

## 一种通过代谢差异分析抑制 SARS-CoV-2 复制的靶点预测方法

齐瑜鹏, 赵言龙, 郑浩然

中国科学技术大学计算机科学与技术学院, 安徽 合肥 230027

**【摘要】**提出一种通过代谢差异分析抑制新型冠状病毒(SARS-CoV-2)复制进程的靶点预测方法。该方法基于肺宿主细胞的基因表达数据,重建病毒入侵后宿主细胞代谢系统发生变化的部分网络模型,并通过单基因敲除和细胞毒性测试识别候选靶点。此外,分析抗病毒靶点对目前已知的多种 SARS-CoV-2 变体的稳健性。结果表明,D-丙氨酸是影响 SARS-CoV-2 复制的关键代谢物,且适用于当前所有的 SARS-CoV-2 变体。调控D-丙氨酸的基因 PLPBP 是主要的基因靶点。本文方法具有通用性,适用于现有病毒及宿主细胞,为应对病毒性疾病提供新思路。

**【关键词】**COVID-19; SARS-CoV-2; 代谢差异分析; 靶点预测

**【中图分类号】**R318

**【文献标志码】**A

**【文章编号】**1005-202X(2023)12-1577-08

### Target prediction approach to inhibit SARS-CoV-2 replication based on metabolic difference analysis

QI Yupeng, ZHAO Yanlong, ZHENG Haoran

School of Computer Science and Technology, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China

**Abstract:** A target prediction approach to inhibit SARS-CoV-2 replication through metabolic difference analysis is presented. The approach is based on gene expression data from lung host cells, reconstructs a network model of the parts of the host cell metabolic system that are reprogrammed after viral invasion, and identifies candidate targets using single-gene knockout and cytotoxicity test. The robustness of antiviral targets against multiple currently known variants of SARS-CoV-2 is also analyzed. The results indicate that D-alanine is a key metabolite affecting SARS-CoV-2 replication and is applicable to all current SARS-CoV-2 variants. The gene regulating D-alanine (PLPBP) is the main gene target. The proposed approach is applicable to the existing viruses and host cells, providing new ideas for viral disease management.

**Keywords:** COVID-19; SARS-CoV-2; metabolic difference analysis; target prediction

### 前言

自2019年12月以来,由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染导致的 COVID-19 迅速传播,不仅出现异常巨大的医疗危机,也给许多国家带来极大的经济负担<sup>[1-2]</sup>。对于目前的治疗策略与药物开发方案,无论是针对病毒还是宿主细胞,其原理主要是通过阻断 SARS-CoV-2 中的 S 蛋白与宿主受体之间的相互作用,从而抑制病毒入侵宿主细胞<sup>[3-6]</sup>。SARS-CoV-2 的复制和人体组织对病毒的巨大免疫反应被认为是

COVID-19 发病机制的两个重要阶段<sup>[6]</sup>。然而,目前还很少有研究通过消除感染细胞与正常细胞之间的代谢差异实现对 SARS-CoV-2 复制进程的抑制。

新陈代谢是生物体最基本的特征,是一切生命活动的基础<sup>[7-8]</sup>。目前,通过代谢分析寻找目标靶点的方式已受到关注。研究表明,一些内源性疾病,如癌症,通过代谢重编程的方式<sup>[9-12]</sup>,抑制细胞正常的代谢活动,然后转向疾病发展的异常代谢活动<sup>[13-15]</sup>,支持自身的恶性增长。目前已存在一些方法,在系统生物学和重建细胞特异性基因组尺度代谢网络模型(GEMs)的帮助下<sup>[16-19]</sup>,分析癌细胞的代谢变化,从而识别潜在的目标靶点。

作为没有完整细胞结构的亚微观粒子,病毒仅由遗传物质和蛋白质外壳组成<sup>[20-21]</sup>。由于病毒没有代谢机制和酶系统,因此必须侵入宿主细胞并利用其代谢系统产生自身生存、增殖、入侵等生命活动所

**【收稿日期】**2023-06-15

**【基金项目】**国家重点基础研究发展计划(2017YFA0505502);中国科学院战略性先导科技专项(XDB38000000)

**【作者简介】**齐瑜鹏,硕士,主要从事生物信息学研究,E-mail: patrick-qi@mail.ustc.edu.cn

需的各种物质。实验结果证明了这种依赖性,表明病毒感染后宿主细胞的代谢通量发生了相当大的变化<sup>[22]</sup>。对于人体细胞而言,在被病毒入侵后,其代谢活动会受到影响,向有利于病毒生存和增殖的方向发展,从而引发疾病(图1a)。相应地,代谢重编程引

发的细胞代谢差异被认为对病毒至关重要(图1b)。探索病毒入侵后宿主细胞代谢系统的变化,寻找抑制病毒复制的药物靶点(图1c),为宿主免疫系统和临床治疗争取时间,是应对病毒性疾病的一个可能的发展方向(图1d)。

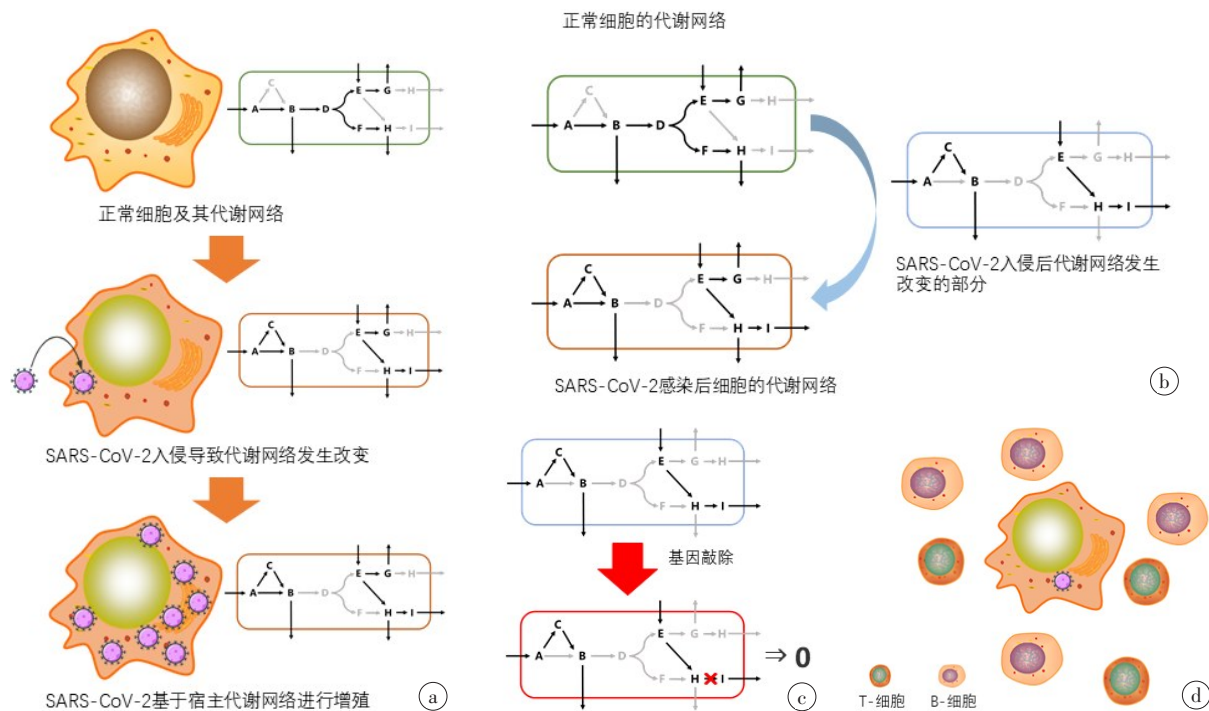


图1 SARS-CoV-2入侵宿主细胞引发代谢重编程  
Figure 1 Metabolic reprogramming induced by SARS-CoV-2 invasion of host cells

a:细胞通过其代谢网络(绿色方框)进行正常的代谢活动。病毒入侵细胞后,修改宿主细胞的代谢网络,利用异常的宿主代谢网络(橙色方框)进行自我复制;b:相对于正常细胞的代谢网络(绿色方框),病毒入侵后的代谢网络(橙色方框)发生变化,而上调部分(蓝色方框,“DELTA”网络)对于病毒的复制至关重要;c:“DELTA”网络中某些通路的活性通过基因敲除的方式受到抑制,使这部分网络的生产能力趋于0;d:通过抑制“DELTA”的活性,抑制病毒在宿主细胞中的复制,从而为免疫系统的反应和临床治疗争取时间,免疫细胞完成异常细胞的清除

基因表达数据反映的是直接或间接测量得到的基因转产物 mRNA 在细胞中的丰度,蕴含着基因活动的信息,可以反映细胞当前的生理状态、基因表达的改变情况以及基因之间的相关性等信息,在医学临床诊断、疾病发生机制等方面有重要的作用<sup>[23]</sup>。利用高通量杂交序列和基于测序技术的分子生物学实验已经非常普及,早期常用cDNA 微阵列<sup>[24]</sup>以及寡核苷酸芯片<sup>[25]</sup>的方式来获取基因表达数据。目前,基于第二代测序的 RNA-seq 技术所得到的基因表达数据,其通量更高、成本更低、噪声更少<sup>[26]</sup>,在识别差异表达的基因方面也更加准确<sup>[27]</sup>。相关技术的成熟,为我们从基因表达数据出发,分析 COVID-19 宿主细胞的代谢差异提供数据支持。

当前已有的基于 GEMs 和基因表达数据对 SARS-CoV-2 入侵宿主细胞的代谢分析研究,一部分

是通过构造病毒的生物质函数(Virus Biomass Objective Function, VBOF)并基于 VBOF 重建感染 SARS-CoV-2 的宿主细胞代谢网络模型<sup>[28-29]</sup>。在重建的模型上,进行代谢分析以及基因敲除等工作;还有一部分研究是分别构造正常宿主细胞与 SARS-CoV-2 感染后宿主细胞的代谢模型<sup>[30-31]</sup>,通过通量变异性分析(FVA)或通量采样的方式来分析感染前后宿主细胞代谢系统的变化<sup>[32-33]</sup>,从而关注正常细胞与感染细胞通量差异较大的代谢通路子系统。而当前很少有研究基于两者的代谢差异进行代谢网络模型的重建,通过限制差异代谢网络发挥作用,来抑制 SARS-CoV-2 在宿主细胞中的复制进程。

本文中,笔者提出一种通过代谢差异分析抑制 SARS-CoV-2 病毒复制进程的靶点预测方法,总体流程如图2所示。从基因表达数据出发,分析 SARS-CoV-2

病毒感染细胞与正常细胞的代谢差异,并在 Recon3D 的基础上<sup>[34]</sup>,重构病毒入侵宿主细胞后发生变化的代谢系统的差异代谢网络,命名为“DELTA”网络。利用单基因敲除和毒性测试寻找基因靶点,通过抑制靶点基因的表达来限制“DELTA”网络发挥作用。

在不影响宿主细胞正常代谢活动的前提下,抑制病毒的复制,为宿主免疫系统和临床治疗争取时间。该方法具有通用性,适用于现有的病毒性疾病的控制与治疗。

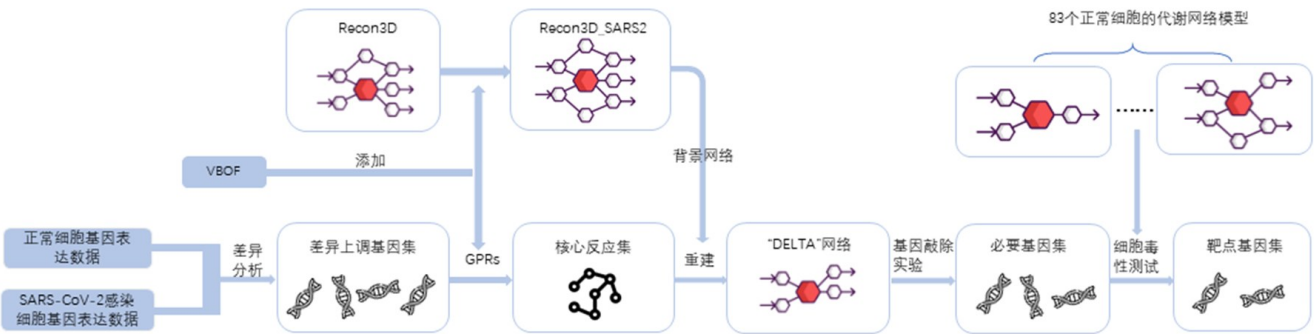


图2 基于代谢差异网络预测SARS-CoV-2靶点的方法流程图

Figure 2 Flowchart of SARS-CoV-2 target prediction using metabolic differential network

流程的输入是病毒的生物量合成反应和上调基因的集合,输出是潜在的靶点基因

1 数据与方法

1.1 数据集

SARS-CoV-2 主要感染的是人类的肺部组织,笔者从 NCBI 基因表达综合数据库(GEO)下载了肺部组织的 read count 转录组数据<sup>[22]</sup>。这其中包括了感染与未感染 SARS-CoV-2 的肺部组织样本。对于每个数据集,笔者根据是否感染 SARS-CoV-2 将其分为

感染组和正常组,一些数据集中的样本感染时间和感染组织有所不同,如 GSE186460 感染样本的感染时间为 24 h 和 48 h,所以笔者以 GSE186460\_24 和 GSE186460\_48 这样的命名方式来对各组数据进行区分。笔者从 12 个数据集中筛选出 20 组肺部数据。每个数据集的样本分布情况如表 1 所示。

表1 数据集样本分布  
Table 1 Sample distribution of the dataset

数据集	数据来源	正常样本数	感染样本数
GSE147507	人肺上皮细胞	3	3
GSE148697	HPSC 衍生的肺类器官	3	3
GSE160435	人肺上皮细胞	5	5
GSE163959	人肺部组织	10	10
GSE171430	肺泡细胞	2	2
GSE171524	冷冻肺	7	20
GSE182297	肺解剖组织	2	2
GSE182917	人肺部组织	3	11
GSE183533	死亡患者与正常人肺部组织	10	31
GSE186460	肺上皮细胞(感染时间分为 24 h 和 48 h)	5	4
GSE190193	肺上皮细胞(感染时间分为 24 h 和 72 h,感染细胞分为肺组细胞,近/远端肺泡细胞)	3	6
GSE197962	肺部培养细胞(感染毒株分别为原始株, alpha 和 beta)	2	5

## 1.2 “DELTA”网络构建

**1.2.1 SARS-CoV-2的VBOF重建** 对于SARS-CoV-2病毒生物物质函数的重建,与当前大多数研究一样<sup>[28-29, 35]</sup>,笔者使用Aller等<sup>[36]</sup>方法,从病毒的基因序列和蛋白质序列出发,考虑病毒的核苷酸、氨基酸组成以及能量供应等所需成分。在巴尔的摩分类系统中,SARS-CoV-2属于第4组分类(Group IV, positive-sense single-stranded RNA viruses),这些病毒通过互补的阴性ssRNA复制其阳性单链RNA(+ssRNA)基因组,因此SARS-CoV-2的基因组拷贝数(Cg)为1。对于蛋白质拷贝数,笔者引用Delattre等<sup>[37]</sup>研究。

**1.2.2 差异表达分析** 差异表达分析采用生物学显著性方法处理基因表达值,通过对感染细胞与对照细胞表达值的统计分析,找出两者差异具有统计学意义的基因。在本研究中,笔者使用Limma工具包提供的voom函数对read count值进行归一化<sup>[38-39]</sup>,并调整数据分布,以实现微阵列数据等差异表达分析。笔者比较各组感染样本和正常样本的基因表达数据,以 $|\log FC| > 1.0$ 和 $P$ 值 $< 0.05$ 作为基因表达显著差异的阈值。

**1.2.3 特异性代谢网络重构** 笔者利用目前最完整的人类基因组规模的代谢网络模型Recon3D来重建特异性“DELTA”网络<sup>[34]</sup>。Recon3D中包含2 248个代谢基因,10 600个代谢反应和5 835个代谢物,并提供基因-蛋白-反应之间的关联信息GPRs(Gene-Protein-Reaction)。

笔者使用COBRA Toolbox 3.0提供的addReaction函数<sup>[40]</sup>,向Recon3D中添加SARS-CoV-2的VBOF,并命名为Recon3D\_SARS2。对于每个数据集,从差异上调表达的基因中筛选出代谢相关的基因,并通过GRPs映射到代谢反应中,产生在感染细胞中相对正常细胞更加活跃的反应集。为了保证生成的“DELTA”网络能够进行SARS-CoV-2生物质的合成,笔者在上述反应集中加入VBOF,将其作为核心反应集。最后,使用FASTCORE算法在Recon3D\_SARS2上重新构建差异代谢网络“DELTA”<sup>[41]</sup>。

## 1.3 靶点基因的识别与预测

本研究中,潜在靶点基因的识别分为单基因敲除和毒性测试这两个步骤。

关于单基因敲除,笔者利用RAVEN工具箱提供的removeGenes函数模拟基因敲除的情况<sup>[42]</sup>。将VBOF作为“DELTA”网络的代谢目标,VBOF的通量越大,说明“DELTA”网络发挥的作用越大,感染细胞相对于正常细胞所发生代谢重编程的程度越高,越有利于SARS-CoV-2的复制。在敲除实验中,笔者每

次删除一个“DELTA”网络中的基因,然后计算敲除该基因后VBOF的通量。敲除后VBOF通量为0(或接近0)的基因被认为是“DELTA”网络的必要基因。

若基因缺失会影响正常组织代谢,则不可以将其作为候选靶点。因此,需要进行毒性测试实验。笔者在Metabolic Atlas上下载83个正常组织细胞的代谢网络模型<sup>[43]</sup>,在这些代谢网络上,依次敲除“DELTA”网络的必要基因,若敲除后的模型仍能完成包括能量和氧化还原、内部转化、底物利用等预定义的人体56项代谢任务,则认为该基因对正常细胞是没有毒性的,可以预测为SARS-CoV-2的靶点基因。

## 2 结果

### 2.1 差异表达基因

笔者分别对来自人肺宿主细胞的20组数据进行差异表达分析。差异表达基因分布如图3a所示。可以看到,各组数据中差异表达基因的数目差异较大,这与SARS-CoV-2入侵的反应程度、感染时间等因素息息相关。此外,在大多数组中,显著下调的基因数目相较显著上调的基因更多,这可能意味着SARS-CoV-2感染宿主细胞后,进行代谢重编程的方式更多地表现为抑制正常细胞的表达。

尽管如此,不同组数据的差异表达基因还是表现出了一些共性。AQP9、B3GNT3基因在超过一半组中显著上调表达,它们与小分子的运输过程息息相关。AQP9基因编码的蛋白质允许通过广泛的非充电溶质传递,还可以刺激尿素运输和渗透性水的渗透性,与细胞膜的形成有关。已有研究表明AQP9促进肺癌细胞的增殖<sup>[44]</sup>,这与病毒借助宿主细胞进行增殖的原理类似。

### 2.2 “DELTA”网络模型

笔者将20组肺宿主细胞数据经过差异表达分析得到的差异上调基因,在Recon3D\_SARS2背景网络的基础上,利用FASTCORE算法获得重构的20个“DELTA”网络,反映肺宿主细胞感染SARS-CoV-2后代代谢系统发生变化的部分。

与包含2 248个代谢基因、10 601个代谢反应的Recon3D\_SARS2模型相比,重构的20个“DELTA”网络模型平均包含1 127个代谢基因和2 554个代谢反应。笔者通过差异分析的方式消除了部分原发组织的代谢特征,“DELTA”网络模型的规模显著减小,使其更好地反映感染细胞相较于正常细胞,代谢系统显著上调的部分。20个“DELTA”网络模型的基因、反应和代谢物规模如图3b所示。其中,除VBOF外的6个代谢反应为20个“DELTA”网络模型所共有,

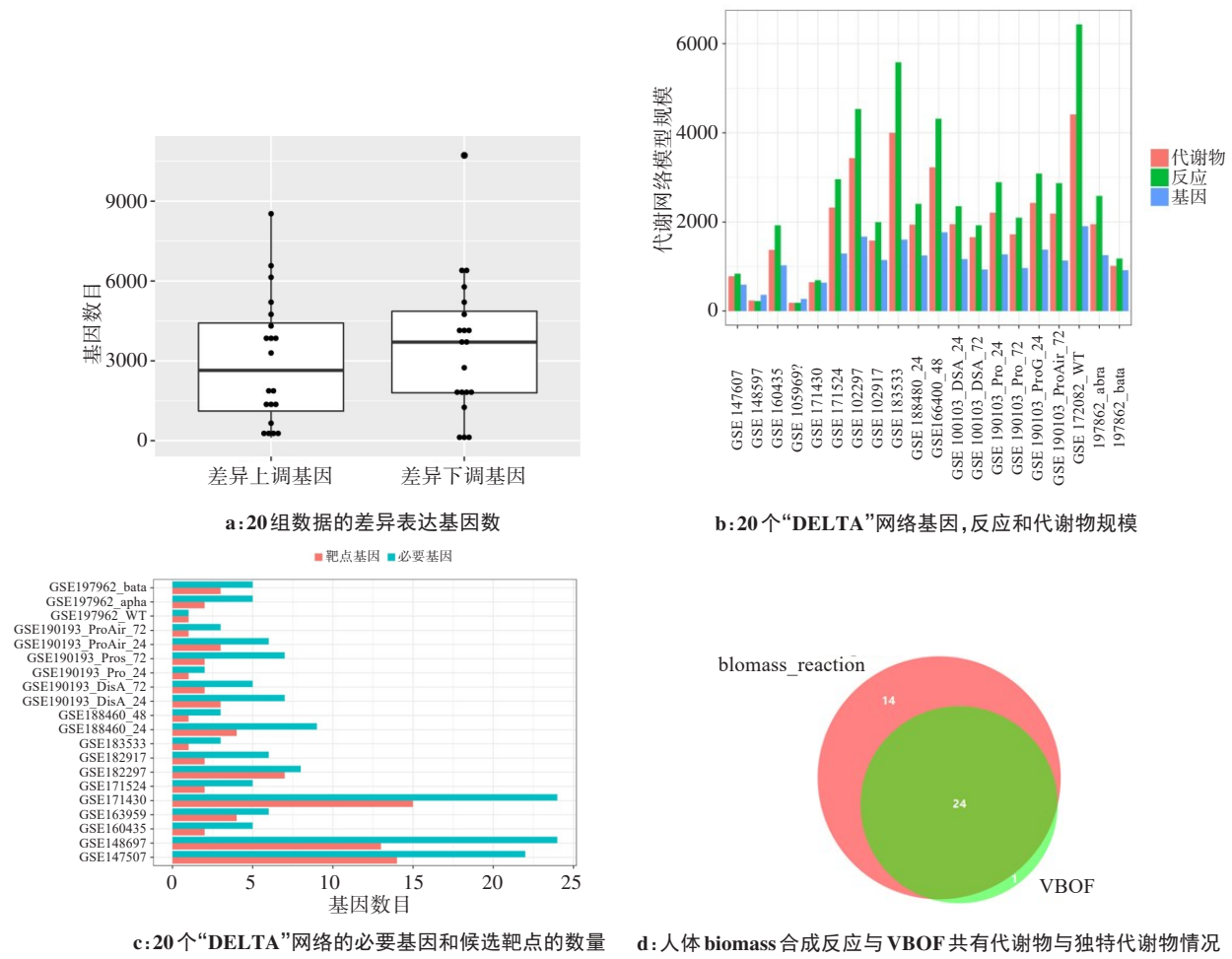


图3 “DELTA”网络重构与分析

Figure 3 "DELTA" network reconstruction and analysis

这些反应涉及核苷酸转化、氧化磷转化、转运反应等多种反应类型。6个代谢反应的详细信息如表2所示。

表2 20个“DELTA”网络共有的代谢反应

Table 2 Metabolic reactions shared by 20 "DELTA" networks

1	$\text{h2o[m]} + \text{ppi[m]} \rightarrow \text{h[m]} + \text{pi[m]}$
2	$\text{o2[e]} \rightarrow$
3	$\text{adp[c]} + \text{gdp[c]} \rightarrow \text{atp[c]} + \text{gmp[c]}$
4	$\text{o2[e]} \rightarrow \text{o2[c]}$
5	$\text{h2o[m]} + \text{h[m]} + \text{atp[m]} \rightarrow \text{adp[m]} + \text{pi[m]} + \text{h[i]}$
6	$\text{h[m]} + \text{ficytC[m]} + \text{q10h2[m]} \rightarrow \text{q10[m]} + \text{focytC[m]} + \text{h[i]}$

2.3 靶点基因与关键代谢物识别

从代谢模型中删除一个基因可能会对整个代谢系统的生长造成巨大的干扰,也可能几乎没有影响。为了分析影响“DELTA”网络目标的基因,笔者对20个“DELTA”网络分别进行单基因敲除实验。敲除后

影响“DELTA”网络目标的基因被认为是该网络的必要基因<sup>[45]</sup>。之后,笔者还需要进行细胞毒性测试。因为如果基因的缺失会影响正常组织的代谢,则不能将其视作潜在靶点。20个“DELTA”网络的必要基因和靶点基因规模如图3c所示。笔者从Metabolic Atlas<sup>[43]</sup>下载83个正常细胞代谢网络模型,并检查这些模型中基因缺失对56个预定代谢任务的影响。

结果表明,在不同“DELTA”网络模型中,一些关键基因在调控 SARS-CoV-2 引起的代谢系统变化上存在共性。通过分析这种共性,我们预测得到具有普适性的抑制 SARS-CoV-2 复制的基因靶点。靶点的统计分析表明,PLPBP在19个模型中被预测为有效的基因靶点,其调控的反应将L-丙氨酸转化为D-丙氨酸。GSE148697组数据对应的“DELTA”网络是唯一没有将PLPBP预测为靶点基因的模型,分析其靶点基因集,发现靶点基因SLC36A1调控的反应负责D-丙氨酸的合成。此外,通过比较人体生物质合成函数biomass\_reaction和SARS-CoV-2生物质合成函数VBOF,发现人体biomass合成反应包含了38

种代谢物,VBOF中包含25种代谢物,其中24种代谢物是二者所共有的(图3d),D-丙氨酸是VBOF中唯一一种独特代谢物。因此认为D-丙氨酸是推动SARS-CoV-2复制的关键代谢物,抑制D-丙氨酸的生成可以抑制病毒在宿主细胞中的复制,而不会影响正常细胞的代谢,在未来SARS-CoV-2药物研究的发展上有巨大潜力。

2.4 抗 SARS-CoV-2 靶点适用于当前存在的变异株

目前,世界卫生组织(WHO)将SARS-CoV-2的变异分为两类<sup>[46]</sup>:令人担忧的变异株(VOC)和值得关注的变异株(VOI)。VOC具有较高的公共卫生风险和危害,其名称及谱系分别是alpha(B.1.1.7)、beta(B.1351)、gamma(P.1)、delta(B.1.617.2)以及omicron(B.1.1.529)<sup>[39]</sup>。对于上述5种SARS-CoV-2变体,笔者从GenBank数据库中分别随机下载10个样本的基因序列及其对应的蛋白质序列,选取的都是完整并且高质量的序列<sup>[47]</sup>。笔者计算了各变种突变序列的VBOF,并将其化学计量系数的平均值与野生型的化学计量系数进行比较,变种与野生型之间的差异如图4所示<sup>[48]</sup>。笔者发现,几种变体VBOF与野生型的系数差异主要集中在ATP和ADP上。omicron是具有代表性的变体,除了ATP和ADP系数之外,其VBOF中几种氨基酸的化学计量系数也相对变化较大(赖氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸),这与其突变位点更多有关。但总的来说,几种变体的VBOF与野生型相比,化学计量系数差异很小。

此外,笔者对每种变体选择多个样本进行序列比对,筛选出突变位点较多的蛋白质,结果如图5a~图5e所示。可以看出,S是所有变体中突变位点最多的蛋白质,与之前的突变体相比,omicron的突变位点数量显著增加,尤其是S(图5f)。

笔者从BioGRID数据库中下载了SARS-CoV-2的30种蛋白质与人类基因之间的相互作用数据,并提取了其中与人类代谢相关基因的部分<sup>[49]</sup>。根据实验系统进行分组,提取了与S蛋白相互作用得分前30%的Recon3D基因,共23个。对于重建的20个“DELTA”网络,笔者在每个网络中进行23次基因敲除实验,依次单个敲除S蛋白关联的23个基因。然而,敲除前后“DELTA”网络中VBOF的通量几乎完全相同。因此我们可以认为S蛋白关联基因的存在与否对SARS-CoV-2生物量的合成是没有影响的,即S的突变对VBOF的影响是比较小的,病毒的突变不会对目标的预测结果造成太大影响。

3 讨论与结论

SARS-CoV-2病毒入侵人体宿主细胞后,会控制

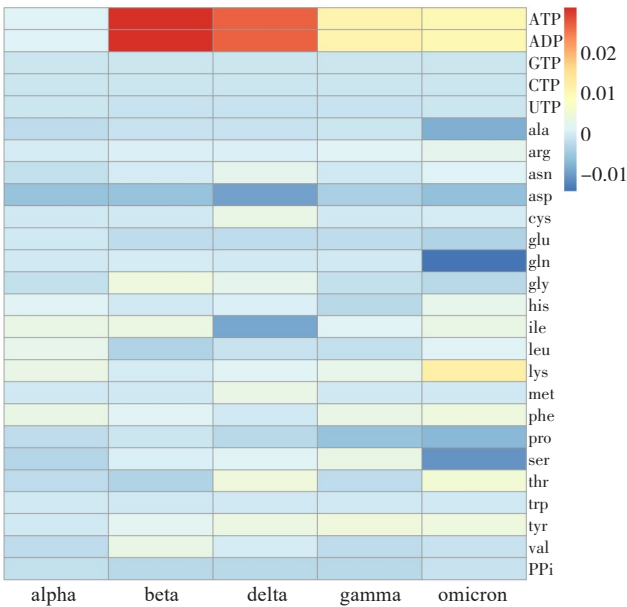


图4 VBOF系数差异

Figure 4 Differences in VBOF coefficients

图中各色条表示5种SARS-CoV-2变异株的VBOF与野生型VBOF相比,各项化学计量系数的差值,其中红色表示变异株病毒对应化学计量系数比野生型大,蓝色表示化学计量系数比野生型小

宿主细胞的代谢活动向有利于自身复制的方向发展。在这项研究中,笔者根据感染SARS-CoV-2病毒前后肺宿主细胞的基因表达数据,分析感染SARS-CoV-2病毒的宿主细胞与正常细胞之间的代谢差异。通过确定SARS-CoV-2病毒入侵后人类宿主细胞代谢发生的变化,预测可靠的靶点,达到抑制病毒复制进程的目的。结果显示,D-丙氨酸是SARS-CoV-2复制进程中的关键代谢物,在治疗COVID-19方面具有很高的潜力。调控D-丙氨酸生成反应的基因PLPBP几乎在所有肺宿主细胞模型中都被预测为有效的靶点基因。

根据Renz等<sup>[28-29]</sup>研究以及VBOF的构建过程,可以知道D-丙氨酸对SARS-CoV-2自身蛋白质外壳的合成具有重要作用。一些生物学实验也提到了血液中的D-丙氨酸水平对病毒感染程度存在影响,尤其在暴发性感染期间D-丙氨酸的消耗量急速增加,说明此阶段病毒需要消耗大量的D-丙氨酸,来维持自身的代谢活动和复制进程<sup>[50]</sup>。目前为止,D-丙氨酸在降低病毒含量及治疗COVID-19方面的生物学机制仍不清楚,需要进行进一步的研究。但当前的研究和实验都表明,D-丙氨酸是SARS-CoV-2复制进程中的关键代谢物,在设计COVID-19治疗方案上具有很高的潜力。

为了验证本文方法对SARS-CoV-2变体的适用性,笔者计算各个变体和野生型的VBOF,发现它们之间的化学计量系数差异很小。分别使用不同变体

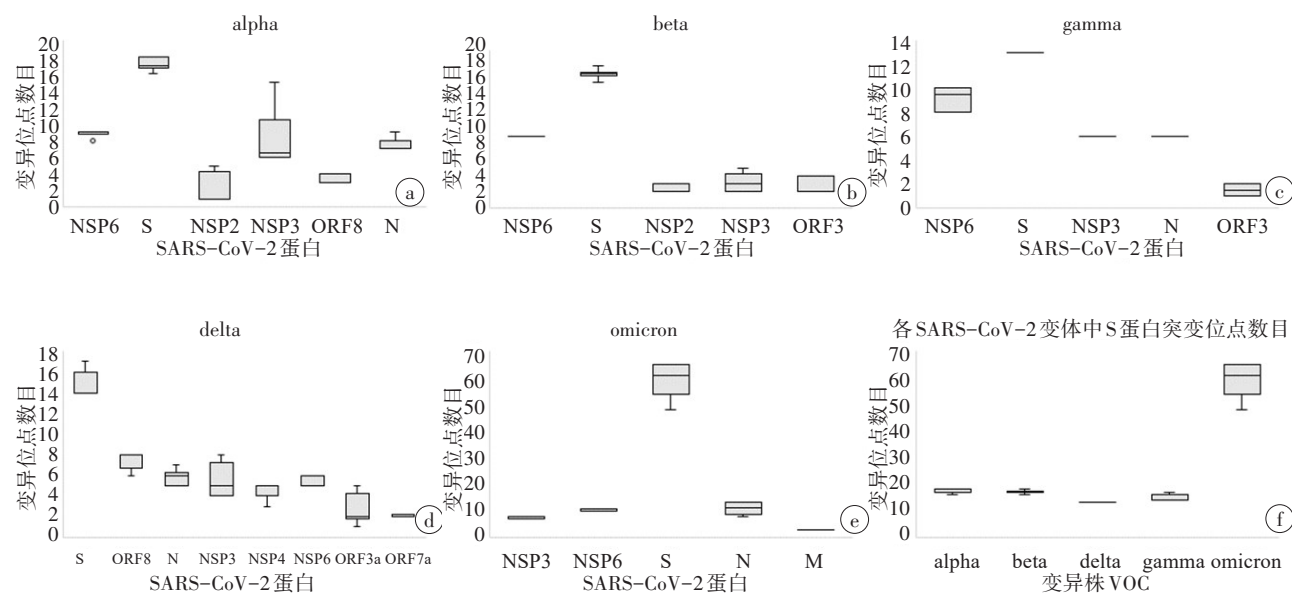


图 5 序列比对分析结果

Figure 5 Results of sequence alignment analysis

a~e: alpha、beta、gamma、delta 和 omicron 变体中突变最多的蛋白质中突变位点的数量; f: 5 种变体中 S 蛋白突变位点的数量

与野生型的 VBOF 进行靶点预测,结果显示所预测的靶点基因一致,一定程度上说明变体 VBOF 上的微小系数差异对靶点预测结果几乎没有影响。此外,笔者对几个变体进行了序列比对分析。结果表明,突变主要集中在 S,且 S 关联的基因对“DELTA”网络中 VBOF 的合成是没有影响的,这意味着 S 中某些位点的突变对 VBOF 的影响较小。因此,本文方法,包括使用的 VBOF,仍然适用于当前所有 SARS-CoV-2 的变体。

由于没有完整的细胞结构,病毒必须依靠宿主细胞的代谢系统来完成自身的生命活动。在本文中,笔者提出的方法不仅适用于 COVID-19,而且对其他病毒性疾病也具有应用价值。目前,本文方法考虑病毒在宿主中复制时的代谢特征,关注病毒入侵细胞前后引起的代谢变化。在未来的工作中,笔者将尝试考虑更多的信息,例如动力学,以不断提高重构的“DELTA”网络的准确性。

【参考文献】

[1] Carvalho AR, Cezarotti Filho ML, Azevedo PC, et al. Epidemiology, diagnosis, treatment, and future perspectives concerning SARS-COV-2: a review article[J]. Rev Assoc Med Bras, 2020, 66(3): 370-374.

[2] Nicola M, Alsafi Z, Sohrabi C, et al. The socio-economic implications of the coronavirus pandemic (COVID-19): a review[J]. Int J Surg, 2020, 78: 185-193.

[3] Jin YH, Cai L, Cheng ZS, et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version)[J]. Mil Med Res, 2020, 7(1): 4.

[4] She J, Jiang JJ, Ye L, et al. 2019 novel coronavirus of pneumonia in Wuhan, China: emerging attack and management strategies[J]. Clin Transl Med, 2020, 9(1): 19.

[5] Wang DW, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China[J]. JAMA, 2020, 323(11): 1061-1069.

[6] Zhou YW, Xie Y, Tang LS, et al. Therapeutic targets and interventional strategies in COVID-19: mechanisms and clinical studies[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 317.

[7] Lunt SY, Vander Heiden MG. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2011, 27: 441-464.

[8] Walsh CT, Tu BP, Tang Y. Eight kinetically stable but thermodynamically activated molecules that power cell metabolism [J]. Chem Rev, 2018, 118(4): 1460-1494.

[9] Chen Q, Gouilly J, Ferrat YJ, et al. Metabolic reprogramming by Zika virus provokes inflammation in human placenta[J]. Nature Commun, 2020, 11(1): 2967.

[10] DeBerardinis RJ, Chandel NS. Fundamentals of cancer metabolism[J]. Sci Adv, 2016, 2(5): e1600200.

[11] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.

[12] Luengo A, Gui DY, Vander Heiden MG. Targeting metabolism for cancer therapy[J]. Cell Chem Biol, 2017, 24(9): 1161-1180.

[13] Moreno-Altamirano MM, Kolstoe SE, Sánchez-García FJ. Virus control of cell metabolism for replication and evasion of host immune responses[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9: 95.

[14] Pavlova NN, Thompson CB. The emerging hallmarks of cancer metabolism[J]. Cell Metab, 2016, 23(1): 27-47.

[15] Vander Heiden MG, De Berardinis RJ. Understanding the intersections between metabolism and cancer biology [J]. Cell, 2017, 168(4): 657-669.

[16] Mardinoglu A, Agren R, Kampf C, et al. Genome-scale metabolic modelling of hepatocytes reveals serine deficiency in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Nature Commun, 2014, 5(1): 3083.

[17] Masid M, Ataman M, Hatzimanikatis V. Analysis of human metabolism by reducing the complexity of the genome-scale models using redHUMAN[J]. Nature Commun, 2020, 11(1): 2821.

[18] Thiele I, Palsson BØ. A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction[J]. Nat Protoc, 2010, 5(1): 93-121.

[19] Zhang C, Hua Q. Applications of genome-scale metabolic models in biotechnology and systems medicine[J]. Front Physiol, 2016, 6: 413.

[20] Klose T, Reteno DG, Benamar S, et al. Structure of faustovirus, a large dsDNA virus[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(22): 6206-6211.

[21] Taylor MW. Viruses and man: a history of interactions[M]. Springer, 2014.

- [22] Maynard ND, Gutschow MV, Birch EW, et al. The virus as metabolic engineer[J]. *Biotechnol J*, 2010, 5(7): 686-694.
- [23] Barrett T, Troup DB, Wilhite SE, et al. NCBI GEO: mining tens of millions of expression profiles-database and tools update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(Suppl\_1): D760-D765.
- [24] DeRisi J, Penland L, Bittner M, et al. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression[J]. *Nat Genet*, 1996, 14: 457-60.
- [25] Hacia JG. Resequencing and mutational analysis using oligonucleotide microarrays[J]. *Nat Genet*, 1999, 21(1): 42-47.
- [26] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(1): 57-63.
- [27] Li JQ, Hou RX, Niu XP, et al. Comparison of microarray and RNA-Seq analysis of mRNA expression in dermal mesenchymal stem cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2016, 38(1): 33-41.
- [28] Renz A, Widerspick L, Dräger A. FBA reveals guanylate kinase as a potential target for antiviral therapies against SARS-CoV-2 [J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(Suppl\_2): i813-i821.
- [29] Renz A, Widerspick L, Dräger A. Genome-scale metabolic model of infection with SARS-CoV-2 mutants confirms guanylate kinase as robust potential antiviral target[J]. *Genes*, 2021, 12(6): 796.
- [30] Nanda P, Ghosh A. Genome Scale-differential flux analysis reveals deregulation of lung cell metabolism on SARS-CoV-2 infection[J]. *PLoS Comput Biol*, 2021, 17(4): e1008860.
- [31] Režen T, Martins A, Mraz M, et al. Integration of omics data to generate and analyse COVID-19 specific genome-scale metabolic models[J]. *Comput Biol Med*, 2022, 145: 105428.
- [32] Gudmundsson S, Thiele I. Computationally efficient flux variability analysis[J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11: 489.
- [33] Kaufman DE, Smith RL. Direction choice for accelerated convergence in hit-and-run sampling[J]. *Operations Research*, 1998, 46(1): 84-95.
- [34] Brunk E, Sahoo S, Zielinski DC, et al. Recon3D enables a three-dimensional view of gene variation in human metabolism[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(3): 272-281.
- [35] Kishk A, Pacheco MP, Sauter T. DCcov: repositioning of drugs and drug combinations for SARS-CoV-2 infected lung through constraint-based modeling[J]. *iScience*, 2021, 24(11): 103331.
- [36] Aller S, Scott A, Sarkar-Tyson M, et al. Integrated human-virus metabolic stoichiometric modelling predicts host-based antiviral targets against Chikungunya, Dengue and Zika viruses[J]. *J R Soc Interface*, 2018, 15(146): 20180125.
- [37] Delattre H, Sasidharan K, Soyer OS. Inhibiting the reproduction of SARS-CoV-2 through perturbations in human lung cell metabolic network[J]. *Life Sci Alliance*, 2021, 4(1): e202000869.
- [38] Ritchie ME, Phipson B, Wu D, et al. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7): e47.
- [39] Smyth GK. Limma: linear models for microarray data [M]. *Bioinformatics and Computational Biology Solutions Using R and Bioconductor*. Springer, 2005: 397-420.
- [40] Heirendt L, Arreckx S, Pfau T, et al. Creation and analysis of biochemical constraint-based models using the COBRA Toolbox v.3.0 [J]. *Nat Protoc*, 2019, 14(3): 639-702.
- [41] Vlassis N, Pacheco MP, Sauter T. Fast reconstruction of compact context-specific metabolic network models[J]. *PLoS Comp Biol*, 2014, 10(1): e1003424.
- [42] Wang H, Marcišauskas S, Sánchez BJ, et al. RAVEN 2.0: a versatile toolbox for metabolic network reconstruction and a case study on *Streptomyces coelicolor* [J]. *PLoS Comput Biol*, 2018, 14(10): e1006541.
- [43] Robinson JL, Kocabaş P, Wang H, et al. An atlas of human metabolism [J]. *Sci Signal*, 2020, 13(624): eaaz1482.
- [44] Chen P, Li QL, Zhou Y, et al. Clinical implication of aquaporin 9 in non-small cell lung cancer patients: its expression and relationship with clinical features and prognosis[J]. *Ir J Med Sci*, 2022, 191(2): 651-658.
- [45] Edwards JS, Palsson BO. Metabolic flux balance analysis and the in silico analysis of *Escherichia coli* K-12 gene deletions [J]. *BMC Bioinformatics*, 2000, 1(1): 1-10.
- [46] Campbell F, Archer B, Laurenson-Schafer H, et al. Increased transmissibility and global spread of SARS-CoV-2 variants of concern as at June 2021[J]. *Euro Surveill*, 2021, 26(24): 2100509.
- [47] Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, et al. GenBank[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 41(D1): D36-D42.
- [48] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(4): 536-544.
- [49] Stark C, Breitkreutz BJ, Reguly T, et al. BioGRID: a general repository for interaction datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(Suppl\_1): D535-D539.
- [50] Kimura-Ohba S, Asaka MN, Utsumi D, et al. d-Alanine as a biomarker and a therapeutic option for severe influenza virus infection and COVID-19[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2023, 1869(1): 166584.

(编辑:薛泽玲)