

微生物研究及多组学联合应用方案解析

BioMiao Biological Technology (Beijing) Co., Ltd

目录

CONTENTS

01

微生物研究背景概述

Microbiological research background

02

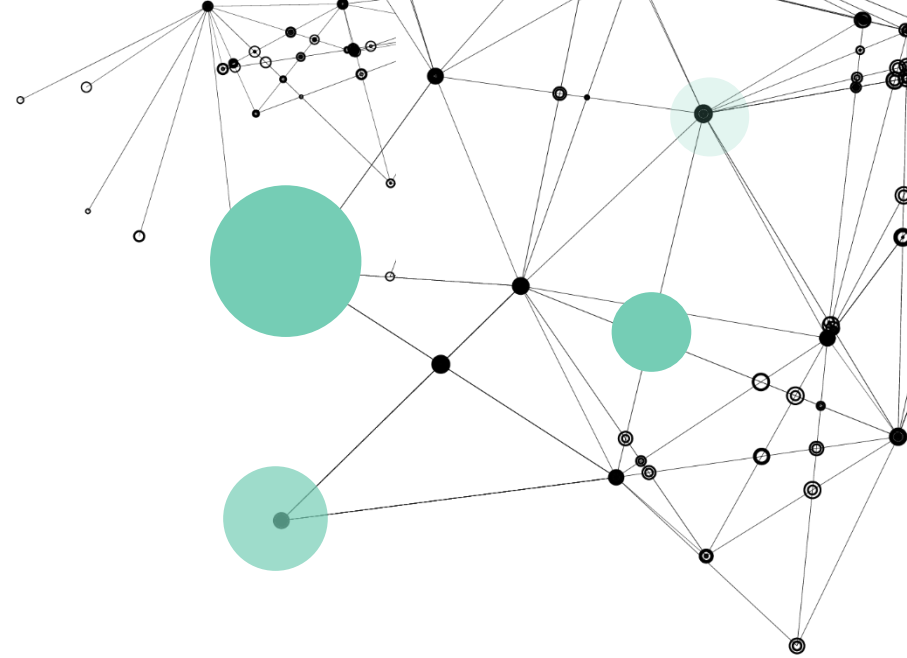
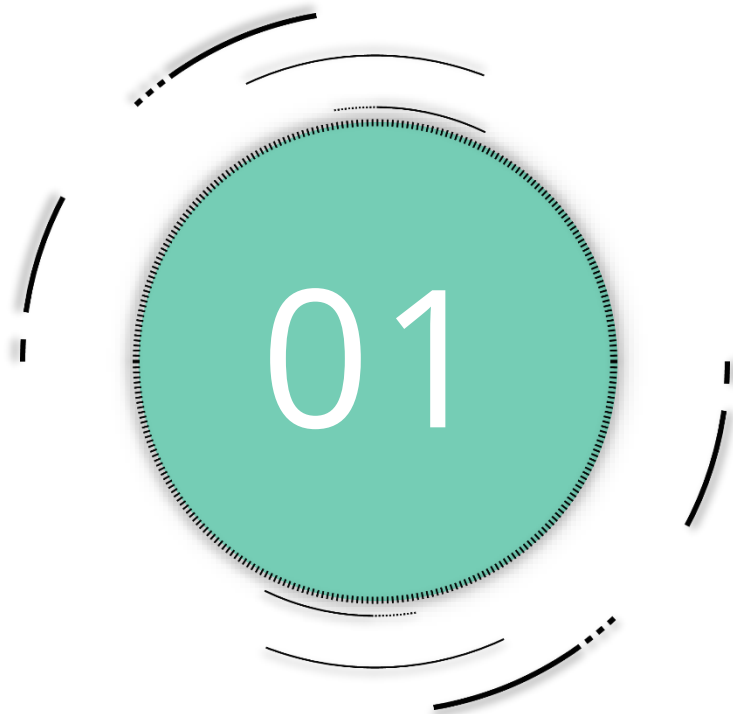
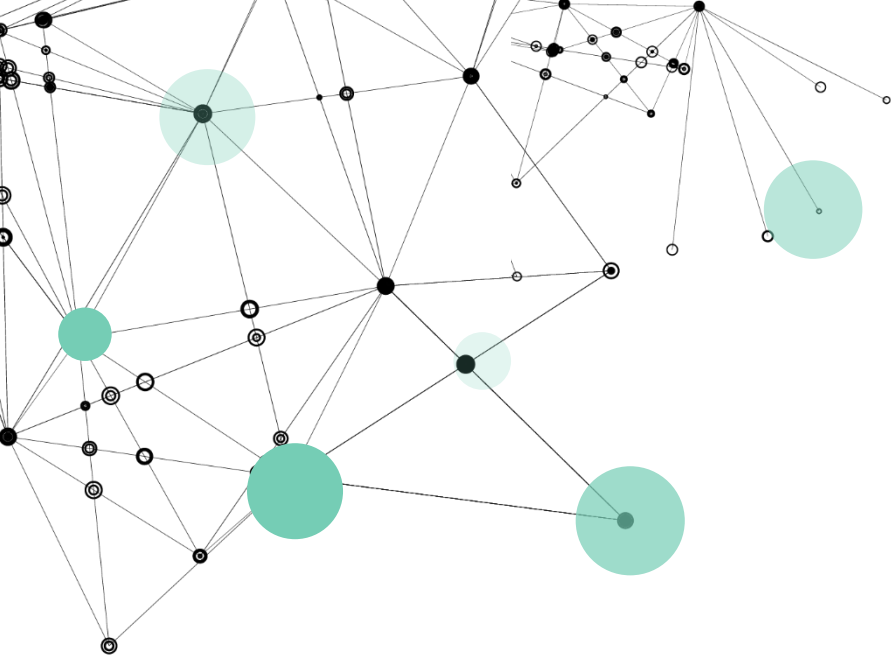
微生物基因组学研究策略

Microbial Genomics Research Strategy

03

博淼精致技术服务

BioMiao's exquisite service



微生物研究背景概述

Microbiological research background



人类微生物组

是指与人体互生、共生和致病的所有微生物及其遗传物质的总和

人体的另一器官

- ✓ 微生物数量是人体细胞数量的**10倍**;
- ✓ 微生物基因数量是人基因数量的**100倍**;
- ✓ 微生物普遍分布于人体的各个部位, 如皮肤、呼吸道、胃肠道、泌尿生殖系统等;
- ✓ 人肠道微生物: 常见1000多种
- ✓ 肠道细菌: 约 4×10^{13} 个



促进营
养吸收

增强免疫
功能

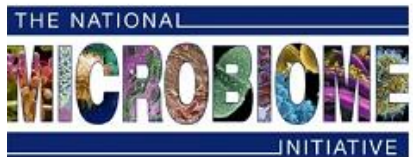
缓解肠道
炎症

改善肠易
激症状

防治肿瘤
疾病

调节血糖
血脂

美国NMI计划



2016年
国家微生物组计划
投资5.21亿美元

National Microbiome
Initiative
简称:NMI

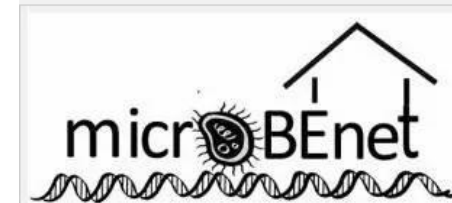
美国Hospital Microbiome计划

Hospital
Microbiome

This study aims to collect microbial samples from surfaces, air, staff, and patients from the University of Chicago's new hospital pavilion in order to better understand the factors that influence bacterial population development in healthcare environments.



Home Microbiome计划



欧盟MetaHIT计划



2010年
人类肠道宏基因组计划
投资2200万欧元

Metagenomics of the Human
Intestinal Tract
简称:Meta-HIT

美国和欧盟启动的HMP计划



2007年
人类微生物组计划
投资1.5亿美元

Human Microbiome Project
简称: HMP

MetaGenoPolis (MGP) 计划



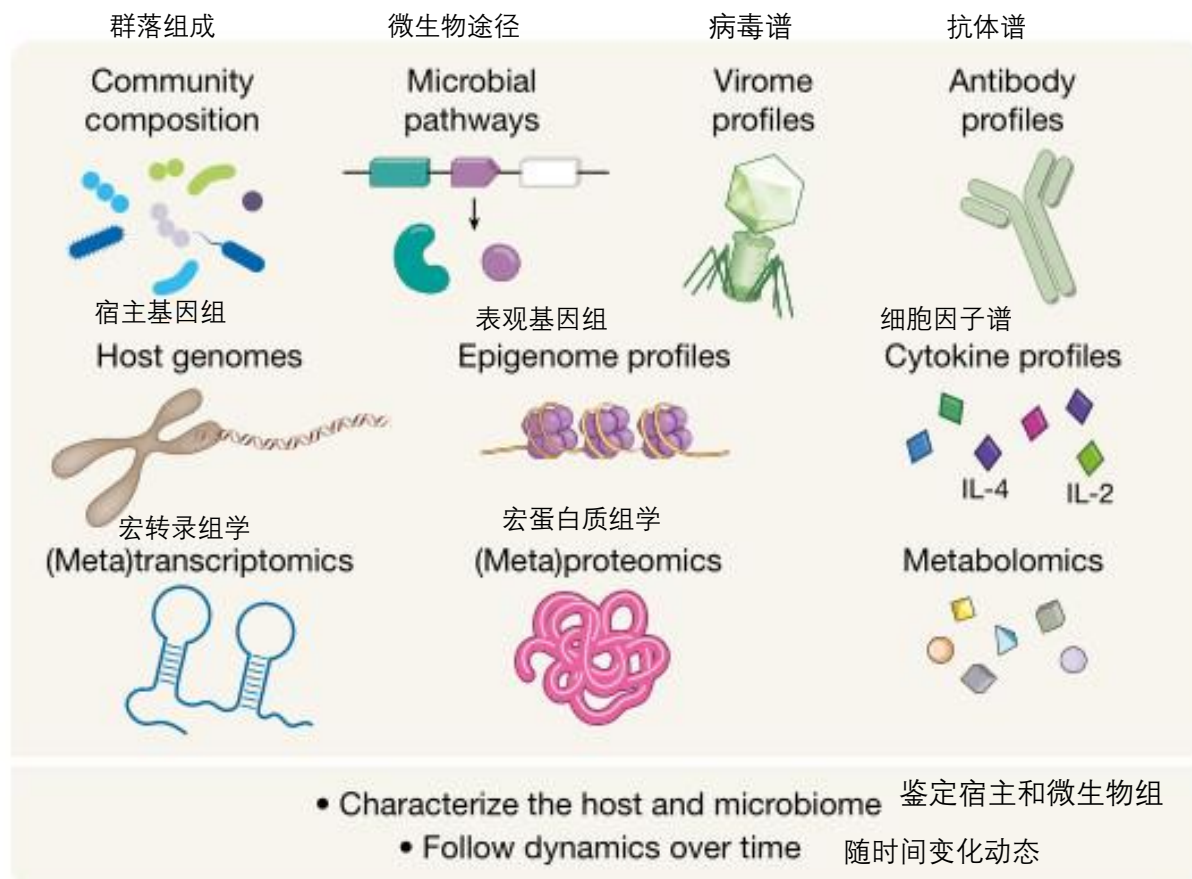
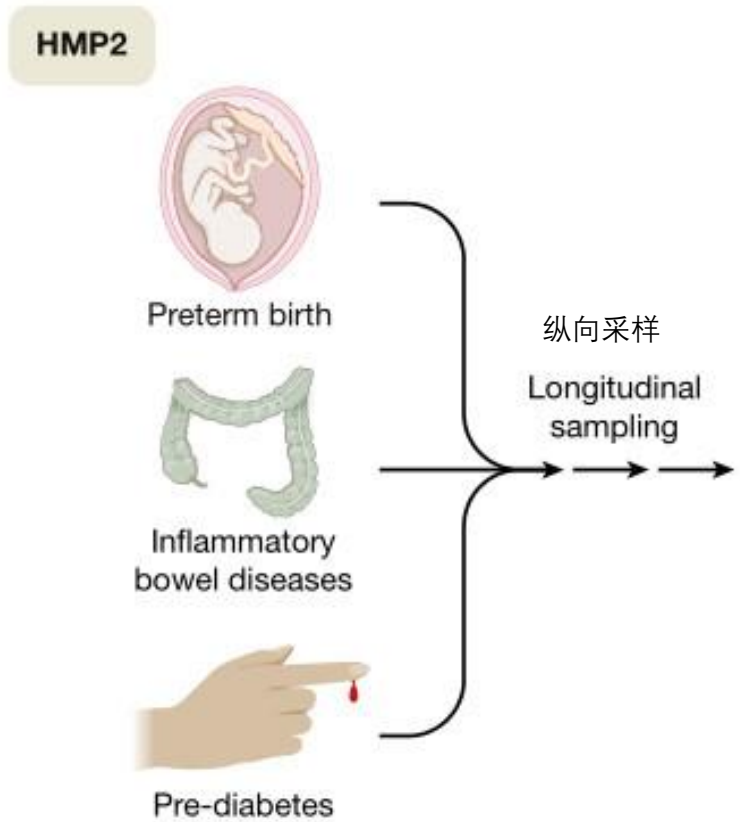
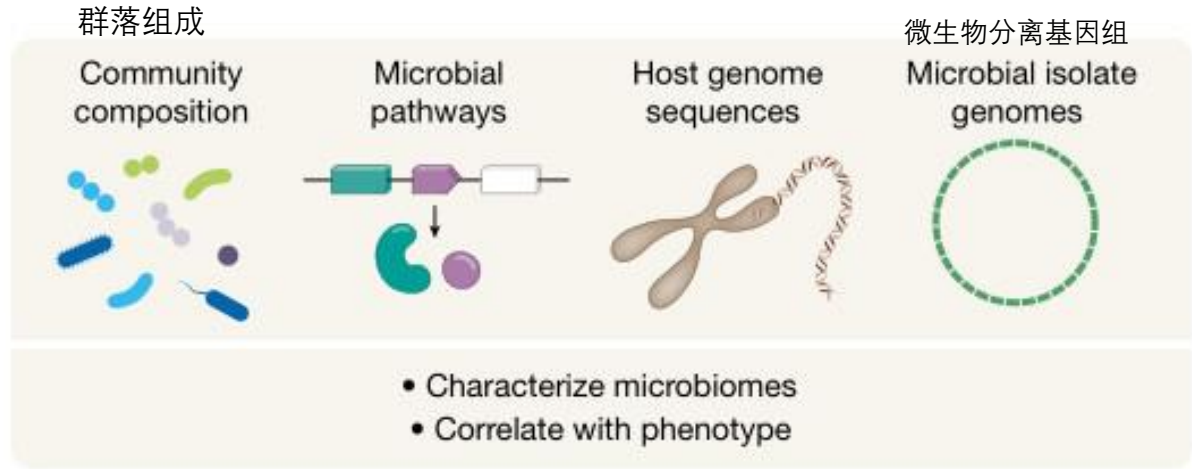
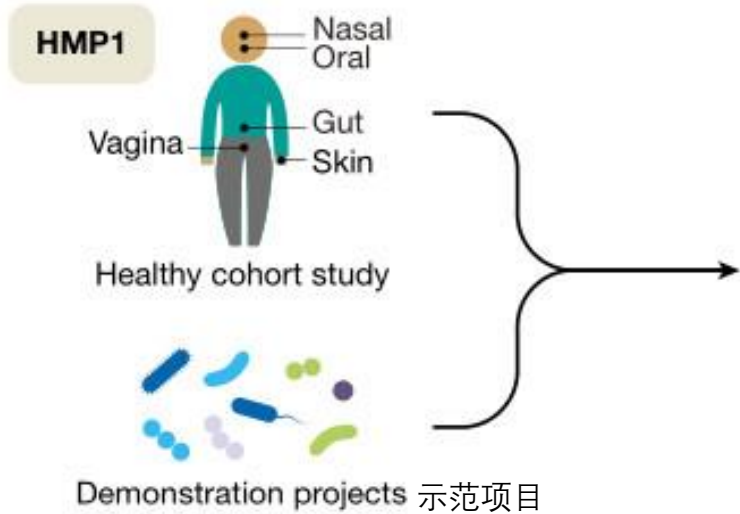
2014年
综合人体微生物组计划



The Integrative Human
Microbiome Project
简称: iHMP

SkinDeep Microbiome计划

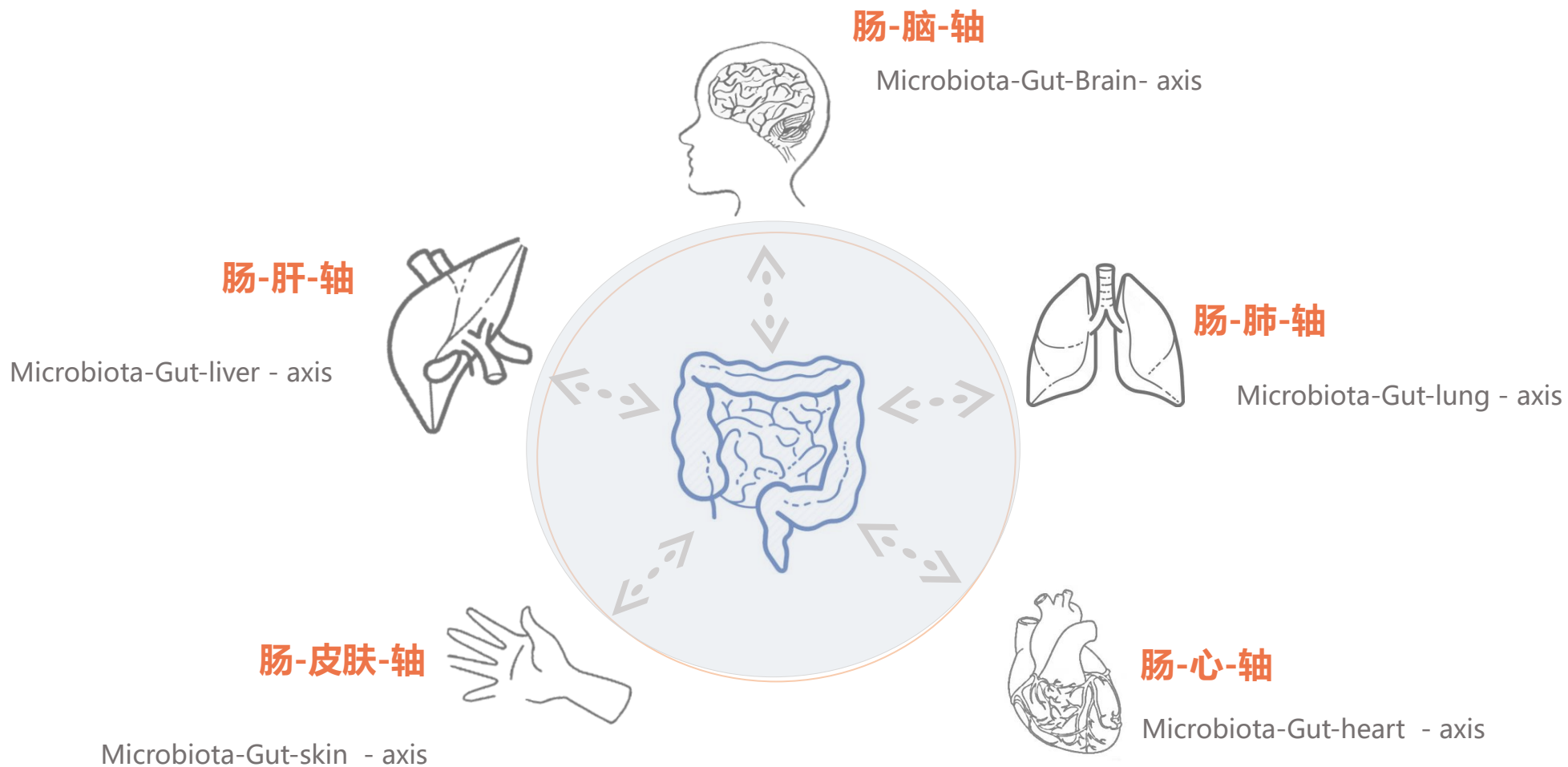
加拿大人的Microbiome计划



HMP DCC
Data, tools,
protocols

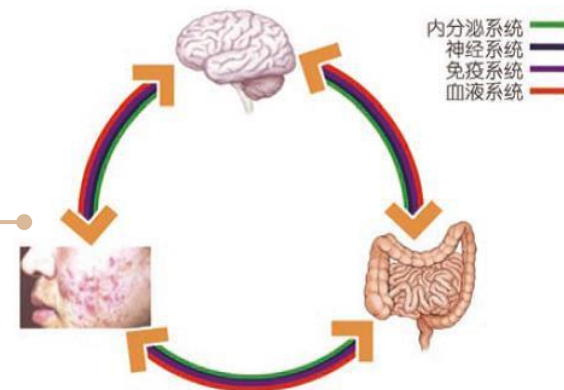
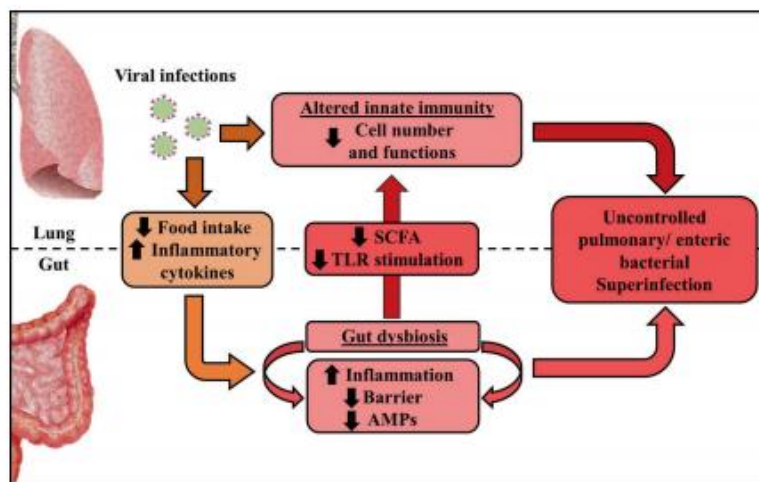
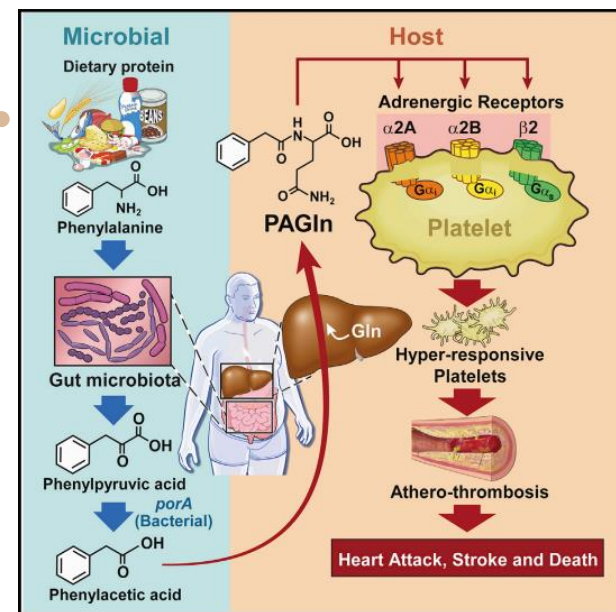
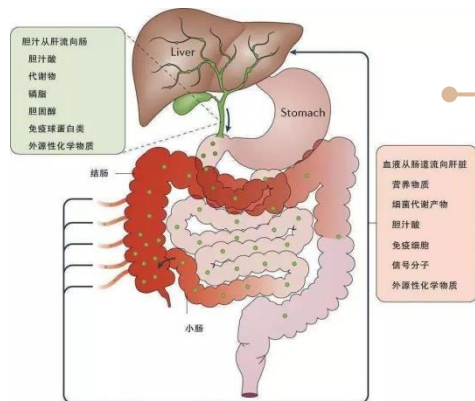
肠道和多器官（系统）相互作用

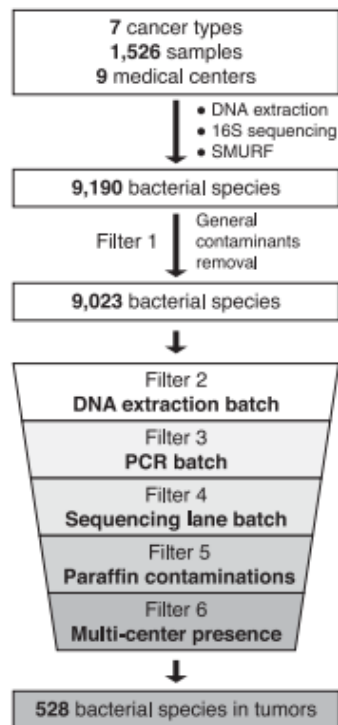
The interaction of the intestine and multiple organs



肠肝轴，肠心轴，肠肺轴，肠皮肤轴

肠道与器官之间接（相互）的作用与疾病发生发展有密切联系





受试者的多样性和个体差异



研究的覆盖面还相对狭窄



分析与实验验证及应用开发方面的原创性工作还不多见



未能实现针对重大问题，跨领域、跨部门的“联合作战”，资源与数据方面未能真正实现共享



系统性研究体系的完善还有待进步



开发微生物组大数据处理的新方法



具有丰富的环境和生物资源与综合集成平台



从相关性发现到因果机制解析的转化



从研究型资源知识积累到工程性产品措施应用的转化



研究方法及应用的新技术平台

nature
medicine

1

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

Ruixin Liu^{1,16}, Jie Hong^{1,16}, Xiaoqiang Xu^{2,3,16}, Qiang Feng^{2,4,16}, Dongya Zhang^{2,16}, Yanyun Gu^{1,16}, Juan Shi¹, Shaoqian Zhao¹, Wen Liu¹, Xiaokai Wang^{2,3}, Huihua Xia^{2,5}, Zhipeng Liu², Bin Cui^{1,6}, Peiwen Liang¹, Liuqing Xi¹, Jiabin Jin⁷, Xiayang Ying⁷, Xiaolin Wang⁸, Xinjie Zhao⁸, Wanyu Li¹, Huijue Jia^{2,5,9}, Zhou Lan², Fengyu Li², Rui Wang¹, Yingkai Sun¹, Minglan Yang¹, Yuxin Shen¹, Zhuye Jie^{2,5}, Junhua Li^{2,5,9}, Xiaomin Chen², Huanzi Zhong^{2,5}, Hailiang Xie², Yifei Zhang¹, Weiqiong Gu¹, Xiaxing Deng⁷, Baiyong Shen⁷, Xun Xu^{2,5}, Huanming Yang^{2,10}, Guowang Xu⁸, Yufang Bi¹, Shenghan Lai¹¹, Jian Wang^{2,10}, Lu Qi^{12,13}, Lise Madsen^{2,14,15}, Jiqiu Wang¹, Guang Ning^{1,6}, Karsten Kristiansen^{2,5,15} & Weiqing Wang¹

nature
genetics

3

Letter | Published: 18 February 2019

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

ARTICLES

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 Longerich, 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

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](#)

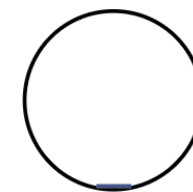
肿瘤组织、石蜡切片 (FFPE)、各种拭子 (皮肤/口腔/眼表等)
各种体液 (唾液、脑脊液、灌洗液、尿液等)、血液 (全血) 等等



正常



高宿主



低生物量

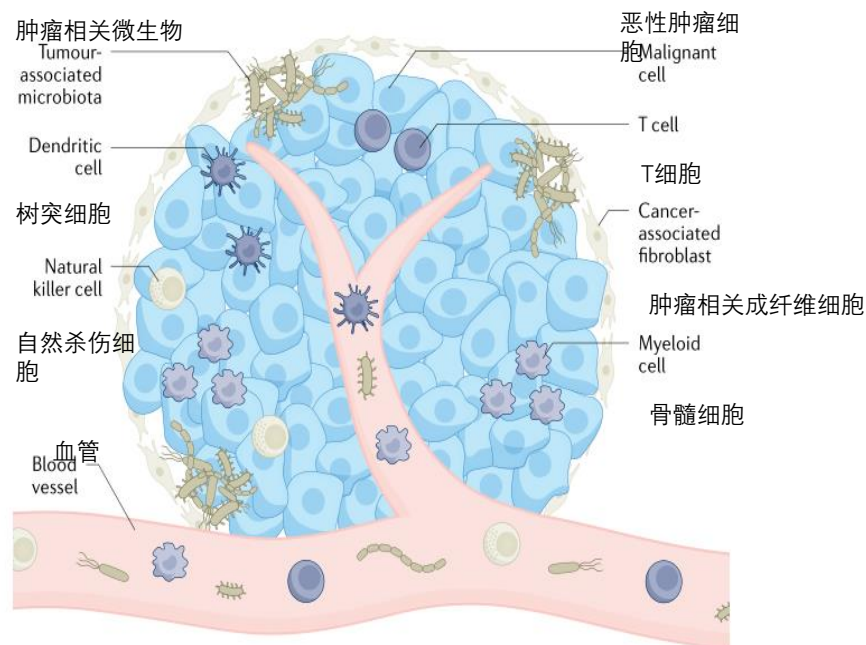
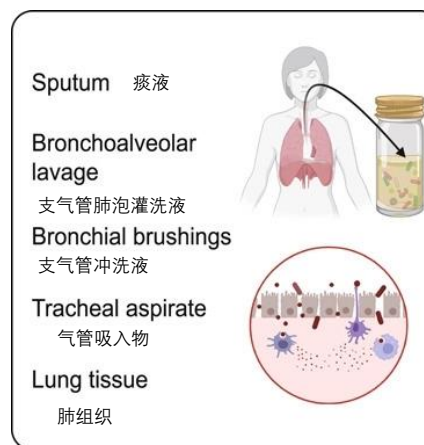
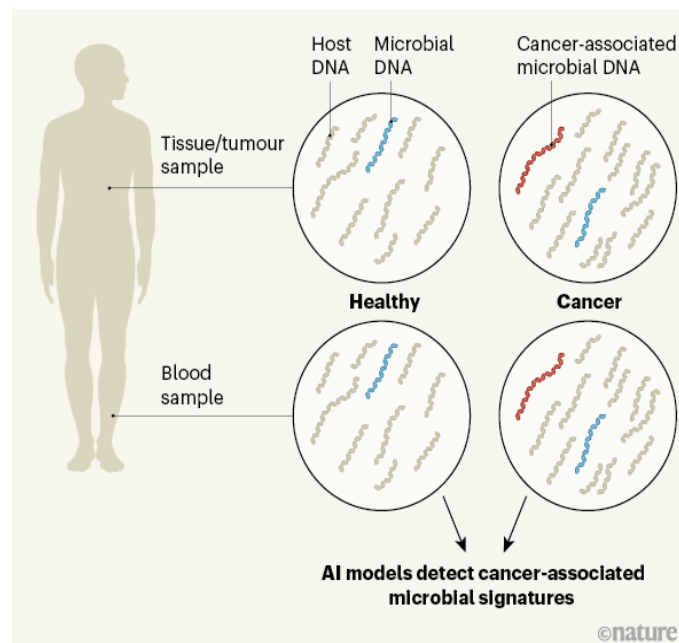
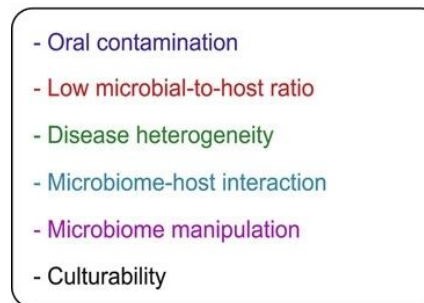


Fig. 1 | **The tumour-associated microbiota.** The schematic shows the key components of the tumour microenvironment, including a resident microbiota.

肿瘤微环境



Sampling



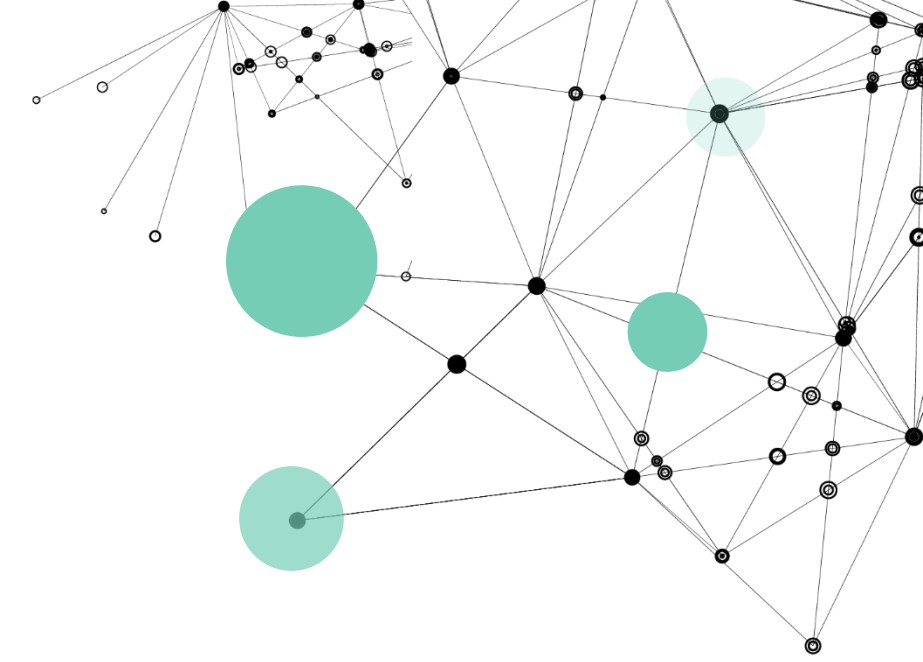
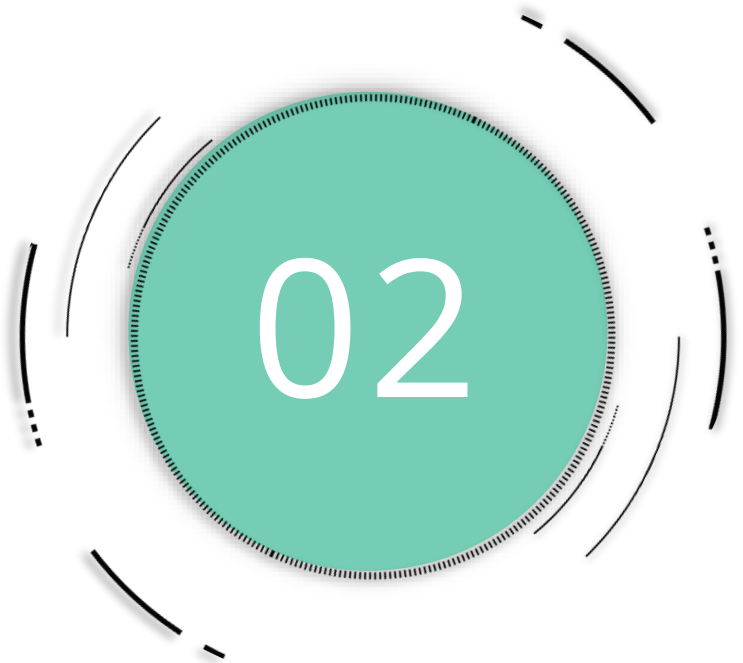
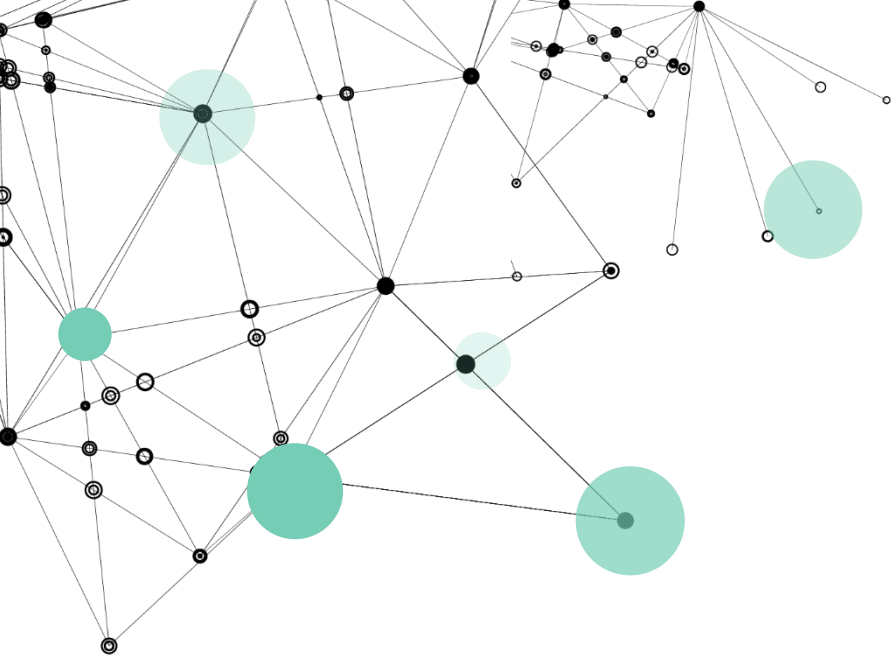
Challenges

iMeta

REVIEW ARTICLE | [Open Access](#) | [CC](#) | [i](#)

The human lung microbiome—A hidden link between microbes and human health and diseases

Xinzhu Yi, Jingyuan Gao, Zhang Wang [✉](#)First published: 16 June 2022 | <https://doi.org/10.1002/imt2.33>



微生物研究策略

Microbiology Research Strategy

方案设计 CONTENTS



16S扩增子测序



宏基因组测序



16s+宏基因组



16s扩增子+代谢组



宏基因组+代谢组



微生物基因组+Multi-omics



方案一：16s 扩增子测序

16s 在科研中的应用

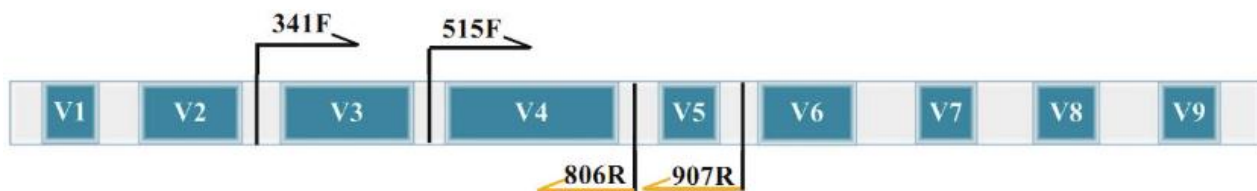


图1 16S rDNA 序列及常用扩增引物序列



扩增子特点

- 最常用的菌群多样性分析的手段
- 对特定长度的PCR产物或者捕获的片段进行测序分析变异
- 是一种高靶向性方法用于分析特定基因组区域中的基因变异。

检测目的

- 研究群落的物种组成
- 物种间的进化关系以及群落的多样性
- 挖掘微生物和生境的关系信息
- 找微生物群与疾病或表型的相关性。

1、支持的样本类型丰富

16s (V3 + V4) 细菌和古菌
 人体肠道
 动物营养消化/健康的研究



4、数据分析

群落结构分布
 alpha 多样性分析
 PCA 分析
 beta 多样性分析
 反应物种进化关系
 PCA 分析
 LEfSe 分析
 进化分析
 关联分析
 PICRUST 分析

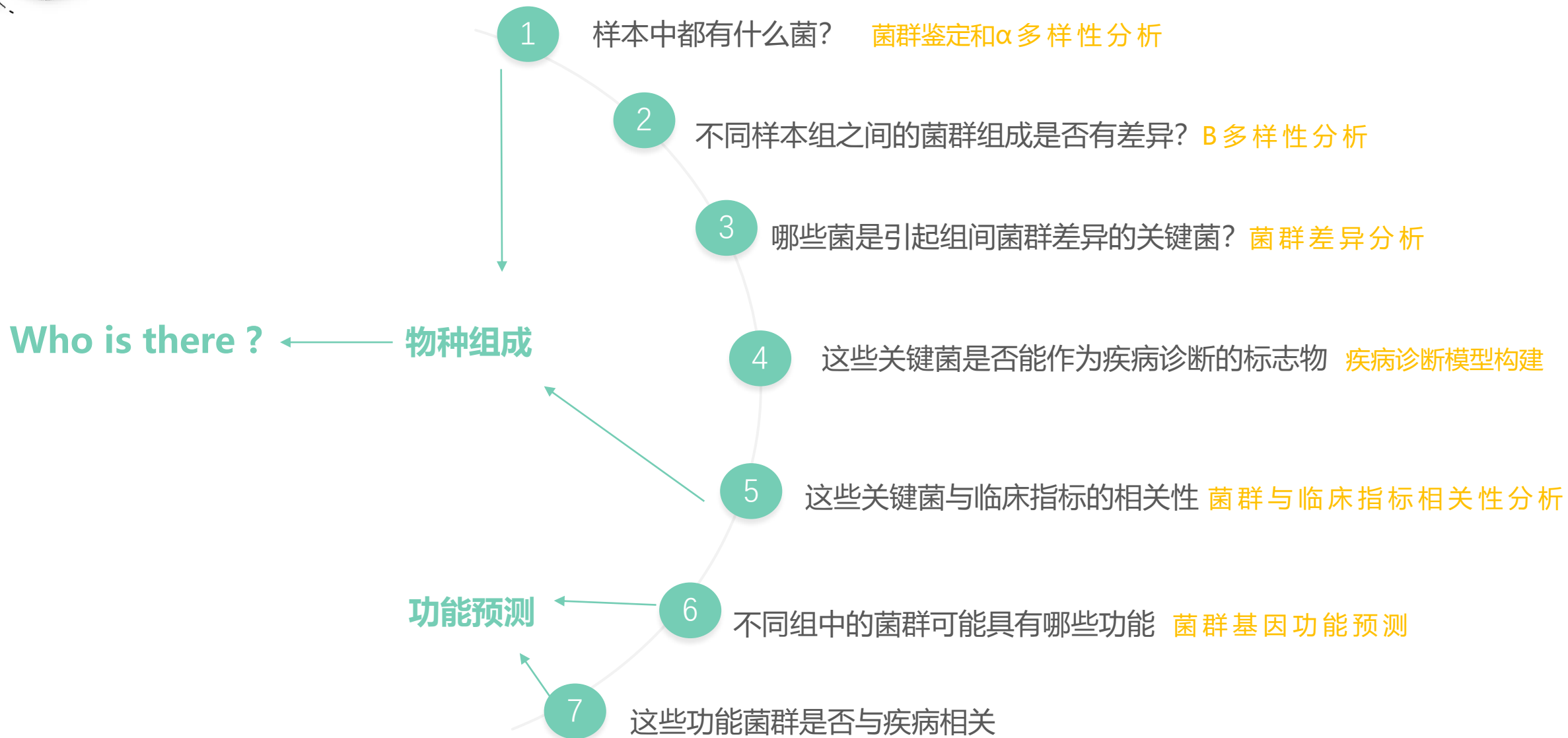
2、适用的技术平台

illumina **CSPro**
 CERTIFIED
 SERVICE PROVIDER

HiSeq(PE250)

3、分组和样本数

横向队列研究
 自然环境样本
 肠道、粪便





Article

Faecal Microbiota Are Related to Insulin Sensitivity and Secretion in Overweight or Obese Adults

Negar Naderpoor¹, Aya Mousa², Luisa F. Gomez-Arango³, Helen L. Barrett⁴, Marloes Dekker Nitert³ and Barbora de Courten^{1,*}

¹ Monash Centre for Health Research and Implementation, School of Public Health and Preventive Medicine, Monash University, Diabetes and Vascular Medicine Unit, Monash Health, Clayton 3168, Australia; negar.naderpoor@monash.edu

² Monash Centre for Health Research and Implementation, School of Public Health and Preventive Medicine, Monash University, Clayton 3168, Australia; aya.mousa@monash.edu

³ School of Chemistry and Molecular Biosciences, University of Queensland, St Lucia 4072, Australia; lulag177@hotmail.com (L.F.G.-A.); m.dekker@uq.edu.au (M.D.N.)

⁴ Endocrinology department and Mater Research, Mater Hospital, South Brisbane 4101, Australia; Helen.barrett@mater.uq.edu.au

* Correspondence: barbora.decourten@monash.edu; Tel.: +61-3-8572-2651

Received: 22 February 2019; Accepted: 27 March 2019; Published: 4 April 2019



Abstract: Emerging evidence suggests a role for the gut microbiota in glucose metabolism and diabetes. Few studies have examined the associations between the faecal microbiome and insulin sensitivity and secretion using gold-standard methods in high-risk populations prior to diabetes onset. We investigated the relationships between faecal microbiota composition (16S rRNA sequencing) and gold-standard measures of insulin sensitivity (hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp) and insulin secretion (intravenous glucose tolerance test) in 38 overweight or obese otherwise healthy individuals. Genus *Clostridium* was positively associated with insulin sensitivity, and genera *Dialister* and *Phascolarctobacterium* were related to both insulin sensitivity and secretion. Insulin sensitivity was associated with a higher abundance of *Phascolarctobacterium* and lower abundance of *Dialister*. Those with higher insulin secretion had a higher abundance of *Dialister* and lower abundance of *Bifidobacterium*, compared to those with lower insulin secretion. Body mass index (BMI) was positively correlated with *Streptococcus* abundance whereas *Coprococcus* abundance was negatively correlated to BMI and percent body fat. These results suggest that faecal microbiota is related to insulin sensitivity and secretion in overweight or obese adults. These correlations are distinct although partially overlapping, suggesting different pathophysiological pathways. Our findings can inform future trials aiming to manipulate gut microbiome to improve insulin sensitivity and secretion and prevent type 2 diabetes.

Keywords: faecal microbiota; body mass index; percent body fat; insulin secretion; insulin sensitivity; hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp

38名非糖尿病肥胖者生化指标

22名男性与16名女性进行体重指数BMI; 胰岛素敏感性M值; 胰岛素AUC值; 血糖水平FBG, x2BG; 根据敏感性检测方法分为胰岛素敏感性和抵抗两组

1

2

饮食差异; 粪便样本进行16S测序

38例粪便样本; 胰岛素敏感组和胰岛素抵抗组在饮食上的差异;

3

关联分析

不同菌属与空腹胰岛素, 总胰岛素AUC、M值、BMI, 空腹血糖和OGTT后两个小时的血糖水平进行关联分析

4

结果汇总

1. 两组微生物在 α 多样性无差异, 属水平上抵抗组的*Dialister* (小类杆菌) 丰度较高, 而*Clostridium* (梭状芽孢杆菌) 丰度较低
2. 关联分析发现*Dialister*与M值负相关, *Clostridium*与M值正相关
3. 其它的菌与对应指标的关联性

方案策略二：宏基因组 宏基因组在科研中的应用

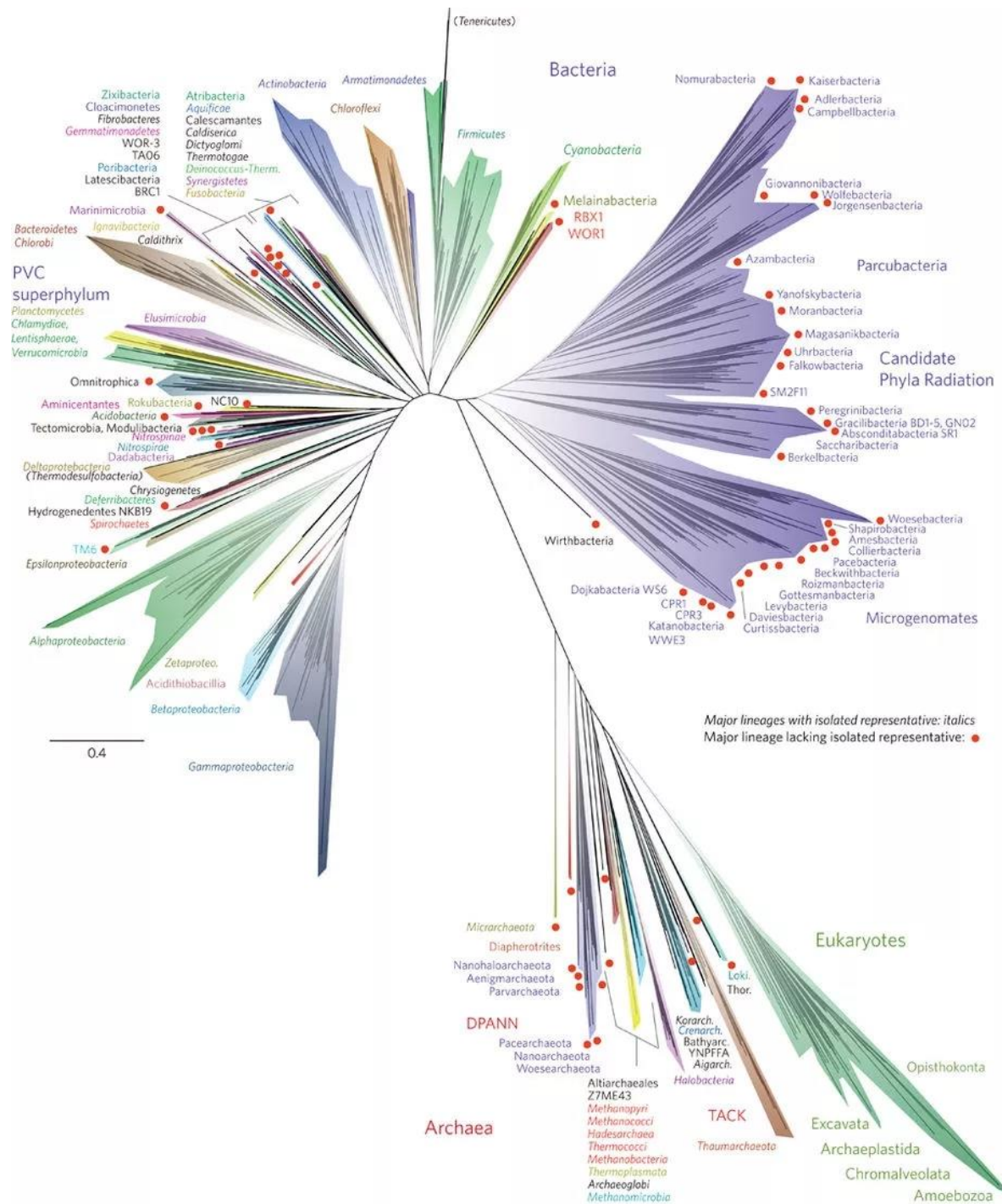
核心：认识环境样品中微生物群落的组成和功能基因

研究对象

- 人类宏基因组
- 动物宏基因组
- 植物宏基因组
- 环境宏基因组等

技术优势

- 获得微生物群落的所有基因序列
- 获得基因组的结构信息和功能信息
- 微生物群落的组成及功能



1、检测优势

- A: 特定环境整体微生物测定
- B: 99%以上的未可培养的微生物
- C: 痕量微生物



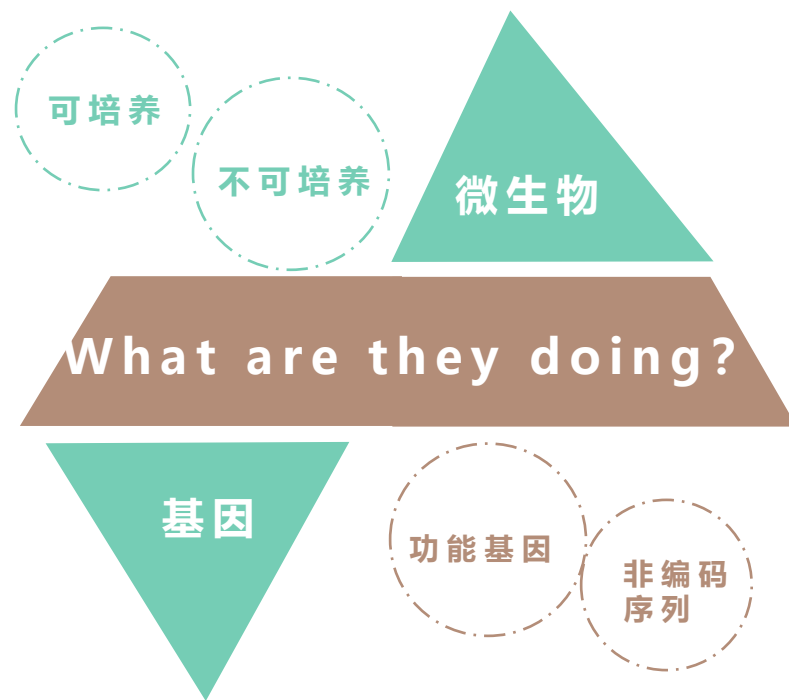
2、信息收集

- A: 样本指标
- B: 环境变量
- C: 处理变量
- D: 文献调研



3、实验技术

HiSeq/NovaSeq PE150
数据量：5~10G raw data



4、数据分析

微生物群落构成、注释
微生物群体基因组+功能
微生物与宿主互作关系
样本表型+微生物关联分析



5、高级分析

binning、
CAG(Co- Abundancegene
Groups)、MGS

6、验证思路

- ✓ A: 16s大样本验证
- ✓ B: 数据库辅助验证
- ✓ C: 多中心验证
- ✓ D: 粪菌移植



What are they doing?

Who is there?

稀有样本

适当组装方法

单菌株基因组草图-验证

小样本比较

物种差异

环境因子/理化因子

关联分析

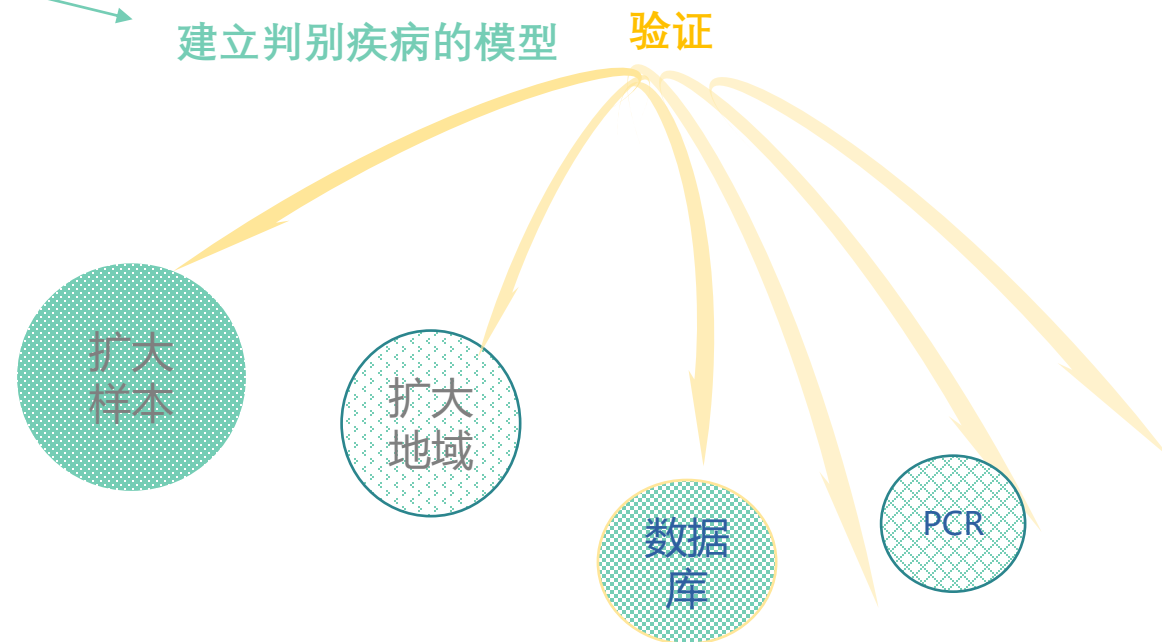
关键通路识别

大样本比较

差异基因

建立判别疾病的模型

验证



Reduced genetic potential for butyrate fermentation in the gut microbiome of infants who develop allergic sensitization

The Journal of allergy and clinical immunology 2019

用宏基因组学将人类肠道菌的代谢潜能与儿童过敏性疾病联系起来

特应性组（过敏组）	对照组
3岁时至少对一种过敏原产生反应	3岁时无过敏、哮喘
45个粪便样本（3个月） 42个粪便样本（1岁）	27个粪便样本（3个月） 38个粪便样本（1岁）

样本分组

项目跟踪1~5岁全过程
1和3岁时分别进行皮肤点刺，了解过敏情况
收集105名儿童的粪便样本，157份数据用于分析

1

2

3

4

粪便微生物群与临床表型的关系

两组 α 多样性无差异，丰度有差异

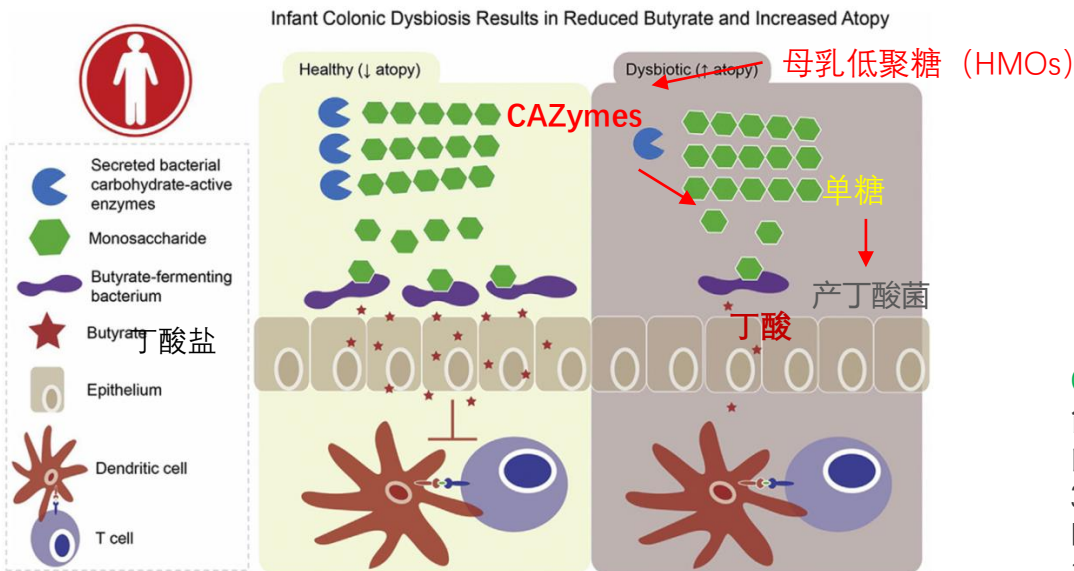
在患过敏的3个月婴儿消失的肠道菌群中，40%菌种与婴儿肠道中抗性淀粉（一种膳食纤维）的发酵相关；20%的菌种能降解母乳中的CAZymes；22%的菌种具有产丁酸的功能。

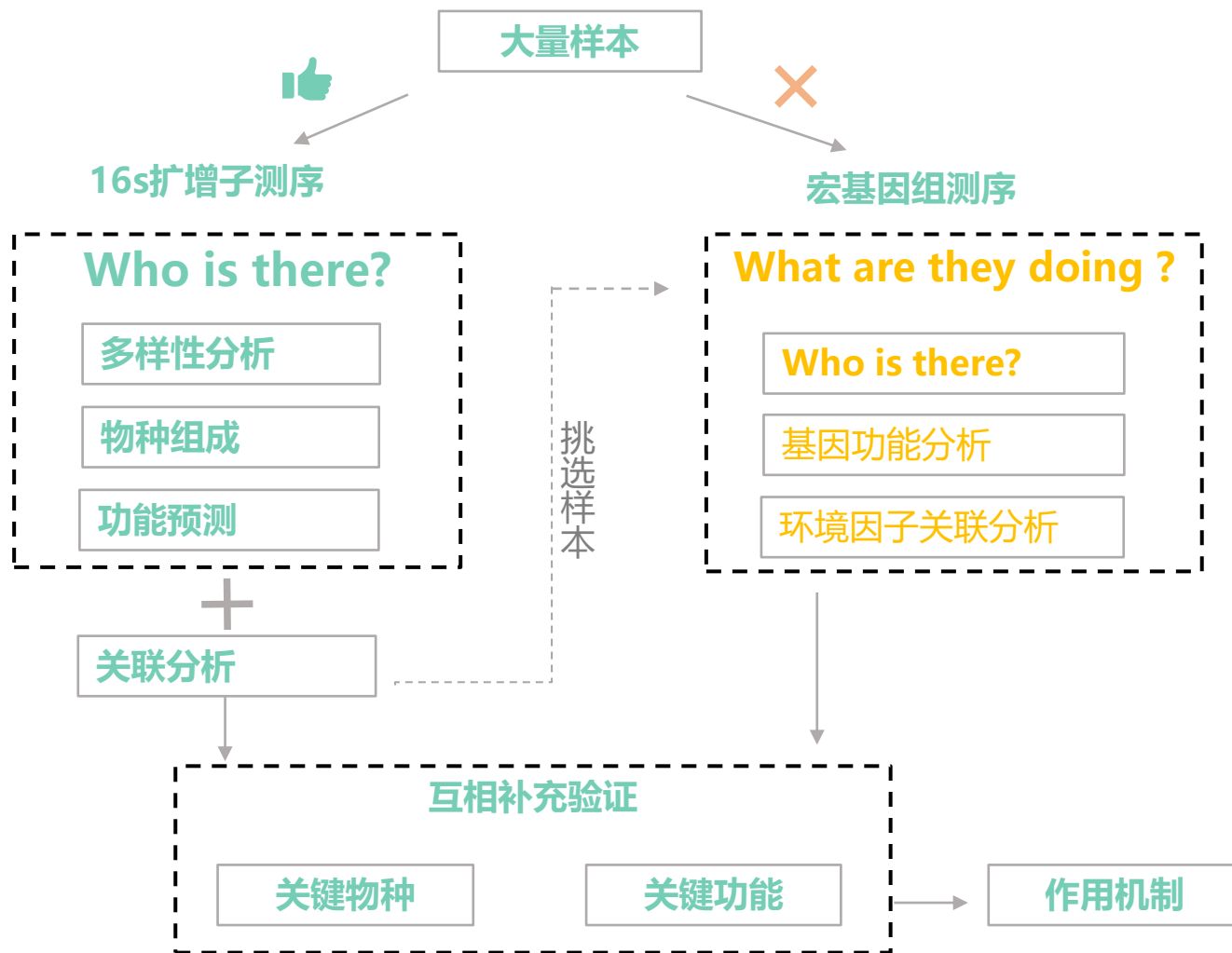
宏基因组

CAZyme基因在过敏组中减少
能够降解HMOs的CAZymes在患过敏的儿童中减少
3个月时，他们的菌群降解其饮食中HMOs的能力较弱。
1岁时，其肠道菌降解其饮食中的抗性淀粉的能力较弱

通路分析

丙酮酸途径是丁酸产生的主要途径
编码氨基丁酸、戊二酸和丙酮酸途径的基因在3个月的过敏性患儿的微生物组中均显著减少





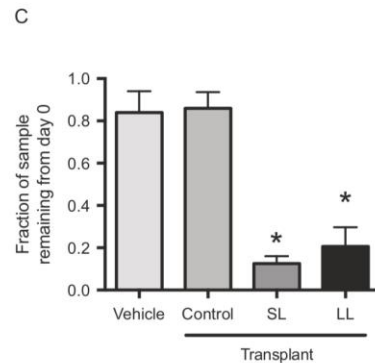
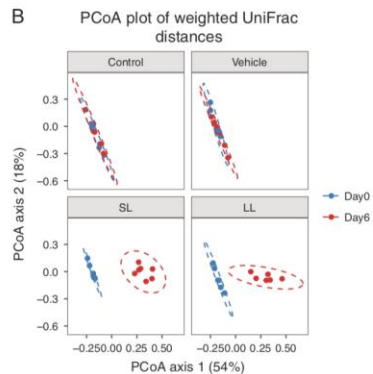
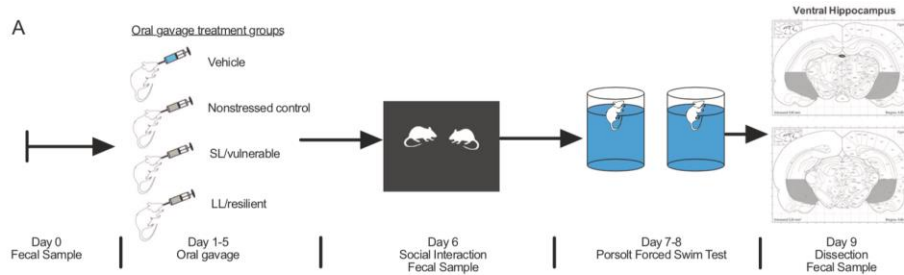
Molecular Psychiatry
https://doi.org/10.1038/s41380-019-0380-x

ARTICLE



The gut microbiome regulates the increases in depressive-type behaviors and in inflammatory processes in the ventral hippocampus of stress vulnerable rats

Jiah Pearson-Leary¹ · Chunyu Zhao² · Kyle Bittinger² · Darrell Eacret¹ · Sandra Luz¹ · Abigail S. Vigderman¹ · Gabriel Dayan¹ · Seema Bhatnagar^{1,3}



构建大鼠模型

压力暴露构建**压力易感模型组 (SL)** 与**抗压组大鼠 (LL)**；
SL组表现出更多的焦虑和抑郁行为；抗压组没有这些行为

粪菌移植，行为，16s测序，免疫组化检测

使用control组；SL组；LL组的粪便对新的老鼠进行**粪菌移植**；
同时对对照组以及粪菌移植的共29份粪便样本进行**16S测序**，检测微生物种类
免疫组化检测 Iba 1, VWF, IL-1 β 等神经炎症因子

上述研究表明**肠道微生物在调控抑郁相关的行为模式和大脑炎症方面具有重要作用。**

1

2

3

4

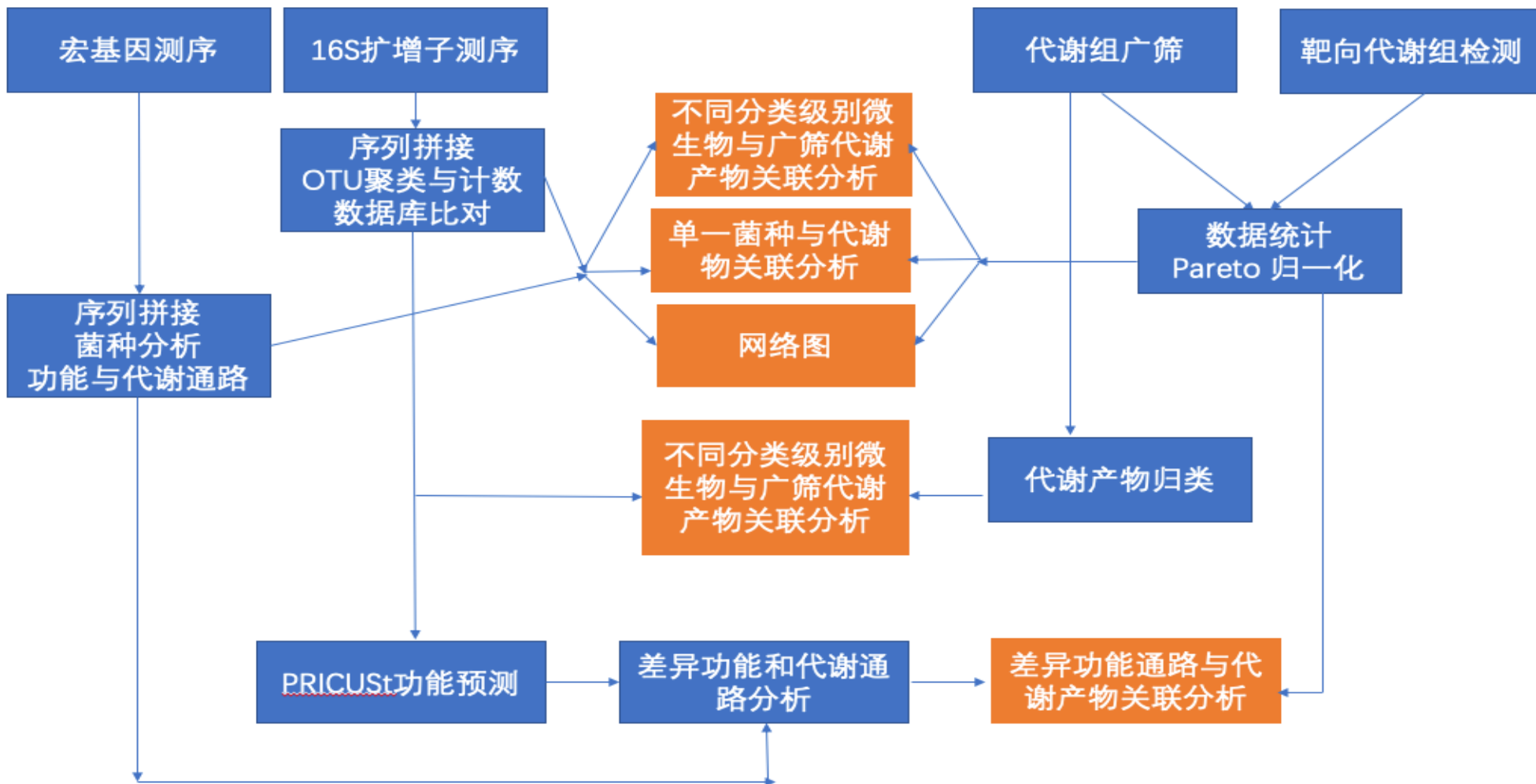
粪便样本宏基因组测序

对照组 (control) 8个样本；
易感组 (SL) 9个样本；
抗压组 (LL) 10个样本
宏基因组测序
来评估组间微生物种类的差异

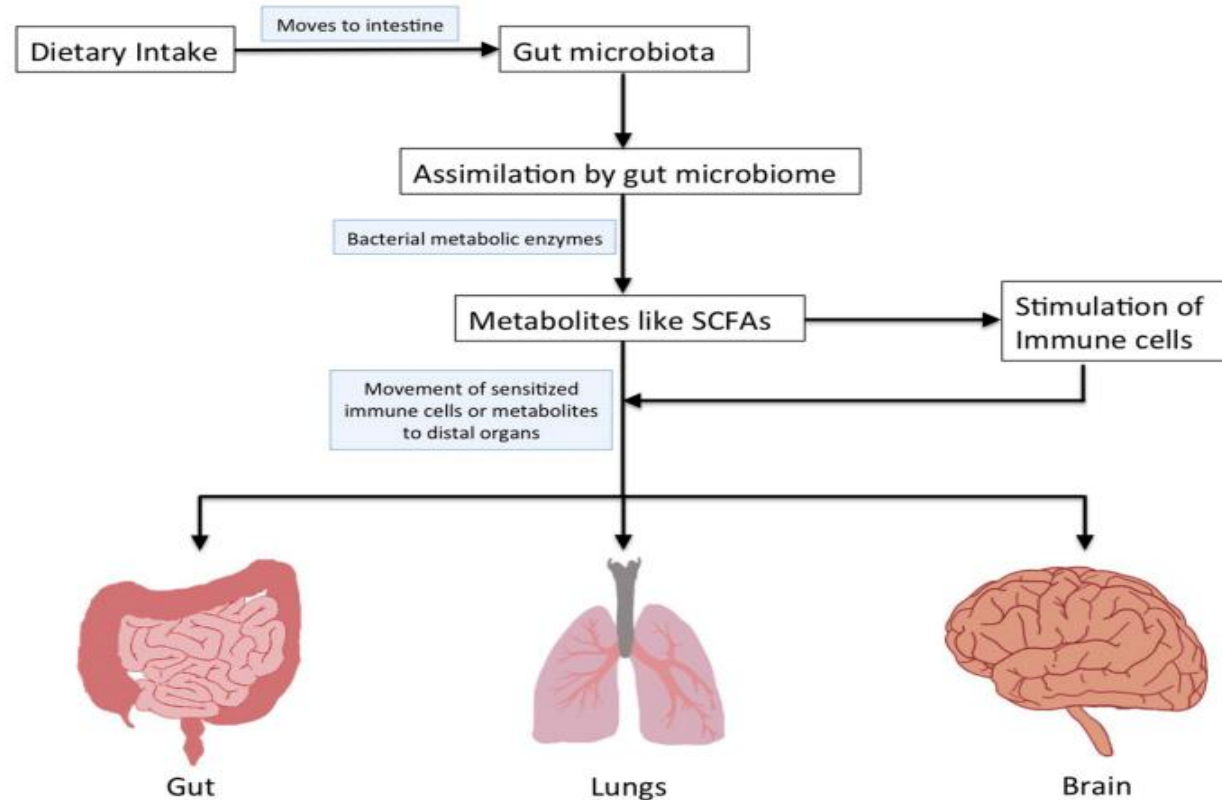
结果

1. 将SL组的粪便移植给普通大鼠，可增加抑郁样行为，增加腹侧海马区小胶质密度和IL-1 β 表达等促炎现象

2. SL组大鼠肠道菌群 α 多样性增加，LL组与control组相似；
同时两组中的厚壁菌门/拟杆菌门比例和杆菌纲/梭菌纲比例升高



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

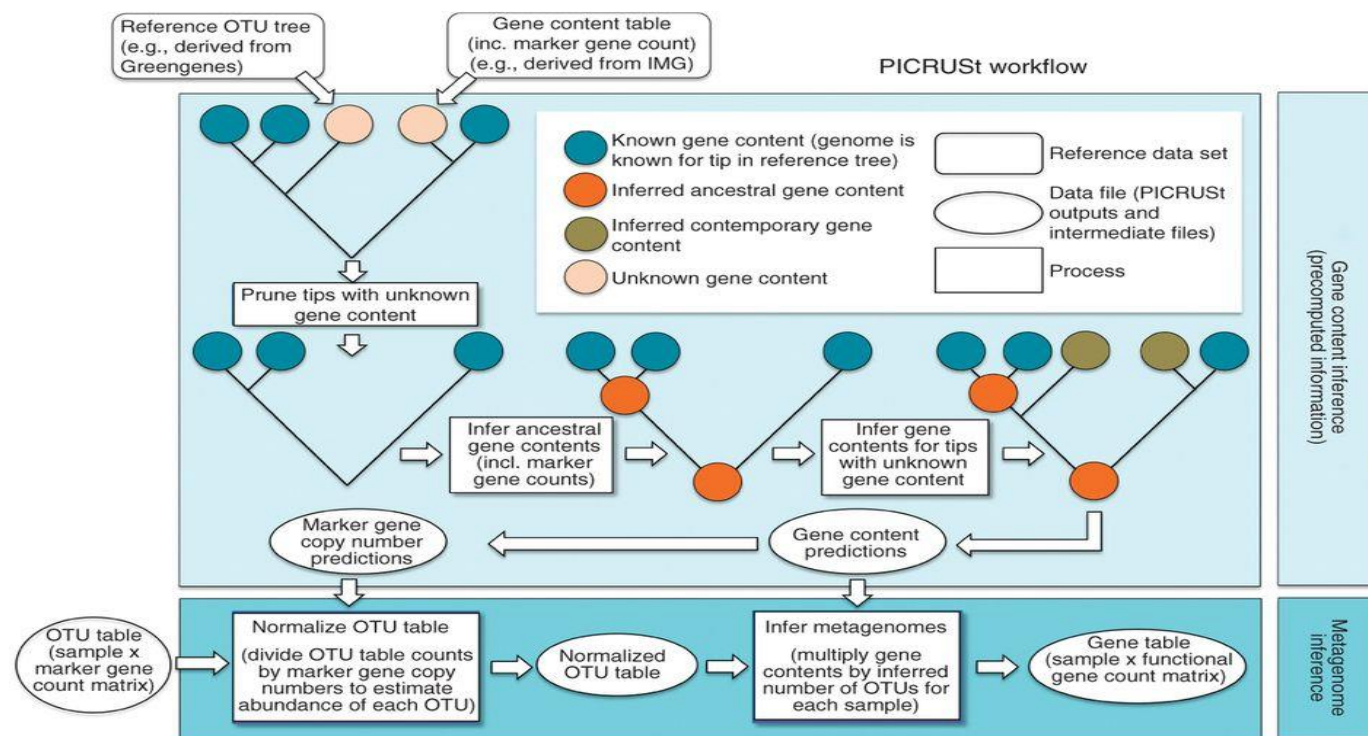
16S扩增子测序联合分析

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。

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。

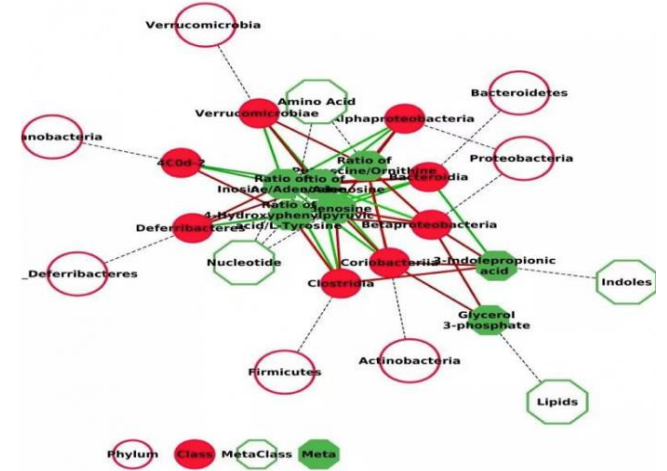
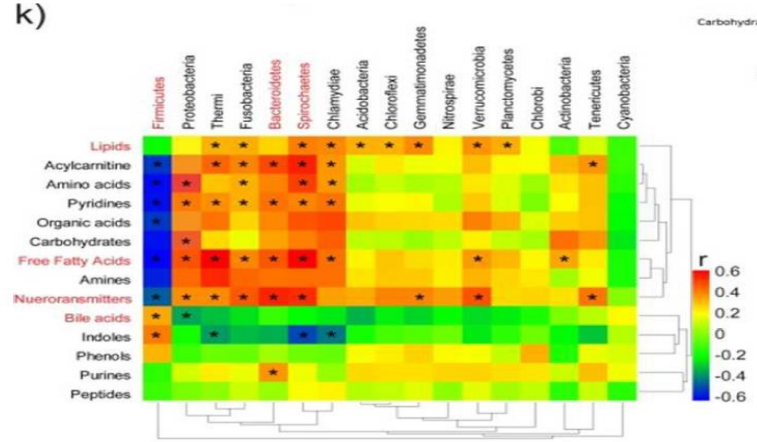
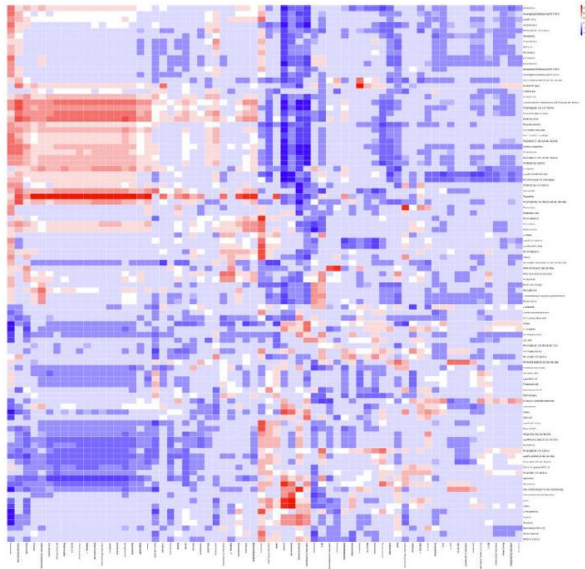




• 16S测序做功能分析准吗？那宏基因组和他的区别是啥？

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。

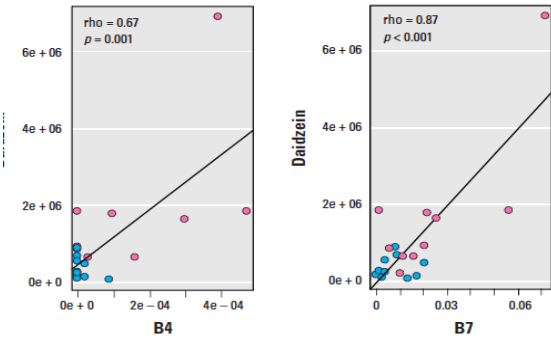
联合分析部分结果示意图



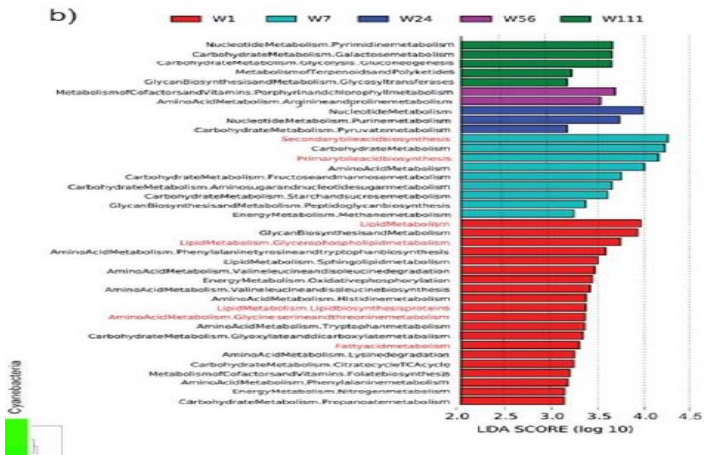
微生物与代谢产物（大类）关联分析热图

微生物与代谢产物关联网络图

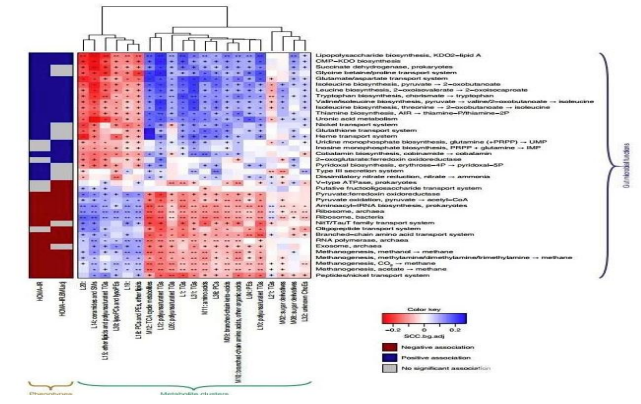
微生物与代谢产物关联分析热图



典型微生物/代谢产物散点图分析



差异代谢通路与功能的分析



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相关性分析结果表

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

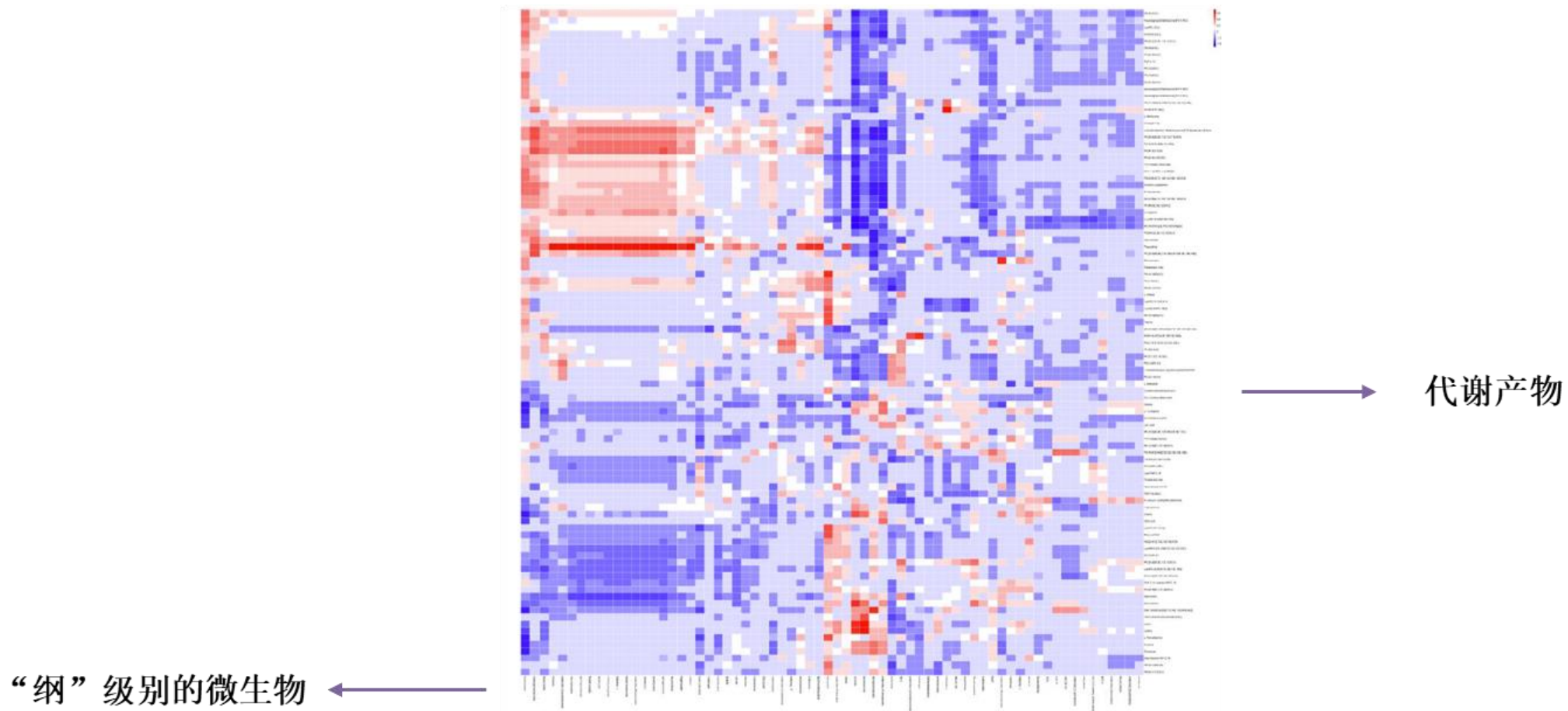
微生物种类与丰度

代谢产物峰面积或者浓度

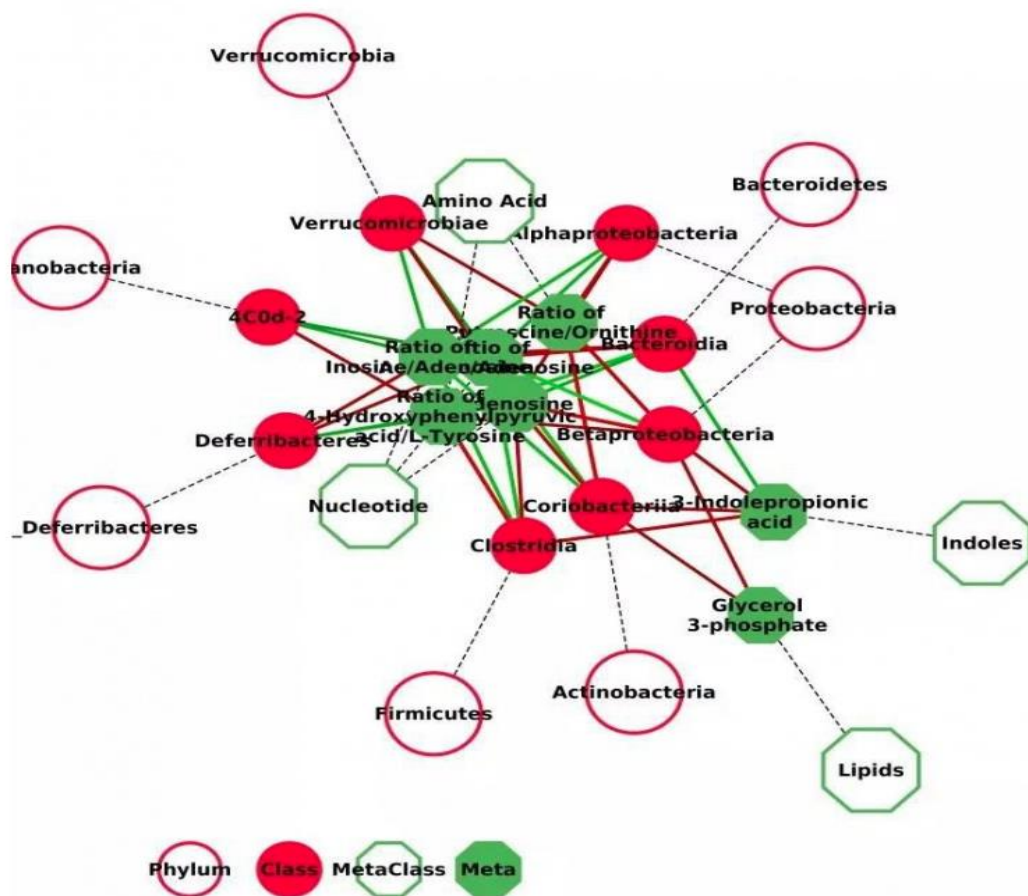
- 计算关联系数r
- 关联程度p值
- 校正后的p值

Spearman correlation analysis

不同分类级别微生物与广筛代谢产物关联分析



微生物与代谢产物关联网路图



红色空心圈：微生物门级别

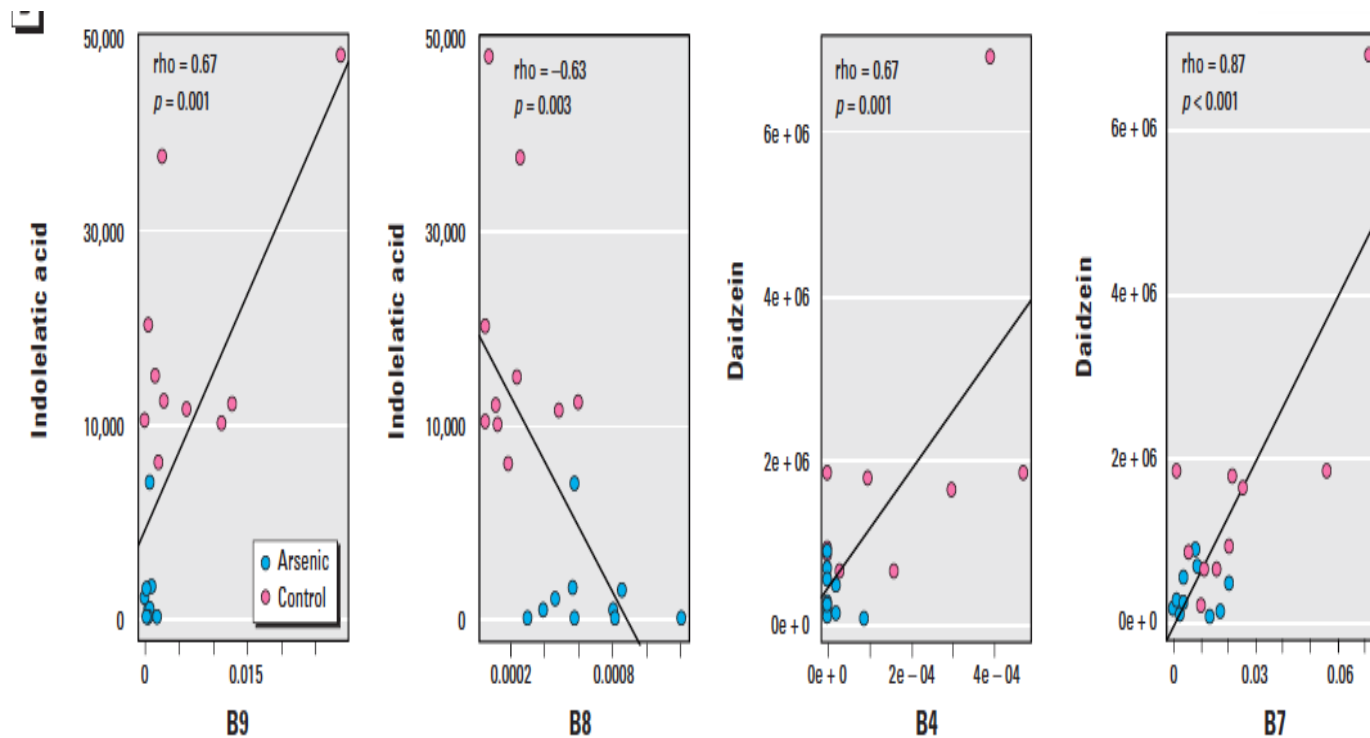
红色实心圈：微生物纲级别

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

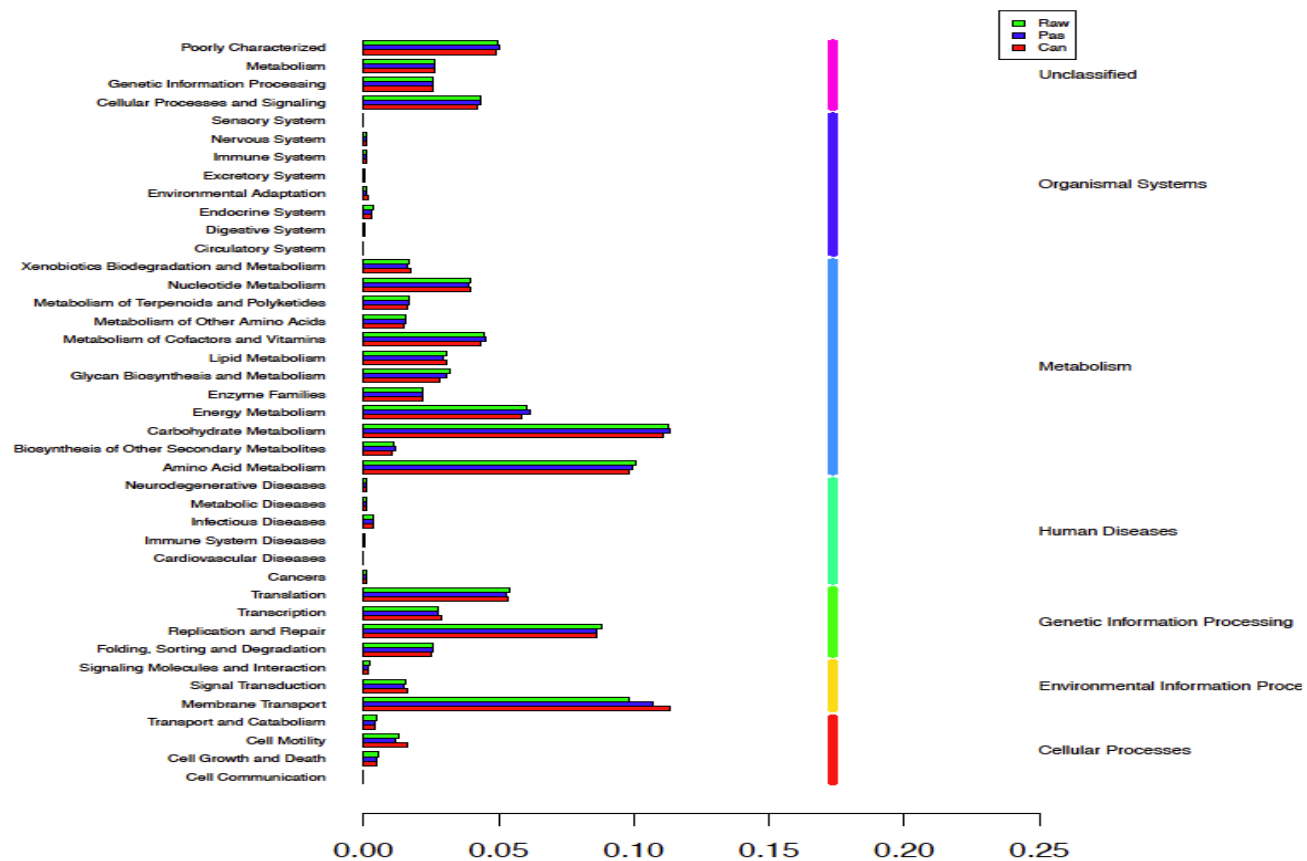


横坐标为具体微生物

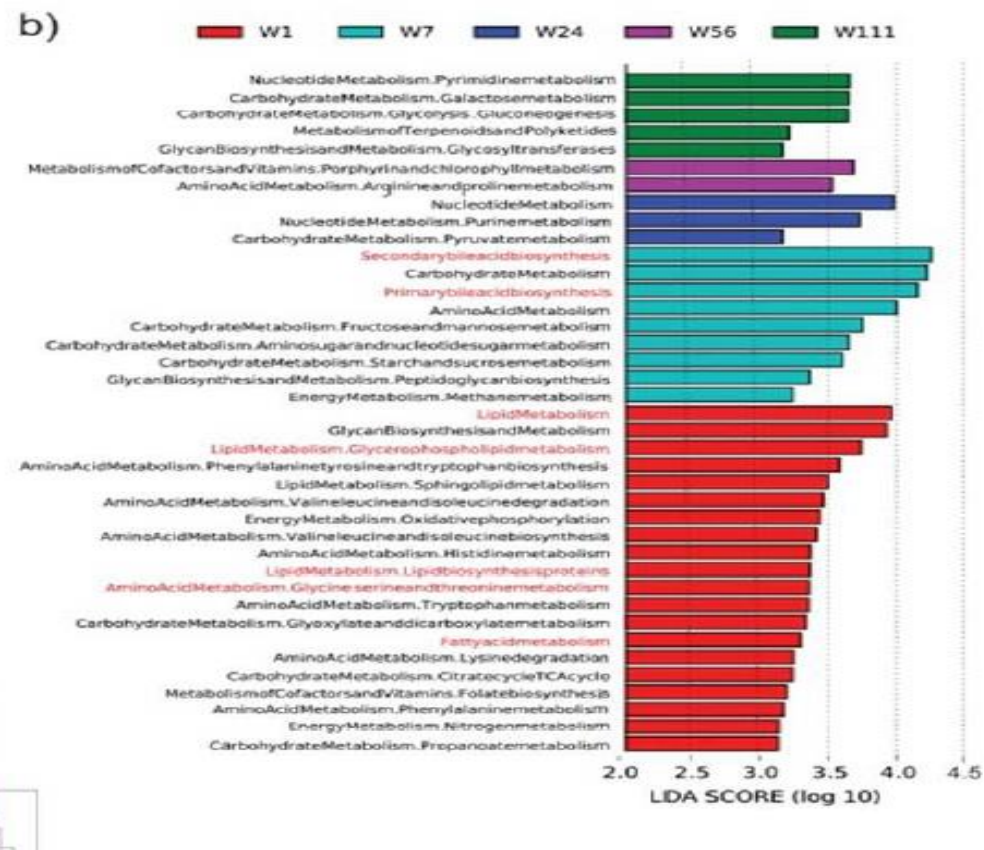
纵坐标是代谢产物

不同颜色的点代表不同分组样本

差异代谢通路与功能的分析

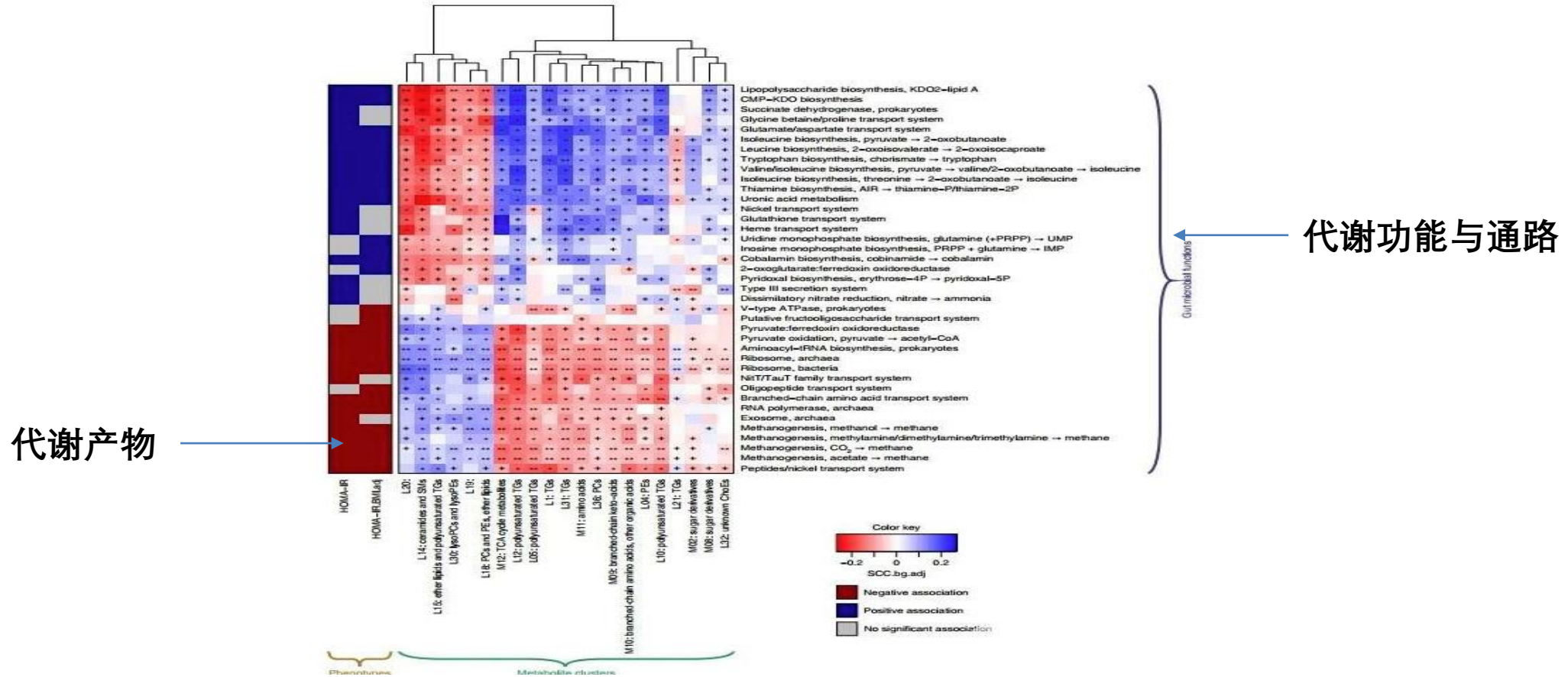


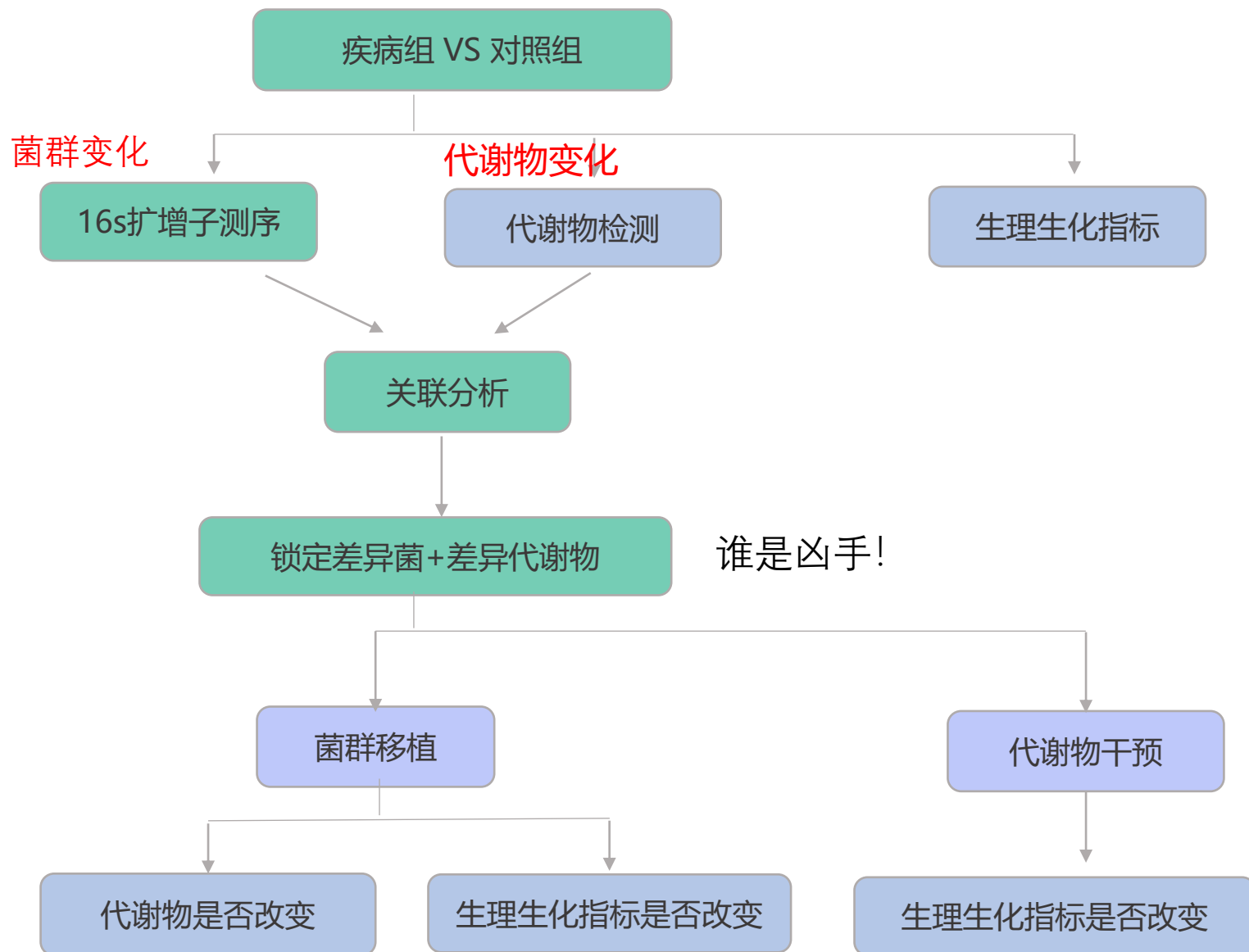
PIRCUS功能预测KEGG通路图



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





**analytical
chemistry**

Subscriber access provided by READING UNIV

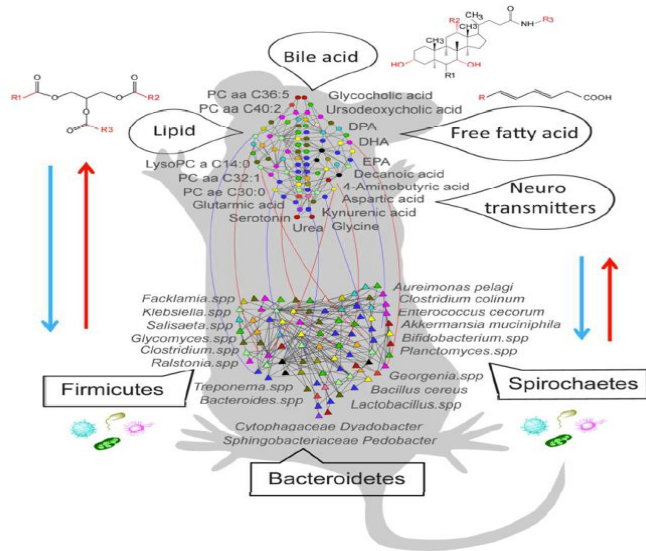
Article

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, 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



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.

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、胆酸—厚壁菌门与神经递质—拟杆菌门的对应情况。

1

2

3

4

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。

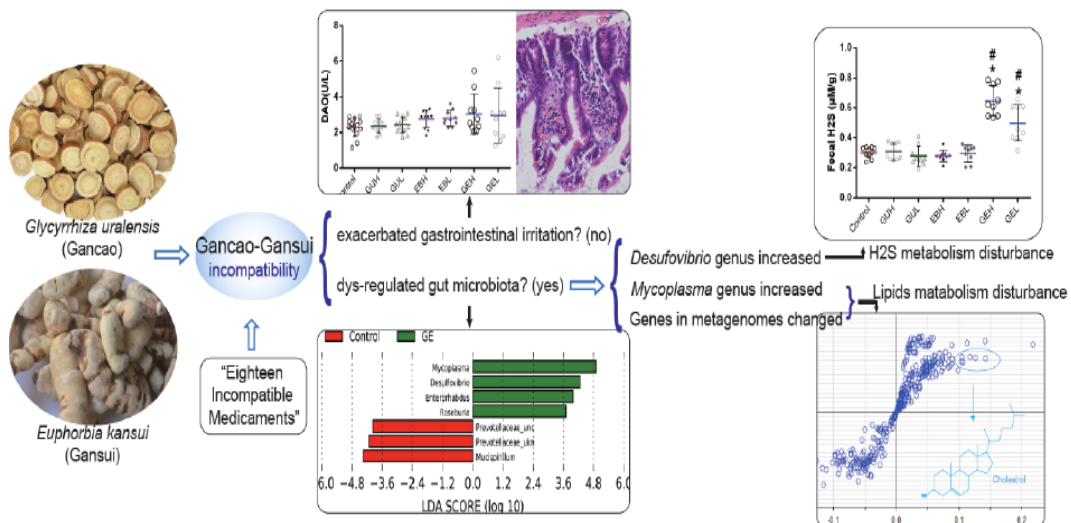
饮食限制实验认证

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。

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.



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。

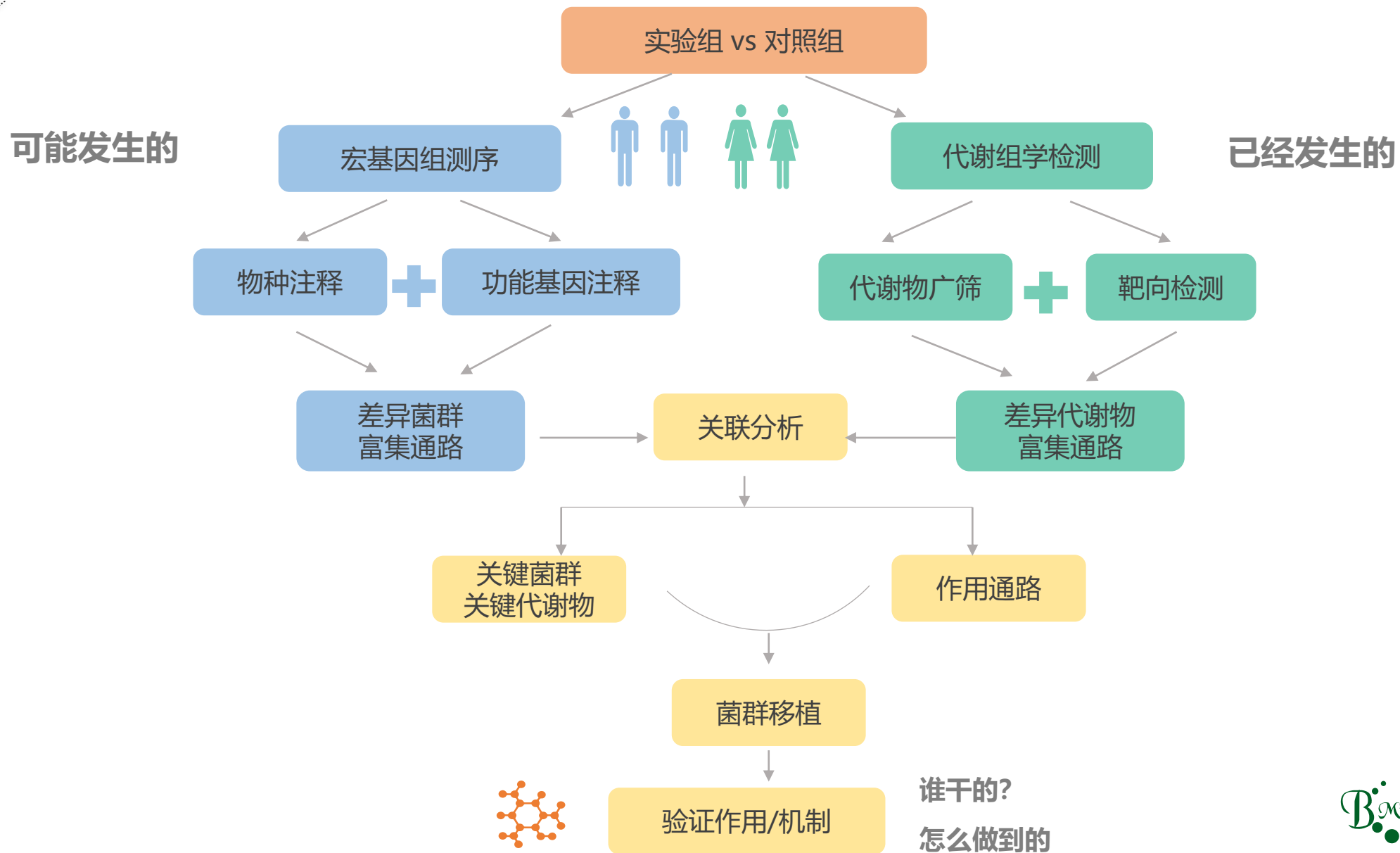
16S测序

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

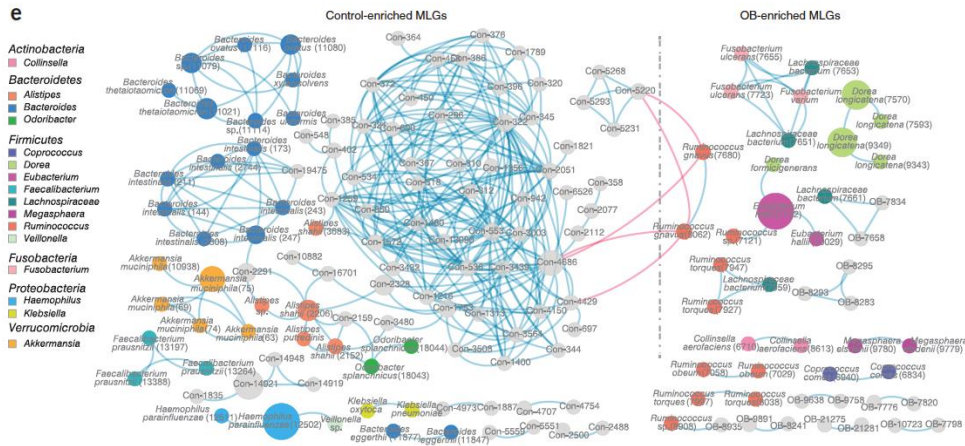
支原菌属在脂质代谢方面的主要作用，用GC-MS来分析脂质代谢情况。结合微生物测序结果，胆固醇代谢途径因为GEH的食用失调，而这应是由于支原菌属的高丰度导致的。

方案策略五：宏基因组 + 代谢组



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

Ruixin Liu^{1,16}, Jie Hong^{1,16}, Xiaoqiang Xu^{2,3,16}, Qiang Feng^{2,4,16}, Dongya Zhang^{2,16}, Yanyun Gu^{1,16}, Juan Shi¹, Shaoqian Zhao¹, Wen Liu¹, Xiaokai Wang^{2,3}, Huihua Xia^{2,5}, Zhipeng Liu², Bin Cui^{1,6}, Peiwen Liang¹, Liuqing Xi¹, Jiabin Jin⁷, Xiayang Ying⁷, Xiaolin Wang⁸, Xinjie Zhao⁸, Wanyu Li¹, Huijue Jia^{2,5,9}, Zhou Lan², Fengyu Li², Rui Wang¹, Yingkai Sun¹, Minglan Yang¹, Yuxin Shen¹, Zhuye Jie^{2,5}, Junhua Li^{2,5,9}, Xiaomin Chen², Huanzi Zhong^{2,5}, Hailiang Xie², Yifei Zhang¹, Weiqiong Gu¹, Xiaxing Deng⁷, Baiyong Shen⁷, Xun Xu^{2,5}, Huanming Yang^{2,10}, Guowang Xu⁸, Yufang Bi¹, Shenghan Lai¹¹, Jian Wang^{2,10}, Lu Qi^{12,13}, Lise Madsen^{2,14,15}, Jiqiu Wang¹, Guang Ning^{1,6}, Karsten Kristiansen^{2,5,15} & Weiqing Wang¹



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

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。

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。

A

B

C

D

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。

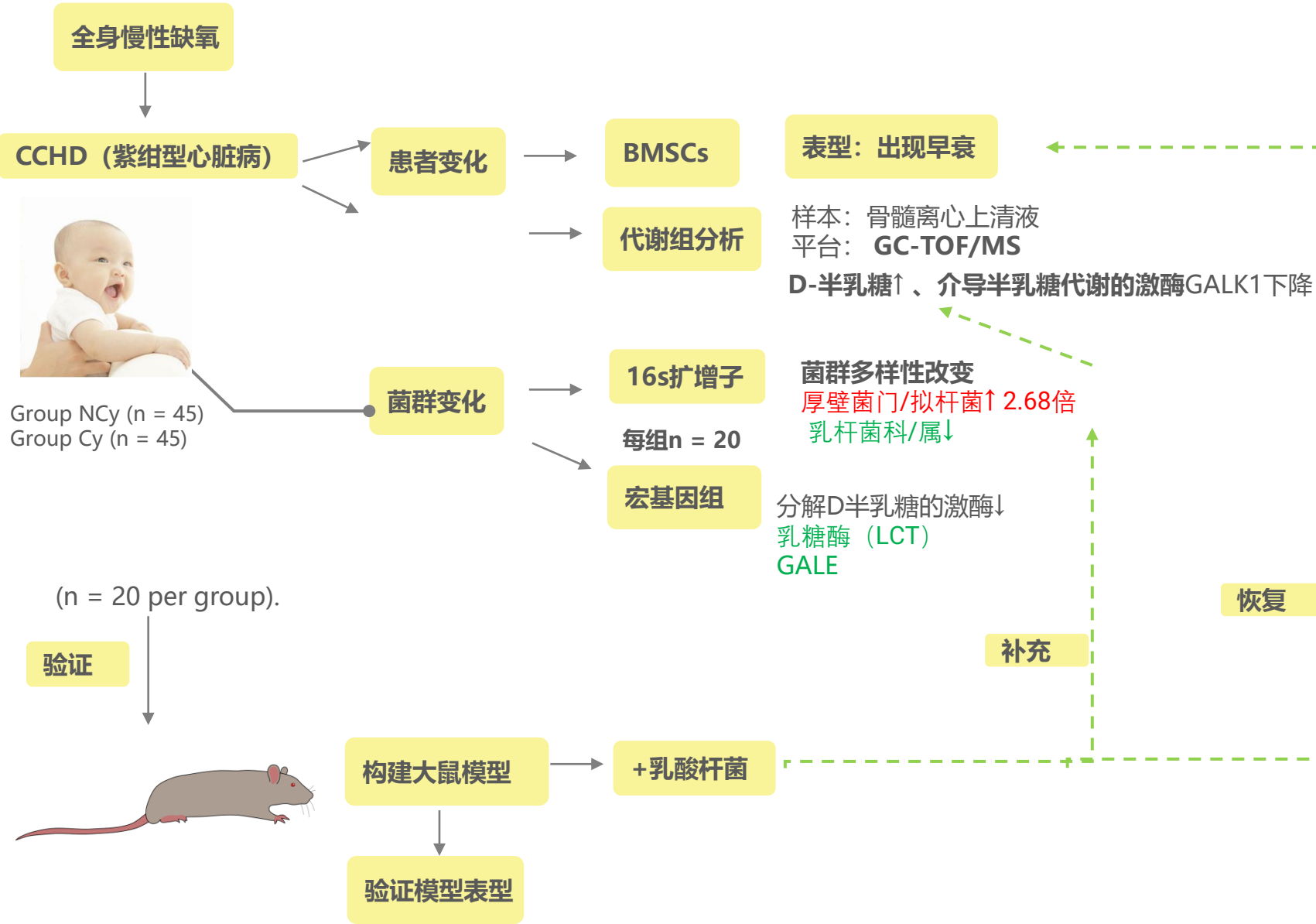
关联结果

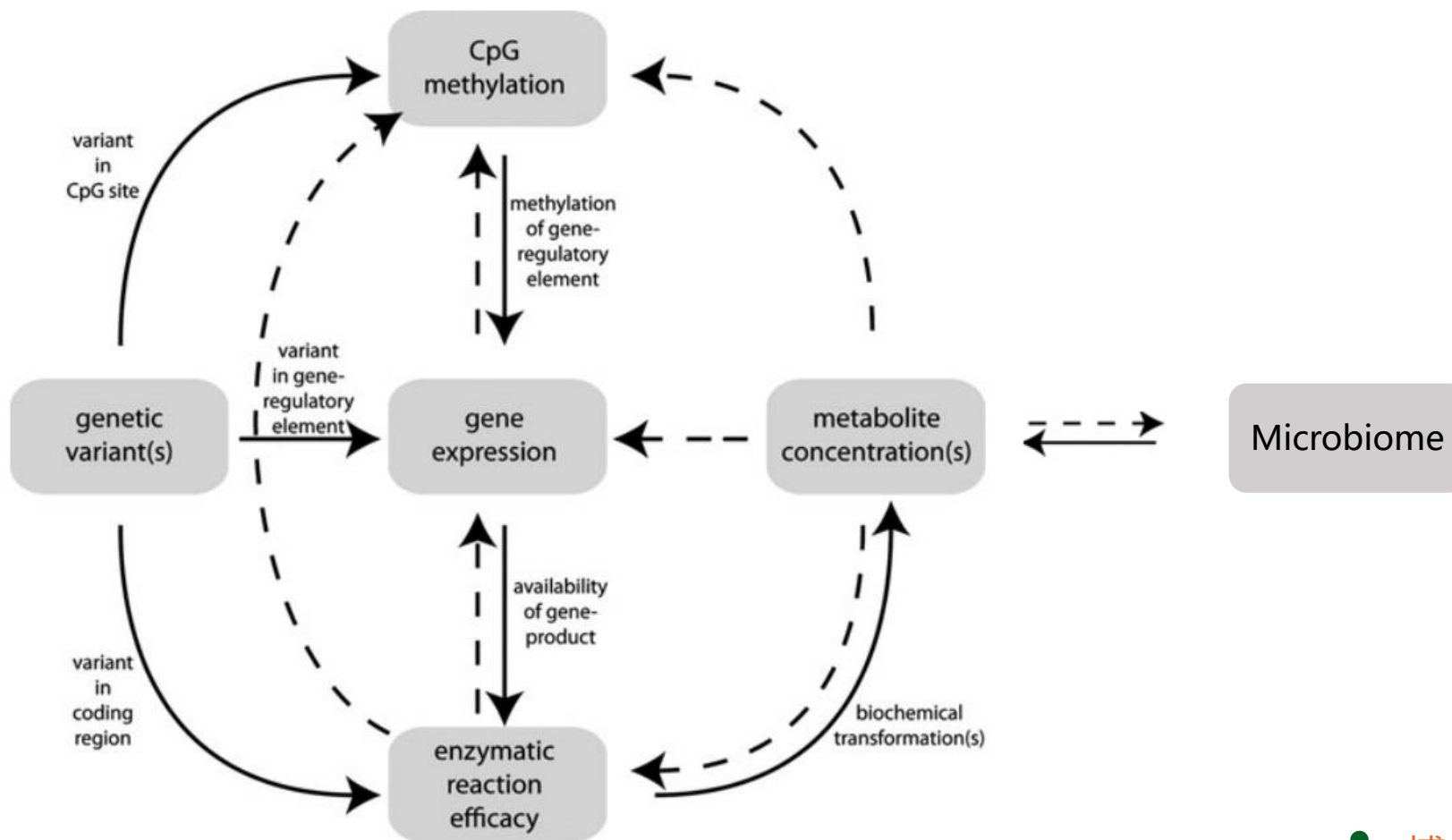
F. prausnitzii 和 *B. thetaiotaomicron* (多形拟杆菌) 可以降低血液中谷氨酸的浓度，从而缓解肥胖。

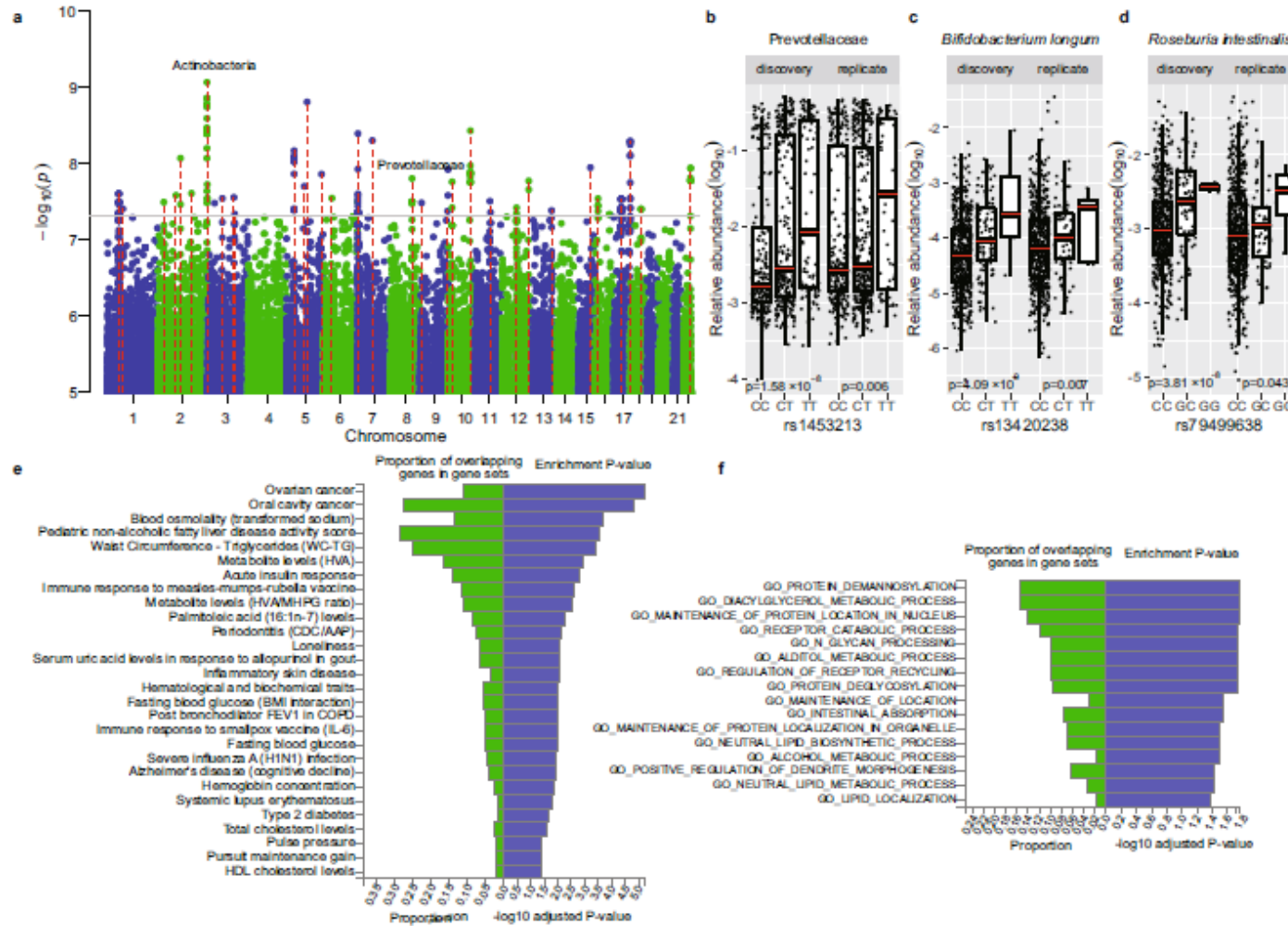
Hypoxia induces senescence of bone marrow mesenchymal stem cells via altered gut microbiota

Junyue Xing^{1,2,3}, Yongquan Ying⁴, Chenxi Mao⁵, Yiwei Liu^{1,2}, Tingting Wang^{1,2}, Qian Zhao¹, Xiaoling Zhang^{1,2}, Fuxia Yan³ & Hao Zhang^{1,2,3}

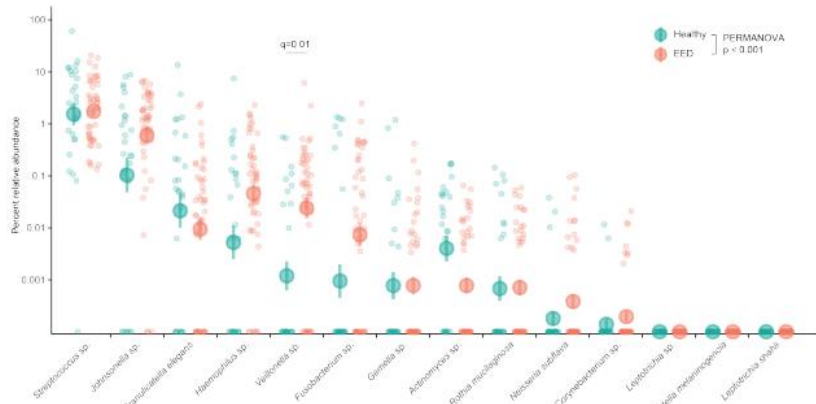
Systemic chronic hypoxia is a feature of many diseases and may influence the communication between bone marrow (BM) and gut microbiota. Here we analyse patients with cyanotic congenital heart disease (CCHD) who are experiencing chronic hypoxia and characterize the association between bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) and gut microbiome under systemic hypoxia. We observe premature senescence of BMSCs and abnormal D-galactose accumulation in patients with CCHD. The hypoxia that these patients experience results in an altered diversity of gut microbial communities, with a remarkable decrease in the number of *Lactobacilli* and a noticeable reduction in the amount of enzyme-degraded D-galactose. Replenishing chronic hypoxic rats with *Lactobacillus* reduced the accumulation of D-galactose and restored the deficient BMSCs. Together, our findings show that chronic hypoxia predisposes BMSCs to premature senescence, which may be due to gut dysbiosis and thus induced D-galactose accumulation.







图a:Manhattan图展示了37个常见变异的基因座与特定肠道细菌分类群显著相关；b-d:3个宿主基因-特定肠道菌的关联在发现和验证集中均显著；e-f:KEGG等通路分析显示与肠道菌显著相关的遗传信号主要集中在代谢、神经和免疫功能等方面。



Relative abundances of core duodenal taxa in the fecal microbiota of children living in Mirpur who have healthy growth phenotypes (n=27) and those with EED (n=48)

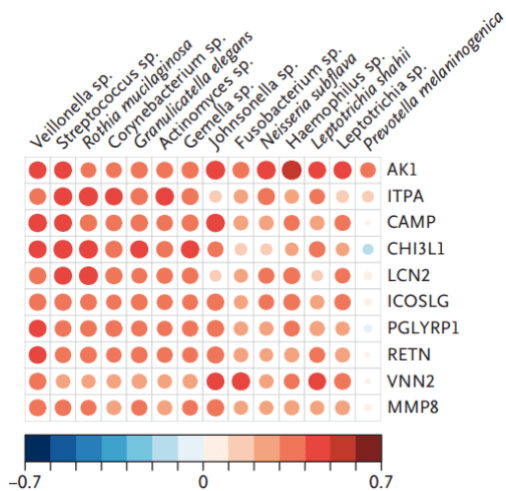
分析 36 名环境肠功能障碍 (EED) 患儿的十二指肠微生物群, 鉴定出 14 个不属于典型肠道病原体的 EED 核心细菌类群

特征菌群的绝对水平, 与患儿生长负相关, 与参与免疫炎症应答的十二指肠蛋白 (如 LCN2) 正相关, 且在患儿粪便中的含量不同于健康儿童

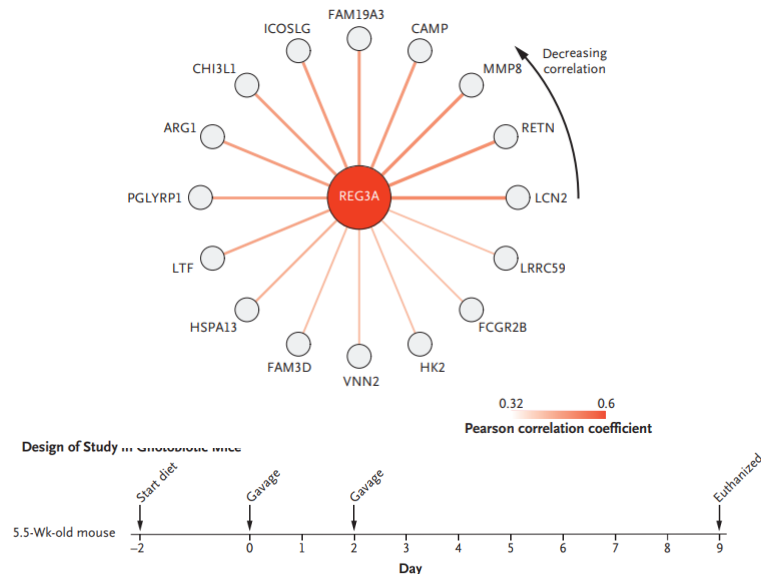
和 EED 核心菌相关的十二指肠蛋白, 与血浆 REG3A 等显著相关

定植 EED 十二指肠菌群的部分分离菌 (含大部分 EED 核心菌) 可能通过促进十二指肠炎症应答, 参与 EED 的发生发展, 从而导致发育不良

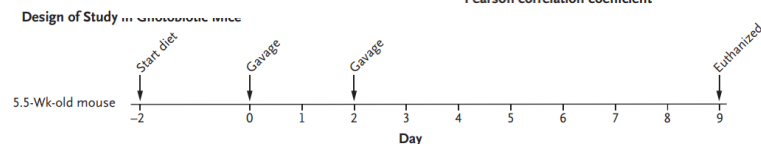
Duodenal microbiota in stunted undernourished children with enteropathy NEJM 2020



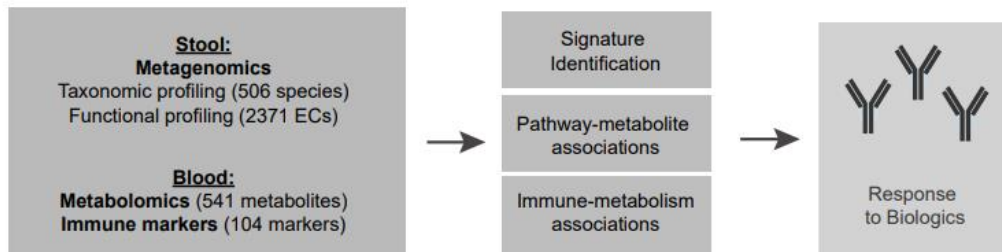
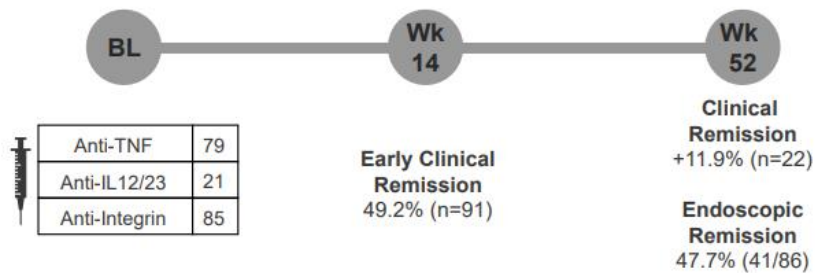
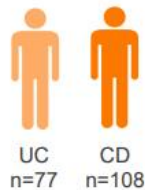
The top 10 positive correlations between members of the 14 core taxa and duodenal proteins



A shows the design of the experiment in which gnotobiotic mice



PRISM Nested Cohort (n=185)

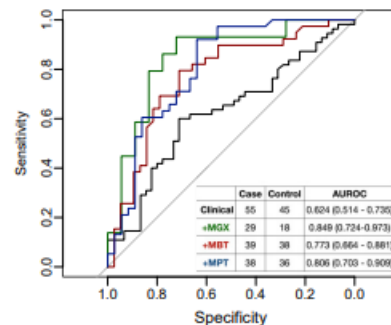
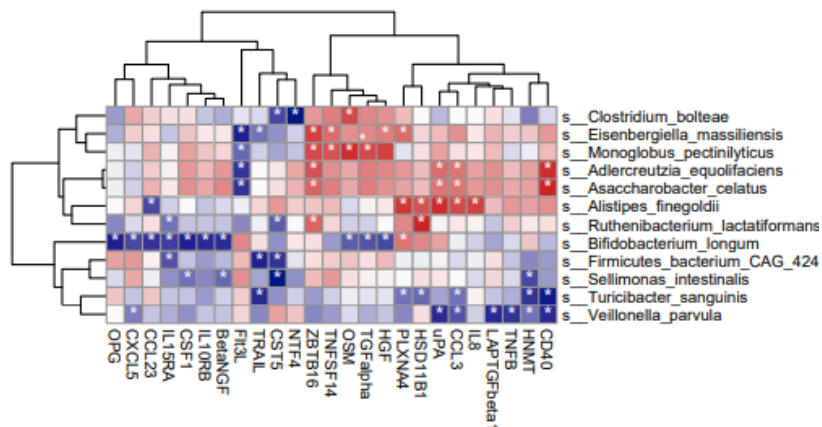


多组学揭示了与不同IBD疗法缓解相关的微生物组机制

一级到二级胆汁酸的7 α / β -脱羟作用决定了抗细胞因子的反应

27种特有的血清免疫蛋白与肠道微生物组相关联

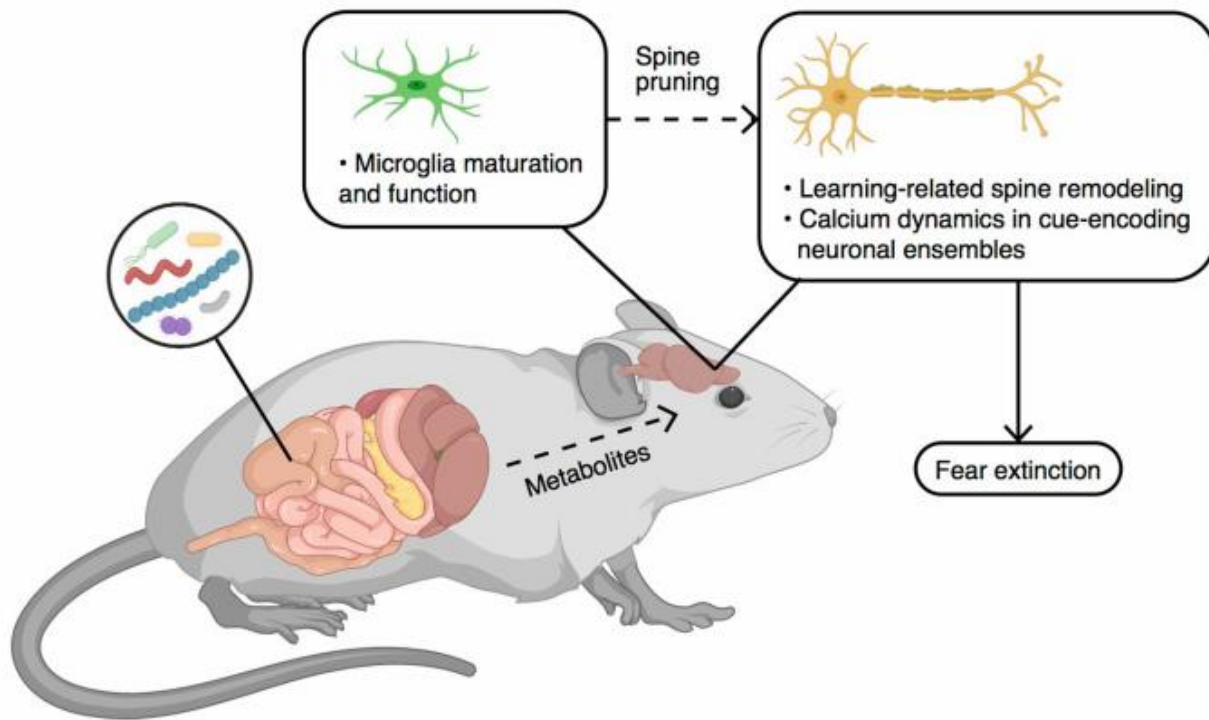
多组学联合预测疗效模型相对单组学模型AUC显著提升



Heatmap of 25 serum proteins in IBD patients with at least one significant ($q < 0.1$) association with metagenomic taxonomic features

black, clinical variables only; green, clinical and metagenomic features; brown, clinical and metabolomic features; blue, clinical and proteomics; orange, clinical and all three 'omics

Multi-omics reveal microbial determinants impacting responses to biologic therapies in inflammatory bowel disease Cell Host Microbe 2021 Aug



A model in which alterations in the microbiota and their metabolites influence neuronal function and learning-related plasticity, which may be due to altered microglia-mediated synaptic pruning, and subsequently regulate fear extinction behaviour

单细胞测序

小鼠大脑的大脑前额叶皮质snRNA-seq, 其中小胶质细胞基因表达的改变或许在重塑大脑在学习过程中细胞之间的连接上扮演着非常关键的角色, 而这些改变并未在健康小鼠的大脑小胶质细胞中发现

微生物基因组测序

通过16S测序技术检测无菌小鼠和正常小鼠模型菌群结构

代谢组检测

筛选四种代谢物在缺乏微生物菌群的小鼠体内含量明显低于对照组, 推测菌群通过微生物源代谢物影响大脑中的神经元和小胶质细胞

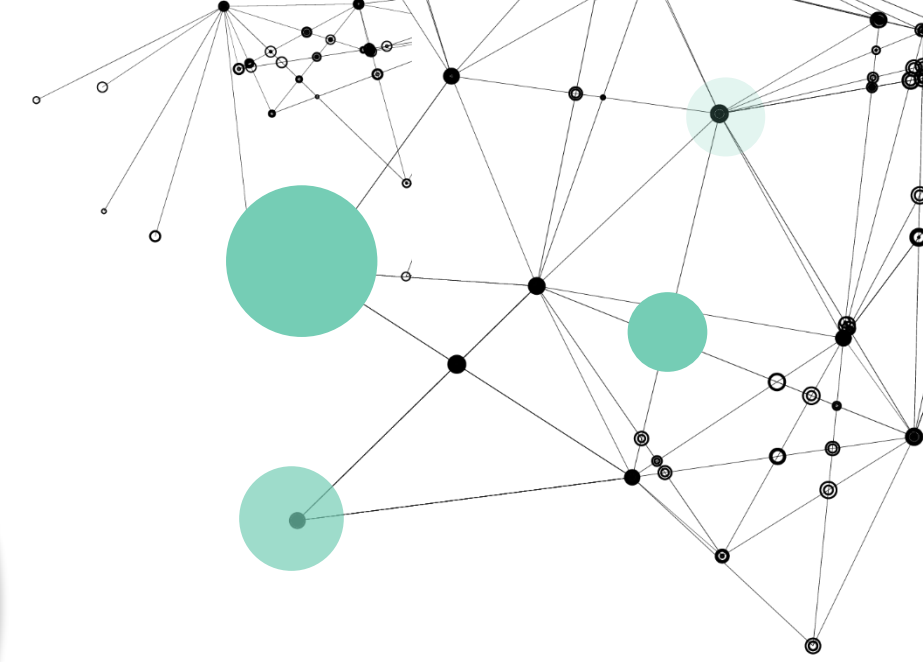
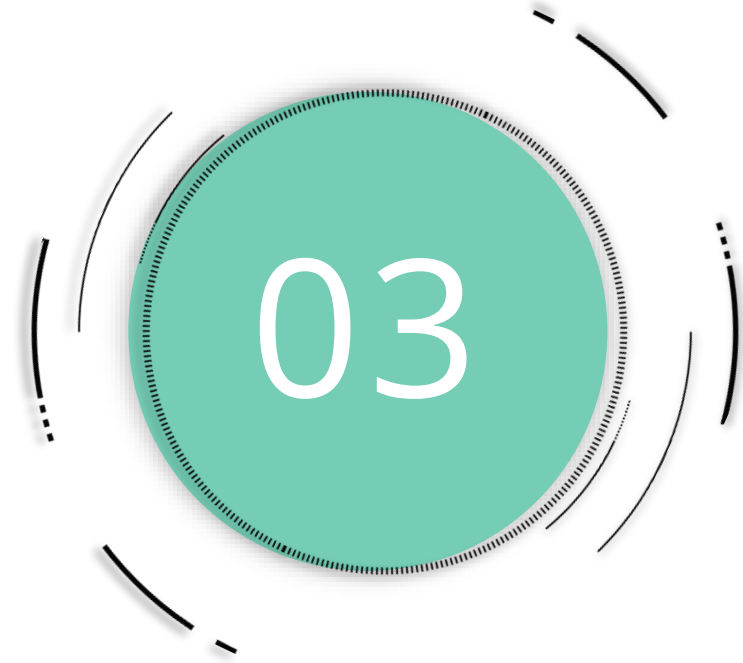
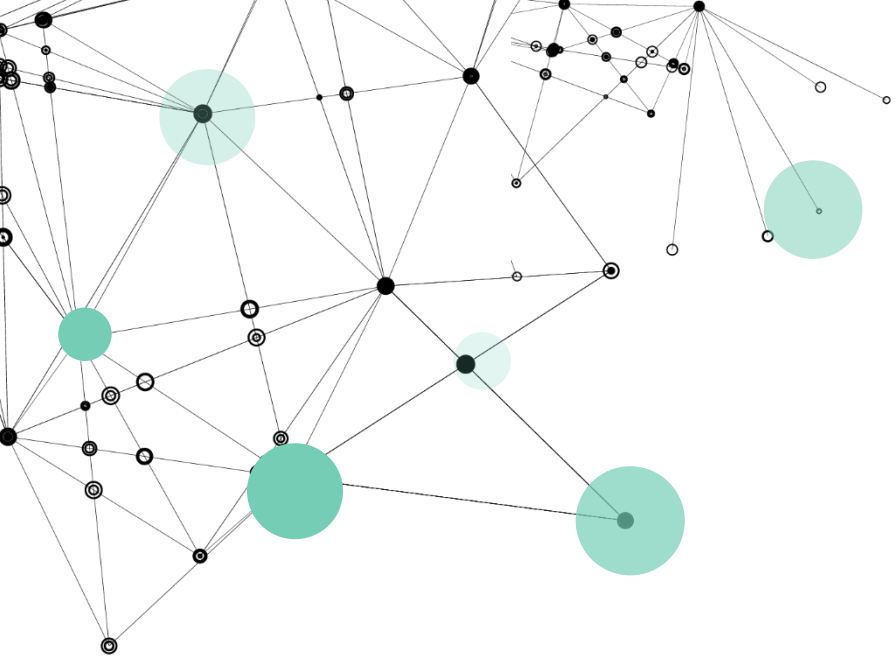
实验结论

A

B

C

D



博淼生物精致技术服务

Bomia o biological exquisite service



16S/18S/ITS扩增子测序 价格低廉、适合大队列Discover研究



宏基因组测序 微生物全基因组检测、功能机制深度注释



微生物简化基因组测序 精确菌种鉴定、疑难样本检测（肿瘤组织等）



非靶向代谢组检测 全景式呈现代谢物定性和相对定量的检测



高通量靶向代谢组 兼具非靶向技术的种类高通量及靶向技术的绝对定量

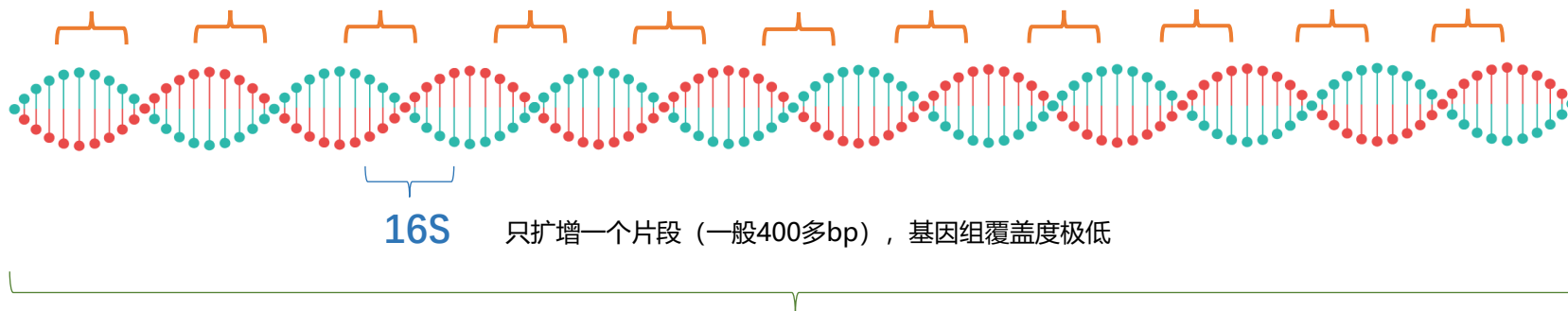


靶向代谢组检测 肠道菌群代谢物、胆汁酸、甾体激素等特定种类代谢物绝对定量



微生物简化基因组测序

均匀的从全基因组范围内获取上千个等长标签，更能代表整个基因组



宏基因组测序 (whole metagenome sequencing, WMS)

扩增子测序:

- 细菌、真菌、古菌等分别检测
- 分辨率低，属水平，很多注释不到种水平
- 假阳性率高

宏基因组测序:

- 高DNA质量要求;
- 高成本;
- 宿主污染问题

微生物基因组技术对比

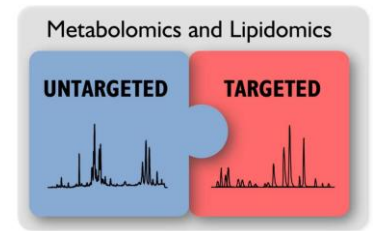
技术	分辨率	微生物种类	扩增区域对基因组的覆盖度	扩增偏好性	痕量样本处理能力	降解样本处理能力	宿主污染样本处理能力
16S	属水平	细菌	最低	高	中	中	中
5R 16S	种水平	细菌	很低	高	中	中	中
三代全长16S	种水平	细菌	低	中	低	低	中
宏基因组	种水平	细菌、真菌、古菌、病毒	最高	低	低	低	低
微生物简化基因组	种水平	细菌、真菌、古菌	中等	低	高	高	高

- **Untargeted Global Profiling**非靶向策略: Omics-level数据, 高覆盖 (测得到) 与高解析 (定性出), 最大化发挥高分辨质谱提供的卓越定性/定量效能
- 解决方案: 领先的非靶向代谢组学技术平台**高解析非靶向代谢全谱技术**

非靶向代谢组学的研究目标:

1. 刻画代谢表型全貌: 获悉生物洞见 From biochemical landscape to biological insights
2. 筛查与发现: 驱动科学假设 Through screening to drive hypothesis

- **Targeted quantitative**靶向策略: 因物制宜, 分门别类, 追求极致, 充分验证, 最大化发挥串接质谱具备的定量效能
- 解决方案: 靶向代谢分析技术平台**经典代谢物定量方法集群与试剂盒**; AQ1800: **1800种人体内源性代谢物与脂质的绝对定量**

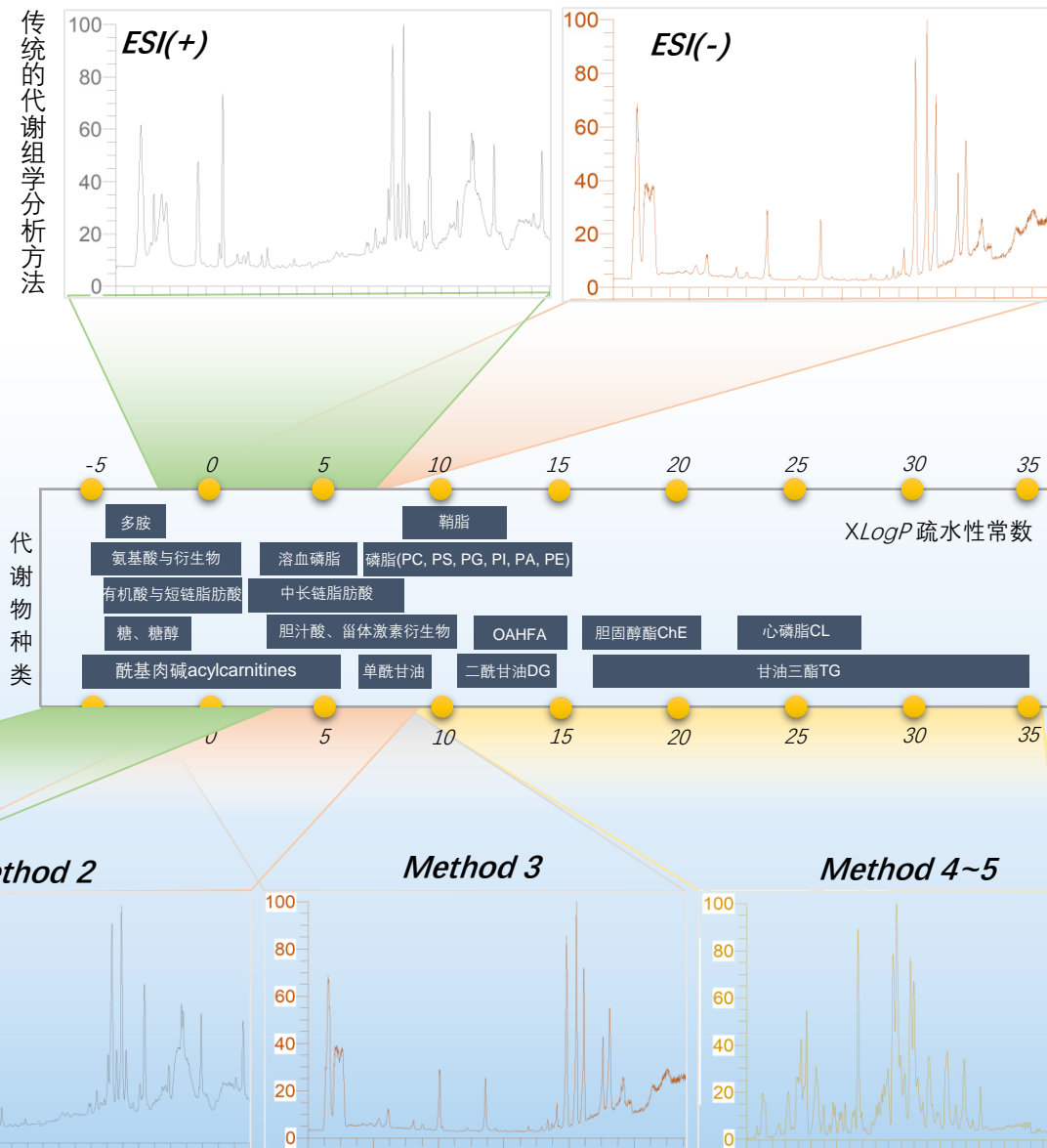
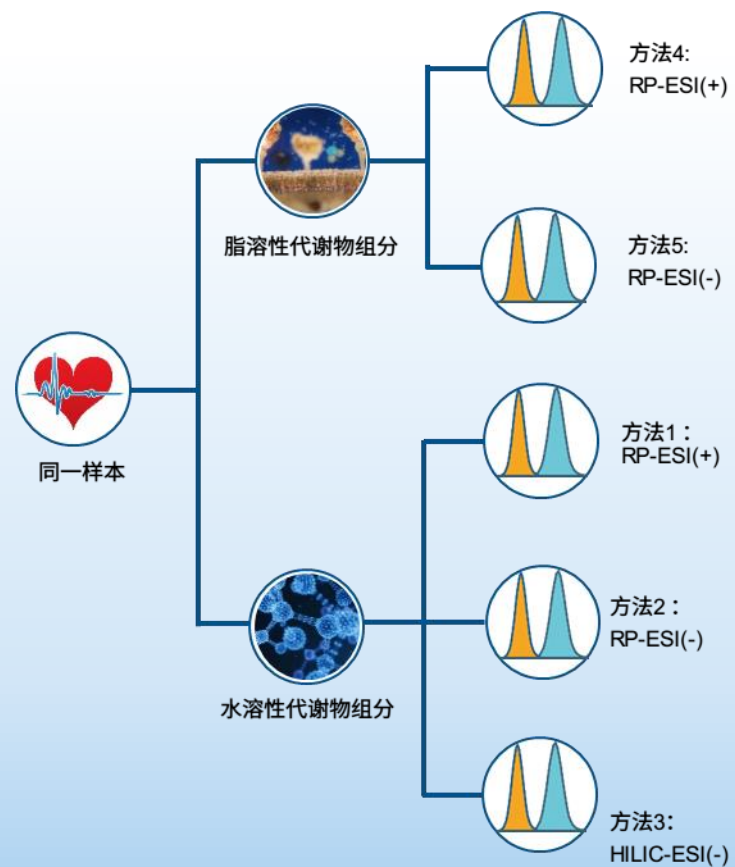


靶向代谢组学的研究目标:

1. 生物功能导向: Metabolites panel of biological relevance
2. 痕量检测: Trace level metabolites can not be covered with Untargeted profiling

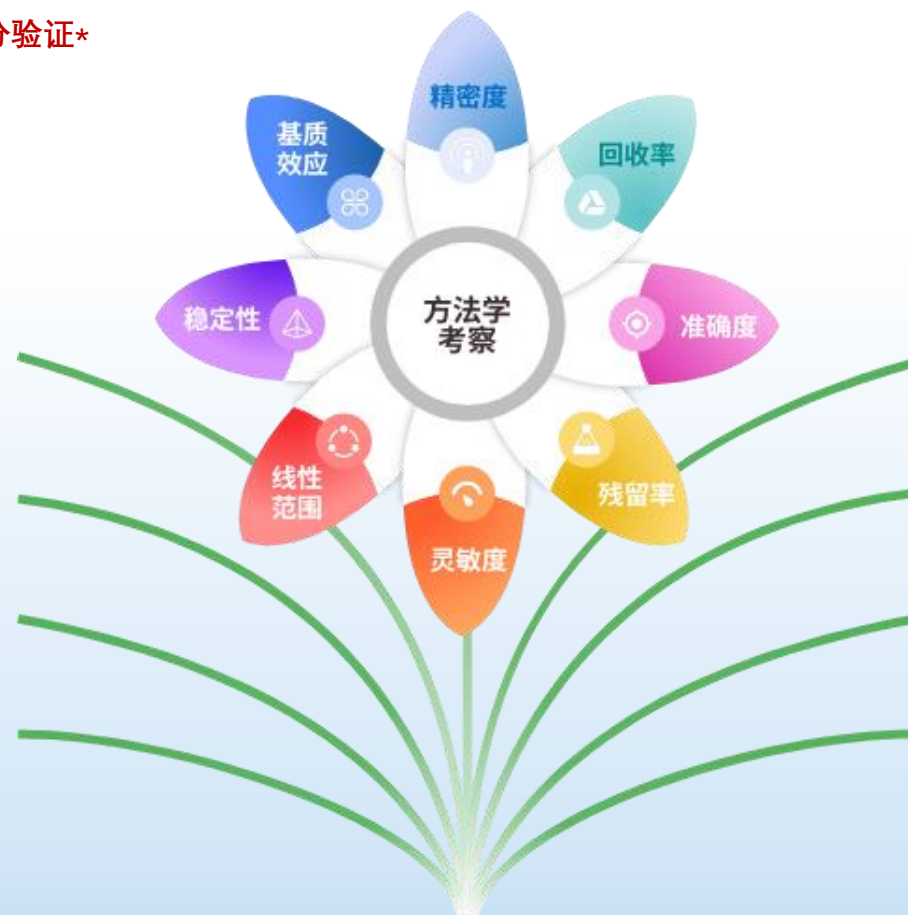
高解析非靶向代谢全谱

- 实现更丰富、更精准的代谢物定性与定量测量
 - 1份样本2次制备，极性组分(一般意义上的代谢组) & 弱极性组分(脂质组)
 - 2~4个独立分析方法整合互补
 - 色谱分离与质谱检测耦合，覆盖最大化



经典靶向代谢物定量测试方法集群

- 测试平台：行业领先的 SCIEX QTRAP 5500+ 二维超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱；SCIEX QTRAP 4500 MD 医疗诊断设备
- 标样库：常备300+种同位素标记内标，~1500种非标记外标标准品
- 开发原则：**因物制宜，分门别类，追求极致，充分验证***



AccuQuanter™-Bile acids **胆汁酸** ◆
70种胆汁酸 ◆
同位素内标法定量 ◆

AccuQuanter™-SMCFAs **短中链脂肪酸** ◆
15种短链+中链脂肪酸 ◆
同位素内标法定量 ◆

AccuQuanter™-Carnitines **酰基肉碱** ◆
63种中长链脂肪酸 ◆
同位素内标法定量 ◆

AccuQuanter™-Steroid hormones **甾体激素** ◆
32种甾体激素 ◆
同位素内标法定量 ◆


◆ AccuQuanter™-**有机酸与糖类**
◆ **86种**能量代谢、有机酸类代谢物
◆ 同位素内标法定量

◆ AccuQuanter™-**氨基酸核苷酸**
◆ **132种**氨基酸、核苷酸及其主要降解代谢物
◆ 同位素内标法定量

◆ **AccuQuanter™-肠道菌群特异性代谢物**
◆ **82种**肠道菌群特异性代谢物，文献荟萃验证
◆ 同位素内标法定量

◆ AccuQuanter™-溶血型磷脂
◆ **105种**LysoPC, LysoPI, LysoPE等
◆ 同位素内标单点法定量

◆ Lipid-Quan**定量脂质组学**
◆ **1200种**脂质
◆ 同位素内标单点法定量

 **AccuQuanter™**
靶向代谢物定量
质试剂盒与方法集群

*: 参考美国FDA，欧盟EMA以及中国药典对生物样品分析方法验证的指导原则

高通量靶向代谢组学：AQ1800—从非靶向出发，定量广泛地真实存在于人体内的内源性代谢物

AQ1800：600多种极性代谢物+1200多种脂质；行业内覆盖最广的人体代谢组定量化测量

极性代谢物种类	检测数目	举例（3个）
氨基酸及其衍生物 二肽 短肽	94	甲状腺素 眼酸 麦角硫因
核苷酸代谢 B族维生素 胆碱类	38	5'-甲硫基腺苷 1-甲基-6-氧代吡啶-3-甲酰胺 假尿苷
中长链脂肪酸 脂肪酸类衍生物	63	二十碳五烯酸 3-羟基癸酸 12-HETE
胆汁酸	57	甘氨酸猪胆酸 3-硫酸石胆酸 7-酮石胆酸
碳水化合物 氨基酸与能量代谢下游的有机酸 短链脂肪酸	83	异丁酸 3-羟基戊二酸 果糖
特异性肠道菌群代谢物 其他类	105	吲哚-3-丙酸 4-硫酸雌马酚 肠内酯
溶血型磷脂	105	LysoPC(16:0e/0:0) LysoPE(16:0p/0:0) LysoPI(0:0/20:4)
酰基肉碱	66	异戊酰肉碱 十四二烯酰肉碱 二十烯酰肉碱

脂质种类	检测数目	脂质种类	检测数目
PC磷脂酰胆碱	95	Cho胆固醇	7
PE磷脂酰乙醇胺	127	PG磷脂酰甘油	28
LysoPC	37	PI磷脂酰肌醇	22
LysoPE	27	PS磷脂酰丝氨酸	12
SM鞘磷脂	55	PA磷脂酸	6
TAG甘油三酯	466	LysoPI	12
ChE胆固醇酯	26	FFA脂肪酸	33
DAG甘油二酯	60	Steroid甾体类	8
CER神经酰胺	28	AcCa	40
DCER二氢神经酰胺	12	Sulfatide硫苷酯	16
LCER乳糖神经酰胺	12	CL心磷脂	84
GluCER己糖神经酰胺	7	Sphingosine base	6
HCER羟基神经酰胺	12	氘代同位素内标	15

AQ1800深度定量代谢组学：稳定地定量出1000个以上的人血代谢物浓度值

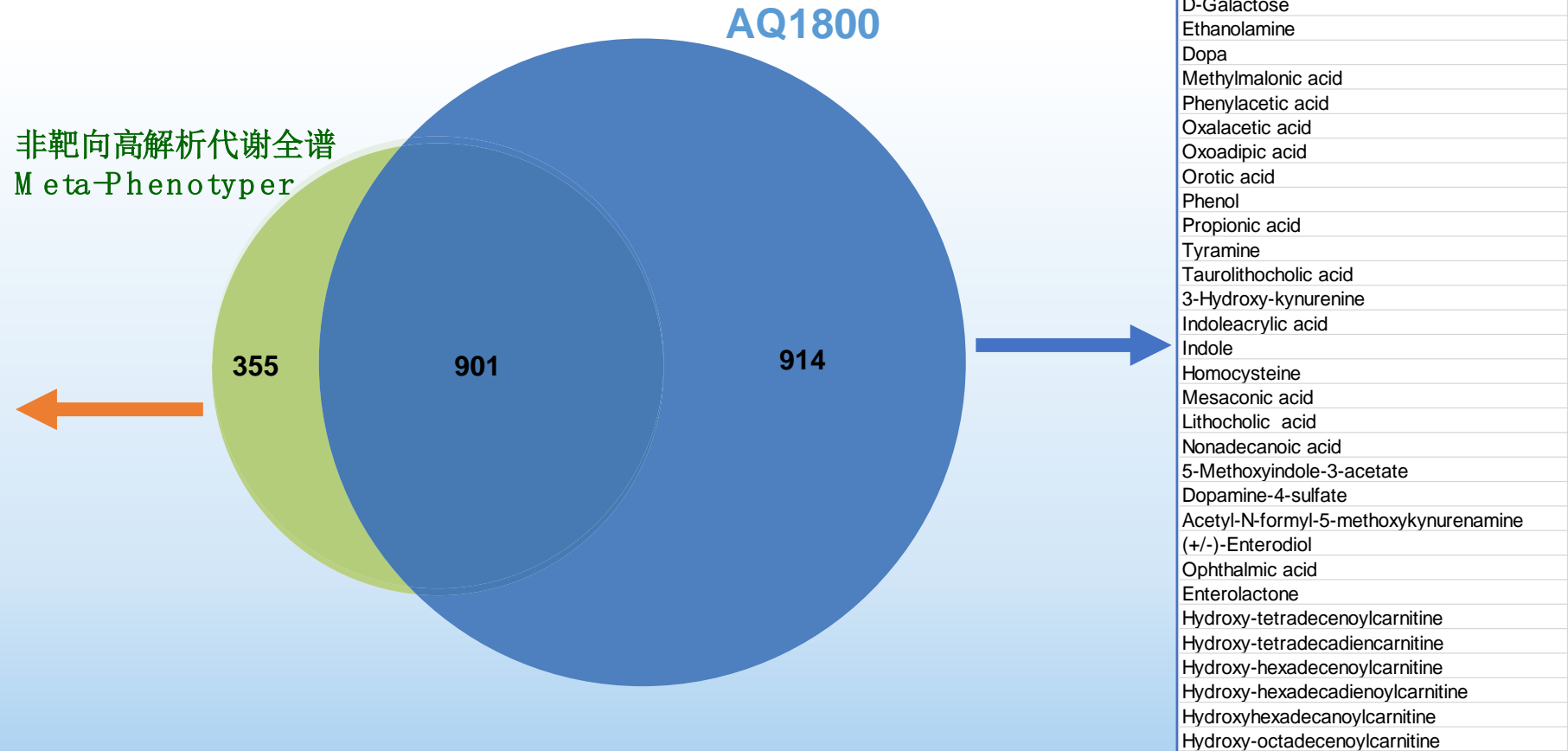
辨析：Intend to detect *VS*. Have been detected successfully

AQ1800：方法可定量检测1800种人体内源性代谢物与脂质

AQ1800：人血清中能够定量到1100±100种内源性代谢物与脂质

Asn-Val
Asp-Ile
Asp-Leu
Cys-Cys
Glu-Ile
Glu-Leu
Glu-Trp
Perfluorooctanesulfonic acid(PFOS)
Perfluorooctanoic acid(PFOA)
2,3-Dihydroxy-5-methylthio-4-pentenoic acid
Human Fibrinopeptide B residual [1-12, XGVNDNEEGFFS]
Human Fibrinopeptide B residual [1-13, XGVNDNEEGFFSA]
Human Fibrinopeptide B residual [1-11, XGVNDNEEGFF]
Human Fibrinopeptide A residual [2-16, DSGEGDFLAEGGGVR]
Human Fibrinopeptide A residual [3-16, SGECDFLAEGGGVR]
Human Fibrinopeptide A residual [2-15, DSGEGDFLAEGGGV]
Human Fibrinopeptide A residual [3-15, SGECDFLAEGGGV]
Androsterone sulfate (2)
Androsterone sulfate (3)
Androsterone sulfate (4)
Androsterone sulfate (5)
M1X-RT61MZ86
M1X-RT68MZ86
M1X-RT84MZ86
M1X-RT266MZ120
M1X-RT214MZ130
M1X-RT188MZ132
M1X-RT186MZ158

非靶向高解析代谢全谱
Meta-Phenotyper





博淼技术服务项目一览表

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/微生物简化基因组测序
- 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
- 高通量靶向代谢组
- 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

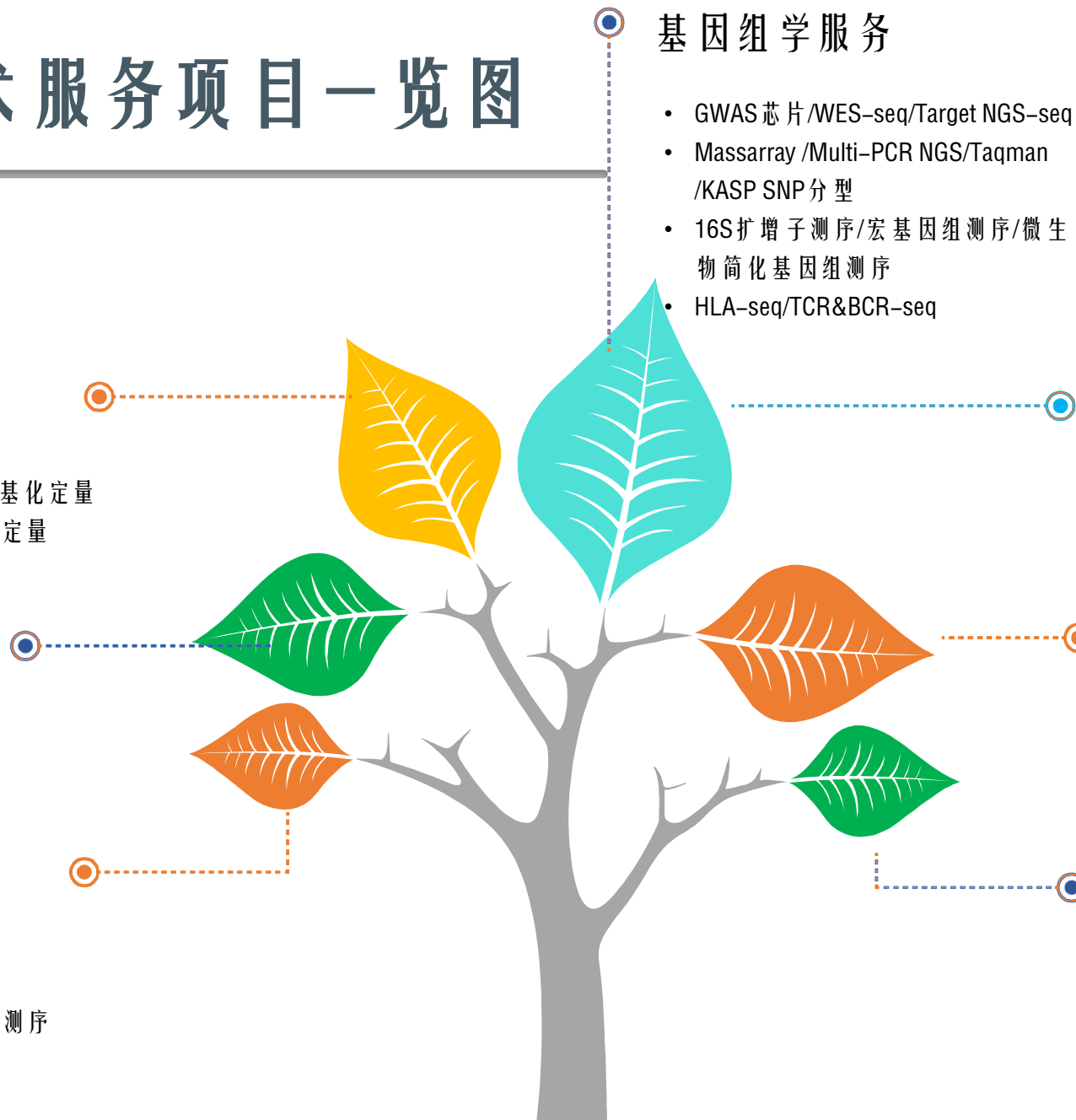
- 4D-DIA/DIA 定量蛋白质组/TMT 定量蛋白质组/Label free 定量蛋白质组
- Olink 定量蛋白质组/PRM 靶向蛋白/ELISA
- 修饰蛋白质组
- 高密度自身抗体蛋白芯片

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





精致服务 就在您身边



THANKS

- 全心全意，做您的专属实验室
- 10年实验积累，万份设计经验
- 博淼精致服务，为您随时守候

博 淼 生 物

