

代谢组学及其在微藻研究中的应用

任丽¹ 张永刚¹ 马睿¹ 周雪飞² 张亚雷^{1*}

(1. 同济大学环境科学与工程学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室 上海 200092)

(2. 同济大学环境科学与工程学院 长江水环境教育部重点实验室 上海 200092)

摘要: 代谢组学以完整的生物体为研究对象, 运用合适的分析测试手段检测靶向或非靶向代谢物, 结合统计模型进行分析解释。随着微藻研究的深入, 微藻与代谢组学结合探究分子作用机理的研究日益增多。本文总结代谢组学的发展概况、研究流程及常用分析技术特点和代谢组学在微藻领域的研究进展, 展望代谢组学在微藻研究的应用前景与发展趋势, 并提出实际应用中所面临的困难与挑战。

关键词: 代谢组学, 微藻, 分析流程, 应用研究

Metabolomics and its application in the study of microalgae

REN Li¹ ZHANG Yong-Gang¹ MA Rui¹ ZHOU Xue-Fei² ZHANG Ya-Lei^{1*}

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

(2. Key Laboratory of Yangtze River Aquatic Environment of the Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Metabolomics studies the complete biological system, to detect target or non-target metabolites by appropriate analytical methods and to interpret metabolites in combination with statistical models. Microalgae studies focus now increasingly on molecular mechanism by means of metabolomics. Here, we summarize the development of metabolomics, the research process and the characteristics of common analytical techniques and the progress of metabolomics in the field of microalgae. We also discuss the prospect of metabolomics in microalgae research, and challenges in practical application.

Keywords: Metabolomics, Microalgae, Analysis process, Application

代谢组学作为组学研究中下游代谢产物的分析手段, 与基因组学、转录组学、蛋白质组学、表型组学共同组成系统生物学体系。代谢组学最早在1999年由英国帝国理工大学 Nicholson 教授提出,

他定义的代谢组学(Metabolomics)是在完整的生物系统中定量测定生物体受到病理生理或基因改变等刺激作出的多参数代谢物质的动态应答^[1]。随后, 德国马普所 Fiehn 教授提出代谢组学概念, 即在静

Foundation item: National Natural Science Funds for Distinguished Young Scholar (51625804)

***Corresponding author:** E-mail: zhangyalei@tongji.edu.cn

Received: August 07, 2017; **Accepted:** October 20, 2017; **Published online** (www.cnki.net): November 02, 2017
基金项目: 国家杰出青年科学基金(51625804)

***通信作者:** E-mail: zhangyalei@tongji.edu.cn

收稿日期: 2017-08-07; **接受日期:** 2017-10-20; **网络首发日期**(www.cnki.net): 2017-11-02

态过程中, 定性定量分析限定条件下生物体产生的所有代谢产物^[2]。现在, 普遍被学者认可的代谢组学是定性定量考察生物系统受到内外刺激后机体内相对分子质量小于 1 000 的代谢小分子化合物, 反映应激后生物机体做出的代谢应答信息^[3-4]。自代谢组学概念提出后, 它被广泛应用在药物筛选和疾病诊断研究中, 成效显著。随着检测分析平台的快速发展, 代谢组学在越来越多的研究领域得以运用。

1 代谢组学概况

1.1 代谢组学分类

代谢组学的研究对象是生物体内的小分子代谢中间产物或最终产物, 根据研究对象和目的的不同, 主要分为 4 个层次: 第 1 层次为代谢指纹分析 (Metabolic fingerprinting), 以特定生物体的整个图谱代表特定代谢模式, 是用于区分不同生物学状态或起源样品的筛选工具, 是一种高通量、快速 (通常为 1 min 或更短)、全局分析方法; 第 2 层次为代谢靶标分析 (Targeted analysis), 是对特定代谢反应相关的一种或几种代谢物的定性和定量分析, 适用于少数或特定代谢物的样品分析, 并需要严格的样品分离和制备; 第 3 层次为代谢轮廓分析 (Metabolite profiling), 与特定的代谢途径相关, 对多种或一系列预设代谢物进行定量测定, 这种分析手段广泛运用在新药物研发领域; 第 4 层次为代谢组学, 对生物系统的所有代谢物进行无偏差鉴定和定量分析, 分析技术的选择性和灵敏度要求高^[5-8]。

1.2 代谢组学应用状况

代谢组学作为系统生物学重要研究领域之一, 已引起国内外科学家广泛关注。目前研究主要集中在 5 个方面: (1) 药物研发。通过代谢组学研究构建数据平台, 预测药物毒性和筛选获得新的生物标志物^[9]。Son 等^[10]通过代谢组分研究, 发现胰腺肿瘤在能量代谢过程中天冬氨酸和苹果酸变化显著。运用基因敲除技术发现抑制肿瘤代谢途径的关键基因及蛋白酶, 具有筛选控制胰腺肿瘤生长的药物前景; (2) 疾病诊断。对比疾病的代谢物变化, 获得特征代谢物的谱图进行生物标志物的寻找, 辅助

临床疾病的诊断。Sreekumar 等^[11]研究了前列腺癌变病人的血浆、组织和尿液的代谢物变化, 发现肌氨酸的组分变化明显, 可作为表征前列腺癌的疾病诊断; (3) 毒理学研究。考察生物机体应对环境、药物等因素变化代谢物的反应, 得出代谢途径与影响因子的作用效应。Zhang 等^[12]将中药半夏作用大鼠来考察毒性效应, 研究发现大鼠在给予半夏后, 尿液和血清中的多种代谢物含量发现显著变化, 磷脂代谢和氨基酸代谢发生紊乱, 对大鼠产生一定程度的心脏毒性; (4) 植物代谢组学。研究代谢物在生物机体内的变化, 寻找特定变化的代谢物, 评价与之相应基因控制功能的关系。Urano 等^[13]研究拟南芥叶片在缺水条件下代谢组学的变化, 观察到包括脯氨酸、氨基丁酸和三羧酸循环等多种代谢物的积累。在 nc3-2 突变体中发现其缺少参与脱落酸脱水诱导生物合成的 NCED3 基因, 用它来评估脱落酸对缺水胁迫下代谢反应的影响; (5) 微生物代谢组学。关注微生物代谢过程中生物标志物以及代谢机制研究, 为解释生化协同作用的生理过程提供有力的分析途径。Olszewski 等^[14]将 ¹³C 标记的谷氨酰胺喂给恶性疟原虫后, 发现恶性疟原虫中三羧酸循环发生分支变体, 形成乙酰辅酶 A 的独立反向的双碳单元, 谷氨酰胺衍生的乙酰辅酶 A 用于组蛋白乙酰化, 葡萄糖衍生的乙酰辅酶 A 则用于乙酰化氨基糖。

2 代谢组学分析流程

代谢组学的分析流程一般包括样品采集与制备、数据采集、分析及解释等。样品的采集与制备包括样品的提取和预处理。将预处理所得样品用核磁共振、色谱、质谱、红外光谱等分析手段检测其中代谢物种类和含量。运用多元变量统计方法进行数据分析, 得到相关代谢物变化特征, 发现生物标志物, 阐明生物体代谢途径及相关机制。

2.1 样品采集与制备

样品采集是代谢组学研究的第一步, 常见样品包括体液、细胞、组织等。取样前应充分考虑取样的时间、种类、部位、样本群体等因素。为了减少样本差异对实验造成的误差, 需要采集足

够数量的样本,以做出有统计意义的分析。由于样本中代谢物易受处理手段影响,为保障数据的可靠性,在处理生物样本时要特别注意避免残留酶活性或氧化还原反应对样本中代谢物产生影响。采集样品后通常使用液氮冷冻、酸处理等方式进行快速淬灭^[15]。

采集后的样品需要进行预处理,根据化合物种类、分析手段的要求不同采取相应合适的处理方法。大多代谢物采用水或有机溶剂进行萃取获得,部分需要进行复杂处理的代谢物,常用的方法有固相萃取、固相微萃取、亲和色谱等。特定的预处理方法往往仅适合某种或某类化合物的处理,因此处理不同化合物需采用不同的处理方法,并在此基础上不断优化以确保提取化合物的准确性,并尽可能保留和体现样品中代谢物的完整信息^[16-17]。

2.2 数据采集

尽管越来越多的分析技术出现,但代谢产物由于组分、数量、官能团、挥发性、极性等因素的差异,至今尚无使用单一分析手段就能进行代谢组学的研究,况且各种分析技术都有各自的优势和适用范围,因此多种分析技术组合方法得到广泛使用^[7,18-19]。现有的分析技术包括核磁共振(NMR)、质谱(MS)、色谱(GC)、红外光谱(IR)、毛细管电泳(CE),在代谢组学研究中常用的技术是核磁共振(NMR)、气质联用(GC-MS)、液质联用(LC-MS)和傅里叶红外光谱(FT-IR)^[7,20]。代谢组学研究常用几种技术的优缺点比较见表1。

2.3 数据整合分析

通过分析技术所得的大量、多维原始数据,需要整合计量学和生物信息学方法来解释,一般分析流程为数据预处理、多变量分析及模式识别、生物标记物识别和代谢途径分析等。

2.3.1 数据预处理

原始数据不能直接运用于模式识别分析,需经过数据预处理消除检测过程中的多种干扰,获取分类相关的信息。数据预处理的方法有数据降噪、中心化、尺度转换、转化、信号校正等。数据的预处理和分析不仅取决于所需获取的生物学信息,还依据所选用的数据分析方法^[24-25]。

2.3.2 模式识别

模式识别是一个将预处理的大量数据进行处理、区分的过程,将类似的样品聚集一起形成分组,迅速、准确地提取出有贡献的变量,建立样品信息与样本各因素的联系。模式识别包括非监督方法和有监督方法。非监督方法无需样品的背景信息,可采用可视化集视直接将预处理后的信息进行归类表达,常用方法有主成分分析(PCA)、层次化聚类分析(HA)、簇类分析(HCA)等;有监督方法基于多参数数学模型使各类样品得到最大分离并进行预测,常用方法有偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)等^[25-27]。

2.3.3 生物标志物识别

生物标志物是生物体受到刺激后机体在分子水平上做出异常变化的响应,研究中常用PCA、

表1 代谢组学研究分析技术

Table 1 The analysis techniques in metabolomics

类型 Types	优点 Advantages	缺陷 Disadvantages	文献 References
NMR	用量少、制备简单且自动化、非破坏性、分辨率高,能同时完成定性定量分析	灵敏度低,动态范围有限,不能检测混合化合物	[20]
GC-MS	灵敏度、分辨率高、分析时间短、选择性好,数据库较为完备	样品为可挥发性,处理过程较为繁琐,难挥发或半挥发性物质需进行衍生化	[21]
LC-MS	可分析高极性、高分子量的样品,样品制备简单、分离高效快速,不需衍生化	数据库不健全,可检测的化合物有限,非极性物质难电离	[22]
FT-IR	分析时间短、非破坏性,可进行高通量筛选	灵敏度低、同类化合物难辨别	[23]

t 检验和方差分析等多元统计方法寻找生物标志物^[28-29]。生物标志物识别流程包括 4 个步骤, 分别为构建代谢谱图、筛选特征代谢物、推断代谢途径和验证生物标志物。在此识别分析过程中, 需要借助各种代谢途径与生物化学数据库。基于不同的分析手段, 采用的数据库也有差异。质谱分析常用的数据库有 GMD、METLIN、MassBank、ReSpect 等, 核磁共振分析中运用的数据库有 NAPROC-13、NMRShiftDB、BML-NMR 等^[30-31]。目前代谢组学研究的数据库功能还不完备, 现有的数据库主要用于代谢产物的结构鉴定。

2.3.4 代谢通路分析

代谢通路是借以构建的图形表达机体内生物学过程, 呈现细胞分子间相互作用及变化网络。KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 是一个整合基因组、化学和系统功能信息的数据库。利用 KEGG 网络可将代谢组数据运用流程图形式可视化, 发现代谢通路显著调节因子^[30]。SMPDB (Small molecular pathway database) 是针对小分子代谢通路分析的数据库, 其中超过 350 条人体小分子代谢通路, 占比 2/3 的通路是其他通路数据库找不到的, 而且所有的通路都附有条件、途径的详细描述^[32]。

3 代谢组学在微藻研究中的进展

代谢组学自提出后广泛应用在药物研究、疾病诊断、生态毒理、植物及微生物等方面研究, 但在微藻领域研究中的应用尚不普遍。微藻作为第三代生物能源原料, 具有多方面开发价值。近年来随着微藻研究热度的提升和代谢组学技术的飞速发展, 越来越多的科研学者投入到微藻代谢组学的研究中, 研究包括增产经济高附加值次级代谢产物、表征毒理学特性和研究抗逆性等方面。

3.1 在抗逆性研究中的应用

微藻应对环境条件胁迫的机体代谢应答是研究高产生物量 and 经济产物的基础, 因此针对环境诱导下微藻的代谢组学研究也逐渐增多。Renberg 等^[33]研究高、低 CO₂ 浓度胁迫莱茵衣藻(*Chlamydomonas*

reinhardtii) 的影响, 检测出 128 种代谢物存在显著差异, 将莱茵衣藻从高浓度转至低浓度 CO₂ 条件下, 参与光呼吸的 5 种代谢物、11 种氨基酸、1 种脂质含量增加, 6 种氨基酸和 21 种脂质含量减少; Valledor 等^[34]发现低温胁迫下莱茵衣藻细胞内葡萄糖和淀粉合成途径被激活积累量显著增加, 多不饱和脂肪酸含量增加, 蛋白质为适应低温发生重塑。在缺氮诱导下, 富油新绿藻(*Ettlia oleoabundans*) 细胞内三酰基甘油和磺基奎诺糖基二酰基甘油积累增加, 叶绿素耗尽, 二酰基甘油发生差异调节^[35]; 椭圆假索囊藻(*Pseudochoricystis ellipsoidea*) 中的中性脂质增加, 氨基酸的转化量降低^[36]; 本课题组在研究药物和个人护理品(PPCPs) 对小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*) 的生长影响中, 发现低浓度 PPCPs 促使小球藻产生活性氧, 激发藻细胞的抗氧化防御机制, 酶活性增加, 而在高浓度作用下, 藻细胞防御机制呈现崩溃趋势^[37]。

3.2 在经济高附加值产物研究中的应用

微藻在自然条件下能通过利用太阳光、碳源、水和无机盐合成大量脂质、蛋白质和碳水化合物等。因此利用微藻进行废水资源化、能源化的研究越来越多, 本课题组也在此方面做过大量研究, 曾用微藻处理厌氧消化的活性污泥、淀粉废水和酒精废水等, 发现微藻在有效调控下高效去除废水中污染物的同时, 藻细胞体内的油脂含量得到提升^[38-40], 为微藻高附加值产物研究奠定基础。但是这些研究局限在宏观调控上并不能解释物质变化及代谢机理, 由此将微藻研究与代谢组学结合运用在具有经济高附加值的次级代谢产物研究上, 例如脂肪酸、多糖、类胡萝卜素、类固醇等, 为解释物质代谢机理和定向物质积累提供理论支撑。Cheng 等^[41]通过 GC-TOF-MS 建立集胞藻(*Synechocystis* sp. PCC6803)、鱼腥藻(*Anabaena* sp. PCC7120) 和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*) 的脂肪酸以及代谢物图谱, 用 2 mmol 乙醇胺作用斜生栅藻可明显提升藻内的脂质含量, 其中不饱和脂肪酸

C_{16:2}和C_{18:1}的含量提高, C_{18:3}的含量降低; 另外, Lu等^[42]研究接种密度对小球藻(*Chlorella sorokiniana*)脂质积累与代谢物变化的影响, 发现脂肪酸甲酯和十六烷值的含量随初始接种密度的增加而增加, 后续研究发现增强光照强度有助于提升高密度接种小球藻脂质中不饱和脂肪酸的含量; 本课题组用不同浓度双氯芬酸钠胁迫小球藻, 在检测到的91种代谢产物中, 发现低浓度(<10 mg/L)作用下藻细胞中脂肪酸、糖类的代谢过程得到促进, 氨基酸的代谢途径受到明显抑制, 而高浓度(100 mg/L)的双氯芬酸钠则使得小球藻的正常代谢过程变得紊乱^[37]; Yang等^[43]在考察解偶联剂羰基氰化物间氯苯基脒(CCCP)对莱茵衣藻产生物氢的影响研究时发现, 延长CCC暴露时间, H₂稳定产生的同时脂肪酸含量持续增加, 这些作用因子研究为微藻定向积累油脂、脂肪酸、糖类、氢气等能源物质提供了理论支持。Su等^[44]从代谢组学角度分析了醋酸、Fe²⁺和高光强对雨生红球藻积累虾青素的影响, Lv等^[45]在此基础上运用代谢组学探究了高光对雨生红球藻中虾青素的积累机理, 发现卡尔文循环和三羧酸循环参与并影响细胞代谢物的合成, 虾青素在变红阶段的含量最高。Han等^[46]对不同光照处理下发菜的代谢物进行分析, 发现红光诱导光抑制并刺激多糖产生, 因此可运用诱导红光手段来调控发菜多糖的产生。

3.3 在毒理学研究中的应用

微藻作为水体初等生产者, 因个体小和生长周期短等特点, 机体能在短时间内对环境、毒物等影响做出反应, 因此常用微藻表征水体生态效应, 考察水体污染物的毒理机制。莱茵衣藻是淡水环境的模式生物之一, 常用作毒理研究的试受生物。Jamers等^[47]研究不同镉浓度处理下莱茵衣藻的代谢响应, 发现低浓度下毒害效应不明显, 高浓度下影响谷胱甘肽合成途径中的代谢物合成, 呈现对镉作用的敏感性; Taylor等^[48]通过代谢组学考察二氧化铈纳米颗粒在莱茵衣藻生长环境下的吸入与毒性研究, 观

察到颗粒物能进入细胞囊泡, 但在任何暴露浓度下对机体都不会产生明显影响, 仅有在超环境二氧化铈浓度下对光合作用和固碳过程代谢有干扰。随着农药、除草剂等农业中的广泛使用, 雨水冲刷地表径流使得这些药物进入水体环境, 给水体生态带来隐患。扑草净作用斜生栅藻(*Scenedesmus vacuolatus*)^[49]和敌草隆作用杜氏盐藻(*Dunaliella tertiolecta*)^[50], 都发现机体细胞激活分解代谢过程的能量代谢受到影响。

4 展望

代谢组学是系统生物学的重要组成部分, 也是生物分子表型研究的主要手段, 在科学研究与应用方面具有巨大潜力。现阶段代谢组学研究主要集中在药物开发、疾病诊断、毒理学、植物及微生物表型分子等方面, 在微藻中的应用并不是很普遍。微藻在特定条件下能合成多种结构与功能独特的具有经济高附加值的代谢物, 是人类未来能源、医药、保健、化工等方面的重要资源, 因此在这类高经济价值物质的研究与开发上具有广阔的应用前景。尽管代谢组学分析技术不断发展, 但是微藻与代谢组学结合实现资源开发的愿景依旧需要面对诸多的挑战, 包括样本处理、检测方法与分析手段的局限性、数据库不完备、费用高昂等, 这些问题也在一定程度上影响微藻代谢组学研究的进程。在未来随着微藻研究的进一步深化, 代谢组学与蛋白质组学、转录组学、基因组学间两者或全部联用, 从系统生物学的层面来全面解释微藻结构与功能的关系, 为定向改造微藻提供理论基础。

REFERENCES

- [1] Nicholson JK, Lindon JC, 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] Fiehn O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 48(1/2): 155-171
- [3] Nicholson JK, Wilson ID. Understanding 'global' systems biology: metabonomics and the continuum of metabolism[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2(8): 668-676

- [4] Fernie AR, Trethewey RN, Krotzky AJ, et al. Metabolite profiling: from diagnostics to systems biology[J]. Nature Reviews. Molecular Cell Biology, 2004, 5(9): 763-769
- [5] Fiehn O, Kopka J, Trethewey RN, et al. Identification of uncommon plant metabolites based on calculation of elemental compositions using gas chromatography and quadrupole mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2000, 72(15): 3573-3580
- [6] Allen J, Davey HM, Broadhurst D, et al. High-throughput classification of yeast mutants for functional genomics using metabolic footprinting[J]. Nature Biotechnology, 2003, 21(6): 692-696
- [7] Dunn WB, Ellis DI. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2005, 24(4): 285-294
- [8] Shulaev V. Metabolomics technology and bioinformatics[J]. Briefings in Bioinformatics, 2006, 7(2): 128-139
- [9] Lindon JC, Keun HC, Ebbels TMD, et al. The Consortium for Metabonomic Toxicology (COMET): aims, activities and achievements[J]. Pharmacogenomics, 2005, 6(7): 691-699
- [10] Son J, Lyssiotis CA, Ying HQ, et al. Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway[J]. Nature, 2013, 496(7443): 101-105
- [11] Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression[J]. Nature, 2009, 457(7231): 910-914
- [12] Zhang ZH, Zhao YY, Cheng XL, et al. General toxicity of *Pinellia ternata* (Thunb.) Berit. in rat: a metabonomic method for profiling of serum metabolic changes[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 149(1): 303-310
- [13] Urano K, Maruyama K, Ogata Y, et al. Characterization of the ABA-regulated global responses to dehydration in Arabidopsis by metabolomics[J]. The Plant Journal: for Cell & Molecular Biology, 2009, 57(6): 1065-1078
- [14] Olszewski KL, Mather MW, Morrissey JM, et al. Retraction: branched tricarboxylic acid metabolism in *Plasmodium falciparum*[J]. Nature, 2013, 497(7451): 652
- [15] Field D, Sansone SA. A special issue on data standards[J]. OMICS: A Journal of Integrative Biology, 2006, 10(2): 84-93
- [16] Fiehn O, Kristal B, van Ommen B, et al. Establishing reporting standards for metabolomic and metabonomic studies: a call for participation[J]. OMICS: A Journal of Integrative Biology, 2006, 10(2): 158-163
- [17] Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E, et al. Summary recommendations for standardization and reporting of metabolic analyses[J]. Nature Biotechnology, 2005, 23(7): 833-838
- [18] Hollywood K, Brison DR, Goodacre R. Metabolomics: current technologies and future trends[J]. Proteomics, 2006, 6(17): 4716-4723
- [19] Dunn WB, Bailey NJC, Johnson HE. Measuring the metabolome: current analytical technologies[J]. Analyst, 2005, 130(5): 606-625
- [20] Zhang AH, Sun H, Wang P, et al. Modern analytical techniques in metabolomics analysis[J]. Analyst, 2012, 137(2): 293-300
- [21] Lisc J, Schauer N, Kopka J, et al. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants[J]. Nature Protocols, 2006, 1(1): 387-396
- [22] Maurer HH. Liquid chromatography-mass spectrometry in forensic and clinical toxicology[J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1998, 713(1): 3-25
- [23] Kell DB. Metabolomics and systems biology: making sense of the soup[J]. Current Opinion in Microbiology, 2004, 7(3): 296-307
- [24] Eriksson L, Johansson E, Kettaneh-Wold N, et al. Multi- and Megavariate Data Analysis[M]. Umeå, Sweden: Umetrics Academy, 2001: 362
- [25] Want E, Masson P. Processing and analysis of GC/LC-MS-based metabolomics data[A]//Metz TO. Metabolic Profiling[M]. Humana Press, 2011: 277-298
- [26] Wang QZ, Wu CY, Chen T, et al. Integrating metabolomics into a systems biology framework to exploit metabolic complexity: strategies and applications in microorganisms[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 70(2): 151-161
- [27] Niemelä PS, Castillo S, Sysi-Aho M, et al. Bioinformatics and computational methods for lipidomics[J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877(26): 2855-2862
- [28] Wallis RS, Pai M, Menzies D, et al. Biomarkers and diagnostics for tuberculosis: progress, needs, and translation into practice[J]. The Lancet, 2010, 375(9729): 1920-1937
- [29] Ogura T, Bamba T, Fukusaki E. Development of a practical metabolite identification technique for non-targeted metabolomics[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1301: 73-79
- [30] Monteiro MS, Carvalho M, Bastos ML, et al. Metabolomics analysis for biomarker discovery: advances and challenges[J]. Current Medicinal Chemistry, 2013, 20(2): 257-271
- [31] Zhang XM, Sun MH, Li YP, et al. The introduction of open metabolomics database used for looking for novel natural active substances[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(12): 29-33 (in Chinese)
- 张小蒙, 孙明慧, 李艳萍, 等. 几种用于寻找新型天然活性物质的开放型代谢组学数据库介绍[J]. 生物技术通报, 2016, 32(12): 29-33
- [32] Frolkis A, Knox C, Lim E, et al. SMPDB: the small molecule pathway database[J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38(Database issue): D480-D487
- [33] Renberg L, Johansson AI, Shutova T, et al. A metabolomic approach to study major metabolite changes during acclimation to limiting CO₂ in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Plant Physiology, 2010, 154(1): 187-196
- [34] Valledor L, Furuhashi T, Hanak AM, et al. Systemic cold stress adaptation of *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2013, 12(8): 2032-2047
- [35] Matich EK, Butryn DM, Ghafari M, et al. Mass spectrometry-based metabolomics of value-added biochemicals from *Ettlia oleoabundans*[J]. Algal Research, 2016, 19: 146-154
- [36] Ito T, Tanaka M, Shinkawa H, et al. Metabolic and morphological changes of an oil accumulating trebouxiphycean alga in nitrogen-deficient conditions[J]. Metabolomics, 2013, 9(S1): 178-187
- [37] Guo J. The study of influence of four kinds of PPCPs on the cultivation of microalgae[D]. Shanghai: Master's Thesis of Tongji University, 2016 (in Chinese)
- 郭隽. 四种 PPCPs 对微藻生长影响研究[D]. 上海: 同济大学硕士学位论文, 2016
- [38] Tan XB, Yang LB, Zhang YL, et al. *Chlorella pyrenoidosa*

- cultivation in outdoors using the diluted anaerobically digested activated sludge[J]. Bioresource Technology, 2015, 198: 340-350
- [39] Tan XB, Zhang YL, Yang LB, et al. Outdoor cultures of *Chlorella pyrenoidosa* in the effluent of anaerobically digested activated sludge: the effects of pH and free ammonia[J]. Bioresource Technology, 2016, 200: 606-615
- [40] Yang LB, Tan XB, Li DY, et al. Nutrients removal and lipids production by *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch wastewater and alcohol wastewater[J]. Bioresource Technology, 2015, 181: 54-61
- [41] Cheng JS, Niu YH, Lu SH, et al. Metabolome analysis reveals ethanolamine as potential marker for improving lipid accumulation of model photosynthetic organisms[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2012, 87(10): 1409-1418
- [42] Lu SH, Wang JX, Niu YH, et al. Metabolic profiling reveals growth related FAME productivity and quality of *Chlorella sorokiniana* with different inoculum sizes[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2012, 109(7): 1651-1662
- [43] Yang DW, Zhang YT, Barupal DK, et al. Metabolomics of photobiological hydrogen production induced by CCCP in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2014, 39(1): 150-158
- [44] Su YX, Wang JX, Shi ML, et al. Metabolomic and network analysis of astaxanthin-producing *Haematococcus pluvialis* under various stress conditions[J]. Bioresource Technology, 2014, 170: 522-529
- [45] Lv HX, Xia F, Liu M, et al. Metabolomic profiling of the astaxanthin accumulation process induced by high light in *Haematococcus pluvialis*[J]. Algal Research, 2016, 20: 35-43
- [46] Han PP, Shen SG, Wang HY, et al. Comparative metabolomic analysis of the effects of light quality on polysaccharide production of cyanobacterium *Nostoc flagelliforme*[J]. Algal Research, 2015, 9: 143-150
- [47] Jaspers A, Blust R, de Coen W, et al. An omics based assessment of cadmium toxicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Aquatic Toxicology, 2013, 126: 355-364
- [48] Taylor NS, Merrifield R, Williams TD, et al. Molecular toxicity of cerium oxide nanoparticles to the freshwater alga *Chlamydomonas reinhardtii* is associated with supra-environmental exposure concentrations[J]. Nanotoxicology, 2016, 10(1): 32-41
- [49] Kluender C, Sans-Piché F, Riedl J, et al. A metabolomics approach to assessing phytotoxic effects on the green alga *Scenedesmus vacuolatus*[J]. Metabolomics, 2009, 5(1): 59-71
- [50] Booi PH, Lamoree MB, Sjollem S, et al. Non-target metabolomic profiling of the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* after exposure to diuron using complementary high-resolution analytical techniques[J]. Current Metabolomics, 2014, 2(3): 213-222

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年,月刊,是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办,国内外公开发行,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业、海洋、环境、基础、农业、食品、兽医、水生、药物、医学微生物学和微生物蛋白质组学、功能基因组、工程与药物等领域的最新研究成果、产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究改革等。

本刊为中文核心期刊。曾获国家优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

据中国科学技术信息研究所信息统计,本刊 2012 年至今以国内“微生物、病毒学类期刊”综合评价总分第一名而连年获得“百种中国杰出学术期刊奖”,并入选“中国精品科技期刊”,成为“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。

欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2018 年每册定价 80 元,全年 960 元,我们免邮费寄刊。

邮购地址:(100101)北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/WSWXTBCN>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413