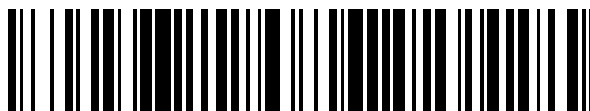


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 796 355**

51 Int. Cl.:

C12R 1/145 (2006.01)

A61K 35/741 (2015.01)

C12R 1/01 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.01.2016 PCT/EP2016/050310**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2016 WO16110585**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.01.2016 E 16700202 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 3242957**

54 Título: **Composiciones que comprenden bacterias y métodos de uso de los mismos para el tratamiento y / o prevención de enfermedades gastrointestinales, metabólicas y / o de otras enfermedades**

30 Prioridad:

09.01.2015 EP 15150701

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

26.11.2020

73 Titular/es:

**WAGENINGEN UNIVERSITEIT (100.0%)
Droevendaalsesteeg 4
6708 PB Wageningen, NL**

72 Inventor/es:

**DE VOS, WILLEM MEINDERT y
BUI, THI PHUONG NAM**

74 Agente/Representante:

MANRESA MEDINA, José Manuel

ES 2 796 355 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).

DESCRIPCIÓN

Composiciones que comprenden bacterias y métodos de uso de los mismos para el tratamiento y / o prevención de enfermedades gastrointestinales, metabólicas y / o de otras enfermedades

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a los campos de la microbiota intestinal, las conversiones metabólicas y los fármacos, alimentos y composiciones de alimentos para animales que incluyen bacterias. Más específicamente, la presente invención proporciona una nueva cepa bacteriana intestinal aislada de un ser humano, es decir, aislada del intestino humano, que es capaz de convertir L-lisina en butirato, y que también es capaz de convertir lisina glicosilada en butirato. También se proporcionan aquí composiciones que contienen dicha cepa bacteriana intestinal y métodos que hacen uso de dicha cepa bacteriana intestinal.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El tracto gastrointestinal (GI) de los seres humanos está habitado por más de 100 trillones de microorganismos (es decir, bacterias, arqueas, hongos y virus) que conjuntamente forman la "microbiota gastrointestinal" (microbiota GI). La microbiota gastrointestinal extrae ventajas del huésped (es decir, del ser humano) en donde habita, quien les proporciona los sustratos que necesita para llevar a cabo la fermentación. Son sustratos que el huésped ingiere con su dieta, o bien los produce, como ser las mucosidades, los anticuerpos o las enzimas digestivas. La microbiota gastrointestinal cumple una variedad de funciones en el huésped, incluyendo la fermentación de sustratos en ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que el huésped utiliza para desintoxicarse de compuestos indeseables, entrenar el sistema inmunológico, estimular el crecimiento de células intestinales (por ejemplo, células epiteliales del intestino), evitando el crecimiento de bacterias patógenas dañinas, regulando el desarrollo del intestino, produciendo vitaminas para el huésped, como la biotina y la vitamina K, produciendo hormonas para inducir al huésped a almacenar grasas, reduciendo el pH del colon, estimulando la absorción de agua y sodio y promoviendo la salud gastrointestinal y del metabolismo en general. Hay interacciones íntimas entre el tracto gastrointestinal, por una parte, y otros órganos del cuerpo, como el hígado, el tejido adiposo y el cerebro, lo que explica el enorme impacto que ejerce la microbiota gastrointestinal en la salud del huésped. Asimismo, dado que la microbiota gastrointestinal está fuertemente modulada por la dieta del sujeto, su papel en las conversiones de los alimentos ingeridos es de gran importancia. La composición de la microbiota gastrointestinal varía entre los distintos sujetos y, además del eminente papel de la alimentación, está influenciada por otros factores, como las características genéticas, la edad, y el uso de antibióticos (Salonen y de Vos. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2014;5:239-62).

Las variaciones en la microbiota gastrointestinal pueden producir la multiplicación de especies patógenas, al punto de pueden superar el número de especies bacterianas beneficiosas. Las especies bacterianas beneficiosas están asociadas a una variedad de efectos benéficos, incluyendo la producción de importantes nutrientes y vitaminas, la promoción y el crecimiento e integridad de las células intestinales, como así también la promoción de la inmunidad a través de la protección contra las especies patógenas. Una función ventajosa de las bacterias intestinales que ha sido bien estudiada es la producción de uno de los AGCC, el butirato o ácido butírico, mediante bacterias denominadas bacterias butiro génicas. A nivel intestinal, el butirato juega un papel de regulación del transporte del fluido transepitelial, mejora la inflamación de la mucosa y el estado de oxidación, refuerza la barrera de la defensa epitelial y modula la sensibilidad visceral y la motilidad intestinal. Asimismo, un número mayor de estudios han destacado el rol del butirato en la prevención y la inhibición del cáncer colorrectal. A nivel sistémico, el butirato ejerce potencialmente efectos útiles en muchas enfermedades, incluyendo hemoglobinopatías y otras enfermedades genéticas o metabólicas, como hipercolesterolemia, resistencia a la insulina y accidente cerebrovascular isquémico (Canani et al. *World J Gastroenterol.* 2011, 17:1519-28). Se conoce sólo un número limitado de bacterias intestinales anaeróbicas que producen butirato. En particular, se produce una fuerte merma de bacterias butiro génicas en el tracto gastrointestinal de pacientes con enfermedades metabólicas, como el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina, o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como la dislipidemia y la diabetes mellitus de tipo 2, así como también se verifica resistencia a la insulina en las enfermedades endócrinas (por ejemplo, en sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia) (Hartstra et al. *Diabetes Care.* 2015, 38:159-165).

Se ha detectado que un exceso de especies bacterianas patógenas en el tracto gastrointestinal, que a menudo se asocia con una reducción de las bacterias butiro génicas en el tracto gastrointestinal, está implicado en varias afecciones relacionadas con la inmunidad, las inflamaciones y otras enfermedades, incluido el cáncer (por ejemplo, cáncer colorrectal), enfermedades inflamatorias intestinales (EII) (por ejemplo, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa), el síndrome del intestino irritable (SII), diabetes mellitus de tipo 2, obesidad, diarrea bacteriana o viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario y otras.

Asimismo, el conjunto de alimentos que se ingiere es un impulsor importante de las enfermedades; los

componentes específicos de la dieta pueden contribuir indirectamente a que se produzcan ciertas enfermedades mediante las bacterias gastrointestinales. A esto específicamente se refieren los llamados productos finales de glicación avanzada (*Advanced Glycation End products* - AGE). Los AGE se forman mediante reacciones de glicación que ocurren a través de la formación de una base intermedia de Schiff seguida de un reordenamiento de Amadori para dar por resultado el aducto de cetamina. Cuando el azúcar reductor es la glucosa, el producto de reordenamiento Amadori se conoce como fructosa-lisina. La conversión química espontánea en condiciones alcalinas leves puede dar lugar a nuevas reacciones de reordenamiento, fragmentación y oxidación de la fructosa-lisina, lo que produce la formación de AGE bien conocidos, como N^ε- (carboximetil) lisina (Hellwig and Henle. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 10316 - 10329). Por lo tanto, la fructosa-lisina es un producto esencial para la formación de AGE, más aún porque la glucosa está entre los azúcares más abundantes y la lisina está entre los aminoácidos más abundantes del planeta. La fructosa-lisina se usa como indicador de formación de AGE y el contenido de fructosa-lisina puede ser muy alto en alimentos calentados, como la leche en polvo, la leche evaporada o algunas pastas. Los AGEs han estado involucrados en una variedad de enfermedades, como el síndrome metabólico, diabetes mellitus de tipo 2, enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico y trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia. Ciertas bacterias gastrointestinales - no obstante, no las bacterias butirógenas - han estado implicadas en las conversiones metabólicas de los AGE. (Tuohy et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2006. 50, 847 - 857 DOI 10.1002/mnfr.200500126 847).

En el tracto gastrointestinal, la L-lisina puede convertirse en compuestos tóxicos que promueven la encefalopatía hepática o las enfermedades cardiovasculares. (Fujita et al. *Clin Chim Acta.* 1999. 287(1-2):99-109; Tang et al. *J Card Fail.* 2013. 19(4):219-224).

Se han desarrollado varios productos y métodos para ayudar a restaurar el equilibrio entre especies bacterianas beneficiosas y patógenas, o para aumentar el número de especies bacterianas beneficiosas y/o disminuir el número de especies bacterianas patógenas para prevenir y/o tratar enfermedades que se producen debido a variaciones perjudiciales de las bacterias (por ejemplo, especies bacterianas patógenas en exceso y/o insuficiencia de especies bacterianas beneficiosas) en la microbiota gastrointestinal. Algunos entre los productos más importantes usados para mejorar y/o restaurar la salud gastrointestinal son los llamados productos 'prebióticos' y "probióticos". También se han usado trasplantes de microbiota fecal, si bien con menos frecuencia, y un campo emergente es el del uso de comunidades sintéticas de bacterias específicas aisladas del tracto gastrointestinal.

Los productos probióticos esencialmente consisten en microorganismos vivos, que – cuando se administran en cantidades efectivas – ofrecen un beneficio a la salud del huésped (por ejemplo, el ser humano). Los probióticos se usan típicamente para aumentar la población de especies bacterianas beneficiosas en el intestino y para ayudar a repoblar el intestino con bacterias intestinales beneficiosas y compensar deficiencias, por ejemplo, las que se producen debido al uso de antibióticos, enfermedades, envejecimiento y/o mala nutrición. Si bien los probióticos son microorganismos vivos que ayudan a mantener un sistema gastrointestinal saludable, los prebióticos son las sustancias que ayudan a promover las bacterias intestinales beneficiosas. Más específicamente, los prebióticos consisten principalmente en fibras fermentables o carbohidratos no digeribles que estimulan el crecimiento y la actividad de estas bacterias intestinales beneficiosas. La fermentación de estas fibras mediante bacterias beneficiosas promueve la producción de productos finales beneficiosos, como los ácidos AGCC.

Existen en el mercado algunos productos probióticos en forma de composiciones, bebidas (por ejemplo, bebidas lácteas, bebidas fermentadas, etc.), formulaciones, alimentos (por ejemplo, yogurt, queso, etc.) o suplementos nutricionales (por ejemplo, cápsulas, tabletas, polvos, etc.), y similares. La mayoría de los probióticos contienen bacterias del ácido láctico, como lactobacilos y bifidobacterias.

El documento EP1835021 describe una composición de célula bacteriana que comprende células de *Butyrivibrio fibrisolvens* que tienen la capacidad de producir ácido butírico, un material de cultivo del mismo o un extracto del mismo, y un método para inhibir carcinogénesis, un método para inmunoestimulación, un método para prevenir o tratar un patógeno, un método para prevenir o tratar una enfermedad intestinal inflamatoria y un método para prevenir o tratar una enfermedad alérgica, que lo utilizan.

Existe una necesidad de contar con más composiciones, como los probióticos, que sean adecuados para mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal en general, y/o prevenir y/o tratar afecciones o enfermedades como el cáncer (por ejemplo, cáncer colorrectal, IBD (por ejemplo, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa), IBS, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como síndrome metabólico y resistencia a la insulina o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (por ejemplo, obesidad sujetos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico, trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis

múltiple y demencia, encefalopatía u otros. También existe la necesidad de bacterias gastrointestinales beneficiosas que sean capaces de metabolizar o degradar la fructosa-lisina para prevenir o reducir la formación de AGE.

5 RESUMEN DE LA INVENCÓN

La invención es la que se reivindica en las Reivindicaciones.

OTRAS DESCRIPCIONES

10 En un primer aspecto, se describe una cepa bacteriana intestinal aislada, es decir, un aislado del intestino humano, que comprende un conjunto de genes de la ruta de la lisina. Dicha bacteria es capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo, o una cepa derivada del mismo.

15 En un modo de realización, el conjunto de genes de la ruta de la lisina comprende uno o más de los genes que codifican las proteínas: Lisina 2,3-aminomutasa; subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; subunidad beta de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa; enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato; 3-aminobutiril-CoA amoniaco liasa; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad A; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad B; acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa.

20 En un modo de realización, la expresión de al menos uno de los genes que codifican las proteínas: Lisina 2,3-aminomutasa; subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; subunidad beta de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa; enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato; 3-aminobutiril-CoA amoniaco-liasa; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad A; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad B; acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa, produce aumento (upregulation) cuando se cultiva la bacteria en L-lisina como única fuente de carbono, relativamente a cuando la bacteria se desarrolla en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.

25 En un modo de realización, se produce la sobreexpresión de al menos una de las proteínas: lisina 2,3-aminomutasa; subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; subunidad beta de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa; enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato; 3-aminobutiril-CoA amoniaco-liasa; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad A; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad B; acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa, cuando la bacteria se cultiva en L-lisina como única fuente de carbono comparativamente a cuando la bacteria se ha sido cultivada en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única Fuente de carbono.

30 También se describe una cepa bacteriana intestinal aislada que ha sido depositada como CBS 139326, o una cepa que se ha derivado de la misma. Dicha cepa bacteriana puede ser capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato, o un derivado del mismo. Dicha cepa bacteriana puede ser capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo y acetato, o un derivado del mismo.

35 La cepa bacteriana que aquí se enseña puede además comprender un operón de absorción y degradación de lisina glicosilada, y puede tener la capacidad de convertir la lisina glicosilada en ácido butírico y/o butirato o una derivación del mismo.

40 La lisina glicosilada puede ser fructosa-lisina, y el operón de absorción y degradación de lisina glicosilada puede ser un operón de absorción y degradación de fructosa-lisina.

45 En un modo de realización, el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina comprende uno o más de los genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructosa-lisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP.

50 En un modo de realización, la expresión de al menos uno de los genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructoselisisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina ; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP, aumenta (upregulate) cuando la bacteria aumenta en L-lisina como única fuente de carbono, relativamente a cuando la bacteria se desarrolla en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.

55 En un modo de realización, se produce la sobreexpresión de al menos una de las proteínas: fructosa-lisina quinasa;

- fructoselisin 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP, cuando la bacteria crece en L-lisina como única fuente de carbono comparativamente a cuando la bacteria aumenta en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.
- La cepa bacteriana que aquí se enseña puede pertenecer al filo *Firmicutes*, al taxón *Clostridium* cluster IV, al género *Intestinimonas*, y preferiblemente pertenece a la especie *Intestinimonas butyriciproducens*.
- En un modo de realización, la cepa bacteriana que aquí se enseña se aísla del intestino de un ser humano, es decir, es un aislado del intestino humano.
- Preferentemente, dicho aislado del intestino humano tiene una concentración inhibitoria mínima (CIM) de eritromicina de menos de 20 µg/ml, más preferentemente menos de 15 µg/ml, aún más preferentemente menos de 10 µg/ml, aún más preferentemente menos de 7 µg/ml, aún más preferentemente menos de 5 µg/ml, pero aún más preferentemente 4, menos de 3, o menos de 2 µg/ml.
- La invención asimismo se refiere a una composición que comprende una cepa bacteriana según se enseña aquí y un portador fisiológicamente aceptable. La composición puede ser un alimento, un suplemento alimenticio, un tipo de pienso o complemento para pienso, o una composición farmacológica.
- En un modo de realización, la composición que aquí se enseña es una composición alimenticia, como un producto lácteo, por ejemplo, un producto lácteo fermentado, como un yogurt o una bebida en base a yogurt.
- En un modo de realización, la composición que aquí se enseña es una composición farmacológica o una composición de un suplemento alimenticio. La composición puede ser en forma de dosis sólida, por ejemplo, puede ser una cápsula, una tableta o un polvo. Las bacterias que pertenecen a la cepa bacteriana que aquí se enseña pueden incorporarse a la composición en forma de liofilizado.
- La bacteria puede estar presente en la composición en una cantidad de aproximadamente entre 10^2 hasta aproximadamente 10^{12} , preferentemente 10^6 hasta aproximadamente 10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC).
- La composición puede además comprender ingredientes seleccionados del grupo que incluye prebióticos, probióticos, carbohidratos, polipéptidos, lípidos, vitaminas, minerales, agentes medicinales, conservantes o cualquier combinación de los mismos.
- La composición puede además comprender una fuente rica en lisina.
- La invención también pertenece a una cepa bacteriana según se enseña en el presente para uso medicinal, como así también, según se describe en el presente, a una composición para utilización en medicamentos.
- Asimismo, la invención se refiere a una cepa bacteriana como se enseña aquí para ser utilizada como un probiótico y/o simbiótico, como así también a una composición, según se enseña aquí, para ser utilizada como un probiótico y/o simbiótico.
- En otro aspecto, esta invención se ocupa de una cepa bacteriana según se enseña aquí o bien una composición, según se enseña aquí para ser aplicada a mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal en general, y/o para la prevención y/o el tratamiento de afecciones o enfermedades como el cáncer (por ejemplo, el cáncer colorrectal), EII (p. Ej., Enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), SII, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como síndrome metabólico y resistencia a la insulina, o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (por ejemplo, sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico, trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia, o encefalopatía.
- En otro aspecto aún, la presente invención proporciona un método para mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal en general, y/o para la prevención y/o el tratamiento de afecciones o enfermedades como el cáncer (por ejemplo, el cáncer colorrectal), EII (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), SII, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como síndrome metabólico y resistencia a la insulina o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (por

ej., sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico, trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia, o encefalopatía en un sujeto que lo necesite; dicho método comprende el paso de aumentar en dicho sujeto el nivel de una cepa bacteriana según se enseña aquí.

En un modo de realización, es posible aumentar en el sujeto el nivel de cepas bacterianas que se enseñan en el presente mediante un método que puede elegirse entre las siguientes opciones: administrar una cantidad efectiva de dicha cepa bacteriana a dicho sujeto, y administrar una cantidad efectiva de un compuesto capaz de aumentar el nivel de dicha cepa bacteriana en dicho sujeto.

En otro aspecto aún, la invención se refiere a un método para prevenir y/o reducir la producción de lisina glicosilada en un sujeto que comprende el paso de aumentar en dicho sujeto el nivel de una cepa bacteriana según se enseña aquí.

En un modo de realización, es posible aumentar en el sujeto el nivel de cepas bacterianas que se enseñan en el presente mediante un método que puede elegirse entre las siguientes opciones: administrar una cantidad efectiva de dicha cepa bacteriana a dicho sujeto, y administrar una cantidad efectiva de un compuesto capaz de aumentar el nivel de dicha cepa bacteriana en dicho sujeto.

Preferentemente, el sujeto es un mamífero y aún más preferentemente, es un ser humano.

DEFINICIONES GENERALES

El término "probióticos" o "productos probióticos" como se lo usa en el presente documento, se refiere a microorganismos, como las bacterias intestinales, que, cuando se administran o se ingieren en cantidades efectivas, producen beneficios para la salud del huésped (por ejemplo, un ser humano u otro mamífero). Preferentemente, los probióticos deben estar vivos o se capaces de permanecer vivos cuando se los administra al sujeto, de modo que se posibilite a los probióticos formar colonias a lo largo del intestino del huésped. Sin embargo, en ciertas condiciones, los probióticos pueden también estar muertos al momento de su administración, siempre que las sustancias que producen los probióticos aún puedan producir efectos beneficiosos, probióticos, en el huésped. Casi todos los probióticos o los productos probióticos están compuestos de bacterias del ácido láctico como *Lactobacilli* o *Bifidobacteria*. Los expertos en esta materia conocerán bien el campo de los probióticos y sabrán cómo seleccionar bacterias de ácido láctico con actividad probiótica.

El término "prebióticos" o "productos prebióticos," como se utiliza en el presente, se refiere en general a compuestos que promueven el crecimiento y/o la actividad de microorganismos gastrointestinales que contribuyen al bienestar del huésped. Los prebióticos o productos prebióticos consisten principalmente en fibras fermentables o carbohidratos no digeribles. La fermentación de estas fibras que realizan los probióticos promueve la producción de productos finales beneficiosos, como los AGCC, en particular, los butiratos. La persona experta en la materia estará familiarizada con el campo de los prebióticos y sabrá cómo seleccionar ingredientes que contengan actividad prebiótica.

El término "simbiótico" o "productos simbióticos", como se usa en este documento, generalmente se refiere a las composiciones y/o suplementos nutricionales que combinan probióticos y uno o más complejos que promueven el crecimiento y/o la actividad de microorganismos gastrointestinales, como los prebióticos, en un solo producto. Las bacterias simbióticas en el huésped tienen el efecto de mejorar la supervivencia y la creación de colonias de probióticos en el tracto gastrointestinal del huésped al estimular selectivamente el desarrollo y/o al activar el metabolismo de las bacterias probióticas, mejorando el bienestar del huésped. Los expertos en la materia estarán familiarizados con los simbióticos y conocerán cómo seleccionar ingredientes que puedan combinarse en un simbiótico.

El término "ácidos grasos de cadena corta" (abreviado AGCC), como se lo usa en el presente documento, se refiere a ácidos grasos con colas alifáticas de hasta seis carbonos, incluyendo ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico y ácido valérico (ácido pentanoico), mientras que los "ácidos grasos de cadena ramificada" (AGCR) incluyen al ácido isobutírico (ácido 2-metilpropanoico), el ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico), y similares. Los AGCC pueden producirse cuando las fibras dietéticas se fermentan en el intestino delgado de los mamíferos, mientras que los AGCRs se forman predominantemente a partir de la fermentación de proteínas. Específicamente, la producción de AGCC, ácido acético, propiónico y butírico en el intestino delgado de los mamíferos es el resultado de la fermentación de los carbohidratos de la dieta.

El término "ácido butírico" (también conocido con el nombre sistemático de ácido butanoico), como se lo usa en el presente documento, se refiere a un ácido carboxílico con la fórmula estructural $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$. El término

“ácido butírico o un derivado del mismo” como se lo usa en el presente documento, se refiere a compuestos derivados del ácido butírico e incluye sales y ésteres del ácido butírico, que se conocen como butiratos o butanoatos. Ejemplos no limitativos de sales de butirato incluyen butirato de sodio, butirato de calcio, butirato de magnesio, butirato de manganeso, butirato de cobalto, butirato de bario, butirato de litio, butirato de zinc, butirato de potasio, butirato ferroso y similares. Ejemplos no limitantes de ésteres de butirato (es decir, ésteres de ácido butírico) incluyen acetato de celulosa butirato, metil butirato, etil butirato, butil butirato, pentil butirato y similares.

Los términos “bacteria productora de butirato” o “bacteria productora de ácido butírico” o “bacteria butirogénica” se usan indistintamente en el presente documento y se refieren a una bacteria que es capaz de producir ácido butírico y/o butirato y/o uno o más derivados del mismo. Una ruta importante por la cual se puede producir ácido butírico y/o butirato y sus derivados *in situ* en el intestino de un mamífero (o *in vitro* en un cultivo) es la denominada “ruta de acetil-CoA”. La ruta de acetil-CoA está bien documentada y se sabe que es particularmente dominante en bacterias intestinales que pertenecen, por ejemplo, a género *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae* (que conjuntamente puede formar hasta el 20% del total de la microbiota del intestino). De acuerdo con la ruta de acetil-CoA, el ácido butírico y/o butirato y/o derivados del mismo pueden formarse por una única especie bacteriana mediante la fermentación de carbohidratos y/o mediante un grupo de microorganismos en donde los metabolitos de otros organismos actúan como un sustrato para las bacterias butirogénicas. La ruta acetil-CoA convencional incluye una serie de enzimas, incluyendo (entre muchas otras) dos enzimas clave denominadas butiril-CoA transferasa (But) y butirato quinasa (Buk). Los expertos en la materia conocen bien la ‘ruta acetil-CoA’, que comprende genes que codifican enzimas y otros elementos subyacentes al funcionamiento de dicha ruta, así como las especies bacterianas intestinales que tienen esta ruta.

Se ha planteado la hipótesis de que existan otras rutas para la producción de ácido butírico y/o butirato y/o derivados del mismo en el ámbito gastrointestinal de los seres humanos. Una de dichas rutas es la llamada “ruta de utilización de la lisina” o “ruta de la lisina”. Sin embargo, no se han hallado evidencias de que esta ruta exista en las especies bacterianas aisladas del tracto GI de los seres humanos (Vital et al. 2014, mBio 5(2) doi:10.1128/mBio.00889-14).

El término “conjunto de genes de la ruta de la lisina,” como se lo usa en el presente documento, se refiere a un conjunto de genes que codifican proteínas comprendidas en la ruta de la lisina para la conversión de la L-lisina en ácido butírico y/o butiratos o un derivado del mismo. En un modo de realización de la presente invención, el “conjunto de genes de la ruta de la lisina” comprende genes que codifican las proteínas: lisina 2,3-aminomutasa; subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; subunidad beta de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa; enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato; 3-aminobutiril-CoA amoniaco-liasa; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad A; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad B; acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa. El conjunto de genes de la ruta de la lisina puede además comprender uno o más genes que codifican las proteínas: L-lisina permeasa; butiril-CoA deshidrogenasa Etf; 4-hidroxybutirato coenzima A transferasa; 3- cetoacil-CoA tiolasa / acetil-CoA acetiltransferasa; fosfato acetiltransferasa; acetato quinasa; grupo de Rnf de bombeo de protones (subunidades A, B, C, D, E, G); Clúster de ATP sintasa de tipo V (subunidades A, B, C, D, E, F, I, K); pirofosfatasa inorgánica; transportador de amonio; transportador de ácidos grasos de cadena corta putativo; y Na⁺/H⁺ antiportadora.

En un modo de realización de la presente invención, el “conjunto de genes de la ruta de la lisina” puede además comprender uno o más genes que codifican las proteínas: 3-hidroxybutiril-CoA deshidratasa; D-beta-hidroxybutirato permeasa; subunidad alfa de flavoproteína de transferencia de electrones; subunidad beta de flavoproteína de transferencia de electrones; subunidad de hidrogenasa reductora de NAD HoxE; ferredoxina; Subunidad de hidrogenasa reductora de NAD HoxF; subunidad grande de [Fe] hidrogenasa periplásmica; y Componente específico del sustrato RibU del transportador de riboflavina ECF.

El término “lisina” como se usa en el contexto de la presente invención se refiere convenientemente a “L-lisina”, y puede usarse indistintamente.

Los términos “operón de absorción y degradación de fructosa-lisina” u “operón de absorción y degradación de lisina glicosilada” como se los usa en el presente documento, se refieren a un conjunto de genes comprendidos en la ruta de absorción y degradación de fructosa-lisina para convertir la fructosa-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo.

En un modo de realización, el “operón de absorción y degradación de fructosa-lisina” comprende genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructosa-lisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; y un transportador ABC que consta de 4 subunidades, la proteína PotD periplásmica de unión a espermidina putrescina, la PotC componente permeasa del transportador ABC espermidina putrescina, la PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina, y la PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP.

El término "especie bacteriana beneficiosa para el intestino" como se lo usa en el presente documento, se refiere a una especie bacteriana que habita (es decir, que es innata) en el intestino del mamífero (por ejemplo, ser humano) y ejerce uno o más efectos beneficiosos (por ejemplo, protección contra especies bacterianas patógenas, producción de ácido butírico y/o butirato y derivados del mismo, etc.) en el tracto GI, efectos metabólicos y otros respecto de la salud del mamífero en el que reside.

Ejemplos no limitativos de las especies bacterianas beneficiosas para el intestino incluyen bacterias del ácido láctico del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Otros ejemplos no limitantes de especies bacterianas beneficiosas para el intestino incluyen especies bacterianas que producen butirato, que utilizan el acetil -CoA para producir ácido butírico y/o butirato y derivados del mismo, como las cepas bacterianas descritas en los documentos US2014/0242654, WO 2014/150094 o WO2013032328 A1.

El término "especies bacterianas patógenas" como se lo usa en el presente documento, se refiere a una bacteria que habita (es decir, que es innata) en el intestino del mamífero (por ejemplo, el ser humano) y produce efectos dañinos (por ejemplo, infecciones) en la salud gastrointestinal del mamífero en el que reside. Un ejemplo muy conocido y no limitante de una especie bacteriana patógena es la productora de toxinas *Clostridium difficile*.

El término "lisina glicosilada" o "lisina glicosilada de Amadori" o "fructosa-lisina" como se lo usa en el presente documento, se refiere a un producto que comprende una lisina en la que un grupo lisina épsilon NH₂ es glicosilada por medio de una transposición de Amadori. La persona experta en la materia estará familiarizada con el proceso mediante el cual se forman la lisina glicosilada de Amadori o la fructosa-lisina. El término fructosa-lisina se emplea cuando una fracción de glucosa se acopla covalentemente a una lisina vía una transposición de Amadori. La fructosa-lisina también es conocida como s-fructosa-lisina, 1-desoxi-1- (s-N-L-lisino) -D-fructosa; fructosilisina; Ns-(1-desoxi-D-fructos-1-il) -L-lisina; D-1 - [(L-5-Amino-5-carboxipentil) amino] -1-desoxfructosa; o (S) -1 - [(5-Ami no-5-carbox-y-pentil) amino] -1-desoxi-D-fructosa.

La lisina glicosilada de Amadori y la fructosa-lisina se encuentran en abundancia en los alimentos cocidos. La lisina glicosilada de Amadori o la fructosa-lisina normalmente se forman mediante una reacción no enzimática de glucosa y aminoácidos cuando se aplica calor a los alimentos. La conversión química espontánea en condiciones levemente alcalinas puede producir reacciones adicionales de transposición, fragmentación y oxidación de la fructosa-lisina, lo que a su vez producirá la formación de AGE conocidos, como N^ε-(carboximetil) lisina. Los AGE han estado involucrados en una variedad de enfermedades, como síndrome metabólico, diabetes mellitus de tipo 2, enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico y trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple y la demencia.

El término "cantidad efectiva" como se lo usa en el presente documento, se refiere a una cantidad necesaria para lograr un efecto descrito en el presente. Por ejemplo, una cantidad efectiva de la cepa bacteriana intestinal o una cepa derivada de la misma de acuerdo con las enseñanzas del presente es una cantidad que es efectivamente útil para mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal de un ser humano, para convertir la lisina glicosilada de Amadori o la fructosa-lisina en ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo y/o para prevenir y/o para tratar afecciones o enfermedades que se describen en el presente, que están relacionadas con la presencia de la lisina, la ausencia o la disminución de bacterias gastrointestinales butirogénicas, o la presencia de AGE en un sujeto, preferentemente en un ser humano. Estas afecciones o enfermedades comprenden, sin limitación, cáncer (por ejemplo, cáncer colorrectal), EII (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), SII, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como síndrome metabólico y resistencia a la insulina o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (p. ej., sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico, trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia, o encefalopatía. El experto en la materia podrá fácilmente determinar cuál es la cantidad efectiva, sin necesidad de recurrir a experimentaciones innecesarias.

El término "adecuado para el consumo" o "nutricionalmente aceptable" se refiere a ingredientes o sustancias generalmente consideradas seguras para el consumo humano (como así también para el consumo por parte de otros mamíferos).

"Concentración inhibitoria mínima" o ("CIM", como se usa en el presente documento), se refiere a la concentración más baja de un antimicrobiano que podrá inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de una incubación durante toda una noche. Las concentraciones inhibitorias mínimas son importantes para los laboratorios de diagnóstico para confirmar la resistencia de los microorganismos a un agente antimicrobiano y también para realizar el seguimiento de la actividad de nuevos agentes antimicrobianos. La CIM generalmente se considera el tipo más básico de medición de laboratorio de la actividad de un agente antimicrobiano contra un organismo.

El término “aproximadamente”, como se utiliza en el presente, indica un rango de tolerancia normal en la técnica, por ejemplo, hasta 2 desviaciones estándar de la media. El término “aproximadamente” puede entenderse como abarcador de valores que se desvían a lo sumo el 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, o 0.01% del valor indicado.

Los términos “comprenden” “incluyen” “comprender” y sus conjugaciones, como se utilizan en el presente, se refieren a una situación en donde dichos términos se usan en su sentido no limitativo para referirse a que los elementos puestos a continuación de dicha palabra están incluidos, pero los elementos que no se mencionan específicamente no están excluidos. También abarca el verbo más limitante “consiste esencialmente en” y “consiste en,” “consta de” y “consta esencialmente de.”

La referencia a un elemento con el artículo indefinido “un” o “una” no excluye la posibilidad de la presencia de más de uno de dichos elementos, a menos que el contexto claramente exija que exista uno y sólo uno de dichos elementos. El artículo indefinido “un” o “una” por lo tanto generalmente significa “al menos uno” o “al menos una”.

Los términos “aumentar” o “mayor nivel” y los términos “disminuir” o “menor nivel” se refieren a la capacidad de aumentar o disminuir significativamente o bien a un nivel significativamente mayor o menor. Generalmente un nivel aumenta o disminuye cuando es al menos 5%, como 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% más alto o más bajo, respectivamente, que el nivel correspondiente en un control o una referencia. Alternativamente, un nivel en una muestra puede aumentar o disminuir cuando estadísticamente ha aumentado o disminuido significativamente respecto de un control o referencia. Alternativamente, el nivel de una muestra puede aumentar o disminuir cuando ha aumentado o disminuido estadísticamente respecto de un nivel en un control o referencia.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Estos inventores han aislado por primera vez una nueva cepa bacteriana intestinal del tracto GI de seres humanos, denominada en el presente documento *Intestinimonas* AF211. Específicamente, dicha nueva cepa bacteriana intestinal es una bacteria (butirogénica) productora de ácido butírico y/o butirato que es capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo por medio de la denominada “ruta de utilización de la lisina”. La nueva cepa bacteriana intestinal de esta invención también es capaz de convertir la lisina glicosilada u otros AGE, por ejemplo, la fructosa-lisina, en ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo vía la denominada “ruta de absorción y degradación de la fructosa-lisina”.

Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que la nueva cepa bacteriana intestinal (o las cepas que derivan de la misma), según se enseña en este documento, cuando se la administra a un ser humano o cuando un ser humano la ingiere en una cantidad adecuada, es capaz de colonizarse en el tracto gastrointestinal de dicho ser humano. Esta colonización permite una mayor producción *in situ* de ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo, como así también un mayor metabolismo de la fructosa-lisina u otra lisina glicosilada en el tracto gastrointestinal de dicha persona. Se cree que una mayor producción *in situ* de ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo y/o un mayor metabolismo de la fructosa-lisina produce efectos beneficiosos como los que aquí se describen, por ejemplo, mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal en general, y/o prevenir y/o tratar enfermedades como el cáncer (por ejemplo, cáncer colorrectal), EII (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), SII, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como síndrome metabólico y resistencia a la insulina, o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (por ejemplo, sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico y trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia, u otras.

Bacteria

En un primer aspecto, se describe una cepa bacteriana, o una cepa derivada de la misma, que comprende un conjunto de genes de la ruta de la lisina y es capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo. La cepa bacteriana es preferentemente un aislado del intestino humano.

En un segundo aspecto, se describe una cepa bacteriana depositada por la Universidad de Wageningen el 5 de enero de 2015 ante la Centraalbureau voor Schimmelcultures, en Utrecht, Países Bajos, a la que se le asignó el número de depósito CBS 139326.

En un modo de realización, la bacteria aislada según se enseña en este documento además puede convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo y acetato, o un derivado del mismo. Se cree que el acetato reduce el apetito y que por lo tanto es de utilidad para bajar de peso, por ejemplo, en el tratamiento y/o la

prevención de la obesidad.

En un modo de realización, la cepa bacteriana intestinal que se describe en el presente documento puede convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo a partir de cualquier fuente de proteínas que incluya la lisina. Ejemplos no limitantes de las fuentes de proteínas que incluyen lisina comprenden caldo de soja trípico sin dextrosa, triptón, casitón, peptona vegetal, extracto de levadura, peptona bacteriana, hidrolizado de caseína, metilisina y similares.

comparativamente a cuando la bacteria a cuando la bacteria crece en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.

En el contexto de la presente invención, la cantidad de L-lysina aplicada para determinar si los genes están aumentados (upregulated) o las proteínas están sobre-expresadas en una cepa bacteriana respecto de cuando dicha bacteria se cultiva en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato puede estar en un rango desde aproximadamente 5 mM hasta aproximadamente 100 mM, preferentemente desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 50 mM, más preferentemente desde aproximadamente 15 mM hasta aproximadamente 25 mM, y es más preferiblemente de aproximadamente 20 mM (particularmente cuando los experimentos comparativos del cultivo de la cepa bacteriana que se han cultivado en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono se realizan con cantidades de glucosa 40 mM y acetato 40 mM).

En el contexto de la presente invención, las cantidades equimoleculares de glucosa y acetato a los que se refiere el presente pueden estar en un rango desde aproximadamente 1 mM hasta aproximadamente 200 mM de glucosa y acetato, que pueden proporcionarse en la forma de una sal de acetato, como el acetato de sodio, preferentemente desde aproximadamente 5 mM hasta aproximadamente 150 mM de ambos, glucosa y acetato, más preferentemente desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 100 mM de ambos, glucosa y acetato, aún más preferentemente desde aproximadamente 15 mM hasta aproximadamente 75 mM de ambos, glucosa y acetato, aún más preferentemente desde aproximadamente 20 mM hasta aproximadamente 60 mM de ambos, glucosa y acetato, como ser desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 55 mM de ambos, glucosa y acetato, desde aproximadamente 30 mM hasta aproximadamente 50 mM de ambos, glucosa y acetato, desde aproximadamente 35 mM hasta aproximadamente 50 mM de ambos, glucosa y acetato, preferentemente aproximadamente de 40 mM de ambos, glucosa y acetato.

En un modo de realización, la cepa bacteriana intestinal aislada, o una cepa derivada de la misma como se enseña aquí comprende además un operón de absorción y degradación de lisina glicosilada.

En un modo de realización, la cepa bacteriana intestinal aislada, o una cepa derivada de la misma, como se enseña aquí también es capaz de convertir una lisina glicosilada en ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo.

En un modo de realización, la lisina glicosilada es fructosa-lisina y el operón de absorción y degradación de lisina glicosilada es un operón de absorción y degradación de fructosa-lisina.

En un modo de realización, el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina comprende uno o más de los genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructoselisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; y el transportador ABC que consta de 4 subunidades: el transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP. Por ejemplo, el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina puede constar de al menos, tres, cuatro, cinco, seis o todos los siete de los genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructoselisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; y el transportador ABC que consta de 4 subunidades: transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP.

En un modo de realización, la expresión de al menos uno de los genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructoselisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP, se regula cuando la bacteria aumenta en L-lisina como única fuente de carbono, relativamente a cuando la bacteria se desarrolla en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.

En otro modo de realización, al menos una de las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructoselysine 3-epimerase; fructosamina deglicasa; transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina ; PotC

componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP, se sobreexpresa cuando la bacteria crece en L-lisina como única fuente de carbono comparativamente a cuando la bacteria aumenta en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.

En el contexto de la presente invención, la cantidad de L-lysine aplicada para determinar si los genes están aumentados o las proteínas están sobre-expresadas en una cepa bacteriana respecto de cuando dicha bacteria crece en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato puede estar en un rango desde aproximadamente 5 mM hasta aproximadamente 100 mM, preferentemente desde aproximadamente 10 mM hasta aproximadamente 50 mM, más preferentemente desde aproximadamente 15 mM hasta aproximadamente 25 mM, y es lo más preferiblemente aproximadamente 20 mM (particularmente cuando los experimentos comparativos del cultivo de la cepa bacteriana que ha crecido en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono se realizan con cantidades de glucosa 40 mM y acetato 40 mM).

En el contexto de la presente invención, las cantidades equimoleculares de glucosa y acetato a los que se refiere el presente pueden estar en un rango desde aproximadamente 1 mM hasta aproximadamente 200 mM de ambos, glucosa y acetato, que pueden disponerse en la forma de una sal de acetato, como el acetato de sodio, preferentemente desde aproximadamente 5 mM hasta aproximadamente 150 mM de ambos, glucosa y acetato, más preferentemente form about 10 mM hasta aproximadamente 100 mM de ambos, glucosa y acetato, aún más preferentemente desde aproximadamente 15 mM hasta aproximadamente 75 mM de ambos, glucosa y acetato, aún más preferentemente desde aproximadamente 20 mM hasta aproximadamente 60 mM de ambos, glucosa y acetato, como ser desde aproximadamente 25 mM hasta aproximadamente 55 mM de ambos, glucosa y acetato, desde aproximadamente 30 mM hasta aproximadamente 50 mM de ambos, glucosa y acetato, desde aproximadamente 35 mM hasta aproximadamente 50 mM de ambos, glucosa y acetato, preferentemente about 40 mM de ambos, glucosa y acetato.

En un modo de realización, la cepa bacteriana aislada del intestino humano, o una cepa derivada de la misma, como se enseña aquí, comprende el conjunto de genes de la ruta de la lisina según se enseña aquí y/o el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina según se enseña aquí.

En un modo de realización preferido, la cepa bacteriana aislada del intestino humano, o una cepa derivada de la misma, según se enseña aquí, comprende ambos, el conjunto de genes de la ruta de la lisina como se enseña aquí, y el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina como se enseña aquí.

En un modo de realización, la cepa bacteriana intestinal aislada, o una cepa derivada de la misma, como se enseña aquí es una bacteria intestinal aislada de un ser humano que naturalmente comprende un conjunto de genes de la ruta de la lisina y/o un operón de absorción y degradación de fructosa-lisina según se enseña aquí y que es capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo y/o es capaz de convertir fructosa-lisina en ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo.

En otro modo de realización, la cepa bacteriana como se enseña aquí es una cepa bacteriana, que ha sido transfectada en el conjunto de genes de la ruta de la lisina y/o el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina según se enseña aquí, y que es capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo y/o es capaz de convertir la fructosa-lisina en ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo. La persona experta conoce bien métodos para transfectar bacterias con un constructo genético deseado (por ejemplo, un operón o un conjunto de genes de una determinada ruta).

Preferentemente, el aislado del intestino humano que se describe en el presente documento es sensible a la eritromicina, con una CIM de eritromicina de menos de 20 µg/ml, más preferentemente menos de 15 µg/ml, aún más preferentemente menos de 10 µg/ml, aún más preferentemente menos de 7 µg/ml, aún más preferentemente menos de 5 µg/ml, pero aún más preferentemente 4, menos de 3, o menos de 2 µg/ml. Esto le permite al aislado se administrado a seres humanos sin introducir bacterias resistentes a la eritromicina.

En un modo de realización, el aislado del intestino humano que se describe en el presente documento es sensible a la cefotaxima, con una CIM de cefotaxima de menos de 20 µg/ml, más preferentemente menos de 15 µg/ml, aún más preferentemente menos de 10 µg/ml, aún más preferentemente menos de 7 µg/ml, aún más preferentemente menos de 5 µg/ml, pero aún más preferentemente 4, menos de 3, o menos de 2 µg/ml, aún más preferentemente menos de 1 µg/ml. Esto permite que el aislado pueda ser administrado a los seres humanos sin introducir bacterias resistentes a la cefotaxima.

En un modo de realización, el aislado del intestino humano que se describe en el presente documento es sensible a la oxacilina, con una CIM de oxacilina de menos de 20 µg/ml, más preferentemente menos de 15 µg/ml, aún más preferentemente menos de 10 µg/ml, aún más preferentemente menos de 7 µg/ml, aún más preferentemente

menos de 5 µg/ml, pero aún más preferentemente 4, menos de 3, o menos de 2 µg/ml, aún más preferentemente menos de 1 µg/ml. Esto permite que el aislado pueda ser administrado a los seres humanos sin introducir bacterias resistentes a la oxacilina.

En un modo de realización, el aislado del intestino humano que se describe en el presente documento es sensible a la teicoplanina, con una CIM de teicoplanina de menos de 20 µg/ml, más preferentemente menos de 15 µg/ml, aún más preferentemente menos de 10 µg/ml, aún más preferentemente menos de 7 µg/ml, aún más preferentemente menos de 5 µg/ml, pero aún más preferentemente 4, menos de 3, o menos de 2 µg/ml, aún más preferentemente menos de 1 µg/ml. Esto permite que el aislado pueda ser administrado a los seres humanos sin introducir bacterias resistentes a la teicoplanina.

En un modo de realización, el aislado del intestino humano que se describe en el presente documento es sensible a la tobramicina, con una CIM de tobramicina de menos de 20 µg/ml, más preferentemente menos de 15 µg/ml, aún más preferentemente menos de 10 µg/ml, aún más preferentemente menos de 7 µg/ml, aún más preferentemente menos de 5 µg/ml, pero aún más preferentemente 4, o menos de 3. Esto permite que el aislado pueda ser administrado a los seres humanos sin introducir bacterias resistentes a la tobramicina.

En un modo de realización, el aislado del intestino humano que se describe en el presente documento es sensible a la vancomicina, con una CIM de vancomicina de menos de 20 µg/ml, más preferentemente menos de 15 µg/ml, aún más preferentemente menos de 10 µg/ml, aún más preferentemente menos de 7 µg/ml, aún más preferentemente menos de 5 µg/ml, pero aún más preferentemente 4, menos de 3, o menos de 2 µg/ml, aún más preferentemente menos de 1 µg/ml. Esto permite que el aislado pueda ser administrado a los seres humanos sin introducir bacterias resistentes a la vancomicina.

En un modo de realización, el aislado que se describe en el presente documento es sensible a todas las siguientes: cefotaxima, eritromicina, oxacilina, teicoplanina, tobramicina y vancomicina.

En un modo de realización, la cepa bacteriana intestinal aislada, o una cepa derivada de la misma como se enseña aquí pertenece al filo *Firmicutes*, preferentemente al taxón *Clostridium* cluster IV (*Ruminococcaceae*; Rajilic-Stojanovic & De Vos 2014, FEMS Microbiol Rev 38:996-1047), más preferentemente al género *Intestinimonas*, aún más preferentemente a la especie *Intestinimonas butyriciproducens*.

Klaring et al. (2013. Int J of Syst and Evol Microbiol, 63:4606) describe un aislado del intestino de un ratón designado cepa *Intestinimonas butyriciproducens* SRB-521-5-1 (depositada como DSM 26588). Los aislados del intestino de ratones no son adecuados para ser administrados a los seres humanos. En particular, se verificó que, si bien ambas cepas eran capaces de producir butirato a partir de azúcares y lisina, la cepa humana AF211 eran más eficiente en estas conversiones que el aislado de ratón. Se destaca que esta observación se verificó respecto de arabinosa y galactosa, dos azúcares presentes en las dietas de los seres humanos, pero no en la de los ratones (datos no publicados).

Pfleiderer et al. (2013. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 32:1471) describen nuevas especies bacterianas, una de las cuales es la cepa denominada *Clostridium anorexicus* cepa AP4, que en la actualidad ha sido reclasificada como "*Intestinimonas butyriciproducens* cepa AP4" en base a la secuencia 16S rRNA. Esta cepa no está disponible para el público y no ha sido descrita en detalle.

En un modo de realización, la cepa bacteriana aislada, o una cepa derivada de la misma, como se enseña aquí no es la *Intestinimonas butyriciproducens* cepa ER1, y/o *Intestinimonas butyriciproducens* cepa SRB-521-5-1 (DSM 26588; un aislado del intestino de un ratón), y/o *Clostridium anorexicus* cepa AP4 (también conocida como "*Intestinimonas butyriciproducens* cepa AP4").

Composiciones

En un tercer aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende cualquier cepa bacteriana aislada, o cualquier cepa derivada de la misma, según se enseña aquí, y un portador fisiológicamente aceptable.

En un modo de realización, la cepa bacteriana aislada, o una cepa derivada de la misma, como se enseña aquí no es *Intestinimonas butyriciproducens* cepa ER1, y/o *Intestinimonas butyriciproducens* cepa SRB-521-5-1 (DSM 26588), y/o *Clostridium anorexicus* cepa AP4.

En un modo de realización preferido, la composición según se enseña aquí comprende la cepa bacteriana intestinal aislada depositada como CBS 139326 (también llamada '*Intestinimonas* AF211'), o una cepa derivada de la misma, y un portador fisiológicamente aceptable.

En un modo de realización, el portador fisiológicamente aceptable puede ser cualquier portador que sea adecuado para mantener viable la cepa bacteriana intestinal que se describe en el presente documento hasta que el sujeto la consuma (puede tratarse, por ejemplo, de seres humanos y/o de animales). Ejemplos no limitantes de portadores aceptables y adecuados para estos propósitos incluyen cualquiera de los portadores fisiológicos o farmacéuticos conocidos, tampones y excipientes. Podrá apreciarse que la elección de un portador fisiológico o farmacéutico adecuado dependerá del modo de administración de la composición descrito en este documento que se desee aplicar (por ejemplo, por vía oral) y de la forma de la composición deseada (por ejemplo, en forma de bebida, yogurt, polvo, cápsulas y similares). La persona experta conoce cómo seleccionar un portador fisiológico o farmacéutico que resulte adecuado para las composiciones que se enseñan aquí.

En un modo de realización, la composición según se enseña aquí puede presentarse en forma de composición de alimento, composición de pienso, composición de suplemento de pienso, composición de suplemento de alimento o composición farmacológica. La composición es preferentemente adecuada para ser consumida por los seres humanos.

En un modo de realización, la composición es una composición alimenticia o de suplemento alimenticio. La composición de alimentos o suplementos alimenticios puede seleccionarse del grupo que comprende un líquido, una bebida líquida (incluyendo bebidas lácteas y bebidas fermentadas), yogurt, queso, gel, gelatina, cápsula de gelatina, polvo, pasta y tableta prensada. En un modo de realización adecuado, la composición es un líquido, preferentemente una bebida líquida (por ejemplo, una bebida láctea). La composición del alimento o suplemento alimenticio puede ser un producto lácteo, normalmente un producto lácteo fermentado, específicamente un yogurt o una bebida de yogurt.

En un modo de realización, la composición según se enseña aquí puede ser una composición probiótica. Dicha composición probiótica puede comprender cualquiera de las cepas bacterianas intestinales aisladas que se describen aquí, o una cepa derivada de la misma.

En un modo de realización, la composición según se enseña aquí comprende además una o más cepas bacterianas intestinales aisladas beneficiosas adicionales.

En un modo de realización, dicha cepa o más cepas bacterianas intestinales aisladas beneficiosas adicionales puede ser cualquier cepa bacteriana de ácido láctico seleccionada de los géneros *Lactobacillus* y/o *Bifidobacterium* y/o cualquier bacteria productora de butirato que produzca butirato mediante la ruta acetil-CoA.

En un modo de realización, la composición puede ser una composición simbiótica. Puede ser ventajoso agregar uno o más ingredientes prebióticos a la composición según se enseña aquí, por ejemplo, para mejorar los efectos (por ejemplo, la producción de ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo) de la cepa bacteriana intestinal que se describe en el presente documento.

En un modo de realización, el ingrediente prebiótico o más ingredientes prebióticos pueden ser cualquier ingrediente prebiótico que sea adecuado para mejorar la actividad y/o estimular la multiplicación de la bacteria intestinal aislada, o una cepa derivada de la misma, como se enseña aquí. Ejemplos no limitantes de ingredientes prebióticos adecuados incluyen fibras, celobiosa, maltosa, manosa, salicina, trehalosa, amigdalina, arabinosa, melibiosa, ramnosa y/o xilosa.

En un modo de realización, la composición según se enseña aquí comprende una fuente rica en lisina y/o lisina. Por ejemplo, podría ser conveniente agregar una fuente rica en lisina y/o lisina a la composición según se enseña aquí para dar mayor impulso a la producción de ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo en el tracto gastrointestinal de un mamífero (por ejemplo, un ser humano).

En un modo de realización, la composición según se enseña aquí puede comprender uno o más ingredientes que sean adecuados para impulsar la supervivencia y/o la viabilidad de la cepa bacteriana intestinal aislada o una cepa derivada de la misma como se enseña aquí durante el almacenamiento y/o durante la exposición a la bilis y/o durante el pasaje a través del tracto gastrointestinal de un mamífero (por ejemplo, un ser humano). Ejemplos no limitantes de dichos ingredientes incluyen un revestimiento entérico y agentes de liberación controlada que permiten el paso a través del estómago. La persona experta sabrá seleccionar ingredientes adecuados para mantener una cepa bacteriana intestinal aislada (como cualquiera de las bacterias intestinales aisladas según se enseña aquí) viable y funcional, es decir, capaz de realizar la función o las funciones que se desea que la misma cumpla.

En un modo de realización, las composiciones que se describen en el presente documento pueden además comprender uno o más ingredientes, que mejoran aún más el valor nutritivo y/o el valor terapéutico de las composiciones que aquí se enseñan. Por ejemplo, es conveniente agregar uno o más ingredientes (por ej.

ingredientes nutricionales, veterinarios o agentes medicinales, etc.) seleccionados entre proteínas, aminoácidos, enzimas, sales minerales, vitaminas (por ejemplo, tiamina HCl, riboflavina, piridoxina HCl, niacina, inositol, cloruro de colina, pantotenato de calcio, biotina, ácido fólico, ácido ascórbico, vitamina B12, ácido p-aminobenzoico, acetato de vitamina A, vitamina K, vitamina D, vitamina E y similares), azúcares y carbohidratos complejos (por ejemplo, monosacáridos, disacáridos y polisacáridos solubles e insolubles en agua), compuestos medicinales (por ejemplo, antibióticos), antioxidantes, ingredientes de oligoelementos (por ejemplo, compuestos de cobalto, cobre, manganeso, hierro, zinc, estaño, níquel, cromo, molibdeno, yodo, cloro, silicio, vanadio, selenio, calcio, magnesio, sodio y potasio y similares). La persona experta está familiarizada con los métodos e ingredientes que son adecuados para mejorar el valor nutricional y/o terapéutico/medicinal de las composiciones que se enseñan en este documento.

La cepa bacteriana del presente documento puede incorporarse a la composición en forma liofilizada, microencapsulada (estudiada, por ejemplo, en el artículo Solanki et al. BioMed Res. Int. 2013, Article ID 620719), o cualquier otra forma de preservar la actividad y/o la viabilidad de la cepa bacteriana.

La composición según se enseña aquí puede ser una composición farmacológica. La composición farmacológica puede destinarse a ser utilizada como suplemento. Una composición farmacológica normalmente comprenderá un portador farmacéutico, además de la cepa bacteriana que aquí se enseña. El portador es preferentemente un portador inerte. La forma preferida depende del modo de administración y la aplicación terapéutica deseados. El portador farmacológico podrá ser cualquier sustancia compatible y no tóxica adecuada para llevar las bacterias de la cepa bacteriana que aquí se enseña al tracto gastrointestinal de un sujeto. Por ejemplo, pueden usarse como portadores agua estéril o sólidos inertes, que usualmente se complementan con un adyuvante farmacéuticamente aceptable, agente tamponador, agente dispersante y similares. Una composición farmacológica según se enseña aquí puede ser de forma líquida, por ejemplo, una suspensión estabilizada de bacterias de la cepa bacteriana que aquí se enseña, o forma sólida, por ejemplo, un polvo de bacterias liofilizadas de la cepa bacteriana que aquí se enseña. Si el caso es que la cepa bacteriana que aquí se enseña está liofilizada, puede emplearse un crioprotector, como lactosa, trehalosa o glucógeno. Por ejemplo, para la administración oral, las bacterias de la cepa bacteriana que aquí se enseña pueden administrarse en forma de dosificación sólida, como cápsulas, tabletas y polvos, que incorporan bacterias liofilizadas, o bien en forma de dosificación líquida, como elixires, jarabes y suspensiones. Las bacterias de la cepa bacteriana que aquí se enseña, por ejemplo, en forma liofilizada, pueden estar encapsuladas, en cápsulas como cápsulas de gelatina, junto con ingredientes inactivos y vehículos en polvo, como por ejemplo glucosa, lactosa, sacarosa, manitol, almidón, celulosa o derivados de la celulosa, estearato de magnesio, ácido esteárico, sacarina de sodio, talco, carbonato de magnesio y similares.

En un modo de realización, la bacteria intestinal o una cepa derivada de la misma según se enseña aquí pueden estar incluidas en la composición según se enseña aquí en una cantidad que oscila desde aproximadamente 10^6 hasta aproximadamente 10^{15} unidades formadoras de colonias (UFC). Por ejemplo, las bacterias intestinales pueden estar comprendidas en la composición en una cantidad de aproximadamente 10^7 UFC hasta aproximadamente 10^{14} UFC, preferentemente aproximadamente 10^8 UFC hasta aproximadamente 10^{13} UFC, preferentemente aproximadamente 10^9 UFC hasta aproximadamente 10^{12} UFC, más preferentemente aproximadamente 10^{10} UFC hasta aproximadamente 10^{12} UFC.

Las composiciones que se describen en este documento pueden producirse mediante cualquier método convencional.

Métodos y usos de la invención

En otro aspecto, esta invención se ocupa de una cepa bacteriana según se enseña aquí o bien una composición, según se enseña aquí para uso como medicamento, para utilización como alimento o suplemento alimenticio o para ser utilizada como probiótico y/o simbiótico.

En otro aspecto aún, la presente invención pertenece a una cepa bacteriana según se enseña aquí o bien una composición, según se enseña aquí, para ser aplicada a mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal en general, y/o para la prevención y/o el tratamiento de afecciones o enfermedades como el cáncer (por ejemplo, el cáncer colorrectal), EII (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), SII, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como síndrome metabólico y resistencia a la insulina, o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (por ejemplo, sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico, trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia, o encefalopatía.

La invención también va dirigida a un método para mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal en

general, y/o para la prevención y/o el tratamiento de afecciones o enfermedades como el cáncer (por ejemplo, el cáncer colorrectal), EII (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), SII, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como síndrome metabólico y resistencia a la insulina. o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (por ejemplo, sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico, trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia, o encefalopatía en un sujeto que lo necesite, dicho método comprende el paso de aumentar el nivel de una cepa bacteriana según se enseña aquí en dicho sujeto. El nivel de las cepas bacterianas según se enseña aquí en dicho sujeto puede aumentarse si se administra una cantidad efectiva de dicha cepa bacteriana a dicho sujeto y/o si se administra una cantidad efectiva de un compuesto capaz de aumentar el nivel de dicha cepa bacteriana en (el tracto gastrointestinal de) dicho sujeto.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a métodos para metabolizar la fructosa-lisina y/o para evitar y/o reducir la formación de lisina glicosilada, como la fructosa-lisina u otros AGEs, y/o para aumentar los niveles del ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo en el tracto gastrointestinal de un sujeto, y dicho método comprende el paso de aumentar el nivel de las cepas bacterianas según se enseña aquí en el tracto gastrointestinal de dicho sujeto.

En un modo de realización, es posible aumentar el nivel de la cepa bacteriana intestinal o una cepa derivada de la misma según se enseña aquí en el tracto gastrointestinal de dicho sujeto ya sea administrando una cantidad efectiva de dicha cepa bacteriana intestinal aislada a dicho sujeto o administrando una cantidad efectiva de un compuesto capaz de aumentar el nivel de dicha bacteria intestinal en el tracto gastrointestinal de dicho sujeto.

La cepa bacteriana o una cepa derivada de la misma como se enseña aquí puede administrarse en forma de composición según se enseña aquí.

En un modo de realización, la cepa bacteriana o una cepa derivada de la misma como se enseña aquí puede administrarse conjuntamente con lisina o un compuesto rico en lisina, como proteínas o fragmentos proteínicos derivados de leches bovinas u otras leches, como así también puede administrarse en simultáneamente con lisina o un compuesto rico en lisina, como proteínas o fragmentos proteínicos derivados de leches bovinas u otras leches, como así también de origen vegetal como la soja, la alubia carrilla u otro tipo de alubias o frijoles. La persona experta podrá fácilmente identificar, sin mayores complicaciones, compuestos ricos en lisina.

En un modo de realización preferido, puede aumentarse el nivel de la cepa bacteriana o una cepa derivada de la misma según se enseña aquí, en el tracto gastrointestinal de un sujeto mediante la administración a dicho sujeto de una cantidad efectiva de la cepa bacteriana o una cepa derivada de la misma, según se enseña aquí, y/o composiciones como las que se enseña aquí, pero preferentemente *Intestinimonas* AF211 y/o una composición que contenga *Intestinimonas* AF211.

En un modo de realización, el sujeto puede seleccionarse del grupo que consiste en seres humanos, primates no humanos, ratones, ratas, perros, vacas y cerdos. En un modo de realización preferido, el sujeto es un ser humano. En un modo de realización específico, el sujeto es un ser humano con una cantidad reducida de bacterias butirogénicas, específicamente bacterias butirogénicas según la presente invención, en el tracto gastrointestinal.

La invención también se refiere a un método para producir butirato, y dicho método comprende el paso de poner en contacto la cepa bacteriana como se enseña aquí con una fuente de energía adecuada, por ejemplo, lisina o glucosa/acetato, en condiciones que permitan a la cepa bacteriana que aquí se describe convertir la fuente de energía en butirato.

Además, la invención se refiere a un método para producir butirato, y dicho método comprende el paso de poner en contacto la cepa bacteriana como se enseña aquí con fructosa-lisina en condiciones que permitan a la cepa bacteriana convertir la fructosa-lisina en butirato.

Los métodos descritos en el presente documento pueden ser métodos in vitro.

Con los siguientes ejemplos se ilustra la presente invención, sin por ello limitarla. Del análisis anterior y de estos ejemplos, la persona versada en la materia podrá constatar las características esenciales de la presente invención, y, sin desviarse de las descripciones y del alcance de la misma, podrá introducir varios cambios y modificaciones a la invención para adaptarla a los diversos usos y condiciones. Por lo tanto, a partir de las descripciones anteriores, quienes versan en la materia reconocerán las varias posibles modificaciones a la invención además de lo que se muestra y describe en el presente. Se establece que dichas modificaciones estén dentro del alcance de las

reivindicaciones adjuntas.

La Figura 1 muestra la conversión de lisina y la producción de butirato y acetato en el desarrollo de AF211 en L-lisina como única fuente de carbono.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Análisis funcional de *Intestinimonas* AF211

El objetivo de este estudio fue evaluar si la cepa *Intestinimonas* AF211 es capaz de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o un derivado del mismo.

Cultivo: Se recolectó una muestra de materia fecal de un sujeto sano. La muestra de materia fecal se enriqueció con un medio de sal mineral tamponado con bicarbonato anaeróbico con contenido de 40 mM lactato y 40 mM acetato como fuente de energía y de carbono. La parte de vacío se llenó de CO₂/N₂ (1:5) a 1.5 atm y se incubó a 37 °C. A continuación, se aisló la cepa *Intestinimonas* AF211 en un medio de clostridio reforzado (RCM, disponible en Difco) en filas de dilución seriales y se emplató por lo menos 2 veces. La purificación se confirmó mediante secuenciación de gen 16S rRNA. La cepa *Intestinimonas* AF211 se mantuvo en el medio RCM a 37 °C.

Análisis funcional: Para evaluar la capacidad de la *Intestinimonas* AF211 de convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato y derivados, se cultivó un grupo de *Intestinimonas* AF211 en un medio de tampón con bicarbonato con contenido de 20 mM L-lisina como fuente única de carbono y energía. También se comprobó la capacidad de la *Intestinimonas* AF211 de producir ácido butírico y/o butirato y/o un derivado del mismo en presencia de otros aminoácidos cultivando grupos separados de *Intestinimonas* AF211 en un medio tamponado con bicarbonato con un contenido de 20 mM de D-lysine, glutamato, glutamina, glicina, prolina, arginina, aspartato o metionina. Se cultivó otro grupo de *Intestinimonas* AF211 en un medio tamponado con bicarbonato con un contenido de 20 mM de glucosa, galactosa, arabinosa, lactosa, maltosa o fructosa más acetato.

Se comprobó la producción de ácido butírico y/o butirato, como así también otros productos (por ejemplo, acetato) mediante Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)) y medición OD mediante espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm. La degradación de la lisina se cuantificó en una HPLC utilizando una columna Polaris C18-A (Agilent) funcionando a 45 °C y un detector de UV-visibles a una longitud de onda de 436 nm. El caudal fue de 0.5ml/min. La fase móvil del eluyente A2 consistió en ácido acético 24 mM: acetonitrilo al 8% (pH 6.6) como disolvente A y acetonitrilo: 2-propanol (60:40) como disolvente B. El gradiente de eluyente se fijó en base a la solución A al 95% y 5 % de la solución B, al 25% de la solución A y el 75% de la solución B durante los primeros 15 minutos y cada ciclo se realizó durante 22 minutos en total. El estándar interno fue de 4 mM de norleucina. La formación del producto se midió en un sistema Thermo Scientific HPLC Spectra equipado con una columna Agilent Metacarb 67H 300 x 6.5 mm mantenida a 37° C y funcionando con arabinosa 10 mM como eluyente. El detector era un detector de índice de refracción. El flujo de eluyente fue de 0,8 ml / min. La producción de gas se realizó como se describió anteriormente. Todos los análisis se realizaron por duplicado.

Se cultivó *Intestinimonas* AF211 en un medio tamponado con bicarbonato con un contenido de 20 mM of [2-¹³C] L-lisina o [6-¹³C]L-lisina. Se adquirió lisina etiquetada de la firma Campro Scientific (Veenendaal, Países Bajos). Las muestras se tomaron de un cultivo cultivado durante la noche y se centrifugó a 10000 g. Los sobrenadantes se disolvieron en 0.5 mL D₂O (99.9 atom %, Sigma Aldrich) y se recogieron luego en tubos NMR (Campro Scientific). Se registraron espectros de ¹³C NMR con una sonda de temperatura de 300K en un espectrómetro Bruker Avance-III-500 localizada en el Centro Wageningen NMR (WNMRC), Wageningen, Países Bajos. Los cambios químicos se expresaron en ppm respecto de C-6 de lisina agregada [6-¹³C] a 41.75 ppm (banco de datos: Biological Magnetic Resonance Data Bank, en el sitio web http://www.bmrwisc.edu/metabolomics/metabolomics_standards). Los productos se identificaron en base a los cambios químicos comparativamente con la base de datos anterior.

Resultados: Los resultados del experimento se muestran en la Figura 1. En resumen, los resultados revelaron que la cepa *Intestinimonas* AF211 era capaz de convertir la L-lisina en butirato. Más específicamente, se verificó que la *Intestinimonas* AF211 convertía aproximadamente 16.8 mM de L-lisina en 14.2 mM de butirato y 15.6 mM de acetato (véase Figura 1). Los resultados también mostraron que no se puede producir butirato a partir de las *Intestinimonas* AF211 cuando se las cultiva en presencia de aminoácidos distintos de la L-lisina.

Ejemplo 2: Identificación de los genes presentes en la ruta de la lisina.

El objetivo de este experimento era determinar si la *Intestinimonas* AF211 posee los genes que constituyen la ruta de la lisina. Con este propósito, se secuenció el genoma de la *Intestinimonas* AF211 utilizando secuenciación de

próxima generación de molécula única (NCBI número de orden CP009497). Los resultados fueron luego analizados en los que se buscaba la presencia de genes que pertenezcan a la ruta de la lisina.

Secuenciación del Genoma: Se utilizó *Intestinimonas* AF211, que se cultivó en RCM (o/n), para la extracción del ADN. El aislado del ADN se realizó utilizando un kit ZR Fungal/Bacteria DNA MiniPrep (ZYMO) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó la secuenciación del genoma de una biblioteca de 15kb con instrumento PacBio RS II utilizando química P4/C2 (Pacific Biosciences, Menlo Park CA, USA). Los datos de procesamiento y filtrado se realizaron con tubos de análisis PacBio SMRT v2.2 y el protocolo Hierarchical Genome Assembly Process (HGAP) (<http://www.pacb.com/devnet>).

Resultados: Los resultados muestran que el genoma de *Intestinimonas* AF211 consistía en un solo cromosoma circular de 3.376.476 pb, que portaba 3359 secuencias codificantes que se anotaron con el número de orden NCBI CP009497. Cabe destacar que se halló todo el conjunto de genes de la ruta de la lisina (también llamado cluster AF976-982) en *Intestinimonas* AF211. Más específicamente, los genes que pueden encontrarse comprendidos en el conjunto de genes de la ruta de la lisina se enumeran en el Cuadro 1, a continuación.

Cuadro 1. Genes comprendidos en el conjunto de genes de la ruta de la lisina y detectados en *Intestinimonas* AF211.

	Genes comprendidos en el conjunto de genes de la ruta de la lisina y detectados en <i>Intestinimonas</i> AF211	Etiqueta
1.	L-Lisina permeasa	AF887
2.	Lisina 2,3-aminomutasa (EC 5.4.3.2)	AF980
3.	Subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa (EC 5.4.3.3)	AF981
4.	Subunidad beta de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa (EC 5.4.3.3)	AF982
5.	3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa (EC 1.4.1.11)	AF979
6.	enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato	AF977
7.	3-aminobutiril-CoA amoniaco-liasa	AF976
8.	Butiril-CoA deshidrogenasa (EC 1.3.99.2)/Etf	AF2889 a 2891
9.	Subunidad de CoA-transferasa de butirato-acetoacetato A (EC 2.8.3.9)	AF3339
10.	Subunidad de CoA-transferasa de butirato-acetoacetato B (EC 2.8.3.9)	AF3340
11.	Acetil-CoA: acetoacetyl-CoA transferasa (EC 2.8.3.8)	AF155
12.	3-cetoacil-CoA tiolasa (EC 2.3.1.16) / Acetil-CoA acetiltransferasa (EC 2.3.1.9)	AF3338
13.	Fosfato acetiltransferasa (EC 2.3.1.8)	AF212
14.	Quinasa de acetato (EC 2.7.2.1)	AF1052
15.	Cluster Rnf de bombeo de protones (subunidades A, B, C, D, E, G)	AF682 a 687
16.	Cluster ATP sintasa de tipo V (subunidades A, B, C, D, E, F, I, K)	AF3050 a 3057
17.	Pirofosfatasa inorgánica (EC 3.6.1.1)	AF2617
18.	Transportador de amonio	AF653, AF1882, AF1747, AF2982, AF3082, AF3208
19.	Transportador de ácidos grasos de cadena corta putativo	AF191, AF924, AF1158
20.	Na ⁺ /H ⁺ antiportador	AF1159, AF2156, AF3116

Ejemplo 3: Análisis proteómico de la ruta de utilización de la lisina

A fin de evaluar si la *Intestinimonas* AF211 es capaz de producir proteínas codificadas por los genes de la ruta de degradación de la lisina (ver Cuadro 1, Ejemplo 2), se llevó a cabo el siguiente experimento:

Cultivo: Se cultivó un primer grupo de *Intestinimonas* AF211 en 500 ml de un medio de tampón de bicarbonato que comprendía 20 mM L-lisina como fuente única de carbono y energía. Se cultivó un segundo grupo de *Intestinimonas* AF211 en 500 ml de medio de tampón de bicarbonato que comprendía 40mM de glucosa y 40 mM de acetato de sodio (GA) como fuente única de carbono y energía. En un paso siguiente, las proteínas producidas por ambos grupos se recogieron, obteniendo *Intestinimonas* AF211 de cada condición experimental en la fase exponencial por centrifugación a 10000xg a 4°C durante 20 min. Los gránulos obtenidos se lavaron posteriormente dos veces en 100mM Tris-HCl, pH 7.5, 1 mM ditiotretitol (DTE) y se suspendieron en 1 ml de tampón de lisis SDT, que contenía 100 mM Tris/HCl pH7.5, 4% SDS y 0.1 M ditiotretitol. En un paso siguiente, se extrajeron las proteínas de acuerdo con el método de Bennett et al (1995), FEMS Microbiology Reviews, Vol: 17, páginas 241-249. Se analizó la abundancia de las proteínas extraídas de cada una de las condiciones experimentales mediante LC-MS/MS.

Análisis de proteínas: se realizó un análisis cuantitativo de proteómica en la fracción de proteína citoplasmática. Con este objetivo, se dedujo una base de datos de *Intestinimonas* AF211 de su genoma y se utilizó junto con una base de datos de contaminantes, que contenía secuencias de contaminantes comunes como ejemplo, BSA, tripsina, queratina, albúmina de suero bovino. El resultado de proteómica contenía péptidos y proteínas con una tasa de descubrimiento falso (*false Discovery rate* - FDR) de menos de 1% y proteínas con al menos 2 péptidos identificados, de los cuales uno debería ser único y uno debería permanecer intacto, sin ningún impacto inverso. El logaritmo normal se tomó de intensidades de proteínas sin etiquetas de cuantificación (*label free quantitation* (LFQ)). Los valores cero "Log LFQ" se reemplazaron por un valor de 5.4 (apenas debajo del valor más bajo) para posibilitar la realización de cálculos de coeficientes sensibles. La cuantificación relativa de proteína de la muestra respecto al control se realizó con Perseus 1.3.0.4 aplicando un ensayo-T de dos muestras utilizando las columnas de "intensidad LFQ" obtenidas del conjunto FDR a 0.05 y el conjunto S0 a 1. Las intensidades totales de proteínas no normalizadas corregidas por el número de péptidos tripticos medibles daban una intensidad basada en la intensidad de cuantificación absoluta (*based absolute quantitation intensity* (iBAQ)). Se cuantificó el total de proteínas utilizando Qubit®2.0 Fluorometer (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Resultados: Los resultados del análisis de proteómica revelaron que *Intestinimonas* AF211 es capaz de producir todas las proteínas que intervienen en la conversión de L-lisina en butirato y empleó la ruta de utilización de la lisina como se enseña aquí (es decir, codificada por genes comprendidos en el conjunto de genes de la ruta de la lisina AF976-982. Ver Cuadro 1, ejemplo 2). Los resultados también muestran que *Intestinimonas* AF211 fue capaz de producir todas las proteínas implicadas en la conversión de glucosa y acetato en butirato y emplearon la ruta acetil-CoA, similar a los otros elementos de *Clostridium* cluster IV. En conjunto, estos resultados indican que *Intestinimonas* AF211 comprende tanto la ruta de utilización de la lisina (como se enseña aquí) como la ruta convencional acetil-CoA.

Asimismo, se verificó que la producción de proteínas codificadas por los genes de la ruta de la lisina aumentó cuando se cultivó *Intestinimonas* AF211 en presencia de L-lisina como fuente única de carbono y energía comparativamente con el caso en el que *Intestinimonas* AF211 se cultivó en presencia de cantidades equimoleculares de glucosa y acetato (GA) como fuente única de carbono y energía. Por ejemplo, estos inventores observaron que las siguientes proteínas aumentaron en presencia de L-lisina relativamente a la presencia de glucosa y acetato como fuente única de carbono: acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa (aumento 4.08 veces); fosfatoacetiltransferasa (aumento 3.25 veces), enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato (aumento 10.87 veces); 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa (aumento 7.07 veces); lisina 2,3-aminomutasa (aumento 11.11 veces); subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa (aumento 6.25 veces); subunidad beta de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa (aumento 11.26 veces); acetate kinase (aumento 2.83 veces); 3-ketoacyl-CoA tiolasa/acetil-CoA acetiltransferasa (aumento 1.34 veces); butirato-acetoacetate CoA-transferasa (aumento 1.57 veces); y butirato-acetoacetate CoA-transferasa subunidad beta (aumento 2.03 veces).

Ejemplo 4: Metabolismo de productos glicosilados de Amadori.

El objetivo de este experimento fue evaluar si *Intestinimonas* AF211 era capaz de crecer eficientemente en un medio que comprende fructosa-lisina y si *Intestinimonas* AF211 era capaz de convertir la fructosa-lisina en butirato. Asimismo, se analizó el genoma de *Intestinimonas* AF211 en búsqueda de presencia de los genes comprendidos en el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina.

Análisis funcional: con el fin de evaluar si *Intestinimonas* AF211 es capaz de metabolizar la Lisina glicosilada de Amadori (fructosa-lisina), se cultivó *Intestinimonas* AF211 en un medio de bicarbonato que comprendió 20 mM de fructosa-lisina durante 4 días.

Resultados: Los resultados del análisis del genoma revelaron que *Intestinimonas* AF211 posee un cluster similar a un operón con genes para el aumento y la degradación de la fructosa-lisina (AF949-955). Los genes se indican en el Cuadro 2 a continuación.

Los resultados del análisis funcional revelan que *Intestinimonas* AF211 no sólo era capaz de desarrollarse eficientemente en un sustrato de fructosa-lisina sino que también fue capaz de convertir la fructosa-lisina en butirato. Más específicamente, se demostró que la *Intestinimonas* AF211 era capaz de convertir 20 mM de fructosa-lisina en 16.4 mM de butirato, 0.2 mM de acetato, y 9.4 mM de amonio (NH₄⁺) durante un periodo de 4 días.

Cuadro 2. La Ruta de absorción y degradación de la fructosa-lisina

	Genes comprendido en el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina y detectados en <i>Intestinimonas</i> AF211	Etiqueta
1.	Fructosa-lisina quinasa	AF949
2.	Fructosa- lisina 3-epimerasa	AF950
3.	Fructosamina deglicasa	AF951
4.	Transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina	AF952
5.	PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina	AF953
6.	PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina	AF954
7.	PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP	AF955

Ejemplo 5: Análisis proteómico de la ruta de absorción y degradación de la fructosa-lisina

A fin de evaluar si *Intestinimonas* AF211 era capaz de producir las proteínas codificadas por los genes de la ruta de absorción y degradación de la fructosa-lisina (ver Cuadro 2, Ejemplo 4), se llevó a cabo el siguiente experimento:

Cultivo: Se cultivó un primer grupo de *Intestinimonas* AF211 en 500 ml en un medio de tampón de bicarbonato que comprendía 20 mM de lisina como fuente única de carbono y energía. Se cultivó un segundo grupo de *Intestinimonas* AF211 en 500 ml en un medio de tampón de bicarbonato que comprendía 40 mM de glucosa y 40 mM de sodio acetato (GA) como fuente única de carbono y energía. En un paso siguiente, las proteínas producidas por ambos grupos se recogieron, obteniendo *Intestinimonas* AF211 de cada condición experimental en la fase exponencial por centrifugación a 10000xg a 4°C durante 20 min. Los gránulos obtenidos se lavaron posteriormente dos veces en 100mM Tris-HCl, pH 7.5, 1 mM ditiotreititol (DTE) y suspendido en 1 ml de tampón de lisis SDT, que contenía 100 mM Tris/HCl pH7.5, 4% SDS y 0.1 M ditiotreititol. En un paso siguientes se extrajeron las proteínas de acuerdo con el método de Bennett et al (1995), FEMS Microbiology Reviews, Vol: 17, páginas 241-249. La abundancia de las proteínas extraídas de cada una de las condiciones experimentales se analizó con LC-MS/MS.

Análisis de proteínas: se realizó un análisis cuantitativo de proteómica en la fracción de proteína citoplasmática como se explicó en el Ejemplo 3 anterior.

Resultados: Los resultados del análisis proteómico revelaron que *Intestinimonas* AF211 también es capaz de producir todas las proteínas implicadas en la conversión de fructosa-lisina en butirato y emplearon la ruta de absorción y degradación de la fructosa-lisina como se enseña aquí (ver Cuadro 2, Ejemplo 3).

Asimismo, se comprobó que la producción de proteínas codificadas por los genes de la ruta de absorción y degradación de la fructosa-lisina según se enseña aquí aumentaron cuando se cultivó la *Intestinimonas* AF211 en presencia de lisina como fuente única de carbono y energía comparativamente a cuando se cultivó *Intestinimonas* AF211 en presencia de GA como fuente única de carbono y energía. Por ejemplo, estos inventores observaron que las siguientes proteínas aumentaron en presencia de lisina relativamente a cuando en presencia de GA: fructosa-lisina quinasa (aumento de 16.51 veces); fructosamina deglicasa (aumento de 9.42 veces); Transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina (aumento de 2.78 veces); PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina (aumento de 24.8 veces); y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP (aumento de 20.21 veces).

Ejemplo 6: Sensibilidad de antibióticos a *Intestinimonas* cepa AF211

En Rettedal et al. (Nature Comm (2014), 5:4714) se describe la utilización de antibióticos para aislar y cultivar bacterias del tracto intestinal de seres humanos. Sin embargo, este enfoque a menudo produce bacterias

resistentes a los antibióticos y éstas no son deseadas en las formulaciones dirigidas a uso en seres humanos o animales. La *Intestinimonas* cepa P1C2 que fue aislada se describió como resistente a la eritromicina (MIC 32 ug/ml), un antibiótico macrólido de uso frecuente en los seres humanos. Por lo tanto, se determinó la sensibilidad de *Intestinimonas* cepa AF211 contra la eritromicina. Se comprobó que la cepa AF211 era sensible a la eritromicina con una CIM de 1 ug/ml eritromicina.

5

La cepa AF211 demostró las siguientes sensibilidades a los varios antibióticos:

Antibiótico	CIM (µg/ml)
Cefotaxima	0.064-0.05
Eritromicina	0.75-1
Oxacilina	0.38
Teicoplanina	0.047
Tobramicina	2
Vancomicina	0.75

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una bacteria aislada del intestino humano que comprende un conjunto de genes de la ruta de la lisina que permite a dicha bacteria convertir L-lisina en ácido butírico y/o butirato o una sal o éster del mismo, y que además comprende un operón de absorción y degradación de lisina glicosilada que le permite a dicha bacteria convertir la lisina glicosilada en ácido butírico y/o butirato o una sal o éster del mismo.
- 10 2. La bacteria aislada del intestino humano según la reivindicación 1, en donde el conjunto de genes de la ruta de la lisina comprende genes que codifican una o más de las proteínas: Lisina 2,3-aminomutasa; subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; L- beta-lisina 5,6-aminomutase subunidad beta; 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa; enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato; 3-aminobutiril-CoA amoniaco-liasa; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad A; butirato-acetoacetate CoA-transferasa subunidad B; acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa.
- 15 3. La bacteria aislada del intestino humano según la reivindicación 2, en donde la expresión de al menos uno de los genes que codifican las proteínas: Lisina 2,3-aminomutasa; subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; L-beta-lisina 5,6- aminomutasa subunidad beta; 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa; enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato; 3-aminobutiril-CoA amoniaco-liasa; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad A; butirato-acetoacetate CoA- transferasa subunidad B; acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa, aumenta (upregulated) y/o al menos una de las proteínas: Lisina 2,3-aminomutasa; subunidad alfa de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; subunidad beta de L-beta-lisina 5,6-aminomutasa; 3,5-diaminobexanoato deshidrogenasa; enzima de escisión de 3-ceto-5-aminohexanoato; 3-aminobutyryl-CoA am- monia-lyase; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad A; butirato-acetoacetato CoA-transferasa subunidad B; acetil-CoA: acetoacetil-CoA transferasa, se sobre-expresa cuando la bacteria se cultiva en L-lisina como única fuente de carbono comparativamente a cuando la bacteria se cultiva en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.
- 20 4. La bacteria aislada del intestino humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la lisina glicosilada es fructosa-lisina, y el operón de absorción y degradación de lisina glicosilada es un operón de absorción y degradación de fructosa-lisina.
- 25 5. La bacteria aislada del intestino humano según la reivindicación 4, en donde el operón de absorción y degradación de fructosa-lisina comprende uno o más de los genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructosa-lisina 3-epime- rase; fructosamina deglicasa; transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; y PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP.
- 30 6. La bacteria aislada del intestino humano según la reivindicación 5, en donde la expresión de al menos uno de los genes que codifican las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructoselisisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; Transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP, aumenta (upregulated) y/o al menos una de las proteínas: fructosa-lisina quinasa; fructoselisisina 3-epimerasa; fructosamina deglicasa; transportador ABC proteína periplásmica PotD de unión a espermidina putrescina; PotC componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotB componente permeasa transportador ABC espermidina putrescina; PotA proteína de unión a putrescina transporte ATP, se sobre-expresa cuando la bacteria se cultiva en L-lisina como única fuente de carbono comparativamente a cuando la bacteria se cultiva en cantidades equimoleculares de glucosa y acetato como única fuente de carbono.
- 35 7. La bacteria aislada del intestino humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es sensible a la eritromicina, y tiene una concentración inhibitoria mínima de eritromicina de menos de 20 µg/ml.
- 40 8. Una bacteria aislada del intestino humano depositada como CBS 139326.
- 45 9. Composición que comprende una bacteria aislada del intestino humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes y un portador fisiológicamente aceptable.
- 50 10. Composición según la reivindicación 9, que es una composición alimentaria, preferentemente un producto lácteo, más preferentemente un producto lácteo fermentado, preferentemente un yogurt o una bebida de yogurt.
- 55 11. Composición según la reivindicación 9 o 10, que es una composición farmacológica, preferentemente en
- 60

forma de dosificación sólida, como una cápsula, una tableta o un polvo.

- 5 **12.** Composición según la reivindicación 11, en donde las bacterias que pertenecen a la cepa bacteriana está presente en forma liofilizada, micro encapsulada u otra forma que preserva su actividad.
- 13.** Una bacteria aislada del intestino humano según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o una composición según cualquiera de las reivindicaciones 9-12 para uso como medicamento.
- 10 **14.** Una bacteria aislada del intestino humano de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o una composición según cualquiera de las reivindicaciones 9-12 para ser utilizada como un probiótico y/o simbiótico.
- 15 **15.** Una bacteria aislada del intestino humano de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9-12 para ser utilizada para mantener, restaurar y/o mejorar la salud gastrointestinal en general, y/o para la prevención y/o el tratamiento de afecciones o enfermedades como cáncer (por ejemplo, cáncer colorrectal), EII (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), SII, obesidad, diarrea bacteriana y viral, estreñimiento, hinchazón, alergias, infecciones del tracto urinario, enfermedades metabólicas, como el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina o complicaciones relacionadas con la resistencia a la insulina, como la dislipidemia y diabetes mellitus de tipo 2, así como resistencia a la insulina en enfermedades endocrinas (por ejemplo, sujetos obesos con diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Cushing o síndromes de lipodistrofia), enfermedad cardiovascular, envejecimiento ovárico, síndrome de ovario poliquístico, trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple y demencia, o encefalopatía.
- 20

Fig. 1

