

学校编码: 10384  
学号: 20520141151642

分类号\_\_密级\_\_  
UDC\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

用 NMR 代谢组学方法研究 HDL 和 apoA-I 拟肽 D-4F  
保护内皮细胞及造影剂损伤内皮细胞的分子机制

NMR-based metabolomic analysis for mechanisms of both  
protections of HDL and apoA-I mimetic peptide D-4F, and  
injury of contrast media on endothelial cells

指导教师姓名: 林东海 教授  
专 业 名 称: 化学生物学  
论文提交日期: 2016 年 月  
论文答辩时间: 2016 年 月  
学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: \_\_  
评阅人: \_\_

2017 年 05 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（      ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于      年    月    日解密，解密后适用上述授权。

（      ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年    月    日

# 目录

摘要.....	VII
Abstract.....	VIII
缩略语表.....	X
第一章 细胞代谢组学与药物研究.....	1
1.1 代谢组学.....	1
1.2 细胞代谢组学.....	1
1.3 细胞代谢组学在药物研究中的应用.....	2
1.4 本文研究内容.....	2
1.5 参考文献.....	3
第二章 用 NMR 代谢组学方法研究 HDL 和 apoA-I 拟肽 D-4F 保护 内皮细胞的机制.....	6
2.1 引言.....	6
2.2 材料与方法.....	8
2.2.1 主要药品与试剂.....	8
2.2.2 主要仪器与软件.....	9
2.2.3 HDL 和 LDL 分离.....	9
2.2.4 LDL 氧化.....	10
2.2.5 原代细胞分离与培养.....	10
2.2.6 划痕实验.....	10
2.2.7 胞内代谢物萃取.....	10
2.2.8 样品配制和 $^1\text{H}$ NMR 谱采集.....	11
2.2.9 NMR 数据预处理.....	11
2.2.10 NMR 数据分析.....	12
2.3 结果.....	13

2.3.1 HDL 和 D-4F 对内皮细胞的促迁移作用 .....	13
2.3.2 NMR 谱和模式识别分析 .....	14
2.3.3 特征性代谢物的定量分析.....	19
2.3.4 ox-LDL 引起的内皮细胞代谢改变 .....	20
2.3.5 比较 HDL 和 D-4F 引起的内皮细胞代谢改变.....	21
2.3.6 代谢通路分析.....	23
<b>2.4 讨论.....</b>	<b>25</b>
2.4.1 氧化应激很可能是 ox-LDL 引起内皮细胞代谢紊乱的主要原因 ..	26
2.4.2 HDL 和 D-4F 改善 ox-LDL 引发的内皮细胞氧化应激.....	26
2.4.3 HDL 和 D-4F 改善 ox-LDL 导致的内皮细胞糖酵解异常 .....	27
2.4.4 HDL 部分改善 ox-LDL 扰乱的内皮细胞的甘油磷脂代谢 .....	27
<b>2.5 本章小结 .....</b>	<b>28</b>
<b>2.6 参考文献.....</b>	<b>29</b>
<b>第三章 用 NMR 代谢组学方法研究造影剂损伤内皮细胞的机制 ....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 引言 .....</b>	<b>34</b>
<b>3.2 材料与方法.....</b>	<b>35</b>
3.2.1 主要药品与试剂.....	35
3.2.2 主要仪器与软件.....	36
3.2.3 细胞培养与样品制备.....	37
3.2.4 <sup>1</sup> H NMR 谱采集 .....	37
3.2.5 NMR 数据预处理 .....	38
3.2.6 NMR 数据分析 .....	38
<b>3.3 结果.....</b>	<b>39</b>
3.3.1 造影剂对内皮细胞增殖的影响.....	39
3.3.2 内皮细胞水溶性代谢物的 <sup>1</sup> H NMR 平均谱 .....	40
3.3.3 Vis 对内皮细胞代谢模式的影响 .....	41
3.3.4 Vis 组与正常组之间特征性代谢物的筛选和定量分析 .....	43
3.3.5 分析 Vis 组 vs.正常组的特征性代谢物参与的主要代谢通路 .....	47

3.3.6 UIt 对内皮细胞代谢模式的影响 .....	48
3.3.7 UIt 组与正常组之间特征性代谢物的筛选和定量分析 .....	50
3.3.8 分析 UIt 组 vs. 正常组的特征性代谢物参与的主要代谢通路 .....	54
<b>3.4 讨论 .....</b>	<b>55</b>
3.4.1 氧化应激可能是造影剂导致内皮细胞代谢紊乱的主要原因.....	56
3.4.2 造影剂导致内皮细胞的糖酵解异常并促进内皮细胞的 TCA 回补途 径.....	57
3.4.3 造影剂抑制内皮细胞的胆碱代谢.....	58
<b>3.5 本章小结 .....</b>	<b>58</b>
<b>3.6 参考文献 .....</b>	<b>58</b>
<b>在读期间发表的论文 .....</b>	<b>62</b>
<b>致谢.....</b>	<b>63</b>

## Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>VII</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>VIII</b>
<b>Abbreviations</b> .....	<b>X</b>
<b>Chapter 1 Cell metabolomics and drug research</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Metabolomics</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Cell metabolomics</b> .....	<b>1</b>
<b>1.3 Application of metabolomics in drug research</b> .....	<b>2</b>
<b>1.4 Key points in this thesis</b> .....	<b>2</b>
<b>1.5 References</b> .....	<b>3</b>
<b>Chapter 2 NMR-based metabolomic analysis for the protective effects of HDL and apoA-I mimetic peptide D-4F on endothelial cells</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1 Introduction</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2 Methods and materials</b> .....	<b>8</b>
2.2.1 Main reagents.....	8
2.2.2 Main instruments and softwares .....	9
2.2.3 Isolation of LDL and HDL.....	9
2.2.4 Oxidation of LDL .....	10
2.2.5 Primary cell isolation and culture .....	10
2.2.6 Scratch-wound assay .....	10
2.2.7 Intracellular metabolites extraction.....	10
2.2.8 Sample preparation and NMR measurements.....	11
2.2.9 NMR data preprocessing.....	11
2.2.10 NMR data analysis .....	12
<b>2.3 Results</b> .....	<b>13</b>
2.3.1 Pro-migration effects of HDL and D-4F on endothelial cells.....	13
2.3.2 NMR spectra and pattern recognition analysis .....	14
2.3.3 Quantitative analysis of characteristic metabolites .....	19

2.3.4 Metabolic alterations induced by ox-LDL in endothelial cells.....	20
2.3.5 Comparison of metabolic alterations induced by HDL and D-4F in endothelial cells .....	21
2.3.6 Metabolic pathway analysis .....	23
<b>2.4 Discussion .....</b>	<b>25</b>
2.4.1 Oxidative stress might be responsible for endothelial cell dysfunction induced by ox-LDL.....	26
2.4.2 HDL and D-4F alleviated ox-LDL-induced oxidative stress in endothelial cells .....	26
2.4.3 HDL and D-4F improved ox-LDL-caused glycolysis abnormality in endothelial cells .....	27
2.4.4 HDL partly ameliorated ox-LDL-perturbed glycerophospholipid metabolism in endothelial cells.....	27
<b>2.5 Conclusion.....</b>	<b>28</b>
<b>2.6 References .....</b>	<b>29</b>
<b>Chapter 3 NMR-based metabolomic analysis for the injury effects of contrast media on endothelial cells .....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 Introduction .....</b>	<b>34</b>
<b>3.2 Methods and materials.....</b>	<b>35</b>
3.2.1 Main reagents.....	35
3.2.2 Main instruments and softwares .....	36
3.2.3 Cell culture and sample preparation .....	37
3.2.4 NMR measurements.....	37
3.2.5 NMR data preprocessing.....	38
3.2.6 NMR data analysis .....	38
<b>3.3 Results.....</b>	<b>39</b>
3.3.1 Effect of contrast media on endothelial cell proliferation.....	39
3.3.2 Average <sup>1</sup> H NMR spectra acquired on aqueous extracts of endothelial cells .....	40
3.3.3 Effect of Vis on metabolic profile of endothelial cells .....	41
3.3.4 Identification and quantitative analysis of characteristic metabolites	



between the control and Vis groups .....	43
3.3.5 Metabolic pathway analysis of characteristic metabolites between the control and Vis groups .....	47
3.3.6 Effect of Ult on metabolic profile of endothelial cells.....	48
3.3.7 Identification and quantitative analysis of characteristic metabolites between the control and Ult groups .....	50
3.3.8 Metabolic pathway analysis of characteristic metabolites between the control and Ult groups .....	54
<b>3.4 Discussion .....</b>	<b>55</b>
3.4.1 Oxidative stress might be responsible for endothelial cell dysfunction induced by contrast media .....	56
3.4.2 Contrast media induced glycolysis abnormality and promoted TCA cycle anaplerosis flux in endothelial cells .....	57
3.4.3 Contrast media suppressed choline metabolism in endothelial cells ....	58
<b>3.5 Conclusion .....</b>	<b>58</b>
<b>3.6 References .....</b>	<b>58</b>
<b>Publications .....</b>	<b>62</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>63</b>

## 摘要

细胞代谢组学将高通量检测技术与多种数据分析方法结合,用于揭示细胞内整体、动态的代谢变化,在药物研究中发挥着重要的作用。本论文采用基于<sup>1</sup>H核磁共振(NMR)的细胞代谢组学方法,探讨与内皮细胞代谢相关的药物作用机制。

研究表明,载脂蛋白 A-I (apoA-I) 模拟肽 D-4F 展现出许多与高密度脂蛋白(HDL)相似的内皮保护功能。但是,目前并不清楚 D-4F 的内皮保护机制是否与 HDL 完全一样。因此,我们运用基于<sup>1</sup>H NMR 的代谢组学方法,比较 HDL 和 D-4F 拮抗氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的内皮细胞紊乱的保护机制。我们发现 ox-LDL 不仅抑制内皮细胞的迁移,而且引发内皮细胞的代谢紊乱。这种代谢紊乱主要表现为扰乱糖酵解、甘油磷脂代谢以及与氧化应激相关的代谢通路。HDL 或 D-4F 的处理均能够改善 ox-LDL 诱导的迁移抑制、氧化应激和糖酵解异常。并且, HDL 还能够部分改善 ox-LDL 扰乱的甘油磷脂代谢。而 D-4F 并不能改善被扰乱的甘油磷脂代谢。这些结果说明, D-4F 并不能完全替代 HDL 发挥内皮保护作用。这项研究为发展 D-4F 的临床应用提供了一定的理论基础。

造影剂在使用过程中,会损伤内皮细胞,进而引发器官特异性和全身性的副反应。但是截止目前,造影剂损伤内皮细胞的分子机制还未具体阐明。在本项研究中,我们采用基于<sup>1</sup>H NMR 的代谢组学方法,探究暴露在两种造影剂(两种剂量)中的内皮细胞的代谢变化。结果表明,两种造影剂均显著影响内皮细胞的代谢模式,并且两者是通过相似的分子机制诱导内皮细胞的代谢紊乱。我们发现,氧化应激可能是造影剂引发内皮细胞代谢紊乱的一个主要原因。氧化应激激活内皮细胞的抗氧化系统,促进谷胱甘肽的生物合成,并消耗大量的谷胱甘肽。此外,造影剂还导致内皮细胞的糖酵解代谢异常,同时促进 TCA 循环回补途径和抑制胆碱代谢。这些结果从代谢组学的角度揭示了造影剂引发的内皮细胞代谢紊乱,有助于进一步探究造影剂副反应的发病机制。

**关键词:** 核磁共振; 代谢组学; 药物研究; 内皮细胞

## Abstract

Cell metabolomics is being used to reveal comprehensive and dynamic metabolic alterations in cells, which integrates high throughput detection technology and several data analysis methods. It plays a vital role in drug research. In this thesis, we conducted nuclear magnetic resonance (NMR)-based cell metabolomic analysis to elucidate the molecular mechanisms underlying the effects of drugs on endothelial cell metabolisms.

Previous works have demonstrated that the apoA-I mimetic peptide, D-4F, exhibited numerous endothelial protective effects similarly to high-density lipoprotein (HDL). However, it is still elusive whether the endothelial protection mechanism of D-4F is exactly the same as that of HDL. Hence, we performed  $^1\text{H}$  NMR-based metabolomic analysis to compare the protective effects of HDL and D-4F against oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL)-triggered endothelial cell dysfunction. We found that ox-LDL not only induced inhibitory migration of endothelial cells, but also led to metabolic disturbance, mainly embodied in perturbing glycolysis, glycerophospholipid metabolism and metabolic pathways related to oxidative stress. Treatment with either HDL or D-4F ameliorated migration inhibition, oxidative stress and glycolysis abnormality impaired by ox-LDL. Moreover, ox-LDL-perturbed glycerophospholipid metabolism could be partly attenuated by HDL rather than D-4F. These results suggested that D-4F could not completely substitute HDL to exert the identical endothelial protective effect. This work provides a theoretical basis for developing the clinical application of D-4F.

The use of contrast media can damage endothelial cells, leading to organ-specific and general side effects. But so far, the molecular mechanism underlying the injury effects of contrast media on endothelial cells has not been well-understood. In this work, we performed  $^1\text{H}$  NMR-based metabolomic analysis to address the metabolic changes in endothelial cells exposed to two kinds of contrast media with two doses. The results displayed that both contrast media exerted significant influences on the metabolic profiles of endothelial cells, and resulted in metabolic disorder via similar molecular mechanisms. We found that oxidative stress might be one of the main factors significantly responsible for endothelial cell dysfunction. Oxidative stress

activated the antioxidant system of endothelial cells, promoted the biosynthesis of glutathione, and consumed a large amount of glutathione. Additionally, contrast media caused glycolysis abnormality, promoted TCA cycle anaplerotic flux, and suppressed choline metabolism. These results revealed contrast media-induced endothelial cell dysfunction from the perspective of metabolomics, which may be helpful for further exploring the pathogenesis of contrast media-triggered side effects.

**Key Words:** NMR; metabolomics; drug research; endothelial cells.

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 缩略语表

缩写	英文	中文
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁共振
HUVECs	human umbilical vein endothelial cells	人脐静脉内皮细胞
HDL	high-density lipoprotein	高密度脂蛋白
apoA-I	apolipoprotein A-I	载脂蛋白 A-I
ASCVD	atherosclerotic cardiovascular diseases	动脉粥样硬化性心血管疾病
NO	nitrite oxide	一氧化氮
PGI <sub>2</sub>	prostaglandin I <sub>2</sub>	前列腺素 I <sub>2</sub>
PEDF	pigment epithelium-derived factor	色素内皮衍生因子
ox-LDL	oxidized low-density lipoprotein	氧化型低密度脂蛋白
ROS	reactive oxygen species	活性氧
ECM	endothelial cell media	内皮细胞培养基
FBS	fetal bovine serum	胎牛血清
PCA	principal component analysis	主成分分析
PLS-DA	partial least-squares discriminant analysis	偏最小二乘判别分析
OPLS-DA	orthogonal partial least-squares discriminant analysis	正交偏最小二乘判别分析
VIP	variable importance in the projection	变量权重重要性
LSD	least significant difference	最小显著差异
PIV	pathway impact value	通路影响值
DMA	dimethylamine	二甲胺
TMA	trimethylamine	三甲胺
PC	O-phosphocholine	磷酸胆碱
GPC	sn-glycero-3-phosphocholine	甘油磷酸胆碱
NAD <sup>+</sup>	nicotinamide adenine dinucleotide	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸
NADP <sup>+</sup>	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸
AXP	adenine mono/di/tri phosphate	一/二/三磷酸腺苷
PAF	platelet-activation factor	血小板活化因子
LPCs	lysophosphatidylcholines	溶血磷脂酰胆碱类
PEMT	phosphatidylethanolamine N-methyltransferase	磷脂酰乙醇胺 N-甲基转移酶
Vis	Visipaque	威视派克
Ult	Ultravist	优维显

## 第一章 细胞代谢组学与药物研究

### 1.1 代谢组学

Nicholson 研究小组于 1999 年首次提出代谢组学 (metabonomic) 的概念, 并将其定义为: 生物体对病理生理或基因修饰等刺激产生的代谢物动态应答的定量测定<sup>[1]</sup>。代谢组学通过考察生物体系 (生物体、器官、组织或细胞) 受刺激或受扰动前后代谢物 (相对分子质量小于 1000Da 的内源性小分子) 的动态变化, 揭示机体生命活动代谢的本质<sup>[2]</sup>。

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学后新兴发展起来的一门“组学”学科, 是系统生物学的重要组成部分<sup>[3]</sup>。与转录组学、蛋白质组学等其他组学相比, 代谢组学具有以下优势: (1) 代谢物更能反映生物体系对基因和环境改变的应答 (代谢物是转录和翻译过程的终端产物, 生物体受到刺激或扰动时, 基因和蛋白水平的微小变化会在代谢物水平上得到放大); (2) 与基因组和蛋白组相比, 代谢组更易于检测和分析 (代谢物的种类远远少于基因和蛋白的数目); (3) 代谢组学技术更通用 (因为代谢物在不同种类的生物体内是类似的)<sup>[4, 5]</sup>。

在代谢组学研究中, 常用的分析手段包括核磁共振 (NMR)、液相色谱-质谱 (LC-MS) 和气相色谱-质谱 (GC-MS) 等谱学技术<sup>[6]</sup>。其中, NMR 是最常用的检测技术之一, NMR 对样品的检测具有简便、快速、无创伤性、无偏向性的特点。

### 1.2 细胞代谢组学

细胞代谢组学是代谢组学的一个重要分支, 是对单一类型细胞株或单个细胞代谢调控过程中的内源性小分子进行定性和定量分析的一门学科<sup>[7]</sup>。由于细胞内的很多生命活动如细胞信号释放、能量传递、细胞间通信等, 都是在代谢层面上进行的, 因此对细胞内的代谢产物进行整体的定量检测有助于揭示动态系统中的细胞活性和细胞表型<sup>[8]</sup>。并且, 相比于动物实验和人体实验, 以细胞为对象的代谢组学研究还具有以下优势: (1) 易于控制实验条件, 降低实验成本, 缩短实验周期; (2) 细胞样品的平行性更好, 可避免年龄、性别、健康、环境等因素的干扰; (3) 细胞实验避免了动物实验和人体实验面临的伦理问题<sup>[9, 10]</sup>。

### 1.3 细胞代谢组学在药物研究中的应用

近年来,细胞代谢组学快速发展,受到越来越多的研究者关注。除了被广泛应用于疾病诊断<sup>[11-13]</sup>、肿瘤预后监测<sup>[14]</sup>以及生物标志物筛选<sup>[13]</sup>之外,细胞代谢组学在药物研究中的应用也尤为突出,比如药物筛选<sup>[15]</sup>、毒性和有效性评价<sup>[16]</sup>以及药物作用机制研究<sup>[17]</sup>等。Bugrim 等指出,任何用于预测药物吸收、分布、代谢、排泄和毒性评价的技术,都需要结合内源性代谢物的变化,才能达到综合考虑药物代谢情况的目的<sup>[18]</sup>。代谢组学技术不仅可用于研究药物本身的代谢,还能够用于研究药物引起的内源性代谢物的变化,进而阐明药物的作用靶点和作用机制。Shao 等利用基于 UPLC/Q-TOF MS 技术的代谢组学方法,发现 flavopiridol (一种具有抗肿瘤活性的黄酮类衍生物)能诱导 MCF-7 乳腺癌细胞的氧化应激和细胞周期阻滞,从而发挥抗增殖的作用<sup>[19]</sup>。Lefort 等采用基于 NMR 技术的代谢组学方法,研究两种药物(二氯乙酸和别嘌呤醇)对正常乳腺细胞(MCF-10A)和两种乳腺癌细胞(MDA-MB-231 和 MCF-7)代谢的影响<sup>[20]</sup>。West 等运用基于 LC-MS 技术的代谢组学方法,在人胚胎干细胞上建立了一种用于预测发育毒性的模型,可用于寻找与发育毒性有关的生物标志物<sup>[21]</sup>。这些研究表明,细胞代谢组学在药物研究方面具有广泛的应用。

### 1.4 本文研究内容

血管内皮细胞位于血管壁内皮下组织与循环血液之间,是血管结构和功能调控的基础。生理条件下,内皮细胞具有多种重要的生理作用,包括维持血管壁完整性,调节血管通透性和紧张度,维持凝血、抗凝及纤溶平衡的功能等<sup>[22]</sup>。一旦受到炎症、氧化、代谢改变等不利刺激,内皮细胞就会转变到一种非正常的状态,这种状态就称为内皮紊乱。大量研究表明,诱发心血管疾病的危险因素(高胆固醇血症、高血压、血脂异常、糖尿病、肥胖和衰老)会造成内皮细胞特定的代谢扰动,进而导致内皮紊乱<sup>[23,24]</sup>。由此可知,内皮细胞的代谢紊乱很可能是介导心血管疾病发病机制的一个重要因素,以内皮细胞代谢为靶点是目前一种新兴的治疗策略。

基于内皮细胞代谢在心血管疾病治疗中的重要性,以及细胞代谢组学在药物研究应用中的显著优势,本论文采用细胞代谢组学方法,开展两项与人脐静脉内

皮细胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVECs, 简称内皮细胞) 代谢相关的药物研究: (1) 高密度脂蛋白 (HDL) 和载脂蛋白 A-I (apoA-I) 模拟肽 D-4F 对内皮细胞的保护机制; (2) 造影剂对内皮细胞的损伤机制。我们将  $^1\text{H}$  NMR 谱学技术与多种数据分析方法相结合, 探究特定干预条件下内皮细胞的代谢变化, 从代谢组学的角度揭示药物作用的分子机制。

## 1.5 参考文献

- [1] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [2] Nicholson J K, Everett J R, Lindon J C. Longitudinal pharmacometabonomics for predicting patient responses to therapy: drug metabolism, toxicity and efficacy [J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2012, 8(2): 135-139.
- [3] Nicholson J K, Wilson I D. Understanding 'global' systems biology: metabonomics and the continuum of metabolism [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2(8): 668-676.
- [4] Bourne R, Himmelreich U, Sharma A, et al. Identification of *Enterococcus*, *Streptococcus*, and *Staphylococcus* by multivariate analysis of proton magnetic resonance spectroscopic data from plate cultures [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39(8): 2916-2923.
- [5] Taylor J, King R D, Altmann T, et al. Application of metabolomics to plant genotype discrimination using statistics and machine learning [J]. *Bioinformatics*, 2002, 18(suppl\_2): S241-S248.
- [6] Lao Y M, Jiang J G, Yan L. Application of metabonomic analytical techniques in the modernization and toxicology research of traditional Chinese medicine [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 157(7): 1128-1141.
- [7] Khoo S H, Al-Rubeai M. Metabolomics as a complementary tool in cell culture [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2007, 47(2): 71-84.
- [8] Fei F, Bowdish D M, McCarry B E. Comprehensive and simultaneous coverage of lipid and polar metabolites for endogenous cellular metabolomics using HILIC-TOF-MS [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(15):



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库