

# 基于血清代谢组学的 2 型糖尿病大鼠 运动干预的定量生物学研究

李蕾<sup>1</sup>, 刘承宜<sup>2</sup>

(1. 淮北师范大学 体育学院, 安徽 淮北 235000; 2. 华南师范大学 体育科学学院  
激光运动医学实验室, 广东 广州 510006)

**摘 要:** 基于血清代谢组学和定量差异探讨 2 型 DM 大鼠的运动干预机制。Sprague dawley 大鼠分为正常对照组(NC)、DM 模型组(DMC)和 DM 运动干预组(DME)。DMC 和 DME 组大鼠予以高糖高脂饲料喂养 4 周, 以 40 mg/kg 腹腔注射链脲佐菌素造模稳定 1 周。DME 组大鼠实施游泳运动干预 8 周。采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用仪(UPLC/Q-TOF MS)技术对不同组别大鼠的血清进行代谢组学分析, 利用定量差异对代谢组学获得的生物标记物进行筛选。结果显示: 1) DME 组、DMC 组和 NC 组的血清代谢谱明显分离, 表明 DME 组血清代谢谱与 DMC 组和 NC 组之间有显著的变化; 2) 血清中精氨酸、脯氨酸-甜菜碱、二十碳五烯酸、亚麻酸、丙基肉碱、单甘油酸酯(24:6)、肉毒碱、1-磷酸鞘氨醇、葡糖酸、和磷酸胆碱(20:3)共 10 种代谢产物在 DMC 组和 NC 组间存在显著性定量差异( $P > 0.80$ ), 除了单甘油酸酯(24:6)和磷酸胆碱(20:3)外, 8 周游泳训练可以将 DME 大鼠体内的其它 8 种物质恢复到与 NC 组没有显著性差异( $P < 0.47$ )。结果表明: (1) 游泳训练可以完全康复 2 型 DM 大鼠。(2) 多不饱和脂肪酸和精氨酸代谢有望成为今后研究运动干预 2 型 DM 机制的新鲜靶点。

**关 键 词:** 运动医学; 2 型糖尿病; 运动干预; 代谢组学; 定量差异; 大鼠

中图分类号: G804.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-7116(2016)04-0140-05

## Quantitative biological study of exercise intervention on type 2 diabetes mellitus rats based on serum metabonomics

LI Lei<sup>1</sup>, LIU Cheng-yi<sup>2</sup>

(1. School of Physical Education, Huaibei Normal University, Huaibei 235000, China; 2. Laboratory of Laser Sports Medicine, School of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** In order to probe into the mechanism of exercise intervention on type 2 diabetes mellitus (DM) rats based on serum metabonomics and quantitative difference, the authors divided Sprague Dawley rats into a normal control group (NC), a DM control group (DMC) and a DM exercise group (DME), fed the rats in groups DMC and DME with high-sugar high-fat feed for 4 weeks, and intraperitoneally injected them with streptozotocin at a dose of 40 mg/kg body weight for 1 week in order to stabilize model establishment, implemented swimming intervention on the rats in group DME for 8 weeks, carried out a metabonomic analysis on the serum of the rats in different groups by using ultra performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (UPLC/Q-TOF MS), screened biomarkers acquired from the metabonomic analysis by utilizing quantitative difference, and revealed the following findings: 1) there was a clear separation of serum metabolic profile of the rats in groups DME, DMC and NC, indicat-

收稿日期: 2015-10-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(61575065); 国家体育总局全民健身研究领域课题基金资助(2015B056); 安徽省高校优秀青年人才基金重点项目(2013SQRL032ZD)。

作者简介: 李蕾(1978-), 女, 副教授, 博士, 研究方向: 运动促进健康的理论与实践。E-mail: Lisulei73@aliyun.com 通讯作者: 刘承宜教授

ing that there was a significant change in serum metabolic profile between the rats in group DME and the rats in groups DMC and NC; 2) between the rats in groups DMC and NC, there was a significant quantitative difference in Arginine, Proline betaine, Eicosapentaenoic acid, Linolenic acid, Propionyl-L-carnitine, MG(24:6), Carnitine, Sphingosine-1-phosphate, Gluconic acid and PE(20:3) ( $I > 0.80$ ), except MG(24:6) and PE(20:3) were completely recovered after 8-week exercise intervention ( $I < 0.47$ ). The said findings indicate the followings: 1) swimming training can fully rehabilitate type 2 DM rats; 2) polyunsaturated fatty acid and arginine metabolism are hopefully to become new targets of study of the mechanism of exercise intervention on type 2 DM in the future.

**Key words:** sports medicine; type 2 diabetes mellitus; exercise intervention; metabonomics; quantitative difference; rat

DM 运动干预研究已经有 90 年的历史了<sup>[1]</sup>。然而,对运动疗法的防治机理仍缺乏系统深入的认识;其临床疗效对疾病死亡率的影响依然不大。这可能与传统的“还原论”思维指导下的实验方法不足有一定关系<sup>[2]</sup>(微观靶点繁多,整体靶点不明确);也可能与传统的完全依赖零假设统计检验(Null Hypothesis Statistical Testing, NHST)有一定关系<sup>[3-4]</sup>。

“代谢组学”是指对生物体内相对分子质量小于 1 000 的低相对分子质量代谢物的变化进行检测、确定、定量和分类,寻找它们在类型和数量上的变化与生理病理变化之间的关系和动态规律<sup>[5]</sup>。鉴于运动干预机制具有多靶点、非特异性、成组调节的特点,有学者认为可以把“代谢组学”方法作为运动人体科学研究中的一个有力的新工具,并定义为“运动代谢组学”(sportomics)<sup>[2, 6]</sup>。2 型 DM 作为代谢性疾病的典型,是代谢组学方法非常适宜的研究对象。在利用代谢组学技术研究运动干预代谢紊乱的相关文献中,急性运动的偏多,慢性运动的很少。尤其是缺乏对慢性疾病动物模型的长期的、纵向的研究。可是,已有的代谢组学研究结果显示,疾病和干预后机体的代谢紊乱物质及代谢通路繁多,缺乏有效的筛选方法锁定差异代谢物,导致机制阐释泛泛而无针对性。因此,也限制了代谢组学方法在干预效应研究中的应用。刘承宜等<sup>[7-8]</sup>引入黄金分割常数来度量差异,并提出了定量差异的概念,为差异代谢物的筛选和更好地阐释运动效应的定量生物学内涵提供了方法学支撑。

因此,本研究依据文献报道建立 2 型 DM 大鼠模型<sup>[9]</sup>,采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用仪(ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry, UPLC/Q-TOF MS)分别对大鼠的血清样本进行测试分析,通过原始数据提取、归一化处理、多维统计等对样本进行模式识别,比较分析不同组别大鼠的代谢状态,寻找运动干预改善 2 型 DM 大鼠内源性代谢变化的生物标记物及其相关代谢途径,并利用定量差异对 2 型 DM 大鼠运动干预的生物标记物进行筛选,探讨运动干预 2 型 DM 大鼠的

定量生物学内涵,为评价运动干预 2 型 DM 大鼠的治疗作用提供实验参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物造模与取材

40 只雄性 Sprague dawley(SD)大鼠(140~160 g),购自南京市江宁区青龙山动物繁殖场,饲养于扬州大学动物实验中心,每日光照 12 h,室温( $24 \pm 0.8$ ) °C,相对湿度 60%,自由饮水摄食。

适应性喂养 1 周后,通过随机数字表随机选取 30 只大鼠予以高糖高脂饲料(73.5%的基础饲料、13%猪油、1%的胆固醇、0.5%胆盐、8%蔗糖和 4%的大豆粉,均为质量分数)喂养 4 周,之后以 40 mg/kg 实施腹腔注射 STZ 造模,观察大鼠饮食、体质量、尿量等生理指标,稳定 1 周后剪尾取血测定空腹血糖和随机血糖,以空腹血糖  $\geq 11.1$  mmol/L 为 2 型 DM 大鼠造模成功<sup>[9]</sup>。另 10 只大鼠给予适量生理盐水腹腔注射对照,设为正常对照组(normal control, NC),普食喂养至实验结束。

造模成功率约 70%以上,结果与文献报道相一致<sup>[9]</sup>。将造模成功的 21 只大鼠按血糖水平高低分成若干个区组,然后将每个血糖范围的大鼠随机分到两个组。其中 10 只作为 DM 模型组(diabetes mellitus control, DMC),普食喂养 8 周至实验结束。另 11 只作为 DM 运动干预组(diabetes mellitus exercise, DME),普食喂养,游泳运动干预,共 8 周,每周训练 6 d,休息 1 d,训练时间从 20~60 min 不等的逐渐适应,到适应后 90 min/d。8 周后,运动组末次运动禁食 12 h 后,所有大鼠苯巴比妥钠 45 mg/kg 腹腔注射麻醉,下腔静脉取血,离心取血清,−80 °C 冻存备用。

### 1.2 药品与试剂

链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购自 Sigma 公司(货号: S0130);液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC/MS)级乙腈、超高效液相色谱(ultra-performance liquid chromatography, UPLC)级甲醇购自 Merck 公司(Darmstadt, Germany);甲酸购自 CNW 公司;其余试剂为市售分析纯。实验

用水为屈臣氏蒸馏水。

### 1.3 实验仪器

仪器分析平台为 UPLC/Q-TOF MS(Agilent, 1290 Infinity LC, 6530 UHD and Accurate-Mass Q-TOF/MS), 分离色谱柱为 C18 色谱柱(Agilent, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)。FRESCO 17 离心机(ThermoFisher Scientific); SK5200HP 超声仪(上海科导超声仪器有限公司); Mettler AE240 天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); EYEL MG-2200 氮吹仪(TOKYO RIKKA KIKAL COLTD); Tissuelyser-24 研磨仪(上海净信科技); VORTEX 涡旋仪(LABNET)。

### 1.4 UPLC/Q-TOF MS 实验流程

1)血清样本前处理。样本常温下解冻后,移液枪精准移取 100 μL 样本,置于 1.5 mL 的离心管,采用甲醇沉淀蛋白,加入 0.5 mL 低温甲醇,采用超声破碎,低温离心(15 000 r/min, 5 min),吸取上清液;残渣中再次加入 0.5 mL 的低温甲醇,重复上述步骤,合并上清液。取 200 μL 上清液于进样小瓶中待测。

2)色谱分离及质谱条件。柱温为 40 °C;流速 0.4 mL/min;流动相组成 A(水+质量分数 0.1%甲酸)、B(乙腈+质量分数 0.1 %甲酸);线性梯度洗脱条件:0~2 min, 5% B; 2~17 min, 5%~95 % B; 17~19 min, 95% B。进样量为 4 μL,自动进样器温度 4 °C。

锁定质量(Lock mass)使用亮氨酸-脑啡肽,以确保质量的准确性和重复性。正离子模式下产生[M+H]<sup>+</sup>离子 556.2771 u。负离子模式下产生[M-H]<sup>-</sup>离子 554.2615 u。

### 1.5 原始数据处理与多维统计分析

使用基于 R 平台的 XCMS 软件对 LC/MS 数据进行滤噪、峰对齐、归一化等预处理,然后将编辑后的数据矩阵导入 Simca-P 软件(11.0 demo version, Umetrics AB, Ume, Sweden)进行主成分分析(principal component analysis, PCA)、偏最小二乘法-判别分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)和正交偏最小

二乘-判别分析法(orthogonal partial least-square discriminant analysis, OPLS-DA)等多维统计分析,对数据进行降维处理和信息挖掘。

### 1.6 潜在生物标记物的挖掘及鉴定

本实验寻找 OPLS 模型中的 VIP(Variable Importance in the Projection)值,然后再进行单维 *t* 检验,综合 VIP>1 和 *P* 值(*P*<0.05)最终确定差异性表达代谢物。差异性代谢物的定性方法为:搜索在线数据库(<http://metlin.scripps.edu/>)(比较质谱的质荷比 *m/z* 或者精确分子质量 mass),将获得的二级质谱图与候选化合物进行比对分析,鉴定化合物的化学结构。

### 1.7 定量差异

刘承宜等<sup>[8-9]</sup>提出了定量差异的概念:对于任何两个数 *x* 和 *y*,它们之间的相对差异可以用 *l* 来度量,称为 *l* 级定量差异:

$$l = |\log_2(x/y)| = |\lg(x/y)/\lg 2|$$

基因组学<sup>[10]</sup>和蛋白质组学<sup>[11]</sup>要求基因或蛋白质上调后的倍数超过 1.5 或 2.0,下调后的倍数低于 0.667 或 0.5,相应 *l* 的量级为 0.84 或 1.44,显然与分子细胞水平的 *l* 量级(0.80, 1.27)比较接近,但后者比前者更加精细,当然有待实验的进一步验证。本实验依据定量差异对鉴定出的差异代谢物进行筛选。

## 2 研究结果及分析

### 2.1 动物造模期体质量特征和变化

体质量定量差异的显著性量级为(0.27, 0.47)<sup>[7-8]</sup>。如表 1 所示,高脂时(1)的模型组体质量定量上显著低于正常组(*l*>0.27),之后逐渐接近;注射 STZ 造模后,模型组大鼠体质量迅速下降(*l*>0.27),且伴随有饮水量和尿量明显增多,毛色暗淡、缺乏光泽,精神萎靡,鼠笼潮湿,摄食量在短暂减少后有所增加,提示 2 型 DM 大鼠模型造模成功。另外,除了高脂时(2)之外,对照组与模型组的体质量的统计差异和定量差异完全一致。

表 1 大鼠造模期间体质量( $\bar{x} \pm s$ )变化

组别	<i>n</i> /只	造模前	高脂时(1)	高脂时(2)	高脂时(3)	STZ 注射	造模时	造模后
对照组	10	101.1±9.6	178.6±21.4	252.0±27.0	295.2±30.1	332.7±36.2	372.1±37.2	366.2±35.1
模型组	21	99.1±9.5	155.2±16.6	223.9±20.3	271.8±23.3	321.8±31.4	303.7±26.5	273.5±29.5
<i>l</i>		0.041 52	0.291 80	0.245 70	0.171 60	0.069 21	0.422 10	0.606 50
<i>P</i> 值		0.65	0.01	0.02	0.07	0.48	0.00	0.00

### 2.2 运动对 2 型 DM 大鼠的改善作用

血糖定量差异的显著性量级为(0.80, 1.27)<sup>[7-8]</sup>。如表 2 所示,NC 组实验期间体质量稳步增加(*P*<0.05, *l*>0.47),空腹血糖变化不明显(*l*<0.80)。DMC 组实验期间体质量几乎不变(*l*<0.27),呈现消瘦、多饮、多食和

多尿的“三多一少”症状,空腹血糖没有显著性变化(*l*<0.80)。经过 8 周的运动干预,DME 组大鼠表现为消瘦症状显著减轻,体质量不增的状况得到改善(*P*<0.05, *l*>0.27),同时空腹血糖水平显著低于干预前(*P*<0.05; *l*<0.80)。

表2 运动干预前后各组大鼠体质量和血糖( $\bar{x} \pm s$ )变化

组别	例数	体质量/g			C(空腹血糖)/(mmol·L <sup>-1</sup> )		
		干预前	干预后	<i>t</i>	干预前	干预后	<i>t</i>
NC	10	398.4±27.1	518.5±47.5 <sup>1)</sup>	0.5475	8.1±0.5	7.5±0.6	0.054 1
DMC	10	296.6±53.5	300.2±101.5	0.02507	14.0±5.5	11.11±6.9	0.480 0
DME	11	296.6±53.5	348.6±70.7 <sup>1)</sup>	0.3357	14.0±5.5	9.24±2.81 <sup>1)</sup>	0.863 0

与干预前比较, 1) $P < 0.05$

### 2.3 三组大鼠血清样本的PCA模型

主成分回归产生的权重矩阵反映的是预测变量  $X$  之间的协方差, 可以反映样本之间的总体代谢差异和组内变异度大小。模型参数为  $R^2 X = 0.611$ ;  $Q^2 = 0.404$ 。 $R^2 X$ 代表模型的解释率, 大于0.4表示模型可靠。PCA得分表明, 3组能够达到较好地分离, 且DME组位于DMC和NC组之间。

### 2.4 定量差异筛选结果

本实验依据定量差异对鉴定出的差异代谢物进行

筛选, 得到10个代谢物信息, 如表3所示。相比于NC组大鼠, DMC组大鼠体内的精氨酸(Arginine, Arg)、肉毒碱(Carnitine)、丙基肉碱(Propionyl-L-carnitine, PLC)、1-磷酸鞘氨醇(Sphingosine-1-phosphate, SPP)和葡糖酸(Gluconic acid)有显著性升高( $l < 0.80$ ), 二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、亚麻酸(linolenic acid, LA)和脯氨酸-甜菜碱(Proline betaine)显著性降低( $l < 0.80$ ), 经过8周游泳训练后, DME组大鼠体内的这些物质恢复到与NC组没有显著性差异( $l < 0.47$ )。

表3 定量差异筛选的10个代谢物及相关生化代谢通路

序号	英文名称及其缩写	中文名称	相关生化代谢通路
1	Arginine (Arg)	精氨酸	氨基酸代谢
2	Proline betaine	脯氨酸-甜菜碱	氨基酸代谢
3	Eicosapentaenoic Acid (EPA)	二十碳五烯酸	脂肪酸代谢
4	Linolenic Acid (LA)	亚麻酸	脂肪酸代谢
5	Propionyl-L-carnitine (PLC)	丙基肉碱	脂肪酸代谢
6	Monoglyceride (MG(24:6))	单甘油酸酯(24:6)	脂代谢
7	Carnitine	肉毒碱	脂代谢
8	Sphingosine -1-phosphate (SPP)	1-磷酸鞘氨醇	脂代谢
9	Gluconic acid	葡糖酸	葡萄糖代谢
10	Phosphatidylethanolamines(PE(20:3))	磷酸胆碱(20:3)	胆碱磷酸化代谢

相比于NC组大鼠, DMC组大鼠体内的单甘油酸酯(Monoglyceride, MG)(24:6)(MG(24:6))和磷酸胆碱(Phosphatidylethanolamines, PE)(20:3)(PE(20:3))都有非常显著性升高( $l > 1.27$ ), 经过8周游泳训练后, DME组大鼠体内的这些物质都有非常显著性降低, 但还没有恢复到NC组的水平。

## 3 讨论

### 3.1 定量差异

本研究讨论的体质量属于机体水平,  $l$ 的显著性量级为(0.27, 0.47)。从表1可以看出, 除了高脂时(2)之外, 统计检验和  $l$ 分析的结果完全一致。统计检验无法区分造模时和造模后, 但  $l$ 分析可以。造模时存在显著性差异, 造模后则存在非常显著性差异。从表2可以看出, 在干预期间, NC组体质量非常显著增加( $l > 0.47$ ), 但DMC组保持不变, DME组可以部分恢复体质量, 但与NC组差一个量级( $0.27 < l < 0.47$ )。

本研究讨论的血糖和代谢组分属于细胞分子水平,  $l$ 的显著性量级为(0.80, 1.27)。从表2可以看出, 干预期间, NC组和DMC组的血糖水平都保持不变( $l < 0.80$ ), 但DME组血糖显著降低( $l > 0.80$ ), 而且最后血糖水平与相应的NC组没有显著性差异( $l < 0.80$ )。

### 3.2 生物标记物的定量生物学内涵

大鼠体内不能自行合成LA和EPA等多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA), 必须直接从食物中摄取或由前体物质转化<sup>[12]</sup>。转基因技术研究发现, 与生产C20 PUFA相关性较大的是 $\Delta 6$ 去饱和酶和Elovl2延长酶<sup>[13]</sup>。 $\Delta 6$ 去饱和酶是一种膜结合脂肪酸脱饱和酶, 能催化脂肪酸碳链中C-C单键转换成C=C双键<sup>[14]</sup>。Elovl2延长酶属于ELOVL家族, 可以将饱和、单饱和和脂肪酸延长为PUFA<sup>[15]</sup>。它的同源体Elovl3第一个被发现, 且与棕色脂肪增生和非颤抖性产热有关<sup>[16]</sup>。本实验中, DMC组大鼠体内LA和EPA含量较NC组非常显著性降低( $l > 1.270$ ), 可能是因为DM大鼠体内

物质代谢分解加快, 脂肪消耗较大所致, 机体尽可能动员脂肪, 提高脂肪酸利用率, 肉毒碱含量也较 NC 组相应增加。运动是否引起了脂肪酸碳链延长和脂肪酸脱氢反应代谢途径中的 Elovl2 延长酶和 $\Delta 6$  去饱和酶的活性, 从而参与调控脂类合成和氧化代谢, 值得关注和研究。该方向的研究可能为运动调节脂肪酸代谢在代谢性疾病防治作用中的贡献提供机制参考。

Ram í rez-Zamora 等<sup>[17]</sup>测定 2 型 DM 不正规治疗患者和健康对照者血清和红细胞中 Arg、鸟氨酸(Ornithine, Orn)、瓜氨酸(Citruline, Cit)、尿素(Urea)等指标含量发现, DM 患者改变了代谢物在血清和红细胞之间的分布。红细胞调节氮代谢, 可能是通过上调 Arg 的血清代谢水平实现的。本实验中, DMC 组大鼠体内 Arg 含量较 NC 组非常显著性升高( $t > 0.80$ )。与 Ram í rez-Zamora 等<sup>[17]</sup>人体研究结果还是吻合的。同时, 也可能是 2 型 DM 大鼠体内蛋白质分解加速, 导致内源性 Arg 来源增多, 而降解不足, 其平衡被打破, 导致血清含量显著升高。8 周的运动干预可以下调 Arg 含量至正常组水平, 可能与运动促进了大鼠体内源性 Arg 的动态平衡有关。可能是运动中 Cit 调节了内源性 Arg 的动态平衡<sup>[18]</sup>。可见, 骨骼肌作为运动的动力器官, 骨骼肌 Arg / NO 代谢途径在运动条件下的反应和适应以及与血液 Arg/NO、及肝脏 Urea 循环之间的关系可成为今后研究运动改善代谢性疾病机制的新的关注点。

## 参考文献:

- [1] HETZEL K S. Muscular exercise in diabetes mellitus[J]. Br Med J, 1925, 1(3342): 102-106.
- [2] 黄彩华, 归予恒, 林东海. 代谢组学: 运动人体科学研究的新工具[J]. 体育科学, 2011, 31(9): 77-83.
- [3] OSBOME J W. Challenges for quantitative psychology and measurement in the 21st century[J]. Front Psychol, 2010, 3(8): 1-3.
- [4] WOOLSTON C. Psychology journal bans P values[J]. Nature, 2015, 519(7541): 9.
- [5] 贾伟. 医学代谢组学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2011.
- [6] BASSINIA, CAMERON L C. Sportomics: building a new concept in metabolic studies and exercise science[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 445(4): 708-716.
- [7] 刘承宜, 胡少娟, 李晓云, 等. 定量差异及其在体育科学中的应用[J]. 体育学刊, 2016, 23(1): 11-17.
- [8] LIU T C Y, LIU L, CHEN J G, et al. Ac-tion-dependent photobiomodulation on health, suboptimal health and disease[J]. Int J Photoenergy, 2014: 832706.
- [9] ZHOU Y S, GAO Y, GUO X H, et al. Effect of timely insulin treatment on protection of  $\beta$  cells in a rat model of type 2 diabetes mellitus[J]. Chin Med J (Engl), 2004, 117(10): 1523-1529.
- [10] SUN W, CHOI S H, PARK S K, et al. Identification and characterization of novel activity-dependent transcription factors in rat cortical neurons[J]. J Neurochem, 2007, 100(1): 269-278.
- [11] CHEN Y, SHI G, XIA W, et al. Identification of hypoxia-regulated proteins in head and neck cancer by proteomic and tissue array profiling[J]. Cancer Res, 2004, 64(20): 7302-7310.
- [12] 许友卿, 郑一民, 丁兆坤. 合成高度不饱和脂肪酸 $\Delta 6$  去饱和酶研究的回顾与前瞻[J]. 饲料工业, 2008, 29(14): 41-44.
- [13] QIU X. Biosynthesis of docosahexaenoic acid(DHA, 22:6 $\Delta 4, 7, 10, 13, 16, 19n-3$ ): two distinct pathways[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2003, 68(2): 181-186.
- [14] KURDRID P, SUBUDHI S, HONGSTHONG A, et al. Functional expression of spirulina-Delta 6 desaturase gene in yeast, Saccharomyces cerevisiae[J]. Mol BioRep, 2005, 32(4): 215-226.
- [15] 王海燕, 苏玉虹. 编码极长链脂肪酸延长酶基因家族的结构及其产物的功能[J]. 生命的化学, 2005, 25(1): 29-31.
- [16] TVRDIK P, ASADI A, KOZAK L P, et al. Cig30, a mouse member of a novel membrane protein gene family, is involved in the recruitment of brown adipose tissue[J]. J Biol Chem, 1997, 272(50): 31738-31746.
- [17] RAMIREZ-ZAMORA S, MENDEZ-RODRIGUEZ M L, OLGUIN-MARTINEZ M, et al. Increased erythrocytes by-products of arginine catabolism are associated with hyperglycemia and could be involved in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66823.
- [18] 王冰梅, 徐朝晖. 有氧运动条件下一氧化氮合成与肝脏尿素循环之间关系初探[J]. 体育科学, 2005, 25(5): 47-49.