

大理和勐腊中缅树鼩血清及肝差异代谢物的比较

陈思梦^① 贾婷^② 王政昆^① 朱万龙^{①*}

^① 云南省高校西南山地生态系统动植物生态适应进化及保护重点实验室, 云南师范大学生命科学院, 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心, 云南省生物质能与环境生物技术重点实验室 昆明 650500;

^② 云南经济管理学院 昆明 650106

摘要: 为探究不同海拔地区中缅树鼩 (*Tupaia belangeri*) 血清和肝的差异代谢物及代谢通路变化, 本研究采集大理 (高海拔) 和勐腊 (低海拔) 中缅树鼩分别 12 只和 8 只的血清和肝, 采用非靶向代谢组气相色谱-质谱联用检测技术测定代谢物。结果表明, 高海拔种群和低海拔种群相比, 血清中一共有 36 种代谢物差异显著, 其中, 柠檬酸、葡萄糖、胆固醇等共 32 种代谢物的浓度上调, N-乙酰谷氨酸、葵酸、庚酸和对羟基苯甲酸这 4 种代谢物的浓度下调; 高海拔种群肝差异代谢物和低海拔肝相比, 一共有 18 种代谢物浓度差异显著, 其中, 苹果酸、核糖、葡萄糖等共 10 种差异代谢物浓度上调, 谷氨酰胺、乙醇酸、硬脂酸等共 8 种差异代谢物浓度下调。高海拔种群与低海拔种群相比, 血清中一共有 76 条代谢通路活性得分差异显著, 其中, 69 条活性得分上调, 7 条活性得分下调; 肝中一共有 75 条代谢通路活性得分差异显著, 其中, 43 条活性得分上调, 32 条活性得分下调。以上结果说明, 中缅树鼩在面对不同环境时, 会调节不同组织中不同代谢通路 (如三羧酸循环、糖酵解、脂类代谢和氨基酸代谢) 的代谢物含量来适应环境, 且血清比肝对环境变化更敏感。

关键词: 中缅树鼩; 血清; 肝; 差异代谢物; 代谢通路

中图分类号: Q956 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2021) 05-729-17

Comparison of Differential Metabolites in Serum and Liver of *Tupaia belangeri* from Dali and Mengla Area

CHEN Si-Meng^① JIA Ting^② WANG Zheng-Kun^① ZHU Wang-Long^{①*}

^① Key Laboratory of Ecological Adaptive Evolution and Conservation on Animals-Plants in Southwest Mountain Ecosystem of Yunnan Province Higher Institutes College Kunming, School of Life Sciences of Yunnan Normal University, Engineering Research Center of Ministry of Education for Sustainable Development and Utilization of Bioenergy, Key Laboratory of Biomass Energy and

Environmental Biotechnology in Yunnan Province, Kunming 650500;

^② Yunnan College of Business Management, Kunming 650106, China

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31660121), 云南省中青学术和技术带头人后备人才项目 (No. 2019HB013), 云南省万人计划青年拔尖人才项目 (No. YNWR-QNRC-2019-047);

* 通讯作者, E-mail: zwl_8307@163.com;

第一作者介绍 陈思梦, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生理生态; E-mail: CHENSIMENG205520@163.com。

收稿日期: 2021-01-25, 修回日期: 2021-05-18 DOI: 10.13859/j.cjz.202105010

Abstract: To explore the effects of different altitudes on changes of different metabolites and metabolic pathways the sera and livers of *T. belangeri* from Dali (high-altitude) and Mongla (low-altitude) were collected. The metabolites were analyzed by using the non-targeted metabolomics gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The original data were preprocessed by software XCMS (www.bioconductor.org/), converting the original GC-MS data into common data format (CDF) format. The XCMS program was used for peak identification, peak filtering and peak alignment to determine the parameters of XCMS (Fig. 1). A metabolite tree map was constructed based on the euclidean distance between samples, and clustering of samples was performed by a clustering algorithm (Fig. 2). Then the processed data were imported into SIMCA-P software (Umetrics, Umea, Sweden), and multivariate statistical analysis was carried out. Hierarchical cluster analysis (HCA) was used to analyze the metabolite thermograms with the heatmap function in the R package (Fig. 3, 4). The correlation analysis of metabolites was carried out for significance statistical test, and the statistical test method was the COR. TEST function in R language package (Fig. 9, 10). Metabolic pathways were assigned to metabolites based on Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>), and Pathway Activity Profiling (PAPi) was used to compare the relative activities of different metabolic pathways in different groups (Appendix 1, 2). All analyses were performed using the R package. Differential metabolites were screened by One-way ANOVA analysis ($P < 0.05$) and ploidy change Log2 value (fold change > 1.5 or fold change < 0.667) (Fig. 5 - 8). The results showed that there were 36 different metabolites in serum of the high-altitude population compared to the low-altitude population (Fig. 3), among which 32 were up-regulated (citric acid, glucose, cholesterol, et al.) and 4 were down-regulated (N-acetylglutamic acid, decanoic acid, 4-hydroxybutyric acid, et al.). There were 18 metabolites showing significant difference in the high-altitude population compared to the low-altitude population (Fig. 4), among which 10 were up-regulated (malic acid, ribose, glucose, et al.) and 8 were down-regulated (glutamine, glycolic acid, octadecanoic acid, et al.). Compared with the serum metabolic pathways at low-altitude, there were 76 metabolic pathways with significantly different activity scores in high-altitude population (Appendix 1), among which 69 were up-regulated and 7 were down-regulated. There were 75 metabolic pathways with significantly different activity scores in the high-altitude population compared with the low-altitude population (Appendix 2), among which 43 were up-regulated and 32 were down-regulated. All of the above results suggest that *T. belangeri* would adjust the metabolites of different metabolic pathways (including tricarboxylic acid cycle, glycolysis, lipid metabolism and amino acid metabolism) in different tissues to adapt to different environments, and serum is more sensitive to environmental changes than the liver.

Key words: *Tupaia belangeri*; Serum; Liver; Differential metabolites; Metabolic pathways

动物细胞所处内环境稳态发生变化时, 伴随着其代谢物及代谢通路表现出一定的差异, 这主要受生物自身的内部环境以及所处的外部环境影响 (Liao et al. 2018, Sun et al. 2019)。如睡眠剥夺小鼠 (*Mus musculus*) 体内嘧啶代谢、脂类代谢、氨基酸代谢等代谢途径差异显

著 (李鹏翔等 2020)。在生态系统中, 海拔、温度和光照等环境因子对生物生存条件存在重要影响, 会导致生物体内的代谢物变化 (Hou et al. 2020, 彭科等 2020)。如冷适应使黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 代谢产生变化, 包括一些糖、多胺和代谢中间体 (Colinet et al.

2012); 高温环境导致大西洋鲑鱼(*Salmo salar*)的氨基酸中谷氨酰胺、酪氨酸和苯丙氨酸浓度下降以及脂质代谢发生变化(Kullgren et al. 2013); 香格里拉种群(高海拔)大绒鼠(*Eothenomys miletus*)脂肪代谢物胆固醇、硬脂酸和二十二碳六烯酸以及氨基酸代谢物丙氨酸、谷氨酸、甘氨酸、亮氨酸、蛋氨酸和缬氨酸的浓度显著高于昆明种群(低海拔)大绒鼠(Zhang et al. 2019)。

中缅树鼩(*Tupaia belangeri*)属攀鼩目(Scandentia)树鼩科(Tupaiidae), 是攀鼩目在中国的唯一代表(Zhu et al. 2019)。不同的海拔和温度对中缅树鼩表型生理和能量代谢产热方面存在影响(Zhang et al. 2012a, 高文荣 2017), 如冷暴露时中缅树鼩褐色脂肪组织中解偶联蛋白 1 含量极显著增加(Zhang et al. 2012b)。不同海拔地区的树鼩种群在其头骨形态、白齿形态、背毛颜色等方面存在差异, 如海南种群头骨比昆明种群头骨大(朱万龙等 2013, 付家豪等 2018)。不同海拔和温度对中缅树鼩的体重、肥满度、身体组成和消化道形态存在影响, 如片马和腾冲中缅树鼩肝和褐色脂肪组织重量较昆明等低海拔地区的重(朱万龙等 2017, 任晓英等 2019)。以上结果说明, 不同环境条件会对中缅树鼩的体重调节产生影响。代谢组学是在基因组学、蛋白质组学及其他组学之后新兴的多功能学科(Fiehn et al. 2000), 因其提供生命活动的终端信息, 可以反映生物体内所有代谢物的变化, 直观体现生物对所处环境的应答, 成为探究生物对其所处环境适应机制的重要手段(Wang et al. 2006, Ramchandran et al. 2009)。血清中的代谢物能够直观地反映机体的内环境状况(王亚玲等 2016), 而肝是机体内糖类、脂类、氨基酸和维生素等物质合成的主要场所, 同时是主要的产热器官(Cannon et al. 2004), 通过对血清和肝代谢物分析, 可以观察到动物体内代谢情况的变化。本研究室之前的研究表明, 夏季中国不同地区中缅树鼩的血清和肝代谢物存在地

区差异, 但是滇西亚种地区之间没有差异(Hou et al. 2020), 推测可能是因为夏季环境条件较好, 所以代谢物的差异变化不大。考虑到云南省的海拔差异大, 本研究选取了海拔差异较大的两个地点进行采样, 采样时间接近于冬季, 来探究在不同海拔中环境条件较差的时期中缅树鼩血清和肝代谢物是否存在差异? 如果存在, 这些差异代谢物又是如何调节中缅树鼩的能量代谢? 因此本研究采用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometer, GS-MS)联用检测技术对大理(高海拔)和勐腊(低海拔)中缅树鼩的血清和肝进行非靶向代谢组学分析, 探究不同海拔中缅树鼩的血清和肝代谢物是如何变化的, 血清和肝哪个受海拔变化的影响更大。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究所用的中缅树鼩均为成年非繁殖个体, 于 2019 年 10 月分别捕自大理($n = 12$)和勐腊($n = 8$)地区山地低矮灌丛和农田中。大理($24^{\circ}41' \sim 26^{\circ}42' N$, $98^{\circ}52' \sim 99^{\circ}09' E$, 海拔 2 000 ~ 2 200 m)属于低纬度高原季风气候, 年平均气温 20 ~ 23 $^{\circ}C$; 勐腊($21^{\circ}09' \sim 22^{\circ}23' N$, $101^{\circ}05' \sim 101^{\circ}50' E$, 海拔 700 ~ 900 m), 属于北热带湿润季风气候, 年平均气温 14 ~ 17 $^{\circ}C$ 。

1.2 制备待测样本

两个地区中缅树鼩捕获后带回当地防疫站, 灭蚤处理后用离心管于腹股沟取血, 置于 4 $^{\circ}C$ 冰箱; 解剖动物取出肝放入冻存管中, 置于超低温冰箱(-80 $^{\circ}C$)保存备用。然后将静置后的血液 4 000 r/min 离心 30 min, 将上清液移入冻存管中, 超低温冰箱(-80 $^{\circ}C$)保存备用。采用气相色谱-质谱联用技术对血清和肝样本进行非靶向代谢组学测定(Zhang et al. 2019)。

1.3 气相色谱-质谱检测

参考文献(高文荣 2017)方法对肝和血清进行预处理, 得到待测样本。参照文献(Zhang

et al. 2019) 将血清和肝待测样本加入检测瓶中, 使用 Agilent 7890A/5975C 气-质联用仪(安捷伦, 美国) 进行气相色谱-质谱分析, 避免系统误差, 所有样本同一批上机检测。

1.4 数据处理

利用 R 语言包(v3.3.2)的 XCMS 程序(www.bioconductor.org/) 对 Agilent 7890A/5975C 气相色谱-质谱联用仪检测获得的原始文件进行数据预处理。首先从 Agilent MSD Chem Station 工作站获得原始气相色谱-质谱数据, 转换成通用数据文件格式(common data format, CDF)。然后利用 XCMS 程序进行峰识别、峰过滤、峰对齐, 逐一考察及优化各个参数, 并通过手动提取任意质量色谱峰来验证结果的准确性, 最终确定了 XCMS 的各个参数。为了进行多元线性回归分析, XCMS 的最终结果导出至 Excel 进行进一步的分析。

使用学生 *T* 检验概率值($P < 0.05$)和倍性变化的对数转换(\log_2)值超过 1.5 或者小于 0.667 对差异代谢物进行筛选。代谢物关联分析采用皮尔逊相关系数(Pearson correlation coefficient)分析各个代谢物间的相关性, 计算方法为 R 语言包中的 `cor.test` 函数, 同时进行代谢物关联分析的显著性统计检验, 统计检验方法为 R 语言包中的 `cor.test` 函数, 并对 *P* 值进行假阳性校验, 采用伪发现率(false discovery rate, FDR) $P \leq 0.05$ 为显著相关。

代谢通路构建中, 代谢物之间的关系是基于京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>) 代谢通路。一维方差分析(one-way ANOVA)用于判断不同组别之间相对含量的显著性差异。代谢途径活性得分(pathway activity profiling, PAPI)用于预测和比较不同过程中不同代谢通路的相对活性(relative activity)。在整个分析过程中, 数据归一化、代谢途径活性得分和相关统计分析利用 R 语言包计算。

2 结果

2.1 总离子流色谱图

采用气相色谱-质谱法对样本检测分析, 将中缅树鼩血清样本和肝样本进行质谱检测, 得出总离子流色谱图, 样本间的物质峰存在较大差异(图 1)。根据已有数据库和标准品, 血清中有 98 个物质获得了注释, 肝中有 91 个物质获得了注释。主要有氨基酸、脂肪酸、核苷酸、有机酸、糖和其他类型的代谢物。

2.2 树状图分析

对两个地区所有样本的血清和肝代谢物进行树状图分析, 大理种群和勐腊种群有不同程度的混合, 样本组间分离较远, 组内较多聚在一起(图 2)。

2.3 差异代谢物统计分析

中缅树鼩大理种群和勐腊种群血清差异代谢物热图(图 3)显示, 两种群相比, 存在差异的代谢物一共有 36 种, 其中, 大理种群较勐腊种群有 32 种差异代谢物的浓度上调, 包括乳酸、谷氨酰胺、柠檬酸、甘油-3-磷酸、天冬氨酸、脯氨酸、甘油、赖氨酸、组氨酸、苹果酸、葡萄糖、9-(Z)-硬脂酸、肌醇、琥珀酸、丙氨酸、蔗糖、半胱氨酸、戊二酸、奎尼酸、核糖酸、S-甲基-半胱氨酸、肌醇-1-磷酸、甘露醇、腐胺、维生素 E (α -生育酚)、胆固醇、甲硫氨酸、酪氨酸、丝氨酸、海藻糖、葡萄糖、色氨酸, 4 种差异代谢物的浓度下调, 包括 N-乙酰谷氨酸、葵酸、庚酸和对羟基苯甲酸。

中缅树鼩大理种群和勐腊种群肝差异代谢物热图(图 4)显示, 中缅树鼩大理种群和勐腊种群相比的差异代谢物一共有 18 种, 其中大理种群较勐腊种群有 10 种差异代谢物的浓度上调, 包括单甲磷酸、富马酸、苹果酸、奎尼酸、戊酸-1,4-内酯、核糖、葡萄糖、苏氨酸、半乳糖、酪氨酸, 8 中差异代谢物浓度下调, 包括谷氨酰胺、花生四希酸、甘油-3-磷酸、己二酸、甘油酸-3-磷酸、乙醇酸、9-(Z)-十六烯酸、硬脂酸。

血清中三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA) 中间产物, 与中缅树鼩勐腊种群相比, 大理种群血清中的苹果酸、琥珀酸、柠檬酸 3 种物质的浓度显著上调 (图 5), 大理种群肝中的糖酵解中间产物葡萄糖、葡萄糖-6-磷酸、果糖、果糖-6-磷酸、半乳糖 5 种物质的浓

度显著上调 (图 6)。

与中缅树鼩勐腊种群相比, 大理种群肝中的脂肪代谢中间产物甘油、维生素 E (α -生育酚) 和胆固醇浓度显著上调 (图 7), 肝中的氨基酸代谢中间产物半胱氨酸、赖氨酸、脯氨酸和丝氨酸浓度显著上调 (图 8)。

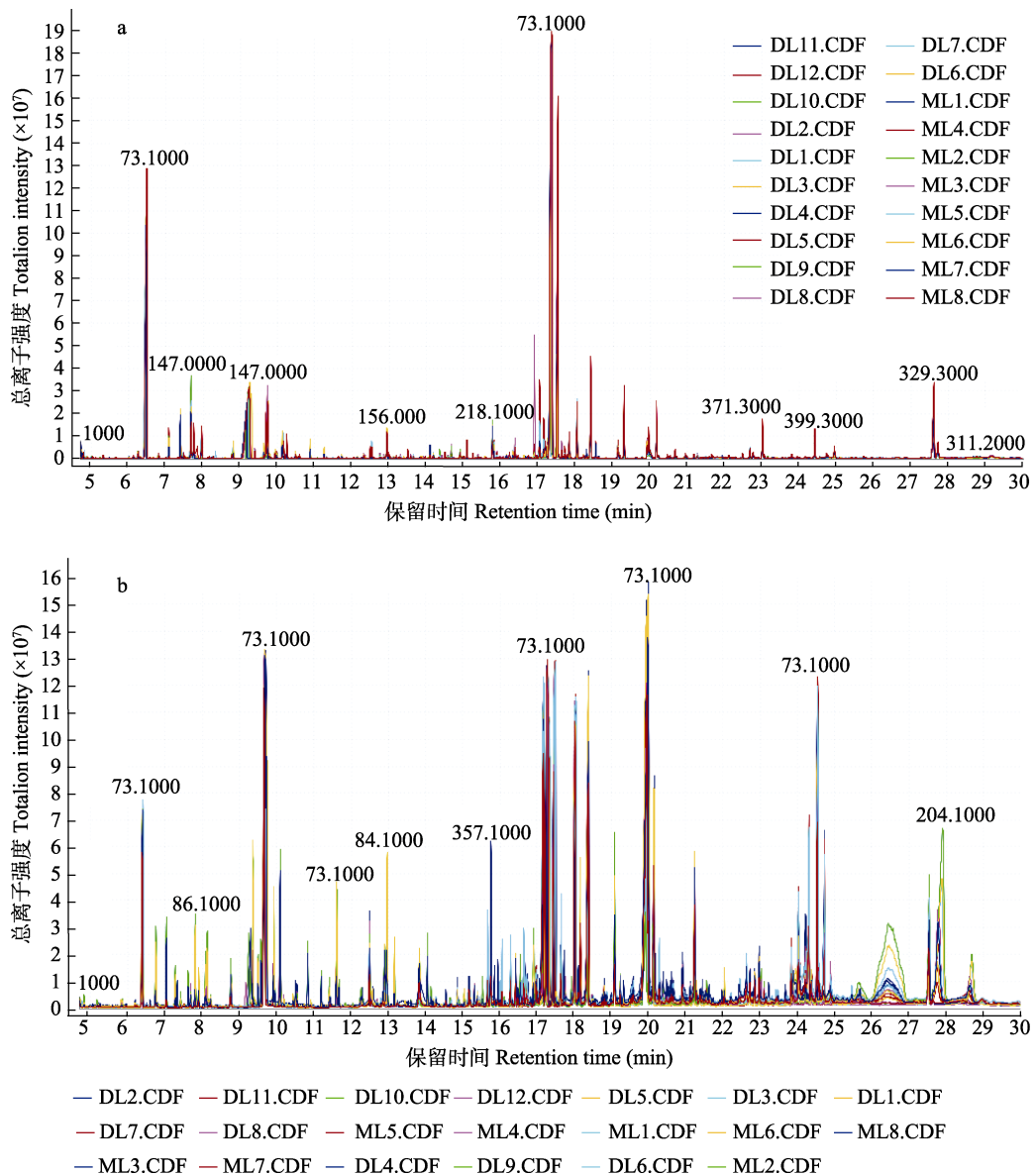


图 1 中缅树鼩血清 (a) 和肝 (b) 总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion flow chromatograms of sSerum (a) and liver (b) in the *Tupaia belangeri*

DL. 大理; ML. 勐腊; CDF. 通用数据文件格式数据。

DL. Dali; ML. Mengla; CDF. Common data format.

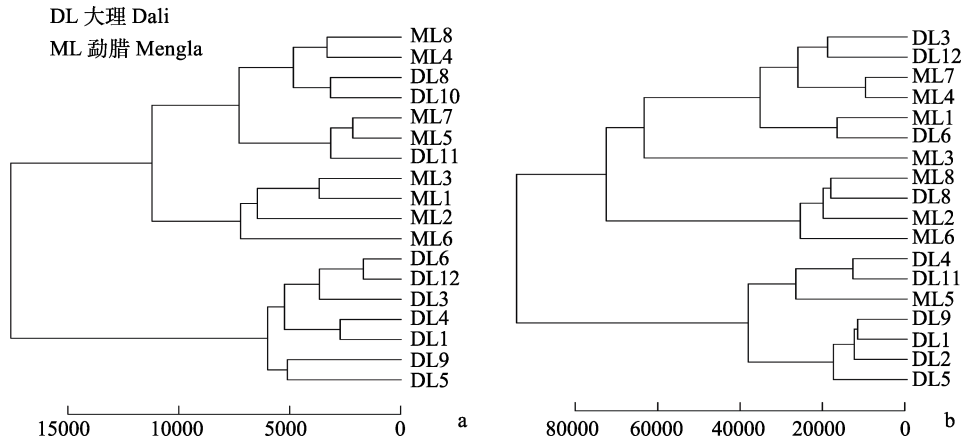


图 2 中缅树鼩血清代谢物树状图 (a) 和肝代谢物树状图 (b)

Fig. 2 Serum metabolite tree (a) and liver metabolite tree (b) of *Tupaia belangeri*

数字序号为样品编号；下方数字标尺表示差异数值。

Serial number is the sample number, and the number ruler below indicates the difference value.

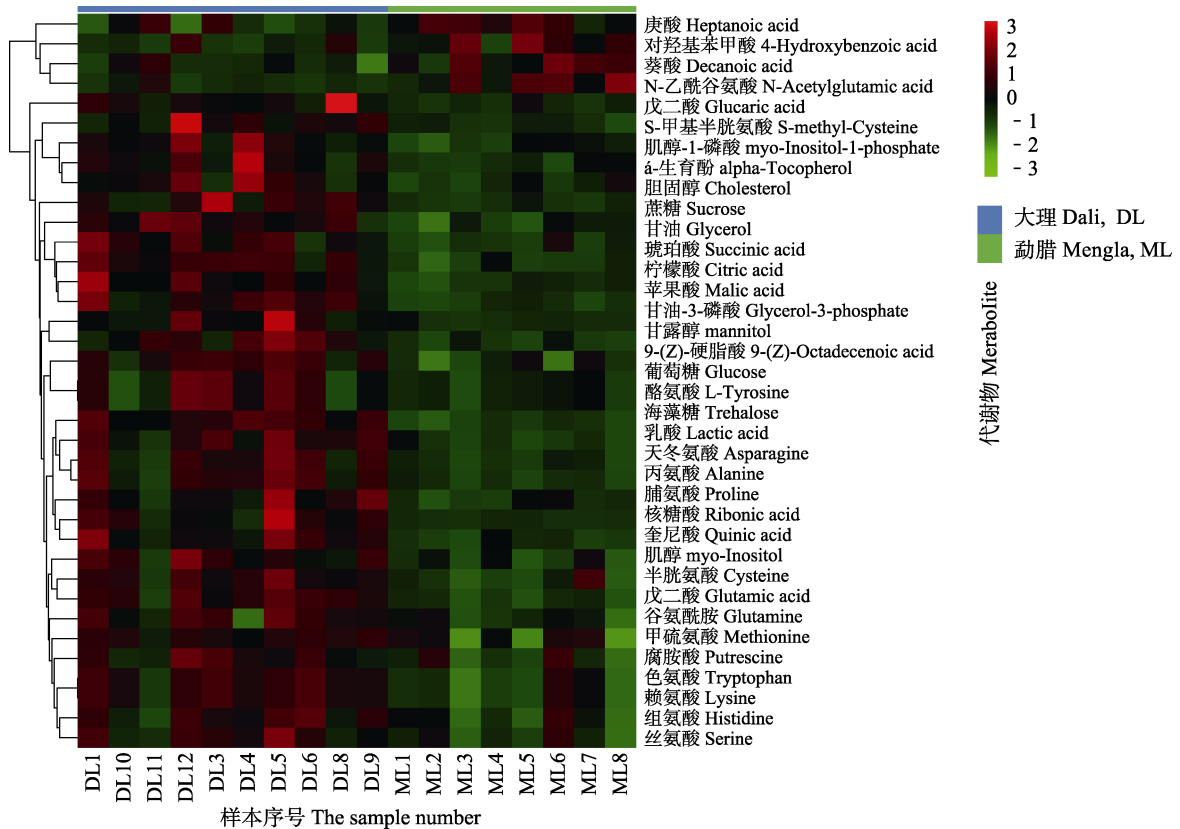


图 3 中缅树鼩血清差异代谢物热图

Fig. 3 The serum metabolite heat diagram of *Tupaia belangeri*

颜色深浅表示代谢物在各组中的量的高低，红色表示量高，绿色表示量低。

Metabolites and populations two-way clustering heat maps, color depth represents the content, green represents high content, red represents low content. DL. Dali; ML. Mengla.

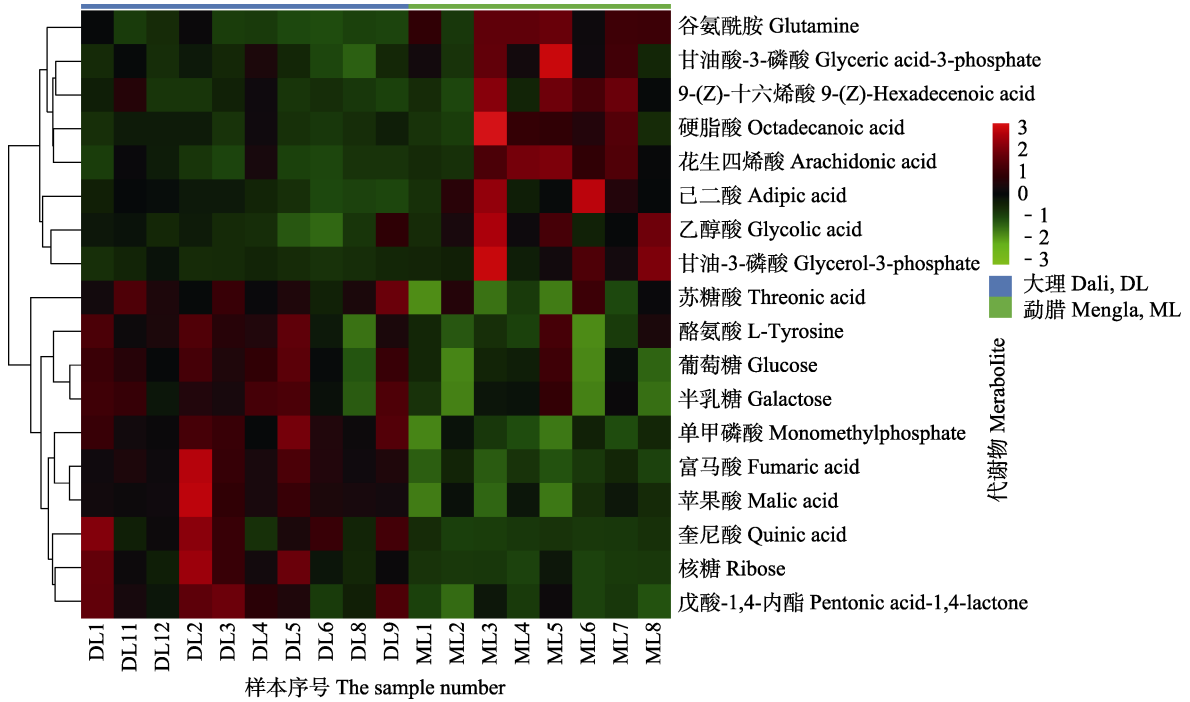


图 4 中缅树鼩肝差异代谢物热图

Fig. 4 The liver metabolic heat diagram of *Tupaia belangeri*

颜色深浅表示代谢物在各组中的量的高低，红色表示量高，绿色表示量低。

Metabolites and populations two-way clustering heat maps, color depth represents the content, green represents high content, red represents low content. DL. Dali; ML. Mengla.

2.4 差异代谢物关联性分析

对中缅树鼩大理种群和勐腊种群的血清和肝代谢物进行关联性分析，血清代谢物中部分糖酵解代谢物与氨基酸代谢物呈负相关（图 9）；肝代谢物中部分糖酵解代谢物和三羧酸循环代谢物呈负相关（图 10）；血清和肝代谢物

中相同种类的代谢物均呈正相关。

2.5 差异代谢通路分析

大理种群和勐腊种群相比，血清代谢通路图显示，一共有 76 条代谢通路活性得分差异显著（附录 1），主要涉及氨基酸代谢、其他次生代谢物的生物合成、碳水化合物代谢、能量代

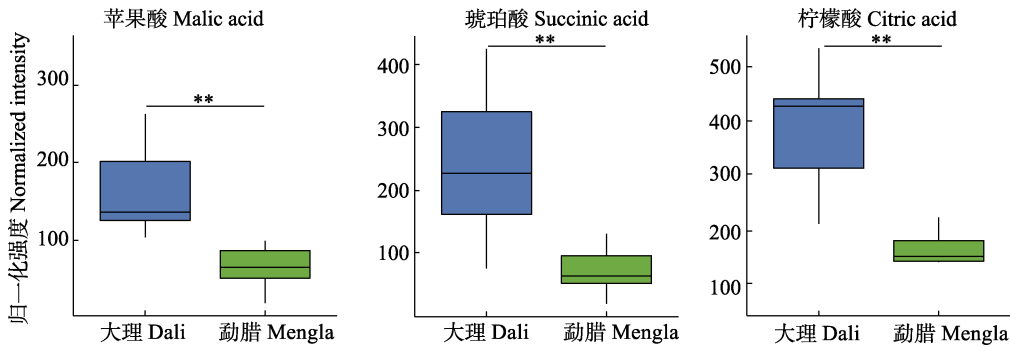


图 5 中缅树鼩血清中三羧酸循环中间产物箱式图

Fig. 5 The TCA cycle intermediates box figure in serum of *Tupaia belangeri*

** $P < 0.01$

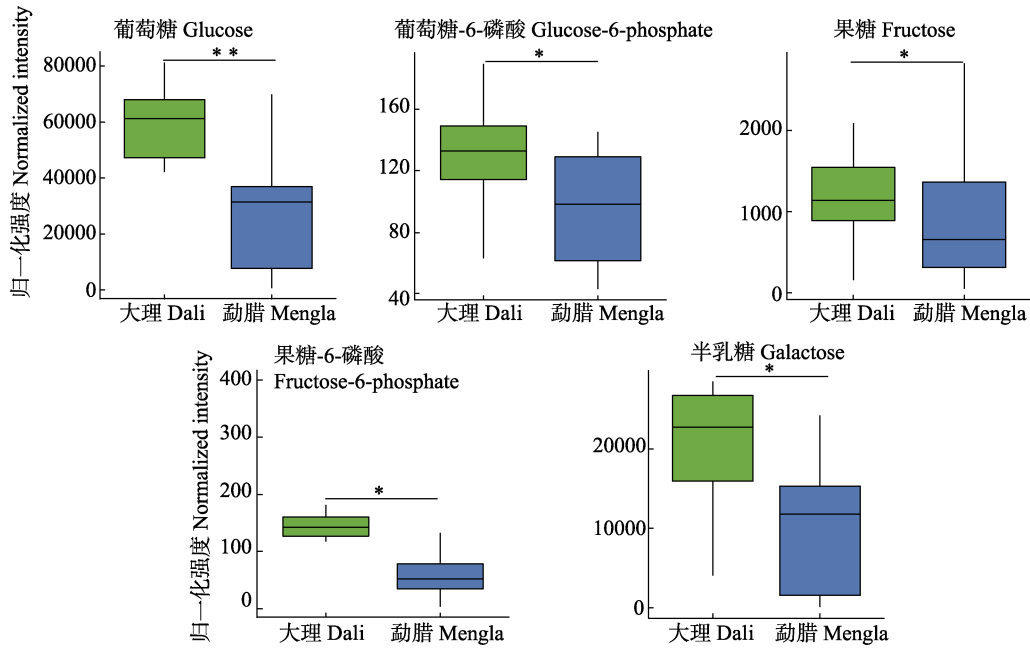


图 6 中缅树鼩肝中糖酵解代谢物箱式图

Fig. 6 The glycolysis metabolites box figure in liver of *Tupaia belangeri*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

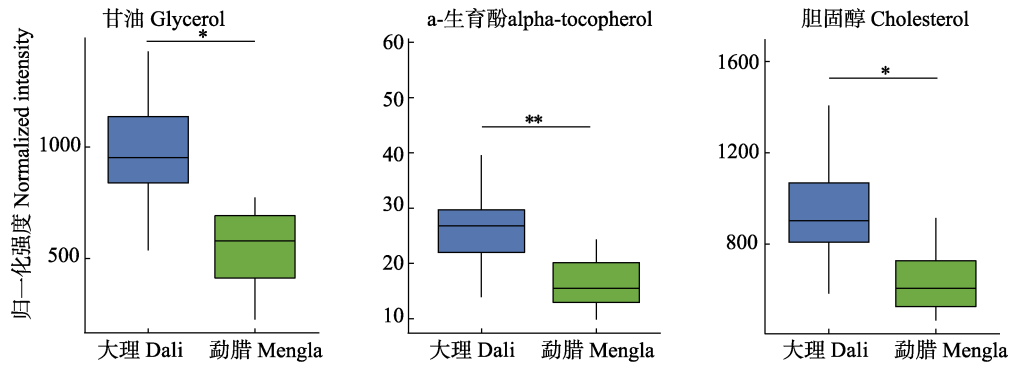


图 7 中缅树鼩血清中脂肪代谢物箱式图

Fig. 7 The lipid metabolites box figure in serum of *Tupaia belangeri*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

谢、脂类代谢、辅助因子和维生素代谢、其他氨基酸代谢和核苷酸代谢，其中，69 条活性得分上调，如三羧酸循环、糖代谢、甘油磷酸酯代谢、嘌呤代谢等，7 条活性得分下调，如丙酮酸代谢、嘧啶代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解等。

大理种群和勐腊种群相比，肝代谢通路图

显示，一共有 75 条代谢通路活性得分差异显著（附录 2），主要涉及氨基酸代谢、其他次生代谢物的生物合成、碳水化合物代谢、能量代谢、脂类代谢、辅助因子和维生素代谢、其他氨基酸代谢和核苷酸代谢，其中有 43 条活性得分上调，如精氨酸和脯氨酸代谢、三羧酸循环、氧化磷酸化等，32 条活性得分下调，如淀粉和蔗

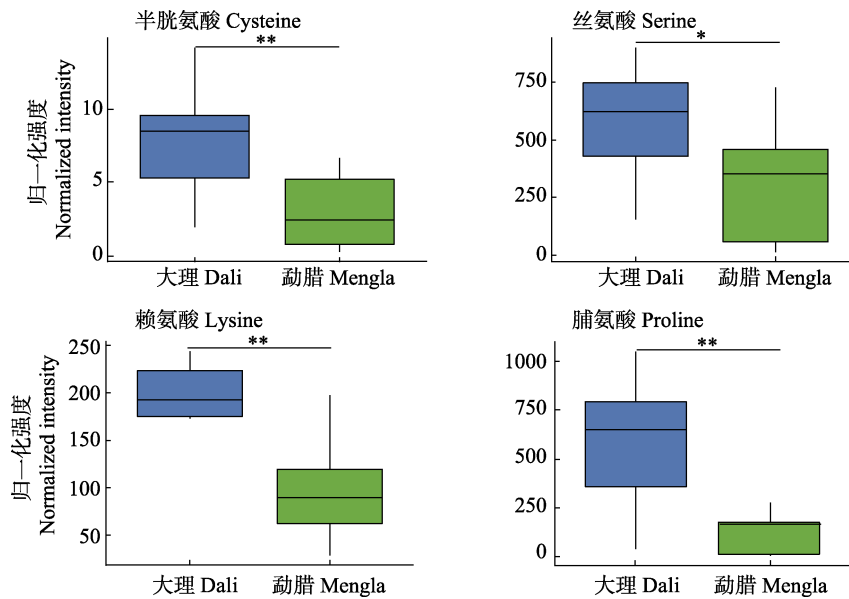


图 8 中缅树鼩血清中氨基酸代谢物箱式图

Fig. 8 The amino acid metabolites box figure in serum of *Tupaia belangeri*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

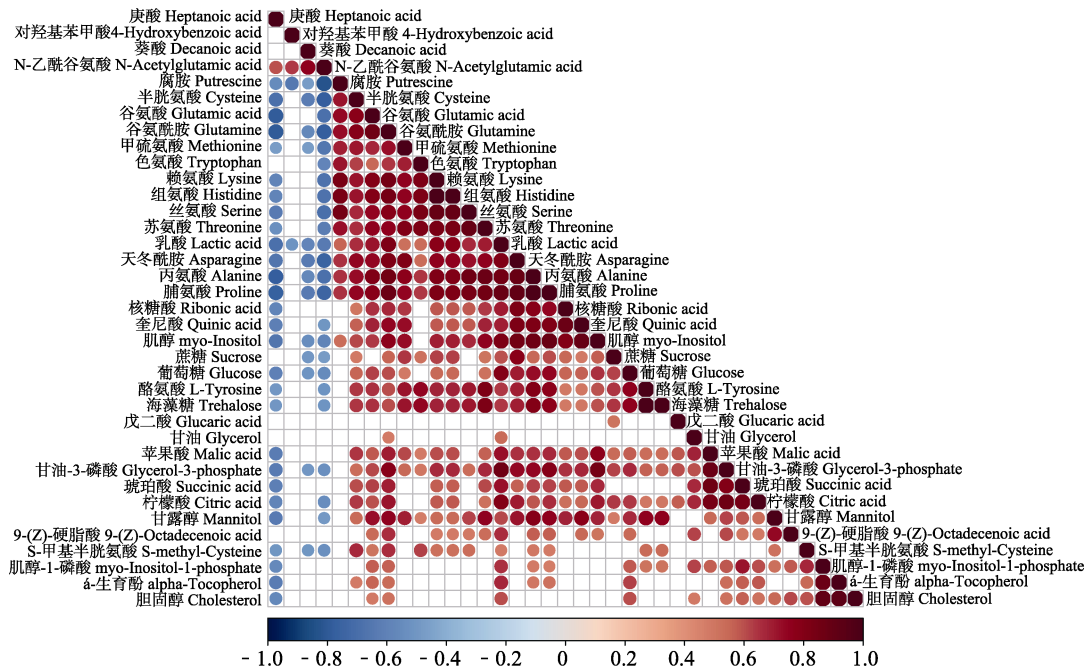


图 9 中缅树鼩血清代谢物关联图

Fig. 9 Serum metabolites correlation diagram of *Tupaia belangeri*

1 表示完全正相关（红色），-1 表示完全负相关（蓝色），空白部分为相关性统计检验 $P > 0.05$ ，有颜色标记部分为相关性统计检验 $P < 0.05$ 。
 1 represents complete positive correlation (red), -1 represents completely negative correlation (blue), blank part for correlation statistical test $P > 0.05$, color mark part for correlation statistical test $P < 0.05$.

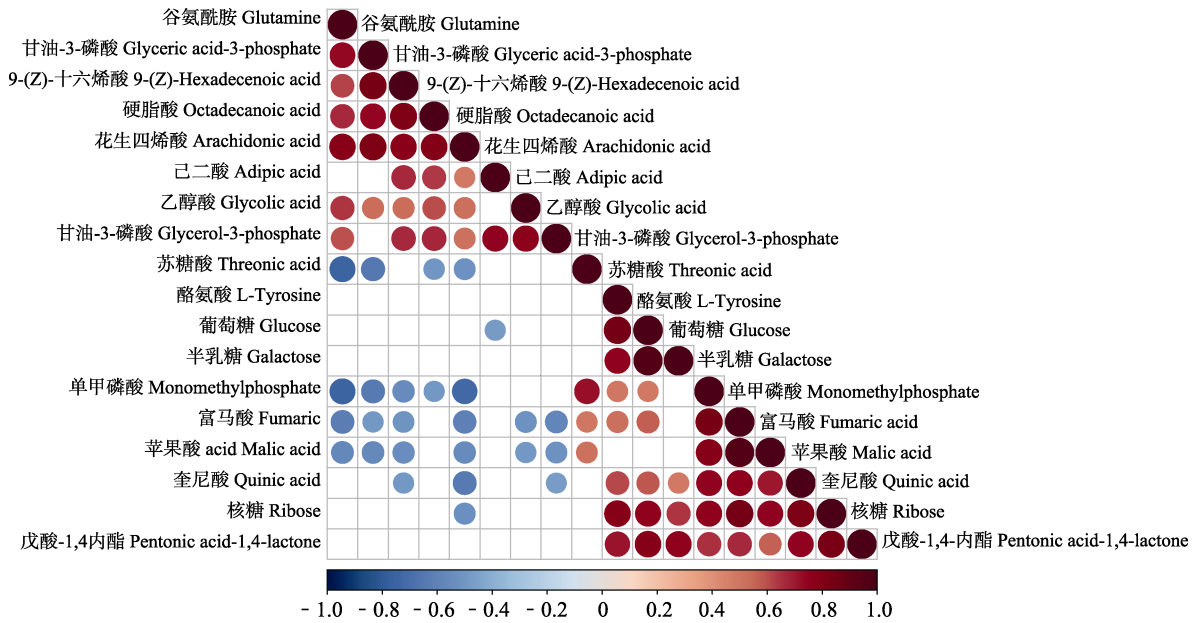


图 10 中缅树鼩肝代谢物关联图

Fig. 10 Liver metabolites correlation diagram of *Tupaia belangeri*

1 表示完全正相关(红色), -1 表示完全负相关(蓝色), 空白部分为相关性统计检验 P 值 > 0.05 , 有颜色标记部分为相关性统计检验 $P < 0.05$.
1 represents complete positive correlation (red), -1 represents completely negative correlation (blue), blank part for correlation statistical test P values > 0.05 , color mark part for correlation statistical test $P < 0.05$.

糖代谢、谷氨酰胺和谷氨酸代谢、嘌呤代谢等。

3 讨论

三羧酸循环是机体获取能量生物关键 (Das 2006)。褐家鼠 (*Rattus norvegicus*) 在模拟适应高海拔环境时, 三羧酸循环中间代谢物增加 (Koundal et al. 2015)。高海拔种群大绒鼠肝代谢物中三羧酸循环代谢物浓度高于低海拔种群 (Zhang et al. 2019)。在低温环境下动物由糖代谢供能, 逐渐转变为脂肪产热 (Morash et al. 2013)。人类在低温高海拔环境下磷脂和脂肪酸浓度增加 (Smith et al. 2011)。大绒鼠在低温环境下血清中脂类代谢物和氨基酸代谢物浓度显著升高 (Zhang et al. 2019)。冷应激导致鱼体细胞中脂肪酸组成发生改变, 饱和脂肪酸比例显著下降, 亚油酸、油酸、花生四烯酸等主要不饱和脂肪酸比例显著升高 (许友卿等 2017)。糖类是最主要的能源物质, 大绒

鼠在低温环境下体内的糖酵解中间物质降低可能与消耗大量糖类物质提供能量有关 (Zhang et al. 2019)。以上结果表明, 不同环境不同代谢通路中的物质变化会影响动物的生存。

本研究大理和勐腊两个中缅树鼩种群, 血清和肝相比, 差异显著的代谢物中甘油-3-磷酸、甘油酸、胆固醇、硬脂酸、亚油酸是细胞内线粒体 β 氧化的产物, 主要参与甘油酯代谢、脂肪酸代谢、甘油磷酸酯代谢、亚油酸代谢等脂类代谢途径, 涉及脂类的代谢物相对含量上调可能导致代谢通路活性升高, 从而增加机体产热, 维持在高海拔低温环境下生存所需的能量 (孟昶等 2019)。线粒体 β 氧化是细胞内糖类物质、脂肪酸、氨基酸等营养物质通过三羧酸循环和内膜的电子传递链产生腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine-triphosphate, ATP) 和 ATP 转移的主要途径, 为细胞生命活动提供能量 (Manford et al. 2020, Prasad et al. 2020)。本

研究中,中缅树鼩大理种群与勐腊种群比较中, β 氧化中间产物海藻糖、葡萄糖等物质浓度显著升高,及其涉及的糖代谢、乙醛酸和二羧酸代谢的代谢通路活性得分升高可能与不同环境下中缅树鼩的能量消耗不同有关,大理种群需要消耗更多能量维持体温。苹果酸、柠檬酸、琥珀酸等三羧酸循环的中间产物也存在显著差异,以上代谢物可直接参与细胞的能量、结构和酶促反应,供能途径比葡萄糖短(Huang et al. 2018)。三羧酸循环还是糖、脂肪、某些氨基酸相互转变代谢的桥梁,也可以在其中产生某些物质合成的前体(Grzywa et al. 2020),在三羧酸循环中能源物质被彻底氧化分解生成 ATP,能量利用率高(Huang et al. 2018)。同时,三羧酸循环的另一个重要的生理意义,在于可以为其他的合成代谢途径提供小分子前体(Romani et al. 2019),如许多氨基酸可以通过糖异生而生产糖,也可以在其中产生其他物质合成的前体(Grzywa et al. 2020)。本研究中苹果酸、柠檬酸、琥珀酸涉及三羧酸循环的代谢物含量升高及所涉及的代谢通路活性升高可能与为其他反应提供反应底物有关。

葡萄糖是活细胞的能量来源和中间产物,本研究中大理种群葡萄糖、乳酸、蔗糖、海藻糖、半乳糖、丙酮酸直接或间接参与糖酵解途径、淀粉和蔗糖代谢途径、糖异生途径、戊糖和葡萄糖酸盐相互转化途径的代谢物含量上升,可能与为中缅树鼩生命活动提供能量有关(Ma et al. 2020)。糖酵解是糖类物质有氧氧化的前段过程,其中间代谢物是脂类、氨基酸等物质的合成前体(Lee et al. 2020),如在本研究中大理种群参与氨基酸代谢途径中显著升高的奎尼酸是苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸等芳香族氨基酸生物合成的前体(El-Nakhel et al. 2020);苯丙氨酸在生物体内可被转化为酪氨酸,也是生产肾上腺素、甲状腺素和黑色素的原料(许凯等 2019),可能与中缅树鼩从激素水平调节体温提供保障有关;酪氨酸是苯丙氨酸的代谢产物,并可被氧化成延胡索酸和乙酰

乙酸进入三羧酸循环(Fu et al. 2019),可能为中缅树鼩适应低温环境提供能量;色氨酸可参与动物体内血浆蛋白质的更新,并可促使核黄素发挥作用,还有助于烟酸及血红素的合成(高向阳等 2012),可能与为中缅树鼩提供能量维持体温有关。蛋白质、氨基酸等物质的严格质量控制是确保细胞稳态所必须的(Prasad et al. 2020),选择性降解蛋白质氨基酸等物质对细胞生理平衡很重要,其主要涉及的代谢为辅助因子和维生素代谢(Heunis et al. 2020),在本研究中大理种群辅助因子和维生素代谢活性的升高可能与体内的代谢调节有关。本研究中高海拔低温环境下中缅树鼩的糖酵解中间产物、脂类代谢中间产物、氨基酸代谢中间产物均增加,支持 Zhang 等(2012c)对冷驯化条件下中缅树鼩研究所得结果,即在面对冷环境时中缅树鼩体重、代谢率和摄食量增加。

综上所述,海拔和温度可能是影响两个地区中缅树鼩代谢产物差异的主要环境因素,海拔和温度可能引起中缅树鼩体内的生理性调节或者反应。面对不同的环境,中缅树鼩会调节不同组织中不同代谢通路的代谢物含量来适应环境。此外,血清比肝对环境变化更敏感,更适合用于研究中缅树鼩在不同环境中的适应机制。

参 考 文 献

- Cannon B, Nedergaard J. 2004. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews*, 84(1): 277–359.
- Colinet H, Larvor V, Lapiere M, et al. 2012. Exploring the plastic response to cold acclimation through metabolomics. *Functional Ecology*, 26(3): 711–722.
- Das U N. 2006. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnology Journal*, 1(4): 420–439.
- El-Nakhel C, Pannico A, Graziani G, et al. 2020. Variation in macronutrient content, phytochemical constitution and in vitro antioxidant capacity of green and red butterhead lettuce dictated by different developmental stages of harvest maturity. *Antioxidants*, 9(4): 300–320.

- Fiehn O, Kopka J, Peter D, et al. 2000. Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature Biotechnology*, 18(11): 1157–1161.
- Fu J, Hu J A. 2019. Progress in study on the role of metabolomics in toxic effects of environmental pollutants and the underlying mechanism. *Medical Sciences*, 44(6): 692–700.
- Grzywa T M, Sosnowska A, Matryba P, et al. 2020. Myeloid cell-derived arginase in cancer immune response. *Frontiers in Immunology*, 11(1): 938–962.
- Heunis T, Lamoliatte F, Marín-rubio J L, et al. 2020. Technical report: Targeted proteomic analysis reveals enrichment of atypical ubiquitin chains in contractile murine tissues. *Journal of Proteomics*, 229(20): 103963.
- Hou D M, Jia T, Zhang D, et al. 2020. Metabolomics on serum levels and liver of male *Tupaia belangeri* from 12 locations in China by GC-MS. *Biotechnology letters*, 42(12): 2561–2567.
- Huang Y W, Jin Y X, Bao X, et al. 2018. UPLC-MS/MS simultaneous determination of citrate, succinate, fumarate, lactate and pyruvate in rat plasma and its application. *Strait Pharmaceutical Journal*, 37(8): 1627–1631.
- Koundal S, Gandhi S, Kaur T, et al. 2015. “Omics” of high altitude biology: a urinary metabolomics biomarker study of rats under hypobaric hypoxia. *Omics A Journal of Integrative Biology*, 19(12): 757–765.
- Kullgren A, Jutfelt F, Fontanillas R, et al. 2013. The impact of temperature on the metabolome and endocrine metabolic signals in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 164(1): 44–53.
- Lee H S, Akimoto T, Kim A R. 2020. Effects of trunk extensor eccentric exercise on lipid profile and glycaemic response. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*, 6(1): e000861.
- Liao W T, Liu J, Zhou S M, et al. 2018. UHPLC-QTOFMS-based metabolomic analysis of the hippocampus in hypoxia preconditioned mouse. *Frontiers in Physiology*, 9(2): 1950–1961.
- Ma D, Chon S, Cho S, et al. 2020. A novel photolithographic method for fabrication of flexible micro-patterned glucose sensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 876(20): 114720.
- Manford A G, Rodríguez-Pérez F, Shih K Y, et al. 2020. A cellular mechanism to detect and alleviate reductive stress. *Cell*, 183(1): 46–61.
- Morash A J, Kotwica A O, Murray A J. 2013. Tissue-specific changes in fatty acid oxidation in hypoxic heart and skeletal muscle. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 305(5): 534–541.
- Prasad S, Inbar D, Jonathan R, et al. 2020. Inhibition of proteasome reveals basal mitochondrial ubiquitination. *Journal of Proteomics*, 229(20): 103949.
- Ramchandran L, Shah N P. 2009. Effect of exopolysaccharides on the proteolytic and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activities and textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 92(3): 895–906.
- Romani M, Hofer D C, Katsyuba E, et al. 2019. Niacin: an old lipid drug in a new NAD⁺ dress. *Journal of Lipid Research*, 60(4): 741–746.
- Smith J D, Cianflone K, Martin J, et al. 2011. Plasma adipokine and hormone changes in mountaineers on ascent to 5300 meters. *Wilderness & Environmental Medicine*, 22(2): 107–114.
- Sun Y, Zhu Y, Zhong X, et al. 2019. Crosstalk between autophagy and cerebral ischemia. *Frontiers in Neuroscience*, 12(1): 1022–1029.
- Wang Q Z, Wu C Y, Chen T, et al. 2006. Integrating metabolomics into systems biology framework to exploit metabolic complexity: strategies and applications in microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 70(2): 151–161.
- Zhang H J, Wang Z K, Zhu W L. 2019. Metabolomics of *Eothenomys miletus* from five Hengduan mountains locations in summer. *Scientific Reports*, 9(1): 14924.
- Zhang L, Liu P F, Zhu W L, et al. 2012b. Variations in thermal physiology and energetics of the tree shrew (*Tupaia belangeri*) in response to cold acclimation. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(1): 167–176.
- Zhang L, Zhang H, Zhu W L, et al. 2012c. Energy metabolism, thermogenesis and body mass regulation in tree shrew (*Tupaia belangeri*) during subsequent cold and warm acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 162(4): 437–442.
- Zhang L, Zhu W L, Wang Z K. 2012a. Role of photoperiod on hormone concentrations and adaptive capacity in tree shrews, *Tupaia belangeri*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 163(3/4): 253–259.

- Zhu W L, Ren X Y, Hou D M, et al. 2019. Analysis of volatile chemical substances in urine of the kinship and non-kinship *Tupaia belangeri* (Mammalia: Scandentia: Tupaiidae). *Indian Journal of Animal Research*, 53(3): 311–320.
- 付家豪, 何一帆, 朱万龙, 等. 2018. 不同地理种群中缅树鼩 MC1R 基因的差异性研究. *生物学杂志*, 35(1): 52–55+59.
- 高文荣. 2017. 中缅树鼩 (*Tupaia belangeri*) 种群分化及生态适应的研究. 昆明: 云南师范大学博士学位论文, 39–57.
- 高向阳, 张凯歌, 孔欣欣, 游新侠. 2012. 分子荧光法分别测定 4 种野生可食植物中的色氨酸和酪氨酸. *食品科学*, 33(22): 231–234.
- 李鹏翔, 胡爽, 张榕, 魏守刚. 2020. 睡眠剥夺小鼠肝脏代谢稳态变化的代谢组学分析. *现代预防医学*, 47(4): 702–706.
- 孟昶, 朱磊. 2019. 低氧运动调节脂代谢的研究进展. *湖北体育科技*, 38(2): 136–138.
- 彭科, 陈旭, 张宣, 等. 2020. 四川白水河自然保护区大熊猫主食竹种群特征及其影响因素. *四川林业科技*, 41(5): 94–104.
- 任晓英, 高文荣, 王政昆, 等. 2019. 中缅树鼩肥满度、身体组成和消化道形态的比较. *科学技术与工程*, 19(17): 121–127.
- 王亚玲, 韩智慧, 郑凌云, 等. 2016. 红景天对慢性冷应激大鼠模型血浆和尿液代谢组的影响. *中药新药与临床药理*, 27(1): 75–80.
- 许凯, 毕晶晶, 张继昊. 2019. 天然非蛋白氨基酸的生物活性机制研究进展. *食品科学*, 40(21): 251–259.
- 许友卿, 郑一民, 丁兆坤. 2017. 冷应激对水生动物代谢的影响及调控研究进展. *中国水产科学*, 24(5): 1149–1159.
- 朱万龙, 陈金龙, 蔡金红, 等. 2017. 不同光照条件下下丘脑神经肽基因表达量对中缅树鼩体重调节的影响. *生物学杂志*, 34(1): 39–43.
- 朱万龙, 贾婷, 黄春梅, 等. 2013. 云南、贵州和广西地区中缅树鼩头骨及下臼齿几何形态研究分析. *生态学报*, 33(6): 1721–1730.

附录 1 中缅树鼩血清代谢通路

Appendix 1 Serum metabolic pathway of *Tupaia belangeri*

代谢通路 Pathway	活性得分 $\log_2(\text{AS fold change})$	代谢分类 Pathway classification
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解 Valine, leucine and isoleucine degradation	- 0.739 027 968	
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成 Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	1.294 645 130	
酪氨酸代谢 Tyrosine metabolism	0.792 148 651	
色氨酸代谢 Tryptophan metabolism		
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成 Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	2.516 743 620	
苯丙氨酸代谢 Phenylalanine metabolism	0.918 135 367	
赖氨酸降解 Lysine degradation	1.239 475 184	氨基酸代谢 Amino acid metabolism
赖氨酸生物合成 Lysine biosynthesis	0.923 630 631	
组氨酸代谢 Histidine metabolism	0.925 114 752	
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 Glycine, serine and threonine metabolism	0.987 962 311	
半胱氨酸和蛋氨酸代谢 Cysteine and methionine metabolism	0.998 027 962	
精氨酸和脯氨酸代谢 Arginine and proline metabolism	0.986 027 962	
丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	0.475 486 877	

续附录 1

代谢通路 Pathway	活性得分 $\log_2(\text{AS fold change})$	代谢分类 Pathway classification
莨菪烷、哌啶和吡啶生物碱的生物合成 Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	1.392 420 346	
链霉素生物合成 Streptomycin biosynthesis	0.854 730 189	
嘌呤霉素生物合成 Puromycin biosynthesis	1.354 022 194	
苯丙素生物合成 Phenylpropanoid biosynthesis	- 0.095 449 930	
青霉素和头孢菌素的生物合成 Penicillin and cephalosporin biosynthesis	2.531 281 605	其他次生代谢 产物的生物合成
新生霉素生物合成 Novobiocin biosynthesis	0.854 730 189	Biosynthesis of other secondary metabolites
异喹啉生物碱生物合成 Isoquinoline alkaloid biosynthesis	1.036 186 757	
吲哚生物碱生物合成 Indole alkaloid biosynthesis	0.987 962 311	
芥子油苷生物合成 Glucosinolate biosynthesis	1.144 029 424	
布替洛辛和新霉素的生物合成 Butirosin and neomycin biosynthesis	0.988 099 578	
糖类生物合成 Biosynthesis of phenylpropanoids	1.012 956 674	
贝塔兰生物合成 Betalain biosynthesis	0.911 4232 37	
淀粉和蔗糖代谢 Starch and sucrose metabolism	0.854 730 189	
丙酮酸代谢 Pyruvate metabolism	- 0.445 853 539	
丙酸酯代谢 Propanoate metabolism	0.854 730 189	
磷酸戊糖途径 Pentose phosphate pathway	1.309 224 930	
戊糖和葡萄糖酸酯的相互转化 Pentose and glucuronate interconversions	0.987 164 107	
磷酸肌醇代谢 Inositol phosphate metabolism	0.703 620 000	
乙醛酸和二羧酸代谢 Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	1.312 694 134	
糖酵解/糖异生 Glycolysis / Gluconeogenesis	0.987 962 311	碳水化合物代谢 Carbohydrate metabolism
半乳糖代谢 Galactose metabolism	0.987 962 311	
果糖和甘露糖代谢 Fructose and mannose metabolism	1.233 931 086	
柠檬酸循环 Citrate cycle (TCA cycle)	0.987 962 311	
C5-支化二元酸代谢 C5-Branched dibasic acid metabolism	0.987 298 894	
丁酸代谢 Butanoate metabolism	1.141 972 680	
抗坏血酸和醛酸代谢 Ascorbate and aldarate metabolism	0.881 936 667	
氨基糖和核苷酸糖代谢 Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	1.002 748 961	
硫代谢 Sulfur metabolism	0.854 730 189	
光合作用 Photosynthesis	2.152 585 869	
氧化磷酸化 Oxidative phosphorylation	1.142 452 083	
氮代谢 Nitrogen metabolism	1.342 452 083	能量代谢 Energy metabolism
甲烷代谢 Methane metabolism	1.038 885 754	
原核生物的碳固定途径 Carbon fixation pathways in prokaryotes	0.884 758 582	
光合生物的碳固定 Carbon fixation in photosynthetic organisms	0.922 753 305	
甾类激素生物合成 Steroid hormone biosynthesis	1.933 839 987	
类固醇生物合成 Steroid biosynthesis	- 0.070 587 153	脂质代谢 Lipid metabolism
鞘脂类代谢 Sphingolipid metabolism	2.052 585 869	
初级胆汁酸的生物合成 Primary bile acid biosynthesis	0.854 730 189	

续附录 1

代谢通路 Pathway	活性得分 log ₂ (AS fold change)	代谢分类 Pathway classification
亚油酸代谢 Linoleic acid metabolism	1.342 452 083	
甘油磷酸酯代谢 Glycerophospholipid metabolism	0.558 449 930	
甘油酯代谢 Glycerolipid metabolism	0.924 769 242	
脂肪酸延伸 Fatty acid elongation	0.964 449 242	脂质代谢 Lipid metabolism
脂肪酸生物合成 Fatty acid biosynthesis	0.923 569 242	
角质、海底碱和蜡的生物合成 Cutin, suberine and wax biosynthesis	0.834 769 242	
不饱和脂肪酸的生物合成 Biosynthesis of unsaturated fatty acids	0.924 869 242	
花生四烯酸代谢 Arachidonic acid metabolism	0.987 543 826	
维生素 B6 代谢 Vitamin B6 metabolism	- 0.739 027 968	
泛醌及其他萜类醌的生物合成 Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	- 0.095 449 930	
硫氨酸代谢 Thiamine metabolism	0.854 730 189	辅助因子和 维生素代谢 Metabolism of cofactor and vitamin
卟啉与叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	- 0.149 256 010	
泛酸酯和辅酶 A 的生物合成 Pantothenate and CoA biosynthesis	2.516 743 620	
烟酸和烟酰胺代谢 Nicotinate and nicotinamide metabolism	0.985 391 399	
生物素代谢 Biotin metabolism	0.956 360 071	
牛磺酸和次牛磺酸代谢 Taurine and hypotaurine metabolism	0.925 114 752	
磷酸酯和磷酸代谢 Phosphonate and phosphinate metabolism	0.723 557 702	
谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	0.955 360 071	
D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢 D-Glutamine and D-glutamate metabolism	0.987 962 311	其他氨基酸代谢 Metabolism of other amino acid
D-精氨酸和 D-鸟氨酸代谢 D-Arginine and D-ornithine metabolism	0.790 800 711	
D-丙氨酸代谢 D-Alanine metabolism	1.135 391 399	
氰基氨基酸代谢 Cyanoamino acid metabolism	0.891 769 764	
β-丙氨酸代谢 beta-Alanine metabolism	0.993 557 702	
嘧啶代谢 Pyrimidine metabolism	- 0.558 449 930	核苷酸代谢 Nucleotide metabolism
嘌呤代谢 Purine metabolism	0.693 557 702	

通路活性分析 (PAPi) 算法用于计算每条代谢通路的活性得分 (AS), PAPi 计算基于 KEGG 数据库中每条代谢通路的数目和相对丰富程度。代谢通路热图是基于 KEGG 代谢过程分类。统计学检验采用 ANOVA, $P < 0.05$ 。

A pathway activity profiling (PAPi) algorithm was used to calculate the activity score (AS) for each metabolic pathway, and the calculated PAPi and the relative abundance of each metabolic pathway were based on the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database. The metabolic pathway heat map was produced based on the KEGG metabolic process classification, and ANOVA analysis was used for the statistical test ($P < 0.05$ indicates significance).

附录 2 中缅树鼩肝代谢通路

Appendix 2 Liver metabolic pathways of *Tupaia belangeri*

代谢通路 Pathway	活性得分 log ₂ (AS fold change)	代谢分类 Pathway classification
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解 Valine, leucine and isoleucine degradation	0.739 027 968	
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成 Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	- 1.146 425 130	
酪氨酸代谢 Tyrosine metabolism	- 0.012 148 651	
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成 Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	0.464 251 303	
苯丙氨酸代谢 Phenylalanine metabolism	0.216 743 620	氨基酸代谢 Amino acid metabolism
赖氨酸降解 Lysine degradation	- 0.218 135 367	
赖氨酸生物合成 Lysine biosynthesis	- 0.239 475 184	
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 Glycine, serine and threonine metabolism	- 0.223 630 631	
半胱氨酸和蛋氨酸代谢 Cysteine and methionine metabolism	0.825 114 752	
精氨酸和脯氨酸代谢 Arginine and proline metabolism	0.987 962 311	
丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	1.298 027 962	
莨菪烷、哌啶和吡啶生物碱的生物合成 Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	0.486 027 962	
链霉素生物合成 Streptomycin biosynthesis	1.475 486 877	
嘌呤霉素生物合成 Puromycin biosynthesis	1.492 420 346	
苯丙素生物合成 Phenylpropanoid biosynthesis	0.354 730 189	
青霉素和头孢菌素的生物合成 Penicillin and cephalosporin biosynthesis	0.354 022 194	其他次生代谢 产物的生物合成 Biosynthesis of other secondary metabolites
新生霉素生物合成 Novobiocin biosynthesis	- 0.055 449 930	
异喹啉生物碱生物合成 Isoquinoline alkaloid biosynthesis	- 0.081 281 605	
吲哚生物碱的生物合成 Indole alkaloid biosynthesis	- 0.154 730 189	
芥子油苷生物合成 Glucosinolate biosynthesis	0.143 618 676	
布替洛辛和新生霉素的生物合成 Butirosin and neomycin biosynthesis	0.887 962 311	
糖类生物合成 Biosynthesis of phenylpropanoids	0.094 029 424	
贝塔兰生物合成 Betalain biosynthesis	0.068 809 958	
淀粉和蔗糖代谢 Starch and sucrose metabolism	- 1.012 956 674	
丙酮酸代谢 Pyruvate metabolism	0.111 423 237	
丙酸酯代谢 Propanoate metabolism	0.854 730 189	
磷酸戊糖途径 Pentose phosphate pathway	0.445 853 539	
戊糖和葡萄糖酸酯的相互转化 Pentose and glucuronate interconversions	0.254 730 189	
磷酸肌醇代谢 Inositol phosphate metabolism	- 0.309 224 930	
乙醛酸和二羧酸代谢 Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	1.387 164 107	
糖酵解/糖异生 Glycolysis / Gluconeogenesis	- 0.303 620 000	碳水化合物代谢 Carbohydrate metabolism
半乳糖代谢 Galactose metabolism	- 0.312 694 134	
果糖和甘露糖代谢 Fructose and mannose metabolism	0.287 962 311	
柠檬酸循环 Citrate cycle (TCA cycle)	0.087 962 311	
C5-支化二元酸代谢 C5-Branched dibasic acid metabolism	0.933 931 086	
丁酸代谢 Butanoate metabolism	0.887 962 311	
抗坏血酸和醛酸代谢 Ascorbate and aldarate metabolism	0.087 298 894	
氨基糖和核糖酸代谢 Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	0.541 972 680	

续附录 2

代谢通路 Pathway	活性得分 log ₂ (AS fold change)	代谢分类 Pathway classification
硫代谢 Sulfur metabolism	1.041 936 667	能量代谢 Energy metabolism
光合作用 Photosynthesis	0.092 748 961	
氧化磷酸化 Oxidative phosphorylation	- 0.454 730 189	
氮代谢 Nitrogen metabolism	0.452 585 869	
甲烷代谢 Methane metabolism	- 0.342 452 083	
原核生物的碳固定途径 Carbon fixation pathways in prokaryotes	- 0.242 452 083	
光合生物的碳固定 Carbon fixation in photosynthetic organisms	0.038 885 754	
甾类激素生物合成 Steroid hormone biosynthesis	0.884 758 582	脂质代谢 Lipid metabolism
类固醇生物合成 Steroid biosynthesis	- 1.022 753 305	
鞘脂类代谢 Sphingolipid metabolism	- 0.933 839 987	
初级胆汁酸的生物合成 Primary bile acid biosynthesis	- 0.705 871 531	
亚油酸代谢 Linoleic acid metabolism	1.252 585 869	
甘油磷酸酯代谢 Glycerophospholipid metabolism	- 0.354 730 189	
甘油酯代谢 Glycerolipid metabolism	- 0.042 452 083	
脂肪酸延伸 Fatty acid elongation	- 0.038 449 930	
脂肪酸生物合成 Fatty acid biosynthesis	- 0.024 769 242	
角质、海底碱和蜡的生物合成 Cutin, suberine and wax biosynthesis	0.096 444 924	
不饱和脂肪酸的生物合成 Biosynthesis of unsaturated fatty acids	0.535 692 425	
花生四烯酸代谢 Arachidonic acid metabolism	0.534 769 242	
维生素 B6 代谢 Vitamin B6 metabolism	- 0.924 869 242	
泛醌及其他萜类醌的生物合成 Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	- 1.987 543 826	
硫氨酸代谢 Thiamine metabolism	0.539 027 968	
核黄素代谢 Riboflavin metabolism	0.409 544 993	
卟啉与叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	0.354 730 189	
泛酸酯和辅酶 A 的生物合成 Pantothenate and CoA biosynthesis	0.149 256 010	
烟酸和烟酰胺代谢 Nicotinate and nicotinamide metabolism	- 0.951 674 362	
生物素代谢 Biotin metabolism	0.185 391 399	
牛磺酸和次牛磺酸代谢 Taurine and hypotaurine metabolism	- 0.956 360 071	其他氨基酸代谢 Metabolism of other amino acid
磷酸酯和磷酸代谢 Phosphonate and phosphinate metabolism	0.925 114 752	
谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	1.323 557 702	
D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢 D-Glutamine and D-glutamate metabolism	- 0.455 360 071	
D-精氨酸和 D-鸟氨酸代谢 D-Arginine and D-ornithine metabolism	- 0.587 962 311	
D-丙氨酸代谢 D-Alanine metabolism	- 0.390 800 711	
氰基氨基酸代谢 Cyanoamino acid metabolism	- 0.353 913 987	
β-丙氨酸代谢 beta-Alanine metabolism	- 0.191 769 764	
嘧啶代谢 Pyrimidine metabolism	0.093 557 702	核苷酸代谢 Nucleotide metabolism
嘌呤代谢 Purine metabolism	- 1.358 449 930	

通路活性分析 (PAPi) 算法用于计算每条代谢通路的活性得分 (AS), PAPi 计算基于 KEGG 数据库中每条代谢通路的数目和相对丰富程度。代谢通路热图是基于 KEGG 代谢过程分类。统计学检验采用 ANOVA, $P < 0.05$ 。

A pathway activity profiling (PAPi) algorithm was used to calculate the activity score (AS) for each metabolic pathway, and the calculated PAPi and the relative abundance of each metabolic pathway were based on the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database. The metabolic pathway heat map was produced based on the KEGG metabolic process classification, and ANOVA analysis was used for the statistical test ($P < 0.05$ indicates significance).