

菌群感应 AHLs 分子对小鼠肠道菌群多样性影响的分析*

付凯飞¹ 李 军² 王欲晓¹ 吴成林¹ 钦可为¹ 周丽君¹

[1. (原)海军总医院中心实验科,北京 100048][2. (原)海军总医院科研科,北京 100048]

摘要:目的 探讨菌群感应信号分子 N-酰基高丝氨酸内酯 (N-acyl homoserine lactones, AHLs) 对小鼠肠道微生物菌群构成的影响,为感染状态下肠道微生态的紊乱补充理论依据。方法 3-oxo-C₁₀-HSL 分子经腹腔注射小鼠后,于 24 h 分别在小鼠十二指肠及空回肠部位用拭子涂抹法取样,并通过 Illumina Hiseq 2500 高通量测序平台对样品 16S rDNA 测序,并进行微生物菌群分类构成及多样性分析。结果 在实验小鼠肠道内共检出 22 个细菌门,109 个细菌属;对照组和 3-oxo-C₁₀-HSL 处理组小鼠肠道不同部位菌群均以厚壁菌门(>50%)和变形菌门(>20%)为主,但两组在属水平菌群构成有明显差异,对照组优势菌属依次为葡萄球菌、埃希氏-志贺菌、乳球菌、假单胞菌、肠球菌,3-oxo-C₁₀-HSL 处理组优势菌属主要为肠球菌、埃希氏-志贺菌、葡萄球菌;多样性和丰度分析提示 3-oxo-C₁₀-HSL 处理组肠道菌群多样性均有提高,大肠埃希菌属等主要优势菌丰度显著上升,而且空回肠部位的菌落丰度最高。结论 AHLs 对小鼠肠道菌群构成影响较小,而对菌群内部某些特定类群结构变化影响较明显。

关键词:群体感应;N-酰基高丝氨酸内酯;16S rDNA 测序;微生物多样性

中图分类号: R37 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)02-0027-06

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.02.005

对于人和动物而言,机体内微生物菌群的稳态在机体的生存和健康方面发挥着异常关键的作用,某种常驻微生物的比例失衡会导致整个微生物稳态的破坏,继而诱发疾病的产生^[1]。而菌群感应(quorum sensing, QS)现象是普遍存在于细菌群体内的一种通过自身合成的信号分子感知周围环境,并进而调控细菌密度和生理功能的自调控现象^[2]。其中 AHLs 是革兰阴性菌 QS 系统中最重要的一类信号分子,可以调控细菌多种生理特性的表达,也是近年来的研究热点。然而,AHLs 是否会干扰机体一定区域内微生物菌群的多样性构成以及整个微生物生态稳定,尚未见相关研究报道。本研究主要采用外源性菌群感应信号分子 3-oxo-C₁₀-HSL 为作用因素,通过 16 s rRNA 高通量测序平台分析小鼠肠道内的微生物种类和多样性变化情况,以期对 AHLs 在机体微生物菌群调节方面的作用有更深入的了解,为疾病状态下致病菌的预防和临床治疗提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:6 周龄 SPF 级 BALB/c 健康雌鼠 12 只,体质量(16.5±2)g/只,购于军事医学科学院实验动物中心,实验动物质量合格证:SCXK-(军)2012-0004;实验动物使用许可证:SYXK-(军)2012-0012。

1.1.2 试剂与耗材:N-(3-oxodecanoyl) homoserine lactone (3-oxo-C₁₀-HSL, AR 级)购于北京瀚普医药有限公司;玉米油(AR 级)购于上海阿拉丁公司;无水乙醇购于国药试剂有限公司;通用细菌采样管购于友康基业生物科技有限公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒购于天根生物有限公司;KAPA Taq PCR Kits 购于 KAPA Biosystems 公司;MinElute 胶回收试剂盒购于 QIAGEN 公司;NEB Next® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina 建库试剂盒购于 New England Biolabs 公司。

收稿日期:2018-08-21

* 基金项目:军队重点课题(批准号:BJH14J004)

作者简介:付凯飞(1976—),女,副研究员,博士,研究方向:微生物免疫.E-mail: fukaifei@sina.com

通信作者:周丽君(1963—),女,研究员,博士,研究方向:分子免疫学.E-mail: hzzhoulj@126.com

1.2 方法

1.2.1 动物分组与样品采集: BALB/c 小鼠在 25~26 °C 下饲养,统一喂食,自由饮水,饲养至 6 周龄,体质量为 (18.5±2) g/只,随机分为对照组和 3-oxo-C₁₀-HSL 处理组,每组 6 只。将用玉米油稀释的 3-oxo-C₁₀-HSL 工作液 (50 mmol/L) 采用腹腔注射法处理小鼠,对照组单纯注射玉米油。首次注射后 24 h 以拭子涂抹法分别在十二指肠及空回肠部位进行采样 (C1 为对照组十二指肠部位样品; C2 为对照组空回肠部位样品; A1 为 AHLs 处理组十二指肠部位样品; A2 为 AHLs 处理组空回肠部位样品), 取样后迅速置于 -80 °C 冻存备用。

1.2.2 DNA 提取与文库构建: 细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (北京 TIANGEN 公司) 提取宏基因组 DNA, PCR 扩增 16S rDNA V3-V4 区, 通用引物为 340F: CCTACGGGNBGCASCAG, 805R: GACTACNVGGGTATCTAATCC。扩增产物纯化后混样构建文库, 对文库进行 Qubit 定量和检测, 筛选合格文库。

1.2.3 16S rDNA 测序与序列优化处理: 合格文库采用 Illumina Hiseq 2500 高通量测序平台对 16 s rDNA V3-V4 区域测序进行双端测序, 测序长度为 250 bp。利用 FastQC 软件对原始序列质量进行评估后, Trimmomatic 软件做质控, 过滤低 Q 值 reads 后重新进行评估, 利用 FLASH (Fast Length Adjustment of Short reads) 软件根据 PE reads 间 overlap 关系将通过质控的成对 reads 拼接成一条序列, 得到 tags 序列。

1.2.4 OTU 生成及丰度分析: 利用 QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) 软件包^[3]进行 OTU 及多样性分析。用 usearch61 软件进行嵌合体序列的去除^[4-5]和 uclust 法^[5]对序列进行 97% 相似水平聚类, 得到所有 OTU; RDP Classifier 法^[6] (confidence cutoff = 0.8) 对 OTU 进行分类学 (Taxonomy) 注释。同时计算 α 多样性指数, 包括 Chao1 指数^[7]、Shannon-Wiener 指数^[8]及 Simpson 指数, 并绘制指数曲线。

1.2.5 物种分类比较及 β 多样性分析: 根据 OTU 分类学注释结果对每组微生物菌群进行物种分类。

1.2.6 OTU 及物种组间差异分析: 根据组内平均 OTU 丰度, 利用非参数统计方法 wilcoxon 检验分别对不同分组样品物种进行显著性差异分析, 找出组间显著差异的 OTU 及物种, 差异显著性水平定义为 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 样本数据量的统计及高质量测序数据的筛选与统计

Illumina 高通量测序共得到 122 828~364 726 个原始 reads, 碱基总量为 30.71~90.18 Mbp, 软件 Trimmomatic 质控后优质 reads 在 112 388~339 376 之间, 碱基总量在 27.87~84.23 Mbp 之间, 质量评分 30 分以上的占 90.21% 以上, 表明质控后数据量足够, 数据质量高。将质控后 reads 根据 PE reads 之间的 overlap 关系利用 flash 软件将成对序列拼接为完整数据对, 得到有效序列大于 50 912 条, 平均长度大于 459.98 bp, 数据量足够, 序列质量高, 符合下游实验要求。

2.2 小鼠肠道微生物菌群多样性分析

2.2.1 样品 OTU 聚类结果: 根据 97% 的相似性水平对肠道样品进行 OTU 聚类, 按分组内样品平均 OTU 聚类结果进行统计。如图 1a 所示, 4 组样品的测序量依次增多时, chao1 指数增长逐渐放缓, 测序量再增多对 chao1 指数的增长无太大贡献, 表明各组样品测序合理, 测序量已经足够, 基本覆盖了组内所有的物种。chao1 丰度指数提示, 3-oxo-C₁₀-HSL (A1 和 A2 组) 对小鼠十二指肠部位和空回肠部位内微生物菌群多样性均有抑制, 其中对十二指肠部位菌群的多样性抑制明显, 空回肠部位内菌群多样性抑制略差。

2.2.2 样品中微生物多样性结果: 根据 OTU 聚类统计, 利用 shannon 指数公式构建分组内样品平均多样性水平 shannon-wiener 指数曲线。如图 1b 所示, 4 组样品的 shannon 指数曲线并不随测序深度的增加而增大, 而是趋于平坦, 表明各组样品测序深度足够, 测序量合理, 基本覆盖了组内所有的微生物群落。Shannon 多样性指数提示, 3-oxo-C₁₀-HSL (A1 和 A2 组) 可提高小鼠十二指肠部位和空回肠部位内的微生物多样性, 其中对十二指肠部位微生物的多样性提高明显, 空回肠部位内微生物多样性提高程度略差。

2.3 小鼠肠道微生物菌群结构分析

门水平菌群结构分析: 小鼠肠内共检测出 22 个门的细菌, 主要以厚壁菌门 (Firmicutes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 为主。同一取材部位不同处理组相比较, 外源 3-oxo-C₁₀-HSL 对菌群门水平的

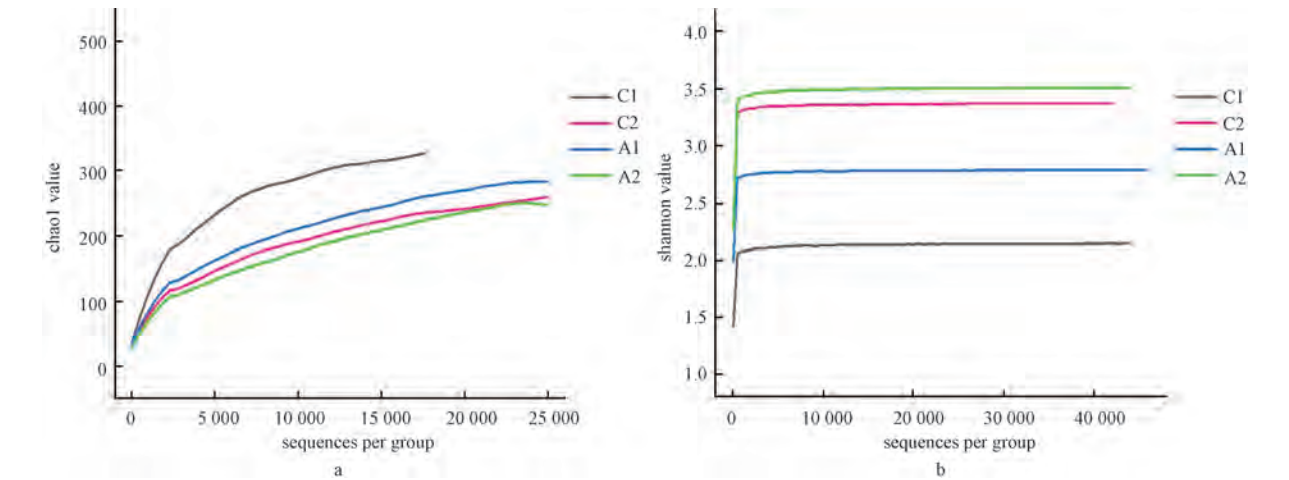


图 1 小鼠肠道不同样品组微生物菌群多样性分析

注:a: chao1 指数分析;b: shannon-wiener 指数分析

Fig.1 Microbial flora diversity analysis of different mice intestine samples groups

Note:a: chao1 analysis;b: shannon-wiener analysis

影响无显著差异;但同一组别内不同取材部位的样品门水平菌群分布差别较大,在十二指肠部位,对照组及 3-oxo-C₁₀-HSL 处理组厚壁菌门百分比分别为 69% 和 75.47%,远高于变形菌门(21.01%和 24.27),而在空回肠部位,两组内厚壁菌门和变形菌门分布水平较相近(45.22%~50.92%)。见表 1。

表 1 小鼠肠道主要细菌占比情况表

[序列标签 (tags) 百分比,n(%)]

Table 1 The proportion of dominant bacteria in mice intestine [tags percentage, n(%)]

门 (Phylum)	C1	A1	C2	A2
厚壁菌	69	75.47	49.7	45.22
变形菌	21.01	24.27	49.44	50.92

属水平菌群结构分析:小鼠肠内共检测出 109 个细菌属,主要有葡萄球菌属 (*Staphylococcus*)、埃希氏菌-志贺菌属 (*Escherichia-Shigella*)、肠球菌属 (*Enterococcus*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、变形杆菌属 (*Proteus*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、(*Lysinibacillus*)、短波单胞杆菌属 (*Brevundimonas*) 及拟杆菌属 (*Bacteroides*) 等。外源 3-oxo-C₁₀-HSL 作用后,肠内不同部位菌群构成均有明显变化,如图 2 所示,对照组十二指肠部位微生物菌群主要以葡萄球菌属为主,其次为假单胞菌属,3-oxo-C₁₀-HSL 作用后,这两个细菌属水平分别由 67.7%、18.43%降至 36.19%和 0.01%,大肠杆

菌-志贺菌属和肠球菌属水平显著上升;对照组空回肠部位微生物菌群主要以大肠杆菌-志贺菌属为主,其次为乳球菌属,3-oxo-C₁₀-HSL 作用组葡萄球菌属和肠球菌属水平明显上升,乳球菌属水平大幅度下降。

2.4 小鼠肠道微生物菌群物种丰度分析

将 C1、C2、A1、A2 样品组内属物种丰度相加,按照从大到小进行排序,选取 top50 (unclassified 除外)的属物种进行热图分析(图 3a),其中颜色从蓝到红,表示对应的菌落丰度由小到大,结果显示丰度最高的菌属为大肠杆菌-志贺菌属,而菌落丰度最高的样品组为 A2 组。利用非参数统计 wilcox 检验分别对各组样本聚类 OTU 进行显著性差异分析,3-oxo-C₁₀-HSL 处理后 (A1 和 A2 组) 十二指肠部位和空回肠部位均有显著差异变化的 OTU 共有 13 个,分类结果显示分别属于葡萄球菌属、肠球菌属和大肠杆菌-志贺菌属。对于十二指肠部位取材样本,除 OTU120(葡萄球菌属)丰度显著下降外,其余 12 个差异显著 OTU (肠球菌属和大肠杆菌-志贺菌属) 丰度均增加 (见图 3b);对于空回肠部位样品, OTU120、OTU213、OTU337、OTU387、OTU594、OTU727、OTU745 和 OTU774 丰度显著上升,OTU266、OTU268、OTU315、OTU428 和 OTU450 丰度显著下降,即显著提高葡萄球菌属、肠球菌属的丰度,但抑制大肠杆菌-志贺菌属的丰度 (见图 3c)。

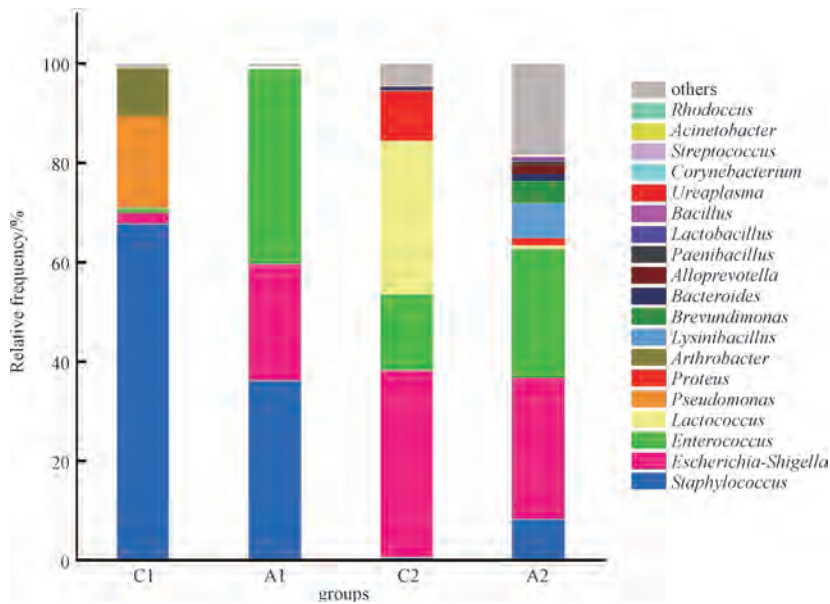


图 2 3-oxo-C₁₀-HSL 作用 24 h 小鼠肠内不同部位属水平菌群的变化

Fig.2 Changes of the intestinal bacteria genus at different positions after 3-oxo-C₁₀-HSL treatment for 24 h in mice intestine

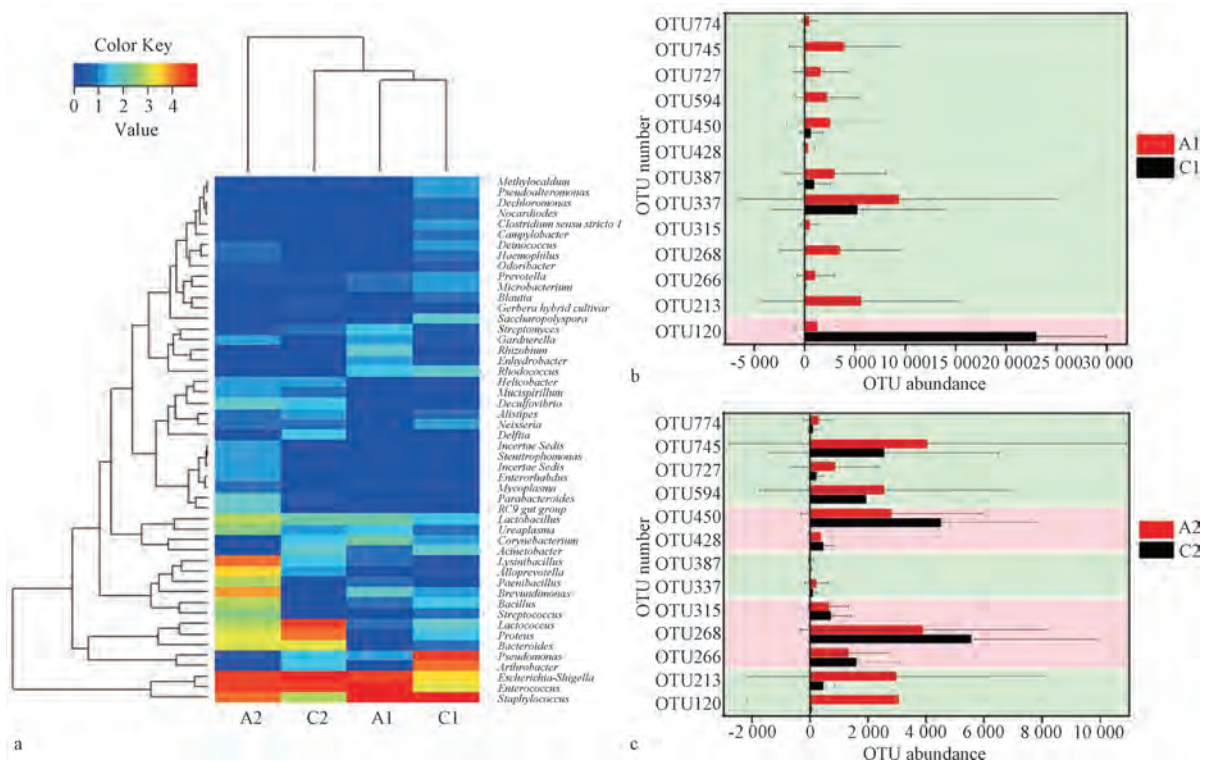


图 3 不同样品组小鼠肠道微生物菌群物种丰度分析

注：a：各组样本在属水平的菌落丰度热图；b：外源 3-oxo-C₁₀-HSL 对小鼠十二指肠部位微生物菌群聚类 OTU 的调控；c：外源 3-oxo-C₁₀-HSL 对小鼠空回肠部位微生物菌群聚类 OTU 的调控)

Fig.3 The intestinal microbial flora abundance analysis of different sample groups

Note: a: The heatmap of different group samples on the genus level; b: The regulation of exogenous 3-oxo-C₁₀-HSL on mice duodenum microbial community OTU; c: The regulation of exogenous 3-oxo-C₁₀-HSL on mice jejunum microbial community OTU

3 讨论

在细菌对宿主的感染机制研究中,除了细菌本身产生的毒力因子、生物膜等参与感染过程,在细菌生理过程中发挥重要调控作用的 AHLs 信号分子也不容忽视。研究证实,长链 AHLs 可参与调控多种致病菌的多种生理功能,还可引发宿主机体的免疫失调,如,3-oxo-C₁₀-HSL 可提高铜绿假单胞菌的抗生素耐药性^[9],3-oxo-C₁₂-HSL 可引起宿主炎症反应和其他免疫系统应激^[10-12],C₁₂-HSL 可增加空回肠部位沙门氏菌生物膜的形成^[13],增强其耐药性。而在 AHLs 作用下,机体内微生物含量最丰富的部位——肠道微生物稳态是否也会受到影响,目前尚不明确。

大量研究已证实,人和多种动物的肠道内都蕴含着极其复杂多样的微生物群落^[14-15],在机体健康状态下,这些微生物群落内部各种群间生长扩繁维持在稳定的状态,形成微生物稳态^[16]。而当机体处于异常状态下,如感染、内分泌失衡等疾病状态或饮食结构改变等情况下,肠道内的微生物稳态也会被打破,并可能进一步导致机体发生相应的机能变化^[17-18]。近年来,随着高通量测序技术和各种新的种系聚类方法对微生物群落结构的研究进展,极大促进了人们对肠道微生物的深入了解。本研究即是通过 Illumina Hiseq 2500 测序平台,运用 16S rDNA 高通量测序技术^[19-20]分析 3-oxo-C₁₀-HSL 作用后小鼠肠道的微生物组多样性变化情况,弥补了传统检测方法中体外培养分离微生物种类有限的弱点,通过分析精准的大信息量数据以明确菌群感应信号分子对小鼠肠道微生物多样性的影响,可以为感染性疾病的相关研究提供数据依据。

本研究通过对样品 16S rDNA 扩增的 V3-V4 区域测序,在小鼠肠道内共检测到 16 个细菌门类,47 个细菌属类。在 3-oxo-C₁₀-HSL 信号分子作用下,肠道相同部位菌群门水平的分布无明显变化,但可影响相同取材部位菌群属水平的分布构成,主要表现为降低葡萄球菌属(十二指肠部位)、假单胞菌属及乳球菌属分布水平,而增加大肠杆菌-志贺菌属、肠球菌属、葡萄球菌属(空回肠部位)和肠球菌属水平,且 3-oxo-C₁₀-HSL 对不同部位的葡萄球菌属作用亦不同。此种现象说明,外源 AHLs 不仅可调控多种革兰阴性菌的比例,亦可调控部分革兰阳性菌的

比例,其调控可能涉及如下因素:一是外源 3-oxo-C₁₀-HSL 改变了周围环境中的不同种类 AHLs 分子的比例,并进而影响了 AHLs 在菌体内的综合调控效应,造成了细菌种群构成的上升或下降,这一点与 Swift 等在 *Aeromonas hydrophila* 中的研究相似^[21];二是 AHLs 分子虽然主要由革兰阴性菌产生,但近年研究也发现个别革兰阳性菌也会产生 AHLs 分子^[22],说明不同细菌种群间的菌群感应系统存在复杂的信号交流机制,可以相互影响,Winzer 等学者的研究也为这一理论做了支持^[23]。

本文研究提示,小鼠肠道细菌基因组含量丰富,且不同部位微生物分布构成存在差异,并与菌群感应信号分子存在密切联系。研究获得的相关研究数据对于探寻机体肠道微生物菌群分布失衡调控机制,以及肠道感染性疾病的防治提供了新的思路。

参考文献

- [1] Ipei K, Altintoprak N, Muluk N B, et al. The possible mechanisms of the human microbiome in allergic diseases [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2017, **274**(2): 617-626.
- [2] Fuqua W C, Winans S C, Greenberg E P. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators [J]. J Bacteriol, 1994, **176**(2): 269-275.
- [3] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nat methods, 2010, **7**(5): 335-336.
- [4] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection [J]. Bioinformatics, 2011, **27**(16): 2194-2200.
- [5] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. Bioinformatics, 2010, **26**(19): 2460-2461.
- [6] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, **73**(16): 5261-5267.
- [7] Chao A. Non-parametric estimation of the number of classes in a population [J]. Scandinavian Journal of Statistics, 1984, **11**: 265-270.
- [8] Shannon C E, Weaver W. A mathematical theory of communication [J]. The Bell System Technical Journal, 1948, **27**: 379-423, 623-656.
- [9] El-Sayed A K, Hotherhall J. Thomas C M. Quorum-sensing-dependent regulation of biosynthesis of the polyketide antibiotic mupirocin in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 [J]. Microbiology, 2001, **147**(8): 2127-2139.
- [10] Davis B M, Jensen R, Williams P, et al. The interaction of N-

- acylhomoserine lactone quorum sensing signaling molecules with biological membranes; implications for inter-kingdom signaling [J]. *PloS one*, 2010, **5** (10): e13522.
- [11] Vikstrom E, Bui L, Konradsson P, *et al.* The junctional integrity of epithelial cells is modulated by *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing molecule through phosphorylation-dependent mechanisms [J]. *Exp Cell Res*, 2009, **315** (2): 313-326.
- [12] Gardiner S M, Chhabra S R, Harty C, *et al.* Haemodynamic effects of the bacterial quorum sensing signal molecule, N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone, in conscious, normal and endotoxaemic rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2001, **133** (7): 1047-1054.
- [13] Campos-Galvao M E, Ribon A O, Araujo E F, *et al.* Changes in the *Salmonella enterica* Enteritidis phenotypes in presence of acyl homoserine lactone quorum sensing signals [J]. *J Basic Microbiol*, 2016, **56** (5): 493-501.
- [14] Ley R E, Hamady M, Lozupone C, *et al.* Evolution of mammals and their gut microbes [J]. *Science*, 2008, **320** (5883): 1647-1651.
- [15] 郭辉, 王翠娥, 彭刚, 等. VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统在啮齿类细菌学检测中的应用 [J]. *实验动物科学*, 2014, **31** (2): 16-19.
- [16] Redfern J, Verran J. What is a microbiologist? A survey exploring the microbiology workforce [J]. *FEMS Mmicrobiol Lett*, 2015, **362** (24): fnv208.
- [17] Queipo-Ortuno M I, Seoane L M, Murri M, *et al.* Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels [J]. *PloS one*, 2013, **8** (5): e65465.
- [18] Li Y, Han L, Xu M, *et al.* The Primary Research on the Gut Microbes in KKAY Mice [J]. *Indian J Microbiol*, 2014, **54** (1): 12-19.
- [19] Shang Q, Yang G, Wang Y, *et al.* Illumina-based analysis of the rhizosphere microbial communities associated with healthy and wilted Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) plants grown in the field [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2016, **32** (6): 95.
- [20] Peng X, Yu K Q, Deng G H, *et al.* Comparison of direct boiling method with commercial kits for extracting fecal microbiome DNA by Illumina sequencing of 16S rRNA tags [J]. *J Microbiol Methods*, 2013, **95** (3): 455-462.
- [21] Swift S, Karlyshev A V, Fish L, *et al.* Quorum sensing in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida*: identification of the LuxRI homologs AhyRI and AsaRI and their cognate N-acylhomoserine lactone signal molecules [J]. *J Bacteriol*, 1997, **179** (17): 5271-5281.
- [22] Biswa P, Doble M. Production of acylated homoserine lactone by gram-positive bacteria isolated from marine water [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2013, **343** (1): 34-41.
- [23] Winzer K, Falconer C, Garber N C, *et al.* The *Pseudomonas aeruginosa* lectins PA-IL and PA-III are controlled by quorum sensing and by RpoS [J]. *J Bacteriol*, 2000, **182** (22): 6401-6411.

Analysis of the Effects of N-acyl homoserine lactones on the Gut Microbes in Mice

FU Kaifei¹, LI Jun², WANG Yuxiao¹, WU Chenglin¹, QIN Kewei¹, ZHOU Lijun¹

[1. (Former name) Navy General Hospital Center for Basic Medical Science, Beijing 100048, China]

[2. (Former name) Navy General Hospital Scientific Research Department, Beijing 100048, China]

Abstract: Objective Study the effect of N-acyl homoserine lactones (AHLs) on gut microbes flora in mice so as to supply the theoretical basis of intestinal microecological disorder under infection status. **Method** After the mice were intraperitoneal injected with 3-oxo-C₁₀-HSL for 24 h, samples of mice duodenum and jejunum-ileum contents were acquired with swab smear method. The sample 16S rDNA sequencing was detected by Illumina HiSeq 2500 high-throughput sequencing platform, and the classification of microbial flora composition and diversity were analyzed. **Result** There were 22 phyla and 109 genera in all identified in the mice gut, and Firmicutes (>50%) and Proteobacteria (>20%) dominated the microbiota. The control group and 3-oxo-C₁₀-HSL treatment group had obvious difference in the level of flora composition, for the former the dominant genera mainly included *Staphylococcus*, *Escherichia-Shigella*, *galactococcus*, *Pseudomonas* and *Enterococcus*, and for the latter the dominant genera mainly included *Enterococcus*, *Escherichia-Shigella*, and *Staphylococcus*. It was also revealed that the 3-oxo-C₁₀-HSL treatment could improve the gut microbial diversity, and the abundance of dominant genera such as *Escherichia-Shigella* and jejunum-ileum microbiota significantly rose. **Conclusion** AHLs had little effect on gut microbiota in mice, but some specific microbial taxa would be significantly affected.

Key words: quorum sensing; N-acyl homoserine lactones; 16S rDNA sequence; microbial diversity