

# 基于 *rpsD* 功能基因测序分析家族成员肠道拟杆菌群落组成及其跨代传递

李珑珑<sup>1,2</sup>, 张雪玲<sup>2</sup>, 褚宇欣<sup>2</sup>, 孙海龙<sup>2\*</sup>, 倪永清<sup>2\*</sup>

1 石河子大学 生命科学学院, 新疆 石河子

2 石河子大学 食品学院, 新疆特色益生菌与乳品技术八师重点实验室, 新疆 石河子

李珑珑, 张雪玲, 褚宇欣, 孙海龙, 倪永清. 基于 *rpsD* 功能基因测序分析家族成员肠道拟杆菌群落组成及其跨代传递[J]. 微生物学报, 2025, 65(9): 4136-4150.

LI Longlong, ZHANG Xueling, CHU Yuxin, SUN Hailong, NI Yongqing. Amplicon sequencing of *rpsD* reveals the community composition and transgenerational transmission of *Bacteroides* in family members[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(9): 4136-4150.

**摘要:** 人体肠道专性共栖细菌在维持微生态平衡方面发挥着关键作用, 一般认为通过母乳喂养实现跨代垂直传递。然而, 与双歧杆菌(*Bifidobacterium*)相比, 拟杆菌(*Bacteroides*)作为人体专性共栖菌的代表, 其在人群中的传递、扩散机制鲜有报道, 且在家族成员中菌群的发生与跨代传递研究较少。【目的】探究家族成员间拟杆菌的垂直传递及共发生模式, 揭示人体肠道微生物组的构建机制, 为肠道微生物健康干预和个性化调控提供理论基础。【方法】采集中国新疆 3-4 代家族共 50 位家族成员的粪便样本, 基于拟杆菌 *rpsD* 基因的高通量测序技术构建数据库, 通过比对注释, 在种水平和特征序列(amplicon sequence variant, ASV)水平上解析家族拟杆菌群落组成和多样性。【结果】4 个家族共注释拟杆菌 16 个种、3 704 个 ASVs, 其中 4 个家族共有的 ASVs 数量为 1 293。ASVs 数量最多的 5 个种为脆弱拟杆菌(*B. fragilis*, 653)、卵形拟杆菌(*B. ovatus*, 619)、单形拟杆菌(*B. uniformis*, 507)、粪拟杆菌(*B. caccae*, 463)和芬氏拟杆菌(*B. finegoldii*, 314), 这 5 个种也是相对丰度和发生率最高的。家族间拟杆菌菌群存在差异, 以 *B. fragilis*、*B. uniformis* 和毛丝鼠粪拟杆菌(*B. faecichinchillae*)的差异最为显著。不同性别和年龄段家族成员的  $\alpha$  多样性无显著差异( $P>0.05$ )。基于 Bray-Curtis 距离的  $\beta$  多样性分析显示, 性别与年龄组间差异不明显, 但家族间差异显著( $P=0.001$ )。基于 Bray-Curtis 距离和 ASVs 共有率分析表明, 不同社会关系家族成员之间的拟杆菌群落组成相似度为母-子、兄弟姐妹对明显高于父-子、夫-妻和无亲缘关系成员。【结论】拟杆菌的群落结构和多样性具有家族人群特征, 家族间差异显著; 依据社会关

资助项目: 新疆生产建设兵团重点领域科技攻关项目(2023AB050, 2024AB050); 国家自然科学基金联合基金(U1903205); 兵团研究生创新项目(BTYJXM-2024-K10)

This work was supported by the Special Funds for Science and Technology Development of Xinjiang Production and Construction Corps (2023AB050, 2024AB050), the Joint Funds of the National Natural Science Foundation of China (U1903205), and the Innovation Project for Postgraduate Students of the Xinjiang Production and Construction Corps (BTYJXM-2024-K10).

\*Corresponding authors. E-mail: SUN Hailong, [sunhl610@shzu.edu.cn](mailto:sunhl610@shzu.edu.cn); NI Yongqing, [nியqlzu@sina.com](mailto:nியqlzu@sina.com)

Received: 2025-03-04; Accepted: 2025-03-27; Published online: 2025-06-13

系分析, 母子和兄弟姐妹间的菌群相似性最高, 支持在菌株水平上的跨代垂直传递, 未来需要采用菌株分离与宏基因组深度测序相结合的大数据方法进一步验证。

关键词: 拟杆菌; *rpsD* 基因高通量测序; 垂直传递; 群落结构

## Amplicon sequencing of *rpsD* reveals the community composition and transgenerational transmission of *Bacteroides* in family members

LI Longlong<sup>1,2</sup>, ZHANG Xueling<sup>2</sup>, CHU Yuxin<sup>2</sup>, SUN Hailong<sup>2\*</sup>, NI Yongqing<sup>2\*</sup>

1 College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, China

2 Key Laboratory for Xinjiang Special Probiotics and Dairy Technology of the Eighth Division of Xinjiang Production and Construction Corps, School of Food Science and Technology, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, China

**Abstract:** Obligate symbiotic bacteria in the human gut play a key role in maintaining microecological balance and are generally thought to be transmitted vertically across generations through breastfeeding. However, compared with that on *Bifidobacterium*, there is limited literature on the transmission and diffusion mechanisms of *Bacteroides*, a representative of obligate symbiotic microbiota in the human body, within populations. Additionally, the occurrence and cross-generational transmission of *Bacteroides* within families remain poorly understood. **[Objective]** We explored the vertical transmission and co-occurrence patterns of *Bacteroides* among family members, aiming to reveal the assembly mechanism of gut microbiota in the human body and provide a theoretical basis for the recommendation of microbiome-based interventions and the realization of personalized gut regulation. **[Methods]** A high-throughput sequencing dataset for *Bacteroides*-specific *rpsD* in fecal samples from four families with 50 members in 3–4 generations in Xinjiang, China was established. Then, the composition and diversity of *Bacteroides* communities among different families and member groups were measured at the species level and amplicon sequence variant (ASV) level by comparison and annotation. **[Results]** A total of 16 *Bacteroides* species and 3 704 ASVs were identified, of which 1 293 ASVs were common among the four families. The five species with the highest number of ASVs were *B. fragilis* (653), *B. ovatus* (619), *B. uniformis* (507), *B. caccae* (463), and *B. finegoldii* (314), which were also the five species with the highest relative abundance and prevalence. There were significant differences in community composition and abundance of *Bacteroides* among families, with *B. fragilis*, *B. uniformis*, and *B. faecichinchillae* being the most significant representatives. There was no significant difference in alpha or beta diversity among family members grouped according to gender and age ( $P>0.05$ ). By contrast, the beta diversity analysis based on Bray-Curtis distance showed differences between families ( $P=0.001$ ). According to the sharing rate of ASVs and Bray-Curtis distance, the *Bacteroides* strain similarity of mother-child and siblings was significantly higher than that of father-child, couple, and unrelated members. **[Conclusion]** The community

structure and diversity of *Bacteroides* were characterized by family convergence, with significant differences among families. The similarity of *Bacteroides* strains was the highest within the mother-child and sibling groups among different social relationship groups, supporting transgenerational vertical transmission at the strain level. The conclusion remains to be validated by the combination of the strain isolation method and metagenomic sequencing.

**Keywords:** *Bacteroides*; high-throughput sequencing of *rpsD*; vertical transmission; community structure

人体肠道栖息着数万亿微生物, 上千种微生物共同维持着肠道微生态平衡<sup>[1]</sup>。其中部分微生物与宿主紧密互作<sup>[2]</sup>, 存在协同进化关系<sup>[3-4]</sup>, 并产生有益于宿主健康的次级代谢产物<sup>[5]</sup>, 被定义为宿主共生体(或互利共生体)<sup>[6]</sup>。一些专性肠道共生体不能离开肠道, 它们依靠宿主提供的稳定栖息环境获取营养物质, 对宿主的健康和发育具有重要意义。在婴儿期, 这些共生体主要通过母亲产道分娩接触获得母体微生物<sup>[7]</sup>, 或者通过母乳喂养实现跨代垂直传递, 这是重要共生体在人群中扩散的主要途径<sup>[8]</sup>。这种传递对人体在婴儿期构建健全的肠道菌群至关重要<sup>[9]</sup>。拟杆菌(*Bacteroides*)和双歧杆菌(*Bifidobacterium*)是人类肠道专性共栖菌的典型代表。大量文献报道, 双歧杆菌通过母乳喂养对婴儿实现垂直传播<sup>[10]</sup>, 并在后代中连续跨代遗传<sup>[11-12]</sup>。与双歧杆菌相似, 拟杆菌也是专性厌氧细菌, 是人体结肠的主要成员, 在成人肠道菌群中占优势地位, 并发挥多种重要作用, 包括保护肠道免受病原体侵害<sup>[13]</sup>。此外, 拟杆菌最重要的功能是其强大的多糖降解能力, 无论是饮食来源的多糖还是宿主黏膜的聚糖, 都能被其降解为各种小分子的寡糖或单糖<sup>[14]</sup>, 从而成为肠道其他细菌的营养提供者。因此拟杆菌很可能是成人化肠道细菌营养代谢的基石细菌(keystone)<sup>[15]</sup>, 并被认为是新一代的肠道有益菌<sup>[16]</sup>。

目前, 拟杆菌作为人体肠道健康标志物、种群遗传变异、菌株水平上的动态变化以及与宿主饮食互作的模式细菌, 受到广泛关注<sup>[17-18]</sup>。研究表明随着宿主年龄的变化, 拟杆菌种群结

构也会发生变化, 儿童肠道和成人肠道存在显著差异<sup>[19-20]</sup>。饮食、生活方式及生态环境会影响人群肠道菌群的优势度, 例如高脂肪和动物蛋白的饮食会导致肠道拟杆菌的高丰度<sup>[21]</sup>。有关横断面队列研究的报道显示, 拟杆菌的多样性具有一定的人群地域性, 但菌群组成尚未发现明显的规律性分布特征<sup>[22-24]</sup>。与双歧杆菌相比, 拟杆菌作为同样可遗传的人体专性共栖菌代表, 其在人群中的传递和扩散机制鲜有报道, 家族成员中菌群的发生与跨代传递情况也知之甚少。研究种水平上共栖细菌在家族成员间的分布、菌株的垂直传递以及共发生规律, 将为某些与微生物相关的家族性疾病(如过敏、肥胖等)的发生提供新的视角<sup>[25]</sup>。家族遗传、饮食习惯和生存环境的差异会造成关键共生菌在家族内传递的差异, 从而影响后代健康<sup>[26]</sup>。因此家族作为研究菌群发生与传递的理想模型, 将为揭示人体菌群的构建机制提供最直接的证据。

本研究采集了新疆南部 4 个 3-4 代家族的粪便样本, 采用拟杆菌特异引物的高通量核糖体蛋白基因(*rpsD* 基因)扩增子测序技术, 自主构建拟杆菌 *rpsD* 基因数据库。通过基因数据的比对和注释, 在种水平上解析了拟杆菌菌群在家族、年龄、性别方面的差异, 并在菌株水平上重点分析了母子和非母子不同社会关系的家族成员间拟杆菌的群落组成和多样性差异, 探究了拟杆菌在家族成员间的垂直传递和菌株共发生情况。本研究以期了解人体肠道微生物组的构建机制, 以及基于肠道菌群健康开发益生菌组合的个性化干预生物疗法提供依据。

# 1 材料与方法

## 1.1 志愿者招募与样品采集

2021 年 11 月 12 日至 27 日, 在新疆喀什伽师县和疏勒县招募了 4 个无通婚、有聚居习惯的家族, 共 62 名成员。其中, 部分成员未能成功采集样本( $n=8$ )或样本量不足, 无法进行后续的 DNA 提取与测序( $n=4$ )。所有参与者均身体健康, 且至少 6 个月内未服用抗生素或其他药物。统计了志愿者的相关临床特征信息, 包括性别、出生日期、身高、体重、主食习惯与生活方式等。作为调查的一部分, 每个户主均被要求绘制家谱, 涵盖所有家族成员, 包括无血缘关系者。如果成员已婚, 则记录配偶姓名以及子女的数量和年龄。每个研究对象收集约 10–15 g 的新鲜粪便样本, 放入无菌取样管。样本自采集后储存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的车载冰箱中, 并在 72 h 内运送到实验室, 随后立即转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。本研究依据《赫尔辛基宣言》进行<sup>[27]</sup>, 并获得石河子大学医学院第一附属医院伦理委员会的批准, 编号 KJ2021-088-01, 所有参与志愿者均签署了知情同意书。

## 1.2 样本基因组 DNA 提取与高通量测序

依据粪便基因组提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]的说明书, 提取粪便微生物群的总 DNA。使用核酸定量仪 (ThermoFisher Scientific 公司)对提取的 DNA 进行定量, 并通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量, 利用紫外可见分光光度计测定 DNA 浓度和纯度。

采用引物 Bif-*rpsD*-F (5'-AWCDAGAATHGCMCGTAA-3')/Bif-*rpsD*-R (5'-YRTCCCAATCC AACCA-3') 扩增 *rpsD* 基因的 24–508 bp 区域<sup>[28]</sup>。PCR 反应体系 (50  $\mu\text{L}$ ): 2 $\times$ Taq PCR Master Mix 25  $\mu\text{L}$ , DNA 模板 (10 ng/ $\mu\text{L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , 上、下游引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 1  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 22  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增程序: 95  $^{\circ}\text{C}$ 预变性 8 min; 95  $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, 50  $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s, 72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸 40 s, 共 30 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 8 min。扩增产物

经回收质检后, 采用 Illumina MiSeq PE150 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

## 1.3 基于 *rpsD* 基因数据库构建

从 NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)、EMBL-EBI Ensembl Bacteria (<https://bacteria.ensembl.org/>)下载包含目标功能基因的所有全基因组数据。应用 FastQC 工具对下载的全基因组数据进行质量控制, 确保每个基因组数据的整体质量达到标准。从质控后的全基因组数据中提取目标功能基因序列, 并使用 ElimDup 进行去重处理, 确保每个基因只保留 1 个代表序列。利用 IQ-TREE<sup>[29]</sup>工具构建系统发育树, 通过进化关系分析识别并去除错误的基因序列。最终得到的基因序列用于数据库的构建。

## 1.4 生物信息学分析

使用 VSEARCH<sup>[30]</sup> (-fastq\_mergepairs)合并成对双端 reads, 生成高质量的 FASTQ 文件。使用 -fastx\_filter 命令去除引物, 并过滤低质量序列(使用 -fastq\_strip\_left 和 -fastq\_strip\_right 去除引物, 使用 -fastq\_maxee\_rate 进行质量控制)。通过 -fastq\_minlen 和 -fastq\_maxlen 进行序列长度过滤。为减少冗余, 进一步通过 -fastx\_uniques 选项保留唯一序列, 并设置 -minuniquesize 参数过滤掉低丰度序列。通过 -cluster\_unoise 命令识别特征序列(amplicon sequence variant, ASV)。结合参考数据库检测并移除嵌合体序列(-uchime\_ref), 优化数据质量。使用 -usearch\_global 命令生成一个操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)表, 将序列相似性阈值设置为 0.99 (id=99)。对聚类后的 ASV 使用 -sintax 进行物种注释(sintax\_cutoff=0.6), 获得初步注释结果。使用 FastTree<sup>[31]</sup>软件计算基于 ASVs 代表序列的发育树。提取 ASVs 代表序列, 并使用 BLAST 进行比对, 生成最终的物种分类注释表。

## 1.5 统计分析

采用 R 语言(v4.4.1)中的“vegan 包”计算  $\alpha$  多样性指数和  $\beta$  多样性指数。 $\alpha$  多样性指数的两组

间差异采用 Wilcoxon 秩和检验, 多组间差异通过 Kruskal-Wallis 检验进行分析。 $\beta$  多样性分析基于 Bray-Curtis 距离分别进行主坐标分析 (principal coordinate analysis, PCoA) 和限制主坐标分析 (constrained principal coordinate analysis, CPCoA), PCoA 和 CPCoA 分析通过“amplicon 包”完成。组间菌群差异通过 ANOVA 检验评估, 群落组成的组间及组内相似性分析使用“vegan 包”完成。此外, 利用 Kruskal-Wallis 检验确定组间差异的显著性, 并进一步使用 Dunn 检验进行两两比较, 以详细解析不同分组成员肠道拟杆菌相对丰度的变化, 以及不同关系对 Bray-Curtis 距离和 ASVs 共享率的影响。使用自编脚本从所有样本所属的家族中随机选取 2 个不同的家族, 并分别从每个家族中随机抽取 1 个样本, 构成一对“无亲缘关系组”样本。此过程重复进行 50 次, 生成 50 对来自不同家族的随机样本对, 用于与家族内样本对的微生物组差异进行对比分析。为保证结果的可复现性, 所有随机抽样过程均设定随机种子。所有数据的可视化处理均使用 R-Studio 软件(R v4.4.1)完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 研究人群信息及特征概述

本研究纳入了 4 个家族共 62 名成员, 其中

26 位来自新疆喀什地区疏勒县(75.99°E, 39.33°N), 家族编号为 K2 和 K4, 缺失样本 6 份; 36 位来自新疆喀什地区伽师县(76.72°E, 39.48°N), 家族编号为 K6 和 K7, 缺失样本 6 份。共缺失样本 12 份, 其中 4 份为母亲样本, 因 DNA 提取率低, 无法达到测序要求, 未能纳入后续分析。家族结构为 3–4 代(图 1A–1D), 成员年龄范围为 1–80 岁, 具体统计信息见表 1。

### 2.2 家族成员间肠道拟杆菌多样性比较

本研究共获得原始数据 reads 1 414 172 条。通过自建数据库及 BLAST 同源性序列比对注释, 鉴定出 810 189 条序列属于拟杆菌, 占总序列数的 57.3%。随后利用自编脚本提取拟杆菌序列, 用于后续多样性分析及物种注释, 共划分为 3 704 个 ASVs。基于 ASV 数据进行多样性分析, 计算家族内及家族间不同成员肠道拟杆菌的  $\alpha$  多样性(图 2A–2C)。结果显示, 不同性别和年龄段成员的拟杆菌  $\alpha$  多样性差异不显著( $P > 0.05$ ), 而家族间  $\alpha$  多样性差异显著, 尤其是 K4 家族与 K7 家族的差异显著( $P < 0.05$ ), 其他家族之间差异无统计学意义。

基于 Bray-Curtis 距离对家族间拟杆菌进行  $\beta$  多样性分析, 采用 PCoA 和 CPCoA 分别依据年龄、性别和家族进行分析。结果显示, 性别

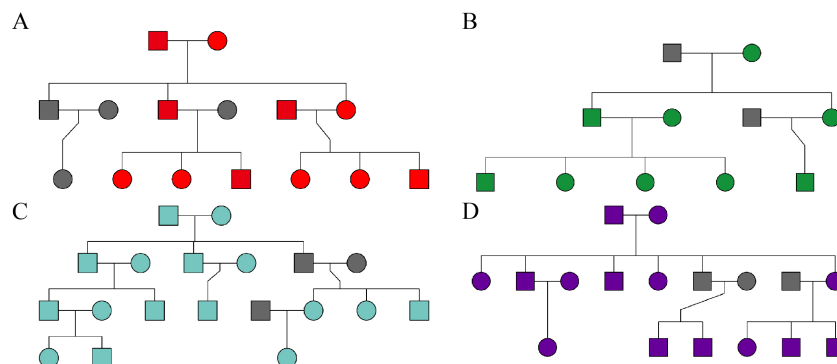


图1 家族成员代际信息。A: K2家族; B: K4家族; C: K6家族; D: K7家族。正方形和圆形分别代表男性和女性, 灰色表示样品缺失。

Figure 1 Geographical distribution of family members. A: K2 Family; B: K4 family; C: K6 family; D: K7 Family. Squares and circles represent men and women, respectively, Gray indicates the absence of samples.

表1 家庭成员人口统计学特征  
Table 1 Demographic characteristics of family members

| Characteristics and demographic data | Values (%) |
|--------------------------------------|------------|
| Gender                               |            |
| Male                                 | 22 (44)    |
| Female                               | 28 (56)    |
| Family                               |            |
| K2                                   | 11 (22)    |
| K4                                   | 9 (18)     |
| K6                                   | 16 (32)    |
| K7                                   | 14 (28)    |
| Body mass index (BMI)                |            |
| Underweight (<18.5)                  | 34 (68)    |
| Normal (18.5–23.9)                   | 8 (16)     |
| Overweight (24.0–26.9)               | 2 (4)      |
| Obesity (27.0–29.9)                  | 3 (6)      |
| Severe obesity (≥30)                 | 3 (6)      |
| Age (years)                          |            |
| 0–12                                 | 20 (40)    |
| 13–30                                | 8 (16)     |
| 31–60                                | 13 (26)    |
| 61–80                                | 9 (18)     |

对拟杆菌菌群多样性的影响不显著( $P>0.05$ ) (图 2D); 依据年龄将所有家庭成员分为 4 组, 其中 0–12 岁、13–30 岁和 31–60 岁 3 个组间  $\beta$  多样性差异不明显, 而 61–80 岁组与前 3 组相比差异明显但无统计学意义( $P>0.05$ ) (图 2E); 不同家族间拟杆菌群落  $\beta$  多样性差异显著(Adonis test,  $P=0.001$ ) (图 2F)。

2.3 家族内及家族间不同成员肠道拟杆菌种水平组成的比较

通过自建库注释及 BLAST 比对, 综合所有家族成员的测序数据集, 肠道菌群中共鉴定 16 种拟杆菌(图 3)。按相对丰度排序结果如下: 卵形拟杆菌(*B. ovatus*, 21.74%)、脆弱拟杆菌(*B. fragilis*, 19.95%)、单形拟杆菌(*B. uniformis*, 17.32%)、粪拟杆菌(*B. caccae*, 15.65%)、毛丝鼠粪拟杆菌(*B. faecichinchillae*, 5.16%)、芬氏拟杆

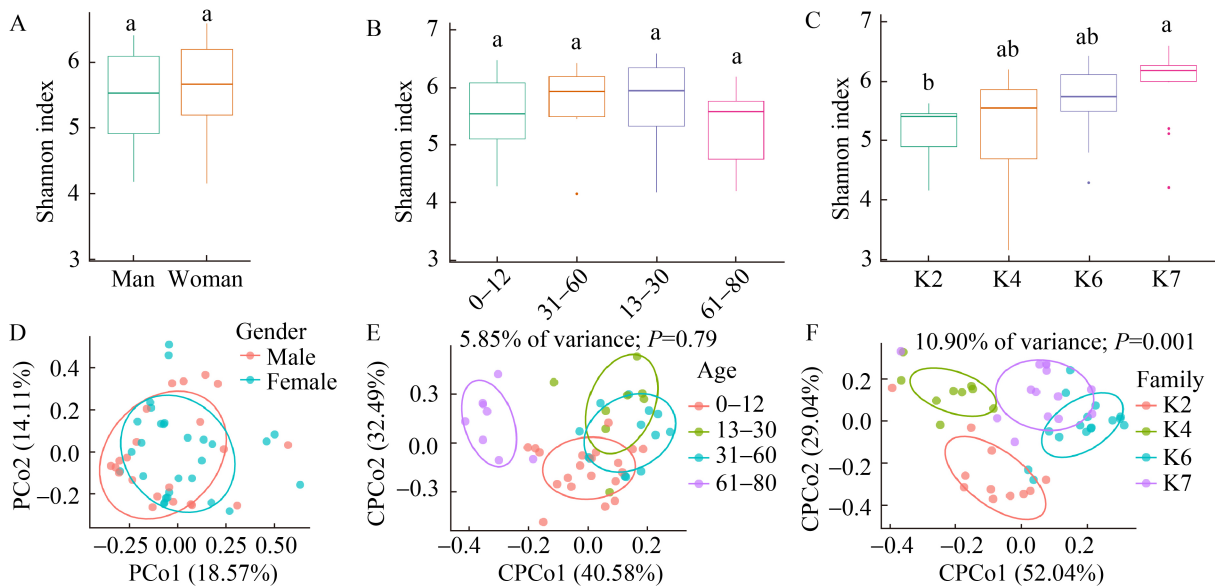


图2 基于ASVs对家族成员依据性别、年龄和家族的拟杆菌属群落 $\alpha$ 和 $\beta$ 多样性分析。A: 性别分组的 $\alpha$ 多样性; B: 年龄分组的 $\alpha$ 多样性; C: 家族分组的 $\alpha$ 多样性; D: 性别分组的 $\beta$ 多样性; E: 年龄分组的 $\beta$ 多样性; F: 家族分组的 $\beta$ 多样性。

Figure 2 Diversity analysis of gut *Bacteroides* community among family members based on ASVs. A: Alpha diversity by gender; B: Alpha diversity by age; C: Alpha diversity by family; D: Beta diversity by gender; E: Beta diversity by age; F: Beta diversity by family.

菌 (*B. finegoldii*, 4.93%)、多形拟杆菌 (*B. thetaiotaomicron*, 4.71%)、溶木聚糖拟杆菌 (*B. xylanisolvens*, 3.05%)、粪便拟杆菌 (*B. stercoris*, 1.65%)、产酸拟杆菌 (*B. acidifaciens*, 1.51%)、萨利尔斯氏拟杆菌 (*B. salyersiae*, 0.96%)、闪亮拟杆菌 (*B. clarus*, 0.85%)、人粪拟杆菌 (*B. faecis*, 0.84%)、解纤维素拟杆菌 (*B. cellulosilyticus*, 0.83%)、张文宏拟杆菌 (*B. zhangwenhongii*, 0.61%)、埃氏拟杆菌 (*B. eggerthii*, 0.23%)。

16种拟杆菌在4个家族50个成员中的发生及相对丰度热图显示(图3), 在种水平上, *B. fragilis*、*B. ovatus*、*B. uniformis*、*B. thetaiotaomicron* 的发生率最高, 存在于绝大部分家族成员中。*B. faecichinchillae*、*B. stercoris* 主存在于绝大部分家族成员中。*B. acidifaciens* 仅在 K2 家族中出现。*B. cellulosilyticus*、*B. clarus*、*B. eggerthii*、*B. faecichinchillae*、*B. faecis* 在 K4 家族所有成员的肠道中均未检测到。*B. faecis* 仅在 K6、K7 家族各 1 个成员中出现, 是发生率最低的种。进

一步对 4 个家族的肠道拟杆菌物种组成进行整体统计显示(图 4A), K2 家族的主要优势菌种为 *B. caccae* (23.49%), K4 家族中 *B. fragilis* (38.30%) 的丰度显著高于其他家族, 而 K6、K7 家族分别以 *B. ovatus* (25.49%) 和 *B. uniformis* (28.33%) 为优势菌种。此外, 某些种表现出家族内的富集现象, 例如 *B. finegoldii* 和 *B. zhangwenhongii* 主要在 K4 家族中富集, 而 K2 家族富集的菌种种类更多, 包括 *B. xylanisolvens* 等。*B. fragilis*、*B. uniformis* 和 *B. faecichinchillae* 在家族间的相对丰度差异最显著(图 4B–4D,  $P < 0.05$ )。

对 4 个家族所有成员按性别分组统计显示, 男性和女性肠道拟杆菌组成存在差异, 但差异不显著(图 5B,  $P > 0.05$ )。其中, 女性肠道中的卵形拟杆菌 (*B. ovatus*) 平均丰度略高于男性, 而男性成员肠道中的 *B. fragilis* 和 *B. uniformis* 相对丰度略高。图 5A 显示了按年龄分组(0–12 岁、13–30 岁、31–60 岁和 61–80 岁)的不同年龄成员拟杆菌种的组成。*B. fragilis*、*B. ovatus* 和 *B.*

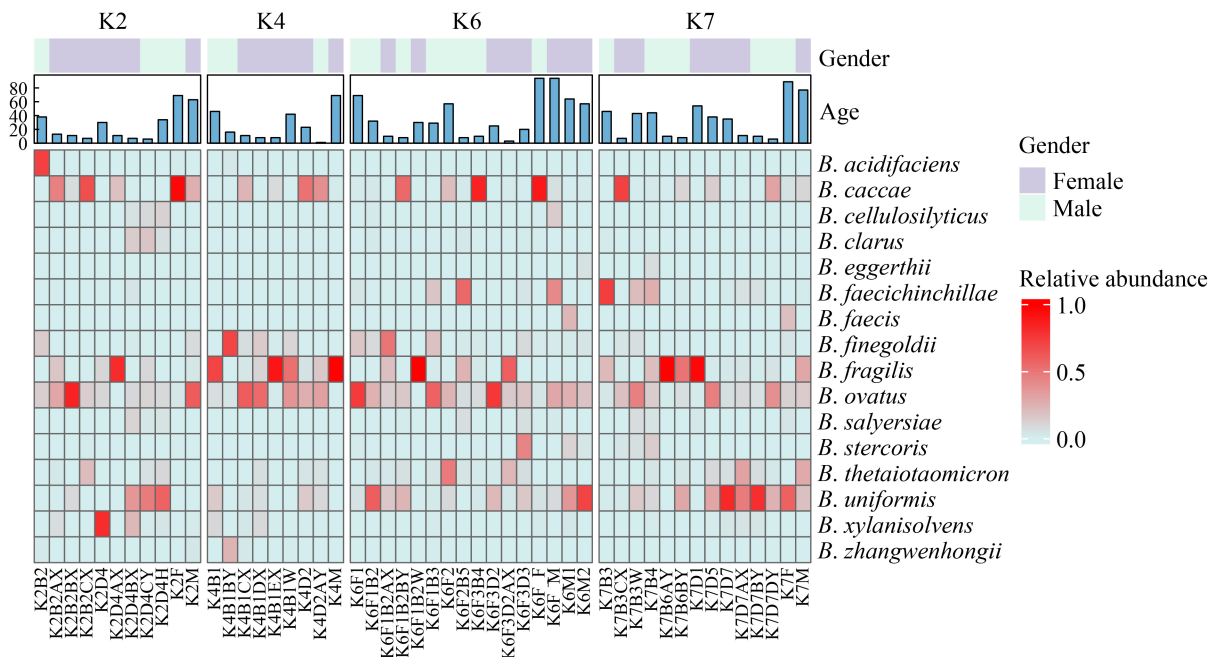


图3 不同家族成员16种拟杆菌相对丰度及发生热图

Figure 3 The heat map showing the relative abundance and occurrence of 16 *Bacteroides* species among different family members. Red and light blue indicate the relative abundance and absence of *Bacteroides*, respectively.

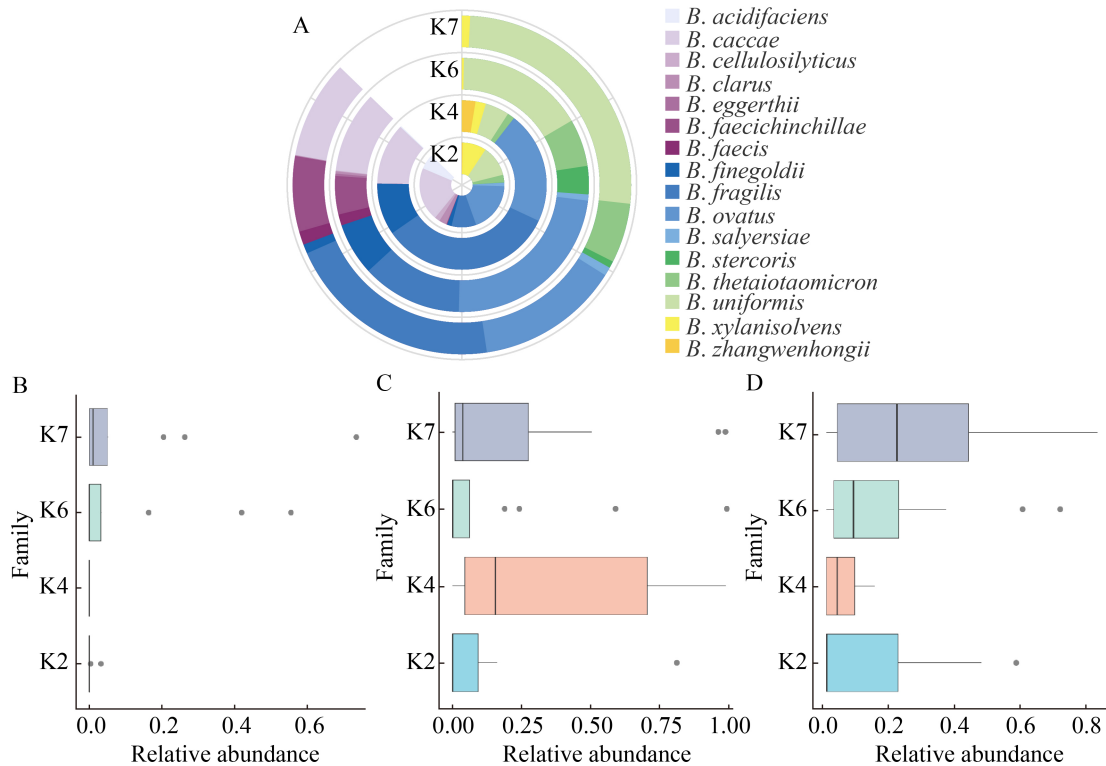


图4 不同家族肠道拟杆菌种水平组成及其差异显著性分析。A: 不同家族种水平拟杆菌的结构组成; B: *B. faecichinchillae*; C: *B. fragilis*; D: *B. uniformis*。

Figure 4 The difference of *Bacteroides* composition in intestinal tract of volunteers from different families. A: Structural composition of *Bacteroides* at the level species between families; B: *B. faecichinchillae*; C: *B. fragilis*; D: *B. uniformis*.

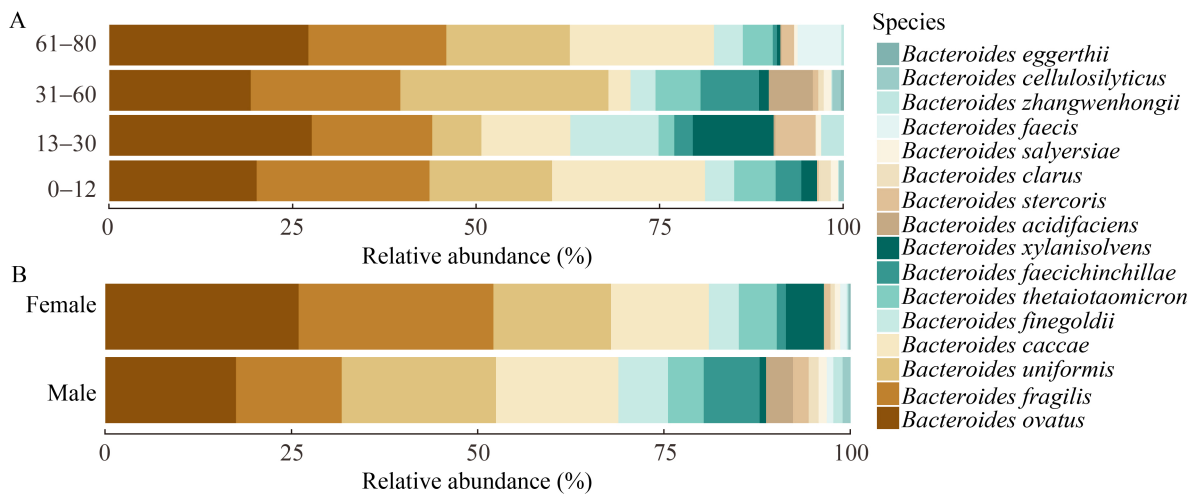


图5 按年龄和性别分组的家族成员肠道拟杆菌种水平组成分析。A: 按照年龄分组; B: 按照性别分组。  
Figure 5 Analysis of intestinal *Bacteroides* composition of family members at the species level. A: According to age; B: According to gender.

*uniformis* 为所有年龄组的绝对优势种, 占比超过 50%。*B. clarus* (4.69%) 主要存在于 0–12 岁成员的肠道中, 而在 13–30 岁年龄组的肠道微生物群中, *B. stercoris* (15.38%) 和 *B. xylanisolvens* (28.06%) 的平均丰度显著高于其他年龄组。*B. eggerthii* (1.35%) 仅出现在 31–60 岁年龄组中。此外, 该年龄组成员的肠道中 *B. acidifaciens* (20.89%) 平均相对丰度高于其他年龄组, 而 *B. caccae* (6.36%) 的平均相对丰度则较其他年龄组低; *B. faecis* (10.23%) 仅在 61–80 岁年龄组中表现出优势。总体上, 各年龄段的拟杆菌种类及丰度分布无显著差异 ( $P>0.05$ )。

## 2.4 家族不同成员间肠道拟杆菌菌株水平(ASV)的群落结构及垂直传递分析

在 ASV 水平上, 共鉴定出 16 个拟杆菌种,

包含 3 704 个 ASVs (图 6)。其中, ASVs 数量最多的 5 个种依次为 *B. fragilis* (653)、*B. ovatus* (619)、*B. uniformis* (507)、*B. caccae* (463)、*B. finegoldii* (314), 而 ASVs 数量最少的种为 *B. cellulosilyticus* 和 *B. eggerthii* (16)。不同家族的 ASVs 数量分布存在较大差异。如图 7 所示, 4 个家族(K2、K4、K6、K7)共有的 ASVs 数量为 1 293, 各家族特有 ASVs 数量分别为 51、3、130、125。由于相同的 ASVs 可以被认定为相同的菌株, 因此拟杆菌 ASV 在不同家族及其成员间的分布具有相似性, 可以反映菌株在人群中的传递情况。不同家族间同种拟杆菌相同 ASV 代表序列的共有性, 意味着菌株水平上的社会性扩散传递; 而特有 ASV 则代表家族特异的菌株, 反映了肠道拟杆菌群落的菌株多样性和垂直传递。

为了提供无亲缘共享率的基线对照, 从随

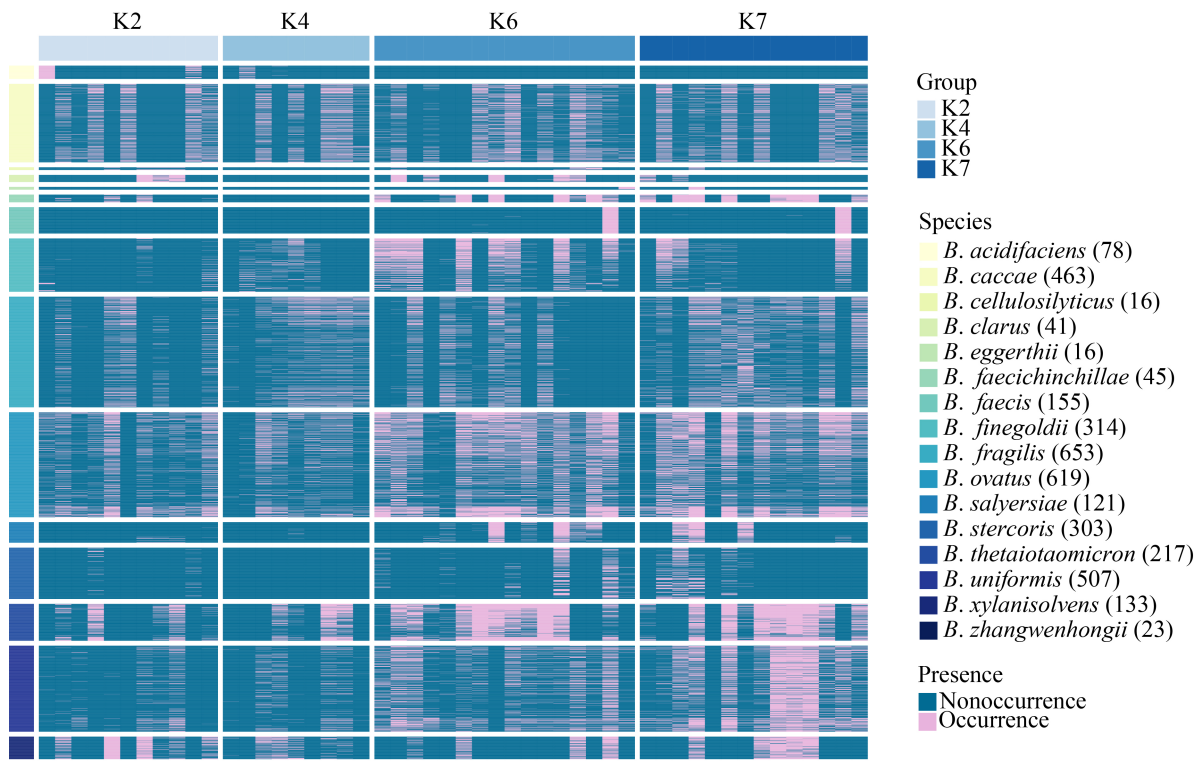


图6 16种拟杆菌共3 704个ASVs (菌株水平)在不同家族成员肠道中的发生

Figure 6 The occurrence of a total of 3 704 ASVs (strain levels) of 16 *Bacteroides* species in different family members. The number in parentheses after the species name indicates the number of ASVs for each *Bacteroides* species.

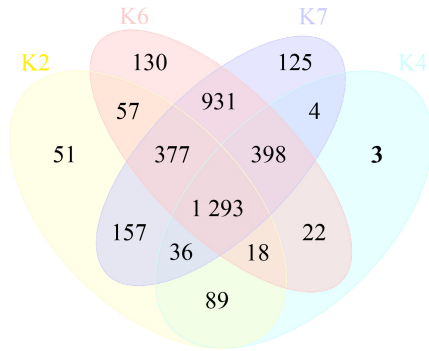


图7 不同家族ASVs分布及共有的Venn图

Figure 7 The Venn diagram showing the distribution and sharing of ASVs in different families.

机配对中抽取 50 个对照作为无亲缘关系组。基于 Bray-Curtis 距离计算家族成员之间的拟杆菌群落组成差异度(图 8A)。总体上, 夫-妻(0.83)>

父-子(0.77)/祖父-子(0.77)>祖母-子(0.69)>兄弟姐妹(0.63)>母-子(0.62), 母子之间的拟杆菌群落组成差异最小。在家族成员间, 母-子和兄弟姐妹之间的群落差异最小(0.62), 而无亲缘关系的随机配对之间的差异最大(0.84)。同时, 依据 ASVs 共有率(两者均具有的 ASVs 数量/两者总 ASVs 数量)的分析表明(图 8B), 母-子对的共享率为 0.25, 其后为兄弟姐妹对(0.21), 显著高于其他社会关系, 如父子对(0.13)、夫妻对(0.16)。尤其是基于 Bray-Curtis 距离和共享率均显示, 父亲与子女之间、夫妻之间的菌株相似性最低。

### 3 讨论与结论

人体肠道中分布着大量的共栖细菌, 其中

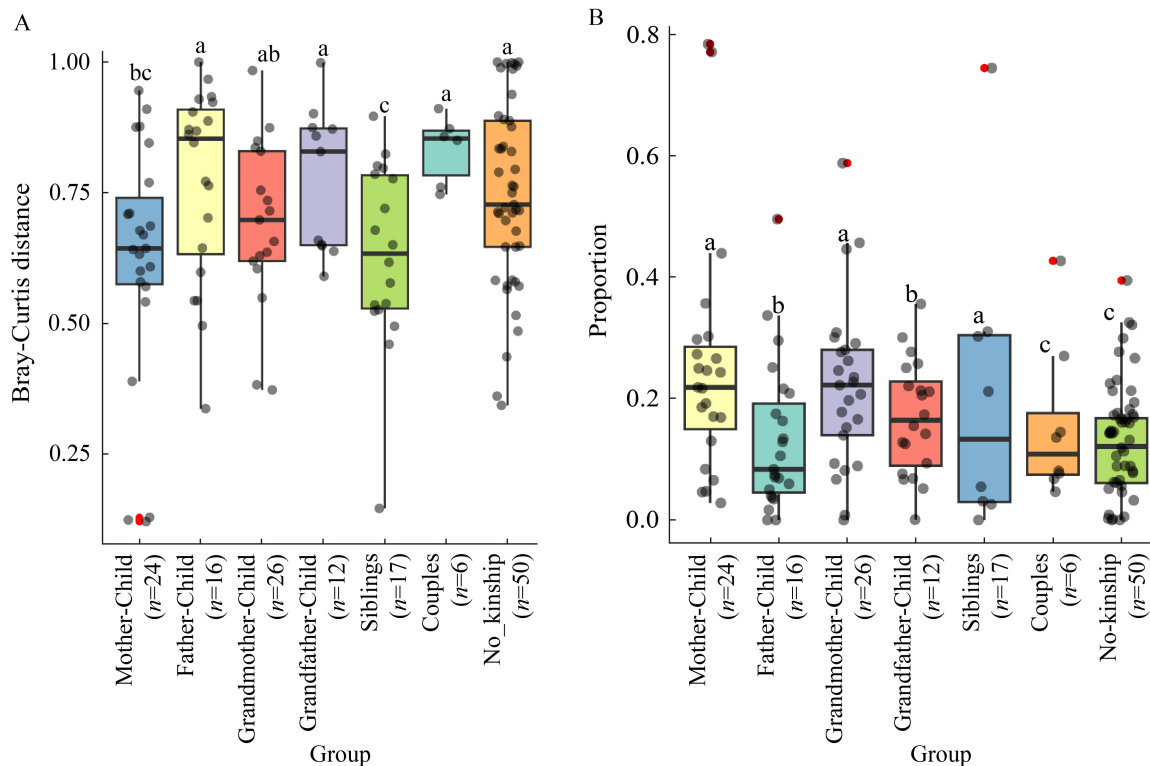


图8 基于ASV对不同社会关系家族成员间拟杆菌群落组成的差异分析。A: 基于ASVs的Bray-Curtis距离; B: ASVs共享率。

Figure 8 Analysis of variability in *Bacteroides* community composition among family members with different social relationships based on ASV. A: Bray-Curtis distance based on ASVs; B: ASVs sharing rate. Different letters above box plots indicate significant differences at 0.05 level.

许多种类因其对宿主健康和生长发育的重要调控作用而备受关注。这些细菌共同维持着肠道的微生态平衡,对人体发挥着生理、免疫调控、延缓衰老等各种益生功能<sup>[32]</sup>。实际上,不同的共栖细菌有不同的生活史,根据生态位分布的宽度可区分为自由生活型、兼性共栖细菌和专性共栖的宿主关联型(host-associated microbes)<sup>[33]</sup>。其中,专性共栖细菌只生存于肠道,与肠道黏膜层紧密互作,与宿主形成协同进化关系<sup>[34]</sup>。这些共生体通常在婴儿期通过母亲顺产阴道接触或母乳喂养获得,这种传递方式称为垂直传递,是共生体跨代传递、构建健全肠道菌群的重要途径<sup>[8]</sup>。*Bacteroides* 和 *Bifidobacterium* 通常被认为是专性厌氧细菌,是人类肠道专性共栖菌的典型代表,也是最早在人类婴儿肠道中定居的微生物。与双歧杆菌相比,拟杆菌在成人肠道菌群中占绝对优势,尤其是它们对非消化性多糖的强大降解能力为其他肠道细菌提供了营养,形成了复杂的食物网<sup>[14]</sup>。在婴幼儿逐渐成人化的过程中,拟杆菌是肠道细菌营养代谢的基石细菌,现被认为是新一代的益生菌<sup>[16]</sup>。然而,目前对拟杆菌在人群中的共发生和菌株传递的了解仍然有限。

大量研究表明,宿主的生活环境,尤其是独特的饮食和地域环境差异,可能是导致肠道微生物物种组成和重要菌群差别的主要因素,使得总体上人类肠道菌群呈现地域性和民族性特征。研究显示高脂和高动物蛋白的饮食会导致肠道拟杆菌的数量增加,因此西方国家人群肠道中拟杆菌的多样性和丰度更高,尤其 *B. thetaiotaomicron* 的丰度更高、更普遍;在非洲和东亚、东南亚地区,由于日常饮食中脂类和蛋白质摄入较低、碳水化合物摄入量较高,人群拟杆菌的丰度相对较低;然而,饮食以肉食占比较高的日本人群拟杆菌多样性却与西方群体接近,并明显高于植物基食品摄入较高的印度人群<sup>[35-38]</sup>。针对意大利一个人群队列的研究发现,纯素食者和素食者中 *B. fragilis* 的丰度很

低,而杂食群体中 *B. fragilis* 的丰度和发生率均很高。此外还发现,在杂食性人群中普遍存在 *B. salanitronis* 和 *B. coprocola*,而 *B. vulgatus* 广泛存在于一般素食者,纯素食者中则更流行 *B. salyersiae*<sup>[39]</sup>。然而,总体上目前文献报道的不同人群和个体拟杆菌种群和物种流行度差异很大,结论不明确。这不仅与研究方法有关,也与文献对研究人群文化多元、饮食多样复杂难以准确量化有关,尤其是难以量化复杂多糖摄入量及其持久性。

研究发现,随着年龄增加拟杆菌种群结构也会发生变化,即使在相同年龄的儿童中肠道拟杆菌的丰度差异也较大。对荷兰学龄儿童队列研究显示, *B. ovatus*、*B. fragilis*、*B. thetaiotaomicron*、*B. xylanisolvens* 是发生率最高的4个种,其中富含拟杆菌的一组儿童以 *B. xylanisolvens*、*B. dorei*、*B. vulgatus*、*B. eggerthii* 为优势种<sup>[19]</sup>。相反,在成人肠道中以 *B. fragilis*、*B. thetaiotaomicron*、*B. vulgatus* 的丰度最高<sup>[40]</sup>,但也有研究报道成人中 *B. xylanisolvens* 也很常见<sup>[20]</sup>。总体而言,拟杆菌属是儿童和成人中常见的属,一些种类在成人和儿童组具有相似的发生率。这与本研究结果基本一致,不同年龄和性别的人群中,拟杆菌种群结构差异并不显著。

拟杆菌的群落结构和多样性具有人群地域特征。本研究通过拟杆菌特异引物的高通量测序,以家族为研究目标,对不同社会成员的肠道拟杆菌群落组成在种水平和菌株水平进行了系统研究,共鉴定出肠道中存在16种拟杆菌,与 Yang 等的发现<sup>[41]</sup>一致。本研究的家族研究结果显示,在种水平上, *B. ovatus*、*B. fragilis*、*B. uniformis*、*B. caccae* 是发生率和丰度最高的4个种,其中前3个种与日本人群中流行、丰度最高的结果一致。然而,最大的不同在于 *B. thetaiotaomicron* 在本研究的家族群体中相对丰度总体较低,但却是发生率最高的种之一(图3、图5)。研究报道 *B. thetaiotaomicron* 能够高

效降解膳食纤维, 例如抗性淀粉和木聚糖<sup>[42]</sup>。在高动物蛋白和脂肪饮食的人群中, 尽管 *B. thetaiotaomicron* 的数量不占优势, 但它可通过提供中间代谢产物以维持微生物群落的稳定性, 因而作为关键种群, 在该类人群中具有竞争优势并保持较高的发生率<sup>[43]</sup>。一项对北欧母婴队列的研究可以支持这一推测, 拟杆菌在顺产婴儿的粪便样本中高于剖宫产婴儿、配方奶喂养的婴儿高于专门母乳喂养的婴儿<sup>[44]</sup>, 母婴间传递发生频率最高的种也是 *B. thetaiotaomicron* 和 *B. caccae*<sup>[45]</sup>。

本研究依据 ASV 水平分析, 显示了拟杆菌极高的微多样性, 共 3 704 个 ASVs (图 6), 其中 *B. fragilis*、*B. ovatus*、*B. uniformis*、*B. caccae*、*B. finegoldii* 是菌株多样性最高的 5 个种, 这与它们在 4 个家族成员中的高流行度、高丰度是一致的。依据 ASVs 共有率结果 (图 8B), 在所有的家族社会关系间, 母-子对的菌株共有率为 0.25, 其后为兄弟姐妹对 (0.21), 明显高于其他社会关系, 如父-子对 (0.13)、夫-妻对 (0.16)。基于 Bray-Curtis 距离也显示了类似的结果, 因此本研究结果支持拟杆菌可能主要通过垂直传递的方式在人群间扩散的假设。然而, 即使是亲缘关系最近的母-子、兄弟姐妹间, 菌株共有率仍然偏低, 这很可能与本研究方法有关。研究表明基于扩增子测序的碱基比对法的 ASV, 可能过分高估了差异序列的数量, 即种内菌株的多样性, 从而降低了不同成员间共有相同菌株的比率<sup>[46]</sup>。由于基因位点的差异主要来自非有义突变, ASV 是否与真实存在的菌株相对应, 需要谨慎对待。研究表明肠道微生物组中的共栖菌种群在人体内是动态变化的<sup>[44]</sup>, 适应性进化的驱动使得肠道内可能有同种的多个不同菌株共存, 例如一些病原细菌<sup>[47-48]</sup>和大肠杆菌等兼性共生细菌<sup>[3,49]</sup>。对小队列人群肠道的分菌菌株基因组测序证实, 在宿主个体跨度几个月到 2 年的时间尺度下, *B. fragilis* 种群会发生显著的新突变和适应性进化, 而且发生与否随不同

种族的人群而异<sup>[3]</sup>。显然, 在人体生命的较短时间内, 就专性肠道共栖细菌拟杆菌和双歧杆菌来说, 菌株变异的幅度以及是否会产生新菌株影响菌株跨代传递的确定。因此研究共栖细菌在特定人群中的扩散机制, 需要分菌与深度宏基因组测序相结合, 合理确定区分菌株的标准很关键。本研究从种水平和菌株水平揭示了不同家族以拟杆菌为代表的共栖细菌群落结构及菌株相似性, 为了解共栖细菌微多样性和跨代传递提供了新的证据, 对基于地缘人群的肠道菌群差异开发新的个性化菌株的精准医疗策略具有参考价值。

## 作者贡献声明

李珑珑: 实验方法设计, 数据收集与处理, 实验结果可视化, 论文初稿撰写; 张雪玲: 研究资源采集, 数据收集与处理, 实验结果可视化; 褚宇欣: 研究资源采集, 数据收集与处理; 孙海龙: 研究概念生成, 研究资源采集, 实验设计验证与核实; 倪永清: 研究概念生成, 研究课题监管与指导, 论文审阅与修订。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] TAN R, JIN M, SHAO YF, YIN J, LI HB, CHEN TJ, SHI DY, ZHOU SQ, LI JW, YANG D. High-sugar, high-fat, and high-protein diets promote antibiotic resistance gene spreading in the mouse intestinal microbiota[J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2022442.
- [2] CHEN LM, COLLIJ V, JAEGER M, van den MUNCKHOF ICL, VICH VILA A, KURILSHIKOV A, GACESA R, SINHA T, OOSTING M, JOOSTEN LAB, RUTTEN JHW, RIKSEN NP, XAVIER RJ, KUIPERS F, WIJMEGA C, ZHERNAKOVA A, NETEA MG, WEERSMA RK, FU JY. Gut microbial co-abundance networks show specificity in inflammatory bowel disease and obesity[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 4018.
- [3] ZHAO SJ, LIEBERMAN TD, POYET M, KAUFFMAN KM, GIBBONS SM, GROUSSIN M, XAVIER RJ, ALM

- EJ. Adaptive evolution within gut microbiomes of healthy people[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(5): 656-667.e8.
- [4] LLOYD-PRICE J, MAHURKAR A, RAHNAVAR G, CRABTREE J, ORVIS J, BRANTLEY HALL A, BRADY A, CREASY HH, McCRACKEN C, GIGLIO MG, McDONALD D, FRANZOSA EA, KNIGHT R, WHITE O, HUTTENHOWER C. Strains, functions and dynamics in the expanded human microbiome project[J]. *Nature*, 2017, 550(7674): 61-66.
- [5] GROUSSIN M, MAZEL F, ALM EJ. Co-evolution and co-speciation of host-gut bacteria systems[J]. *Cell Host & Microbe*, 2020, 28(1): 12-22.
- [6] DOUGLAS AE, WERREN JH. Holes in the hologenome: why host-microbe symbioses are not holobionts[J]. *mBio*, 2016, 7(2): e02099.
- [7] BOKULICH NA, CHUNG J, BATTAGLIA T, HENDERSON N, JAY M, LI HL, D LIEBER A, WU F, PEREZ-PEREZ GI, CHEN Y, SCHWEIZER W, ZHENG XH, CONTRERAS M, DOMINGUEZ-BELLO MG, BLASER MJ. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life[J]. *Science Translational Medicine*, 2016, 8(343): 343ra82.
- [8] PANNARAJ PS, LI F, CERINI C, BENDER JM, YANG SX, ROLLIE A, ADISETIYO H, ZABIH S, LINCZE PJ, BITTINGER K, BAILEY A, BUSHMAN FD, SLEASMAN JW, ALDROVANDI GM. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome[J]. *JAMA Pediatrics*, 2017, 171(7): 647-654.
- [9] COLLADO MC, CERNADA M, BAÜERL C, VENTO M, PÉREZ-MARTÍNEZ G. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages[J]. *Gut Microbes*, 2012, 3(4): 352-365.
- [10] DURANTI S, LUGLI GA, MANCABELLI L, ARMANINI F, TURRONI F, JAMES K, FERRETTI P, GORFER V, FERRARIO C, MILANI C, MANGIFESTA M, ANZALONE R, ZOLFO M, VIAPPANI A, PASOLLI E, BARILETTI I, CANTO R, CLEMENTI R, COLOGNA M, CRIFÒ T, et al. Maternal inheritance of bifidobacterial communities and bifidophages in infants through vertical transmission[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 66.
- [11] TURRONI F, MILANI C, DURANTI S, FERRARIO C, LUGLI GA, MANCABELLI L, van SINDEREN D, VENTURA M. Bifidobacteria and the infant gut: an example of co-evolution and natural selection[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2018, 75(1): 103-118.
- [12] VALLES-COLOMER M, BACIGALUPE R, VIEIRA-SILVA S, SUZUKI S, DARZI Y, TITO RY, YAMADA T, SEGATA N, RAES J, FALONY G. Variation and transmission of the human gut microbiota across multiple familial generations[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(1): 87-96.
- [13] IHEKWEAZU FD, FOFANOVA TY, QUELIZA K, NAGY-SZAKAL D, STEWART CJ, ENGEVIK MA, HULTEN KG, TATEVIAN N, GRAHAM DY, VERSALOVIC J, PETROSINO JF, KELLERMAYER R. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 monotherapy is superior to traditional fecal transplant and multi-strain bacteriotherapy in a murine colitis model[J]. *Gut Microbes*, 2019, 10(4): 504-520.
- [14] MARCOBAL A, BARBOZA M, SONNENBURG ED, PUDLO N, MARTENS EC, DESAI P, LEBRILLA CB, WEIMER BC, MILLS DA, GERMAN JB, SONNENBURG JL. *Bacteroides* in the infant gut consume milk oligosaccharides via mucus-utilization pathways[J]. *Cell Host & Microbe*, 2011, 10(5): 507-514.
- [15] BANERJEE S, SCHLAEPPI K, van der HEIJDEN MGA. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(9): 567-576.
- [16] SINGH TP, NATRAJ BH. Next-generation probiotics: a promising approach towards designing personalized medicine[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2021, 47(4): 479-498.
- [17] SHIN JH, TILLOTSON G, MacKENZIE TN, WARREN CA, WEXLER HM, GOLDSTEIN EJC. *Bacteroides* and related species: the keystone taxa of the human gut microbiota[J]. *Anaerobe*, 2024, 85: 102819.
- [18] WEXLER AG, GOODMAN AL. An insider's perspective: *Bacteroides* as a window into the microbiome[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17026.
- [19] ZHONG HZ, PENDERS J, SHI Z, REN HH, CAI KY, FANG C, DING QX, THUIS C, BLAAK EE, STEHOUWER CDA, XU X, YANG HM, WANG J, WANG J, JONKERS DMAE, MASCLEE AAM, BRIJX S, LI JH, ARTS ICW, KRISTIANSEN K. Impact of early events and lifestyle on the gut microbiota and metabolic phenotypes in young school-age children[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 2.
- [20] HOLLISTER EB, RIEHLE K, LUNA RA, WEIDLER EM, RUBIO-GONZALES M, MISTRETTA TA, RAZA S, DODDAPANENI HV, METCALF GA, MUZNY DM, GIBBS RA, PETROSINO JF, SHULMAN RJ, VERSALOVIC J. Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome[J]. *Microbiome*, 2015, 3: 36.
- [21] De FILIPPIS F, PELLEGRINI N, LAGHI L, GOBBETTI M, ERCOLINI D. Unusual sub-genus associations of faecal *Prevotella* and *Bacteroides* with specific dietary patterns[J]. *Microbiome*, 2016, 4(1): 57.
- [22] CONLON MA, BIRD AR. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health[J]. *Nutrients*, 2014, 7(1): 17-44.
- [23] LEE YK, CONWAY P, PETERSSON S, NAIR GB, SURONO I, EGAYANTI Y, AMARRA MS. ILSI Southeast Asia Region conference proceedings: the gut, its microbes and health: relevance for Asia[J]. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 2017, 26(5): 957-971.
- [24] ISHIKAWA E, MATSUKI T, KUBOTA H, MAKINO H,

- SAKAI T, OISHI K, KUSHIRO A, FUJIMOTO J, WATANABE K, WATANUKI M, TANAKA R. Ethnic diversity of gut microbiota: species characterization of *Bacteroides fragilis* group and genus *Bifidobacterium* in healthy Belgian adults, and comparison with data from Japanese subjects[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2013, 116(2): 265-270.
- [25] SODERBORG TK, BORENGASSER SJ, BARBOUR LA, FRIEDMAN JE. Microbial transmission from mothers with obesity or diabetes to infants: an innovative opportunity to interrupt a vicious cycle[J]. Diabetologia, 2016, 59(5): 895-906.
- [26] WANG SP, RYAN CA, BOYAVAL P, DEMPSEY EM, ROSS RP, STANTON C. Maternal vertical transmission affecting early-life microbiota development[J]. Trends in Microbiology, 2020, 28(1): 28-45.
- [27] ASSOCIATION WM. World medical association declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human participants[J]. JAMA, 2025, 333(1): 71-74.
- [28] WANG C, FENG SS, XIAO Y, PAN ML, ZHAO JX, ZHANG H, ZHAI QX, CHEN W. A new Illumina MiSeq high-throughput sequencing-based method for evaluating the composition of the *Bacteroides* community in the intestine using the *rpsD* gene sequence[J]. Microbial Biotechnology, 2021, 14(2): 577-586.
- [29] NGUYEN LT, SCHMIDT HA, von HAESELER A, MINH BQ. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution, 2015, 32(1): 268-274.
- [30] ROGNES T, FLOURI T, NICHOLS B, QUINCE C, MAHÉ F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics[J]. PeerJ, 2016, 4: e2584.
- [31] PRICE MN, DEHAL PS, ARKIN AP. FastTree: computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix[J]. Molecular Biology and Evolution, 2009, 26(7): 1641-1650.
- [32] TASNIM N, QUIN C, GILL S, DAI CB, HART M, GIBSON DL. Early life environmental exposures have a minor impact on the gut ecosystem following a natural birth[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1-15.
- [33] DUAR RM, LIN XB, ZHENG JS, MARTINO ME, GRENIER T, PÉREZ-MUÑOZ ME, LEULIER F, GÄNZLE M, WALTER J. Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41(Suppl\_1): S27-S48.
- [34] HAN X, LEE A, HUANG S, GAO J, SPENCE JR, OWYANG C. *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents epithelial barrier dysfunction induced by interferon-gamma and fecal supernatants from irritable bowel syndrome patients in human intestinal enteroids and colonoids[J]. Gut Microbes, 2019, 10(1): 59-76.
- [35] WU GD, CHEN J, HOFFMANN C, BITTINGER K, CHEN YY, KEILBAUGH SA, BEWTRA M, KNIGHTS D, WALTERS WA, KNIGHT R, SINHA R, GILROY E, GUPTA K, BALDASSANO R, NESSEL L, LI HZ, BUSHMAN FD, LEWIS JD. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes[J]. Science, 2011, 334(6052): 105-108.
- [36] NAKAYAMA J, ZHANG HP, LEE YK. Asian gut microbiome[J]. Science Bulletin, 2017, 62(12): 816-817.
- [37] PAREEK S, KURAKAWA T, DAS B, MOTOOKA D, NAKAYA S, RONGSEN-CHANDOLA T, GOYAL N, KAYAMA H, DODD D, OKUMURA R, MAEDA Y, FUJIMOTO K, NII T, OGAWA T, IIDA T, BHANDARI N, KIDA T, NAKAMURA S, BALAKRISHNAIR G, TAKEDA K. Comparison of Japanese and Indian intestinal microbiota shows diet-dependent interaction between bacteria and fungi[J]. npj Biofilms and Microbiomes, 2019, 5(1): 37.
- [38] De FILIPPO C, CAVALIERI D, Di PAOLA M, RAMAZZOTTI M, POULLET JB, MASSART S, COLLINI S, PIERACCINI G, LIONETTI P. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(33): 14691-14696.
- [39] FERROCINO I, Di CAGNO R, de ANGELIS M, TURRONI S, VANNINI L, BANCALARI E, RANTSIOU K, CARDINALI G, NEVIANI E, COCOLIN L. Fecal microbiota in healthy subjects following omnivore, vegetarian and vegan diets: culturable populations and rRNA DGGE profiling[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0128669.
- [40] RINGEL-KULKA T, CHENG J, RINGEL Y, SALOJÄRVI J, CARROLL I, PALVA A, de VOS WM, SATOKARI R. Intestinal microbiota in healthy U. S. young children and adults: a high throughput microarray analysis[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64315.
- [41] YANG J, PU J, LU S, BAI XN, WU YF, JIN D, CHENG YP, ZHANG G, ZHU WT, LUO XL, ROSSELLÓ-MÓRA R, XU JG. Species-level analysis of human gut microbiota with metataxonomics[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 2029.
- [42] RAKOFF-NAHOUM S, FOSTER KR, COMSTOCK LE. The evolution of cooperation within the gut microbiota[J]. Nature, 2016, 533(7602): 255-259.
- [43] SONNENBURG ED, SMITS SA, TIKHONOV M, HIGGINBOTTOM SK, WINGREEN NS, SONNENBURG JL. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations[J]. Nature, 2016, 529(7585): 212-215.
- [44] FALLANI M, YOUNG D, SCOTT J, NORIN E, AMARRI S, ADAM R, AGUILERA M, KHANNA S, GIL A, EDWARDS CA, DORÉ J, Other Members of the INFABIO Team. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2010, 51(1): 77-84.

- [45] NILSEN M, REHBINDER EM, LØDRUP CARLSEN KC, HAUGEN G, HEDLIN G, JONASSEN CM, KILLINGSTAD ME, NORDLUND B, ORMAASEN I, SKJERVEN HO, SNIPEN L, STAFF AC, SÖDERHÄLL C, SØRENSEN R, VETTUKATTIL R, WILBORN LM, RUDI K. A globally distributed *Bacteroides caccae* strain is the most prevalent mother-child shared *Bacteroidaceae* strain in a large Scandinavian cohort[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2023, 89(7): e0078923.
- [46] CALLAHAN BJ, McMURDIE PJ, HOLMES SP. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(12): 2639-2643.
- [47] SCHLOISSNIG S, ARUMUGAM M, SUNAGAWA S, MITREVA M, TAP J, ZHU AN, WALLER A, MENDE DR, KULTIMA JR, MARTIN J, KOTA K, SUNYAEV SR, WEINSTOCK GM, BORK P. Genomic variation landscape of the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2013, 493(7430): 45-50.
- [48] LIEBERMAN TD, FLETT KB, YELIN I, MARTIN TR, McADAM AJ, PRIEBE GP, KISHONY R. Genetic variation of a bacterial pathogen within individuals with cystic fibrosis provides a record of selective pressures[J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(1): 82-87.
- [49] CHUNG H, LIEBERMAN TD, VARGAS SO, FLETT KB, McADAM AJ, PRIEBE GP, KISHONY R. Global and local selection acting on the pathogen *Stenotrophomonas maltophilia* in the human lung[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14078.