

## 利用 Illumina Miseq 测序技术研究鲍内脏多肽对小鼠肠道微生物的影响

张莎莎<sup>1</sup>, 吴振聪<sup>1</sup>, 杨转<sup>1</sup>, 马英<sup>1</sup>, 熊何健<sup>2\*</sup>

(1. 集美大学水产学院, 福建厦门 361021; 2. 集美大学食品与生物工程学院, 福建厦门 361021)

**摘要** [目的] 研究鲍内脏活性物质对小鼠肠道微生物的影响。[方法] 从鲍内脏中制备多肽并灌胃小鼠, 利用 Illumina Miseq 测序技术分析小鼠肠道微生物的群落结构及动态变化。[结果] 门水平上, 小鼠肠道微生物最优势菌群为拟杆菌门(Bacteroidetes), 占总序列的 69.10%; 其次为厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria), 分别占总序列的 23.50% 和 5.00%, 变形菌门又以  $\delta$ -变形菌纲居多。属水平上, 最优势类群为拟杆菌目(Bacteroidales)的一个未知分类属, 占 30.33%; 其次为拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)和拟杆菌属(*Bacteroides*), 分别占 12.47% 和 9.80%。灌胃鲍内脏多肽后, 小鼠肠道中丰度前 30 位的菌属中有 4 个属的丰度上调, 其中副拟杆菌属(*Parabacteroides*)的丰度显著上调。丰度下调的属有 7 个, 其中毛螺菌科(Lachnospiraceae)一个未分类属和厌氧支原体属(*Anaeroplasm*)丰度显著下调。[结论] 灌胃鲍内脏多肽后小鼠肠道微生物多样性呈增加的趋势, 且在小鼠肠道中检测到一些与宿主健康相关的差异细菌类群。

**关键词** 鲍内脏多肽; 肠道微生物; Illumina Miseq 测序

中图分类号 S852.6 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)08-0093-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.08.024



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Study on the Effects of Visceral Polypeptide of Abalone on Intestinal Microbe of Mice by Illumina Miseq Sequencing

ZHANG Sha-sha, WU Zhen-cong, YANG Zhuan et al (Fisheries College of Jimei University, Xiamen, Fujian 361021)

**Abstract** [Objective] To study the effects of visceral active substance of abalone on intestinal microbe of mice by Illumina Miseq sequencing. [Method] Polypeptide extracted from abalone viscera and mice was fed with it by intragastric administration. The community structure and dynamic changes of intestinal microbe of mice were analyzed by using Illumina Miseq sequencing. [Result] The most dominant phyla of bacteria in the intestine of mice were Bacteroides, accounting for 69.10% of the total sequence, followed by Firmicutes and Proteobacteria (accounting for 23.50% and 5.00% of the total sequences, respectively). Proteobacteria was dominated by  $\delta$ -Proteobacteria. At the genus level, the most dominant group was norank\_f\_Bacteroidales\_S24-7\_group, accounting for 30.33%, followed by *Alloprevotella* and *Bacteroides* (accounting for 12.47% and 9.80%, respectively). After the intragastric administration of abalone polypeptide, the abundance of 4 bacterial genera in the intestine of mice increased, among which the genus *Parabacteroides* significantly increased ( $P < 0.05$ ). The abundance of 7 genera decreased, among which the genus norank\_f\_Lachnospiraceae and *Anaeroplasm* significantly decreased ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] The intestinal microbial diversity of mice after intragastric administration of abalone viscera polypeptide, and some differentiated bacterial groups related to host health were detected in the intestinal tract of mice.

**Key words** Abalone viscera polypeptide; Intestinal microbiota; Illumina Miseq sequencing

鲍是具有较高经济价值的海洋贝类, 但居我国传统四大海味之首, 其营养丰富, 味浓鲜美, 深受大众喜爱。鲍具有滋阴补虚、养肝明目等功效<sup>[1]</sup>。鲍内脏是指除去鲍外壳和肉质后剩余的肝脏、消化系统等部分, 约占整个鲍重量的 25.0%, 其营养成分及组成与鲍肌肉中的类似, 都含有丰富的蛋白质、氨基酸、脂肪以及多种生物活性物质, 比如盘鲍内脏中含有包括人体必需的 7 种氨基酸在内的 16 种氨基酸<sup>[2]</sup>。鲍内脏中含有 3.72% 的粗脂肪, 要比肌肉中的含量多 3 倍, 而鲍脂肪中有含量较高的二十碳五烯酸, 具有改善心血管循环的作用。鲍内脏中还含有丰富的酶类、DHA、EPA、牛磺酸等生理活性物质以及一些维持神经肌肉兴奋的微量元素。在鲍的食用和加工过程中, 鲍内脏往往被直接遗弃, 不仅浪费资源, 而且会造成环境污染<sup>[3-4]</sup>。

随着人们对海洋生物活性物质的逐步认识以及人们对环境污染的关注, 海产品加工中的废弃物逐渐得到利用和开发。比如, 鱼内脏蛋白水解物对人体健康的生物作用<sup>[5]</sup>; 从

文蛤中分离到的多肽对人肺癌细胞具有抑制作用<sup>[6]</sup>; 从草鱼蛋白中分离到的新型多肽具有较强的抗氧化活性<sup>[7]</sup>。对鲍内脏活性物质的研究也有一些报道, 如酶解鲍内脏所得产物具有体外抗氧化活性<sup>[8-9]</sup>; 鲍内脏蛋白肽具有一定的体外自由基清除能力和较强的体内抗氧化活性, 并能增强小鼠的免疫功能<sup>[10]</sup>; 鲍内脏水解液能降低肝素辅因子 HCII 介导的凝血酶抑制率, 改善血液的抗凝作用, 大大延缓了凝血时间<sup>[11]</sup>。

肠道微生物是生物体的重要组成部分, 是宿主“被遗忘的器官”<sup>[12]</sup>, 影响着宿主的生长、发育、生理和病理<sup>[13-14]</sup>。目前对海洋生物多肽生物活性的评估大多集中在体内外抗氧化、抗肿瘤活性和免疫指标测定等方面<sup>[4, 15]</sup>, 对宿主肠道微生物影响方面的研究尚未见报道。笔者以模式动物小鼠为研究对象, 利用 Illumina Miseq 测序技术研究灌胃鲍内脏多肽后小鼠肠道微生物菌群结构的变化, 从肠道微生物的角度研究鲍鱼内脏活性物质对宿主的影响, 进一步完善海洋多肽的生物活性评估, 并为研制改善肠道微生物的益生元奠定基础。此外, 该研究在提升鲍内脏的附加值, 促进废物利用, 减少环境污染等方面也具有重要意义。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物** SPF 级雄性昆明小鼠, 体重 190~230 g。

**基金项目** 国家海洋局海洋公益性行业科研专项(201405016); 福建省科技指导性项目(2016N0022)。

**作者简介** 张莎莎(1989—), 女, 江苏东台人, 硕士, 从事水产动物营养与饲料研究。\*通信作者, 教授, 硕士生导师, 从事食品功能活性物质研究。

**收稿日期** 2018-11-09; **修回日期** 2018-11-29

**1.2 试材与试剂** 碱性蛋白酶(诺维信(中国)生物技术有限公司);粪便基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司);GoodView 荧光染料(北京赛百盛基因技术有限公司);酶、生化试剂等购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

**1.3 仪器与设备** PCR 扩增仪 S1000,为 BIO-RAD 公司产品;真空冷冻干燥机,为北京博医康实验仪器有限公司产品;CAVOY 电泳仪 PP-1153、电泳槽均为北京凯元信瑞仪器有限公司产品;凝胶成像系统,为上海培清科技有限公司产品。

#### 1.4 方法

**1.4.1 鲍内脏多肽的制备。**皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)内脏来自厦门岛之源生物科技有限公司,制备方法参考何传波等<sup>[1]</sup>的方法。皱纹盘鲍的内脏经冻干磨粉处理,用碱性蛋白酶水解后灭酶,冷却离心,上清过滤得透过液为多肽(以小分子肽为主),所得多肽冻干备用。

**1.4.2 样品采集。**将 SPF 级雄性昆明小鼠适应性饲养 7 d 后开始试验。试验开始前,随机选取 12 只小鼠采集粪便样品,每 4 只小鼠的粪便合并为 1 个样品,共 3 个样品(编号为 K01、K02 和 K03)。然后将小鼠随机分为阴性对照组(K)和灌胃鲍内脏多肽的处理组(PH),每组 12 只小鼠。K 组灌胃生理盐水 1 200 mg/(kg·d),PH 组灌胃鲍内脏多肽 1 200 mg/(kg·d)。试验期为 28 d,分别在试验的第 14、28 天采集小鼠粪便,每 4 只小鼠的粪便混合为一个样品,每组 3 个平行样品。第 14 天的 6 个样品为 K141、K142、K143、PH141、PH142、PH143,第 28 天 6 个样品为 K281、K282、K283、PH281、PH282、PH283。

**1.4.3 DNA 提取及 Illumina Miseq 高通量测序。**小鼠粪便基因组 DNA 提取按照天根粪便基因组 DNA 试剂盒的步骤进行,提取后送至美吉生物公司进行 Illumina Miseq PE300 测

序。通过美吉公司云平台 i-sanger,将所得序列先根据序列首尾两端的 barcode 和引物序列区分样品得到有效序列,并校正序列方向进行数据优化。然后,再对优化的数据进行分类学分析,在各个分类水平上统计各样品的群落组成。通过单样本分析小鼠粪便样品中的微生物菌群丰度和多样性( $\alpha$ -多样性)。为研究不同样本间的相似性和差异关系,根据 Bray-Curtis 距离矩阵对样本进行 PCoA 分析(principal co-ordinates analysis),即主坐标分析,可视化呈现小鼠粪便样本中微生物群落的差异程度。最后,通过 Heatmap 图对小鼠粪便样品进行分析,根据高丰度和低丰度的物种分块聚集可知,不同分组的样品在各分类水平上群落组成的相似性和差异性。

## 2 结果与分析

**2.1  $\alpha$ -多样性指数分析** 15 个样品共获得 754 345 个 reads,测得样品的覆盖率在 99%以上,各样品获得的 reads 为 40 828~59 970 个,平均每个样品的 reads 为(50 290±1 379)个。由于各样品测序深度不同可能会带来多样性分析误差,因此将样品均一化到 40 000 条序列后再进行后续分析。

chao1 指数用来估计物种总数,Faith's PD 指数反映某一样品物种组成的系统进化特征多样性;Simpson 指数和 Shannon 指数来估算样品中微生物多样性,其中 Shannon 值越大,说明群落多样性越高;Simpson 指数越大,说明群落多样性越低。从表 1 可以看出,灌胃鲍内脏多肽的处理组(PH)的 Chao1 指数和 Faith's PD 指数均比同期对照组(K)要高,灌胃鲍内脏多肽能增加小鼠肠道微生物多样性的趋势,但各组间差异均未达到显著水平( $P>0.05$ )。试验第 28 天处理组(PH)的 Simpson 指数显著低于同期对照组(K)( $P<0.05$ ),但对对照组和处理组间 Shannon 指数差异不明显。

表 1 各组小鼠肠道微生物  $\alpha$ -多样性指数的比较

Table 1 The comparison of  $\alpha$ -diversity indices of intestinal microbe in mice in each group

| 时间<br>Time//d | 组别<br>Group | Simpson 指数<br>Simpson index | Shannon 指数<br>Shannon index | Faith's PD 指数<br>Faith's PD index | Chao1 指数<br>Chao1 index |
|---------------|-------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| 0             | K           | 0.98±0.01                   | 6.45±0.17                   | 7.48±0.77                         | 741.28±19.18            |
|               | PH          | —                           | —                           | —                                 | —                       |
| 14            | K           | 0.96±0.03                   | 6.39±0.40                   | 7.82±0.42                         | 684.87±30.13            |
|               | PH          | 0.96±0.02                   | 6.40±0.49                   | 9.38±4.09                         | 1 125.94±849.01         |
| 28            | K           | 0.98±0.01                   | 6.55±0.21                   | 7.26±0.36                         | 676.90±64.68            |
|               | PH          | 0.96±0.00*                  | 6.21±0.10                   | 8.44±0.96                         | 793.64±122.66           |

注:\*表示与同期对照组相比差异显著( $P<0.05$ )

Note: \* represented significant differences with control group at the same time( $P<0.05$ )

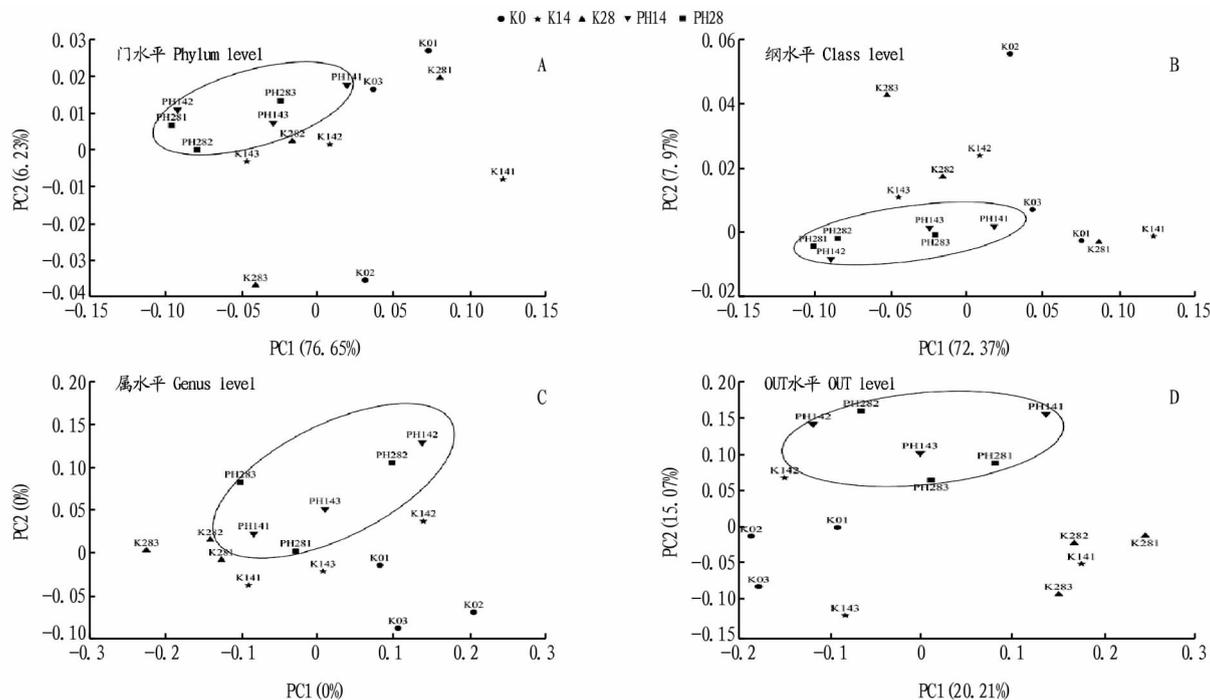
**2.2 PCoA 分析** 小鼠肠道微生物在门、属、OUT 水平上的 PCoA 分析结果见图 1。在各水平上,与对照组相比,鲍内脏多肽处理组的样品 PH141、PH142、PH143、PH281、PH282 和 PH283 均相对集中地聚在一起,而对照组较为分散。这说明小鼠在灌胃鲍内脏多肽后其肠道微生物发生了一定的偏移,灌胃鲍内脏多肽对小鼠肠道菌群结构造成了一定的影响。第 14、28 天采集的鲍内脏多肽处理组样品未分开,在该试验条件下延长灌胃时间对小鼠肠道菌群结构的影响不明显。

**2.3 小鼠肠道微生物门水平上的菌群构成及灌胃鲍内脏多肽对其影响** 小鼠肠道中检测到的微生物序列可分为 13 门,分别为拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、

变形菌门(Proteobacteria)、软壁菌门(Tenericutes)、Saccharibacteria 门、脱铁杆菌门(Deferribacteres)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、疣微菌门(Verrcomicrobia)、TM6\_Dependentiae 门、放线菌门(Actinobacteria)、绿菌门(Chlorobi)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)。其中优势类群为拟杆菌门,占总序列的 69.10%,其次为厚壁菌门和变形菌门,分别占总序列的 23.50%和 5.00%,其中变形菌门又以  $\delta$ -变形菌纲居多,占所有序列的 3.80%,此外还有少量的  $\alpha$ -变形菌纲、 $\beta$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲和  $\epsilon$ -变形菌纲细菌,所占比例均不到 1%。蓝细菌门(Cyanobacteria)、软壁菌门(Tenericutes)、Saccharibacteria 门和脱铁杆菌门(Deferribacteres)在

所有样品中也均能检测到,但所占比例均不到 1%。放线菌门(Actinobacteria)在各个样品中都有检出,但丰度很低,不到 0.1%。绿弯菌门(Chloroflexi)、绿菌门(Chlorobi)、浮霉菌门(Planctomycetes)、TM6\_Dependentiae 等仅在 PH141 样品中检测到。不同采样时间的对照样品相比,随着试验的进行,

软壁菌门的丰度有所下降,而放线菌门的丰度有所上升。与同期对照组相比,灌胃鲍内脏多肽后脱铁杆菌门、Saccharibacteria 门和软壁菌门丰度下调,其中软壁菌门丰度显著下调,而放线菌门和拟杆菌门丰度上调(图 2)。



注: K01、K02、K03 为第 0 天采集的样品;第 14 天采集的样品阴性对照组(K)有 K141、K142、K143,处理组(PH)有 PH141、PH142、PH143;第 28 天采集的样品阴性对照组(K)有 K281、K282、K283,处理组(PH)有 PH281、PH282、PH283

Note: K01, K02, K03 were sampled samples on 0<sup>th</sup> day; On the 14<sup>th</sup> day, K141, K142, K143 were sampled samples in negative control group(K); PH141, PH142, PH143 were sampled samples in treatment group(PH); On the 28<sup>th</sup> day, K281, K282, K283 were sampled samples in negative control group(K), PH281, PH282, PH283 were sampled samples in treatment group(PH)

图 1 小鼠肠道微生物的 PCoA 分析

Fig.1 PCoA analysis of intestinal microbe in mice

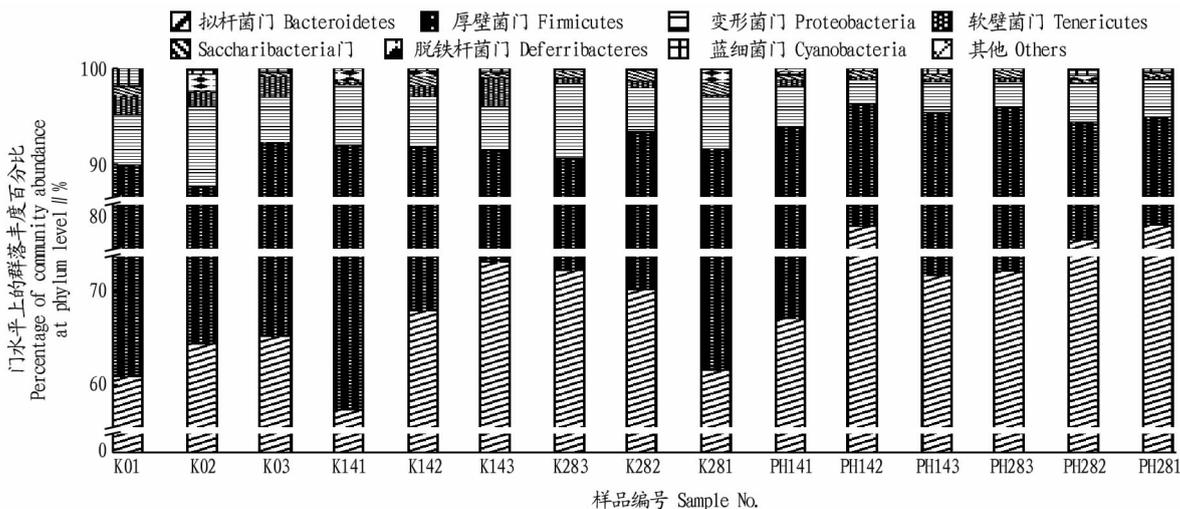


图 2 小鼠肠道微生物在门水平上的分类构成

Fig.2 The taxonomic composition of intestinal microbe in mice at phylum level

2.4 小鼠肠道微生物属水平上的构成及灌胃鲍内脏多肽对其影响 小鼠粪便样品中共检测到 110 属,选取丰度前 30

位的属绘制成热图,结果如图 3 所示。从图 3 可以看出,小鼠肠道中平均丰度较高的属有拟杆菌目(Bacteroidales)的一

个未分类的属、拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、另枝菌属(*Alistipes*)、毛螺菌科 NK4A136(*Lachnospiraceae\_NK4A136\_group*)、普雷沃氏菌科 UCG-001(*Prevotellaceae\_UCG-001*)、螺杆菌属(*Helicobacter*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)未分类属、瘤胃菌科 UCG-04(*Ruminococcaceae\_UCG-014*)、乳酸菌属(*Lactobacillus*)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)、梭菌目 vadinBB60 组(*norank\_f\_\_Clostridiales\_vadinBB60\_group*)等。其中拟杆菌目的未分类属占比 30.33%,为优势菌属;其次是拟普雷沃菌属,占比 12.47%;拟杆菌属占比 9.80%,另枝菌属占比 7.87%。

灌胃鲍内脏多肽后,与对照组相比,丰度上调的属有 4 个:理研菌科 RC9\_gut\_group(*Rikenellaceae\_RC9\_gut\_group*)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)、普雷沃氏菌科 NK3B31(*Prevotellaceae\_NK3B31\_group*)、普雷沃氏菌科 UCG-001;其中,副拟杆菌属的丰度上调与对照间差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。灌胃鲍多肽后丰度下调的属有 7 个,分别为螺杆菌属、毛螺菌科未分类属、颤螺旋菌属(*Oscillibacter*)、*Anaerotruncus* 属、粪球菌属\_1(*Coprococcus\_1*)、罗斯氏菌属(*Roseburia*)和厌氧支原体属(*Anaeroplasm*)。其中,厌氧支原体属与对照间的丰度差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。

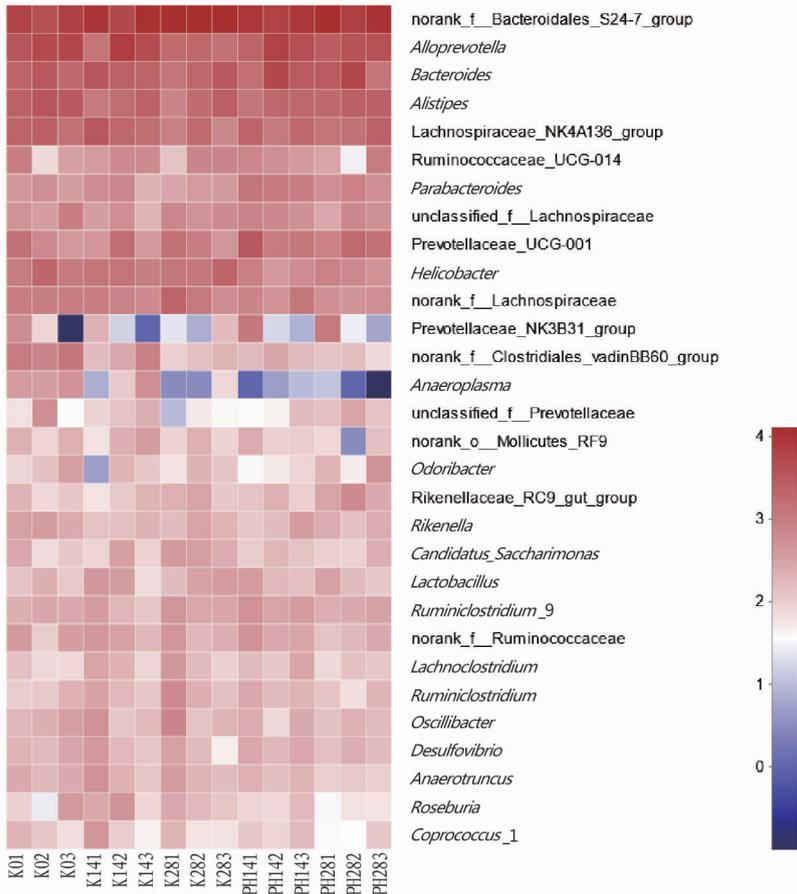


图3 小鼠肠道微生物属水平上的热图

Fig.3 Heatmap of intestinal microbe in mice at genus level

### 3 结论与讨论

笔者采用 Illumina 高通量测序对小鼠肠道微生物的群落结构及灌胃鲍内脏多肽对其的影响进行了研究。结果表明,虽然反映肠道微生物多样性的 Shannon 指数、Faith's PD 指数与对照间差异未达到显著水平( $P > 0.05$ ),但鲍内脏多肽处理组均高于对照组,第 28 天 Simpson 指数显著低于对照组( $P < 0.05$ )。灌胃鲍内脏多肽后小鼠肠道微生物多样性有增加的趋势。后续试验应延长试验周期,进一步考察灌胃鲍内脏多肽对小鼠肠道微生物多样性的影响。

该研究中 PCoA 分析结果表明,灌胃鲍内脏多肽后小鼠肠道微生物在门、属和 OTU 水平上有趋同聚类趋势,但整体上还是比较分散,对照组样品更为分散。这可能是由于小鼠

间个体差异造成的。比如在 PH141 中检测到绿弯菌门、绿菌门、浮霉菌门、TM6\_Dependentiae 等,但在其他样品中极少或未检测到。尽管该试验采集的每个样品都是 4 只小鼠粪便的混合物,但重复数偏少(3 个重复),后续研究应增加生物学重复,以减少个体差异带来的影响。

该研究中灌胃鲍内脏多肽后在小鼠肠道中检测到一些与宿主健康相关的差异细菌类群。灌胃鲍内脏多肽后,丰度显著上调的副拟杆菌 *Parabacteroides* 能有效产生和分泌水解酶,是厌氧发酵产酸过程中的优势种群<sup>[16]</sup>。丰度上调的理研菌科 RC9\_gut 组也被发现在酒精液体饲料诱导的酒精性肝病中显著下降<sup>[17]</sup>,暗示了该菌与小鼠健康之间的关联性。普雷沃氏菌科 NK3B31 组和普雷沃氏菌科 UCG-001 也是上

调类群,这些菌属可以帮助分解蛋白质和碳水化合物食物,且与退行性疾病有关<sup>[18-19]</sup>。

该研究中灌胃鲍内脏多肽后小鼠肠道毛螺菌科一未分类属、厌氧支原体属的丰度显著下调。毛螺菌科在肠道中较早被发现,含量丰富,该科的菌种之间差异很大。已有研究表明,与健康的个体相比,毛螺菌科在非酒精性脂肪性肝病的小鼠<sup>[20]</sup>及患过敏性紫癜幼儿的肠道内有更高的丰度<sup>[21]</sup>,但具体功能有待进一步研究。厌氧支原体是一类无细胞壁的细菌,关于其功能的研究报道很少,其具体生理功能尚有待进一步研究。其他一些丰度下调(未达到显著水平)的属中,螺杆菌属中最广为人知的幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*)是感染率较高的致病菌。颤螺旋菌属(*Oscillibacter*)、*Anaerotruncus*属等在抵抗肥胖方面起作用<sup>[22]</sup>,这可能与鲍内脏多肽是一种营养丰富的蛋白质有关。

由于方法和数据库信息的限制,该研究获得的一些差异和未知的细菌类群尚需要进一步鉴定,并对差异细菌进行分离培养,结合其生理功能进行研究,从而进一步阐明鲍内脏多肽对肠道微生物及宿主的影响,为海洋生物活性物质的功效评价提供新思路。

#### 参考文献

- [1] 张月红,姜波,刘长建,等.鲍鱼多糖提取工艺的研究[J].中央民族大学学报(自然科学版),2011,20(3):20-23.
- [2] 苗艳丽,方富永,宋文东.鲍鱼内脏的酸水解及其梅拉德反应产物分析[J].南方水产,2009,5(4):54-57.
- [3] 林杰.PEF对鲍鱼内脏蛋白水解及其性质变化影响的研究[D].福州:福建农林大学,2012:1-2.
- [4] 刘春燕.鲍鱼内脏多糖的结构和活性研究[D].长春:东北师范大学,2011:1-6.
- [5] VILLAMIL O, VÁQUIRO H, SOLANILLA J F. Fish viscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties[J]. Food Chem, 2017, 224: 160-171.
- [6] 王翠翠,刘明,王凤霞,等.文蛤多肽抑制肿瘤细胞微管蛋白聚合[J].中

- 国生化药物杂志,2012,33(3):225-228.
- [7] CAI L Y, WU X S, ZHANG Y H, et al. Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin [J]. Journal of functional foods, 2015, 16(3): 234-242.
- [8] ZHOU D Y, ZHU B W, QIAO L, et al. *In vitro* antioxidant activity of enzymatic hydrolysates prepared from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) viscera [J]. Food and bioproducts processing, 2012, 90(2): 148-154.
- [9] JE J Y, PARK S Y, HWANG J Y, et al. Amino acid composition and *in vitro* antioxidant and cytoprotective properties of abalone viscera hydrolysate [J]. Journal of functional foods, 2015, 16: 94-103.
- [10] 何传波,邵杰,魏好程,等.鲍内脏蛋白肽抗氧化和免疫调节活性[J].食品科学,2018,39(5):206-212.
- [11] SULERIA H A R, MASI P P, ADDEPALLI R, et al. *In vitro* anti-thrombotic and anti-coagulant properties of blacklip abalone (*Haliotis rubra*) viscera hydrolysate [J]. Analytical & bioanalytical chemistry, 2017, 409(17): 4195-4205.
- [12] O'HARA A M, SHANAHAN F. The gut flora as a forgotten organ [J]. EMBO Reports, 2006, 7(7): 688-693.
- [13] BÄCKHED F, LEY R E, SONNENBURG J L, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine [J]. Science, 2005, 25(307): 1915-1920.
- [14] KAIKO G E, STAPPENBECK T S. Host-microbe interactions shaping the gastrointestinal environment [J]. Trends in immunology, 2014, 35(11): 538-548.
- [15] 朱芳蓉.鲍鱼内脏胶原蛋白多肽的制备及其体外抗氧化活性研究[D].福州:福建农林大学,2012:50-61.
- [16] 杨雪.强化污泥厌氧发酵产酸的效能及发酵液碳源的利用研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2012:72-77,133.
- [17] 许文琦,王生,黄逸安,等.非酒精性脂肪肝与酒精性肝病大鼠肠道菌群比较研究[J].世界临床药物,2018,39(1):35-42.
- [18] NASEER M I, BIBI F, ALQAHTANI M H, et al. Role of gut microbiota in obesity, type 2 diabetes and Alzheimer's disease [J]. CNS & neurological disorders drug targets, 2014, 13(2): 305-311.
- [19] TAN A H, MAHADEVA S, THALHA A M, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in Parkinson's disease [J]. Parkinsonism & related disorders, 2014, 20(5): 535-540.
- [20] 张静怡,唐颖悦,李春敏,等.非酒精性脂肪性肝病对肠道菌群多样性的初步研究[J].肝脏,2017,22(4):323-326.
- [21] 陈鹏德,林燕,杨洁,等.过敏性紫癜患儿肠道菌群结构及多样性研究[J].中国妇幼健康研究,2017,28(7):747-752,757.
- [22] 朱宏斌,沈伟,王竞,等.宏基因组研究高脂饮食诱导小鼠的肥胖易感性与肠道菌群的关系[J].第三军医大学学报,2017,39(8):773-780.