

**Developing high-throughput methods for the  
discovery of microbiome-derived pro-longevity  
compounds**



Doctoral thesis

for

the award of the doctoral degree

of the Faculty of Mathematics and Natural Sciences

of the University of Cologne

submitted by

**Andreea Aprodu**

2026

## Abstract

The microbiota affects all hallmarks of ageing and predicts survival in humans. It harbors an enormous diversity of microbial species that interact intimately with the host and each other. Metabolites produced by the microbiome can pass the intestinal wall, enter the bloodstream, and affect distal organs. Harnessing the potential of human microbiota-derived compounds depends on understanding the function of microbial genes. Unfortunately, many of these genes are still unexplored, leaving their products, regulatory roles and host-phenotype associations undefined.

In this work, pangenomic *Escherichia coli* libraries were sequenced and an extensive accessory genome was found, potentially dedicated to secondary metabolism. To investigate the functional landscape of *E. coli*, a high-throughput RNA-seq method was developed, with *Caenorhabditis elegans* used as a biosensor of host-microbe interactions across nearly 600 *E. coli* strains. In parallel, using the same *E. coli* pangenomic library, high-throughput imaging screening were performed using fluorescent *C. elegans* transcriptional reporters of genes previously linked to conserved longevity pathways.

First, an *E. coli* strain ECOR-44 was identified that extended the *C. elegans* lifespan by approximately 25%. Mechanistically, a dietary-restriction like program was induced in animals treated with ECOR-44, involving non-canonical UPR<sup>ER</sup> and co-regulation of lipid droplets and peroxisomal function, dependent on AMPK and partially on NHR-49 and HLH-30. To some extent, *E. coli* strains with functional profiles similar to ECOR-44 could also extend the lifespan of *C. elegans*.

Second, by mapping the *C. elegans* transcriptomic landscape onto the *E. coli* functional landscape, links between *E. coli* genetic diversity and host responses were revealed. The most important functions in *E. coli* that could predict host transcriptional profiles were related to vitamin B12 and methionine metabolism and possibly ubiquitylation processes.

Overall, the results emphasise the vast functional landscape of microbial species with open pangenomes and indicate that accurate characterisation of their impact on host physiology and ageing requires strain-level resolution.

## Zusammenfassung

Die Mikrobiota beeinflusst alle Kennzeichen des Alterns und sagt die Lebenserwartung beim Menschen voraus. Sie beherbergt eine enorme Vielfalt an mikrobiellen Arten, die eng mit dem Wirt und untereinander interagieren. Vom Mikrobiom produzierte Metaboliten können die Darmwand passieren, in den Blutkreislauf gelangen und entfernte Organe beeinflussen. Die Nutzung des Potenzials von aus der menschlichen Mikrobiota stammenden Verbindungen hängt vom Verständnis der Funktion mikrobieller Gene ab. Leider sind viele dieser Gene noch unerforscht, sodass ihre Produkte, regulatorischen Funktionen und Zusammenhänge mit dem Wirtsphänotyp ungeklärt bleiben.

In dieser Arbeit wurden pangenomische *Escherichia coli*-Bibliotheken sequenziert und ein umfangreiches akzessorisches Genom entdeckt, das möglicherweise dem Sekundärstoffwechsel gewidmet ist. Um die funktionelle Landschaft von *E. coli* zu untersuchen, wurde eine Hochdurchsatz-RNA-Seq-Methode entwickelt, bei der *Caenorhabditis elegans* als Biosensor für Wirt-Mikroben-Interaktionen bei fast 600 *E. coli*-Stämmen eingesetzt wurde. Parallel dazu wurden unter Verwendung derselben pangenomischen *E. coli*-Bibliothek Hochdurchsatz-Bildgebungsscreenings mit fluoreszierenden *C. elegans*-Transkriptionsreportern von Genen durchgeführt, die zuvor mit konservierten Langlebigkeitswegen in Verbindung gebracht worden waren.

Zunächst wurde ein *E. coli*-Stamm namens ECOR-44 identifiziert, der die Lebensdauer von *C. elegans* um etwa 25 % verlängerte. Mechanistisch gesehen wurde bei den mit ECOR-44 behandelten Tieren ein Programm ausgelöst, das einer Nahrungsrestriktion ähnelte und eine nicht-kanonische UPR<sup>ER</sup> sowie die gemeinsame Regulation von Lipidtröpfchen und der Peroxisomfunktion umfasste, abhängig von AMPK und teilweise von NHR-49 und HLH-30. In gewissem Maße konnten auch *E. coli*-Stämme mit ähnlichen Funktionsprofilen wie ECOR-44 die Lebensdauer von *C. elegans* verlängern.

Zweitens wurden durch die Abbildung der Transkriptomlandschaft von *C. elegans* auf die Funktionslandschaft von *E. coli* Zusammenhänge zwischen der genetischen Vielfalt von *E. coli* und den Wirtsreaktionen aufgezeigt. Die wichtigsten Funktionen in *E. coli*, die die Transkriptionsprofile des Wirts vorhersagen konnten, standen im

Zusammenhang mit dem Vitamin-B12- und Methioninstoffwechsel sowie möglicherweise mit Ubiquitinierungs-Prozessen.

Insgesamt unterstreichen die Ergebnisse die enorme funktionelle Vielfalt mikrobieller Arten mit offenen Pangenomen und deuten darauf hin, dass eine genaue Charakterisierung ihrer Auswirkungen auf die Physiologie und das Altern des Wirts eine Auflösung auf Stammebene erfordert.