

论文“甲烷氧化菌 20Z 利用 Embden-Meyerhof-Parnas 途径高效同化甲烷” 的撤稿声明

崔金玉等发表在《生物工程学报》的论文：甲烷氧化菌 20Z 利用 Embden-Meyerhof-Parnas 途径高效同化甲烷 (2014, 30(1): 43-54)，因作者提出该论文中所述部分研究方法学应用于该细菌尚有缺陷，可能导致相关的研究结果 (详见作者来信) 存在较大偏差，考虑到科学研究的严谨性和真实性，为了不对该领域同行和其他读者造成误导，本刊尊重作者请求撤销该论文，特此声明。编委会同时对作者实事求是，有错即纠的科学态度表示赞赏和肯定。

生物工程学报
2014-06-19

附 1: 本文通讯作者来信

近期我课题组在贵刊发表“甲烷氧化菌 20Z Embden-Meyerhof-Parnas 途径高效同化甲烷 (January 25, 2014, 30(1): 43-54)”的学术论文。该论文利用 LC-MS 技术对甲烷氧化菌 20Z 的代谢物组准确定量。我们提出首先利用甲基营养菌 *M. extorquens AM1* 生物全合成 ^{13}C 标记内标物 (^{13}C -IS), 进而将合成的 ^{13}C -IS 添加到甲烷氧化菌 20Z 的代谢物提取液中，以期获得对甲烷氧化菌 20Z 胞内代谢物浓度绝对定量。

然而令我们意外的是，新近我们研究发现当利用商业化购买的高纯度 ^{13}C 标记内标物对甲烷氧化菌 20Z 的代谢物进行绝对定量时，胞内代谢物浓度和已发表结果存在显著差异。我们认为差异的主要原因是甲烷氧化菌 20Z 培养环境的特殊性，该细菌是嗜盐菌，培养液中含有至少 3% NaCl，所以其胞内代谢物提取液不可避免的也含有较高浓度的盐基质，因而再引入另一个十分复杂的样品体系 (即甲基营养菌 *M. extorquens AM1* 生物全合成的 ^{13}C -IS) 对甲烷氧化菌 20Z 进行绝对定量，将造成质谱信号较强干扰效应。我们认为该方法学适用于一般细菌，但对于本细菌体系是不适合的。由于本论文的一些重要结果和结论 (如：图 1，图 4 和表 1) 都是基于该研究方法获得，而且胞内代谢物浓度是研究者进行动态代谢通量计算、反应热动力学模拟和代谢途径改造的十分重要参考，因而我们再三考虑觉得不适合发表前期数据；同时为了不对其他同行在方法学和研究结果上造成误导，我们恳请贵刊考虑撤销前期刊出的论文，待及时修正仍有必要发表时再投稿。

我对于提出该定量方法学考虑不够周全，造成各位老师和研究者不便深表歉意，还恳请您们海涵和原谅。

附 2: 本文通讯作者就本刊关于撤稿相关问题的答复

根据近期研究进展，作者认为文章中提及的方法不适用文章所研究的耐盐菌体系，从而提出撤稿申请。基于科学严谨和慎重处理的考虑，本刊将作者撤稿申请提请编委会及审稿专家进行了认真的审议，认为撤稿前需要作者就以下几方面问题进一步提供更加科学、合理的证据，而不仅仅是根据可能的推测来判断：

1. 作者认为“甲烷氧化菌 20Z 培养环境的特殊性，该细菌是嗜盐菌，培养液中含有至少 3% NaCl，所以其胞内代谢物提取液不可避免地也含有较高浓度的盐基质”，这个说法是否有实验或文献依据？

2. 根据作者解释,与商业化 ^{13}C 标记内标物相比,自制的 ^{13}C 标记内标物由于体系可能相对复杂,会与“可能的盐基质”一起造成对质谱信号较强干扰效应,从而影响定量分析?这个解释是基于推测吗?请作者提供相应的实验证据。
3. 根据部分数据与通讯作者以前发表的文章对比(参考文献 18),文章中提到的部分数据和结论(P48-49)与文献 18 是吻合的。如果文章所用方法对检测有干扰的,如何解释这些相吻合的数据?

作者答复如下:

1. 没有直接实验测定 NaCl 浓度。这里我们并不是提出细菌培养中细胞溶质内含有高浓度盐,而是认为在后期代谢物组样品提取制备过程中,不可避免将一定量培养基中 NaCl 进入到提取液中(培养基 NaCl 浓度高于 500 mol/L ,而代谢物组样品溶解在 $100 \mu\text{L}$ 水的小体积中,这很可能造成 NaCl 在提取液样品里的终浓度较大)。
2. 请参考作者附件 3。我们发现同一代谢物组样品中添加不同 ^{13}C 内标物(浓度相近),质谱信号相差约 4.39 倍,这是我们意外的。 NaCl 对于代谢物在质谱上电喷雾电离是有明显干扰的,至于为什么 NaCl 对于商业化 ^{13}C 标记内标物影响较小,我们目前只能推测自制的 ^{13}C 标记内标物可能与盐基质形成协同效应,但具体作用机制复杂,超出我们课题组研究范畴。我们目前也考虑除了 NaCl 因素外,其他可能原因,例如前期生物合成的内标物存于溶液中时间较长,某些代谢物发生不同程度降解。
3. 表一是比较两种典型的模式甲烷氧化菌的代谢物浓度,正如文中提到甲烷氧化菌 *Methylosinus trichosporium* OB3b 的数据是引用前期研究内容。本论文对甲烷氧化菌 20Z 的定量研究方法也是借鉴该论文。然而,这两种细菌生长最大差别是甲烷氧化菌 OB3b 的培养基没有添加任何 NaCl 。

附3: 代谢物分析LC-MS/MS图谱

