

# 植物代谢组学技术研究进展

刘贤青, 罗杰

华中农业大学生命科学技术学院, 武汉 430070

**摘要** 代谢组学对生物体或细胞中全部小分子代谢物进行定性、定量分析,是继基因组学、蛋白组学之后又一门新兴的组学技术。植物代谢物在种类、含量、生理功能方面极具多样性,因此植物代谢组学在代谢组学的研究中占据重要地位。植物代谢物是植物生理状态在代谢水平的反映,从整体上研究植物代谢物的变化及其调控将为解析植物生长发育及其与环境因子的互作奠定基础。植物代谢组学已经被广泛的应用于代谢物积累模式及其遗传基础研究、代谢相关基因的鉴定及途径解析方面,成为现代植物生物学研究中的热点领域之一。本文综述植物代谢组学分析技术的基本组成、发展状况及植物代谢组学应用于现代植物生物学研究的现状和趋势。

**关键词** 代谢组学;广泛靶向代谢组学;数量性状座位;全基因组关联分析;基因功能

**中图分类号** Q591

**文献标志码** A

**doi** 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.16.004

## Advances of technologies and research in plant metabolomics

LIU Xianqing, LUO Jie

College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** Metabolomics is an emerging omics technology after genomics and proteomics and it tends to qualify and quantify all metabolites of small molecular weight in an organism of cells. Plant metabolites are extremely diverse in terms of their classes, content, and functions, and plant metabolomics therefore is an important part of metabolomics. Plant metabolites are the readouts of physiological status of a plant, and the investigation of the change and regulation of plant metabolites as a whole will lay a foundation for the dissection of plants' growth, development and their interactions with the environments. Plant metabolomics has been widely applied in investigating the accumulation pattern of metabolites and the underlying genetic basis, the identification of genes involved in metabolism, and is one of the hotspots in modern plant biology. In this review, we summarize current development of the technical platforms in plant metabolomics, as well as its applications in plant biology.

**Keywords** metabolomics; widely-targeted metabolomics; quantitative trait loci; genome-wide association study; gene function

代谢组学研究生物体内源代谢物的种类、数量及其在内外因素作用下的变化规律,是系统生物学的重要组成部分,也是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后迅速发展起来的新兴学科。代谢组学定义有20世纪90年代末Nicholson提出的“metabonomics”<sup>[1]</sup>和21世纪初Fiehn提出的“metabolomics”<sup>[2]</sup>两种,两者在拼写及侧重点稍有不同,但本质上都是从整体上研究生物体的代谢产物。目前,对于代谢组学的定义为“对某一生物、组织或细胞中所有低分子量(通常指分子量<1000)代谢产物进行定性和定量分析的一门科学。代谢

产物作为生物体在内外因素作用下基因转录和蛋白表达的最终结果,是生物体表型的物质基础。同时代谢产物又能影响或调节基因的转录和蛋白的表达和活性。代谢组与基因组、转录组、蛋白组相比更接近生物体的表型,基因组和蛋白组的微小变化可以在代谢组层面得以体现和放大<sup>[3]</sup>。因此,代谢组学研究越来越受到广泛关注,代谢组学手段在解析生物系统及基因功能等方面也发挥着越来越重要的作用。

在整个代谢组学的研究中,植物代谢组的研究占有重要的地位。作为一类固着性生物,植物可以产生种类繁多的代

收稿日期:2014-11-15;修回日期:2015-07-23

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2013CB127001);国家自然科学基金项目(31070267)

作者简介:刘贤青,工程师,研究方向植物代谢工程,电子信箱:liuxq@mail.hzau.edu.cn;罗杰(通信作者),教授,研究方向为植物代谢组学,电子信箱:

jie.luo@mail.hzau.edu.cn

引用格式:刘贤青,罗杰.植物代谢组学技术及研究进展[J].科技导报,2015,33(16):33-38.

谢产物,总数在20万~100万种之间<sup>[4]</sup>。植物代谢物大体可分为初生代谢物和次生代谢物两大类。初生代谢物为维持植物生命活动和生长发育所必需<sup>[5]</sup>,次生代谢物则更多的参与植物抗病、抗逆等环境应答<sup>[6,7]</sup>。植物代谢物种类繁多,结构各异、含量差异很大,这一方面使植物成为了研究代谢物生物合成及其调控的理想材料,同时植物代谢物的复杂性也对植物代谢组学研究提出了严峻的挑战<sup>[8,9]</sup>。近年来,随着代谢组学分析技术的发展,特别是基于质谱及核磁共振的代谢谱分析的发展,代谢组学研究的内容不断扩展<sup>[10,11]</sup>。另外,通过代谢组学与其他组学技术(如转录组学、基因组学)的整合<sup>[12]</sup>,植物代谢组学在功能基因鉴定、代谢途径解析及自然变异的遗传分析等方面都取得了较大的进展<sup>[13-17]</sup>。本文综述植物代谢组学技术及其研究现状和前景。

## 1 植物代谢组学技术

与其他组学技术只需分析相同或相似的特定类型对象不同,代谢组学特别是植物代谢组学所要分析的对象种类繁多、理化性质各异、浓度范围分布极广,依靠单一的分析手段难以对全部植物代谢物进行无偏检测。目前,基于色谱(气相、液相、毛细管电泳)、质谱(mass spectrometry, MS)、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)、傅里叶变换-红外光谱(Fourier transform-infrared spectrometer, FT-IR)等分析平台在植物代谢组学研究中都得到了广泛应用,其中研究最深入、应用最广的是核磁共振和色谱-质谱联用两大技术平台。

### 1.1 基于核磁共振平台的代谢组学技术

核磁共振技术是代谢组学研究中应用最早、最为常见的技术之一<sup>[18,19]</sup>。核磁共振是一种基于具有自旋性质的原子核在核外磁场作用下吸收射频辐射而产生能级跃迁的谱学技术,常用的有氢谱(<sup>1</sup>H-NMR)、碳谱(<sup>13</sup>C-NMR)、磷谱(<sup>31</sup>P-NMR),其中<sup>1</sup>H-NMR应用最为广泛。核磁共振技术样品用量小、几乎不需要进行样品前处理,而且能够提供代谢物准确的结构信息。核磁共振技术的不足在于其检测灵敏度低、分辨率不高,难以检测丰度较低的代谢物。近年来,随着950 MHz高场强核磁共振及超低温探头技术(cryoprobe technology)等的发展,检测分辨率和灵敏度得到了较大的提高<sup>[20]</sup>,加之其无损伤性、分析速度快、代谢物检测的无偏性等特点,核磁共振技术在植物代谢组学研究中应用将更加广泛。

### 1.2 基于色谱-质谱平台的代谢组学技术

基于气相色谱-质谱(GC-MS)技术的代谢组学平台主要用于分析热稳定、易挥发、能气化的小分子代谢物,分离效率高,具有较高的分辨率和灵敏度<sup>[21,22]</sup>。另外,气相色谱-质谱检测结果可通过与标准谱图库比对获得代谢物结构信息,易于对代谢物进行定性。利用多维色谱技术发展的全二维色谱质谱联用技术,如全二维气相色谱-飞行时间质谱(GC×GC-TOF/MS)能够进一步提高色谱分离效果和峰容量,同时通过提高灵敏度和聚焦效果增加代谢物的检出量,展示对于复杂生物学样品分析的优越性能。气相色谱-质谱发展较

为成熟,已经成为植物代谢组研究中广泛应用的分析方法,是目前复杂样品中代谢物分析的主要定性和定量手段之一<sup>[23]</sup>。

基于液相色谱-质谱(LC-MS)的代谢物检测方法检测限宽、灵敏度高,对待测组分的挥发性和热稳定性没有要求,通过选择不同类型色谱柱可以实现从极性到非极性的各种代谢物特别是各种次生代谢物的检测,一般也不需要衍生化的复杂的前处理,因此在植物代谢物检测技术的发展中越来越受到重视<sup>[24]</sup>。传统的液相色谱-质谱方法有靶向代谢组学(targeted metabolomics)<sup>[25,26]</sup>和非靶向(non-targeted/untargeted metabolomics)<sup>[27,28]</sup>两大类。靶向代谢组学方法只能对少数(一般少于100种)已知代谢物进行定性和定量检测,但其具有灵敏度高、定量准确的特点。与之相反,非靶向代谢组学方法能够同时检测数百乃至数千种代谢物(包括已知和未知代谢物),但其灵敏度较之前者减低1~2个数量级,定量准确性也相对较差<sup>[29]</sup>。针对上述两种方法的优缺点,近年来相继发展出能够同时定性、定量数百种已知代谢物和定量近千种已知及未知代谢物的广泛靶向代谢组学分析方法(widely-targeted metabolomics)。笔者开发的一种新的广泛靶向代谢组学分析方法,能够在30 min内定量超过800种已知和未知代谢物<sup>[28]</sup>。该方法与靶向方法具有相同的灵敏度和定量准确性,同时结合了非靶向方法代谢物种类覆盖广泛、检测数量大的优点,在一定程度上代表了代谢组学检测手段的发展趋势,特别适合对大量试样的高通量、广覆盖的代谢组学分析,具有非常广泛的应用前景。在液相色谱技术方面,超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)及超高压系统(压力大于105 kPa)等新型液相色谱技术的应用能显著改善色谱分离度,与质谱联用时基质干扰减小,在提高检测灵敏度的同时大大缩短了分析周期。因此,超高效液相色谱-质谱替代传统液相色谱-质谱特别适用于微量复杂混合物的分离和高通量代谢组学分析,在植物代谢组学研究中得到了快速而广泛的应用。

毛细管电泳技术是基于带电分子在电场中的泳动速度差异而实现代谢物分离分析的技术。毛细管电泳技术与其他色谱技术互补,特别适于利用广泛靶向代谢组学手段对离子型代谢物(如核苷酸、有机酸、氨基酸、磷酸化的寡糖等植物初生代谢物)的分离和分析<sup>[30,31]</sup>。毛细管电泳质谱(CE-MS)将毛细管电泳快速、高效、分辨率高、重复性好等特点和质谱分析灵敏度高、速度快等优点相结合,在强极性代谢物,特别是带电代谢物的分离分析中具有广泛的应用前景<sup>[32,33]</sup>。

### 1.3 代谢物的注释

除了代谢组学分析平台方面的发展以外,代谢物的结构鉴定或注释也是目前代谢组学分析中的一个重点和难点问题。到目前为止,代谢组学主要集中在对已知代谢物的研究方面。值得注意的是,随着代谢组学技术的发展,特别是非靶向和广泛靶向技术的发展,代谢组学分析过程中获得了大量“未知代谢物”的定量信息。这些“未知代谢物”能够在代谢组学分析中被重复、稳定的定量检测,但是其化学结构未

知。虽然它们可能是生理、病理及逆境响应中的重要生物标志物,或是直接在上述过程中发挥作用,但是由于缺乏相应的结构信息,很难对这些未知代谢物进行深入研究,进一步的应用也受到很大限制。由于代谢物结构的解析需要对代谢物进行分离、纯化,并获得其核磁共振、光谱等综合特征,难以达到组学对分析通量的要求,目前代谢组学中未知代谢物的解析工作主要集中在其结构注释方面。

利用飞行时间质谱、傅里叶变换质谱及轨道阱质(orbitrap)谱等可以提供代谢物的精确质量,多重质谱(MSn)能够提供代谢物完整的碎片离子信息。通过对这些信息的分析和处理,能够得到代谢物的相对分子质量、元素组成及官能团等结构信息,并进而利用生物信息学手段进行代谢物结构注释。基于此,近年建立了一系列公共代谢组学数据库,如MassBank<sup>[34]</sup>、KNApSACk Core Database<sup>[35]</sup>、Plant Metabolome Database (PMD)<sup>[36]</sup>、Metlin<sup>[37]</sup>、Golm Metabolome Database (GMD)<sup>[38]</sup>、Platform for RIKE Metabolomics (PRIME)<sup>[39]</sup>、MeltDB<sup>[40]</sup>及Madison Metabolomics Consortium Database (MMCD)<sup>[41]</sup>等。部分公司也提供商业化的代谢组学数据库,如Agilent Fiehn GC-MS Metabolomics Library、Agilent Metlin Personal Metabolite Database、Wiley Registry/NIST Mass Spectral Library等。同时,也开发出一些用于解析质谱和核磁共振数据及通过整合代谢途径信息进行代谢物注释的工具。

近年来还发展了一种利用系统生物学手段进行未知代谢物结构鉴定及注释的功能代谢组方法。该方法利用正向遗传学手段获得未知代谢物与已知功能基因的关联信息,结合代谢物之间的相关性及代谢途径/网络分析,对未知代谢物进行结构注释,或进一步通过与标准品的比对进行结构确证<sup>[42]</sup>。笔者将上述方法与质谱获得的结构信息整合,注释水稻中包括类黄酮、维生素、萜类等超过160个未知代谢物,并鉴定了其中部分代谢物的结构<sup>[13]</sup>,取得了良好的效果。

## 2 植物代谢组学研究进展

植物代谢物是植物生物体生理状态在代谢水平的体现。任何生长发育及环境因子等内、外因素对植物体的扰动都会引起植物代谢物浓度或代谢流的变化,且大多数情况下这种变化不是表现为一个或少数几个代谢物的变化,而是多个代谢物甚至是多个代谢途径的改变。由于代谢组学从整体上检测代谢产物的变化,因此被越来越广泛地应用于植物生物学及相关领域的研究中。限于篇幅,本文仅对代谢组学在植物生物学基础研究中的进展进行简要介绍(图1)。

### 2.1 用于植物代谢物积累模式研究

通过代谢组对植物代谢物积累模式的研究不仅可以了解植物代谢物的不同时空积累模式,而且还可以研究其成分及含量在不同环境条件下的变化,为进一步解析其生物合成及调控奠定基础。代谢物的时空积累模式以研究具有生理、生物活性的次生代谢物最具代表性。类黄酮(flavonoids)是植物中普遍存在的一类次生代谢物,广泛参与植物发育、生

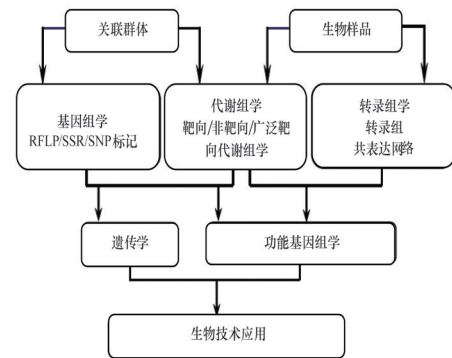


图1 代谢组学在植物生物学中的应用  
Fig. 1 A schematic view of applications of metabolomics in plant biology

理等过程,对人体也有明显保健作用,具有广泛生理活性<sup>[43]</sup>。笔者所在的研究组通过靶向代谢组学手段检测了水稻中超过90种类黄酮物质的时空积累模式,结果表明其中绝大多数在营养生长阶段的叶中的含量最高。进一步研究表明,不同类型的类黄酮在水稻籼粳两个亚种间的积累模式也存在着明显的差异<sup>[44]</sup>。酚胺(phenolamides)是广泛存在于植物中另一类参与植物生长及胁迫响应的次生代谢物<sup>[45]</sup>。笔者所在的研究组发现,与类黄酮不同,酚胺在根中大量积累,同时其在籼粳亚种间的积累模式也与类黄酮正好相反<sup>[13,46]</sup>。由于上述两类物质均在植物逆境响应过程中发挥作用,推测它们在水稻不同组织、不同亚种间的特异积累可能与水稻不同组织、不同亚种所受胁迫类型的不同有关。硫代糖苷(glucosinolates)是一类十字花科植物中特异的含硫代谢物,在抵抗生物胁迫过程中发挥重要作用<sup>[47]</sup>。对模式植物拟南芥中硫代糖苷的研究不仅表明其积累具有明显的时空特异性,还受到外界环境因子的调控,同时与不同生态型的地域适应性密切相关<sup>[16,48]</sup>。上述代谢组学研究结果从一个侧面说明了植物代谢物,特别是次生代谢物在植物的进化、亚种分化等方面的作用。

除此之外,通过对胁迫条件下植物体内各代谢产物进行定性及定量分析,从而发现植物逆境下代谢调控规律及网络,也是植物代谢组学研究的一个重要方面。以非生物胁迫为例,植物在非生物胁迫下会启动一系列生理、生化响应,代谢组学通过监测胁迫下代谢物种类、含量变化为揭示这些复杂响应提供了一个极好的平台。Bowne等<sup>[49]</sup>研究了不同旱胁迫抗性的小麦品种在旱胁迫下的代谢变化。笔者所在的研究组利用广泛靶向的代谢组学方法研究旱胁迫下水稻叶片的代谢物变化,结果表明旱胁迫能够显著提高脱落酸(abscisic acid)和包括脯氨酸(proline)在内的多种氨基酸、五羟色胺及其衍生物、部分酚胺及黄酮的积累,而溶血磷脂胆碱(lysophosphatidylcholines, LPCs)的含量则明显下降<sup>[28]</sup>。Yamakawa等<sup>[50]</sup>发现水稻内源葡萄糖及ADP葡萄糖的含量在高温胁迫下大量积累。大量研究揭示植物体内腐胺、亚精

胺、精胺等多胺的含量与植物抗非生物胁迫能力显著正相关<sup>[51-53]</sup>,提示多胺在提高植物逆境抗性中发挥重要作用<sup>[54]</sup>。

## 2.2 用于代谢物积累的遗传基础研究

解析遗传变异如何控制性状的表达是现代生物学研究的基本目标之一。由于植物代谢物对于植物及人类的重要性,植物生物学家一直致力于揭示调控植物代谢背后的遗传基础<sup>[12,55,56]</sup>。植物样品中代谢物含量作为代谢性状(m-traits)往往也是受到多基因控制的数量性状,代谢性状的自然变异材料为研究其遗传调控提供了难得的遗传资源。通过数量性状座位(quantitative trait loci)分析代谢性状的自然变异有助于揭示控制这些变异的遗传学基础,解析代谢性状形成的遗传结构。目前绝大多数代谢性状的遗传学基础研究都是通过两个或少数几个亲本通过杂交或回交获得的连锁群体(linkage population)。例如,Schauer等<sup>[57]</sup>利用GC-MS技术进行番茄片段替换系(野生型番茄 *Solanum pennellii* 基因组片段由栽培种 *Solanum lycopersicum* M82 替换)代谢谱分析,共鉴定了控制74个已知代谢物的889个mQTLs。Matsuda等利用一个水稻回交群体(back-crossed inbred line, BIL)进行非靶向代谢组分析及代谢物QTL定位,获得了802个代谢物QTLs(mQTLs)<sup>[58]</sup>。对于拟南芥类黄酮<sup>[59]</sup>、硫代糖苷<sup>[16]</sup>等次生代谢物mQTL定位也获得了部分具有显著效应的位点。

传统的mQTL定位都是基于限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)、简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)等低密度标记<sup>[15,60]</sup>。利用这些标记定位了大量的代谢相关的遗传位点。但是由于标记密度过低,很难直接获得决定代谢物含量的候选基因<sup>[61]</sup>。笔者所在的研究组首次将高密度连锁图谱应用mQTL研究中:利用广泛靶向的代谢组学手段对一个获得高密度连锁图谱的水稻重组自交系(recombinant inbred line, RIL)群体的两个组织分别进行代谢谱分析及代谢物QTL(mQTL)作图,共获得了900个代谢性状超过2800个mQTL<sup>[62]</sup>。研究表明,水稻代谢组遗传调控模式在不同组织中存在着很大的差异,具有明显的组织特异性。对mQTLs的全基因组分布研究发现,代谢组的遗传调控存在明显的热点区域,且热点区域在不同组织中也不尽相同。在此基础上通过对部分高精度(<100 kb)、大效应(解释超过40%变异)位点的分析,获得了24个控制代谢物含量变异的候选基因,并对其中部分基因进行了功能鉴定<sup>[62]</sup>。

利用连锁群体进行mQTL定位在植物代谢组学研究中已经得到广泛应用。但是该方法存在着群体重组位点较少、群体构建费时费力、无法覆盖多个不同品种等问题<sup>[61]</sup>。近年来随着高通量基因型鉴定技术的发展,利用全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)进行数量性状定位研究在植物学研究中受到重视<sup>[63,64]</sup>。笔者所在的研究组通过对水稻自然变异群体的代谢组学分析,揭示了水稻籼粳亚种间代谢谱差异,获得了籼粳亚种分化的生物标志物(biomarker)<sup>[13]</sup>。进一步对代谢性状进行全基因组分析(metabolic genome-

wide association study, mGWAS),获得了数百个控制代谢物自然变异的显著位点。大部分代谢物的自然变异受到多个位点控制,但相比复杂的农艺性状来说其遗传结构相对简单。对籼粳亚种代谢组的遗传分析表明,控制两者的遗传结构存在明显差异,揭示了两个亚种代谢组差异的遗传基础<sup>[13]</sup>。

## 2.3 用于代谢相关功能基因鉴定及途径解析

功能基因组学是后基因组时代一门重要学科,其主要任务就是鉴定每个基因的功能,其中就包括在基因组中占有相当大比例的代谢相关基因的功能。在过去10年中,通过代谢组学和其他组学,特别是转录组学的结合,大大加快了植物中代谢相关功能基因的鉴定。模式拟南芥拥有高质量的全基因组序列信息和非常完备的各类公共资源(包括cDNA全长序列、各种形式的突变体和丰富的转录组学数据信息)及简单而高效的遗传转化方法。这些都为利用代谢组学和转录组学的整合分析进行代谢相关基因(特别是那些缺失或过量表达并不能引起可见表型变化的基因)功能鉴定奠定了良好的基础。通过对拟南芥代谢组、转录组的整合分析及后续的反向遗传学验证,成功鉴定了若干参与拟南芥类黄酮生物合成的基因。同样的策略也成功的被用于参与花青素(anthocyanin)<sup>[65]</sup>及原花青素(proanthocyanidin)<sup>[66]</sup>合成基因的鉴定。除此之外,该策略还被成功的用于胁迫条件下代谢相关基因的克隆和鉴定<sup>[67]</sup>。代谢组与基因组整合进行基因功能鉴定主要是通过关联分析来实现,其原理是“共犯原则(guilt-by-association)”,也就是说认为参与同一生物过程中的基因(或代谢物)通常是受同一个调控系统控制的<sup>[10]</sup>。换言之,参与同一生物过程中的基因(或代谢物)有着相同或者相似的变化规律。这样,如果你所感兴趣的生物途径中某一步基因其功能已被鉴定,通过对不同组学数据的关联分析可以推测参与该生物途径的其他基因,并可以利用反向遗传学或生化手段进行功能验证。随着RNA测序(RNAseq)技术的发展,在非模式植物,如很多药用植物中通过代谢组与转录组数据关联分析也有不少成功的案例。Winer等<sup>[68]</sup>以罂粟(*Papaver somniferum*)为材料,通过对利用靶向代谢组学和RNA测序技术获得的转录组数据的关联分析,成功发现了一个参与吗啡生物合成的基因簇(由分属于5个酶家族的10个基因组成),并利用基因沉默技术鉴定了其中6个基因的功能。同样利用“共表达”(co-expression)的研究策略, Seki等<sup>[69]</sup>从甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)中鉴定了参与甘草甜素(glycyrrhizin)合成的两个细胞色素P450基因。

另外,通过代谢组学与基因组学(第二代测序技术为代表的高通量测序)的结合进行代谢相关基因的克隆及鉴定则是该领域最新进展。笔者的研究组利用广泛靶向的代谢组学手段对524份不同水稻品种中超过840个代谢物(已知和未知)进行定量分析,研究了水稻代谢组的自然变异<sup>[13]</sup>。在此基础上通过表型(代谢物含量)与基因型数据的全基因组关联分析,预测了36个代谢相关基因的功能,并对其中的5个进行了功能验证。在此基础上重构了水稻中包括类黄酮、酚

胺等在内的代谢途径<sup>[13]</sup>。与此类似,利用基于靶向代谢组学的代谢物全基因组关联分析也成功预测并通过转基因手段鉴定了水稻中参与酚胺合成的两个酰基转移酶编码基因<sup>[46]</sup>。

### 3 展望

代谢组学是系统生物学不可或缺的重要组成部分。植物代谢组学通过近年来的发展,特别是与基因组学、转录组学等其他组学技术的结合,已经在植物生理学、遗传学、功能基因组学及相关生物技术研究领域发挥着越来越重要的作用,成为后基因组时代的研究热点。植物代谢物在种类及含量方面的极端多样性使得植物代谢组的研究显得尤为重要。作为一门新兴的学科,植物代谢组学还处于发展的初级阶段,无论是在方法学还是在应用研究方面都还存在着亟待解决的问题。未来主要的发展方向包括:1) 开发基于现有独立分析平台的更为广谱、原位、即时、通用的检测方法;2) 建立实现多种分析平台并行分析及数据整合的新型植物代谢组分析平台,真正实现对植物样本内代谢物的无偏性、高灵敏、高通量分析;3) 开发准确、高效的植物代谢物鉴定或注释工具;4) 进一步实现代谢组学与其他组学(基因组、转录组、蛋白组、表型组等)数据的整合,以便更好地阐述生物过程的分子机理,同时促进其生物技术应用。

#### 参考文献 (References)

- 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.
- Fiehn O, Kopka J, Dormann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics[J]. *Nature Biotechnology*, 2000, 18(11): 1157-1161.
- 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): 241-248.
- Dixon R A, Strack D. Phytochemistry meets genome analysis, and beyond [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(6): 815-816.
- Koch K. Sucrose metabolism: Regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7(3): 235-246.
- Carreno-Quintero N, Bouwmeester H J, Keurentjes J J. Genetic analysis of metabolome-phenotype interactions: From model to crop species[J]. *Trends in Genetics*, 2013, 29(1): 41-50.
- Mitchell-Olds T, Schmitt J. Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in *Arabidopsis*[J]. *Nature*, 2006, 441(7096): 947-952.
- D'Auria J C, Gershenzon J. The secondary metabolism of *Arabidopsis thaliana*: Growing like a weed[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(3): 308-316.
- Sumner L W, Mendes P, Dixon R A. Plant metabolomics: Large-scale phytochemistry in the functional genomics era[J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(6): 817-836.
- Saito K, Matsuda F. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology[J]. *Annual Review in Plant Biology*, 2010, 61: 463-489.
- Zheng P, Allen W B, Roesler K, et al. A phenylalanine in DGAT is a key determinant of oil content and composition in maize[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(3): 367-372.
- Keurentjes J J. Genetical metabolomics: Closing in on phenotypes[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(2): 223-230.
- Chen W, Gao Y, Xie W, et al. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism[J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(7): 714-721.
- Wen W, Li D, Li X, et al. Metabolome-based genome-wide association study of maize kernel leads to novel biochemical insights[J]. *Nature Communications*, 2014, 5(3): 3438-3447.
- Keurentjes J J, Fu J, de Vos C H, et al. The genetics of plant metabolism [J]. *Nature Genetics*, 2006, 38(7): 842-849.
- Chan E K F, Rowe H C, Corwin J A, et al. Combining genome-wide association mapping and transcriptional networks to identify novel genes controlling glucosinolates in *Arabidopsis thaliana*[J]. *PLoS Biology*, 2011, 9(8): e1001125.
- Li H, Peng Z, Yang X, et al. Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels[J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(1): 43-50.
- Eisenreich W, Bacher A. Advances of high-resolution NMR techniques in the structural and metabolic analysis of plant biochemistry[J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(22-24): 2799-2815.
- Ward J L, Baker J M, Beale M H. Recent applications of NMR spectroscopy in plant metabolomics[J]. *FEBS Journal*, 2007, 274(5): 1126-1131.
- Kim H K, Choi Y H, Verpoorte R. NMR-based metabolomic analysis of plants[J]. *Nature Protocol*, 2010, 5(3): 536-549.
- Lisec J, Schauer N, Kopka J, et al. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants[J]. *Nature Protocol*, 2006, 1(1): 387-396.
- Kusano M, Fukushima A, Arita M, et al. Unbiased characterization of genotype-dependent metabolic regulations by metabolomic approach in *Arabidopsis thaliana*[J]. *BMC Systems Biology*, 2007, 1: 53.
- Krone N, Hughes B A, Lavery G G, et al. Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a preeminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) [J]. *Journal of Steroid Biochemistry*, 2010, 121(3-5): 496-504.
- De Vos R C H, Moco S, Lommen A, et al. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. *Nature Protocol*, 2007, 2(4): 778-791.
- Rochfort S J, Trener V C, Imsic M, et al. Class targeted metabolomics: ESI ion trap screening methods for glucosinolates based on MSn fragmentation[J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(8): 1671-1679.
- Yonekura-Sakakibara K, Tohge T, Matsuda F, et al. Comprehensive flavonol profiling and transcriptome coexpression analysis leading to decoding gene-metabolite correlations in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2008, 20(8): 2160-2176.
- Sawada Y, Akiyama K, Sakata A, et al. Widely-targeted metabolomics based on large-scale MS/MS data for elucidating metabolite accumulation patterns in plants[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2009, 50(1): 37-47.
- Chen W, Gong L, Guo Z, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: Application in the study of rice metabolomics[J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(6): 1769-1780.
- Yao M, Ma L, Humphreys W G, et al. Rapid screening and characterization of drug metabolites using a multiple ion monitoring-dependent MS/MS acquisition method on a hybrid triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometer[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2008, 43(10): 1364-1375.
- Monton M R N, Soga T. Metabolome analysis by capillary electrophoresis-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1168(1-2): 237-246.
- Levandi T, Leon C, Kaljurand M, et al. Capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry for comparative metabolomics of transgenic

- versus conventional maize[J]. Analytical Chemistry, 2008, 80(16): 6329-6335.
- [32] Ohkama-Ohtsu N, Oikawa A, Zhao P, et al. A gamma-glutamyl transpeptidase-independent pathway of glutathione catabolism to glutamate via 5-oxoproline in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2008, 148(3): 1603-1613.
- [33] Watanabe M, Kusano M, Oikawa A, et al. Physiological roles of the beta-substituted alanine synthase gene family in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2008, 146(1): 310-320.
- [34] Horai H, Arita M, Kanaya S, et al. MassBank: A public repository for sharing mass spectral data for life sciences[J]. Journal of Mass Spectrometry, 2010, 45(7): 703-714.
- [35] Afendi F M, Okada T, Yamazaki M, et al. KnapSack family databases: Integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research[J]. Plant and Cell Physiology, 2012, 53(2): e1, doi: 10.1093/pcp/pcr165.
- [36] Bais P, Moon-Quanbeck S M, Nikolau B J, et al. Plantmetabolomics.org: Mass spectrometry-based Arabidopsis metabolomics-database and tools update[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(D1): D1216-D1220.
- [37] Tautenhahn R, Cho K, Uritboonthai W, et al. An accelerated workflow for untargeted metabolomics using the METLIN database[J]. Nature Biotechnology, 2012, 30(9): 826-828.
- [38] Kopka J, Schauer N, Krueger S, et al. GMD@CSB.DB: The golm metabolome database[J]. Bioinformatics, 2005, 21(8): 1635-1638.
- [39] Sawada Y, Nakabayashi R, Yamada Y, et al. RIKEN tandem mass spectral database (ReSpect) for phytochemicals: A plant-specific MS/MS-based data resource and database[J]. Phytochemistry, 2012, 82(1): 38-45.
- [40] Neuweger H, Albaum S P, Dondrup M, et al. MeltDB: A software platform for the analysis and integration of metabolomics experiment data[J]. Bioinformatics, 2008, 24(23): 2726-2732.
- [41] Cui Q, Lewis I A, Hegeman A D, et al. Metabolite identification via the Madison metabolomics consortium database[J]. Nature Biotechnology, 2008, 26(2): 162-164.
- [42] Krumsiek J, Suhre K, Evans A M, et al. Mining the unknown: A systems approach to metabolite identification combining genetic and metabolic information[J]. PLoS Genetics, 2012, 8(10): e1003005.
- [43] Luo J, Butelli E, Hill L, et al. AtMYB12 regulates caffeoyl quinic acid and flavonol synthesis in tomato: Expression in fruit results in very high levels of both types of polyphenol[J]. Plant Journal, 2008, 56(2): 316-326.
- [44] Dong X, Chen W, Wang W, et al. Comprehensive profiling and natural variation of flavonoids in rice[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2014, 56(9): 876-886.
- [45] Luo J, Fuell C, Parr A, et al. A novel polyamine acyltransferase responsible for the accumulation of spermidine conjugates in *Arabidopsis* seed[J]. Plant Cell, 2009, 21(1): 318-333.
- [46] Dong X, Gao Y, Chen W, et al. Spatio-temporal distribution of phenolamides and the genetics of natural variation of hydroxycinnamoyl spermidine in rice[J]. Molecular Plant, 2015, 8(1): doi: 10.1093/mp/ssu101.
- [47] Chan E K F, Rowe H C, Kliebenstein D J. Understanding the evolution of defense metabolites in *Arabidopsis thaliana* using genome-wide association mapping[J]. Genetics, 2010, 185(3): 991-1007.
- [48] Chan E K, Rowe H C, Hansen B G, et al. The complex genetic architecture of the metabolome[J]. PLoS Genetics, 2010, 6(11): e1001198.
- [49] Bowne J B, Erwin T A, Juttner J, et al. Drought responses of leaf tissues from wheat cultivars of differing drought tolerance at the metabolite level[J]. Molecular Plant, 2012, 5(2): 418-429.
- [50] Yamakawa H, Hakata M. Atlas of rice grain filling-related metabolism under high temperature: Joint analysis of metabolome and transcriptome demonstrated inhibition of starch accumulation and induction of amino acid accumulation[J]. Plant and Cell Physiology, 2010, 51(9): 1599-1599.
- [51] Rangan P, Subramani R, Kumar R, et al. Recent advances in polyamine metabolism and abiotic stress tolerance[J]. BioMed Research International, 2014, doi:10.1155/2014/239621.
- [52] Shi H T, Chan Z L. Improvement of plant abiotic stress tolerance through modulation of the polyamine pathway[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2014, 56(2): 114-121.
- [53] Kovacs Z, Simon-Sarkadi L, Szucs A, et al. Differential effects of cold, osmotic stress and abscisic acid on polyamine accumulation in wheat[J]. Amino Acids, 2010, 38(2): 623-631.
- [54] Alcazar R, Cuevas J C, Planas J, et al. Integration of polyamines in the cold acclimation response[J]. Plant Science, 2011, 180(1): 31-38.
- [55] Rowe H C, Hansen B G, Halkier B A, et al. Biochemical networks and epistasis shape the *Arabidopsis thaliana* metabolome[J]. Plant Cell, 2008, 20(5): 1199-1216.
- [56] Carreno-Quintero N, Acharjee A, Maliepaard C, et al. Untargeted metabolic quantitative trait loci analyses reveal a relationship between primary metabolism and potato tuber quality[J]. Plant Physiology, 2012, 158(3): 1306-1318.
- [57] Schauer N, Semel Y, Roessner U, et al. Comprehensive metabolic profiling and phenotyping of interspecific introgression lines for tomato improvement[J]. Nature Biotechnology, 2006, 24(4): 447-454.
- [58] Matsuda F, Nakabayashi R, Yang Z, et al. Metabolome-genome-wide association study (mGWAS) dissects genetic architecture for generating natural variation in rice secondary metabolism[J]. Plant Journal, 2014, doi: 10.1111/tpj.12681.
- [59] Routaboul J-M, Dubos C, Beck G, et al. Metabolite profiling and quantitative genetics of natural variation for flavonoids in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(10): 3749-3764.
- [60] Toubiana D, Semel Y, Tohge T, et al. Metabolic profiling of a mapping population exposes new insights in the regulation of seed metabolism and seed, fruit, and plant relations[J]. PLoS Genetics, 2012, 8(3): e1002612.
- [61] Riedelsheimer C, Lisek J, Czedik-Eysenberg A, et al. Genome-wide association mapping of leaf metabolic profiles for dissecting complex traits in maize[J]. PNAS, 2012, 109(23): 8872-8877.
- [62] Gong L, Chen W, Gao Y, et al. Genetic analysis of the metabolome exemplified using a rice population[J]. PNAS, 2013, 110(50): 20320-20325.
- [63] Huang X, Han B. Natural variations and genome-wide association studies in crop plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2014, 65: 531-551.
- [64] Huang X, Zhao Y, Wei X, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm[J]. Nature Genetics, 2012, 44(1): 32-39.
- [65] Miyahara T, Sakiyama R, Ozeki Y, et al. Acyl-glucose-dependent glucosyltransferase catalyzes the final step of anthocyanin formation in *Arabidopsis*[J]. Journal of Plant Physiology, 2013, 170(6): 619-624.
- [66] Kitamura S, Matsuda F, Tohge T, et al. Metabolic profiling and cytological analysis of proanthocyanidins in immature seeds of *Arabidopsis thaliana* flavonoid accumulation mutants[J]. Plant Journal, 2010, 62(4): 549-559.
- [67] Kusano M, Fukushima A, Redestig H, et al. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(4): 1439-1453.
- [68] Winzer T, Gazda V, He Z, et al. A Papaver somniferum 10-gene cluster for synthesis of the anticancer alkaloid noscapine[J]. Science, 2012, 336(6089): 1704-1708.
- [69] Geu-Flores F, Sherden N H, Courdavault V, et al. An alternative route to cyclic terpenes by reductive cyclization in iridoid biosynthesis [J]. Nature, 2012, 492(7427): 138-142.

(责任编辑 吴晓丽)