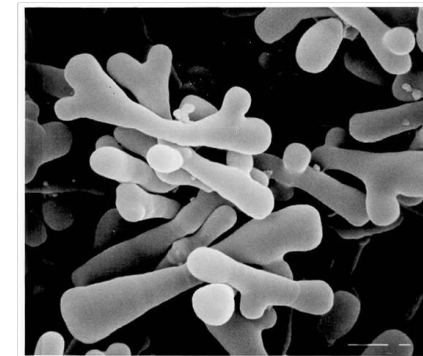


Bifidobacterium β -Glucosidase Activity and Fermentation of Dietary Plant Glucosides Is Species and Strain Specific

Nikol Modrackova, Eva Vlkova, Vaclav Tejnecky, Clarissa Schwab, Vera Neuzil-Bunesova

Bifidobacterium spp.



- Dominantní složka střevní mikrobioty v **období mléčné výživy**



HMYZ – DRŮBEŽ – SAVCI – ČLOVĚK

- 87 druhů a 10 poddruhů (08/2021)
- Multi-hostitelské/hostitelsky specifické druhy
- Homeostáza střeva a zdraví hostitele
- Druhově/poddruhově/kmenově specifické funkční vlastnosti

Bifidobacterium spp.

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

OPEN The bifidobacterial distribution in the microbiome of captive primates reflects parvorder and feed specialization of the host

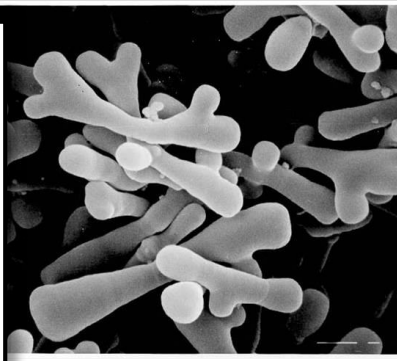
Nikol Modrackova¹, Adam Stovicek¹, Johanna Burtscher², Petra Bolechova^{3,4}, Jiri Killer^{1,5}, Konrad J. Domig³ & Vera Neuzil-Bunesova^{1,2}

Check for updates

Systematic and Applied Microbiology
Volume 44, Issue 6, November 2021, 126273

Phylogenetic classification of ten novel species belonging to the genus *Bifidobacterium* comprising *B. phasiani* sp. nov., *B. pongonis* sp. nov., *B. saquinibicoloris* sp. nov., *B. colobi* sp. nov., *B. simiiventris* sp. nov., *B. santillanense* sp. nov., *B. miconis* sp. nov., *B. amazonense* sp. nov., *B. pluvialisilvae* sp. nov., and *B. miconisargentati* sp. nov.

Gabriele Andrea Lugli^{2,1}, Paola Laiolo⁶, Maria Cristina



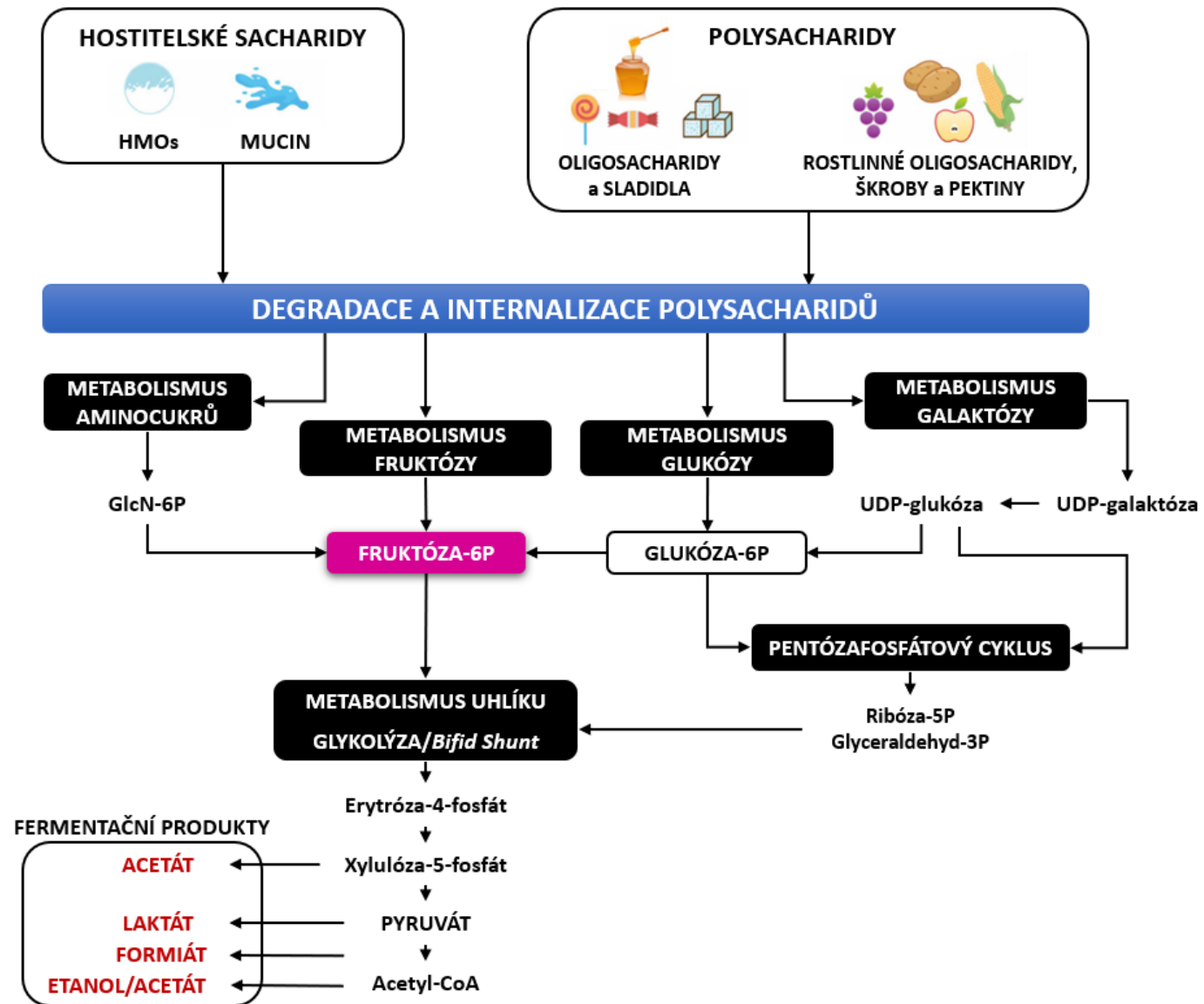
Systematic and Applied Microbiology
Volume 44, Issue 5, September 2021, 126247

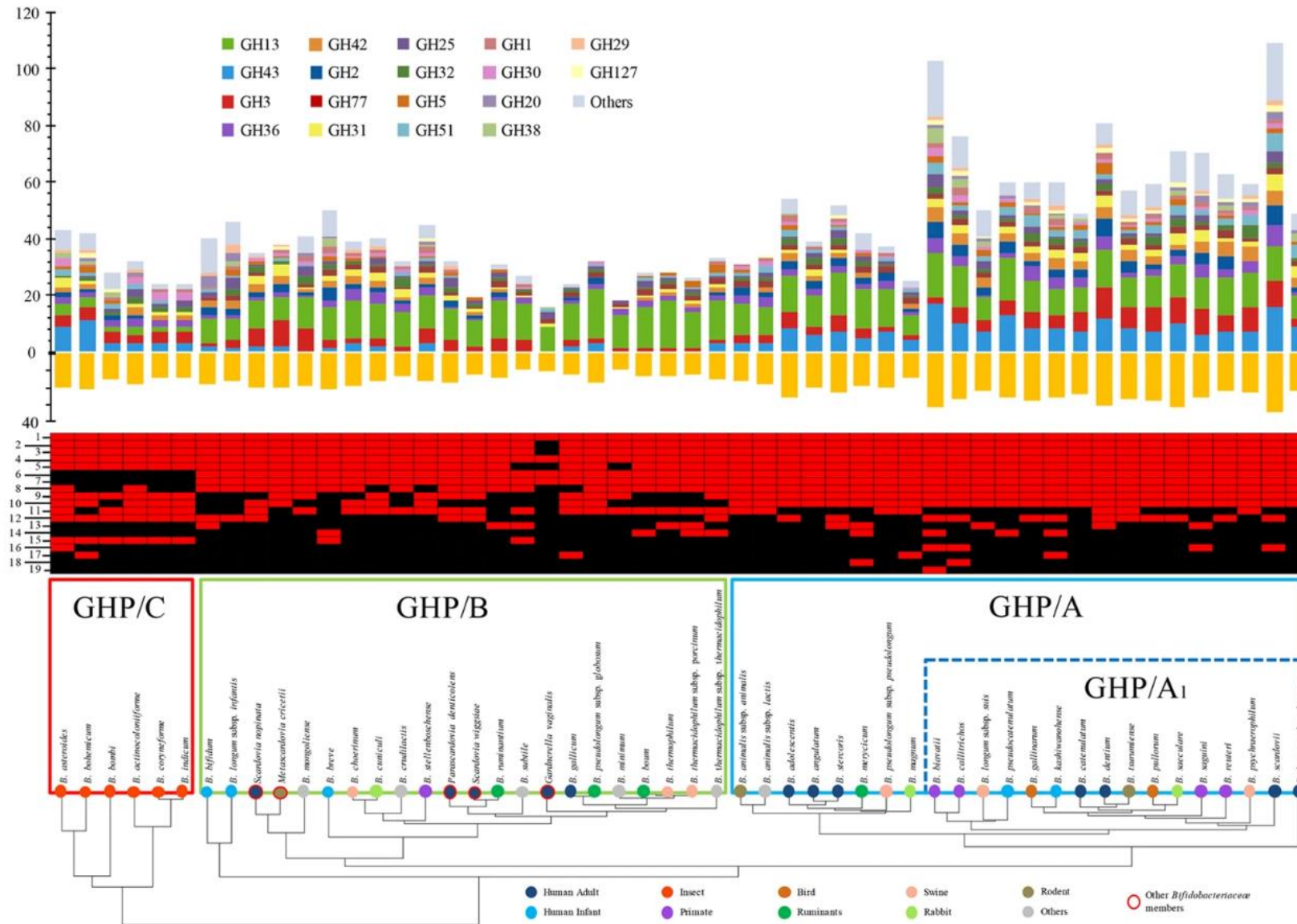
Characterization of *Bifidobacterium apousia* sp. nov., *Bifidobacterium choladohabitans* sp. nov., and *Bifidobacterium polysaccharolyticum* sp. nov., three novel species of the genus *Bifidobacterium* from honey bee gut

Jieteng Chen, Jieni Wang, Hao Zheng

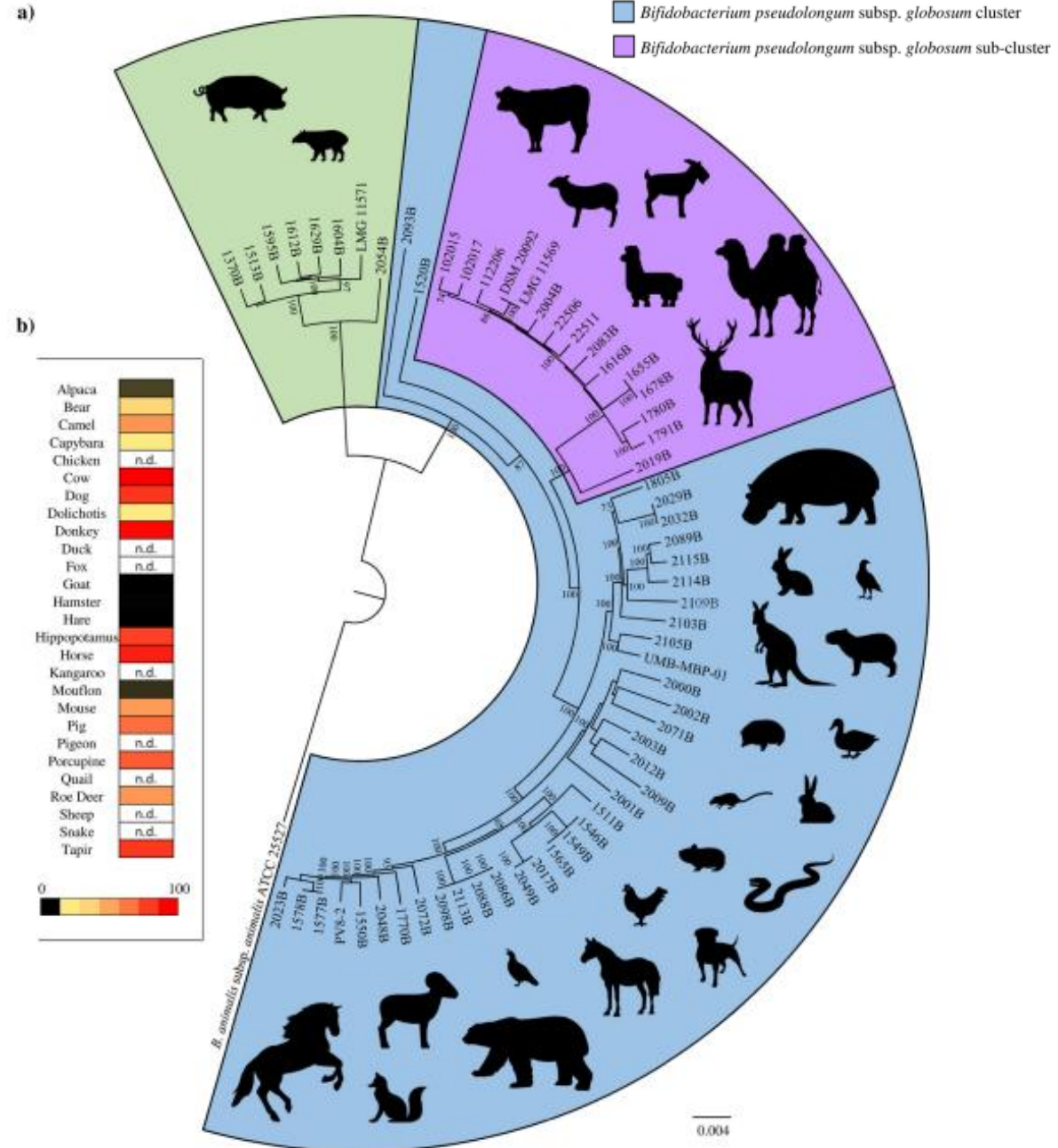
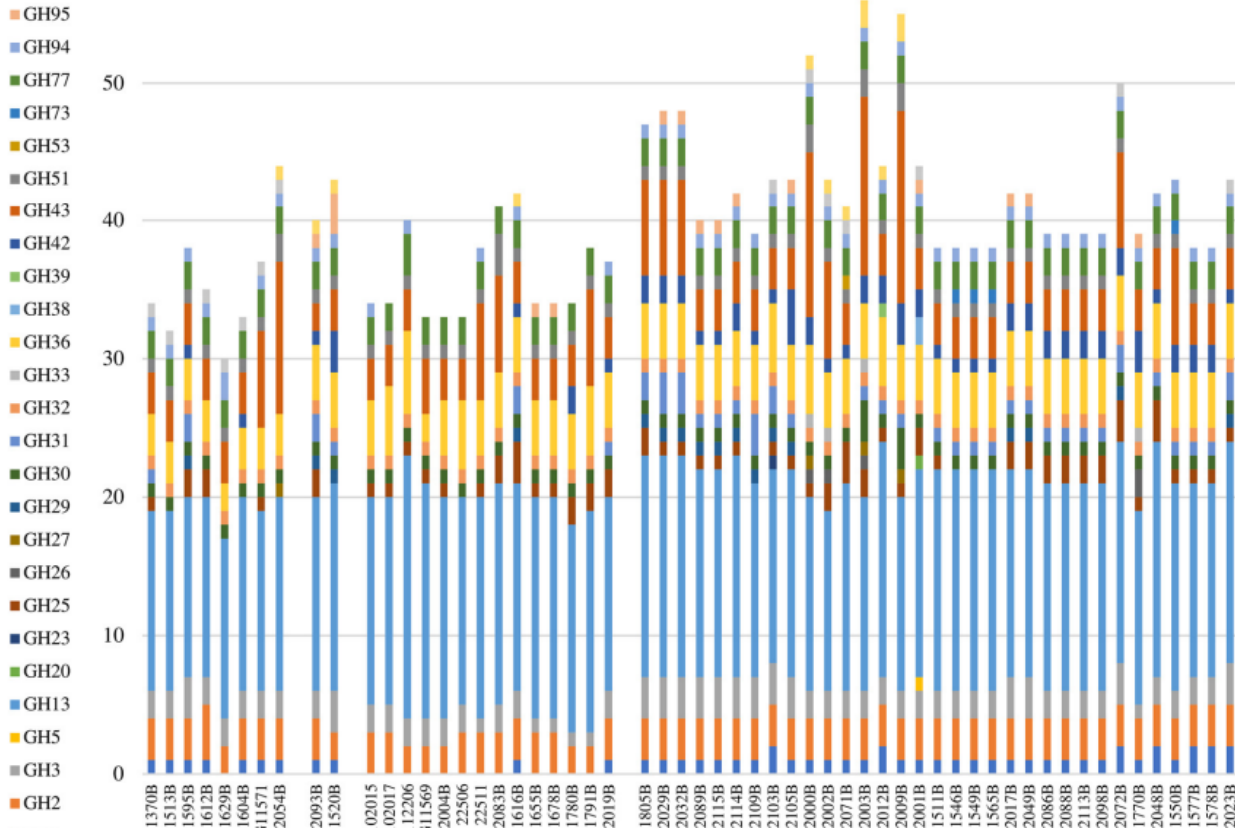
- **100 druhů** a 10 poddruhů (11/2021)
- Multi-hostitelské/hostitelsky specifické druhy
- Homeostáza střeva a zdraví hostitele
- Druhově/poddruhově/kmenově specifické fu

BEŽ – SA

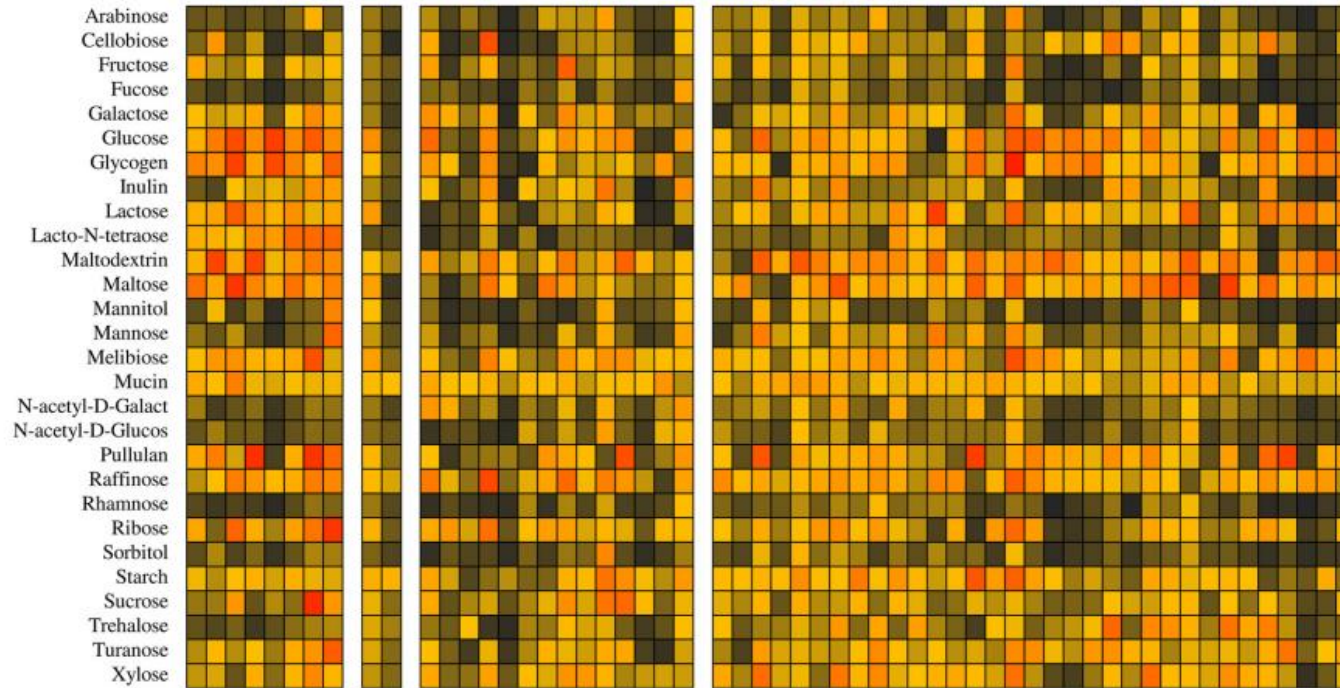
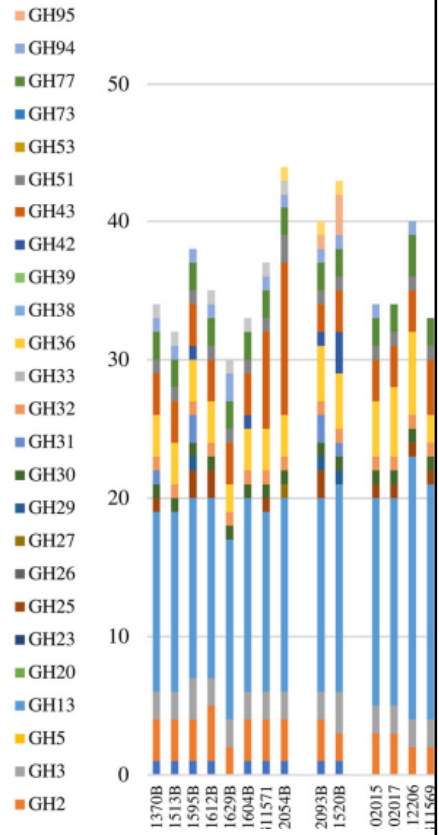




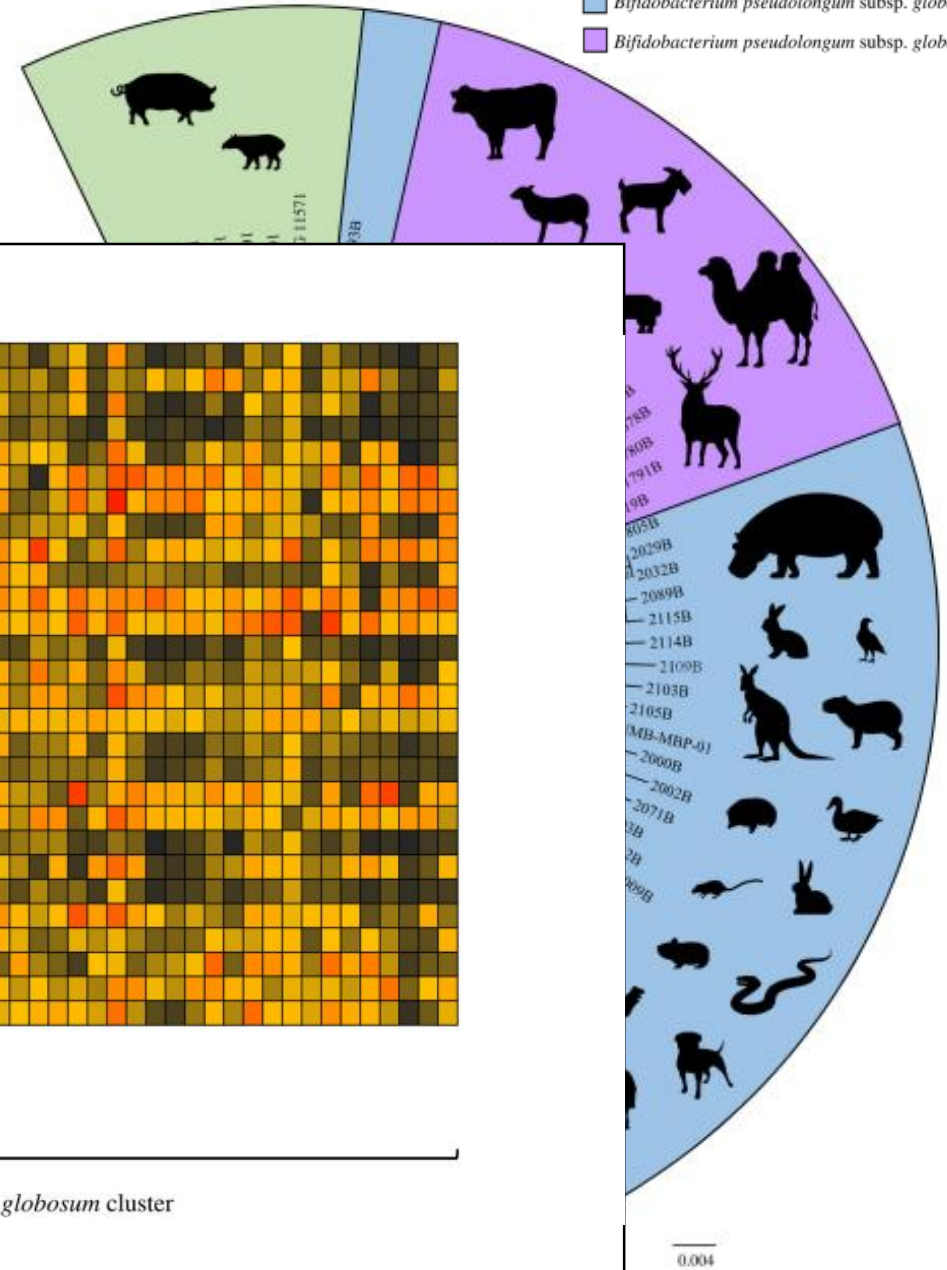
B. pseudolongum



B. pseudolongum



a)

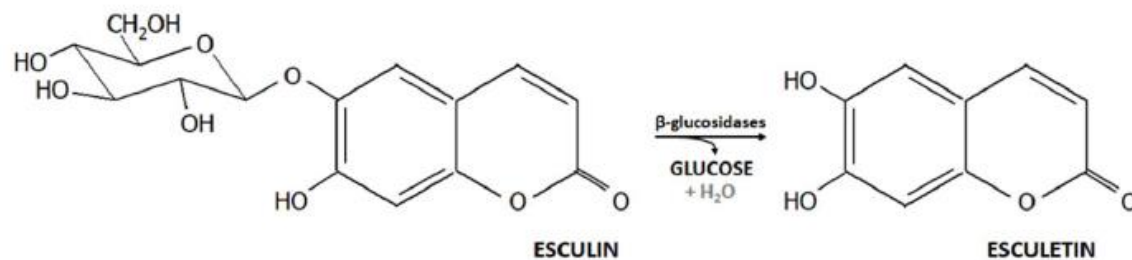
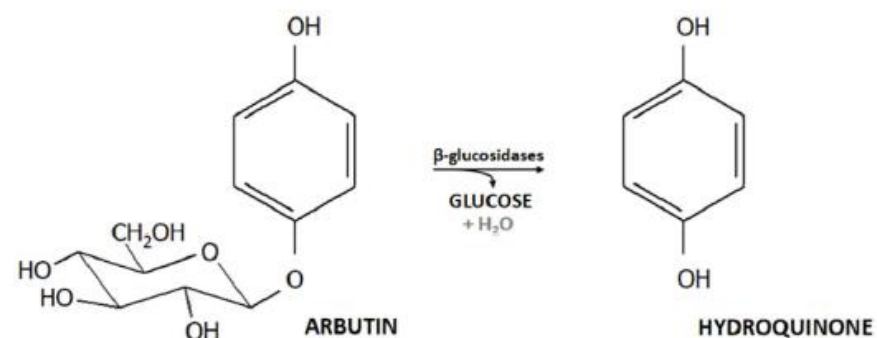
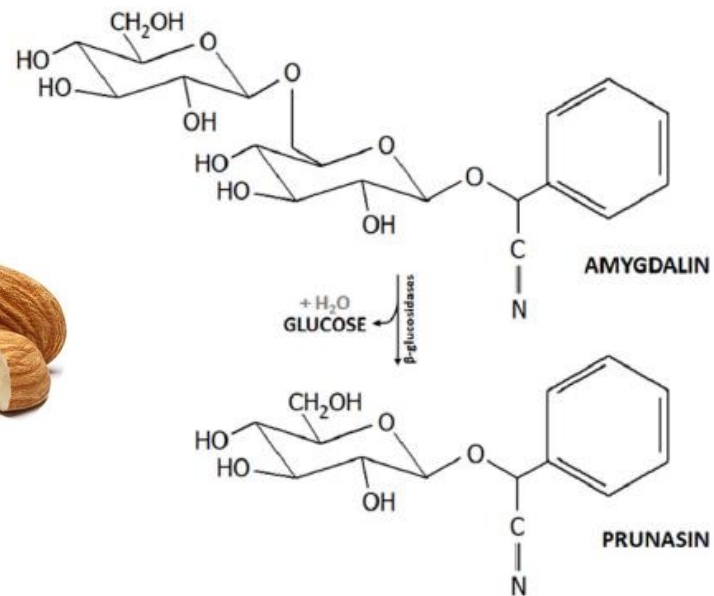


- *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *pseudolongum* cluster
- *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* cluster
- *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* sub-cluster

0.004

Rostlinné glykosidy

- Bioaktivita
- Biodostupnost

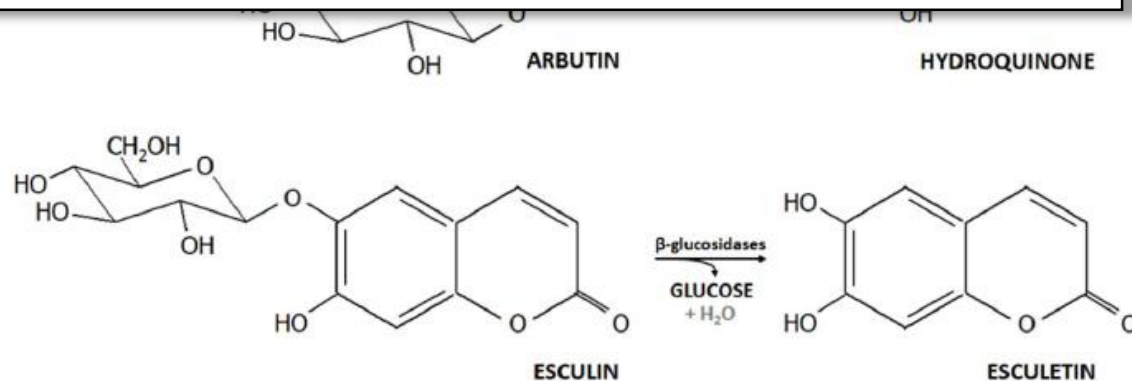
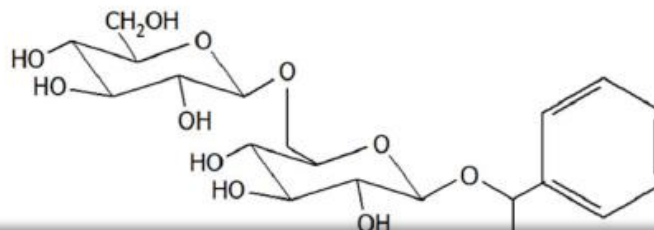


Rostlinné glykosidy

- Bioaktivita
- Biodostupnost

115 kmenů BIFs (8 druhů)

- Screening β -glukosidázy kódujících genů
- β -glukosidázová aktivita
- Schopnost utilizace RG
- Antibakteriální aktivita arbutinu a hydrochinonu



I. Přítomnost GH v genomech BIFs

Youn et al. 2012

- ***B. animalis* subsp. *lactis* SH5 – GH1 (Bbg572)**

- *B. bifidum* DSM 20456 – Bbg572

Guadamuro et al. 2017

- ***B. pseudocatenulatum* IPLA36007 – GH3 (r-β-gluA, r-β-gluB, r-β-gluD, r-β-gluE)**

- *B. adolescentis* DSM 20083, *B. breve* DSM 20213, *B. catenulatum/pseudocatenulatum* DSM 16992/20438, *B. catenulatum* subsp. *kashiwanohense* DSM 21854

- *B. longum* subsp. *longum/suis* DSM 20219/20211 – r-β-gluE, r-β-gluD

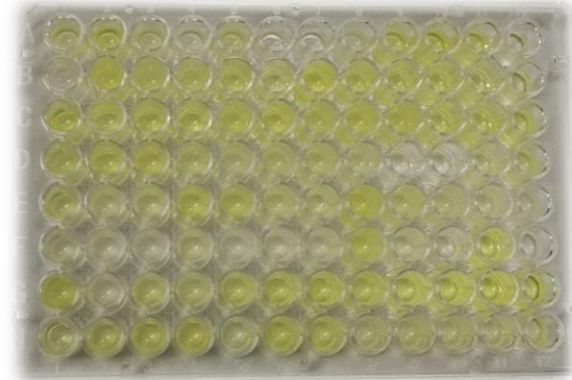
- *B. longum* subsp. *infantis* DSM 20288 – Bbg572, r-β-gluD

- *B. animalis* subsp. *lactis/animalis* DSM 10140/20104 – Bbg572, r-β-gluE

- *B. dentium* DSM 20438 (Bbg572, n=11 GH3)

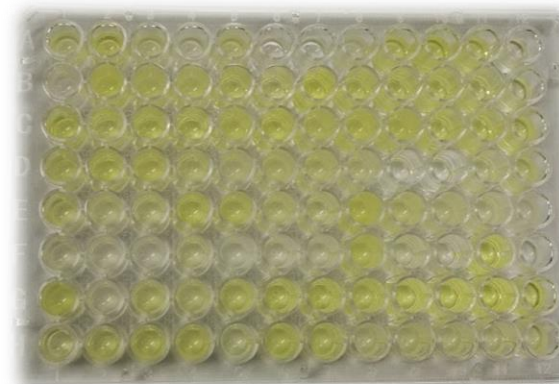
II. β -glukosidázová aktivita

- 4-nitrophenyl β -D-glucopyranoside (PNP-G)
- 37 °C, 0 a 4 hod
- Tecan Infinite M200 spectrometer (405 nm)



II. β -glukosidázová aktivita

- 4-nitrophenyl β -D-glucopyranoside (PNP-G)
- 37 °C, 0 a 4 hod
- Tecan Infinite M200 spectrometer (405 nm)



β -glukosidáza pozitivní druhy:

*B. adolescentis, B. animalis, B. breve,
B. dentium, B. catenulatum/pseudocatenulatum*

β -glukosidáza negativní druhy:

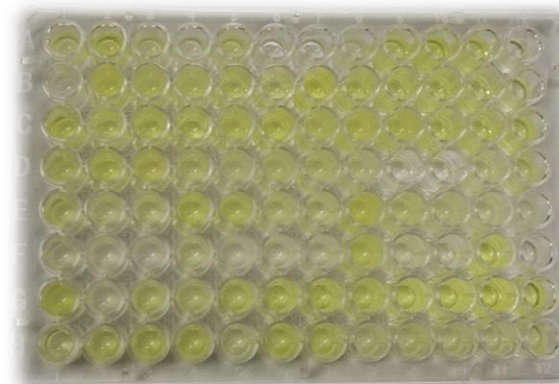
B. bifidum, B. longum

- **RAPID ID 32 A** (bioMerieux, France)
- **ANAERO test 23** (Erba Lachema, Czechia)
- Esculin +
citrát
železito-
amonný

→ **ESCULETIN**

II. β -glukosidázová aktivita

- 4-nitrophenyl β -D-glucopyranoside (PNP-G)
- 37 °C, 0 a 4 hod
- Tecan Infinite M200 spectrometer (405 nm)



β -glukosidáza pozitivní druhy:

*B. adolescentis, B. animalis, B. breve,
B. dentium, B. catenulatum/pseudocatenulatum*

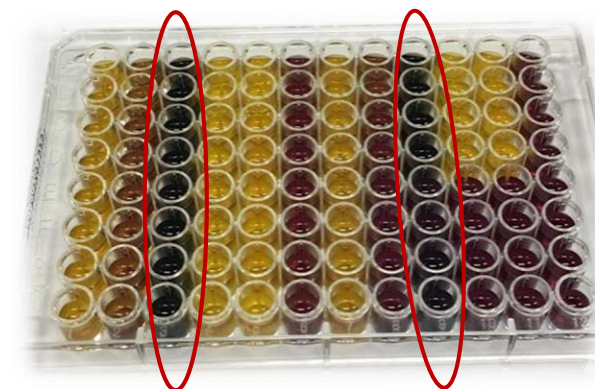
β -glukosidáza negativní druhy:

B. bifidum, B. longum

- **RAPID ID 32 A** (bioMerieux, France)
- **ANAERO test 23** (Erba Lachema, Czechia)

- Esculin +
citrát
železito-
amonný

→ **ESCULETIN**

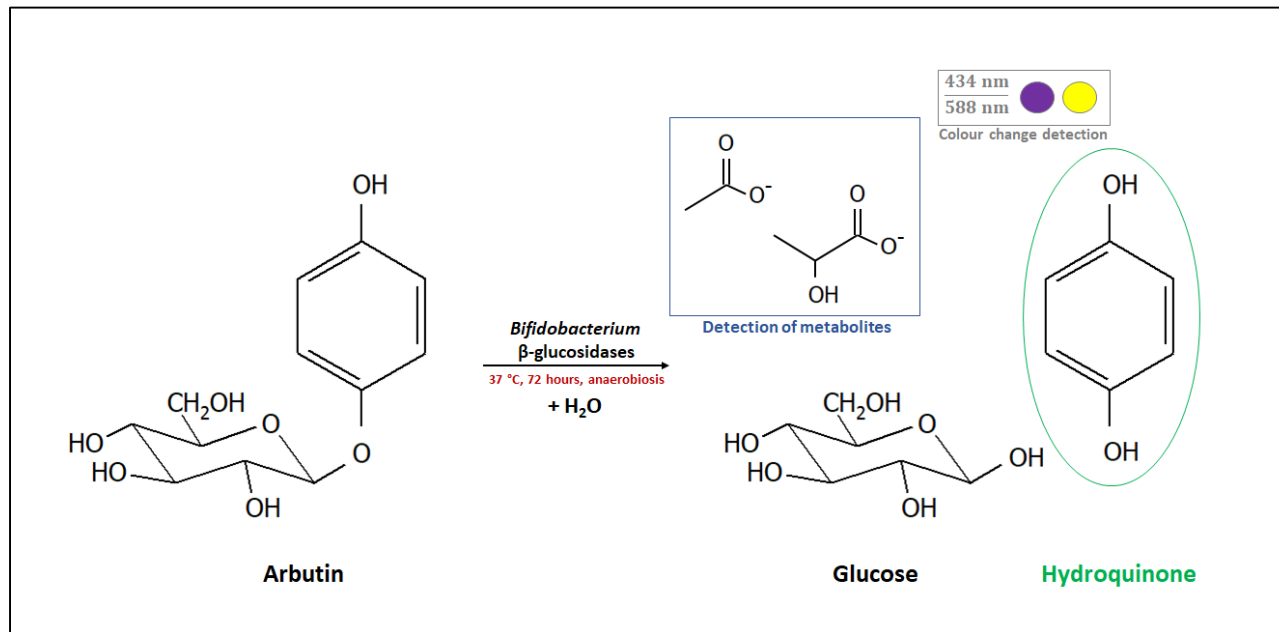


III. Schopnost utilizace RG



- Esculin, amygdalin, arbutin
- API 50 CHL medium (bromcresol purple)
- GENbag anaer, 37 °C, 72 hod
- Tecan Infinite M200 spectrometer (434/588 nm)

Pei et al. 2018

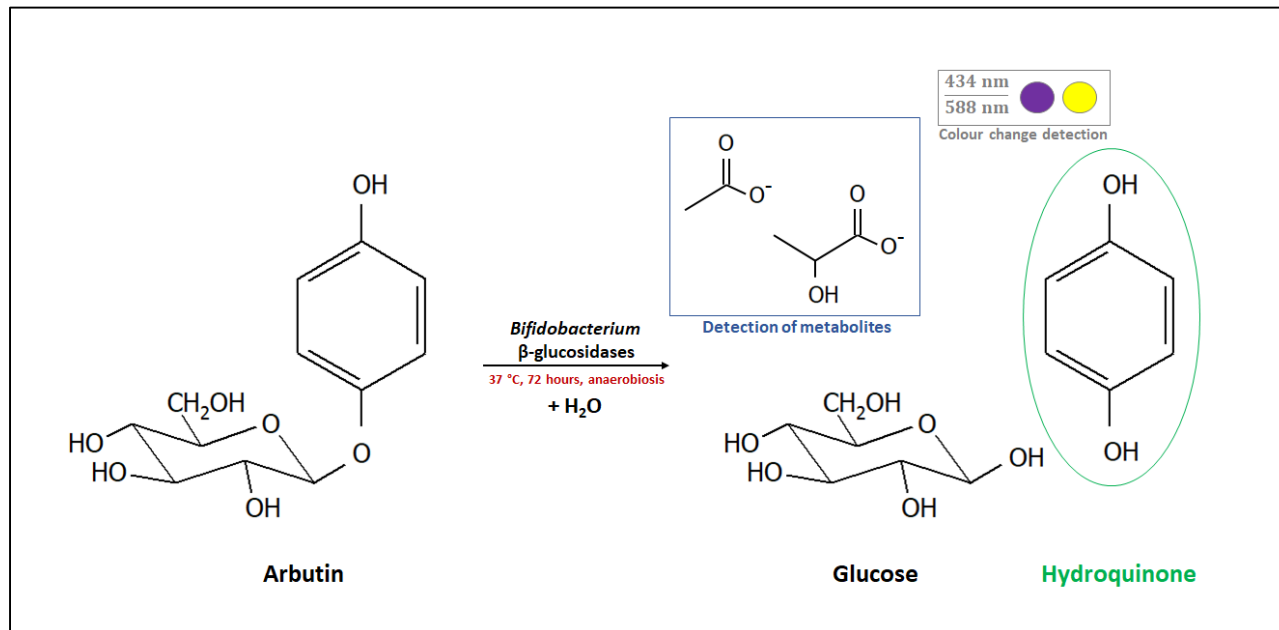


III. Schopnost utilizace RG

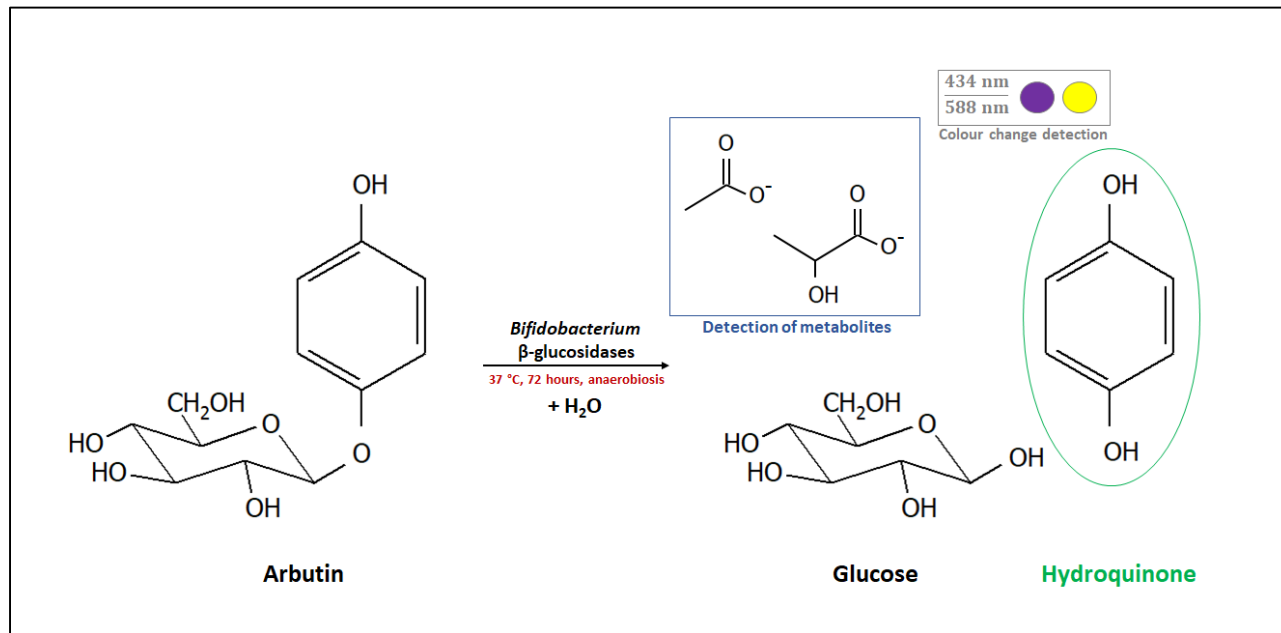
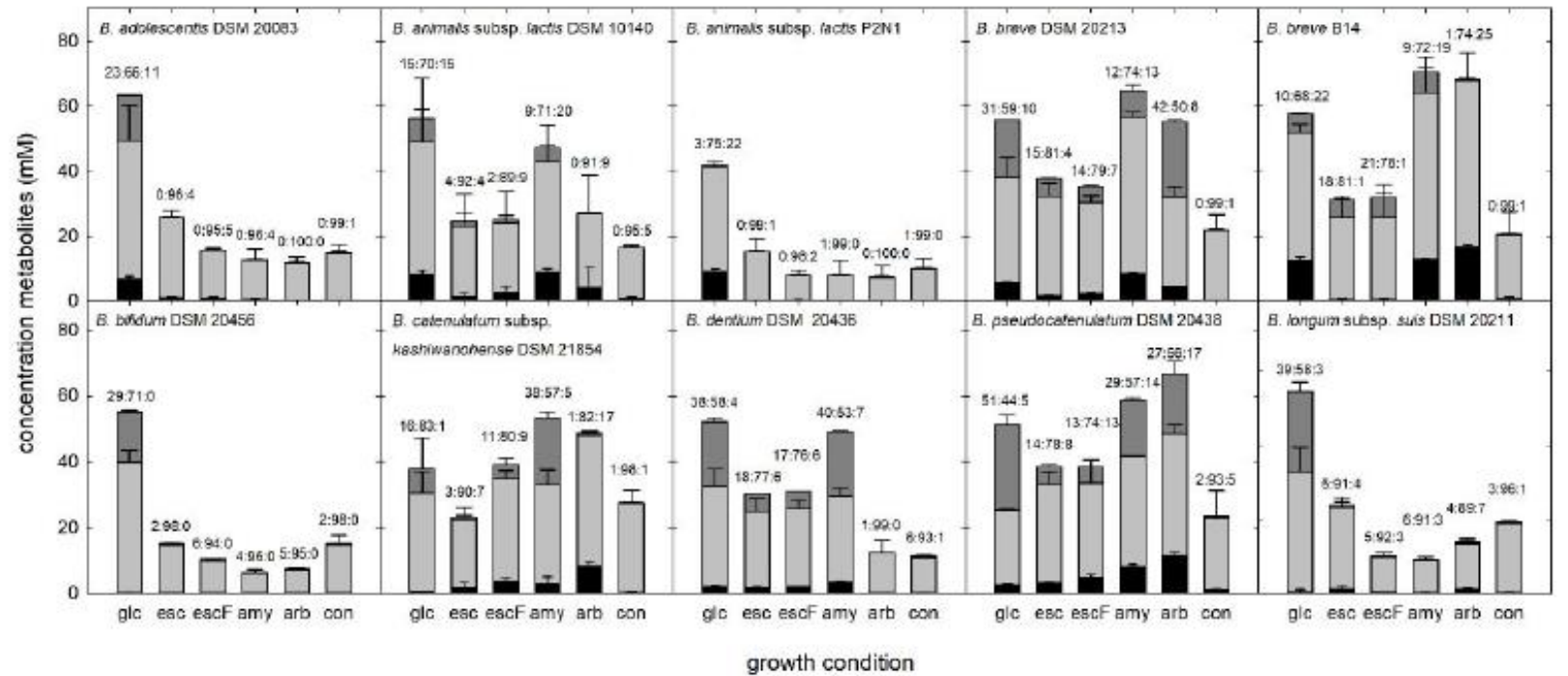


- Esculin, amygdalin, arbutin
- API 50 CHL medium (bromcresol purple)
- GENbag anaer, 37 °C, 72 hod
- Tecan Infinite M200 spectrometer (434/588 nm)

Pei et al. 2018

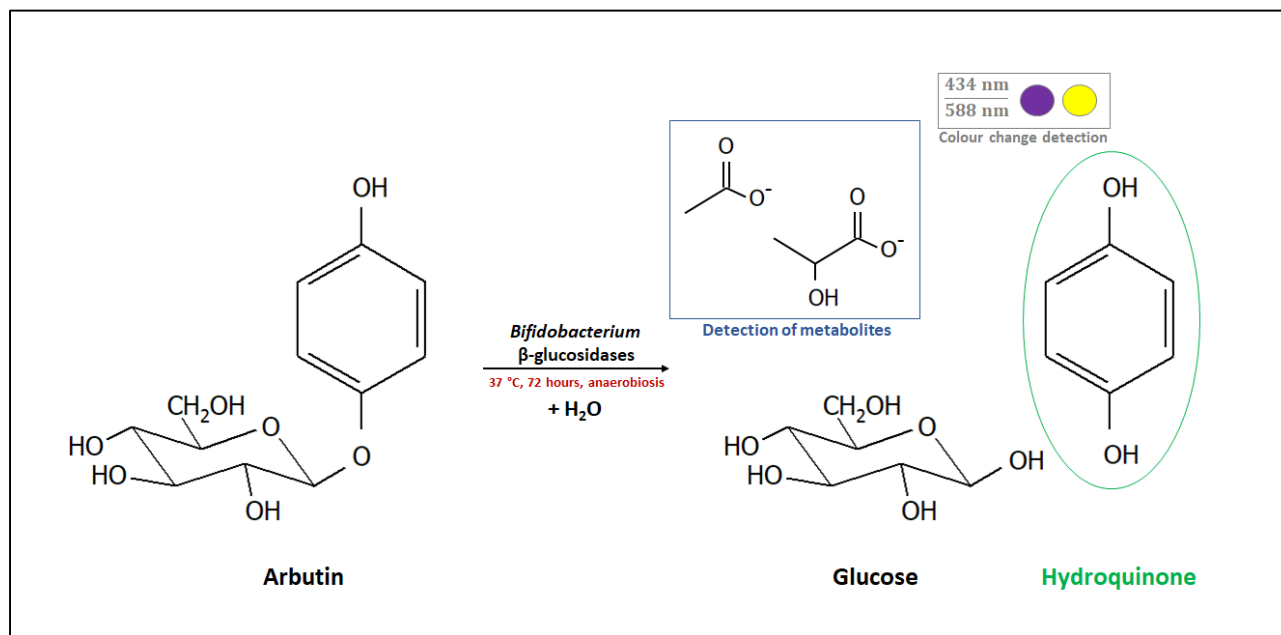
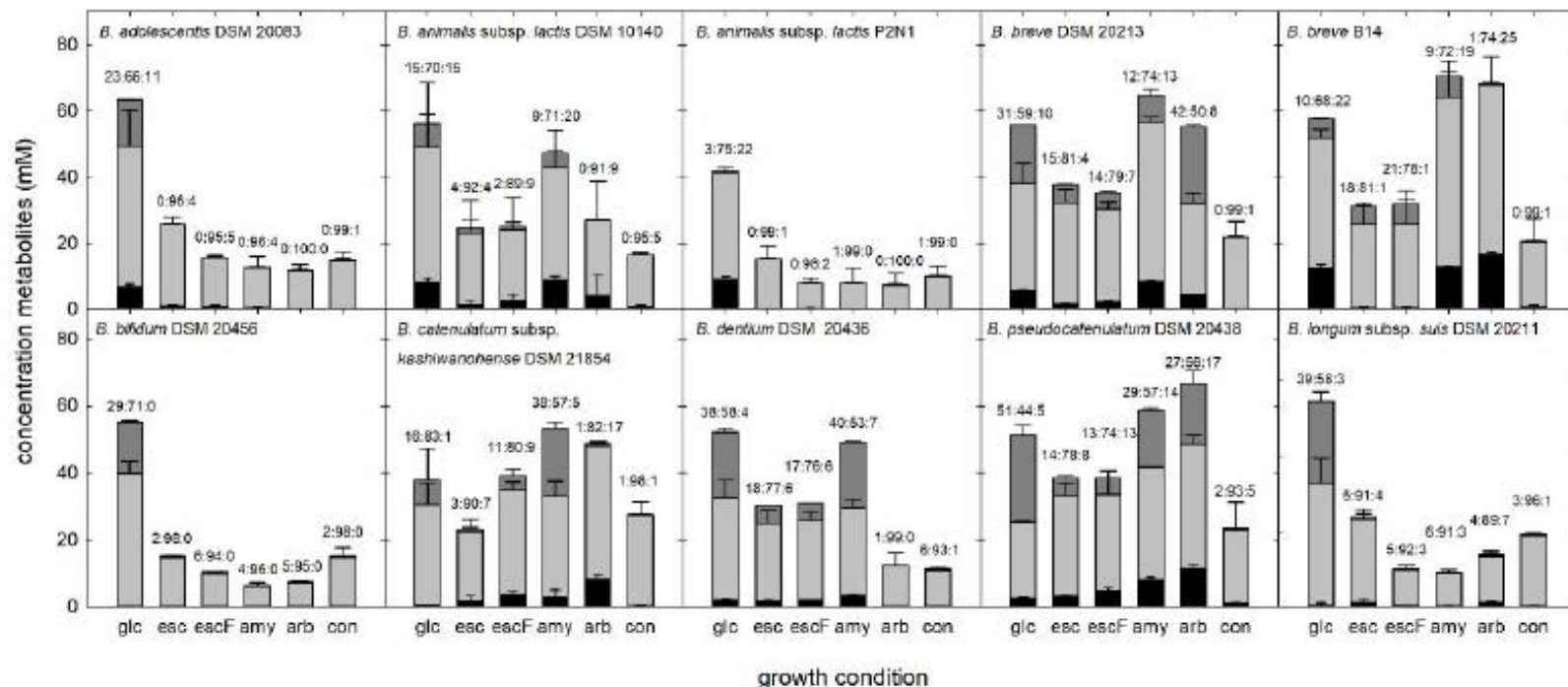


- Amygdalin (54 %) > esculin (47 %) > arbutin (24 %)
- Druhově specifická
 - *B. dentium* vs. *B. bifidum* (*B. longum*)
 - *B. animalis* subsp. *lactis* vs. *animalis*



- **Amygdalin (54 %) > esculin (47 %) > arbutin (24 %)**
- Druhově specifická
 - *B. dentium* vs. *B. bifidum*
 - *B. animalis* subsp. *lactis* vs. *animalis*
- Kmenově specifická
 - AA:LA:FA ratio

- **94 %** PNP-G poz. kmenů uvolňovalo **esculetin**
 - Potvrzení β -glukosidázové aktivity
- **66 %** esculetin poz. kmenů utilizovalo **ESC**



- **Amygdalin (54 %) > esculin (47 %) > arbutin (24 %)**
- Druhově specifická
 - *B. dentium* vs. *B. bifidum*
 - *B. animalis subsp. lactis* vs. *animalis*
- Kmenově specifická
 - AA:LA:FA ratio

IV. Antibakteriální aktivita arbutinu a hydrochinonu

Species or subspecies	Strain	Minimal inhibitory concentration (mM)	
		Hydroquinone	Arbutin
<i>B. adolescentis</i>	DSM 20083	0.05–0.10	>25.5
<i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i>	DSM 20104	≤0.05	>25.5
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	DSM 10140	0.10–0.20	>25.5
<i>B. bifidum</i>	DSM 20456	0.10–0.20	>25.5
<i>B. breve</i>	DSM 20213	0.10–0.20	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>suis</i>	DSM 20211	≤0.05	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i>	DSM 20219	≤0.05	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>infantis</i>	DSM 20088	≤0.05	>25.5

IV. Antibakteriální aktivita arbutinu a hydrochinonu

Species or subspecies	Strain	Minimal inhibitory concentration (mM)	
		Hydroquinone	Arbutin
<i>B. adolescentis</i>	DSM 20083	0.05–0.10	>25.5
<i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i>	DSM 20104	≤0.05	>25.5
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	DSM 10140	0.10–0.20	>25.5
<i>B. bifidum</i>	DSM 20456	0.10–0.20	>25.5
<i>B. breve</i>	DSM 20213	0.10–0.20	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>suis</i>	DSM 20211	≤0.05	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i>	DSM 20219	≤0.05	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>infantis</i>	DSM 20088	≤0.05	>25.5

- **Two-fold dilution assay**
- GENbag anaer, 37 °C, 24 hod
- Glukóza (14 mM)

- **25,5 mM arbutin** – bez vlivu
- **MIC ≤ 0,05 mM hydrochinon**
 - *B. animalis* subsp. *animalis* DSM 20104
 - *B. longum* subsp. *longum* DSM 20019
 - *B. longum* subsp. *suis* DSM 20211
 - *B. longum* subsp. *infantis* DSM 20088
 -

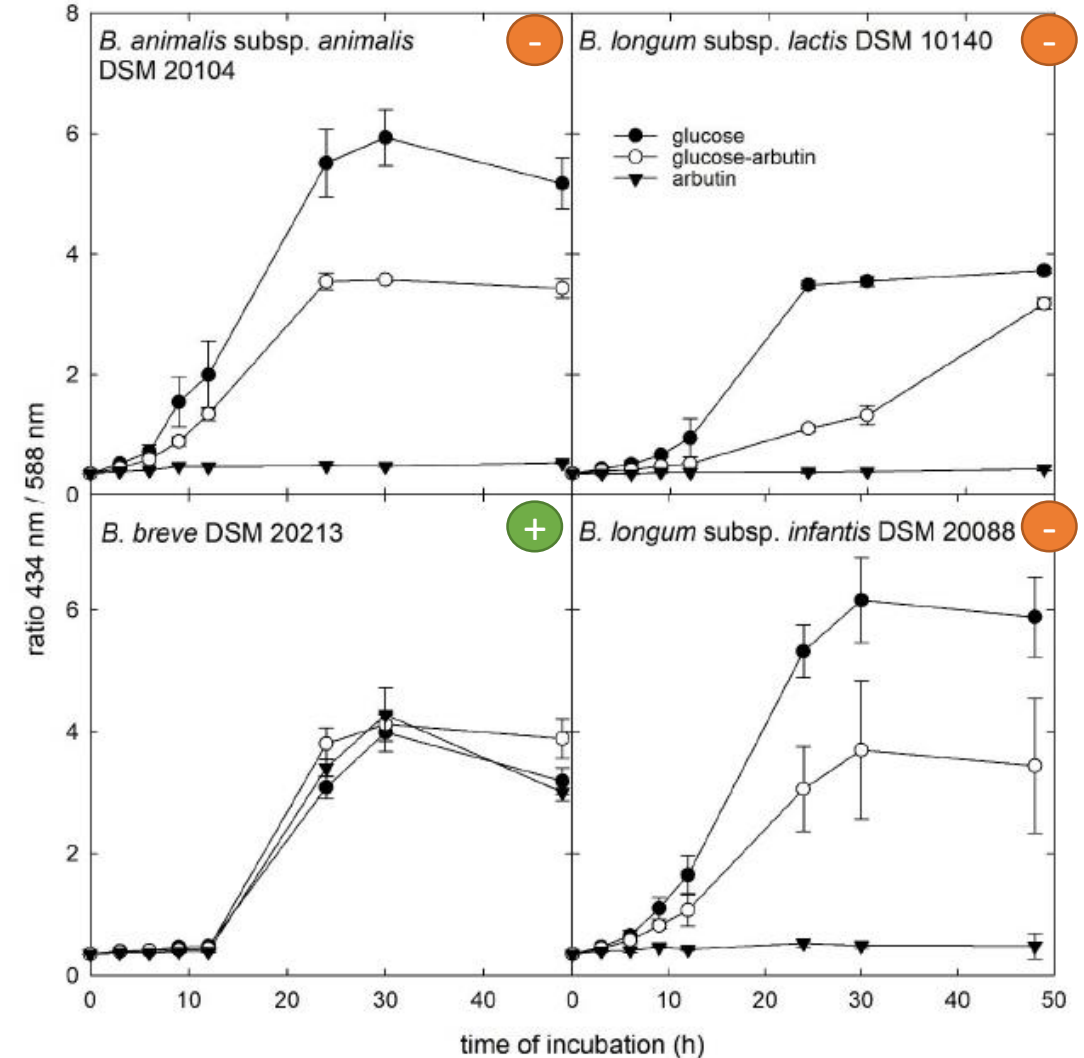
- **MIC 0,1–0,2 mM hydrochinon**

IV. Antibakteriální aktivita arbutinu a hydrochinonu

Species or subspecies	Strain	Minimal inhibitory concentration (mM)	
		Hydroquinone	Arbutin
<i>B. adolescentis</i>	DSM 20083	0.05–0.10	>25.5
<i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i>	DSM 20104	≤0.05	>25.5
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	DSM 10140	0.10–0.20	>25.5
<i>B. bifidum</i>	DSM 20456	0.10–0.20	>25.5
<i>B. breve</i>	DSM 20213	0.10–0.20	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>suis</i>	DSM 20211	≤0.05	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i>	DSM 20219	≤0.05	>25.5
<i>B. longum</i> subsp. <i>infantis</i>	DSM 20088	≤0.05	>25.5

• Růstová kinetika

- BEZ – *B. breve* DSM 20213
- Prodloužení lag fáze – *B. animalis* subsp. *lactis/animalis* DSM 10140/20104, *B. longum* subsp. *infantis* DSM 20088 (< 50 %)



Závěr

- **Genomický potenciál částečně předpovídá β -glukosidázovou aktivitu**
 - *B. dentium* vs. *B. bifidum*
 - *B. adolescentis*, *B. catenulatum/pseudocatenulatum*, *B. breve* (substrátové preference)
 - *B. animalis* subsp. *lactis/animalis* (poddruhová variabilita)
- **Beta-glukosidázy BIFs zvyšují bioaktivitu a biodostupnost RG a jejich acylglykonů**
 - Uvolnění esculetinu z ESC (antimikrobiální aktivita – environmentální vliv?)
 - Bioaktivita acylglykonů > RG
 - Zvýšení ekologické konkurenceschopnosti
- **Beta-glukosidázová aktivita je pravděpodobně spojena s adaptací BIFs k hostiteli**
 - Vzrůstá se stářím organismu a zavedením variabilní diety
 - *B. animalis* subsp. *animalis* – β -glukosidáza pozitivní, ale bez schopnosti utilizace RG (jehňata a telata)
 - *B. animalis* subsp. *lactis* – přežvýkavé ovce vs. všežraví psi

Děkuji za pozornost!