

# 元基因组学及其在转化医学中的应用

陈嘉焕, 孙政, 王晓君, 苏晓泉, 宁康

中国科学院青岛生物能源与过程研究所, 青岛 266101

**摘要:** 微生物群落遍布于人体的每个角落, 与人共生并对人体健康产生重要和深刻的影响。与人类共生的全部微生物的基因组总和称为“元基因组”或“人类第二基因组”。研究人体微生物群落及相关元基因组数据, 对转化医学领域的基础研究和临床应用具有重要的价值。通过对生物医学相关的高通量元基因组数据进行分析, 不仅能为基础医学研究向医学临床应用转化提供新思路和新方法, 而且具有广阔的应用前景。基于新一代测序技术产生的数据, 元基因组分析技术和方法能够弥补以往人体微生物先培养后鉴定方法的缺陷, 同时能有效鉴定和分析微生物群落的组成及功能, 从而进一步探究和揭示微生物群落与机体生理状态之间的关系, 为解决许多医学领域的难题提供了全新的切入角度和思维方法。文章系统介绍了元基因组研究的现状, 包括元基因组的方法概念和研究进展, 并以元基因组在医学研究中的应用为着眼点, 综述了元基因组在转化医学方面的研究进展, 进一步阐述了元基因组研究在转化医学应用领域中具有的重要地位。

**关键词:** 转化医学; 人体微生物群落; 元基因组

## Research in metagenomics and its applications in translational medicine

Jiahuan Chen, Zheng Sun, Xiaojun Wang, Xiaoquan Su, Kang Ning

*Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266101, China*

**Abstract:** Humans are born with microbiota, which have accompanied us through our life-span. There is an important symbiotic relationship between us and the microbial communities, thus microbial communities are of great importance to our health. All genomic information within this microbiota is referred to as “metagenomics” (also referred to as “human’s second genome”). The analysis of high throughput metagenomic data generated from biomedical experiments would provide new approaches for translational research, and it has several applications in clinics. With the help of next generation sequencing technology and the emerging metagenomic approach (analysis of all genomic information in microbiota as a whole), we can overcome the pitfalls of tedious traditional method of isolation and cultivation of single microbial species. The metagenomic approach can also help us to analyze the whole microbial community efficiently and offer deep insights in human-microbe relationships as well as new ideas on

收稿日期: 2014-12-15; 修回日期: 2015-04-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30870572, 61303161, 61103167)和国家高技术研究发展计划项目(“863”计划)(编号: 2014AA021502)资助

作者简介: 陈嘉焕, 硕士研究生, 专业方向: 生物信息学。E-mail: yydq2686@126.com

孙政, 博士研究生, 专业方向: 生物化学与分子生物学。E-mail: sunzheng@qibebt.ac.cn

王晓君, 硕士研究生, 专业方向: 生物化工。E-mail: wang\_xj@qibebt.ac.cn

陈嘉焕、孙政和王晓君为并列第一作者。

通讯作者: 宁康, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 生物信息学。E-mail: ningkang@qibebt.ac.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.14-444

网络出版时间: 2015-4-21 11:36:25

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150421.1136.003.html>

many biomedical problems. In this review, we summarize frontiers in metagenomic research, including new concepts and methods. Then, we focus on the applications of metagenomic research in medical researches and clinical applications in recent years, which would clearly show the importance of metagenomic research in the field of translational medicine.

**Keywords:** translational medicine; human microbiota; metagenomics

## 1 元基因组学研究背景

### 1.1 元基因组学的概念

微生物繁衍于地球的每一个角落,无论地球上的其他物种如何变换,微生物仍然无处不在,甚至在极端环境中,如在深海温度高达300 °C 多的热岩喷口附近<sup>[1]</sup>或温度低至-30 °C 的南北极<sup>[2]</sup>,都有它们的存在。同时,微生物与其他生物息息相关,在整个地球生物圈的物质循环中起着重要的作用。所有的动物、植物及人类,很大程度上受到微生物的影响,从数量关系上这种影响也显而易见:人体拥有大约 $10^{14}$ 个细菌细胞,远远多于人体自身细胞的 $10^{13}$ 个<sup>[3,4]</sup>。因此,对于人类健康而言,不应仅局限于机体自身的研究,与人类共生菌群的研究十分重要。因此,元基因组学(又称宏基因组)作为一种前沿性的研究理念被提出:元基因组是指一定环境下整个微生物群落中所有遗传物质的总和。元基因组学有别于传统的细菌群落研究方式,包含了对不能培养的微生物在内的所有微生物遗传物质基因层面的研究,通过对样本总体直接进行测序来获得遗传信息。

### 1.2 元基因组学的研究现状

自1991年 Handelsman<sup>[5]</sup>首次提出元基因组学相关概念以来,元基因组学不断发展,并借助于不断更新的测序技术和分析工具,逐渐展示出其巨大的潜力,为人类充分认识和开发利用无法培养的微生物、并从完整的群落层面上理解微生物的生命活动提供了技术支持。传统的微生物研究方法依赖于分离培养,而元基因组数据的获得克服了传统方法中绝大部分微生物不可培养的缺点<sup>[6]</sup>,这使得对微生物群落中不可培养成分的鉴定、分析成为可能,从而更加全面地研究微生物群落。目前,元基因组学的研究主要侧重于元基因组分析方法和工具的开发以及元基因组在医学、生化燃料、环境治理、农业等多方面的应用。在元基因组技术方面,新的算法、

工具的开发和测序手段的进步为元基因组的研究提供了更为强大的技术支持。从测序的预处理、拼装、基因预测、物种多样性计算、数据集成到元基因组的比较和其他下游处理,都不断呈现出更优秀的工具,这些工具将为元基因组的分析提供有力帮助。在人类元基因组研究方面,已发现多种疾病与人体微生物群落之间存在着紧密关系<sup>[7]</sup>。2010年,人类肠道元基因组图谱的绘制完成成为人类元基因组研究提供了巨大的帮助<sup>[8]</sup>。在人工环境方面,如食品发酵、沼气池等都具有复杂的微生物群落。对这些群落的元基因组分析将对许多行业甚至能源行业的发展起到推动作用<sup>[9]</sup>。

目前,元基因组方法也有许多不足之处,如在一个样本中可能存在成百上千不同细菌的序列,同时由于测序平台的不同使测序片段在20~700 bp不等,这使得一个完整元基因组的重建异常困难<sup>[7]</sup>。另一方面,元基因组数据本身面临数据来源多样性及不完整性、质控标准不成熟、数据极端高通量等问题,亟需更高效的生物信息学算法和工具来提高元基因组分析效率。

### 1.3 元基因组与医学研究

测序技术的发展让科研人员不仅仅从单基因的角度,而是从染色体、转录组等组学角度去解决生物学问题。如今测序技术在元基因组研究的普及应用,人们得以从基因组的层面,从整体角度去研究群落问题。对人类而言,微生物普遍存在于人体的皮肤、口腔、肠道、血液中,与人体共生,对人体的生理和营养代谢有决定性的影响。某些细菌在人体生理机能中作用突出,如能够有效协助人体保持健康状态,帮助人体构筑免疫系统,促进食物消化,防止病原体引发潜在病变等<sup>[10~12]</sup>。如果人体菌群紊乱,严重时甚至可能引起多达十余种人体系统的病变<sup>[13]</sup>。这也让研究人员更加重视共生菌群与人类遗传、饮食和生理上的关联性<sup>[14]</sup>。

目前在炎症肠道疾病<sup>[15]</sup> I 型糖尿病的患者身上发现微生物和人体之间的动态平衡关系遭到破坏<sup>[16,17]</sup>。美国华盛顿大学的研究小组在 2009 年发现, 肥胖病人肠道微生物的多样性比正常人明显减少<sup>[18,19]</sup>。近期的研究工作还发现, 肠道中微生物菌群在母体怀孕过程中的自适应转变, 帮助母体产生更多营养, 同时可能导致母体在妊娠期体重增加和葡萄糖耐受度降低<sup>[20]</sup>。在免疫系统里, 微生物群落被证明会影响人体的初始 T 细胞群, 说明微生物和人体的免疫系统共同进化<sup>[21]</sup>。对人体发育而言, 科学家证明生命早期的抗生素暴露会影响脂肪组织、肌肉和骨骼的长远发展<sup>[22]</sup>。在临床医学上, 微生物群落的移植也成为治疗艰难梭菌(*Clostridium difficile*)的主要方法<sup>[23]</sup>。甚至在某些精神类疾病如抑郁症的研究中发现, 患者肠道内菌群出现了某些异变<sup>[24]</sup>。因此, 人体内外微生物与人体健康息息相关, 在某种程度上, 共生的微生物群落可能对人体健康起到相当重要的作用。而元基因组的研究将会对急慢性、系统性等人类疾病的诊断和治疗提供新的思路<sup>[25]</sup>。

元基因组的研究已经成为一种趋势, 美国在元基因组研究方面起步较早 2008 年美国国家卫生院(NIH)就投入超过 1 亿美元用于人体微生物组计划<sup>[26,27]</sup>。我国在这方面的研究投入相对较少, 但也取得了一定的进展, 如华大基因曾对 124 例欧洲人肠道微生物元基因组进行测序分析, 发现 300 万非冗余基因, 许多基因的发现尚属首次, 这对于人类疾病的研究有着重要意义<sup>[8]</sup>。在未来医学研究领域, 还会产生大量的元基因组测序数据, 如何有效利用这些数据为个性化医疗提供信息, 对未来的医学发展至关重要。

## 2 元基因组分析方法

### 2.1 元基因组分析概述

微生物群落的元基因组分析主要依靠生物信息学方法, 其中元基因组序列和其他特征序列数据库的比对是研究微生物群落结构和功能的主要方式。具体分析一般分为两个层面: (1)扩增系统发育标记基因(如 16S rRNA), 测定这些特殊基因序列并以此识别菌群的“物种”组成并定量其相对丰度; (2)通过总的基因组序列的测定, 以总基因组上系统发育标记基因的多样性来表征“物种”的多样性, 以所有基

因及其在发育树上的分布来表征“基因”的多样性、分布及功能<sup>[28]</sup>。

### 2.2 元基因组数据分析流程

高通量测序技术(Next generation sequencing technology)的发展和普及, 为元基因组学研究提供了理想的实验手段。高通量测序无需分离微生物, 也无需建立基因文库就可以对环境中的所有微生物同时进行测序。元基因组的测序包含全基因组测序和扩增子测序, 这两种技术手段相互结合, 不仅可以获得微生物群落中种群的信息, 还可以在基因及功能水平上对群落微生物进行分析和比较<sup>[28]</sup>(图 1)。

元基因组中涉及的生物信息分析包括质量控制(如 FastQC<sup>[29]</sup>、NGS QC Toolkit<sup>[30]</sup>和 ParallelQC<sup>[29]</sup>)、序列比对和功能划分(如 BLAST<sup>[31]</sup>、BLAT<sup>[32]</sup>、SSAHA2<sup>[33]</sup>、SOAP2<sup>[34]</sup>、BWA<sup>[35]</sup>和 Bowtie2<sup>[36]</sup>)。在拼装方面, 由于样本和测序的不完整性, 因此很难完成一个完整的元基因组拼装, 基于这一问题, 研究人员开发了新的方法和工具用于拼接, 如 VELET<sup>[37]</sup>以及 IDBA<sup>[38]</sup>, 它们都基于一种解决欧拉回路的线性时间算法, 这些方法使得对于大量片段的组装问题变得易于处理。在基因预测方面, 包括基于序列相似性的方法, 如 MEGAN4<sup>[39]</sup>; 基于从头合成(*ab initio*)技术的方法, 如 GLIMMER-MG<sup>[40]</sup>; 而 FragGeneScan<sup>[41]</sup>和 MetaGeneAnnotator<sup>[42]</sup>则是基于隐马尔科夫模型的基因预测软件。另外还有集成方法(如 Mothur<sup>[43]</sup>、MEGAN<sup>[44]</sup>、Phyloshop<sup>[45]</sup>、QIIME、MG-RAST<sup>[46]</sup>和 CAMERA<sup>[47]</sup>等), 同时基于元基因组数据的微生物群落结构分析方法(如 Phyloshop<sup>[45]</sup>、Parallel-Meta<sup>[39]</sup>和 MAGAN<sup>[39]</sup>等)、群落比对方法(如 UniFrac<sup>[48]</sup>、Fast UniFrac<sup>[49]</sup>和 Meta-Storms<sup>[50]</sup>等)都日益成熟, 逐渐成为稳定性强、重复

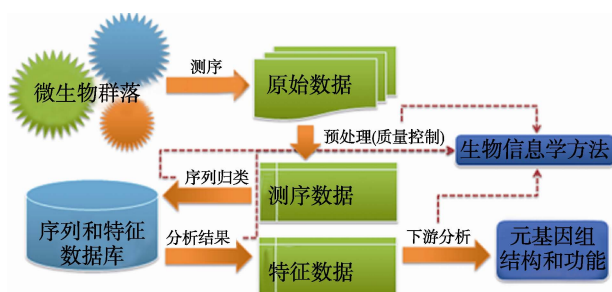


图 1 生物信息学分析在微生物群落元基因组研究中的位置

性好的高效分析流程。

以 16S rRNA 为主的特征序列分析工具和以全基因组数据为主的 Metagenome 分析工具相比更为成熟, 其中主要有 QIIME 和 Mothur 以及本文提到的 Meta-Mesh<sup>[51]</sup> 系统。QIIME<sup>[52]</sup> 是由 Rob Knight 等于 2009 年开发, 专门用于分析微生物 PCR 产物高通量测序数据的基于 PYTHON 的开源 pipeline, 集成了多种工具包, 优点在于可以通过分析直接进行作图。分析流程大致为: 首先, 进行包括可能需要拼接在内的数据预处理; 其次, 产生 OTU, 根据特征序列数据库中的已知序列对 OTU 进行分类并进行 OUT 丰度统计; 第三, 进行  $\alpha$  和  $\beta$  多样性分析, 并绘制 PCoA 图等。同年, 美国密歇根大学的 Patrick Schloss 发布了 Mothur<sup>[43]</sup>, 目前其在 16S rRNA 生物信息学分析领域引用广泛, 虽然不能够直接对数据进行作图, 但是在 R 语言的帮助下, 可以得到理想的分析图表, 目前 Mothur 已经支持包括 Sanger、PacBio、IonTorrent、454 和 Illumina (MiSeq/HiSeq) 在内的数据处理。

对全基因组的 MetaGenomic 分析, 因为缺乏相应的 Alignment Reference 数据库, 所以目前还没有十分成熟的处理流程。每个熟悉生物信息学的实验室都有自己的一套处理思路, STAMP 和 MEGAN5 为全基因组的 Metagenomic 分析提供了一些便利。基于 JAVA 编写的 MEGAN 主要采用 LCA 算法分析 BLAST 结果, 除了进行物种丰度和多样性分析, 也

可以进行功能基因的多样性和丰度分析。STAMP 同样是一个开源的、可在 Linux 和 Windows 下运行的平台化分析工具, 友好的用户界面和简单的作图分析使该工具可以对少量或大量样本使用各种统计学模型进行评价, 从而获得高质量的分析结果。

在实际应用中, 元基因组的分析仍然存在许多问题。一方面, 目前大多数基因组数据库仅提供简单的数据存储, 缺乏良好的注释或仅提供很少的分析功能; 另一方面, 目前现有的工具无法进行大样本的群落相似性比较。

### 2.3 Meta-Mesh 元基因组分析系统

大规模的元基因组样本的搜索和比较分析需要一个高效的分析系统。苏晓泉等<sup>[51]</sup>于 2014 年发布的 Meta-Mesh 是一个全新的元基因组在线分析系统(图 2)。该系统为微生物群落分析提供了群落结构分析、数据可视化、样本比较、数据库检索和元基因组数据挖掘等多种功能。Meta-Mesh 的数据库可自动收集各种元基因库数据集, 并在人工筛选、预处理之后注释群落生物的分类学结构, 同时 Meta-Mesh 会形成一个便于数据库进行快速查找的索引。而 Meta-Mesh 的“工作中心(work center)”则具有相关的分析功能, 如数据库的浏览、数据比较、群落结构分析、数据库检索等等。

Meta-Mesh 的数据库信息来自于大量的公开数据库以及内部数据。Meta-Mesh 集成开发了自动数据收

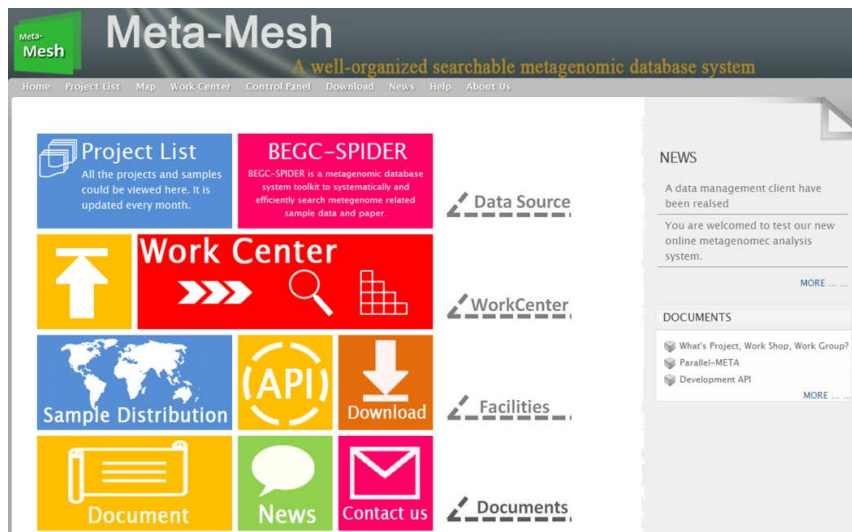


图 2 Meta-Mesh 的 Web 服务界面



集器 BEGC-SPIDER(<http://autoupdate.meta-mesh.org/>), 可以通过该功能访问与元基因组相关的项目和论文, 并缓冲得到这些原始数据。在得到原始数据后, 缓冲区的样本将由 QC-chain 进行质量的控制和评估, 然后用 Parallel-Meta 微生物群落分析软件对数据进行预处理并进行种群结构和物种进化结构的分析。不仅如此, Meta-Mesh 中经质量控制和预处理后的样本, 由 Meta-Storm<sup>[50]</sup> 数据库引擎进行维护, 并提供高效的搜索索引策略。目前 Meta-Mesh 系统已经应用于多种学科的相关项目, 如海水微生物群落多样性、土壤微生物群落多样性<sup>[53]</sup>以及中成药制剂六味地黄丸的生物多样性等相关研究<sup>[54]</sup>。

### 3 元基因组在转化医学中的应用

#### 3.1 人体健康与微生物

人体表面与体内共存在着数量超过百万亿的细菌, 可以说人是由细菌与体细胞相互联系而构成的有机整体。人体正常菌群的维持对人体健康具有重大意义, 主要体现在以下 4 个方面: (1)合成维生素和细菌素, 如嗜酸乳杆菌可以合成维生素 K<sup>[55]</sup>; (2)促进宿主新陈代谢, 如干酪乳杆菌可促进消化吸收过程, 降低血液中胆固醇的含量<sup>[56]</sup>; (3)促进机体免疫, 如鼠李糖杆菌可以增加免疫球蛋白和巨噬细胞数量及活性<sup>[57]</sup>; (4)生物拮抗作用, 如乳酸菌对金黄色葡萄球菌具有生长抑制作用。

一般情况下人体菌群对人体健康有益, 但是一旦菌群失调将可能引起多种疾病, 其中包括呼吸系统疾病、神经系统疾病、心血管疾病、结缔组织疾病、免疫缺陷疾病、内分泌疾病以及癌症<sup>[58]</sup>。最近, 在元基因组研究中, 许多疾病被发现与患者体内的菌群变化相关。肥胖、高血压、糖尿病、冠心病、中风和癌症, 将其肠道菌群的失衡列为其发病的直接原因之一。因此, 元基因组学在疾病研究中充当起越来越重要的作用, 其研究成果也将为基础医学向临床应用的转化提供理论基础和技术支持。

#### 3.2 元基因组学与疾病

元基因组学技术作为现代医学研究的重要手段, 是解决困扰医学界难题的新思路及新方法。研究人员在元基因组的转化医学方面已经初窥门径。

##### 3.2.1 元基因组学与糖尿病

现代社会的生活使得人们罹患糖尿病的风险越来越高, 糖尿病的生理模型研究已经较为清楚, 而元基因组学对糖尿病的发病机理提出了新的看法。利用元基因组方法对 1 型糖尿病和正常人肠道菌群的结构进行分析比较, 发现二者在菌群结构上存在着巨大差异。因此, 如果在 1 型糖尿病的生物模型小鼠中移植含有分歧杆菌的类似人类菌群组成的特定微生物混合物, 则可以显著减弱 1 型糖尿病的发生<sup>[59,60]</sup>。在 1 型糖尿病的研究中, 通过利用元基因组学手段对肠道菌群的结构等方面进行分析。研究人员发现, 糖尿病模型动物肠道中乳酸菌数量明显的下降, 并且与正常人相比, 1 型糖尿病病人肠道中硬壁菌门和梭菌的比例显著降低<sup>[61,62]</sup>。这些菌群上的差异可能在一定程度上解释了疾病的发生, 并对疾病的临床治疗提供一定的思路。

##### 3.2.2 元基因组学与肥胖

与糖尿病密切相关的肥胖, 也可以从元基因组角度得到一定的解释。使用元基因组研究方法比较肥胖患者和正常人之间的粪便发现, 在人体肠道中居于主导地位的两大大菌群拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)的比例发生了变化。在健康成年人肠道中拟杆菌门所占比例比较大, 而肥胖患者则相反。根据这一研究结果, 科研人员可以使用元基因组手段对潜在患者的肠道菌群进行分析, 依据特定细菌作为生物标记对肥胖进行早期诊断。另一方面, 研究人员也可以据此尝试或者以改善肠道菌群来治疗肥胖<sup>[63,64]</sup>。

##### 3.2.3 元基因组学与肝硬化

元基因组不仅仅应用于糖尿病的研究, 在其他许多疾病的研究中都开始展现出其优势, 如肝硬化。该病是一种消化系统常见疾病, 患者常死于如上消化道出血、自发性细菌性腹膜炎等各种并发症。元基因组学的相关研究发现, 肝硬化患者粪便菌群结构与健康对照存在明显差异: 其肠道菌群中类杆菌门细菌比例明显下降, 而变形菌门和梭杆菌门细菌比例显著增加, 患者肠道菌群涉及营养物质代谢通路的功能基因存在显著缺失。因此酗酒作为肝硬化的诱因之一被推测可能对一些正常菌的生存产生了

影响并进一步改变了患者肠道的菌群结构和功能<sup>[65]</sup>。对肝硬化和肠道菌群关系的进一步研究则发现了 15 个特异指示肝硬化发病的指标基因, 这些指示基因的发现将有可能为肝硬化的检测方法提供新的思路 and 理论基础<sup>[66]</sup>。

### 3.2.4 元基因组学与克隆恩病

元基因组学不仅在一些常见疾病的研究和攻克上大有作为, 而且对一些目前了解不深的疾病的研究也有很大的潜力。克隆恩病是一种不明原因的肠道疾病, 发生于随机的肠道部位, 发病时伴有便血、发热等症状, 反复发作不易根治, 是困扰医学界的难题之一。近期的元基因组学研究对克隆恩病提出了可能的治疗方案: 在比对健康成年人和患者肠道微生物样本之后, 发现患者肠道微生物比健康成年人有明显紊乱和缺失现象, 进而通过菌粪移植(Fecal microbiota transplantation, FMT)这一治疗手段, 将健康成人肠道内微生物移植到患者肠内, 目前经过治疗的患者无复发迹象<sup>[67,68]</sup>。这种治疗手段虽尚在研究当中, 但为人们重新审视许多疑难病症提供了开创性思路。

### 3.2.5 元基因组学与龋齿

除了应用于一些重大疾病的研究, 元基因组在口腔疾病方面也有着巨大的应用前景。在利用元基因组学对人体口腔微生物群落进行研究中, 发现了数十种新的细菌, 而这些未培养的细菌很可能与口腔疾病相关。如对龋齿的元基因组学研究发现, 引起龋齿的主要原因并不是由单一的变形链球菌, 它的发生是由多种细菌群体共同参与的过程。当与龋齿发生有关的细菌被抑制生长时, 还检测到许多有益菌的增殖<sup>[69]</sup>。这一研究揭示了口腔微生物环境和龋齿的关系, 对预防和治疗龋齿提供了新的思路。

### 3.2.6 基于元基因组学的疾病风险预估

在疾病风险预估研究方面, 元基因组学为其提供了新的思路。研究人员曾抽样调查了 40 例城市居民与乡村居民的粪便肠道菌群的情况, 通过样本个体粪便中菌群的元基因组学分析方法比对发现, 乡村居民肠道中嗜酸乳杆菌含量为城市居民的 3~5 倍。而乳酸菌作为一种益生菌, 能够通过代谢乳酸, 获得维生素 K, 并能够分泌对有害菌具有拮抗作用的

抗生素类物质。同时它能促进维生素 D 和铁的吸收, 减少胆固醇的吸收<sup>[64]</sup>。因此, 对城乡居民的肠道菌群分析可以从一定程度上解释城市生活对人体内肠道菌群的影响以及由此带来的更高的疾病风险, 并对城市居民的肠道健康提供一定的建议。

## 3.3 人类微生物组计划(HMP)

2007 年底, 美国国立卫生研究院(NIH)宣布将投入 1 亿 1500 万美元正式启动人类微生物组计划(Human Microbiome Project, HMP), 旨在利用元基因组学方法研究人体内和体表的微生物菌群结构变化与人体健康的关系。这一计划得到了近百个科研院所和大学的支持, 取样群体由几百名健康男女组成。初步研究发现, 虽然人体日常携带着数量相当的有害细菌, 但在健康状态下这些细菌并不会致病, 这可能与人体微生物群落的稳定有关<sup>[70]</sup>。

人类微生物组计划掀开了人类探究自身与微生物之间相互关系的新篇章, 是引领医学研究进入新阶段的标志。许多疑难病症或将揭开他们的神秘面纱, 在元基因组学研究方法的帮助下被治愈。

## 4 元基因组学在转化医学领域的展望

### 4.1 元基因组学与医学大数据

本世纪以来, 随着高通量技术的发展和运用, 生物医学产生了大量的大数据, 尤其在基因组转录组测序领域。由二代测序产生的数据正在急速增长, 并可以预测这一趋势将随着生物技术的发展而进一步延续, 更大数量级的基因数据产出将日益增加(从 GB、TB 级到 PB、EB 级)。

大数据时代的来临正在对生物医学研究产生重大的影响, 其中最为重要的发展趋势是由“假设驱动”向“数据驱动”的转变: 数十年来, 医学分子生物学水平上的实验目的是获得结论或者提出一种新的假设, 而现在基于海量生物医学大数据, 可以通过对海量数据的分析研究, 直接探索其中的规律, 进而提出假设或得到可靠的结论。除此之外, 随着以“社会-心理-生物”为代表的大医学模式的出现和系统生物学的发展而逐渐形成的系统生物医学, 更与生物技术领域和大数据技术领域密切相关, 是关系到提高医疗诊断水平和人类自身健康的新兴领域。

同时应指出的是, 大数据不仅仅来自于高通量

基因组测序, 目前其他高通量组学数据、细胞表观型数据、动态生物医学图像等数据也在急剧增长, 这为医学理论的发展和医疗水平的提高提供了多平台基础。大数据贯穿医学基础研究到临床诊断治疗乃至健康管理和患病风险预估环节, 通过将多种组学数据整合, 进而与表观数据相联系, 医学有望在诸多顽症领域取得突破性进展。

## 4.2 元基因组学技术与个性化医疗

2008年 *Nature* 发表了关于第一个亚洲人基因组图谱的论文<sup>[71]</sup>, 到2014年, 以1000美元完成一个人体全基因组测序已经基本实现。这些研究的完成是一场医学革命, 这意味着未来5~10年内, 中国人有望以低成本拥有自己的基因组图谱。如前文所述, 人体是由体细胞和微生物组成的有机整体, 因此人体微生物群落与个人基因组研究相结合, 组成人体基因组和人体微生物组。这些基因组图谱是一种精确诊疗依据, 不仅可以辅助诊断并且可以提供患病风险预估, 甚至药物都可以通过这些基因图谱进行个性化设计。

针对个性化医疗的浪潮, 著名生物学家 Michael Snyder 总结了系统生物学正在改变现代的医疗系统: 从以病征为主的疾病诊断和治疗, 向基于个体特征的精确治疗转变。特别是高通量的DNA测序和质谱仪技术的进步使得科学家和医疗人员能够对人体的细胞和组织、体液、身体的表皮以及排泄物等采样, 非常准确地检测基因组、表观基因组、转录组、蛋白质组、新陈代谢组、免疫组、微生物组以及环境组等在内的详细的各种组学信息。综合分析这些信息可以对一个人的健康状况有更全面的了解, 这是能够个性化地检测健康状况和提供疾病防治的新途径<sup>[72,73]</sup>。

除此之外, 元基因组技术的成熟为新医学理念提供了更广阔的视角, 环境中普遍存在的微生物与有机体之间的重要相互作用, 是进化论之后生物学界最重要的成果之一, 微生物不再仅仅是一群独立的物种, 它们与环境 and 人体健康紧密的关系已经被证实, 在糖尿病<sup>[60]</sup>、营养缺乏<sup>[74]</sup>、肥胖<sup>[63]</sup>、龋齿<sup>[69]</sup>等疾病的研究中, 微生物群落甚至可以作为区分疾病和预测疾病的模型<sup>[75]</sup>, 在以后的临床检验和疾病预测等环节如果介入微生物指标, 将为未来医疗诊

断提供更多的重要参考。另一方面, 原本困扰医学界的许多难题也将以另一种角度重新得到审视, 或将成为新疗法的研发思路。

综上所述, 随着高通量测序技术的发展和生物信息学研究水平的提高, 元基因组学研究已经渗透到转化医学研究领域并在生物标记识别等方面取得了相当多的研究成果。通过目前服务于转化医学的一系列人体微生物群落元基因组学研究已经发现, 人体微生物群落中不但蕴含着丰富的生物标志可以预测人体本身健康状况, 同时人体微生物群落对宿主的影响机制也正在揭开它神秘的面纱。因此我们相信, 随着人体微生物群落相关大数据的快速聚类 and 深度数据挖掘方法的开发, 人体微生物群落元基因组学必将逐步揭示出人体-群落-环境这一生态系统的整体运作机制, 并将会推动转化医学研究更加深入的整合。在将来元基因组学的研究中, 应当重视与临床需求相契合, 唯此方能促进医疗水平的提高和人类健康事业的发展。

## 参考文献

- [1] Schrenk MO, Kelley DS, Delaney JR, Baross JA. Incidence and diversity of microorganisms within the walls of an active deep-sea sulfide chimney. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(6): 3580–3592. [DOI]
- [2] Zeglin LH, Sinsabaugh RL, Barrett JE, Gooseff MN, Takacs-Vesbach CD. Landscape distribution of microbial activity in the mcmurdo dry valleys: linked biotic processes, hydrology, and geochemistry in a cold desert ecosystem. *Ecosystems*, 2009, 12(4): 562–573. [DOI]
- [3] Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol*, 1977, 31: 107–133. [DOI]
- [4] Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol*, 1996, 4(11): 430–435. [DOI]
- [5] Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem Biol*, 1998, 5(10): R245–249. [DOI]
- [6] Furrie E. A molecular revolution in the study of intestinal microflora. *Gut*, 2006, 55(2): 141–143. [DOI]
- [7] Wooley JC, Godzik A, Friedberg I. A primer on metagenomics. *PLoS Comput Biol*, 2010, 6(2): e1000667. [DOI]
- [8] Qin JJ, Li RQ, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li JH, Xu JM, Li SC, Li DF, Cao JJ, Wang B,



- Liang HQ, Zheng HS, Xie YL, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu HM, Yu C, Li ST, Jian M, Zhou Y, Li YR, Zhang XQ, Li SG, Qin N, Yang HM, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Meta HITS, Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010, 464(7285): 59–65. [DOI]
- [9] Lorenz P, Eck J. Metagenomics and industrial applications. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3(6): 510–516. [DOI]
- [10] Hernández-Reyes C, Schenk ST, Neumann C, Kogel KH, Schikora A. *N*-acyl-homoserine lactones-producing bacteria protect plants against plant and human pathogens. *Microb Biotechnol*, 2014, 7(6): 580–588. [DOI]
- [11] Kwak DS, Jun DW, Seo JG, Chung WS, Park SE, Lee KN, Khalid-Saeed W, Lee HL, Lee OY, Yoon BC, Choi HS. Short-term probiotic therapy alleviates small intestinal bacterial overgrowth, but does not improve intestinal permeability in chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 26(12): 1353–1359. [DOI]
- [12] Murtaza N, Baboota RK, Jagtap S, Singh DP, Khare P, Sarma SM, Podili K, Alagesan S, Chandra TS, Bhutani KK, Boparai RK, Bishnoi M, Kondepudi KK. Finger millet bran supplementation alleviates obesity-induced oxidative stress, inflammation and gut microbial derangements in high-fat diet-fed mice. *Br J Nutr*, 2014, 112(9): 1447–1458. [DOI]
- [13] Cénit MC, Matzaraki V, Tigchelaar EF, Zhernakova A. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(10): 1981–1992. [DOI]
- [14] Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakielnny S, Gordon JI, Fierer N, Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *Elife*, 2013, 2: e00458. [DOI]
- [15] Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol*, 2015, 31(1): 69–75. [DOI]
- [16] Dunne JL, Triplett EW, Gevers D, Xavier R, Insel R, Danska J, Atkinson MA. The intestinal microbiome in type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*, 2014, 177(1): 30–37. [DOI]
- [17] Kondrashova A, Hyöty H. Role of viruses and other microbes in the pathogenesis of type 1 diabetes. *Int Rev Immunol*, 2014, 33(4): 284–295. [DOI]
- [18] Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, Hardt PD. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*, 2010, 18(1): 190–195. [DOI]
- [19] Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 2009, 457(7228): 480–484. [DOI]
- [20] Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Bäckhed HK, Gonzalez A, Werner JJ, Angenent LT, Knight R, Bäckhed F, Isolauri E, Salminen S, Ley RE. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*, 2012, 150(3): 470–480. [DOI]
- [21] Chung H, Pamp SJ, Hill JA, Surana NK, Edelman SM, Troy EB, Reading NC, Villablanca EJ, Wang S, Mora JR, Umesaki Y, Mathis D, Benoist C, Relman DA, Kasper DL. Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota. *Cell*, 2012, 149(7): 1578–1593. [DOI]
- [22] Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methé BA, Zavadil J, Li K, Gao Z, Mahana D, Raju K, Teitler I, Li HL, Alekseyenko AV, Blaser MJ. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*, 2012, 488(7413): 621–626. [DOI]
- [23] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ, Bartelsman JFWM, Tijssen JGP, Speelman P, Dijkgraaf MGW, Keller JJ. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*, 2013, 368(5): 407–415. [DOI]
- [24] Messaoudi M, Vielle N, Bisson JF, Desor D, Javelot H, Rougeot C. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut Microbes*, 2011, 2(4): 256–261. [DOI]
- [25] Pflughoeft KJ, Versalovic J. Human microbiome in health and disease. *Annu Rev Pathol*, 2012, 7: 99–122. [DOI]
- [26] Robles-Alonso V, Guarner F. From basic to applied research: lessons from the human microbiome projects. *J Clin Gastroenterol*, 2014, 48(Suppl 1): S3–S4. [DOI]
- [27] Integrative HMP RNC. The Integrative Human Microbiome Project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease. *Cell Host Microbe*, 2014, 16(3): 276–289. [DOI]
- [28] Sharpton TJ. An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 209. [DOI]
- [29] Zhou Q, Su XQ, Wang AH, Xu J, Ning K. QC-Chain: fast and holistic quality control method for next-generation sequencing data. *Plos One*, 2013, 8(4): e60234. [DOI]
- [30] Patel RK, Jain M. NGS QC Toolkit: a toolkit for quality control of next generation sequencing data. *Plos One*, 2012, 7(2): e30619. [DOI]
- [31] Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papad-



- opoulos J, Bealer K, Madden TL. BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinform*, 2009, 10: 421. [DOI]
- [32] Kent WJ. BLAT — the BLAST-like alignment tool. *Genome Res*, 2002, 12(4): 656–664. [DOI]
- [33] Ning ZM, Cox AJ, Mullikin JC. SSAHA: a fast search method for large DNA databases. *Genome Res*, 2001, 11(10): 1725–1729. [DOI]
- [34] Li RQ, Yu C, Li YR, Lam TW, Yiu SM, Kristiansen K, Wang J. SOAP2: an improved ultrafast tool for short read alignment. *Bioinformatics*, 2009, 25(15): 1966–1967. [DOI]
- [35] Li H. Exploring single-sample SNP and INDEL calling with whole-genome *de novo* assembly. *Bioinformatics*, 2012, 28(14): 1838–1844. [DOI]
- [36] Langmead B, Salzberg SL. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods*, 2012, 9(4): 357–359. [DOI]
- [37] Zerbino DR, Birney E. Velvet: algorithms for *de novo* short read assembly using de Bruijn graphs. *Genome Res*, 2008, 18(5): 821–829. [DOI]
- [38] Peng Y, Leung HCM, Yiu SM, Chin FYL. IDBA-UD: a *de novo* assembler for single-cell and metagenomic sequencing data with highly uneven depth. *Bioinformatics*, 2012, 28(11): 1420–1428. [DOI]
- [39] Huson DH, Mitra S, Ruscheweyh HJ, Weber N, Schuster SC. Integrative analysis of environmental sequences using MEGAN4. *Genome Res*, 2011, 21(9): 1552–1560. [DOI]
- [40] Kelley DR, Liu B, Delcher AL, Pop M, Salzberg SL. Gene prediction with Glimmer for metagenomic sequences augmented by classification and clustering. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(1): e9. [DOI]
- [41] Rho M, Tang HX, Ye YZ. FragGeneScan: predicting genes in short and error-prone reads. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(20): e191. [DOI]
- [42] Noguchi H, Taniguchi T, Itoh T. MetaGeneAnnotator: detecting species-specific patterns of ribosomal binding site for precise gene prediction in anonymous prokaryotic and phage genomes. *DNA Res*, 2008, 15(6): 387–396. [DOI]
- [43] Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH, Robinson CJ, Sahl JW, Stres B, Thallinger GG, Van Horn DJ, Weber CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(23): 7537–7541. [DOI]
- [44] Huson DH, Auch AF, Qi J, Schuster SC. MEGAN analysis of metagenomic data. *Genome Res*, 2007, 17(3): 377–386. [DOI]
- [45] Shah N, Tang HX, Doak TG, Ye YZ. Comparing bacterial communities inferred from 16S rRNA gene sequencing and shotgun metagenomics. *Pac Symp Biocomput*, 2011: 165–176. [DOI]
- [46] Meyer F, Paarmann D, D'Souza M, Olson R, Glass EM, Kubal M, Paczian T, Rodriguez A, Stevens R, Wilke A, Wilkening J, Edwards RA. The metagenomics RAST server - a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes. *BMC Bioinform*, 2008, 9: 386. [DOI]
- [47] Seshadri R, Kravitz SA, Smarr L, Gilna P, Frazier M. CAMERA: a community resource for metagenomics. *PLoS Biol*, 2007, 5(3): e75. [DOI]
- [48] Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(12): 8228–8235. [DOI]
- [49] Hamady M, Lozupone C, Knight R. Fast UniFrac: facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data. *ISME J*, 2010, 4(1): 17–27. [DOI]
- [50] Su X, Xu J, Ning K. Meta-Storms: efficient search for similar microbial communities based on a novel indexing scheme and similarity score for metagenomic data. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2493–2501. [DOI]
- [51] Su XQ, Song BX, Wang XT, Ma XL, Xu J, Ning K. Meta-Mesh: metagenomic data analysis system. *Chin J Biotechnol*, 2014, 30(1): 6–17. [DOI]
- [52] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Tumbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Met*, 2010, 7(5): 335–336. [DOI]
- [53] Su XQ, Hu JQ, Huang S, Ning K. Rapid comparison and correlation analysis among massive number of microbial community samples based on MDV data model. *Sci Rep*, 2014, 4: 6393. [DOI]
- [54] Cheng XW, Su XQ, Chen XH, Zhao HX, Bo CP, Xu J, Bai H, Ning K. Biological ingredient analysis of traditional Chinese medicine preparation based on high-throughput sequencing: the story for Liuwei Dihuang Wan. *Sci Rep*, 2014, 4: 5147. [DOI]
- [55] Lim SD, Kim KS, Do JR. Physiological characteristics and production of vitamin K<sub>2</sub> by *Lactobacillus fermentum* LC272 isolated from raw milk. *Korean J Food Sci Anim Res*, 2011, 31(4): 513–520. [DOI]
- [56] Leber B, Tripolt NJ, Blattl D, Eder M, Wascher TC, Pieber TR, Stauber R, Sourij H, Oettl K, Stadlbauer V. The influence of probiotic supplementation on gut permeability in patients with metabolic syndrome: an open label, randomized pilot

- study. *Eur J Clin Nutr*, 2012, 66(10): 1110–1115. [DOI]
- [57] Hocini H, Iscaki S, Bouvet JP, Pillot J. Unexpectedly high levels of some presumably protective secretory immunoglobulin A antibodies to dental plaque bacteria in salivas of both caries-resistant and caries-susceptible subjects. *Infect Immun*, 1993, 61(9): 3597–3604. [DOI]
- [58] Campbell-Valois FX, Sansonetti PJ. Tracking bacterial pathogens with genetically-encoded reporters. *FEBS Lett*, 2014, 588(15): 2428–2436. [DOI]
- [59] Cohn A, Sofia AM, Kupfer SS. Type 1 diabetes and celiac disease: clinical overlap and new insights into disease pathogenesis. *Curr Diab Rep*, 2014, 14(8): 517. [DOI]
- [60] Tormo-Badia N, Håkansson Å, Vasudevan K, Molin G, Ahrné S, Cilio CM. Antibiotic treatment of pregnant non-obese diabetic mice leads to altered gut microbiota and intestinal immunological changes in the offspring. *Scand J Immunol*, 2014, 80(4): 250–260. [DOI]
- [61] Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*, 2014, 383(9922): 1068–1083. [DOI]
- [62] Udayappan SD, Hartstra AV, Dallinga-Thie GM, Nieuwdorp M. Intestinal microbiota and faecal transplantation as treatment modality for insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Clin Exp Immunol*, 2014, 177(1): 24–29. [DOI]
- [63] Akin H, Tözün N. Diet, microbiota, and colorectal cancer. *J Clin Gastroenterol*, 2014, 48(Suppl 1): S67–S69. [DOI]
- [64] Everard A, Lazarevic V, Gaia N, Johansson M, Ståhlman M, Backhed F, Delzenne NM, Schrenzel J, François P, Cani PD. Microbiome of prebiotic-treated mice reveals novel targets involved in host response during obesity. *ISME J*, 2014, 8(10): 2116–2130. [DOI]
- [65] Goel A, Gupta M, Aggarwal R. Gut microbiota and liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(6): 1139–1148. [DOI]
- [66] Qin N, Yang FL, Li A, Prifti E, Chen YF, Shao L, Guo J, Le Chatelier E, Yao J, Wu LJ, Zhou JW, Ni SJ, Liu L, Pons N, Batto JM, Kennedy SP, Leonard P, Yuan CH, Ding WC, Hen YT, Hu XJ, Zheng BW, Qian GR, Xu W, Ehrlich SD, Zheng S, Li L. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature*, 2014, 513(7516): 59–64. [DOI]
- [67] Smits LP, Bouter KEC, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology*, 2013, 145(5): 946–953. [DOI]
- [68] Borody TJ, Finlayson S, Paramsothy S. Is Crohn's disease ready for fecal microbiota transplantation? *J Clin Gastroenterol*, 2014, 48(7): 582–583. [DOI]
- [69] Peterson SN, Meissner T, Su AI, Snesrud E, Ong AC, Schork NJ, Bretz WA. Functional expression of dental plaque microbiota. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014, 4: 108. [DOI]
- [70] Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, Kallen A, Limbago B, Fridkin S, National Healthcare Safety Network T, Participating NF. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2013, 34(1): 1–14. [DOI]
- [71] Wang J, Wang W, Li RQ, Li YR, Tian G, Goodman L, Fan W, Zhang JQ, Li J, Zhang JB, Guo YR, Feng BX, Li H, Lu Y, Fang XD, Liang HQ, Du ZL, Li D, Zhao YQ, Hu YJ, Yang ZZ, Zheng HC, Hellmann I, Inouye M, Pool J, Yi X, Zhao J, Duan JJ, Zhou Y, Qin JJ, Ma LJ, Li GQ, Yang ZT, Zhang GJ, Yang B, Yu C, Liang F, Li WJ, Li SC, Li DW, Ni PX, Ruan J, Li QB, Zhu HM, Liu DY, Lu ZK, Li N, Guo GW, Zhang JG, Ye J, Fang L, Hao Q, Chen Q, Liang Y, Su YY, San A, Ping C, Yang S, Chen F, Li L, Zhou K, Zheng HK, Ren YY, Yang L, Gao Y, Yang GH, Li Z, Feng XL, Kristiansen K, Wong GKS, Nielsen R, Durbin R, Bolund L, Zhang XQ, Li SG, Yang HM, Wang J. The diploid genome sequence of an Asian individual. *Nature*, 2008, 456(7218): 60–65. [DOI]
- [72] Henderson D, Ogilvie LA, Hoyle N, Keilholz U, Lange B, Lehrach H, OncoTrack Consortium. Personalized medicine approaches for colon cancer driven by genomics and systems biology: OncoTrack. *Biotechnol J*, 2014, 9(9): 1104–1114. [DOI]
- [73] Nwankwo O, Sihono DSK, Schneider F, Wenz F. A global quality assurance system for personalized radiation therapy treatment planning for the prostate (or other sites). *Phys Med Biol*, 2014, 59(18): 5575–5591. [DOI]
- [74] Subramanian S, Huq S, Yatsunenko T, Haque R, Mahfuz M, Alam MA, Benezra A, DeStefano J, Meier MF, Muegge BD, Barratt MJ, VanArendonk LG, Zhang Q, Province MA, Petri WA Jr, Ahmed T, Gordon JI. Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children. *Nature*, 2014, 510(7505): 417–421. [DOI]
- [75] Tuomanen E. Appreciating our usual guests. *Science*, 2005, 308(5722): 635. [DOI]