



博淼生物

BIOMIAO BIOLOGICAL

-SINCE2009-

Your own Laboratory

您的专属实验室

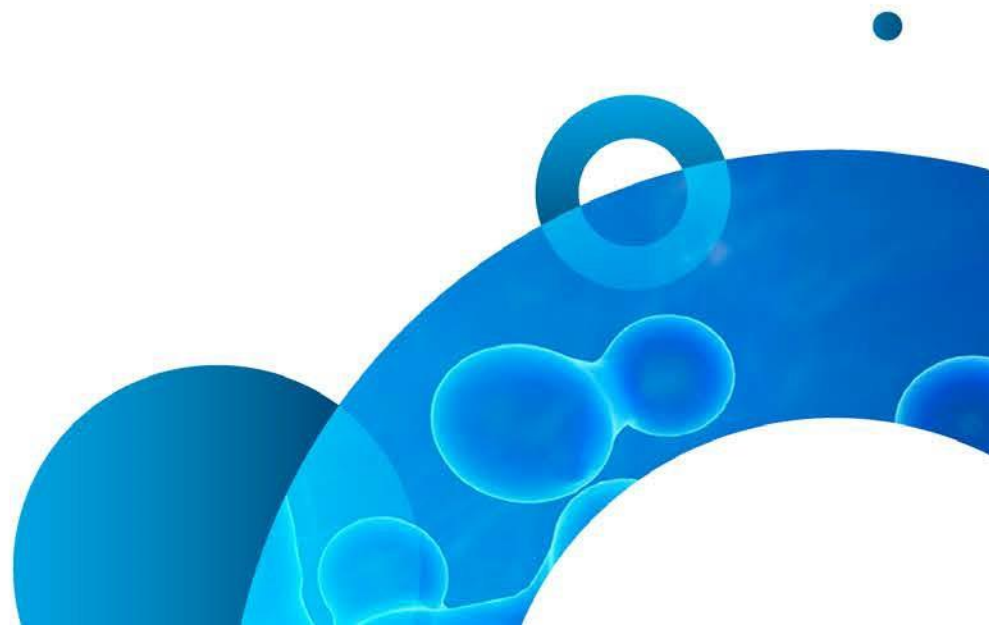
# 微生物基因组与代谢组联合研究策略

全国统一服务电话：400-6506-908

网址：[www.biomiao.com](http://www.biomiao.com)

邮箱：[marketing@biomiao.com](mailto:marketing@biomiao.com)

地址：北京市丰台区丰管路优橙创新中心B座3012-3015





博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

微生物 + 代谢组 = 调控功能机制



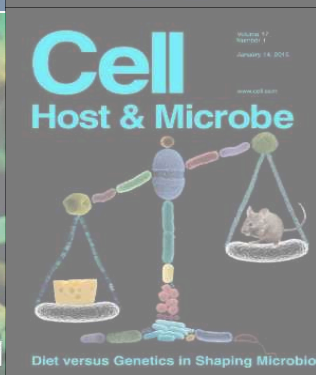
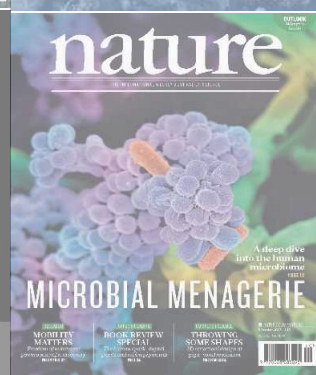
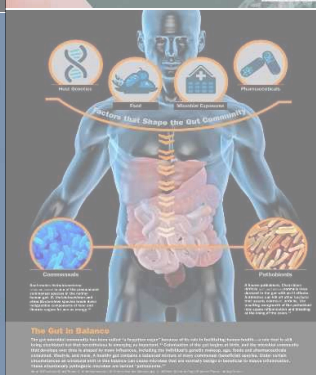
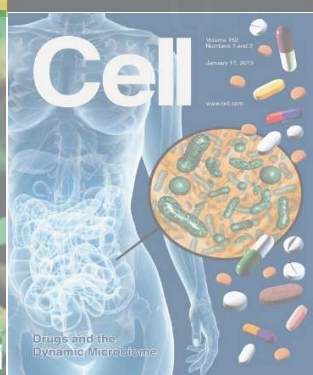
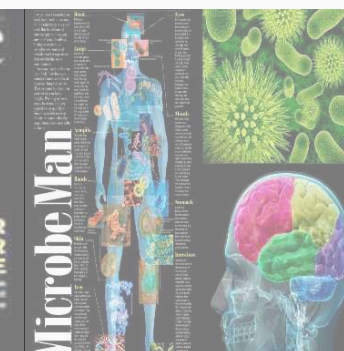
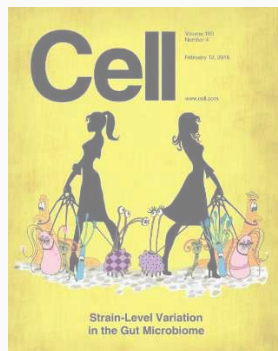
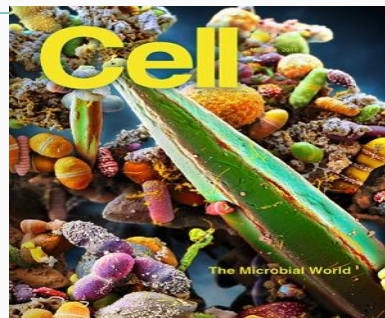
# 肠道微生物相关研究频频出现在顶级杂志之上

肠道微生物研究备受各大顶级期刊青睐



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

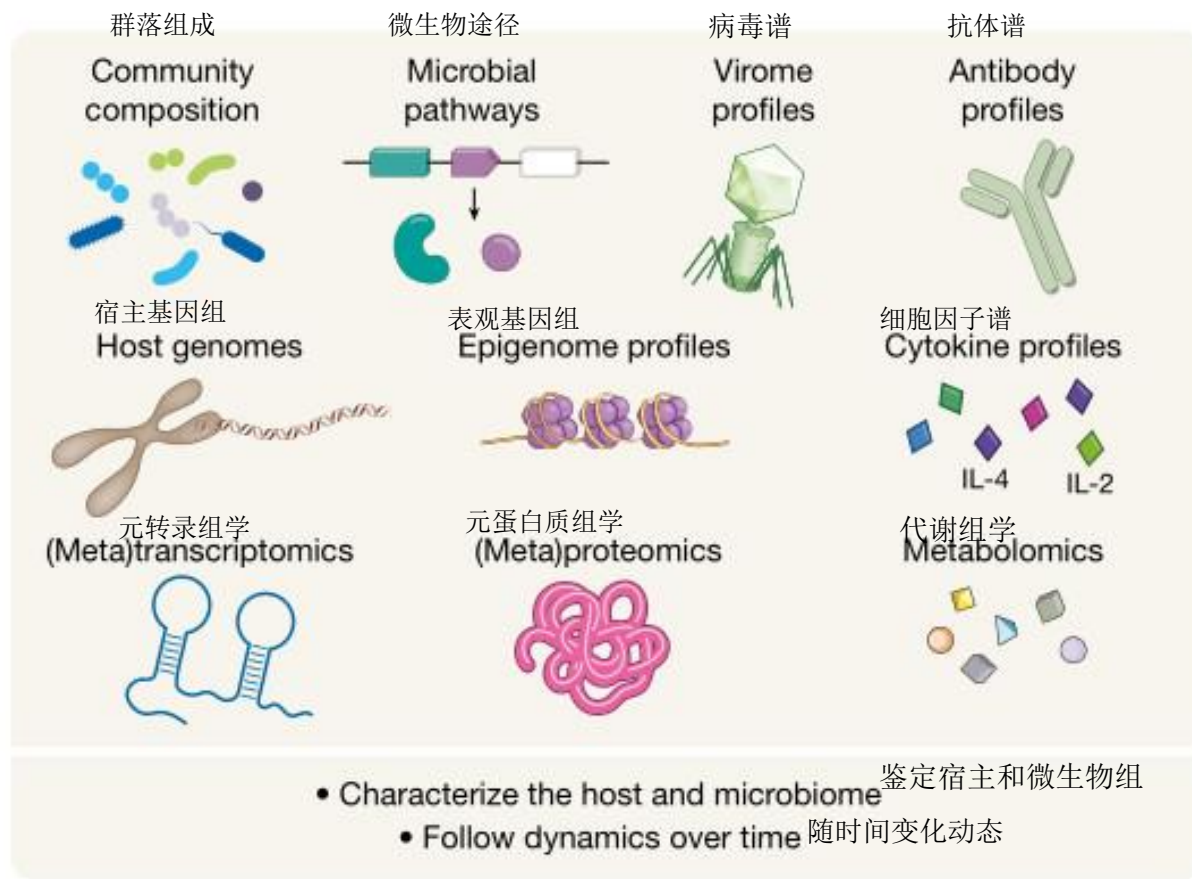
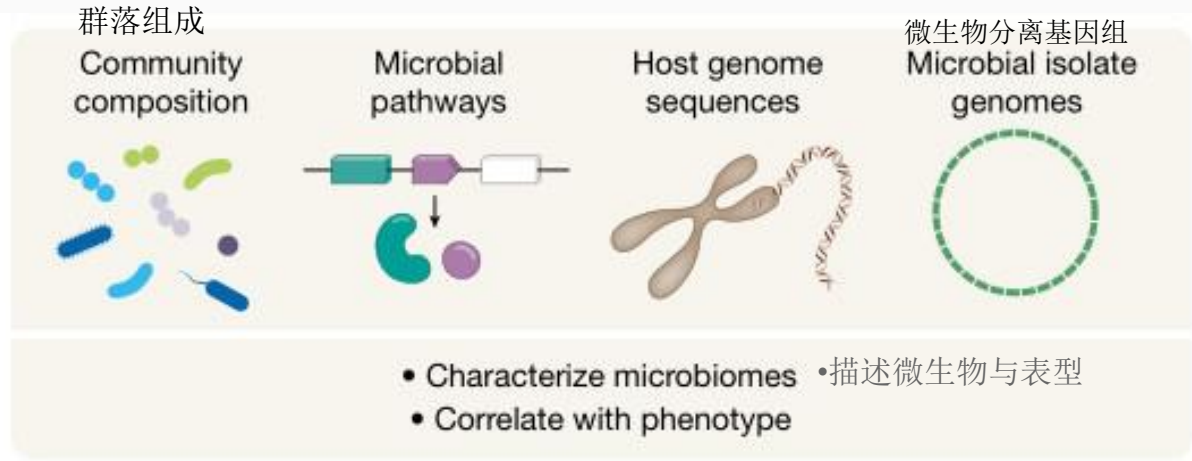
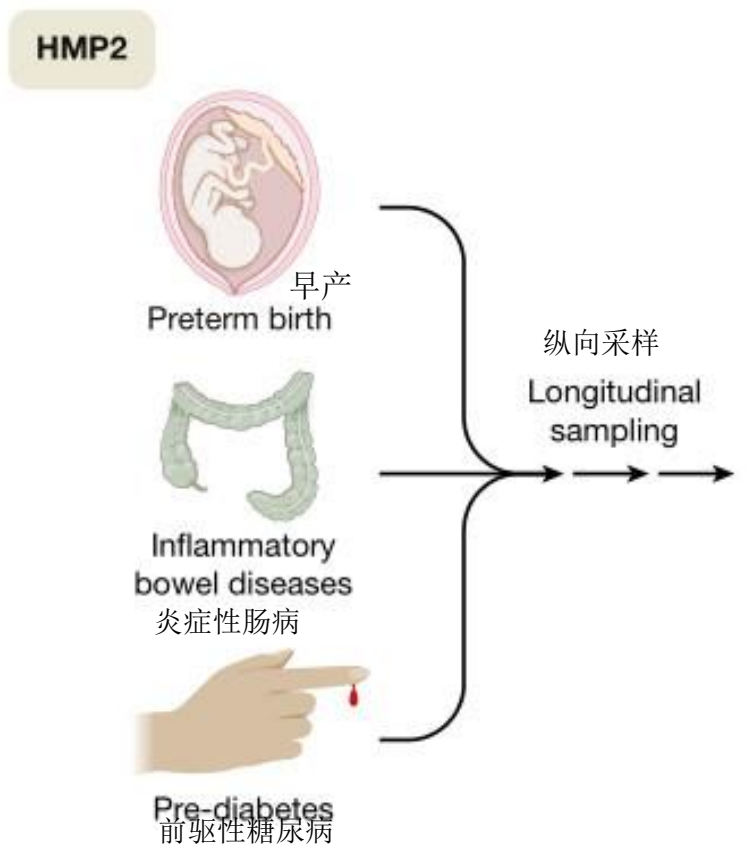
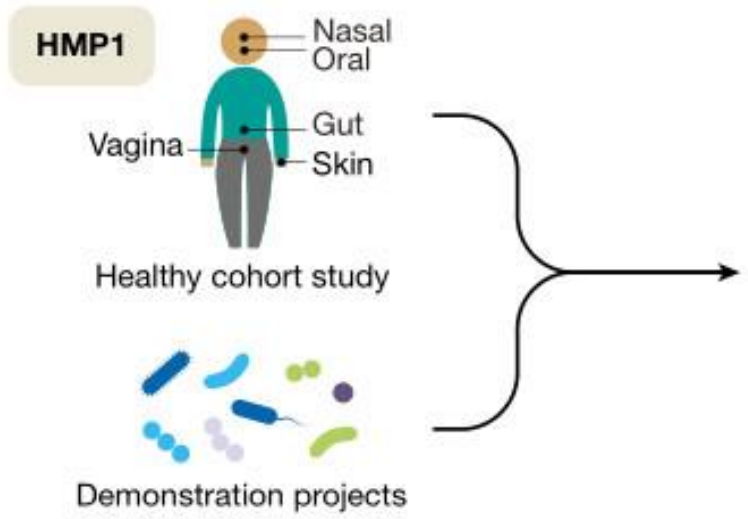


4006-506-908

www.biomiao.com

marketing@biomiao.com

博淼生物



**HMP DCC**  
Data, tools, protocols

# 多组学联合解析微生物组

基因组+转录组+代谢组+蛋白组学 联合解析微生物组学 (Omics techniques)



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

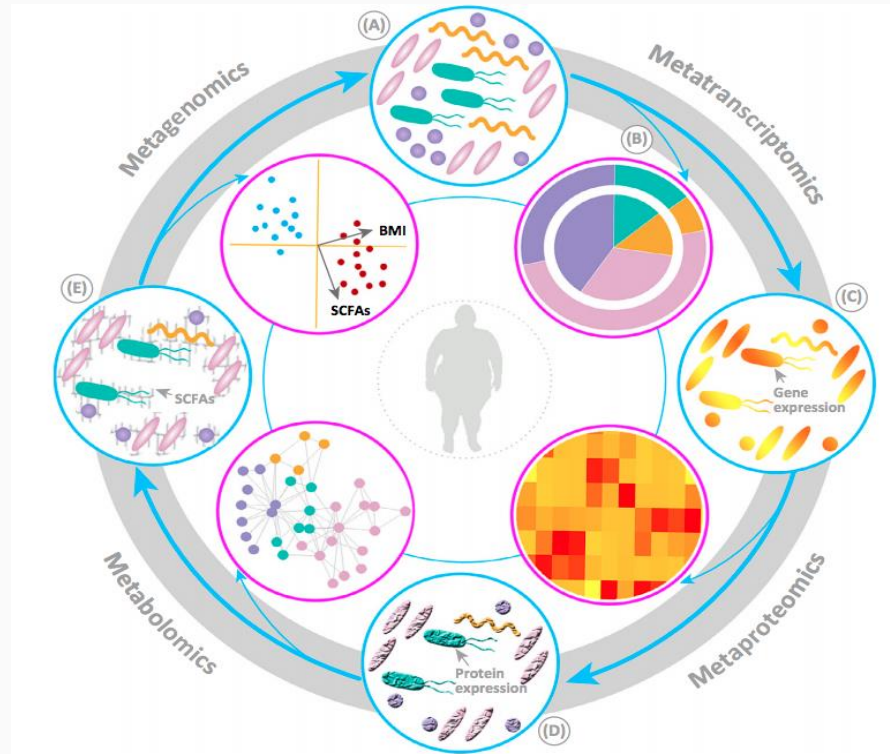
Your own Laboratory  
您的专属实验室

## Integration of "Omics"

宏基因组学

测序平台：基因组测序

NMR; GC-MS; LC-MS平台  
宏代谢组学



宏转录组学

测序平台：转录组测序

质谱平台  
宏蛋白组学

Wu, Hao, Valentina Tremaroli, and Fredrik Bäckhed. "Linking microbiota to human diseases: a systems biology perspective." Trends in Endocrinology & Metabolism 26.12 (2015): 758-770.

# 为什么选择代谢组？

微生物基因组学 + 代谢组学研究火热、前沿的三点重要原因



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

## 小分子物质

微生物多是通过其自身分解或者产生小分子物质来发挥其影响宿主的作用的，而非先前认为的大分子蛋白质物质。代谢组学用来检测小分子物质。

## 技术完善

目前代谢组学研究的技术较为完善和稳定，实验基础深厚。

## 研究热点

目前微生物的多组学研究，代谢组学确实是目前与基因组学联用应用最为广泛，理论机制最为成熟。

# 微生物 + 代谢组 研究应用领域广泛

在人类疾病, 畜牧动物和药物开发等研究上都有很好的应用



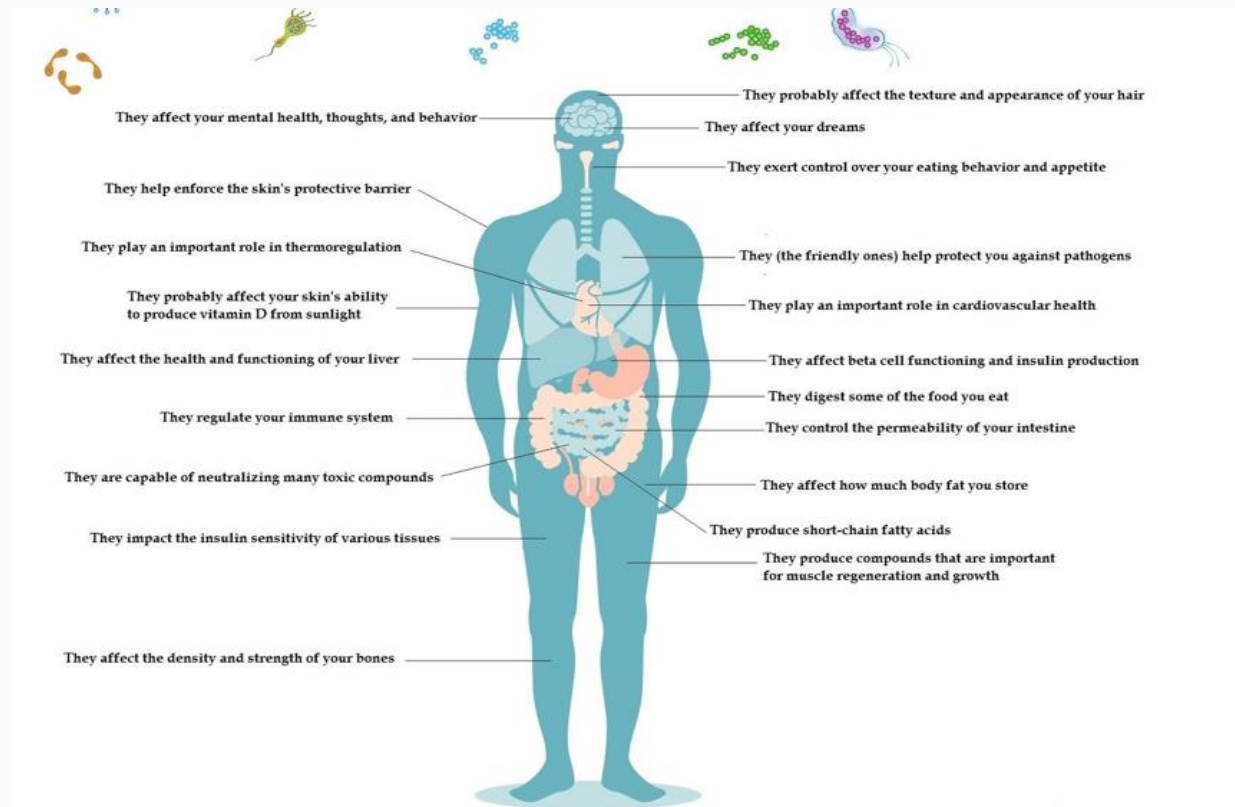
博淼生物

BIOMIAO BIOLOGICAL

-SINCE2009-

Your own Laboratory

您的专属实验室



## 人类疾病

(心血管疾病、肥胖、  
神经系统疾病、炎症性肠病、糖尿病、多类肿瘤癌症等)



## 药物开发与指导

(药效评估, 癌症药物使用指导, 中草药研究, 药物开发)

# 肠道微生物 + 代谢组研究 重磅成果频出

## ARTICLES

nature  
medicine

1

### Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention

Ruixin Liu<sup>1,16</sup>, Jie Hong<sup>1,16</sup>, Xiaoqiang Xu<sup>2,3,16</sup>, Qiang Feng<sup>2,4,16</sup>, Dongya Zhang<sup>2,16</sup>, Yanyun Gu<sup>1,16</sup>, Juan Shi<sup>1</sup>, Shaoqian Zhao<sup>1</sup>, Wen Liu<sup>1</sup>, Xiaokai Wang<sup>2,3</sup>, Huihua Xia<sup>2,5</sup>, Zhipeng Liu<sup>2</sup>, Bin Cui<sup>1,6</sup>, Peiwen Liang<sup>1</sup>, Liuqing Xi<sup>1</sup>, Jiabin Jin<sup>7</sup>, Xiayang Ying<sup>7</sup>, Xiaolin Wang<sup>8</sup>, Xinjie Zhao<sup>8</sup>, Wanyu Li<sup>1</sup>, Huijue Jia<sup>2,5,9</sup>, Zhou Lan<sup>2</sup>, Fengyu Li<sup>2</sup>, Rui Wang<sup>1</sup>, Yingkai Sun<sup>1</sup>, Minglan Yang<sup>1</sup>, Yuxin Shen<sup>1</sup>, Zhuye Jie<sup>2,5</sup>, Junhua Li<sup>2,5,9</sup>, Xiaomin Chen<sup>2</sup>, Huanzi Zhong<sup>2,5</sup>, Hailiang Xie<sup>2</sup>, Yifei Zhang<sup>1</sup>, Weiqiong Gu<sup>1</sup>, Xiaxing Deng<sup>7</sup>, Baiyong Shen<sup>7</sup>, Xun Xu<sup>2,5</sup>, Huanming Yang<sup>2,10</sup>, Guowang Xu<sup>8</sup>, Yufang Bi<sup>1</sup>, Shenghan Lai<sup>11</sup>, Jian Wang<sup>2,10</sup>, Lu Qi<sup>12,13</sup>, Lise Madsen<sup>2,14,15</sup>, Jiqiu Wang<sup>1</sup>, Guang Ning<sup>1,6</sup>, Karsten Kristiansen<sup>2,5,15</sup> & Weiqing Wang<sup>1</sup>

## RESEARCH

### RESEARCH ARTICLE SUMMARY

2

#### MICROBIOME

### Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells

Chi Ma, Miaojun Han, Bernd Heinrich, Qiong Fu, Qianfei Zhang, Milan Sandhu, David Agdashian, Masaki Terabe, Jay A. Berzofsky, Valerie Fako, Thomas Ritz, Thomas Longrich, Casey M. Theriot, John A. McCulloch, Soumen Roy, Wuxing Yuan, Vishal Thovarai, Shurjo K. Sen, Mathuros Ruchirawat, Firouzeh Korangy, Xin Wei Wang, Giorgio Trinchieri, Tim F. Greten\*

nature  
genetics

3

Letter | Published: 18 February 2019

### Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases

nature  
genetics

4

Letter | Published: 28 May 2018

### The fecal metabolome as a functional readout of the gut microbiome

Jonas Zierer, Matthew A. Jackson, Gabi Kastenmüller, Massimo Mangino, Tao Long, Amalio Telenti, Robert P. Mohney, Kerrin S. Small, Jordana T. Bell, Claire J. Steves, Ana M. Valdes, Tim D. Spector & Cristina Menni

Nature Genetics 50, 790–795 (2018) | [Download Citation ↓](#)



# 微生物与代谢组检测内容



# 微生物基因组测序技术

01

16S/18S/ITS 扩增子测序  
16S/18S/ITS rDNA Sequencing

微生物多样性、群落结构组成，菌种丰度，差异菌种分析，关联分析

02

宏基因组测序  
Metagenomic Sequencing

微生物多样性、群落结构组成  
菌种丰度，差异菌种分析，  
基因分析，功能分析，通路分析  
基因草图构建

03

微生物基因组  
*de novo*/ 重测序

*De novo*测序构建细菌完成图/真菌精细图  
重测序精确检测各种菌种/菌株变异情况

04

16S/18S  
全长扩增子测序

16S测序升级，分类更精确，菌种鉴定到种

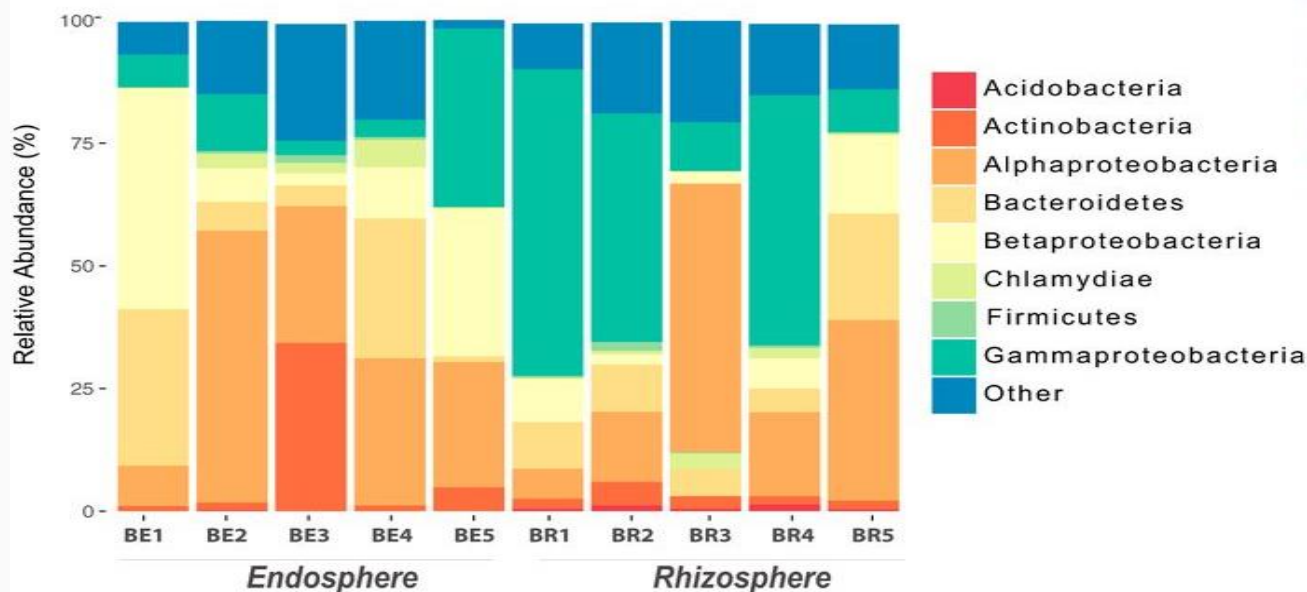
05

基于qRT-PCR方法  
的菌种鉴定与丰度定量

预估或验证样本中某特定微生物的存在和丰度

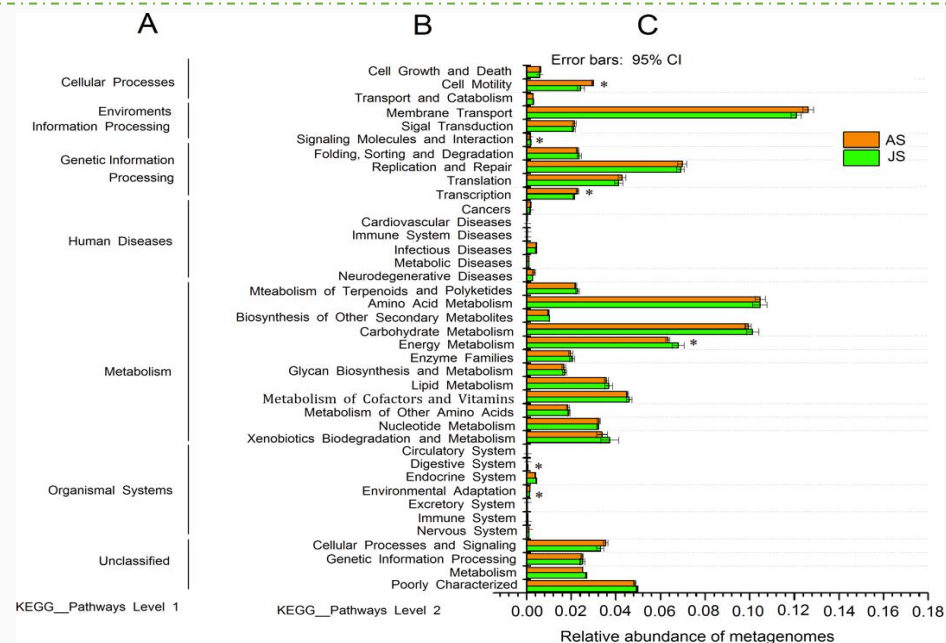
## 16S测序

物种多样性, 菌种种类, 菌种相对丰度, 组间差异



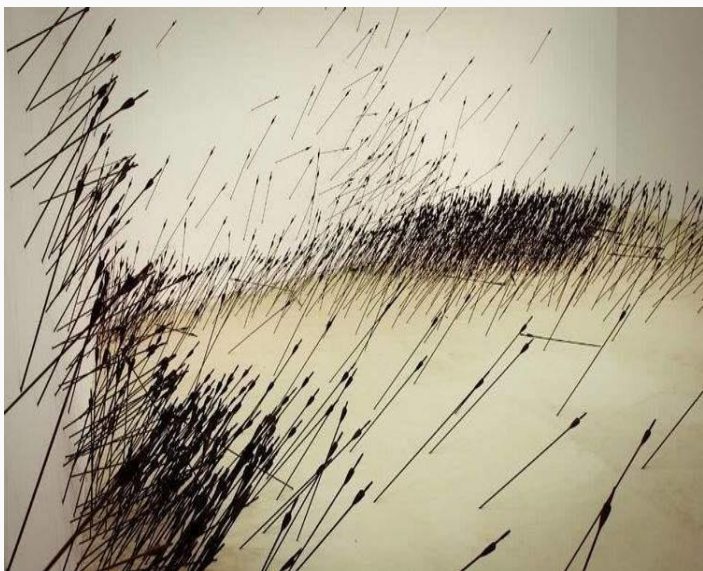
## 宏基因组测序

基因组序列、基因信息、基因功能、微生物群落功能、群落中各成员之间的代谢网络等



# 代谢组靶向检测 or 广筛

广筛就是把样本中的代谢产物尽可能多的没有选择性的进行检测



非靶向广筛

靶向检测



靶向就是针对某种特定类型的代谢产物进行检测，例如氨基酸，胆汁酸，脂肪酸，神经递质等。

## LC-MS (液质联用)



- *meta-Phenotyper<sup>TM</sup> Classic*

- 利用自建iPhenome<sup>TM</sup>-SoMo代谢物谱图库(3500种代谢物), 组合使用2种(反相色谱-正离子与反相色谱-负离子)最经典的代谢组学测试方法, 兼容并蓄, 高通量实现**600+余种极性代谢物**的快速准确定性定量筛查。

- *meta-Phenotyper<sup>TM</sup> Professional*

- 优选3种(反相色谱-正离子, 反相色谱-负离子与亲水作用色谱-负离子)互补性强的三种分析方法, 高效完成对**1000+种极性代谢物物群和极性脂质**分子的全覆盖。

- *meta-Phenotyper<sup>TM</sup> Total solution*

- 同时面向极性代谢物群与非极性脂质分子群, 实现对**1200+种代谢物**的最大化深度覆盖。

# 靶向代谢组学检测技术

靶向代谢项目名称	数量	项目内容
氧化固醇	13	Testosterone, Corticosterone, Estrone等
脂酰-CoA	16	Acetyl-CoA, Pentanoyl-CoA, Tetradecanoyl-CoA等
甾体激素	43	Estradiol, Testosterone, Progesterone等
雌激素	8	Pregnenolone, DHEA, Epiandrosterone等
维生素	13	Vitamin B1, B2, B3, A, D2, E, K等
游离脂肪酸	35	FFA 10:0, FFA 18:0, FFA 22:0, FFA 11:0等
花生四烯酸类代谢物	>80	Lyso-PAF, PGF2a, 19-HETE等
鞘脂	83	Sphingosine, dihydrosphingosine-1-P等
植物激素	9	2IP, ZR, ZA, SA等
TCA循环代谢物	16	Citrate, Succinate, NADH, NADPH等
糖酵解途径代谢物	11	DHAP, glycerol-3-phosphate, F6P, pyruvate等
酸戊糖途径代谢物	6	6-phosphogluconolactone, S7P, PRPP等
氨基酸类代谢物	50	Asparagine, Serine, Tyrosine, Lysine等
核苷酸代谢物	31	dATP, dCTP, dTTP, dUTP等
酰基肉碱	26	Acetylcarnitine, Tiglylcarnitine, Oleoylcarnitine等
胆汁酸	22	Cholic acid, Tauro Lithocholic acid等
胺类代谢物	>100	GABA, Trimethylamine N-oxide, Hcy等
短链脂肪酸	10	Acetic acid, Isovalerate, Caproate等
TMAO通路	4	Betaine, TMAO, Choline, Carnitine

# 检测什么代谢产物？没有明确目的怎么办？

哪些代谢产物最常测？该怎么去选择？



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

- 当没有具体思路和明确的检测的代谢产物时，可以尝试先进行代谢组广筛（GC-MS或者LC-MS），得到差异较大或者丰度高的代谢产物（临床样本推荐30个生物学重复每分组，才具有较好的统计学意义）。再选择靶向检测。
- 或根据前人研究，自身研究基础，菌种结构特点，直接选择靶向检测。

## 什么代谢产物最常被检测？

众多肠道菌群相关研究都关注氨基酸、短链脂肪酸、胆汁酸和神经递质，这些代谢产物是目前开展联合研究重点关注的代谢产物。

# 联合分析解决了什么问题？





# 代谢组学---微生物测序的下游研究

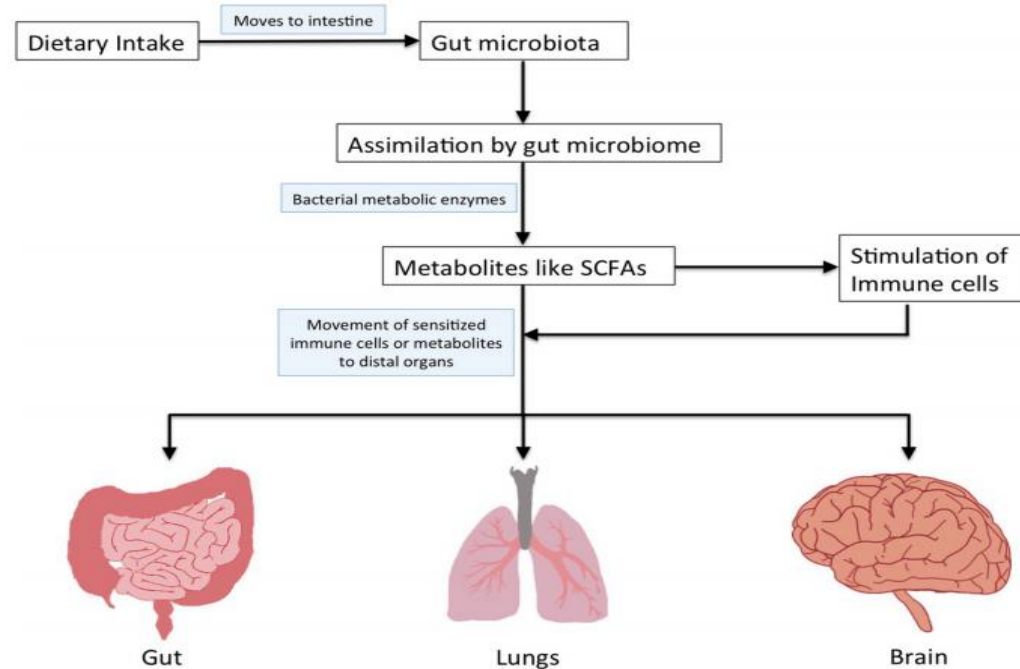
代谢组学作为微生物测序下游功能机制的研究方法



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

当知道了样本当中有了哪些微生物，和他们具有的功能后，就需要进一步的验证这些功能是否真的发生了，发生的程度是什么样的。这时候代谢组学就是非常好的一种方法，是测序下游研究与宿主互作调控机制重要的研究方法。



# 怎么做微生物与代谢产物的联合分析?

16S扩增子测序和宏基因组测序都可与代谢组学做联合分析

## 16S扩增子测序联合分析

代谢组学与16S的检测主要是**微生物多样性，种类和相对丰度**与代谢产物丰度的关联。如果需要做**功能关联**，则可使用**PICRUSt**软件。

## 宏基因组测序联合分析

宏基因组与代谢组学的关联主要是其**代谢通路与基因功能**的关联。当然物种信息也可以进行关联。

# 16S + 功能预测 + 代谢组

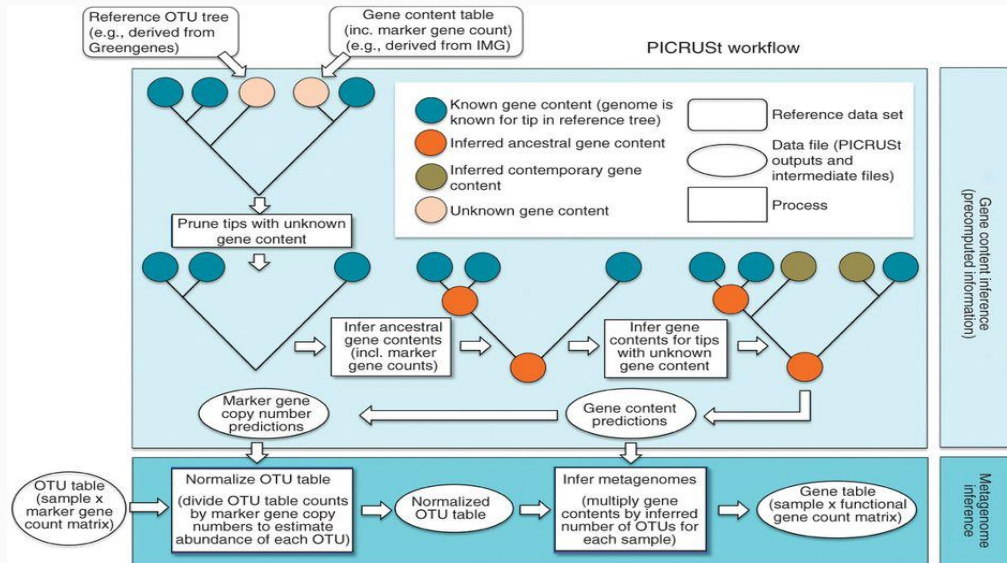
截止到2018年末，PICRUSt技术被引用1640次



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

当只做了物廉价美的16S扩增子测序时，也可以将代谢组学和基因功能相关联起来，方法就是使用PICRUSt。



Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, et al. (2013) Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. Nature Biotechnology DOI: 10.1038/nbt.2676



## • 16S测序做功能分析准吗？那宏基因组和他的区别是啥？

值得注意的是，PICRUSt2对于不同样本类型的微生物，其预测效果是不一样的。对人类或者哺乳动物的微生物预测效果最好，对参考微生物基因组不全的样本类型，例如土壤和盐碱地，预测效果就会下降，我们不建议对此类样本做功能预测。当然，PICRUSt2虽然有着较好的准确性，但是不能完全替代宏基因组测序，因为只是“预测”，并不是样本中实际的基因，而宏基因组测序得到的样本中真实的基因。

# 不同类型或者部位的样本可以做联合分析吗？

粪便/肠道内容物样本  
(16S/宏基因组)

**血液样本**  
(广筛、氨基酸、脂肪酸、短链脂肪酸、胆汁酸)

侧重于研究微生物的代谢产物对人体的影响

粪便/肠道内容物样本  
(16S/宏基因组)

**粪便样本**  
(广筛、氨基酸、脂肪酸、短链脂肪酸、胆汁酸)

侧重于研究微生物本身分解或产生代谢物的情况

粪便/肠道内容物样本  
(16S/宏基因组)

**尿液/血液样本**  
(神经递质)

侧重于“肠脑轴”研究

- 基因组和代谢组关联分析，**一定要取同一份样本，或者不同种类样本同一时段取样，否则无法关联。**
- 做代谢组的样本**禁止反复冻融**，因为粪样中的代谢产物很多，有些易挥发，经过反复冻融会造成较大的误差。
- 短链脂肪酸，脂肪酸样本**不可冻干**，因为其属于易挥发代谢产物。

## 微生物测序与代谢组检测取样方式与保存建议

### ● 微生物测序样本取样建议

样本类型	样本量	取样方式
人粪便样本	16S/18S/ITS 扩增子测序：2-3g 宏基因组测序：3-5g  <b>注：</b> 如果需要做粪便微生物与代谢产物关联分析。则需要额外多取 200-500mg 左右的样本用于代谢组分析。且需要提前分装后冻存。其他样本类型代谢物分析请参考代谢组检测样本要求。	1. 用无菌的粪便收集器或其他器皿收集新鲜粪便样本 2-5 克左右（最好以专用的无菌粪便取样器截取粪便中段里部，以减少外界环境对样本的干扰）； 2. 立即在实验室将收集到的粪便样本放在冰上用灭菌冻存管分装标记，分装 3 管，每管 1-2g； 3. 分装后立即放入 -80℃ 保存。（有条件使用液氮冻存后再放入 -80℃ 保存）

# 16S测序 + 代谢组

脑代谢组与肠道微生物研究，深入探究“肠脑轴”



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

analytical  
chemistry

Subscriber access provided by READING UNIV

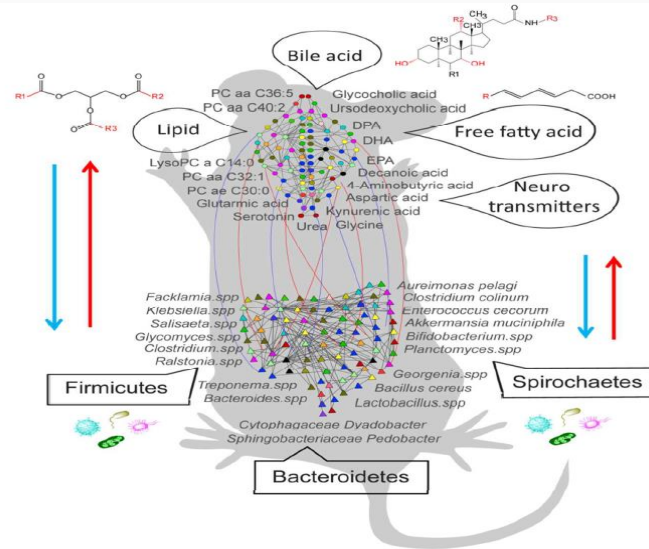
Article

## A strategy for association study on intestinal microbiome and brain metabolome across lifespan of rats

Tianlu Chen, Yijun You, Guoxiang Xie, Xiaojiao Zheng, Aihua Zhao, Jiajian Liu, Qing Zhao, Shouli Wang, Huang Fengjie, Cynthia Rajani, Chongchong Wang, Shaojiu Chen, Yan Ni, Herbert Yu, Youping Deng, Xiaoyan Wang, and Wei Jia

Anal. Chem., Just Accepted Manuscript • DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02859 • Publication Date (Web): 21 Jan 2018

Downloaded from <http://pubs.acs.org> on January 21, 2018



Chen, Tianlu, et al. "Strategy for an association study of the intestinal microbiome and brain metabolome across the lifespan of rats." Analytical chemistry 90.4 (2018): 2475-2483. (IF: 6.3)

### 16S 微生物测序

利用16S测序的方法对不同年龄的不同时间点的共计42只正常生长过程中7个有代表性时间点大鼠模型的肠道内容物进行研究，并分析肠道微生物情况。得到178个菌属/种信息。

### 关联分析

通过对不同类型代谢物与门水平细菌进行相关性分析后，发现大多数细菌门水平物种相关的代谢物类型为脂质、游离脂肪酸与胆汁酸等。即脂质—螺旋菌门、游离脂肪酸—厚壁菌门、胆汁酸—厚壁菌门与神经递质—拟杆菌门的对应情况。

A

### 代谢组检测

利用LC-MS联合GC-MS平台的方法对不同时间点的共计42只大鼠模型的脑组织进行代谢组学检测，并分析代谢产物，共得出354种代谢产物，其中包括了脂肪酸，胆汁酸，神经递质和脂质等。

C

### 饮食限制实验认证

通过设置独立的饮食限制实验，与正常生长的大鼠做对比，用于验证两者间的关键关联信息是否保持一致。

D

# 16S + PICRUST + 代谢组

探究甘草-甘遂结合对肠道微生物与其功能的影响研究



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

## Author's Accepted Manuscript

Gancao-Gansui combination impacts gut microbiota diversity and related metabolic functions

Jingao Yu, Jianming Guo, Weiwei Tao, Pei Liu, Erxin Shang, Zhenhua Zhu, Xiuhe Fan, Juan Shen.



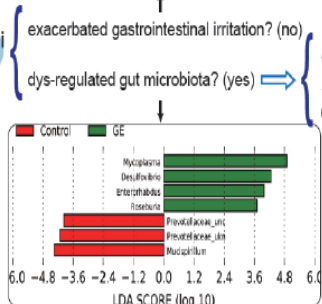
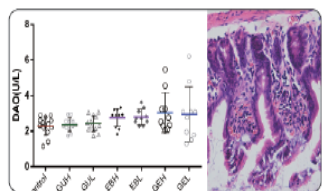
Glycyrrhiza uralensis (Gancao)



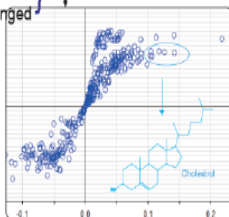
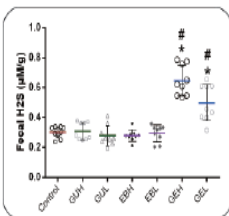
Euphorbia kansui (Gansui)

Gancao-Gansui incompatibility

"Eighteen Incompatible Medicaments"



exacerbated gastrointestinal irritation? (no)  
dys-regulated gut microbiota? (yes) → Desulfovibrio genus increased → H2S metabolism disturbance  
Mycoplasma genus increased → Lipids metabolism disturbance  
Genes in metagenomes changed



Yu, J., et al. (2018). Gancao-Gansui combination impacts gut microbiota diversity and related metabolic functions. Journal of ethnopharmacology. (IF: 3.3)

不同处理

实验所有小鼠模型被分成四组：对照组、7天连续服用甘草 (GUH)、服用甘遂 (EBH) 或服用甘草甘遂组合 (GEH)。

PICRUST功能预测

用PICRUST工具对16S测序数据进行功能和代谢通路预测，结果显示，GEH组的碳固定、能量代谢、氨基酸代谢和醌类合成代谢途径相对减弱，而酸转移酶系统、磷酸戊糖途径和脂类代谢通路相对升高，这些变化来源于支原菌属丰度的改变。

16S测序

四组小鼠粪便进行16S扩增子测序，与对照组相比，GEH比EBH破坏了更多的肠道微生物环境，而GUH没有显著破坏。LefSe分析显示EBH会导致支原菌和脱磷孤菌菌属的增加和普氏菌属减少。

代谢组检测

支原菌属在脂质代谢方面的主要作用，用GC-MS来分析脂质代谢情况。结合微生物测序结果，胆固醇代谢途径因为GEH的食用失调，而这应是由于支原菌属的高丰度导致的。



# 宏基因组 + 代谢组学

## 肠道微生物的氨基酸代谢可能加重肥胖和代谢并发症



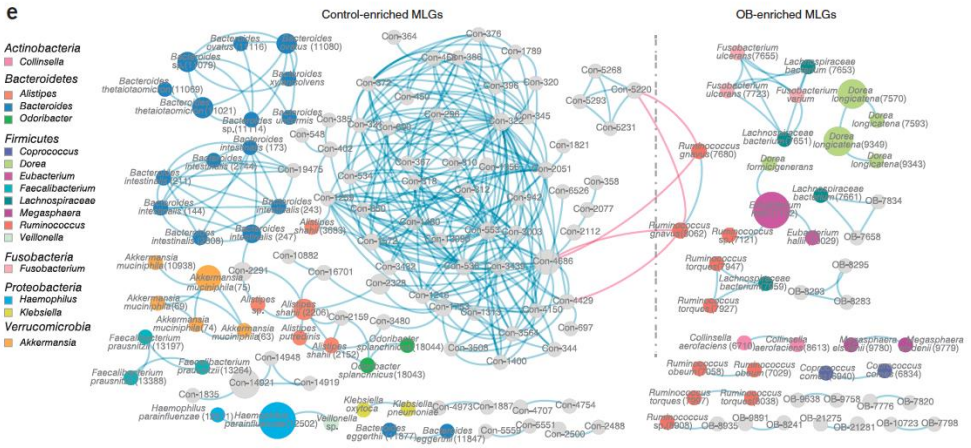
博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

nature  
medicine

### Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention

Ruixin Liu<sup>1,16</sup>, Jie Hong<sup>1,16</sup>, Xiaoqiang Xu<sup>2,3,16</sup>, Qiang Feng<sup>2,4,16</sup>, Dongya Zhang<sup>2,16</sup>, Yanyun Gu<sup>1,16</sup>, Juan Shi<sup>1</sup>, Shaoqian Zhao<sup>1</sup>, Wen Liu<sup>1</sup>, Xiaokai Wang<sup>2,3</sup>, Huihua Xia<sup>2,5</sup>, Zhipeng Liu<sup>2</sup>, Bin Cui<sup>1,6</sup>, Peiwen Liang<sup>1</sup>, Liuqing Xi<sup>1</sup>, Jiabin Jin<sup>7</sup>, Xiyang Ying<sup>7</sup>, Xiaolin Wang<sup>8</sup>, Xinjie Zhao<sup>8</sup>, Wanyu Li<sup>1</sup>, Huijue Jia<sup>2,5,9</sup>, Zhou Lan<sup>2</sup>, Fengyu Li<sup>2</sup>, Rui Wang<sup>1</sup>, Yingkai Sun<sup>1</sup>, Minglan Yang<sup>1</sup>, Yuxin Shen<sup>1</sup>, Zhuye Jie<sup>2,5</sup>, Junhua Li<sup>2,5,9</sup>, Xiaomin Chen<sup>2</sup>, Huanzi Zhong<sup>2,5</sup>, Hailiang Xie<sup>2</sup>, Yifei Zhang<sup>1</sup>, Weiqiong Gu<sup>1</sup>, Xiayang Deng<sup>7</sup>, Baiyong Shen<sup>7</sup>, Xun Xu<sup>2,5</sup>, Huanming Yang<sup>2,10</sup>, Guowang Xu<sup>8</sup>, Yufang Bi<sup>1</sup>, Shenghan Lai<sup>11</sup>, Jian Wang<sup>2,10</sup>, Lu Qi<sup>12,13</sup>, Lise Madsen<sup>2,14,15</sup>, Jiqui Wang<sup>1</sup>, Guang Ning<sup>1,6</sup>, Karsten Kristiansen<sup>2,5,15</sup> & Weiqing Wang<sup>1</sup>



ARTICLES

宏基因组测序

健康人群、肥胖人群、治疗后的肥胖人群的粪便样本，进行宏基因组测序并分析。得到菌种信息和通路信息。

代谢通路分析

肥胖患者肠道菌群失调，导致其对碳水化合物的利用能力升高；促炎症因子、一些氨基酸产生增高。

非靶向代谢组检测

利用GC-MS广筛的方法检测到了148种在正常和肥胖人群中显著差异的代谢物，其中结构确定的13种代谢物，包括了谷氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸等。

关联结果

*E. prausnitzii* 和 *B. thetaiotaomicron* (多形拟杆菌) 可以降低血液中谷氨酸的浓度，从而缓解肥胖。

Liu, Ruixin, et al. "Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention." *Nature medicine* 23.7 (2017): 859.

4006-506-908

www.biomiao.com

marketing@biomiao.com

博淼生物

# “联合分析”与“联用”有什么区别？

分不清或不知道怎么用？

## 联合分析？

将微生物基因组学和代谢组学相互关联分析，**通过分析**得出其中差异最显著的对应关系，并验证了得出的结论。

## 联用？

代谢组的检测**辅助**和**验证**实验假说。在存在关联的情况下联合使用，但一般不会从联合使用中得出新的结论。

代谢组学和微生物基因组学是“联用”还是“联合分析”，要看具体的研究目的。并不是说，不做联合分析就不需要做代谢组检测。目前情况来看，微生物基因组和代谢组的“联用”研究居多，但联合分析则是领域中重要发展趋势。

# 16S测序 + 代谢组

脑代谢组与肠道微生物研究, 深入探究“肠脑轴”



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

analytical  
chemistry

Article

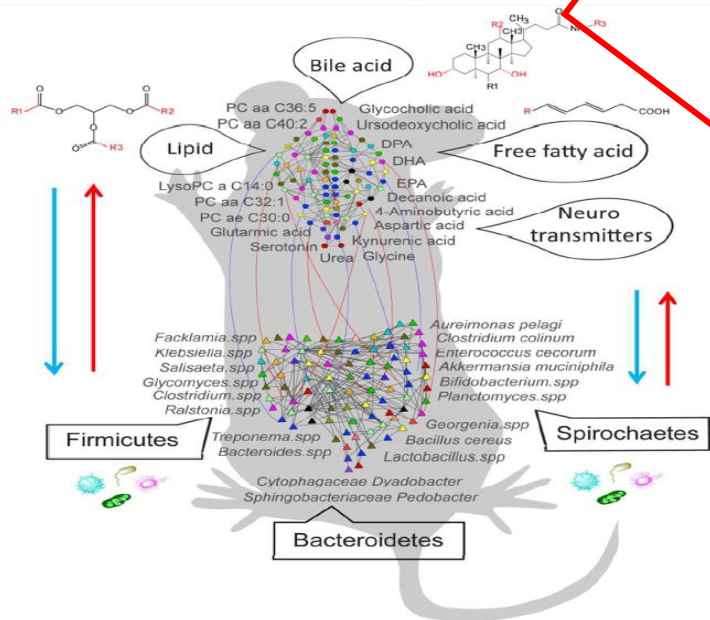
Subscriber access provided by READING UNIV

## A strategy for association study on intestinal microbiome and brain metabolome across lifespan of rats

Tianlu Chen, Yijun You, Guoxiang Xie, Xiaojiao Zheng, Aihua Zhao, Jiajian Liu, Qing Zhao, Shouli Wang, Huang Fengjie, Cynthia Rajani, Chongchong Wang, Shaoqiu Chen, Yan Ni, Herbert Yu, Youping Deng, Xiaoyan Wang, and Wei Jia

Anal. Chem., Just Accepted Manuscript • DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02859 • Publication Date (Web): 21 Jan 2018

Downloaded from <http://pubs.acs.org> on January 21, 2018



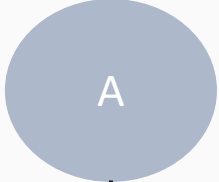
联合分析

### 16S 微生物测序

利用16S测序的方法对不同年龄的不同时间点的共计42只正常生长过程中7个有代表性时间点大鼠模型的肠道内容物进行研究, 并分析肠道微生物情况。得到178个菌属/种信息。

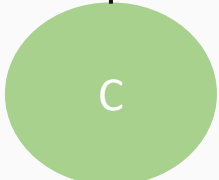
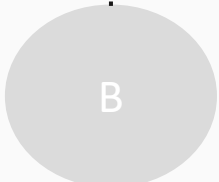
### 关联分析

通过对不同类型代谢物与门水平细菌进行相关性分析后, 发现大多数细菌门水平物种相关的代谢物类型为脂质、游离脂肪酸与胆汁酸等。即脂质—螺旋菌门、游离脂肪酸—厚壁菌门、胆汁酸—厚壁菌门与神经递质—拟杆菌门的对应情况。



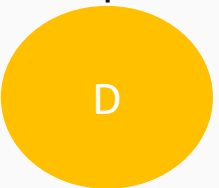
### 代谢组检测

利用LC-MS联合GC-MS平台的方法对不同时间点的共计42只大鼠模型的脑组织进行代谢组学检测, 并分析代谢产物, 共得出354种代谢产物, 其中包括了脂肪酸, 胆汁酸, 神经递质和脂质等。



### 饮食限制实验验证

通过设置独立的饮食限制实验, 与正常生长的大鼠做对比, 用于验证两者间的关键关联信息是否保持一致。



Chen, Tianlu, et al. "Strategy for an association study of the intestinal microbiome and brain metabolome across the lifespan of rats." Analytical chemistry 90.4 (2018): 2475-2483. (IF: 6.3)

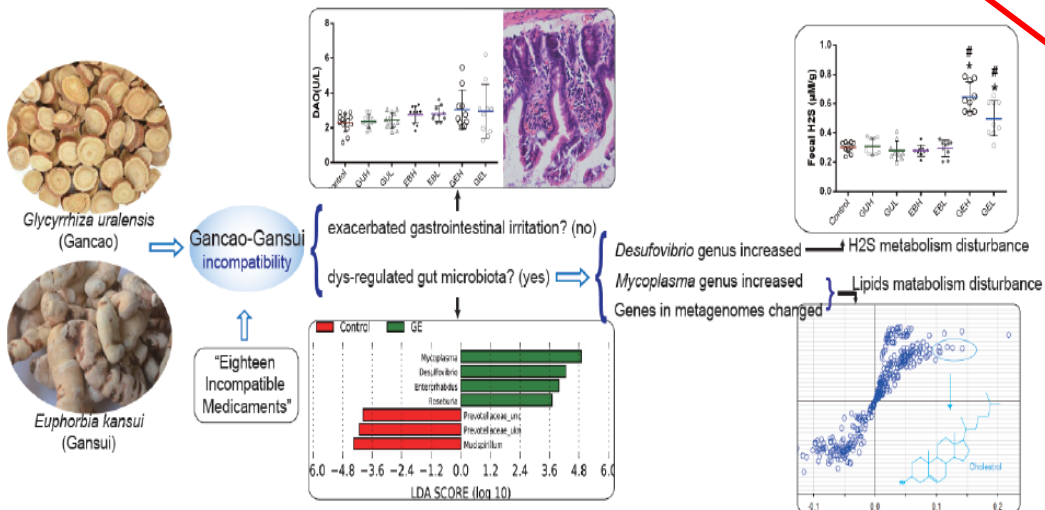
# 16S + PICRUST + 代谢组

探究甘草-甘遂结合对肠道微生物与其功能的影响研究

Author's Accepted Manuscript

Gancao-Gansui combination impacts gut microbiota diversity and related metabolic functions

Jingao Yu, Jianming Guo, Weiwei Tao, Pei Liu, Erxin Shang, Zhenhua Zhu, Xiuhe Fan, Juan Shen, Yongqing Hua, Kevin Yue Zhu, Yuping Tang, Jin-ao Duan



Yu, J., et al. (2018). Gancao-Gansui combination impacts gut microbiota diversity and related metabolic functions. Journal of ethnopharmacology. (IF: 3.3)

不同处理

实验所有小鼠模型被分成四组：对照组、7天连续服用甘草(GUH)、服用甘遂(EBH)或服用甘草甘遂组合(GEH)。

联用

PICRUST功能预测

用PICRUST工具对16S测序数据进行功能和代谢通路预测，结果显示，GEH组的碳固定、能量代谢、氨基酸代谢和酮类合成代谢途径相对减弱，而酸转移酶系统、磷酸戊糖途径和脂类代谢通路相对升高，这些变化来源于支原菌属丰度的改变。



# 宏基因组 + 代谢组学

肠道微生物的氨基酸代谢可能加重肥胖和代谢并发症



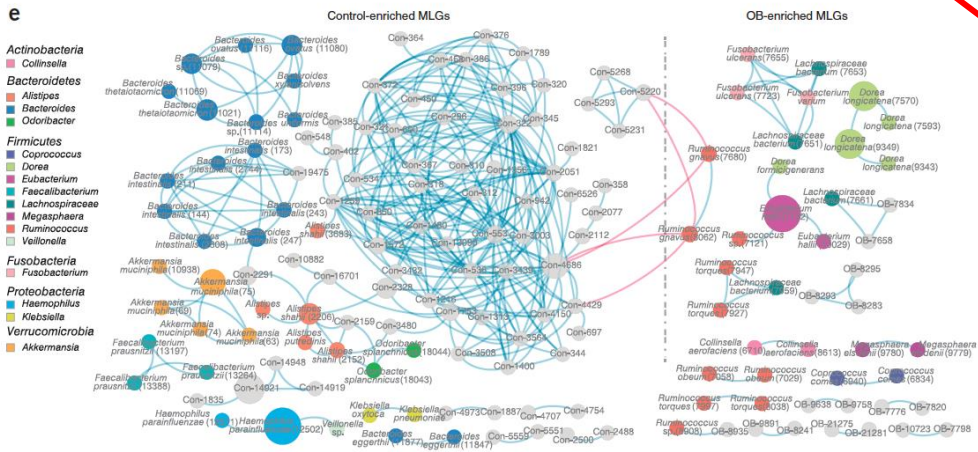
博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

nature  
medicine

## Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention

Ruixin Liu<sup>1,16</sup>, Jie Hong<sup>1,16</sup>, Xiaoqiang Xu<sup>2,3,16</sup>, Qiang Feng<sup>2,4,16</sup>, Dongya Zhang<sup>2,16</sup>, Yanyun Gu<sup>1,16</sup>, Rui Wang<sup>1</sup>, Shaoqian Zhao<sup>4</sup>, Wen Liu<sup>1</sup>, Xiaokai Wang<sup>2,3</sup>, Huihua Xia<sup>2,5</sup>, Zhipeng Liu<sup>2</sup>, Bin Cui<sup>1,6</sup>, Peiwen Liang<sup>1</sup>, Liuqing Xi<sup>1</sup>, Jiabin Jin<sup>7</sup>, Xiayang Ying<sup>7</sup>, Xiaolin Wang<sup>8</sup>, Xinjie Zhao<sup>8</sup>, Wanyu Li<sup>1</sup>, Huijue Jia<sup>2,5,9</sup>, Zhou Lan<sup>1</sup>, Fengyu Li<sup>2</sup>, Rui Wang<sup>1</sup>, Yingkai Sun<sup>1</sup>, Minglan Yang<sup>1</sup>, Yuxin Shen<sup>1</sup>, Zhuye Jie<sup>2,5</sup>, Junhua Li<sup>2,5,9</sup>, Xiaomin Chen<sup>1</sup>, Huanzi Zhong<sup>2,5</sup>, Hailiang Xie<sup>2</sup>, Yifei Zhang<sup>1</sup>, Weiqiong Gu<sup>1</sup>, Xiaxing Deng<sup>7</sup>, Baiyong Shen<sup>7</sup>, Yun Xu<sup>2,5</sup>, Huanming Yang<sup>2,10</sup>, Guowang Xu<sup>8</sup>, Yufang Bi<sup>1</sup>, Shenghan Lai<sup>11</sup>, Jian Wang<sup>2,10</sup>, Lu Qi<sup>12,13</sup>, Lise Madsen<sup>2,14,15</sup>, Jiqui Wang<sup>1</sup>, Guang Ning<sup>1,6</sup>, Karsten Kristiansen<sup>2,5,15</sup> & Weiqing Wang<sup>1</sup>



Liu, Ruixin, et al. "Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention." *Nature medicine* 23.7 (2017): 859.

ARTICLES

宏基因组测序

健康人群、肥胖人群、治疗后的肥胖人群的粪便样本，进行宏基因组测序并分析。得到菌种信息和通路信息。

代谢通路分析

肥胖患者肠道菌群失调，导致其对碳水化合物的利用能力升高；促炎症因子、一些氨基酸产生增高。

非靶向代谢组检测

检测到了148中在正常和肥胖人群中显著差异的代谢物，其中结构确定的13种代谢物，包括了谷氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸等。

关联结果

*F. prausnitzii* 和 *B. thetaiotaomicron* (多形拟杆菌) 可以降低血液中谷氨酸的浓度，从而缓解肥胖。

# 联合分析怎么分析？



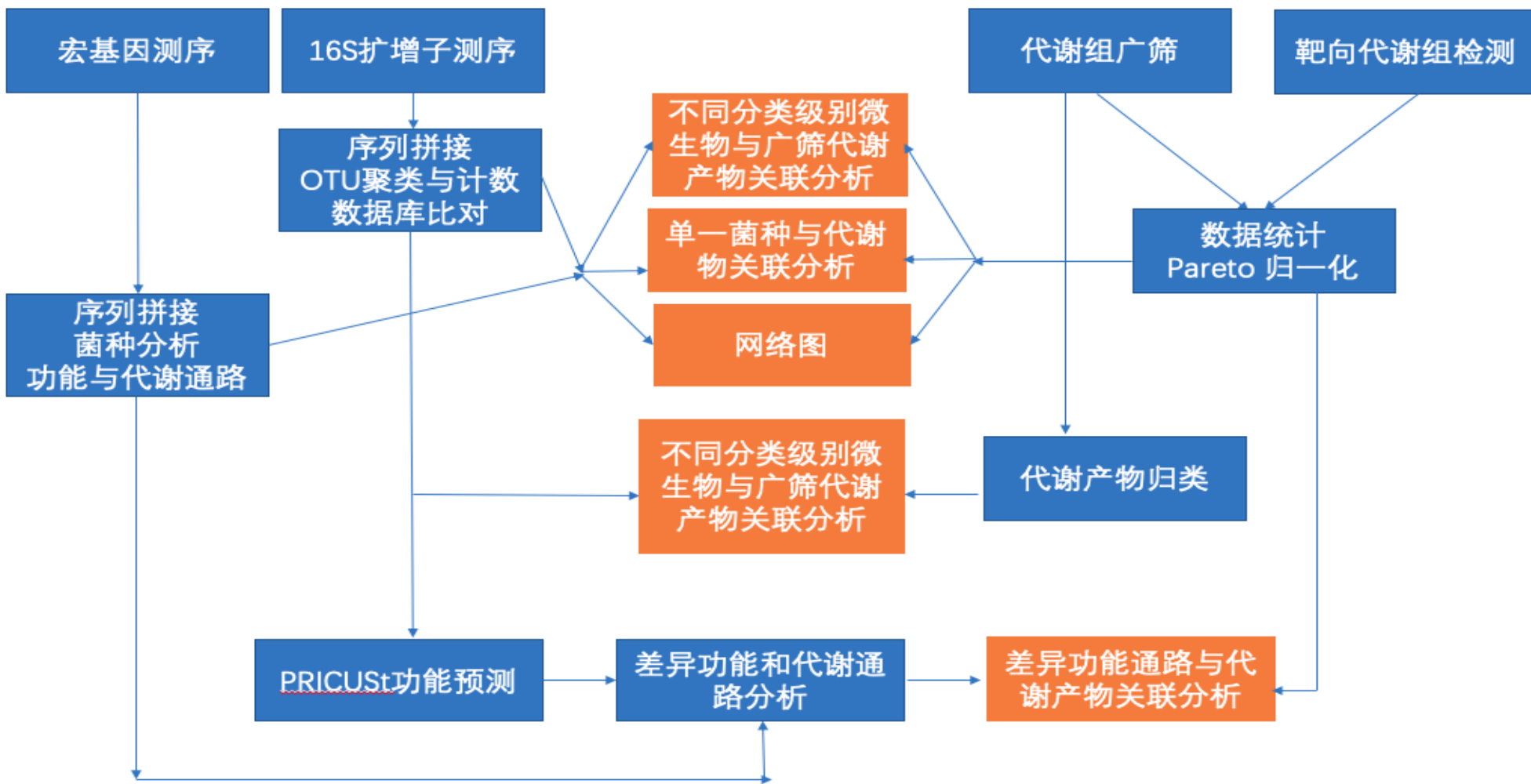
# 联合分析思路

怎么进行联合分析，实验该如何设计？



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

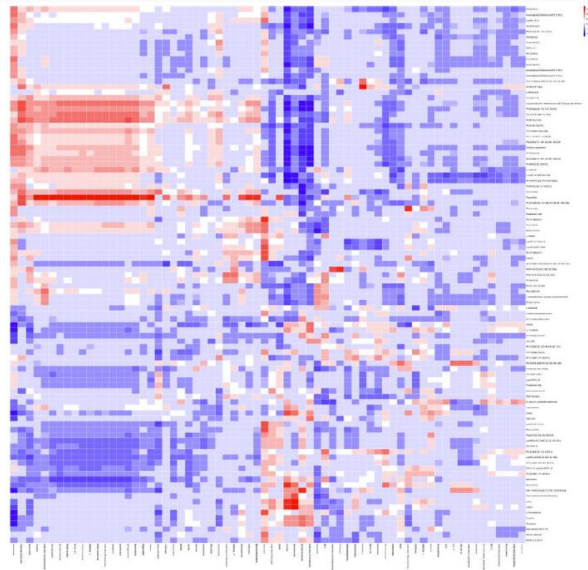
Your own Laboratory  
您的专属实验室



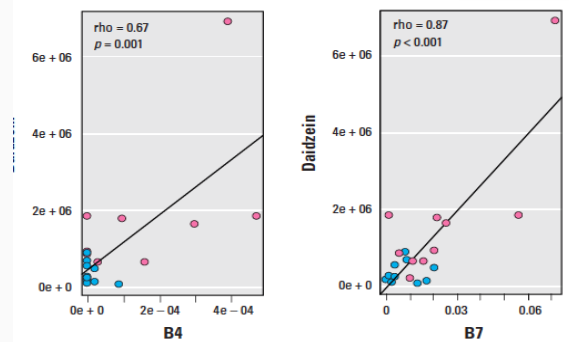
建议:

如做联合分析，建议样本量30对+

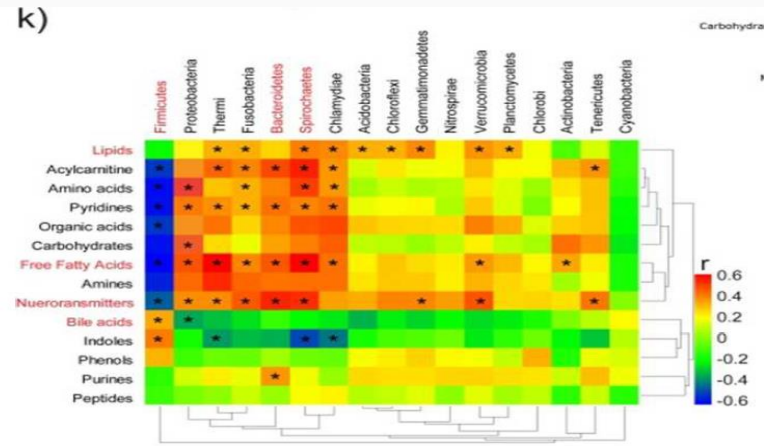
# 联合分析部分结果示意图



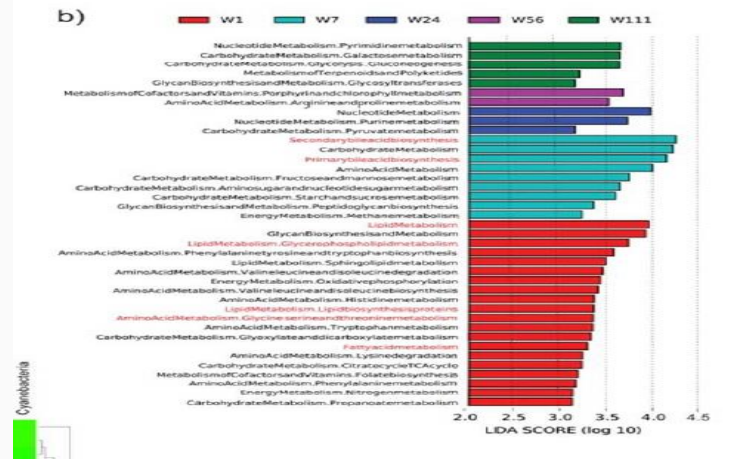
微生物与代谢产物关联分析热图



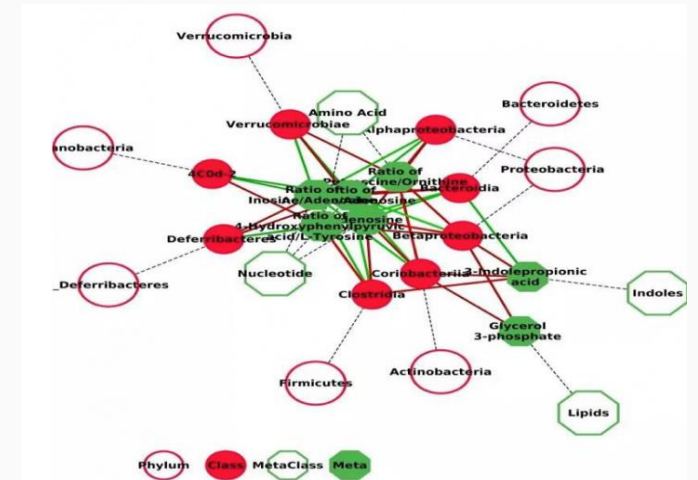
典型微生物/代谢产物散点图分析



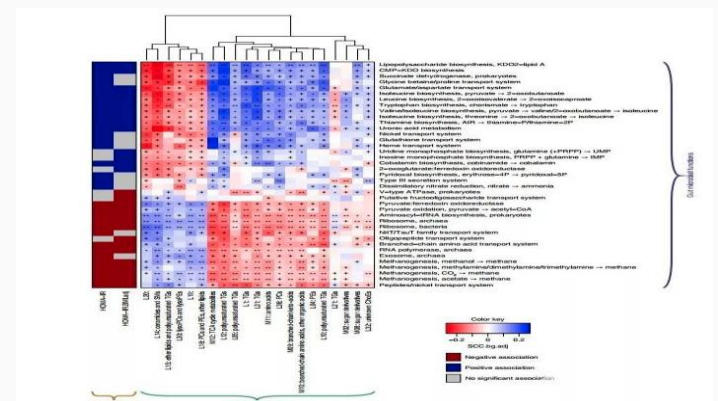
微生物与代谢产物（大类）关联分析热图



差异代谢通路与功能的分析



微生物与代谢产物关联网络图



差异菌种代谢功能与代谢产物关联分析



## 微生物菌种与代谢产物关联分析结果表

Table S1. Pairwise correlation results of every metabolite and every bacterium.

index	bacterium	metabolite	r	p	FDR of p
1	Candidatus Koribacter spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	-0.01	9.69E-01	6.13E-01
2	Candidatus Solibacter spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.02	8.97E-01	5.96E-01
3	Corynebacterium mastitidis	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.26	9.78E-02	1.92E-01
4	Corynebacterium stationis	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.11	4.71E-01	4.44E-01
5	Knoellia subterranea	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.3	5.56E-02	1.37E-01
6	Rothia nasimurium	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.19	2.24E-01	3.03E-01
7	Propionibacterium acnes	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.02	9.17E-01	6.01E-01
8	Bifidobacterium animalis	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.05	7.50E-01	5.52E-01
9	Candidatus Microthrix spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.65	3.83E-06	3.87E-04
10	Actinomyces spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.54	2.54E-04	4.69E-03
11	Georgenia spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.49	9.76E-04	1.10E-02
12	Corynebacterium spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.28	7.66E-02	1.66E-01
13	Glycomyces spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.57	8.93E-05	2.48E-03
14	Knoellia spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.3	5.56E-02	1.37E-01
15	Cryocola spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.65	3.13E-06	3.43E-04
16	Microbacterium spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.43	4.12E-03	2.77E-02
17	Micrococcus spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.31	4.48E-02	1.21E-01
18	Rothia spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.22	1.55E-01	2.48E-01
19	Mycobacterium spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.03	8.65E-01	5.87E-01
20	Rhodococcus spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	-0.02	8.82E-01	5.91E-01
21	Aeromicrobium spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.41	7.03E-03	3.89E-02
22	Kribbella spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.32	3.89E-02	1.11E-01
23	Nocardioides spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.26	1.00E-01	1.94E-01
24	Xylanimicrobium spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.54	2.22E-04	4.33E-03
25	Propionibacterium spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.02	9.17E-01	6.01E-01
26	Jiangella spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.53	3.23E-04	5.44E-03
27	Pseudonocardia spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.39	1.01E-02	4.91E-02
28	Sanguibacter spp	Phosphatidylcholine acyl-alkyl C30:0	0.49	1.04E-03	1.14E-02

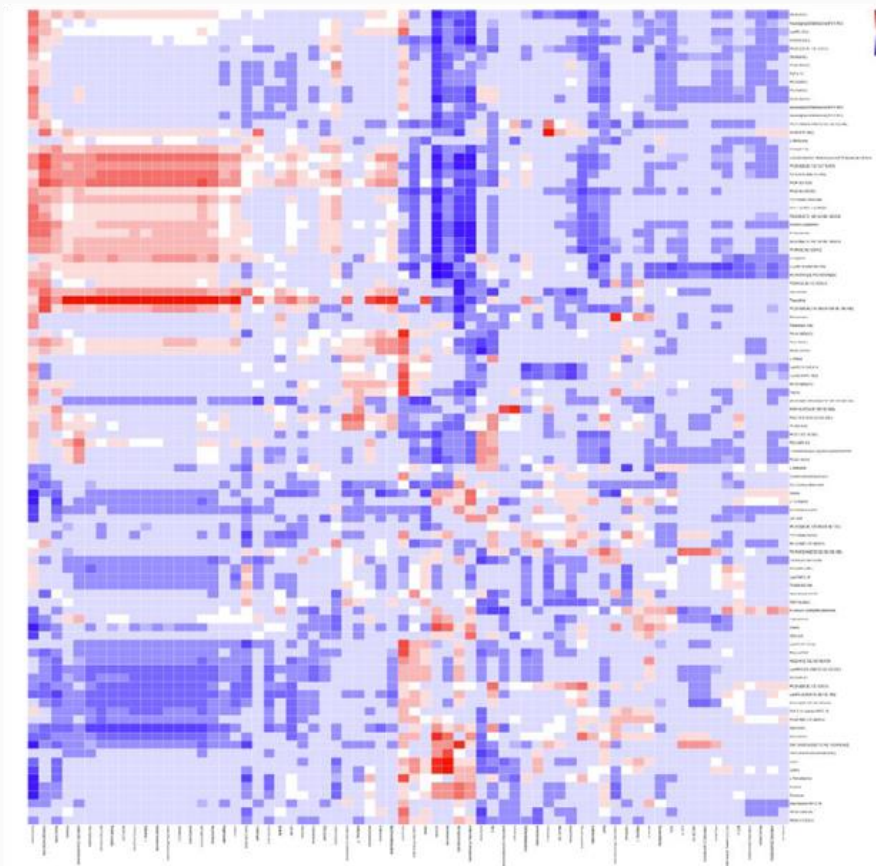
微生物种类与丰度

代谢产物峰面积或者浓度

- 计算关联系数r
- 关联程度p值
- 校正后的p值

Spearman correlation analysis

## 不同分类级别微生物与广筛代谢产物关联分析

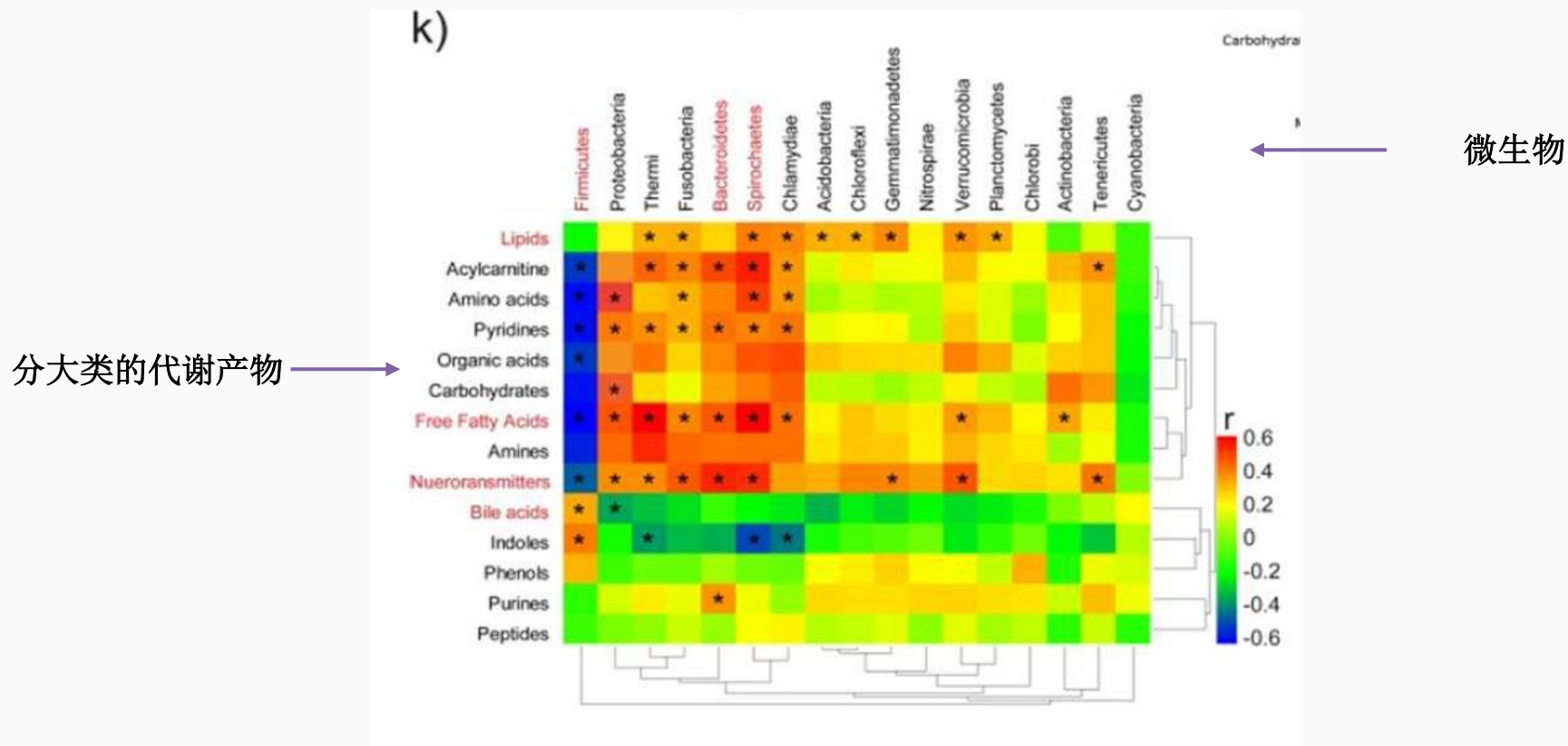


“纲”级别的微生物 ←

→ 代谢产物

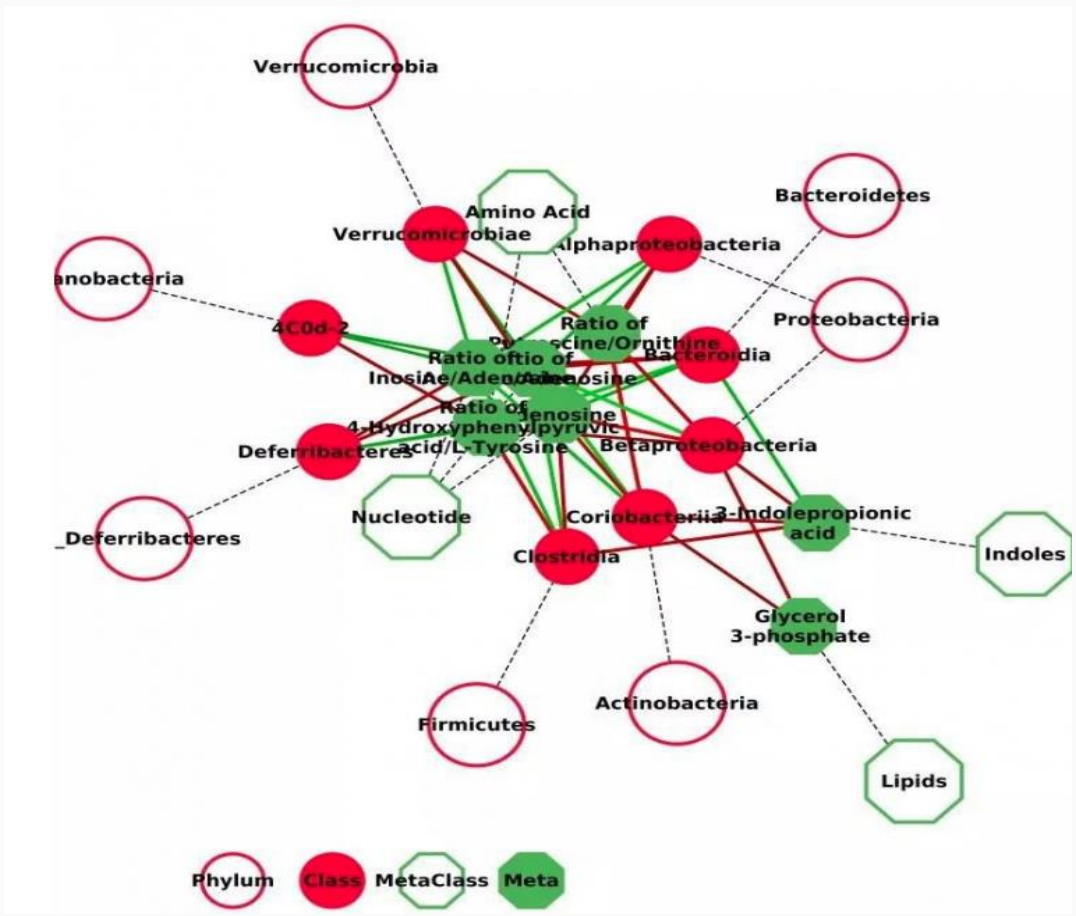
32

## 不同分类级别微生物与广筛代谢产物(大类)关联分析



Chen, Tianlu, et al. "Strategy for an association study of the intestinal microbiome and brain metabolome across the lifespan of rats." Analytical chemistry 90.4 (2018): 2475-2483.

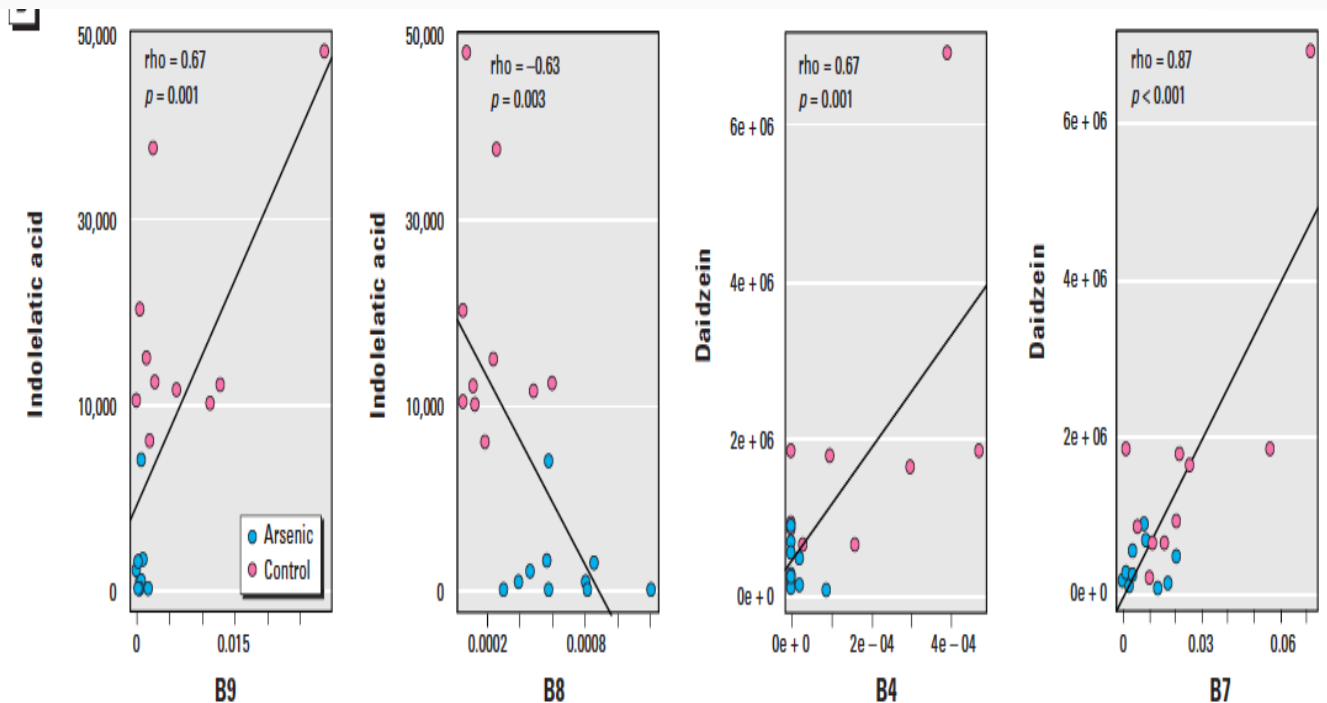
## 微生物与代谢产物关联网路图



红色空心圈：微生物门级别  
红色实心圈：微生物纲级别  
绿色空心圈：代谢产物所属种类  
绿色实心圈：具体代谢产物

实线的长短代表关联性的强弱

## 典型微生物/代谢产物散点图分析



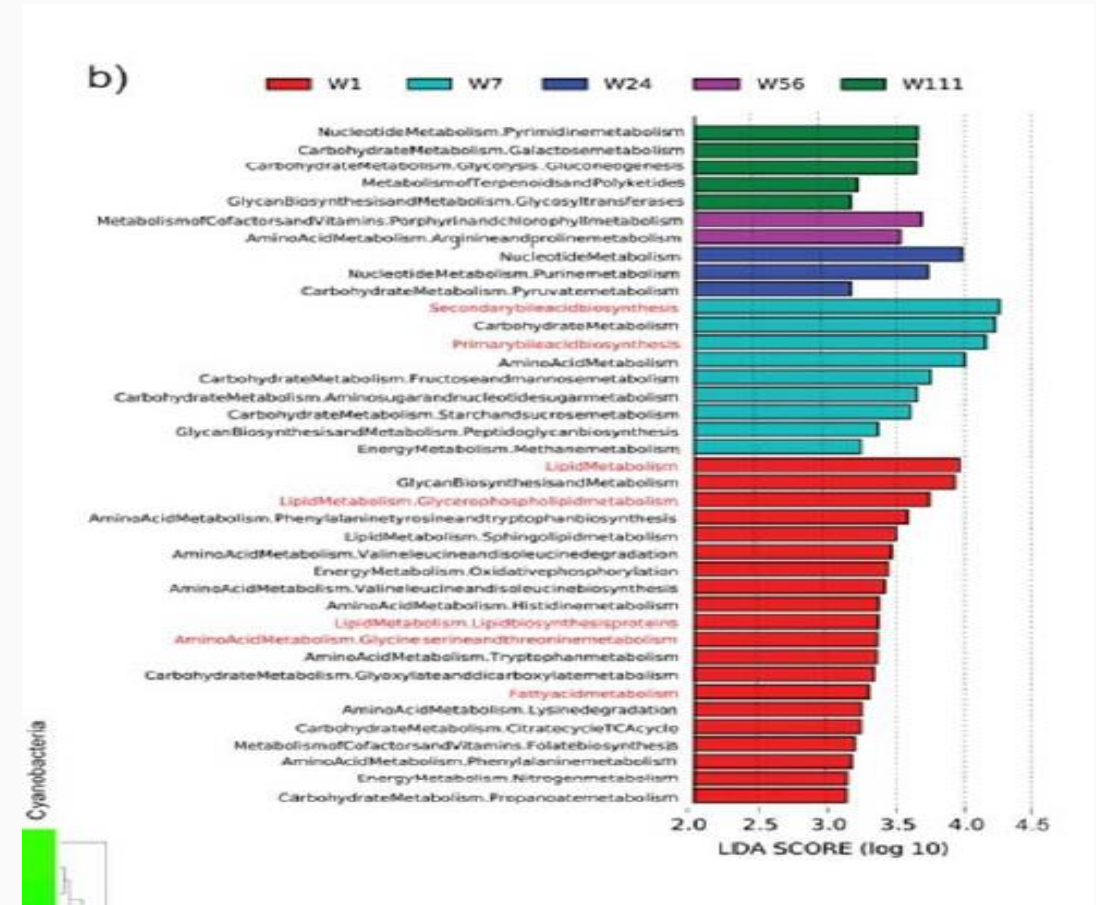
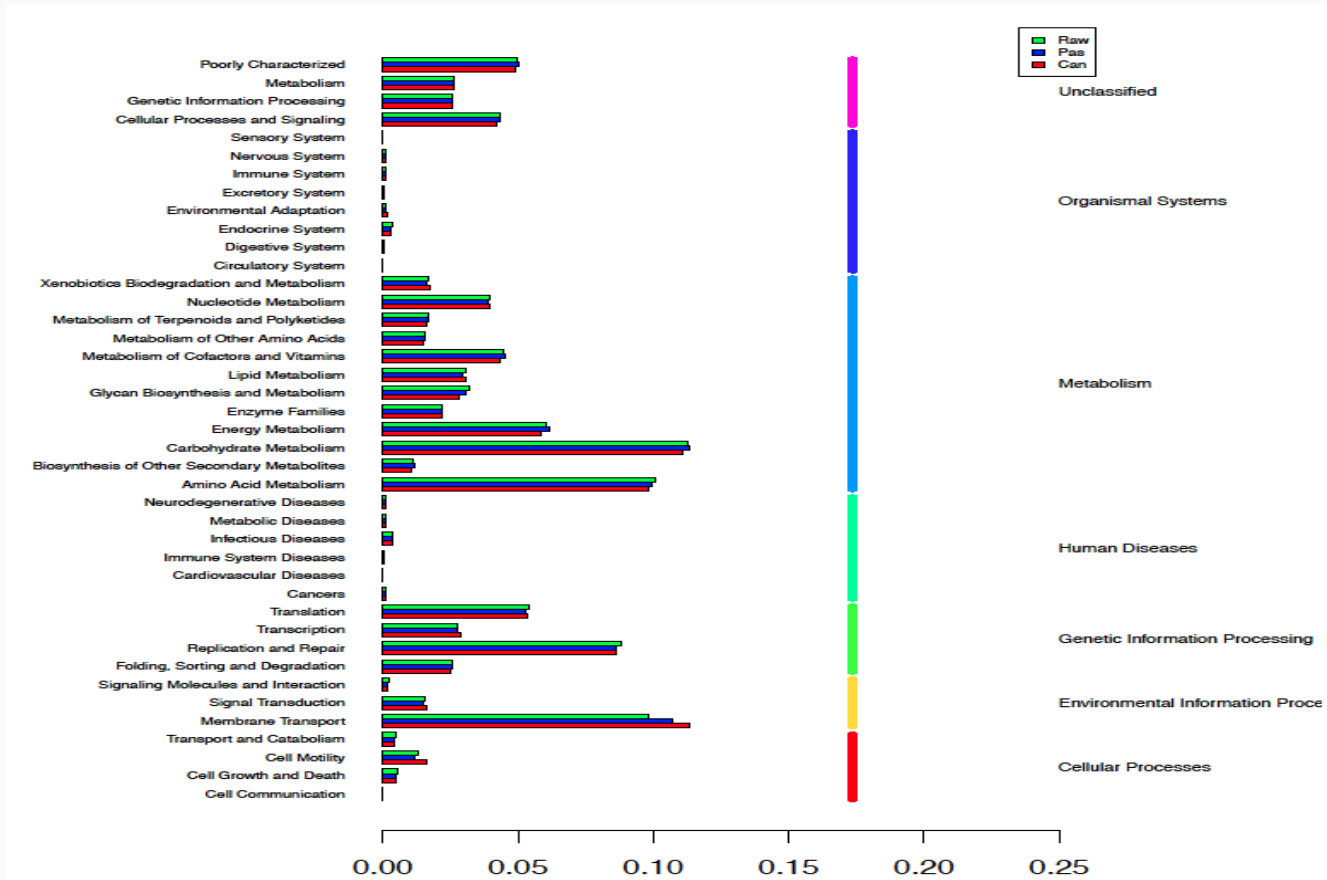
横坐标为具体微生物

纵坐标是代谢产物

不同颜色的点代表不同分组样本

Lu, Kun, et al. "Arsenic exposure perturbs the gut microbiome and its metabolic profile in mice: an integrated metagenomics and metabolomics analysis." *Environmental health perspectives* 122.3 (2014): 284-291.

## 差异代谢通路与功能的分析

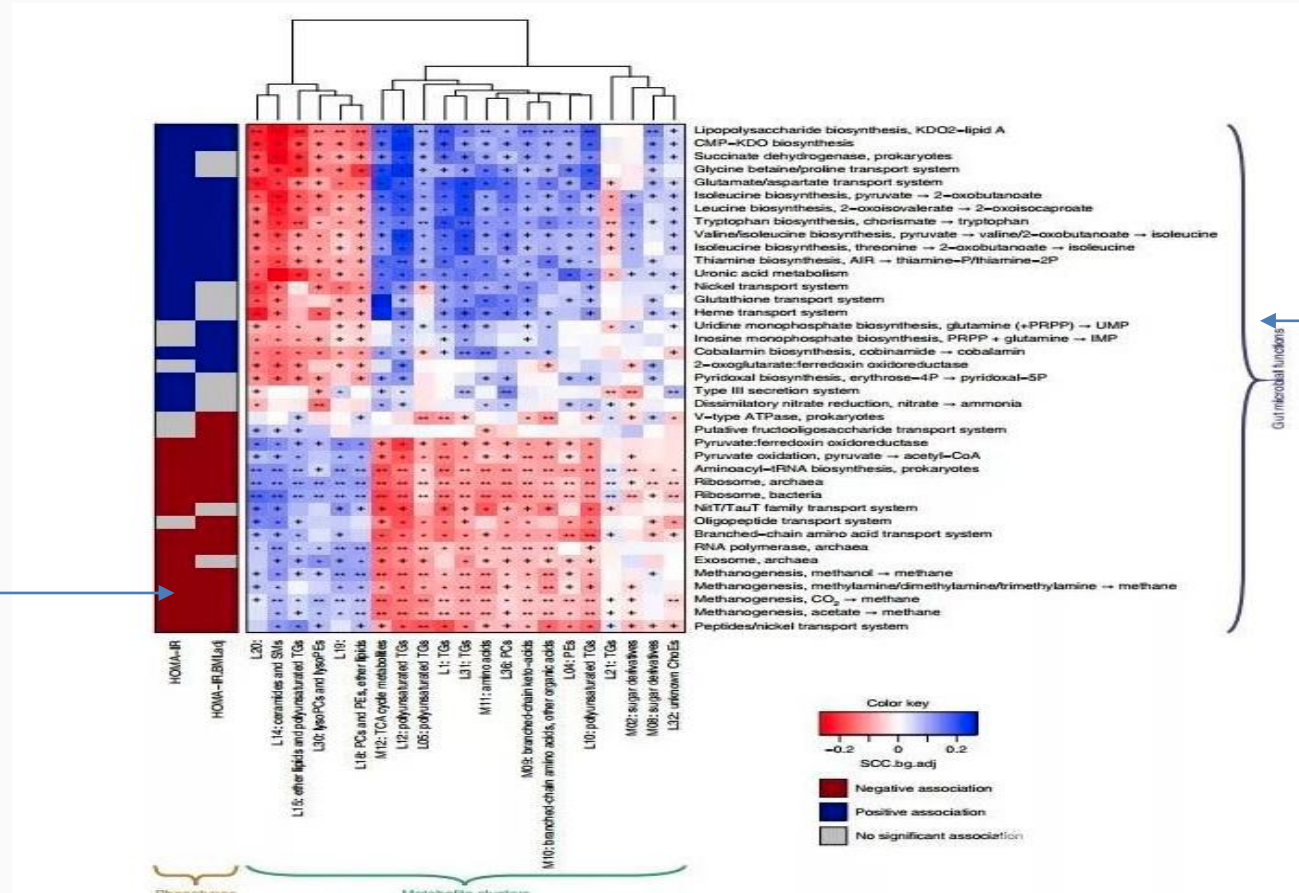


PIRCUST功能预测KEGG通路图

LefSe分析组间差异代谢通路

## 差异菌种代谢功能与代谢产物关联分析

代谢产物



代谢功能与通路

Pedersen, Helle Krogh, et al. "Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity." Nature 535:7612 (2016): 376.



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

如何根据代谢物查询关键调控基因？





# 代谢通路调控蛋白及转运酶基因--HMDB



博淼生物  
BIOMIAO BIOLOGICAL  
-SINCE2009-

Your own Laboratory  
您的专属实验室

Class 代谢物种类	代谢物名称	HMDB数据库编号
Amino Acid	Asparagine	HMDB0000168
Amino Acid	Glutamic acid	HMDB0000148
Amino Acid	O-acetylserine	HMDB0003011

Jump To Section: Identification Taxonomy Ontology Physical properties Spectra Biological properties Concentrations Links References enzymes (11) transporters (2) Show 13 proteins XML

**General function:** Involved in sodium dicarboxylate symporter activity  
**Specific function:** Has a broad substrate specificity, a preference for zwitterionic amino acids, and a sodium-dependence. It accepts as substrates all neutral amino acids, including glutamine, asparagine, and branched-chain and aromatic amino acids, and excludes methylated amino acids, anionic amino acids, and cationic amino acids. Act as a cell surface receptor for feline endogenous virus RD114, baboon M7 endogenous virus and type D simian retroviruses  
**Gene Name:** SLC1A5  
**Uniprot ID:** Q15758  
**Molecular weight:** 56597.6

**2. Sodium-coupled neutral amino acid transporter 3** Enzyme Details

**General function:** Amino acid transport and metabolism  
**Specific function:** Sodium-dependent amino acid/proton antiporter. Mediates electrogenic cotransport of glutamine and sodium ions in exchange for protons. Also recognizes histidine, asparagine and alanine. May mediate amino acid transport in either direction under physiological conditions. May play a role in nitrogen metabolism and synaptic transmission  
**Gene Name:** SLC38A3  
**Uniprot ID:** Q99624  
**Molecular weight:** 55772.4

Only showing the first 10 proteins. There are 13 proteins in total. Show all enzymes and transporters



# 代谢通路调控蛋白及转运酶基因--HMDB

Showing metabocard for L-Asparagine (HMDB0000168)

Jump To Section:

Identification

Taxonomy

Ontology

Physical properties

Spectra

Biological properties

Concentrations






Links

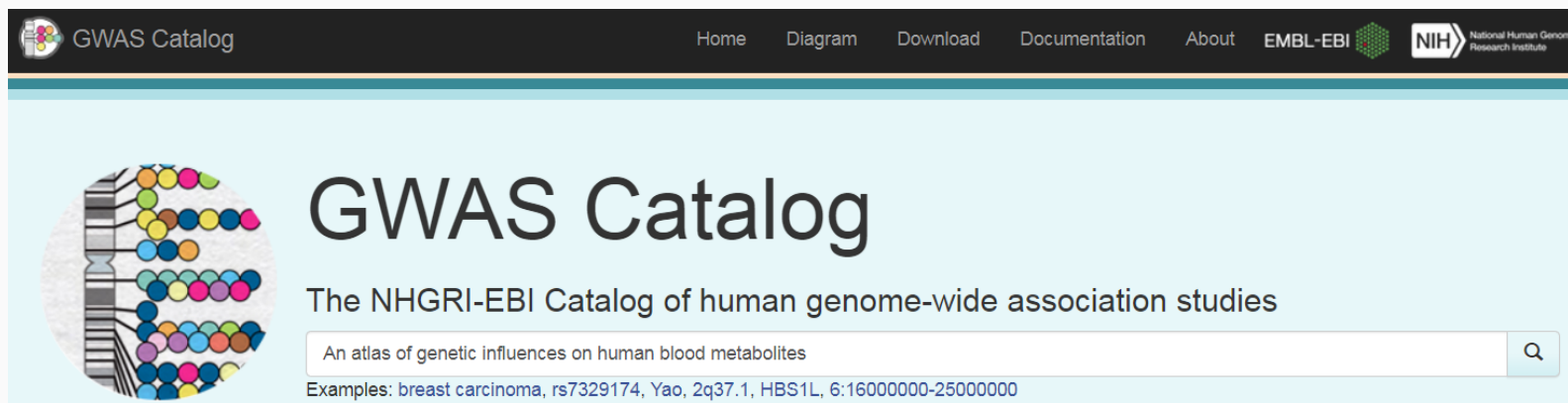
enzymes (11)

transporters (2)

Show 13 proteins

Displaying all 13 metabolite protein links

HMDBP ID ↓↑	Name ↓↑	UniProt ID ↓↑	Gene Name ↓↑	Locus ↓↑	Type ↓↑	References
HMDBP00583	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing]	P08243 	ASNS	7q21.3	Enzyme	Not Available
HMDBP01955	Neutral amino acid transporter B(0)	Q15758 	SLC1A5	19q13.3	Transporter	Not Available
HMDBP01589	Dolichyl- diphosphooligosaccharide-- protein glycosyltransferase subunit 1	P04843 	RPN1	3q21.3	Enzyme	Not Available
HMDBP01591	Dolichyl- diphosphooligosaccharide-- protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	P39656 	DDOST	1p36.1	Enzyme	Not Available
HMDBP01592	Dolichyl- diphosphooligosaccharide-- protein glycosyltransferase subunit 2	P04844 	RPN2	20q12-q13.1	Enzyme	Not Available



The screenshot shows the GWAS Catalog website. At the top, there is a navigation bar with links for Home, Diagram, Download, Documentation, and About, along with logos for EMBL-EBI and NIH. The main content area features a large heading "GWAS Catalog" and a sub-heading "The NHGRI-EBI Catalog of human genome-wide association studies". Below this is a search bar containing the text "An atlas of genetic influences on human blood metabolites" and a search icon. Underneath the search bar, there are example search terms: "Examples: breast carcinoma, rs7329174, Yao, 2q37.1, HBS1L, 6:16000000-25000000".

检索: An atlas of genetic influences on human blood metabolites

**P** An atlas of genetic influences on human blood metabolites. 

Shin SY et al. 2014 Nat Genet PMID:24816252

Associations **299** Studies **2**



## MetaboAnalyst: 人类代谢组学数据库HMDB衍生出代谢组学数据处理平台

**MetaboAnalyst - statistical, functional and integrative analysis of metabolomics data**

Choose one of the following options to proceed

- ▶ A list of compound names (over representation analysis)
- ▶ A list of compounds with concentration values (single sample profiling)
- ▼ A concentration table (quantitative enrichment analysis)

**Upload your concentration data (.csv or .txt)**

Group Label:  Discrete (Classification)  Continuous (Regression)

ID Type:

Data Format:

Data File:  未选择任何文件

---

**Try our test data:**

Data	ID Type	Group Label	Description
<input checked="" type="radio"/> <a href="#">Data 1</a>	Common name	Discrete	Urinary metabolite concentrations from 77 cancer patients measured by 1H NMR. Phenotype: <b>N</b> - cachexic; <b>Y</b> - control
<input type="radio"/> <a href="#">Data 2</a>	PubChem CID	Continuous	Urinary metabolite concentrations from 97 cancer patients measured by 1H NMR. Phenotype: <b>muscle gain</b> (percentage within 100 days, negative values indicate muscle loss)

Xia Lab @ McGill (last updated 2020-07-03)

# 博淼技术服务项目一览图

## 基因组学服务

- GWAS 芯片/WES-seq/Target NGS-seq
- Massarray /Multi-PCR NGS/Taqman /KASP SNP分型
- 16S扩增子测序/宏基因组测序
- HLA-seq/TCR&BCR-seq

## 表观基因组学服务

- EWAS 芯片
- Multi-PCR NGS 靶向DNA甲基化定量
- Massarray 靶向DNA甲基化定量

## 代谢组学服务

- 非靶向代谢组
- 非靶向脂质组
- 靶向代谢组项目系列

## 转录组学服务

- 转录组NGS/表达谱芯片
- RT-qPCR 靶向转录本定量

## 蛋白质组学服务

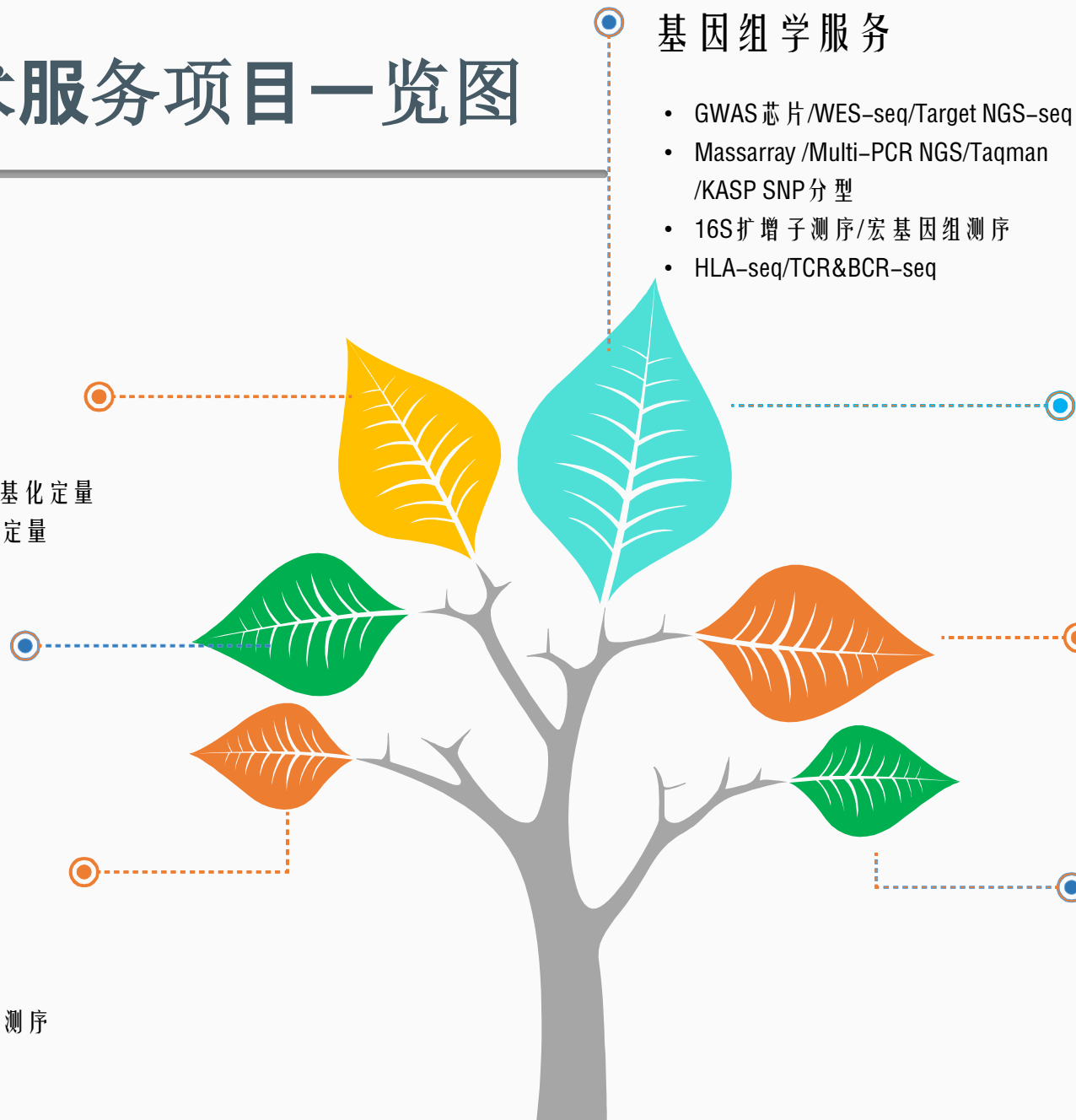
- DIA定量蛋白质组/iTRAQ&TMT定量蛋白质组/Label free定量蛋白质组
- PRM靶向蛋白/Olink蛋白定量/ELISA
- 修饰蛋白质组
- 高密度自身抗体蛋白芯片

## 单细胞组学服务

- 单细胞转录组测序
- 单细胞免疫组库测序
- 单细胞ATAC测序&转录组测序
- 空间转录组测序

## 多组学联合研究服务

- GWAS&多组学技术服务
- EWAS&多组学技术服务
- 微生物基因组&代谢组技术服务
- 蛋白质组&代谢组技术服务



# 感谢各位的聆听

## Your own Laboratory

——您的专属实验室

