

宏基因组学及其在动物肠道微生物群中的应用

赵磊¹ 孙会^{1*} 马燕芬²

(1. 吉林农业大学动物科学与技术学院, 吉林省动物营养与饲料科学重点实验室, 长春 130118;

2. 内蒙古农牧业科学院动物营养研究所, 呼和浩特 010031)

摘要: 肠道微生物群的变化与动物机体健康息息相关, 肠道微生物群可调控动物机体内能量代谢、异源物质代谢, 修复细胞和提高机体免疫机能。宏基因组学技术可用于检测动物肠道微生物群的动态变化。本文主要对宏基因组学研究的生物信息学技术和平台及宏基因组学在动物肠道微生物群中的应用进行综述, 为后续开发肠道生态系统动态的全球模型及动物机体的靶向治疗提供理论基础。

关键词: 肠道微生物群; 宏基因组学; 动物

中图分类号: S811.3

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2019)09-3961-07

宏基因组学技术可用于直接检测从动物体内和环境样本中采集的物质, 包括肠道、土壤和水分。人类肠道微生物群相当于一个多细胞代谢器官, 由近 200 种常见的菌种和约 1 000 种不常见的菌种组成^[1]。宿主的饮食、遗传背景以及免疫状态等因素都会影响微生物群的组成^[2-3]。研究表明, 早期环境暴露和母体接触对动物成年期肠道微生物群产生很大影响^[4-5]。研究肠道微生物群的方法主要有描述性宏基因组学与功能性宏基因组学。描述性宏基因组学可用于揭示微生物群落结构和微生物相对丰度, 微生物相对丰度是根据不同的生理和环境条件进行评估的^[6-7]。功能性宏基因组学主要研究宿主与微生物、微生物与微生物之间相互作用的生态系统网络预测, 预测结果可进一步反映出微生物或宿主在微生态系统中的功能关系^[8-9]。然而, 研究肠道微生物群的最大挑战是无法体外培养大部分肠道微生物物种^[10]。目前主要采用 16S rRNA 基因扩增子测序或全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)技术对肠道微生态系统进行检测^[11]。16S rRNA 基因测序主要用于系统发育重建、核酸的检测和微生物

多样性的量化。WGS 技术主要针对肠道微生物群宏基因组进行检测。肠道微生物群落结构和功能已在不同的宿主物种中进行了研究, 包括小鼠^[12]、人类^[13]、犬^[14]、猫^[14]、牛^[15]和牦牛^[15]。尽管微生物群落结构和功能之间存在种间差异, 但已确认肠道微生物群在不同物种的宿主代谢和免疫中依旧发挥着重要作用^[16]。

肠道微生物群研究目前已成为现代生物学领域研究热点。主要体现在以下 2 个方面, 一是它被认为是潜在药物或药物样分子的储存库, 如抗菌肽、细菌素、抗炎分子、细胞壁多糖以及肽聚糖等^[17], 宏基因组学与生物信息学相结合即将成为“药物缺陷”研究的先锋; 二是“疾病微生物群”逐渐成为治疗的目标, 目前的治疗方法仅限于使用益生菌、益生元等膳食补充剂结合非特异性靶向微生物群调控来恢复“健康菌群”^[18-21]。目前, 益生菌在治疗急性腹泻和预防坏死性小肠结肠炎方面很有前景^[22], 尽管确切的作用机制尚不清楚, 但已知这些益生菌除了具有抑制病原菌功能外, 还可通过竞争宿主肠道生态位增强在肠道中的定植来抵抗病原体侵袭, 从而为益生菌群重新建立良

收稿日期: 2019-02-26

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0500506)

作者简介: 赵磊(1994—), 女, 吉林松原人, 博士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 18626618560@163.com

* 通信作者: 孙会, 教授, 博士生导师, E-mail: shjlau@163.com

好的生存环境。此外,粪便秘植健康菌群也已成功应用于治疗耐药性或复发性艰难梭菌相关性腹泻等相关疾病^[23]。然而,对于肥胖症、糖尿病、炎症性肠病和肠易激综合征等慢性疾病,还有待进一步研究^[24]。

目前,由于我们对肠道常驻微生物及其与宿主相互作用方面了解还不够,导致微生物群靶向疗法特异性遇到了瓶颈。此外,微生物与微生物串扰也可能影响疾病发病状态。因此,需要整合宏基因组学、转录组学以及蛋白质组学等系统生物学方法,了解肠道微生物群的结构、功能关系及活动规律,开发出新的治疗药物或疫苗。

1 宏基因组学相关的生物信息学技术和平台

1.1 宏基因组学序列数据集

由于WGS技术和16S rRNA焦磷酸测序技术的进步,已经积累了大量的宏基因组序列数据集^[25]。这些数据集可在不同的储存库中获得,包括国家生物技术信息中心(national center for biotechnology information, NCBI)序列阅读档案(sequence read archive, SRA) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>)、欧洲生物信息学研究所(European bioinformatics institute, EBI)的宏基因组数据资源(<https://www.ebi.ac>)以及UniProt宏基因组和环境序列(UniMES)数据库(<http://www.uniprot.org/help/unimes>)等。所有这些序列档案还提供了用于分析宏基因组序列的不同工具,从第1代Sanger(例如Applied Biosystems)平台开始到第2代454 Life Sciences Roche(例如GS FLX Titanium)和Illumina(例如GA II、MiSeq和HiSeq)平台,以及最近开发的Ion Torrent并由太平洋生物科学公司推出的个人基因组机器(personal genome machine, PGM)和单分子实时(single-molecule real-time, SMRT)第3代测序技术平台。目前,这些技术平台按照其成本效益和快速的宏基因组测序技术的需求而不断完善发展,与最新的PGM平台相比,Roche-454 Titanium平台可以产生更长的读数。尽管Illumina的MiSeq平台在深度和宽度上都能产生更高的序列覆盖率,但Ion Torrent的测序速度却是独一无二的^[26]。这些丰富的宏基因组序列数据集为我们深入研究肠道微生物的宏基因组学提供了技术平台。

1.2 研究肠道微生物群相关的工具与网络服务器

为了解决分析宏基因组数据中遇到的困难,目前已经开发出Web服务器和R软件包,并且可以在公共领域中进行使用。许多独立的工具能够分析16S rRNA标记基因测序数据和WGS数据,如定量洞察微生物生态学(quantitative insights into microbial ecology, QIIME),使用16S rRNAs数据研究微生物多样性。这些独立工具可为用户提供系统发育分析的分类指示,以及解析和过滤从Illumina或其他平台生成的原始数据。但是QIIME的安装需要一些Linux和Windows系统的专业知识,并且在操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)选择步骤中缺乏并行处理功能^[27]。Mothur是一个具有多种功能的软件包,包括OTU的识别和不同样本之间的 α (在特定样本中)和 β (不同样本之间)差异的描述^[28]。RAMMCAP是一个基于图形用户界面(graphical user interface, GUI)的工具,它可对宏基因组序列进行聚类和分析,与其他工具和软件相比,可以在很短的时间内处理大量序列。RAMMCAP还包括蛋白质家族注释工具和基于统计分析的新型GUI的宏基因组比较方法^[29]。对于基于WGS的测序数据分析(主要用于分类学分类),有几种方法可用,它们集成了基本局部比对搜索工具(basic local alignment search tool, BLAST)用于物种鉴定。MEtaGenome ANalyzer(MEGAN)使用BLAST搜索参考序列数据库,如来自NCBI NR数据库的非靶向序列数据库,并在GUI中提供结果;它允许分析大型数据集而无需进一步组装或靶向特定的16S rRNA标记基因;它还可以基于统计分析比较不同的数据集,并提供输出图形^[30]。此外,一些软件包也可以同时进行组装和注释,例如MOCAT,它将宏基因组短读段组装成重叠群,同时进行质量控制,并从重叠群进行基因预测^[31]。对于宏基因组读数的功能分析,可以使用来自组装的重叠群的预测基因或具有一定浏览长度的原始序列读数。某些途径,如Smash Community^[32]、微生物群项目统一代谢分析网络(HUMANN)^[33]以及宏基因组的功能注释和分类学分析(functional and taxonomic analysis of metagenomes, FANTOM)^[34],它们是用于宏基因组数据分析的易于使用的GUI,也可用于自动化装配和注释过程(表1)。

表 1 肠道微生物群研究相关的工具/网络服务器
Table 1 Tools/web servers related to gut microbiota research

名称 Names	网站 Website	主要特点 Main feature	参考文献 References
QIIME	http://qiime.sourceforge.net/	网络分析,样本内或样本间多样性的直方图	[27]
Mothur	http://www.mothur.org/	快速处理大型序列数据	[28]
RAMMCP	http://weizhonglab.ucsd.edu/rammcap/cgibin/rammcap.cgi	超快速序列聚类和蛋白质家族注释	[29]
MEGAN	http://www-ab.informatik.unituebingen.de/software/megan/	大型宏基因组霰弹枪测序数据集的笔记本电脑分析	[30]
MOCAT	http://vmlux.embl.de/~kultima/MOCAT/	生成分类谱并组装宏基因组	[31]
Smash Community	http://www.bork.embl.de/software/smash/	主要针对来自 Sanger 和 454 测序技术的数据执行装配和基因预测	[32]
HUMANN	http://huttenhower.sph.harvard.edu/humann	从人类微生物组项目分析宏基因组霰弹枪数据	[33]
FANTOM	http://www.sysbio.se/Fantom/	与 KEGG Orthology、COG、PFAM 和 TIGRFAM 等数据库相结合的宏基因组丰度数据的比较分析	[34]

2 宏基因组学在动物肠道微生物群中的应用

2.1 宏基因组学与动物模型

新生仔猪已被作为一种动物模型广泛应用于婴幼儿营养食谱以及胃肠道生理与机体代谢研究中^[35-36]。利用母乳喂养和配方喂养的新生仔猪和早产仔猪的同步研究进一步建立了微生物群和肠道代谢物组谱之间的关系,这将最终成为具有针对性的改善临床治疗效果的策略,例如对坏死性小肠结肠炎的保护作用^[37]。研究表明,早产仔猪是检测坏死性小肠结肠炎和短肠综合征生理、微生物组和饮食影响的优秀模型^[36]。Puiman 等^[38]用微生物群分析方法检测了静脉注射抗生素和益生菌对仔猪氨基酸和氮代谢的影响,发现 2 种类型的治疗都有效果,但仅仅限于肝脏和肠道。此外,宏基因组学在鸡盲肠微生物多样性研究方面也取得了重大突破^[39],鸡盲肠系统微生物中丰度较高的是厚壁菌门(44%~55%)和拟杆菌门(22%~42%),其次是放线菌、氯虫、梭杆菌、变形菌和疣粒菌的低丰度菌门^[40]。宿主代谢会影响动物的生理和健康,而栖息于胃肠道的微生物群落则会维持胃肠道的稳态,它们在动物营养物质消化、病原体抑制以及与肠道相关免疫系统相互作用

中起重要作用^[41]。以上研究表明,宏基因组学技术可系统阐明猪禽肠道微生物菌群的分布、不同胃肠道部位的优势菌属和差异菌群。该技术可为探讨动物消化机制,研究动物肠道微生物菌群与宿主关系、肠道疾病控制预防、健康养殖以及饲料配方的研制提供技术理论支持^[42]。

反刍动物瘤胃内栖息着复杂多样的微生物群,瘤胃微生物的多样性是瘤胃功能的基础,通过构建宏基因组文库能更加客观和完整地研究瘤胃微生物的多样性。采用包埋法提取荷斯坦奶牛瘤胃微生物大片段总 DNA,构建瘤胃微生物 Fosmid 基因组文库并进行鉴定,发现该文库平均插入片段大小约 35 kb,共保存 30 000 个克隆,库容达 1 050 MB,空载体率小于 2%^[43]。从中国荷斯坦奶牛瘤胃微生物群的宏基因组文库中回收编码分别为 361-和 265-氨基酸肽的 2 种新型脂肪酶基因 *RlipE1* 和 *RlipE2*,该基因对瘤胃脂质代谢研究具有重要意义^[44]。通过采用脉冲场凝胶电泳等技术构建黑山羊瘤胃未培养微生物细菌人工染色体(BAC)宏基因组文库的研究,筛选出 2 个既具有内切葡聚糖酶活性又具有 β -葡萄糖苷酶活性的克隆子^[45]。此外,不同饲料组成对瘤胃微生物产生显著影响。目前采用宏基因组学技术检测经不同饲料处理的反刍动物瘤胃样品,获得了大量的

微生物生物学信息,该信息可用于准确分析饲料与瘤胃微生物群之间的关系。通过分别对饲喂8种不同精饲料(浓缩物)和粗饲料(青草或干草)比例饲料的8头水牛的瘤胃微生物群进行宏基因组测序,发现拟杆菌在门水平上占优势,普氏菌属在属水平上占优势;与瘤胃液相比,固体食糜部分中厚壁菌门与拟杆菌门的比例更高^[46]。由此可知,调整饲料后,采用宏基因组测序技术所得到的生物学信息,可深入了解饲料与动物胃肠道微生物群之间的关系。

2.2 宏基因组学与甲烷调控

肥胖小鼠的相关研究表明,产甲烷古菌可摄取食物中的碳水化合物导致小鼠肥胖^[47]。研究表明,瘤胃微生物群可将饲料中胆碱转化为三甲胺(N-氧化物),最终转化为甲烷^[48]。另有研究发现,无菌或抗生素抑制小鼠的肠道微生物群可将膳食磷脂酰胆碱转化为三甲胺和甜菜碱,补充以上代谢物的饲料可促进小鼠动脉硬化^[49]。综上所述,肠道中甲烷古菌的数量和代谢活性对降低心血管疾病发病风险具有重要作用,具体内在机制还需进一步探究。

澳大利亚拥有世界上最大数量和最多种类的有袋动物,Tammar小袋鼠是典型的哺乳动物模型,在胎盘生理学和乳腺生物学领域广泛研究^[50]。其食草特性对食草动物宿主进化适应性方面也有很好的表征^[51],包括具有解剖学特征的前胃,能够通过酶水解和厌氧发酵,促进原核生物、真核生物和微生物长期定植,实现植物的有效生物转化,因此有袋动物也被认为是“低甲烷排放”动物^[52-54]。宏基因组学研究可以提供关于微生物群如何协调木质纤维素生物质的有效转化的新见解^[55],以及重新定向驯养牲畜中的微生物群以增强动物的碳捕获并减少甲烷的排放。从8只Tammar小袋鼠的前段肠道消化物样品中获得的宏基因组数据表明,前段肠道微生物组的组成显示出季节性变化,而这种变化可能与饲料有关。英国联邦科学与工业研究小组的早期研究表明,与反刍动物^[56]以及新型产乙酸细菌相比,有袋动物^[57]在其前段肠道中产生甲烷的微生物更少。结合宏基因组学研究表明,澳大利亚有袋动物对食草的进化适应,包括前段肠道中微生物组分的共同进化,将导致产甲烷的底物可用性降低。这些发现对农业和生物医学科学也有深远的影响。目前,对瘤胃微生物的

宏基因组方面的研究较少,主要集中在纤维素降解^[58-59],使用的方法主要有剖析深度测序、靶向原核和真核生物瘤胃微生物菌群法^[60-61]。新西兰科学家在国际合作中多次用到这些方法,主要用来研究瘤胃微生物群在不同动物中甲烷排放量的差异^[60],并取得了重大成就。

3 小结与展望

目前有关肠道微生物群方面的研究报道越来越多,但它仍然是影响人类和动物肠道功能和健康方面最难以理解的因素之一。本文综述了肠道微生物群在小型和大型动物模型中所发挥的重要作用,通过与其他学科交叉分析,并整合现有的肠道微生物的生理生态学知识,利用宏基因组学技术构建胃肠道生态系统网络,进一步了解饲料-胃肠道微生物群-宿主之间的关系,开发出胃肠道生态系统动态模型。应用这些模型预测肠道中微生物群动态结果,设计更加全面的饲料,最终达到提高动物机体健康的目的。

参考文献:

- [1] LEY R E, HAMADY M, LOZUPONE C, et al. Evolution of mammals and their gut microbes[J]. *Science*, 2008, 320(5883): 1647-1651.
- [2] BENSON A K, KELLY S A, LEGGE R, et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(44): 18933-18938.
- [3] TURNBAUGH P J, RIDAURA V K, FAITH J J, et al. The effect of diet on the human gut microbiome; a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2009, 1(6): 6ra14.
- [4] TURNBAUGH P J, HAMADY M, YATSUNENKO T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins[J]. *Nature*, 2009, 457(7228): 480-484.
- [5] 朱伟云,余凯凡,慕春龙,等.猪的肠道微生物与宿主营养代谢[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(10): 3046-3051.
- [6] XIA L C, CRAM J A, CHEN T, et al. Accurate genome relative abundance estimation based on shotgun metagenomic reads[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e27992.

- [7] GARMENDIA L, HERNANDEZ A, SANCHEZ M B, et al. Metagenomics and antibiotics [J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012, 18 (Suppl 4) : 27–31.
- [8] FAUST K, RAES J. Microbial interactions: from networks to models [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10 (8) : 538–550.
- [9] CHISTOSERDOVA L. Functional metagenomics: recent advances and future challenges [J]. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2009, 26 (1) : 335–352.
- [10] SIEZEN R J, KLEEREBEZEM M. The human gut microbiome: are we our enterotypes? [J]. *Microbial Biotechnology*, 2011, 4 (5) : 550–553.
- [11] EISEN J A. Environmental shotgun sequencing: its potential and challenges for studying the hidden world of microbes [J]. *PLoS Biology*, 2007, 5 (3) : e82.
- [12] TURNBAUGH P J, QUINCE C, FAITH J J, et al. Organismal, genetic, and transcriptional variation in the deeply sequenced gut microbiomes of identical twins [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (16) : 7503–7508.
- [13] ECKBURG P B, BIK E M, BERNSTEIN C N, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora [J]. *Science*, 2005, 308 (5728) : 1635–1638.
- [14] SUCHODOLSKI J S. Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats [J]. *Journal of Animal Science*, 2011, 89 (5) : 1520–1530.
- [15] DAI X, ZHU Y X, LUO Y F, et al. Metagenomic insights into the fibrolytic microbiome in yak rumen [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (7) : e40430.
- [16] TILG H, KASER A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2011, 121 (6) : 2126–2132.
- [17] SHANAHAN F. The gut microbiota—a clinical perspective on lessons learned [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2012, 9 (10) : 609–614.
- [18] WALLACE B D, WANG H W, LANE K T, et al. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme [J]. *Science*, 2010, 330 (6005) : 831–835.
- [19] VITALI B, NDAGIJIMANA M, CRUCIANI F, et al. Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles [J]. *BMC Microbiology*, 2010, 10 : 4.
- [20] USHAKOVA N A, ABRAMOV V M, KHLEBNIKOV V S, et al. Properties of the probiotic strain *Lactobacillus plantarum* 8-RA-3 grown in a biofilm by solid substrate cultivation method [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2012, 4 (3) : 180–186.
- [21] PAGNINI C, SAEED R, BAMIAS G, et al. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (1) : 454–459.
- [22] KALLIOMÄKI M, ANTOINE J M, HERZ U, et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: prevention and management of allergic diseases by probiotics [J]. *The Journal of Nutrition*, 2010, 140 (3) : 713S–721S.
- [23] KINROSS J M, DARZI A W, NICHOLSON J K. Gut microbiome-host interactions in health and disease [J]. *Genome Medicine*, 2011, 3 (3) : 14.
- [24] HEMARAJATA P, VERSALOVIC J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation [J]. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2013, 6 (1) : 39–51.
- [25] Jumpstart Consortium Human Microbiome Project Data Generation Working Group. Evaluation of 16S rDNA-based community profiling for human microbiome research [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (6) : e39315.
- [26] MARKOWITZ V M, CHEN I M A, CHU K, et al. IMG/M: the integrated metagenome data management and comparative analysis system [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40 (D1) : D123–D129.
- [27] KARLSSON F, TREMAROLI V, NIELSEN J, et al. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases [J]. *Diabetes*, 2013, 62 (10) : 3341–3349.
- [28] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nature Methods*, 2010, 7 (5) : 335–336.
- [29] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75 (23) : 7537–7541.
- [30] LI W Z. Analysis and comparison of very large metagenomes with fast clustering and functional annotation [J]. *BMC Bioinformatics*, 2009, 10 : 359.
- [31] LUO R B, LIU B H, XIE Y L, et al. SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read de novo assembler [J]. *Gigascience*, 2012, 1 (1) : 18–18.

- [32] KULTIMA J R, SUNAGAWA S, LI J H, et al. MO-CAT; a metagenomics assembly and gene prediction toolkit [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47656.
- [33] ARUMUGAM M, HARRINGTON E D, FOERSTNER K U, et al. Smash Community: a metagenomic annotation and analysis tool [J]. Bioinformatics, 2010, 26(23): 2977–2978.
- [34] ABUBUCKER S, SEGATA N, GOLL J, et al. Metabolic reconstruction for metagenomic data and its application to the human microbiome [J]. PLoS Computational Biology, 2012, 8(6): e1002358.
- [35] GUILLOTEAU P, ZABIELSKI R, HAMMON H M, et al. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? [J]. Nutrition Research Reviews, 2010, 23(1): 4–22.
- [36] SANGILD P T, THYMANN T, SCHMIDT M, et al. Invited review: the preterm pig as a model in pediatric gastroenterology [J]. Journal of Animal Science, 2013, 91(10): 4713–4729.
- [37] POROYKO V, MOROWITZ M, BELL T, et al. Diet creates metabolic niches in the “immature gut” that shape microbial communities [J]. Nutricion Hospitalaria, 2011, 26(6): 1283–1295.
- [38] PUIMAN P, STOLL B, MØLBAK L, et al. Modulation of the gut microbiota with antibiotic treatment suppresses whole body urea production in neonatal pigs [J]. American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology, 2013, 304(3): G300–G310.
- [39] VERASTEGUI Y, CHENG J, ENGEL K, et al. Multi-substrate isotope labeling and metagenomic analysis of active soil bacterial communities [J]. mBio, 2014, 5(4): e01157–14.
- [40] QU A N, BRULC J M, WILSON M K, et al. Comparative metagenomics reveals host specific metaviruses and horizontal gene transfer elements in the chicken cecum microbiome [J]. PLoS One, 2008, 3(8): e2945.
- [41] 李倩, 洪梦佳, 章雨牧, 等. 海洋鱼类胃肠道微生物的研究进展 [J]. 药物生物技术, 2016, 23(6): 561–564.
- [42] 王津. 宏基因组技术研究羊、鸡和猪胃肠道微生物菌群多样性 [D]. 博士学位论文. 天津: 天津大学, 2017.
- [43] 李旦, 王加启, 卜登攀, 等. 荷斯坦奶牛瘤胃微生物元基因组 Fosmid 文库的构建与分析 [J]. 微生物学杂志, 2009, 29(6): 1–4.
- [44] LIU K L, WANG J Q, BU D P, et al. Isolation and biochemical characterization of two lipases from a metagenomic library of China Holstein cow rumen [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 385(4): 605–611.
- [45] 袁静. 黑山羊胃肠微生物宏基因组文库构建及多样性研究 [D]. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2012.
- [46] PARMAR N R, SOLANKI J V, PATEL A B, et al. Metagenome of mehsani buffalo rumen microbiota: an assessment of variation in feed-dependent phylogenetic and functional classification [J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2014, 24(4): 249–261.
- [47] SAMUEL B S, HANSEN E E, MANCHESTER J K, et al. Genomic and metabolic adaptations of *Methanobrevibacter smithii* to the human gut [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(25): 10643–10648.
- [48] NEILL A R, GRIME D W, DAWSON R M C. Conversion of choline methyl groups through trimethylamine into methane in the rumen [J]. Biochemical Journal, 1978, 170(3): 529–535.
- [49] WANG Z N, KLIPFELL E, BENNETT B J, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. Nature, 2011, 472(7341): 57–63.
- [50] RENFREE M B. Review: marsupials: placental mammals with a difference [J]. Placenta, 2010, 31(Suppl 1): S21–S26.
- [51] FOLEY W J. Marsupial nutrition [J]. Pacific Conservation Biology, 1999, 5(3): 240.
- [52] KEMPTON T J, MURRAY R M, LENG R A. Methane production and digestibility measurements in the grey kangaroo and sheep [J]. Australian Journal of Biological Sciences, 1976, 29(3): 209–214.
- [53] MADSEN J, BERTELSEN M F. Methane production by red-necked wallabies (*Macropus rufogriseus*) [J]. Journal of Animal Science, 2012, 90(4): 1364–1370.
- [54] MORRISON M, MCSWEENEY C S, WRIGHT A D G. The vertebrate animal gut in context-microbiomes, metagenomes and methane [J]. Microbiology Australia, 2007, 28(3): 107–110.
- [55] MORRISON M, POPE P B, DENMAN S E, et al. Plant biomass degradation by gut microbiomes: more of the same or something new? [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2009, 20(3): 358–363.
- [56] EVANS P N, HINDS L A, SLY L I, et al. Community

- composition and density of methanogens in the foregut of the tammar wallaby (*Macropus eugenii*) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(8): 2598–2602.
- [57] GAGEN E J, DENMAN S E, PADMANABHA J, et al. Functional gene analysis suggests different acetogen populations in the bovine rumen and tammar wallaby forestomach [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(23): 7785–7795.
- [58] HESS M, SCZYRBA A, EGAN R, et al. Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen [J]. *Science*, 2011, 331(6016): 463–467.
- [59] BRULC J M, ANTONOPOULOS D A, BERG MILLER M E, et al. Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(6): 1948–1953.
- [60] MORGAVI D P, KELLY W J, JANSSEN P H, et al. Rumen microbial (meta) genomics and its application to ruminant production [J]. *Animal*, 2013, 7 (Suppl 1): 184–201.
- [61] KITTELMANN S, SEEDORF H, WALTERS W A, et al. Simultaneous amplicon sequencing to explore co-occurrence patterns of bacterial, archaeal and eukaryotic microorganisms in rumen microbial communities [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e47879.

Metagenomics and Its Application in Animal Gut Microbiota

ZHAO Lei¹ SUN Hui^{1*} MA Yanfen²

(1. *Jilin Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China*; 2. *Institute of Animal Nutrition and Feed, Inner Mongolia Academy of Agricultural & Animal Husbandry Science, Hohhot 010031, China*)

Abstract: Changes in gut microbiota are closely related to animal health. The gut microbiota can regulate energy metabolism, metabolism of heterologous substances, repair cells and improve immune function. Metagenomics techniques can be used to detect dynamic changes in the gut microbiota of animals. The bioinformatics technology and platform of metagenomics research, the application of metagenomics in animal gut microbiota were reviewed in this paper. It provided a theoretical basis for the subsequent development of a global model of intestinal ecosystem dynamics and targeted therapy of animal organisms. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(9): 3961-3967]

Key words: gut microbiota; metagenomics; animal