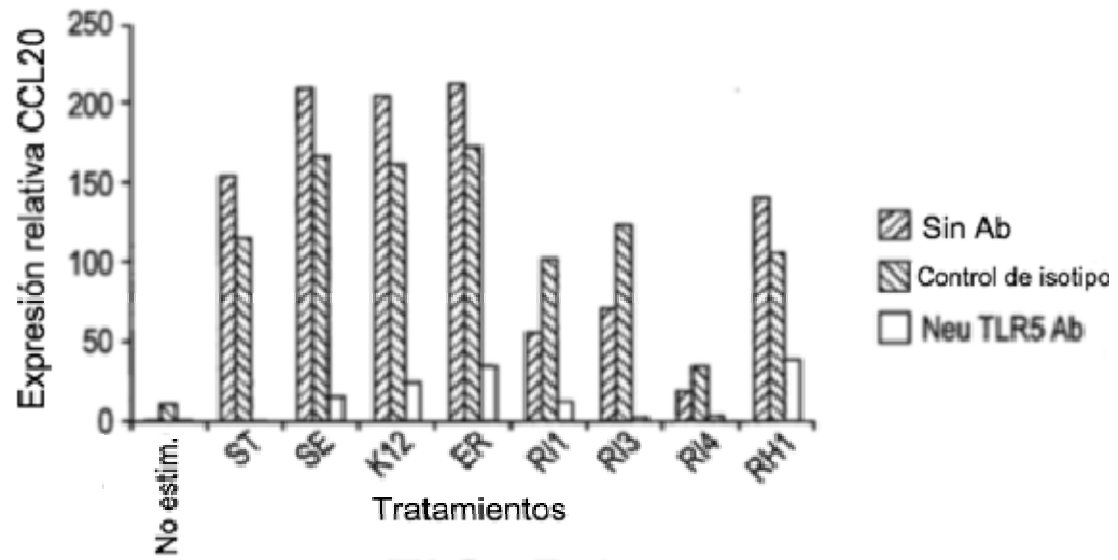


FIG. D4

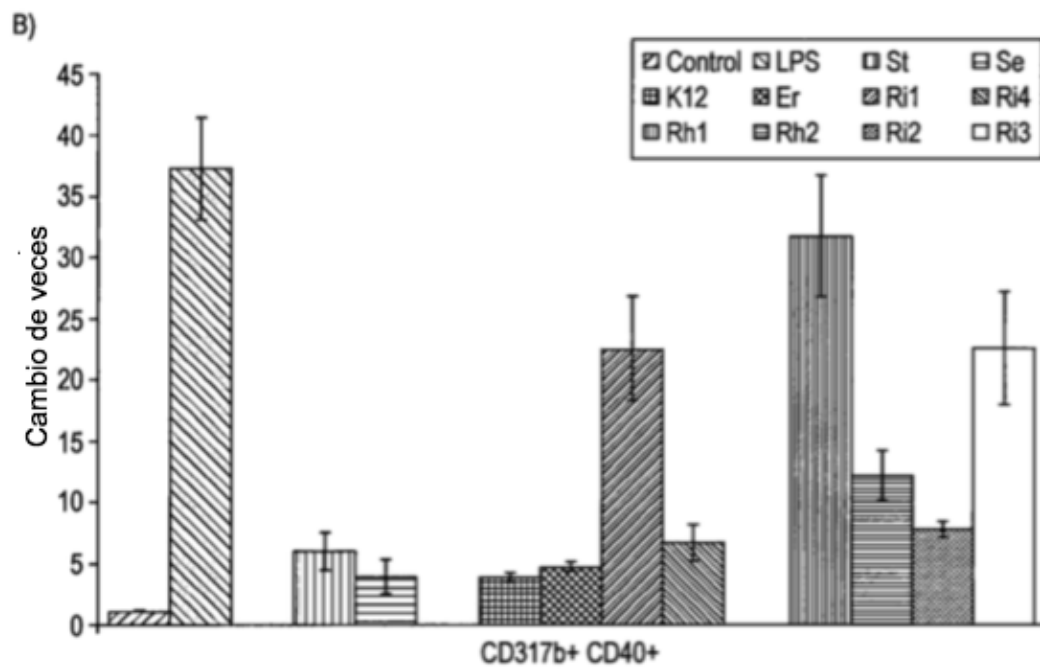
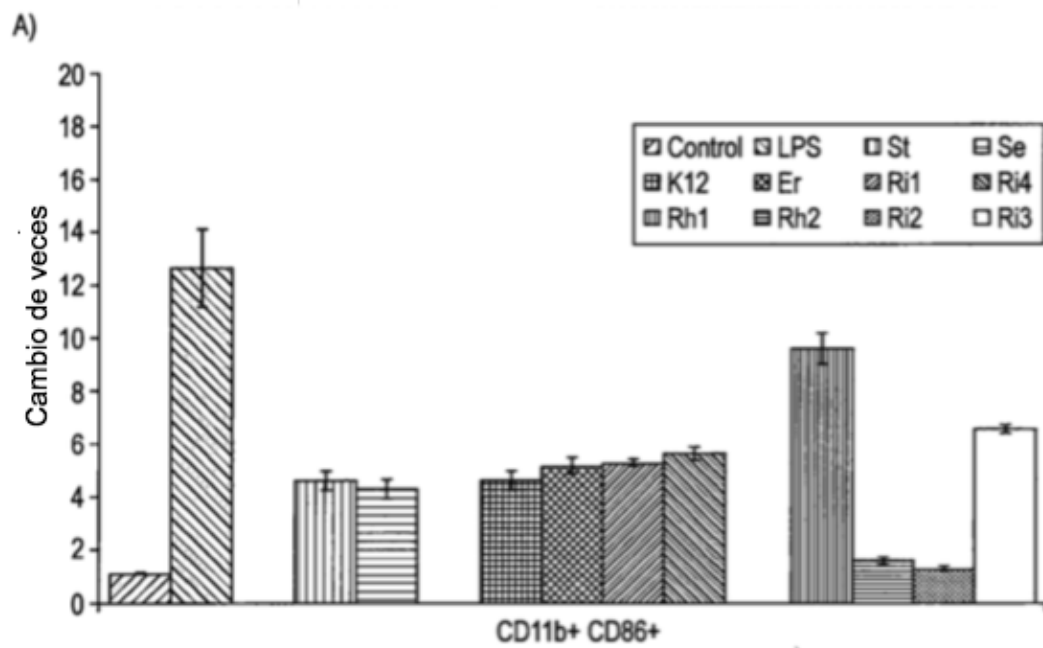


FIG. D5

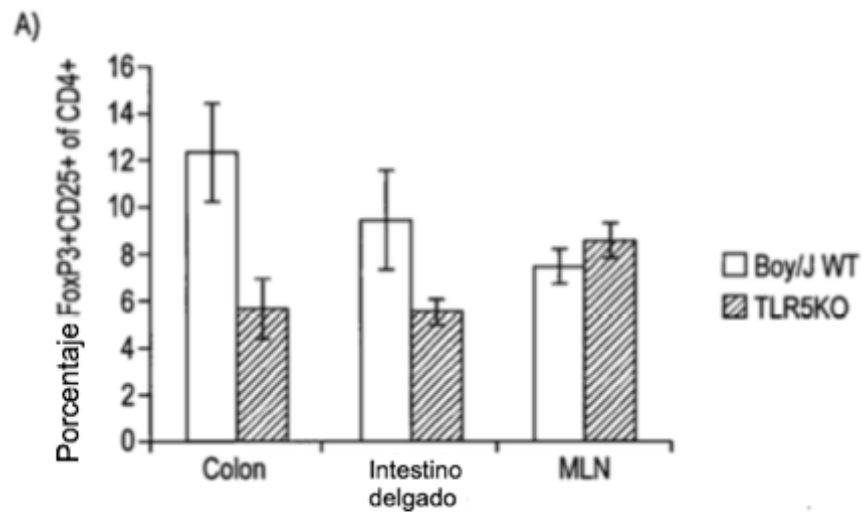


FIG. D6

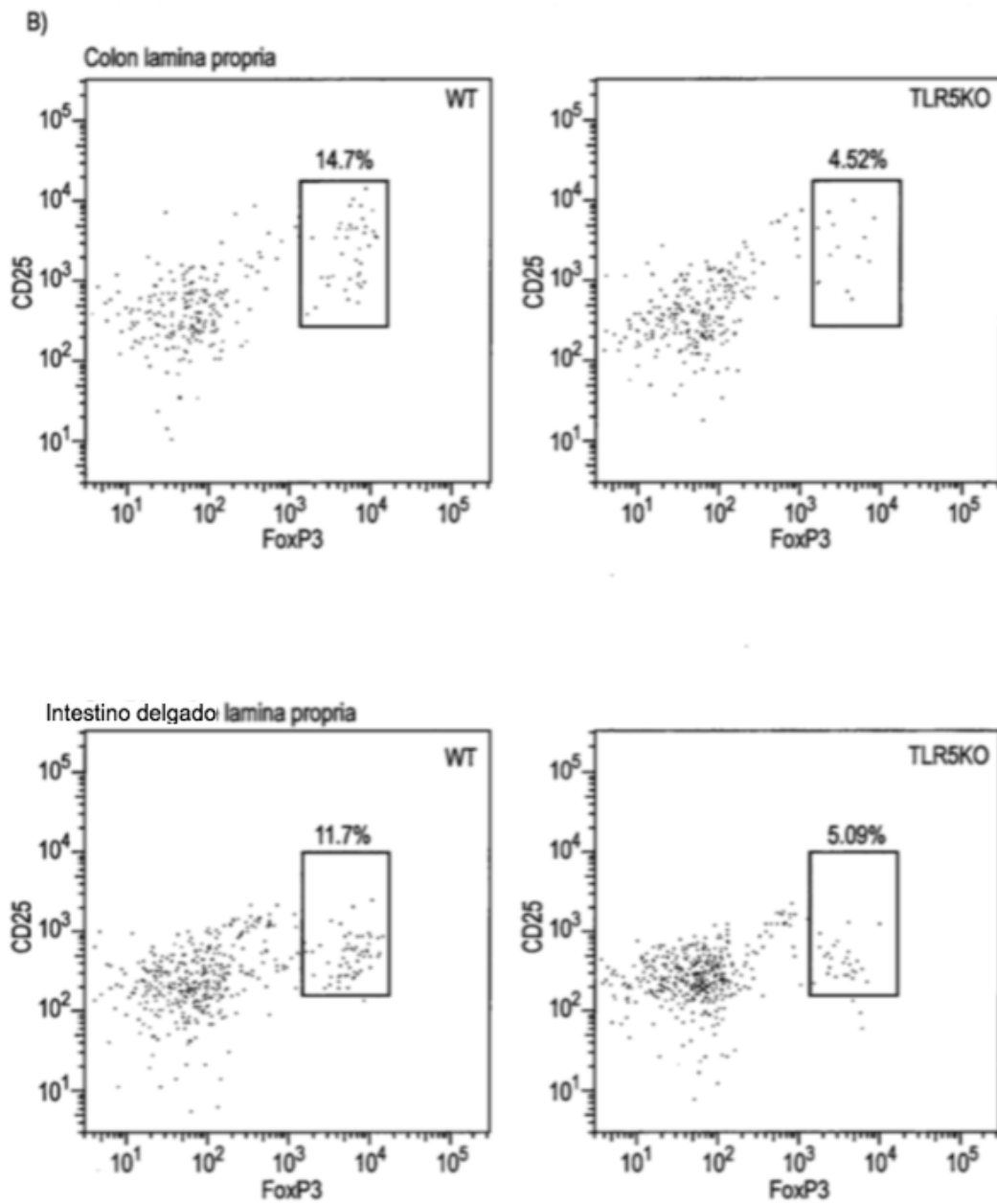


FIG. D6

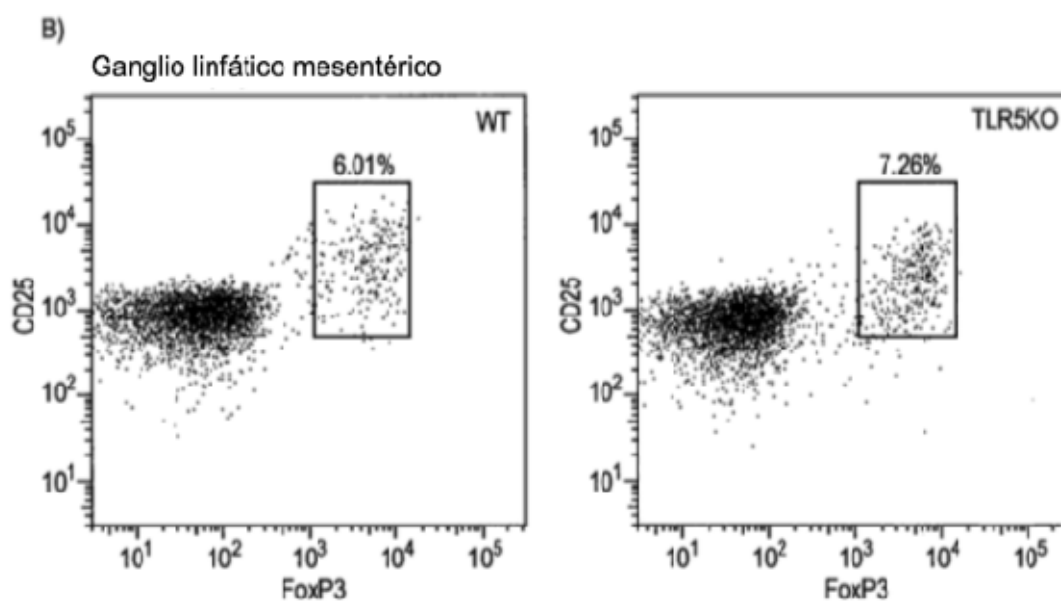


FIG. D6 Cont