

低能离子注入诱变酿酒酵母菌胞外代谢产物的差异性分析

白巧秀¹, 欧科², 王婷³, 杨倩倩¹, 刘静¹, 李侃社¹, 陈福欣^{1*}, 毛培宏^{2*}

(1. 西安科技大学化学与化工学院, 陕西西安 710054) (2. 新疆大学物理科学与技术学院, 放射生态与离子束生物技术中心, 新疆乌鲁木齐 830046) (3. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710032)

摘要: 基于代谢组学方法研究低能离子束诱变重组菌株 N6076 与原始菌株 Kh08 在不同发酵时期的差异性胞外代谢产物, 并通过网络药理学探讨了相关代谢通路。结果表明, 不同时期两种菌株的胞外代谢产物存在明显差异, 鉴定出 VIP>1 的 15 种代谢差异物, 其中吲哚 3-丙酸不仅作为共同的代谢产物, 而且其差异性也最为显著。基于网络药理学的差异代谢物的通路分析, 结果表明该重组菌株中有四条代谢通路存在显著性差异, 分别是: 醚脂代谢、糖基磷脂酰肌醇 (GPI)-锚定生物合成、泛酸和 CoA 的生物合成、甘油磷脂。论文研究为进一步认识重组酵母菌的代谢差异提供了科学依据, 为下一步的菌种改良提供可能的驯化方向。

关键词: 酿酒酵母; 代谢组学; 低能离子束; 差异代谢物; 吲哚-3-丙酸

文章篇号: 1673-9078(2021)09-43-49

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.1102

Difference Analysis of the Extracellular Metabolites of *Saccharomyces cerevisiae* Mutagenized by Low-energy Ion Implantation

BAI Qiao-xiu¹, OU Ke², WANG Ting³, YANG Qian-qian¹, LIU Jing¹, LI Kan-she¹, CHEN Fu-xin^{1*}, MAO Pei-hong^{2*}

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, China)

(2. Research Center of Radiation Ecology and Ion Beam Biotechnology, College of Physics Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

(3. School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710032, China)

Abstract: Differences between extracellular metabolites of recombinant strain N6076 mutagenized by low-energy ion beams and original strain Kh08 at different fermentation stages were studied by metabolomic methods. The related metabolic pathways were discussed based on network pharmacology. The results show significant differences between the extracellular metabolites of the two strains at different stages. Fifteen metabolites with VIP>1 were identified including indole-3-propionate (IPA), a common metabolite showing the most significant difference. The pathways of metabolites showing differences were examined based on network pharmacology. It has been found that four metabolic pathways of the recombinant strain show significant differences, namely lipid metabolism, phosphatidylinositol (GPI)-anchoring, pantothenic acid and CoA biosynthesis, and the glycerophospholipid metabolism. This study provides scientific evidence and understanding of the metabolic differences of recombinant yeast and a possible direction for future strain improvement.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; metabolomics; low energy ion beam; metabolite; indole-3-propionic acid

引文格式:

白巧秀,欧科,王婷,等.低能离子注入诱变酿酒酵母菌胞外代谢产物的差异性分析[J].现代食品科技,2021,37(9):43-49

BAI Qiao-xiu, OU Ke, WANG Ting, et al. Difference analysis of the extracellular metabolites of *Saccharomyces cerevisiae* mutagenized by low-energy ion implantation [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 43-49

收稿日期: 2020-11-29

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目 (31760016); 陕西省重点研发计划项目 (2019GY-138; 2020GY-236); 陕西省中医药管理局科研项目 (2019-ZZ-ZY005)

作者简介: 白巧秀 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 代谢组学, E-mail: 1362343579@qq.com

通讯作者: 陈福欣 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 生物化学, E-mail: chenfuxin1981@163.com; 共同通讯作者: 毛培宏 (1960-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 离子束生物技术, E-mail: phmao@vip.sina.com

代谢组学是功能基因组学的主要研究工具,与基因组学、转录组学和蛋白质组学一起共同构成系统生物学^[1]。靶向/非靶向代谢物或生物标记物的定性和定量分析是代谢组学的重要研究目标之一^[2]。微生物代谢组学就是通过对微生物代谢物进行定性与定量分析,来了解微生物的生理状态^[3],微生物代谢产物的变化与细胞所处内外环境密切相关,微生物生物体内环境的变化,更多的体现在代谢产物的变化上,其中的代谢轮廓分析对深入研究微生物特别是工程菌的工业化应用有重要的研究价值^[4]。研究表明,细胞内与细胞外代谢产物的种类和含量受环境影响的程度是不同的,这也给代谢组学研究提出了新的挑战^[5,6]。

酿酒酵母菌作为重要的工业微生物之一,营养需求简单,生长速度快,因此酿酒酵母菌是微生物代谢组学中的主要研究对象之一^[7]。在前期研究中,课题组利用低能离子注入介导乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)基因组 DNA 随机转化酿酒酵母菌,并获得了遗传稳定、醌类和萜类化合物含量显著提高的重组酵母菌 N6076;通过转录组测序,初步比较了差异表达基因及相关功能^[8]。GO 功能分析结果表明 N6076 新增了 14 项生物学过程、2 项细胞组分和 2 项分子功能;涉及 1140 个差异表达基因。此外,代谢组学的研究表明,重组酵母菌的胞内代谢产物也存在明显的差异^[9]。其中甲羟戊酸-5-磷酸和胱氨酸分别为两株酵母菌胞内的显著差异代谢产物。为了进一步研究酵母菌的完整的代谢途径,同时针对胞内外代谢产物的差异性进行系统比较;在前期研究工作的基础^[10],基于超高效液相色谱-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF/MS)与代谢组学数据处理方法,对胞外的代谢提取物进行处理及分析,获得了重组菌株 N6076 与原始菌株 Kh08 在不同发酵时期的胞外代谢差异,同时对两株酵母代谢通路进行分析,为进一步理解酵母菌胞内小分子化合物的代谢与重组酵母菌的进一步遗传改良和驯化提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

UPLC-Q-TOF/MS (Bruker maXis Q-TOF) 超高分辨飞行时间质谱仪,德国 Bruker 公司;超净工作台(SW-CJ-2FD),上海沪净医疗器械有限公司;立式压力蒸汽灭菌器(LDZX-75KBS),上海申安医疗器械厂;台式高速冷冻离心机(Beckman Allegra 64R),美国 beckman 公司;涡旋振荡器(Vortex1),德国艾卡公司;超低温冰箱(ThermoFisher 88700V),美国

ThermoFisher 公司;全温振荡恒温摇床(HZQ-2),常州市仪都仪器有限公司;电子天平(岛津 AUY220),日本岛津公司;甲酸、乙腈、甲醇(HPLC 级),天津市大茂化学试剂公司;葡萄糖,天津市大茂化学试剂公司。

1.2 菌株来源

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) N6076 来源于低能氮离子注入介导外源 DNA 随机转化酿酒酵母 Kh08 获得的遗传稳定的产醌类物质的重组酵母菌,由新疆大学物理科学与技术学院放射生态与离子束生物技术中心保存。

1.3 培养条件

YPD 斜面培养基:酵母膏 10 g、蛋白胨 20 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 10 g、蒸馏水 1000 mL。液体培养基:葡萄糖·H₂O 80 g、蛋白胨 10 g、酵母膏粉 5 g、KH₂PO₄ 1.50 g、MgSO₄·7H₂O 0.50 g,蒸馏水 1000 mL, pH 自然。

1.4 实验方法

所有的实验器具及培养基均在 121 °C 下灭菌 30 min。将保存在甘油管中的菌株在平板上复苏,挑单菌落于 YPD 斜面培养基上,并在 30 °C 下培养 48 h。将 YPD 斜面培养基上培养 48 h 的新鲜菌种置于 4 °C 保存 24 h 后接种至液体培养基中,置摇床 150 r/min、28~30 °C 发酵 96 h。

分别吸取培养 0 h、48 h、96 h 的 5 mL 酵母样品菌液,加入 150 μL 的 Vc 溶液保护液。在 4 °C 环境下,5000 r/min 离心 5 min,收集上清液。加入等体积的氯仿,剧烈震荡 30 s,静置 10 min。收集下层无色液体,放入 2 mL 冻存管中,氮气常温吹干,置于-80 °C 下冷藏备用。测试时将胞外代谢产物复溶于 200 μL 的溶液(乙腈:水=7:3)中,将样品在 12000 r/min 条件下离心 5 min 后再进行测试。

本研究设置 3 个生物学重复,每个生物学重复的 0 h、48 h、96 h 设置 6 个技术重复。

1.5 色谱与质谱检测条件

UPLC-Q-TOF/MS 测试条件,色谱柱:C18(Waters BEH, 50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);柱温:40 °C;进样量:5 μL,流速:0.20 mL/min。流动相 A 为 V(乙腈):V(水)=5:95+0.1%甲酸,流动相 B 为乙腈+0.1%甲酸。梯度洗脱:0~2 min(100% A),2~3 min(100%~90% A),3~5 min(90%~60% A),5~10 min

(60%~10%A)。离子源: ESI 正离子模式; 毛细管电压: 3500 V, 离子源温度: 200 ℃; 气体流速设定为 8 L/min, 雾化气压力为 4 bar。m/z 扫描范围为 50~1000。数据采集速率设置为 0.20 s, 延迟 0.10 s。质量轴以甲酸钠为校准液。

1.6 数据分析

2 株酵母菌不同发酵时间的胞内代谢物通过 UPLC-Q-TOF/MS 检测后的数据用 Data Analysis 程序转换为 CDF 格式, 进行 XCMS-Online 分析, 分析结果导入 SIMCA-P, 利用 PLS-DA 进行代谢物的鉴定。

2 结果与分析

2.1 酵母菌胞外代谢产物分析

偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA) 是多变量数据分析技术中的判别分析法, 可以有效的对组间观察值进行区分, 并且能够找到导致组间区别的影响变量。

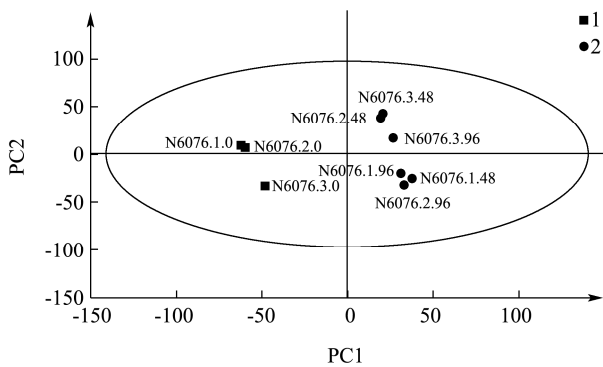


图1 重组酵母菌 N6076 代谢物的 PLS-DA 分布图

Fig.1 PLS-DA distribution map of the metabolites of recombinant yeast N6076

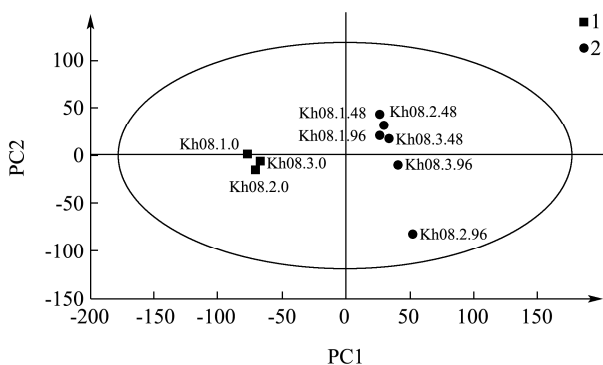


图2 原始菌株 Kh08 代谢物的 PLS-DA 分布图

Fig.2 PLS-DA distribution map of metabolites of original strain Kh08

在进行 PLS-DA 分析时, 0 h 代谢组样品为一组, 48 h 与 96 h 为一组。重组酵母菌 N6076 代谢物 (图1)与原始菌株 Kh08 代谢物(图2)均能在 PLS-DA

分布图中明显区分。并且 N6076 代谢物与 Kh08 代谢物均基本处于 95%置信区间内, 绿色圆形分别为 0 h N6076 代谢物与 Kh08 代谢物样本, 其全部处于置信区间的左侧。蓝色圆形为 48 h、96 h N6076 代谢物与 Kh08 代谢物样本, 主要分布在置信区间的右侧。两组样本几乎不重叠, 都有各自的样本聚集区域, 区分效果比较明显。说明两种菌株的 0 h 代谢物样本与 48 h、96 h 的代谢物样本均存在显著差异。

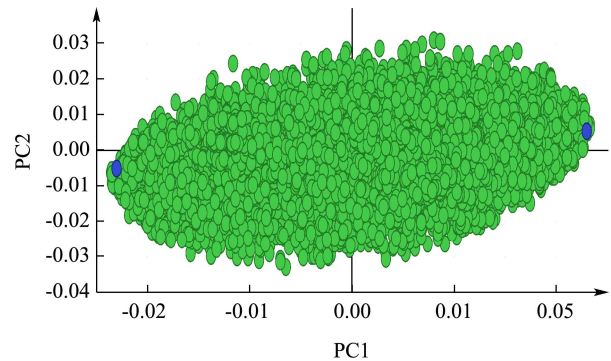


图3 重组酵母菌 N6076 代谢物的 PLS-DA 载荷图

Fig.3 PLS-DA loading diagram of the metabolite of recombinant yeast N6076

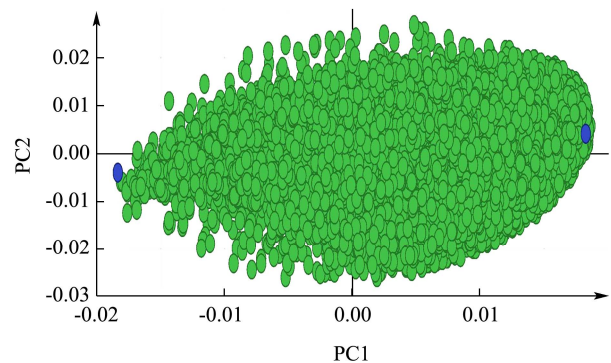


图4 原始菌株 Kh08 代谢物的 PLS-DA 载荷图

Fig.4 PLS-DA loading diagram of metabolites of original strain Kh08

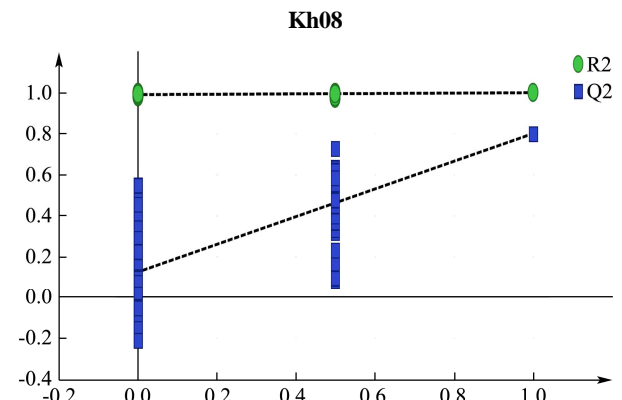


图5 重组酵母菌 N6076 代谢物的 PLS-DA 模型置换检验图

Fig.5 PLS-DA model replacement test diagram of the metabolites of recombinant yeast N6076

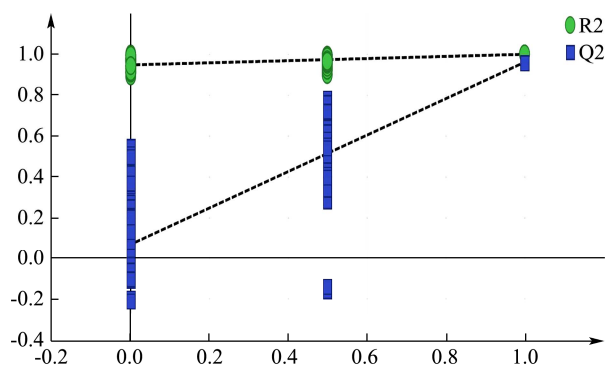


图6 原始菌株 Kh08 代谢物的 PLS-DA 模型置换检验图

Fig.6 PLS-DA model replacement test diagram of metabolites of original strain Kh08

同时得到了重组酵母菌 N6076 代谢物 (图 3) 与原始菌株 Kh08 代谢物 (图 4) 的载荷图。越靠近俩边的点表明其所代表的代谢物在该组中含量差别较大, 而越靠近中间点表明该代谢物在两组中的差异越小。N6076 代谢物与 Kh08 代谢物在 PLS-DA 载荷图中均呈椭圆形, 并且差异最大的部分分布在正负轴的两侧。

200 次随机排列得出检验结果见图 5 和图 6。如图所示, 重组酵母菌 N6076 代谢物与原始菌株 Kh08 代谢物 PLS-DA 模型置换检验图的右侧点均高于左侧相同形状的点, 表明模型稳定, 无过拟合现象。Q2 通过交叉验证的测试数据计算得到, 描述的是模型的预测能力, 本模型的 Q2 截距在 0.1 左右, 其为正值, 有可

能是生物样本的实际数量过少所致^[11]。

2.2 酵母菌胞外代谢差异分析

采用 PLS-DA 模型的 VIP 值 (阈值>1) 来进行差异代谢物的筛选。差异代谢物在 HMDB 数据库中通过质荷比与库中物质进行比对, 从而确定重组酵母菌 N6076 代谢物 (表 1) 与原始菌株 Kh08 代谢物 (表 2) 的差异代谢物结构信息。其中重组菌株 N6076 的差异化合物为 15 种 (表 1), 原始菌株 Kh08 的差异化合物为 14 种 (表 2)。

值得关注的是无论在重组菌株 N6076 还是原始菌株 Kh08 中, 吲哚-3-丙酸 (IPA HMDB0002302) 均为代谢产物中差异性较大的共同代谢物 (或中间体), 随后将结合代谢通路分析对该化合物进一步讨论。

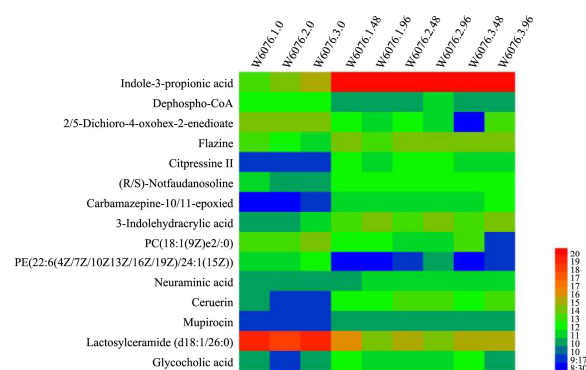


图7 菌株 N6076 热图

Fig.7 Heat map of strain N6076

表1 重组菌株 N6076 差异性化合物

Table 1 Differential compounds of recombinant strain N6076

化合物名称	分子量	化学结构	差异倍数*	HMDB 编号
Indole-3-propionic acid (IPA)	189.07	C ₁₁ H ₁₁ NO ₂	213.42	HMDB0002302
Dephospho-CoA	687.14	C ₂₁ H ₃₅ N ₇ O ₁₃ P ₂ S	0.22	HMDB0001373
2,5-Dichloro-4-oxohex-2-enedioate	225.94	C ₆ H ₄ Cl ₂ O ₅	0.14	HMDB0060363
Flazine	308.07	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₄	2.24	HMDB0033459
Citpressine II	315.11	C ₁₇ H ₁₇ NO ₅	4.59	HMDB0029324
(R,S)-Norlaudanosoline	287.11	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	2	HMDB0012486
Carbamazepine-10,11-epoxide	252.08	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	5.07	HMDB0060658
3-Indolelactic acid	205.07	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	13	HMDB0000671
PC(18:1(9Z)e/2:0)	549.37	C ₂₈ H ₅₆ NO ₇ P	0.34	HMDB0011148
PE(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/24:1(15Z))	873.62	C ₅₁ H ₈₈ NO ₈ P	0.13	HMDB0009707
Neuraminic acid	267.09	C ₉ H ₁₇ NO ₈	2.18	HMDB0000830
Cerulenin	223.12	C ₁₂ H ₁₇ NO ₃	6.52	HMDB0015168
Mupirocin	500.29	C ₂₆ H ₄₄ O ₉	1.74	HMDB0014554
Lactosylceramide (d18:1/26:0)	1001.77	C ₅₆ H ₁₀₇ NO ₁₃	0.70	HMDB0004874
Glycocholic acid	465.30	C ₂₆ H ₄₃ NO ₆	3.09	HMDB0000138

注: *n=6, p<0.05。表 2 同。

表2 原始菌株 Kh08 差异性化合物

Table 2 Differential compounds of original strain Kh08

化合物名称	分子量	化学结构	差异倍数	HMDB 编号
Lusitanicoside	442.18	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₀	8.26	HMDB0034120
Glucarubin	496.23	C ₂₅ H ₃₆ O ₁₀	7.14	HMDB0035626
2-(3-Carboxy-3-(methylammonio)propyl)-L-histidine	271.14	C ₁₁ H ₁₉ N ₄ O ₄	10.62	HMDB0011654
Acevaltrate	480.19	C ₂₄ H ₃₂ O ₁₀	8.08	HMDB0034494
3-O-Sulfogalactosylceramide (d18:1/14:0)	751.49	C ₃₈ H ₇₃ NO ₁₁ S	7.18	HMDB0012312
Cerulenin	223.12	C ₁₂ H ₁₇ NO ₃	9	HMDB0015168
N-Desmethylocitalopram	310.14	C ₁₉ H ₁₉ FN ₂ O	24.76	HMDB0014021
PE(14:1(9Z)/18:4(6Z,9Z,12Z,15Z))	681.43	C ₃₇ H ₆₄ NO ₈ P	4.15	HMDB0008865
LysoPA(18:0/0:0)	438.27	C ₂₁ H ₄₃ O ₇ P	9.05	HMDB0007854
DHAP(18:0)	436.25	C ₂₁ H ₄₁ O ₇ P	19.23	HMDB0011133
Phosphorylcholine	184.07	C ₅ H ₁₅ NO ₄ P	2.25	HMDB0001565
Cytidine	243.08	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅	8.93	HMDB0000089
Indole-3-propionic acid (IPA)	189.07	C ₁₁ H ₁₁ NO ₂	503.94	HMDB0029738
Leukotriene E4	439.23	C ₂₃ H ₃₇ NO ₅ S	4.91	HMDB0002200
3-O-Sulfogalactosylceramide (d18:1/24:0)	891.64	C ₄₈ H ₉₃ NO ₁₁ S	5.39	HMDB0000024

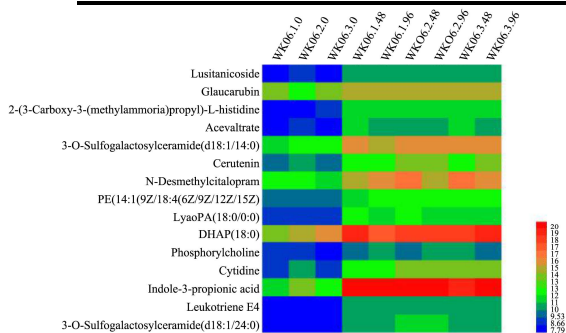


图8 原始菌株 Kh08 热图

Fig.8 Heat map of original strain Kh08

差异物热图 (图 7、图 8) 的结果显示,无论在重组菌株 N6076 中,还是在原始菌株 Kh08 中吡啶 3-丙酸的浓度均最高,且 48 h、96 h 浓度均高于 0 h 重组菌株 N6076 浓度。

2.3 酵母菌胞外代谢通路分析

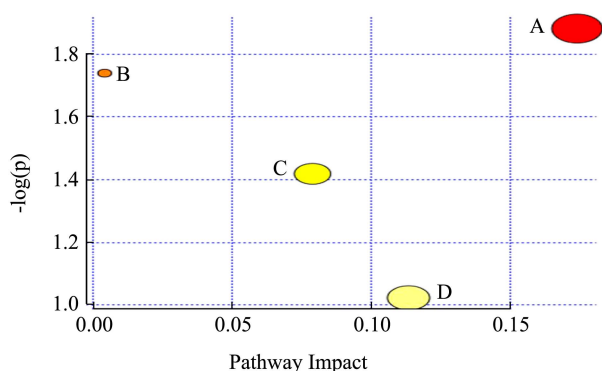


图9 重组菌株 N6076 代谢通路

Fig.9 Metabolic pathway of recombinant strain N6076

采用 Metaboanalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 对重组菌株 N6076 与原始菌株 Kh08 鉴定得到的差异代谢物进行分析,将化合物对应的 HMDB 号输入数据库比对,选择酿酒酵母(酵母)的通路分析数据得到代谢组视图(图 9、图 10)。其中每一个气泡代表一个通过通路富集分析得到的 p 值和通路拓扑分析 pathway impact values 显示的匹配得到的代谢通路。气泡的颜色代表富集程度的大小即纵坐标 p 值,颜色越深表明富集程度越显著^[12]。

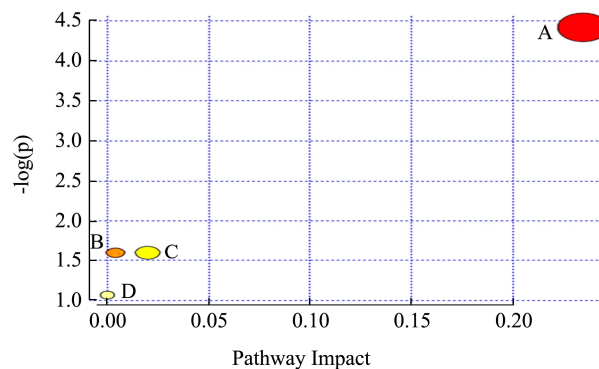


图10 原始菌株 Kh08 代谢通路

Fig.10 Metabolic pathway of original strain Kh08

在重组菌株 N6076 代谢通路中,主要涉及了 Ether lipid metabolism (通路 A, 醚脂代谢)、Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis (通路 B, 糖基磷脂酰肌醇(GPI)-锚定生物合成)、Pantothenate and CoA biosynthesis(通路 C, 泛酸和 CoA 生物合成)、Glycerophospholipid metabolism (通路 D, 甘油磷脂代谢)。影响较大的代谢通路为脂类代谢。

醚脂是一类独特的甘油磷脂，它参与多种生物功能，包括调节细胞分化，影响细胞信号传导，通过其潜在的内源性抗氧化剂功能来降低氧化应激^[13,14]。甘油磷

脂是机体内含量最多的一类磷脂，构成生物膜，参与胞膜对蛋白质的识别和信号传导^[15]。

表 3 重组菌株 N6076 相关代谢通路

Table 3 Relevant metabolic pathways of recombinant strain N6076

No.	Pathway	Total	Hits	Raw p	Holm p	FDR	Impact
A	醚脂代谢	12	1	0.15	1.88	1	0.17
B	糖基磷脂酰肌醇 (GPI) -锚定生物合成	14	1	0.17	1.73	1	0.03
C	泛酸和 CoA 生物合成	20	1	0.24	1.41	1	0.07
D	甘油磷脂代谢	32	1	0.36	1.02	1	0.11

2.4 吡啶-3-丙酸可能代谢通路的分析

早期的研究发现，吡啶-3-丙酸是一类重要的植物生长激素，可被植物的根、茎、叶和花吸收，具有促进生根、座果等多种生理作用。此外，作为一种内源性的微生物次级代谢产物，吡啶-3-丙酸也具有较强的抗氧化活性^[16]。并且与其它抗氧化物质不同的是，吡啶-3-丙酸在清除自由基的同时，不产生反应性和促氧化性的中间化合物^[17,18]。因此，推测吡啶-3-丙酸在酿酒酵母的生长及衰老过程中也可能是关键的调控物质，对整个酵母菌种的驯化和筛选产生巨大影响^[19]。

图 11 是基于现有数据库推测的吡啶-3-丙酸代谢通路，图中浅蓝色表示这些代谢物仅作为富集分析的背景信息，并未被匹配到；红色表示代谢物在数据中具有显著性。当然，也有文献报道^[20]，L-色氨酸可以通过特定的转氨反应和脱氨反应生成吡啶-3-丙酸，这一生化过程简单、明了，但是能否在酵母菌的代谢过程中发生该反应，还需要进一步研究。

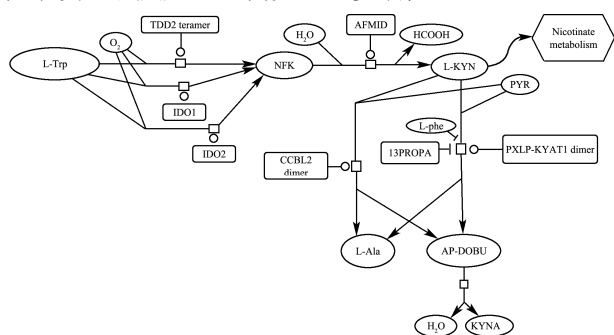


图 11 吡啶-3-丙酸可能的代谢通路

Fig.11 Possible metabolic pathways of IPA

3 结论

基于代谢组学的方法分别对重组菌株 N6076 与原始菌株 Kh08 的不同时期胞外代谢产物进行分析，重组菌株 N6076 筛选出 14 种差异性代谢产物，原始菌株 Kh08 筛选出 15 种差异代谢物。其中吡啶-3-丙酸是两种菌株中共同的差异性代谢物。通路分析发现，差

异性代谢物均涉及醚脂代谢、糖基磷脂酰肌醇 (GPI) -锚定生物合成、泛酸和 CoA 生物合成、甘油磷脂代谢。其中作为共同的差异代谢物吡啶-3-丙酸，基于已有的代谢通路分析，其可能与酵母中的 L-色氨酸代谢有关，进一步的验证工作正在实验室中逐步开展。

参考文献

- [1] 徐英江,刘鹤,崔艳梅,等.组学技术在海洋生态毒理学研究中的应用[J].现代食品科技,2020,36(5):329-336,103
XU Ying-jiang, LIU Ge, CUI Yan-mei, et al. Application of omics in marine ecotoxicology: a review [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 329-336, 103
- [2] 董蓉,吴清平,张菊梅,等.食源性致病沙门氏菌血清型生物标志物的研究[J].现代食品科技,2017,33(5):288-292,310
DONG Rong, WU Qing-ping, ZHANG Ju-mei, et al. Study on biomarkers of foodborne pathogenic Salmonella serotypes [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(5): 288-292, 310
- [3] 王丽宁,赵梦然,郭向丽.两个糙皮侧耳菌株的比较基因组学研究[J].菌物学报,2020,38(12):2133-2143
WANG Li-ning, ZHAO Meng-ran, WU Xiang-li. Comparative genomic analyses of two *Pleurotus ostreatus* strains [J]. Mycosystema, 2019, 38(12): 2133-2143
- [4] Walter M van Gulik, André B Canelas, Reza M Seifar, et al. The Sampling and Sample Preparation Problem in Microbial Metabolomics [M]. Metabolomics in Practice: Successful Strategies to Generate and Analyze Metabolic Data. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013
- [5] 张田,张志丹,刘蛟.苜蓿中华根瘤菌代谢组学样品制备方法的研究[J].工业微生物,2019,49(4):1-7
ZHANG Tian, ZHANG Zhi-dan, LIU Jiao, et al. Research of metabolome sample preparation method of *Sinorhizobium meliloti* [J]. Industrial Microbiology, 2019, 49(4): 1-7
- [6] Kim Sooah, Lee Do Yu, Wohlgenuth Gert, et al. Evaluation and optimization of metabolome sample preparation methods

- for *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Analytical Chemistry, 2013, 85(4): 2169-2176
- [7] 于跃,郭辉力,薛飞燕,等.重组酿酒酵母合成白藜芦醇的研究[J].现代食品科技,2019,35(5):184-190,150
YU Yue, GUO Hui-li, XUE Fei-yan, et al. Study on the synthesis of resveratrol by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(5): 184-190, 150
- [8] 王璇,欧科,冯光文,等.重组酵母菌 N6076 的差异表达基因功能及甲羟戊酸代谢分析[J].食品与发酵工业,2020,46(17): 22-26
WANG Xuan, OU Ke, FENG Guang-wen, et al. Differentially expressed gene function and mevalonate metabolism analysis of recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain N6076 [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(17): 22-26
- [9] 吕杰,马媛,毛培宏,等.离子束重组酵母菌 N6076 的基因表达与蛋白质组学初步研究[J].基因组学与应用生物学,2017, 36(11):4678-4685
LYU Jie, MA Yuan, MAO Pei-hong, et al. Preliminary analysis of gene expression and proteomic change of the recombined yeast N6076 obtained by low-energy nitrogen ion beam implantation [J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36(11): 4678-4685
- [10] 欧科,陈福欣,王婷.基于代谢组学方法的两株酿酒酵母菌胞内差异代谢产物分析[J].食品与发酵工业,2020,46(4):39-44
OU Ke, CHEN Fu-xin, WANG Ting. The analysis of intracellular differential metabolites of two *Saccharomyces cerevisiae* strains based on metabolomics approach [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(4): 39-44
- [11] 柯朝甫,武晓岩,李康.PLS-DA 模型四种诊断统计量在代谢组学应用中的比较[J].中国卫生统计,2014,31(3):403-406
KE Chao-fu, WU Xiao-yan, LI Kang. A comparative analysis of four PLS-DA diagnostic statistics in the application of metabolomics [J]. Chinese Journal of Health Statistics Jun 2014, 31(3): 403-406
- [12] Jasmine Chong, David S Wishart, Jianguo Xia. Using MetaboAnalyst 4.0 for comprehensive and integrative metabolomics data analysis [J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2019, 68(1): e86
- [13] John M Dean, Irfan J Lodhi. Structural and functional roles of ether lipids [J]. Protn & Cell, 2018, 9(2): 196-206
- [14] Wikoff William R, Anfora Andrew T, Liu Jun. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(10): 3698-3703
- [15] Hong-kai Xie, Guan-hua Zhao, Zi-xuan Wu. Differences in oxidative susceptibilities between glycerophosphocholine and glycerophosphoethanolamine in dried scallop (*Argopecten irradians*) adductor muscle during storage: an oxidation kinetic assessment [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(8): 1554-1561
- [16] Ze-hua Zhao, Feng-zhi Xin, Yaqian Xue, et al. Indole-3-propionic acid inhibits gut dysbiosis and endotoxin leakage to attenuate steatohepatitis in rats [J]. Experimental & Molecular Medicine, 2019, 51(9): 1-14
- [17] Dustin M Lee, Kayl E Ecton, S Raj J Trikha, et al. Microbial metabolite indole-3-propionic acid supplementation does not protect mice from the cardiometabolic consequences of a western diet [J]. AJP Gastrointestinal and Liver Physiology, 2020, 319(1): G51-G62
- [18] Hui-wen Xiao, Ming Cui, Yuan Li, et al. Gut microbiota-derived indole-3-propionic acid protects against radiation toxicity via retaining acyl-CoA-binding protein [J]. Microbiome, 2020, 8(1): 1-17
- [19] Seisuke Mimori a, Koichi Kawada b, Ryo Saito c. Indole-3-propionic acid has chemical chaperone activity and suppresses endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 517(4): 623-628
- [20] 杨虹,彭芳,刘刚,等.基于代谢组学的研究方法探讨毒性剂量对乙酰氨基酚对小鼠血浆氨基酸代谢的影响[J].中药药理与临床,2020,36(2):162-167
YANG Hong, PENG Fang, LIU Gang, et al Effect of over-dose APAP on mice amino acid metabolism in plasma based on metabolomics [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2020, 36(2):162-167