

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20180203002

熊倩, 胡立新, 蒋宇霞, 等. 脂质组学在环境领域中的应用[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(6): 1-12

Xiong Q, Hu L X, Jiang Y X, et al. Application of lipidomics in environmental research [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(6): 1-12 (in Chinese)

脂质组学在环境领域中的应用

熊倩^{1,2}, 胡立新³, 蒋宇霞^{1,2}, 应光国^{3,*}

1. 中国科学院广州地球化学研究所 有机地球化学国家重点实验室, 广州 510640

2. 中国科学院大学, 北京 100049

3. 华南师范大学环境研究院 广东省化学品污染与环境安全重点实验室 & 环境理论化学教育部重点实验室, 广州 510006

收稿日期: 2018-02-03 录用日期: 2018-03-23

摘要: 脂质是生物体内重要的组成物质之一, 具有多种重要的生物学功能。脂质组学作为代谢组学的一个重要分支, 主要通过研究生物体内脂质化合物及脂质代谢谱的变化, 进而鉴定生物标志物, 分析相关代谢通路, 阐明生物体响应外界刺激的机制。随着分析技术的不断进步, 尤其是色谱和质谱技术的引入, 极大地推动了脂质组学研究的发展, 并扩展了其应用范围。本文介绍了脂质组学的研究方法及其在环境领域中的应用前景, 重点讨论了脂质组学及多组学联用技术在环境胁迫耐受性及环境污染毒性评价中的应用。

关键词: 脂质组学; 多组学; 环境胁迫; 环境毒性评价

文章编号: 1673-5897(2018)6-001-12 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Application of Lipidomics in Environmental Research

Xiong Qian^{1,2}, Hu Lixin³, Jiang Yuxia^{1,2}, Ying Guangguo^{3,*}

1. Skate Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3. SCNU Environmental Research Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Chemical Pollution and Environmental Safety & MOE Key Laboratory of Environmental Theoretical Chemistry, South China Normal University, Guangzhou 510006, China

Received 3 February 2018 **accepted** 23 March 2018

Abstract: Lipid is one of the important biological components, and it plays multiple critical roles in cellular functions. As a branch of metabolomics, lipidomics is aimed at specific analysis of the alteration of lipid metabolism, identification of lipid biomarkers, and understanding the pathways that respond to physiological perturbation. The advance of modern analytical technology, especially with the use of mass spectrometry and chromatography in the research, has significantly accelerated the development of lipidomics and broadened its application in recent years. Here we introduce the methodology of lipidomics and its application in environmental research fields. We mainly discussed the application of lipidomics and multiple omics technologies in the response of organisms to environmental stress and in the toxicological evaluation of environmental contaminants.

基金项目: 广东省应用型科技研发专项(2015B020235012)

作者简介: 熊倩(1988-), 女, 博士研究生, 研究方向为污染物化学与生态毒理, Email: xiongqian010@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: guangguo.ying@m.scnu.edu.cn

Keywords: lipidomics; omics; environmental stress; toxicological evaluation

随着科学技术的不断进步,基因组学(Genomics)、转录组学(Transcriptomics)和蛋白质组学(Proteomics)取得了快速发展,同时对生物体或者细胞内所有代谢物进行定性和定量分析的代谢组学(Metabonomics)也应运而生。然而由于生物代谢物的种类繁多且复杂,很难用同一种方法一次性分析检测所有的代谢物,因此利用代谢物的特异性对其进行分类研究,逐步形成脂质代谢组学、糖类代谢组学、毒素代谢组学等一系列代谢组学的分支^[1]。因脂质所具有的独特生物学功能,脂质组学作为代谢组学的一个重要分支,逐渐成为近年来的研究热点。2003年,Han和Gross^[2]首次提出脂质代谢组学(Lipidomics)的概念,将其定义为:对生物体、组织或者细胞中的脂质以及与其相互作用的分子进行全面系统的分析、鉴定,了解脂质的结构和功能,进而揭示脂质代谢与细胞、器官乃至机体的生理、病理过程之间关系的一门学科。

脂质是自然界中存在的一大类溶于有机溶剂而不溶于水的、在化学成分及结构上非均一的化合物,主要包括脂肪酸及其天然产生的衍生物(如酯或胺),以及与其生物合成或功能相关的化合物^[3]。根据新的分类方法脂质被细分为8个大类:脂肪酸类(fatty acyls, FA)、甘油糖脂类(glycerolipids, GL)、甘油磷脂类(glycerophospholipids, GP)、鞘脂类(sphingolipids, SP)、固醇脂类(sterol lipids, ST)、孕烯醇酮脂类(prenol lipids, PR)、糖脂类(saccharolipids, SL)、聚酮类(polyketides, PK)^[4]。脂质种类的多样性赋予了其多种重要的生物学功能,其不仅可以作为能量的来源为生物体提供能量,同时还是细胞膜的骨架成分,帮助维持细胞膜的正常功能。多种脂质分子是生物体内一些重要生理活性物质的合成前体;某些脂质分子本身还是信号分子,在细胞信号传导过程中发挥作用。此外,大量研究表明脂质代谢异常可引发诸多人类疾病,包括阿兹海默症、糖尿病、肥胖症、动脉粥样硬化等,通过分析脂质的变化并鉴定脂质生物标志物,可以为疾病的预防和诊断提供策略^[5]。细胞耐受环境胁迫、适应环境变化过程中脂质起着关键作用,脂质组成的变化及一些脂质合成通路的改变,反映了生物体对外界环境变化的响应机制和适应能力^[6]。本文就脂质组学的研究方法及其在环境领域中的应用进行概述,主要侧重于脂质

组学及其与其他组学联用的多组学技术在环境胁迫耐受性、环境污染物毒性评价等方面的应用。

1 脂质组学的研究方法 (Analytical methods of lipidomics)

脂质组学研究受到重视的同时,大量先进技术的发展及研究方法的改进,推动了脂质组学的快速发展。脂质组学的研究主要包括:脂质的提取、脂质的分离、脂质的分析检测及相关生物信息学技术^[7],实验流程见图1^[8]。

1.1 脂质的提取

脂质分析检测时,为了避免生物体内蛋白质、糖类或其他小分子化合物对脂质测定的干扰,样品上机前必须经过提取。脂质的提取一般分为液液萃取和固相萃取2种方法。最常用的液液萃取体系是1957年Folch等^[9]创建的甲醇/氯仿体系(2:1, V/V)。随后Bligh等^[10]在其基础上进行了改进,通过加入一定比例水或者其他改性试剂(如乙酸),可以有效避免脂质的降解进而提高脂质回收率。与Folch的方法相比,正己烷/异丙醇的体系(3:2, V/V)对人体毒性较小,但因其提取脂质的效率并不高而使用较少^[11]。液液萃取的体系有很多,如丁醇/甲醇体系可用于提取总脂^[12]、甲基叔丁基醚用于同时提取脂质和其他代谢产物^[13]等。固相萃取又称液-固萃取,其原理是利用固体吸附剂将液体样品中的目标化合物吸附,与样品中的基质和干扰物分离,然后再利用甲醇、正己烷或氯仿等有机试剂作为洗脱液洗脱或加热解吸,以达到分离和富集的目的。常用的固相萃取介质是C18固相萃取小柱,另外还有-CN、-NH₂等基团键合的固相萃取柱,以及离子交换柱和吸附树脂柱等^[14-15]。在脂质组学研究中,采用哪种方法更能有效地提取脂质,取决于实验的目的;对于非靶向代谢组学研究,液液萃取能够提取多种脂类化合物;对于靶向代谢组学研究,固相萃取则更为高效且特异性强^[16]。除了液液萃取和固相萃取外,近年来脂质的提取引入了一些新的方法,诸如超声提取^[17]、固相微萃取^[18]、加压溶剂萃取^[19]等。

1.2 脂质的分析检测

质谱、核磁共振以及其他的光谱分析法是用于脂质组学研究的主要分析手段,大致可以归纳为三类:基于直接进样的质谱分析法、基于色谱质谱联用的分析法、基于光谱的分析法。直接进样的质谱分

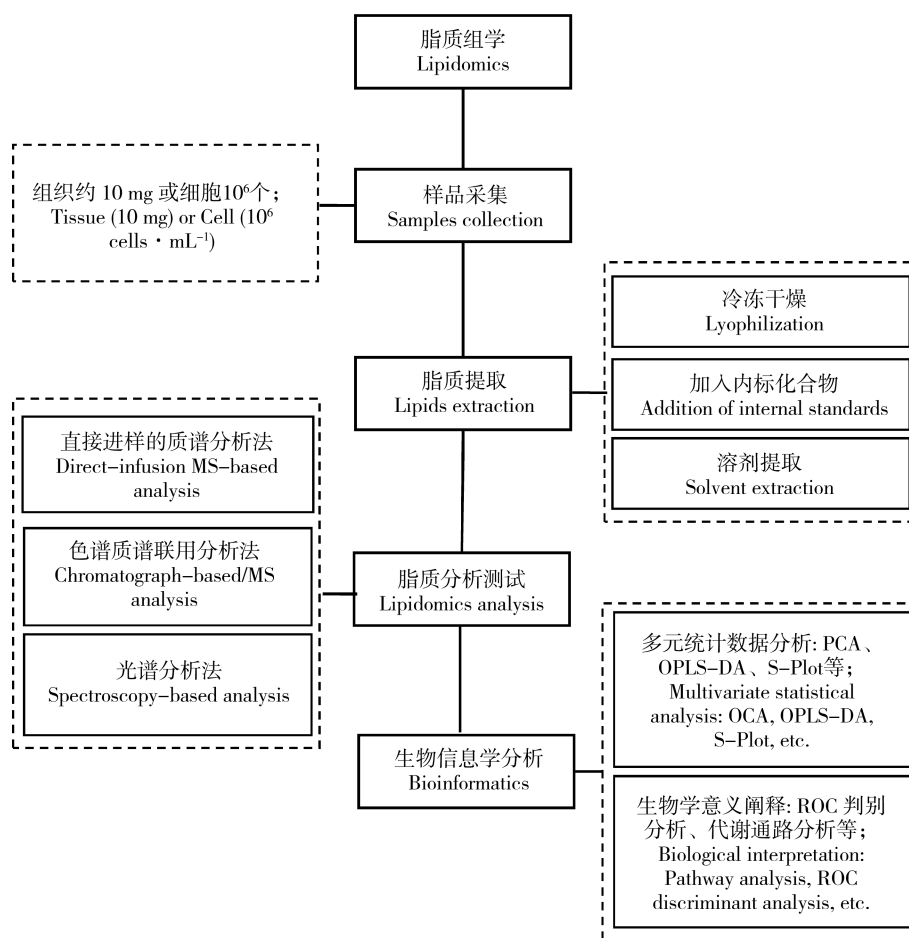


图1 脂质代谢组学流程图

注:PCA 是主成分分析方法,OPLS-DA 是正交偏最小二乘判别分析,S-Plot 是得分图,ROC 是受试者工作特征曲线。

Fig. 1 The flow chart of lipidomics research

Note: PCA, Principal Component Analysis; OPLS-DA, Orthogonal Partial Least Squares Discrimination Analysis;

S-Plot, Score Plot; ROC, Receiver Operating Characteristic Curve.

析法,准确度高、重复性强且节约时间,常用的离子化技术有电喷雾电离(Electrospray Ionization, ESI)技术^[2]、基质辅助激光解吸吸附法(Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization, MALDI)^[20]等。除此之外,质谱成像技术(Mass Spectrometry Imaging, MSI)^[21]是可视化多维呈现分子空间分布信息的分析技术。基于色谱质谱联用的脂质分析法因其具有较好的分离效果而被广泛使用,常用的色谱分离技术有:薄层色谱法(Thin Layer Chromatography, TLC)^[22]、气相色谱(Gas Chromatography, GC)^[23]、高效液相色谱(High-Performance Liquid Chromatography, HPLC)^[24]、临界流体色谱法(Supercritical Fluid Chromatography, SFC)^[25]、毛细管电泳(Capillary Electrophoresis, CE)^[26]等。光谱分析技术较质谱而言,灵敏度低、产物鉴定困难,故很少用于脂质分析,用得相对较多的是核磁

共振法(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)^[27]、拉曼光谱法(Raman Spectroscopy)^[28]。

脂质分析的方法很多,但几乎每种方法都存在自身的不足之处,现将几种检测方法的利弊进行比较,如表1所示。其中任何一种分析方法几乎都无法同时检测细胞内成千上万种脂质分子,但是不同分析技术的结合可以有效分析大部分不同极性的代谢产物并扩大研究对象的范围。因此,为了更好地研究脂质组学,有必要将多种分析方法联用以期有效扩大脂质组学的研究范畴。脂质组学研究常用的分析方法有核磁共振(NMR)、气相色谱-质谱联用(Gas Chromatography - Mass Spectrometry, GC-MS)、液相色谱-质谱联用(Liquid Chromatography - Mass Spectrometry, LC-MS)、毛细管电泳质谱(Capillary Electrophoresis - Mass Spectrometry, CE-MS)等^[29]。目

前,GC 还经常与飞行时间质谱(Time-of-Flight, TOF-MS)联用,可以有效地同时分析多种化学性质不同的化合物,包括有机酸、糖类、大多数氨基酸、糖醇类、脂肪酸以及芳香胺等^[30]。GC-MS 的优点在于数据库较健全,这使得代谢产物的鉴定相对容易些;然而应用 GC-MS 时,如若目标化合物难挥发,需要对其进行衍生化,而衍生化又会引入很多杂质化合物。LC-MS 因其具有较高的灵敏度且适宜测定极性范围及分子量范围更广的化合物,近年来广泛应用于脂质组学研究。较 GC-MS 而言,LC-MS 无需衍生化,但其最大的缺陷在于数据库不够全面,限制了非靶向代谢组学研究中代谢产物结构鉴定。综上所述,对于脂质的分析检测方法需根据实验目的以及受试对象性质,综合多方因素选择较优的方法。

1.3 脂质组学的数据处理

与其他组学一样,脂质组学得到的也是大量的、多维的数据,需要利用化学计量学和生物信息学的方法来解释各种分析平台产生的大量数据。在数据计算时常需要对不同时间或不同方式处理后采集的样品进行分类,常采用的分析技术是模式识别(Pattern Recognition),它是一个获得、处理、提取数据所包含的性质并区分输入信息模式的过程,其核心思想就是进行多元数据投影分析,迅速、准确地从数据中提取有效信息并提供有效的诊断和可视化工具。模式识别技术包括非监督(Unsupervised)学习方法和有监督(Supervised)学习方法^[31]。非监督学习方法主要有主成分分析(Principal Components Analysis, PCA)、非线性映射(Nonlinear Mapping, NLM)、簇类

表1 不同脂质分析检测方法的比较

Table 1 Comparative analysis of different methods using for lipidomics

方法名称 Method	分类 Classification	优点 Advantage	缺点 Drawback
直接进样的 质谱分析法 Direct-Infusion MS- Based Analysis	电喷雾电离质谱 ESI-MS	高分辨率,直接进样 Ultrahigh resolution, direct infusion	电离抑制;同分异构体难鉴定 Ionization suppression; Hard to distinguish isomers
	基质辅助激光解 吸电离质谱 MALDI-MS	应用广泛,可同步检测多种化合物 Widely used and simultaneous detection of different chemicals	定量能力有限且很难与其他技术联用 Limited quantitation capability and difficulty to hyphenate with other techniques
	质谱成像技术 MSI	可视化,可观察样品的动态空间变化 Visualization and dynamic spatial distribution	灵敏度不够高 Low sensitivity
	薄层色谱-质谱 TLC-MS	简单、便捷及高通量 Simple, rapid, and high-throughput	重现性差 Poor reproducibility
色谱质谱 联用分析法 Chromatograph- Based/MS Analysis	气相色谱-质谱 GC-MS	分辨率、选择性好,数据库较健全 High resolution and selectivity, integrated database	样品处理过程较繁琐,难挥发或者半挥发性物质需要衍生化 Non-volatile and semi-volatile organics need to be derived
	液相色谱-质谱 HPLC-MS	灵敏度、分辨率高;重现性好 High sensitivity and resolution, good reproducibility	数据库不健全,可鉴定化合物有限 The databases are not enough to identify all lipid metabolites
光谱分析法 Spectroscopy- Based Analysis	核磁共振 NMR	耗时短,样品需要量少且对其无损伤 Quickly, Nondestructive	灵敏度低,很难将复杂的混合物区分开 Low sensitivity, hard to discriminate complex mixtures
	拉曼光谱 Raman Spectroscopy	对样品无损伤,可从单细胞层面实时分析 Nondestructive, single-cell level	光谱数据的分析对专业知识需求高,代谢物鉴定较难 Expert ability needed and hard to identify lipid metabolites

Note: ESI-MS, Electrospray Ionization - Mass Spectrometry; MALDI-MS, Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Mass Spectrometry; MSI, Mass Spectrometry Imaging; TLC-MS, Thin Layer Chromatography - Mass Spectrometry; GC-MS, Gas Chromatography - Mass Spectrometry; HPLC-MS, High-Performance Liquid Chromatography; NMR, Nuclear Magnetic Resonance.

分析(Hierarchical Cluster Analysis, HCA)等。有监督学习方法用于建立类别间的数学模型,使各类样品间达到最大的分离,从而准确找到输入与目标化合物之间的关系。应用于该领域的主要有 PLS-DA (Partial Least Squares-Discriminant Analysis)、OPLS-DA(Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis)、ANN(Artificial Neural Network)等^[32-33]。

脂质组学迅猛发展的同时,逐步建立起了与其相关的数据库。这些数据库能够查询脂质物质名称、分类、物质结构、质谱信息以及试验信息等,其功能也越来越完善。而数据库的建立及完善又进一步地加速了脂质组学自身的发展。其中最大的数据库 LIPID Maps,是2003年由美国国立综合医学研究机构(National Institute of General Medical Sciences, NIGMS)组织构建,是“脂质代谢和代谢途径研究策略(LIPID MAPS)”项目的研究成果。LIPIDMaps中除了游离脂肪酸、胆固醇、甘油三酯、磷脂等8000余种单一脂质的结构信息外,还包括了81个大类、276个亚类脂质化合物的结构信息^[34]。除此之外,不少国家和科研团队也建立了自己的数据库^[35-36]。

代谢组学的分析软件及数据库也可用于脂质的定性和定量分析,利用KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)网络数据将脂质代谢组数据进行代谢网络的可视化,可分析脂肪酸的合成和降解、胆固醇和磷脂的代谢途径等^[37-38]。重要的脂质组学数据库如表2所示。

2 脂质组学的应用 (Application of lipidomics in environmental research)

脂质组学是用于研究生命科学的有效工具,随着研究的不断深入发展,其广泛应用于各个领域,如,医学领域中的疾病诊断和新药研发、环境领域中的污染物暴露研究和毒性评价、食品安全领域中的真伪鉴别,等等。本论文着重讨论脂质组学在环境领域的应用。

2.1 脂质组学在环境领域中的应用

脂质组学是一门研究生物体内源性脂质代谢物的整体及其随内部因素或外部因素变化的科学。脂质组学凭借其定位于终端代谢物的优势,探究外源刺激对生物体的精细影响,筛选出的生物标志物可

表2 脂质组学研究中的主要数据库
Table 2 Main databases in lipidomics research

数据库名称 Database names	简介 Profile
LIPID Maps (http://www.lipimaps.org)	最大的脂质数据库,包括10000多种脂质的质谱信息、分类及实验设计 The largest lipid database which includes over 10 000 kinds of lipid mass spectra information, classification and even related experimental design information
Lipid Bank (http://lipidbank.jp)	包含动物和植物的脂质信息 Cover lipids from animals to plant
LIPIDAT (http://www.caffreylab.ul.ie)	脂质的热力学、相位图和分子结构信息 Including the information of thermodynamic, phase diagram and molecular structure
Cyber Lipids (http://www.cyberlipid.org)	脂质相关链接及信息数据库 A database about the information and links related to lipids
Sphingo Map (http://sphingolab.biology.gatech.edu)	神经鞘磷脂生物合成途径 Pathway map of Sphingomyelin biosynthesis
Lipid Library (http://www.lipidlibrary.co.nk)	包含脂质的化学和生物信息及相关分析 Composed of information about lipid chemistry, biology and analysis
The Human Metabolome Database HMDB (http://www.hmdb.ca)	最大的代谢组学数据库,包含人类代谢物相关的光谱、定性、定量及生理信息 The largest metabolomics database, including spectroscopic, quantitative, analytic and physiological information about human metabolites
KEGG (http://www.genome.jp/kegg)	脂肪酸的合成和降解、胆固醇和磷脂的代谢途径等 The biosynthesis and degradation of fatty acids, sterol metabolism, and phospholipids pathways
GOLD (http://gold.uni-graz.at/index.html)	与脂质紊乱相关的基因 Including genes associated with lipid imbalance

以揭示外源刺激的早期干扰,相关代谢通路分析可以为探索外源干扰的作用机制提供有力信息。因此,脂质组学在环境领域中的应用越来越普遍,可概括为2个方面:1)环境胁迫耐受性的评价;2)污染物暴露研究及其毒性评价。

2.1.1 脂质组学在环境胁迫耐受性中的应用

环境胁迫条件如盐度、温度、pH、营养盐等因素均会引起机体的应激反应,目前研究者们以不同植物(微藻、拟南芥等)和动物(老鼠、鱼、人等)为模式生物展开了一系列脂质组学研究。发现脂质组学方法可以实时监测外界环境变化所引起的生物体内脂质组成及代谢的变化情况。2012年Lu等^[39]第一次将脂质组学用于研究NaCl胁迫条件下微藻的生理响应机制,其通过GC-MS分析技术并结合多元统计方法分析NaCl胁迫条件下雪衣藻(*Chlamydomonas nivalis*)的脂肪酸组分变化及脂肪酸生物标志物鉴定,发现6种脂肪酸生物标志物(C16:0、C16:3、C18:0、C18:1、C18:2和C18:3),它们有助于减缓细胞膜流动性和渗透性进而增强雪衣藻对高盐度的耐受性。Lu等^[40]随后利用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC/QTOF-MS)技术结合多元统计方法进一步分析NaCl胁迫条件下雪衣藻的脂质组分变化及鉴定脂质生物标志物,筛选出7个大类35种极性脂质作为相应NaCl胁迫的脂质生物标志物。其结果是对GC-MS分析脂肪酸结果的补充,进一步解释和阐述雪衣藻适应NaCl胁迫条件的脂质代谢分子调节机制。Vítová等^[41]基于亲水作用液相色谱-电喷雾质谱(HILIC-LC/ESI-MS)技术探讨不同pH(pH=1、2、3、4)培养条件下红藻(*Galdieria sulphuraria*)的脂质组学研究,发现极性脂中同分异构体的比例增加,随着pH增大磷脂(PG、PC、PE、PI、PS、PA)和糖脂(MGDG、DGDG、SQDG)含量增加而甜菜碱脂含量(DGTA、DGTS)减少。温度对于植物的生长至关重要,过低或过高都会影响其生长,造成叶片的损伤。将拟南芥于4℃条件下暴露14d后,Degenkolbe等^[42]利用超高效液相色谱-质谱/傅里叶变换质谱(UPLC-MS/FT-MS)技术分析了其叶片脂质组分的变化,发现低温刺激下会造成其叶片脂质积累,但发生变化的大多数是长链不饱和三酰甘油酯,而总脂数目几乎不变。Higashi等^[43]基于LC-MS的脂质组学的方法研究了短期高温暴露对拟南芥叶膜的影响,发现高温引起叶膜中多元不饱和脂肪酸减少,三酰甘油增加而这类化合物正是脂质代谢的中间产物。

Marcher等^[44]采用基于质谱的脂质组学方法研究了小鼠响应寒冷条件下褐色脂肪组织中甘油通路的变化,发现三酰甘油酯中中链和奇数酰基类脂质增加,甘油磷脂的种类变化较大。Hu等^[45]基于超快速液相色谱-质谱(UFLC-MS)技术的脂质组学分析运动前后小鼠肝脏和肌肉中脂质成分的变化,结果表明耐力运动后肝脏中游离脂肪酸会增加,而快速运动后三酰甘油酯增加;经运动后肌肉中三酰甘油酯减少,可能是由于运动导致脂肪酸氧化引起。Yan等^[46]第一次将脂质组学应用于研究鱼类对复杂环境的生理响应,利用UPLC/QTOF-MS技术发现经热带风暴后网箱养殖中的大黄鱼和石斑鱼发生了不一样的生理响应,恢复期大黄鱼的生化指标变化明显。进一步的脂质生物标志物鉴定发现高不饱和脂肪酸和溶血磷脂增加而饱和脂肪酸及缩醛磷脂减少,表明恢复的过程中需要消耗较多的能量且会持续有严重的炎症。Gorrochategui等^[47]采用非靶向脂质代谢组学结合化学计量学研究人体胎盘细胞对外源有害物质的响应,生物标志物的鉴定阐明了细胞对外界刺激的应答。

2.1.2 脂质组学在污染物暴露研究及其毒性评价中的应用

生物体内脂质化合物的变化可视为机体对外界环境因素影响的响应,由于脂质代谢物的变化可以灵敏地指示和阐明外来干扰在组织和器官水平的毒性效应、以及毒性作用的靶点^[48],因此借助脂质组学技术评估环境污染物暴露所引起的毒性效应,并根据脂质生物标志物推断其毒性作用的分子机制具有快速、灵敏度高、选择性强等优点,且对于低剂量或环境剂量污染物的毒性效应评估也具有很强的优势。

脂质组学对于环境污染物的毒性评价,较早的时候是从无机金属元素开始,对于常见的几种有害重金属如Pb、Hg、Cr、Cd、As等均有研究。重金属对于有机体的毒性主要是通过改变细胞膜的渗透性进而改变细胞膜的功能^[49]。就细胞层面而言,重金属会引起细胞膜过氧化,研究发现:Cu、Cr、Ni及Zn会引起小球藻(*Chlorella vulgaris*)^[50]脂质过氧化;Cr³⁺导致水稻幼苗根细胞脂质过氧化^[51];Hassan等^[52]最近的一篇研究提及重金属不仅会引起玉米的脂质过氧化,还会影响其正常生长。就分子层面而言,重金属会干扰有机体内脂质化合物的合成。早在1987年,Cloez等^[53]首次利用脂质组学从分子层面研究了Pb和Hg对小鼠大脑周围神经系统的毒性效应:Hg会

引起总脂含量减少,抑制胆固醇的合成,但游离脂肪酸的含量会有所增加;而Pb对小鼠大脑周围神经系统的影响相对较小。Calvano等^[54]首次结合TLC和MALDI/MS技术分析重金属离子 Co^{2+} 及 CrO_4^{2-} 胁迫条件下红细菌脂质变化情况,研究发现2种重金属离子胁迫条件下红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*)的脂质组分均变化巨大, Co^{2+} 引起磷脂酰甘油(phosphatidylglycerols, PGs)减少、心磷脂(cardiolipins, CLs)和硫代异鼠李糖甘油二酯(sulfoquinovosyldiacylglycerols, SQDGs)增加,而 CrO_4^{2-} 引起PGs和SQDGs减少、CLs不变。李国琛等^[55]采用脂质组学的方法研究Cd对鲫鱼的生化影响,基于高效液相色谱结合基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(HPLC/MALDI-TOF-MS)技术发现暴露10 d后鲫鱼肌肉组织中卵磷脂(phosphatidylcholine, PC)含量显著降低;而暴露20 d组与对照组无差异,说明PC可以作为鲫鱼对Cd毒性响应的生物标志物。Marques等^[56]选用非靶向脂质组学的方法,利用UPLC/QTOF-MS技术分析 As^{3+} 对浮丝藻(*Planktothrix agardhii*)和项圈藻(*Anabaena*)的影响,结果发现高浓度 As^{3+} 暴露7 d后,2种蓝藻的脂质组成发生明显变化,受影响较大的有蓝藻类囊体膜的糖脂化合物单半乳糖甘油二酯(monogalactosyldiglyceride, MGDG)以及光合作用相关的叶绿素、胡萝卜素,揭示了环境中的 As^{3+} 会严重影响蓝藻的光合作用过程。

近年来,也有报道将脂质组学技术应用于有机化合物的毒性效应研究。持久性有机污染物(POPs)具有亚慢性毒性,采用脂质代谢组学对其毒性效应进行评估能够进一步认识其毒性作用机制。Kania-Korwel等^[57]用脂质组学方法研究了小鼠对多氯联苯(PCB 126)暴露的响应,发现小鼠肝脏中极性脂及甘油三酯(TAG)的含量与PCB的暴露量存在明显的剂量效应关系,其含量随着暴露浓度增加;同时他们还鉴定出了13个大类362种极性脂和15个大类607种TAG发生明显改变。Nault等^[58]基于非靶向脂质组学的研究方法探讨2,3,7,8-TCDD暴露对不同性别小鼠肝脏脂质代谢的影响,发现雌性小鼠和雌性小鼠肝脏样品中检出的脂质种类相当,但脂质含量存在差异,肝脏中游离脂肪酸累积由暴露前总脂的46%~48%增至68%~83%,且雌性小鼠胆固醇类脂质增加了11.3倍。Lai等^[59]利用基于LC-MS/MS技术的靶向脂质组学分析全氟化合物(PFOS)暴露对孕期小鼠及其子代的影响,发现子一

代睾丸中二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)、二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)及二十碳四烯酸(adrenic acid, AdA)减少,说明PFOS暴露会造成子代小鼠生殖功能障碍;经基因富集分析(DAVID)揭示了PFOS影响脂肪酸的合成和代谢机制(氧化还原、脂肪酸 β 氧化、辅酶A的生物合成机制等)。Jungnickel等^[60]应用脂质组学研究低剂量多环芳烃类苯并[a]芘(BaP)和重金属Cd及其联合暴露对乳腺癌细胞MCF-7的影响,发现18种脂质代谢生物标志物足以建立多元统计学模型区分BaP处理组和联合暴露组或对照组,并引入毒性通路彩色代码模型使结果可视化。Zhong等^[61]用滴滴涕(DDT)暴露成年斑马鱼60 d,利用GC-MS和稳定同位素技术研究斑马鱼肝脏组织中脂肪酸响应DDT的变化,发现多元不饱和脂肪酸(C20:3n3、C20:4n6、C22:6n3)减少,饱和长链脂肪酸(C16:0、C18:0)及单不饱和长链脂肪酸(C18:1n9)增加;且小鼠肝脏中脂肪酸组成的变化与组织病理学中发现的肝脏形态变化的结果一致。进一步分析发现,经DDT暴露后小鼠肝脏受损与肝脏中脂肪的合成及去饱和、线粒体的 β 氧化等密切相关。除POPs外,研究者们还将脂质组学应用于环境中常见的有机污染物毒性评价及风险评估。双酚S(BPS)与双酚A(BPA)结构类似,工业上常用BPS替代BPA,但关于BPS的毒性研究较少。Zhao等^[62]采用基于质谱的非靶向脂质组学方法研究环境浓度BPS暴露对巨噬细胞的毒性作用机制,研究发现鞘磷脂-神经酰胺信号通路、甘油磷脂和甘油糖脂生物合成和降解受到严重影响。Huang等^[63]采用脂质组学的方法研究4种环境浓度的个人护理品(醋氨酚、苯海拉明、卡马西平及氟西汀)对斑马鱼的毒性效应,以期深入了解外源化合物对斑马鱼的影响以及斑马鱼响应干扰的分子生物学机制。研究发现4种化合物引起14条通路发生显著性变化,主要有氨基酸的代谢及生物合成、生物胺的代谢、脂肪酸和甘油磷脂的代谢。

2.2 多组学联用

细胞或者组织层面的表型变化是多种分子相互作用的结果,而分子间的内在联系又决定了信号通路和一些复杂的性状,包括介导着生物体适应环境的可塑性及表型确定^[64]。挖掘分子间的关联及深入理解表型确定的潜在机制,需要对这些过程所涉及的生物分子进行全面且有代表性的分析^[65]。为了揭示生物过程间的复杂关系,相继开展了基因组学、转

组学、蛋白质组学、代谢组学等研究,然而单一的组学研究针对的是单一类型的分子,无法准确解释分子间复杂的关系,多组学联用技术应运而生。多组学是大规模研究生物体内基因(基因组学和表型基因组学)、转录(转录组学)、蛋白质(蛋白组学)、代谢产物(代谢组学)、脂质(脂质组学)等受外界刺激引起的变化,通过对目标物进行定性定量分析,鉴定生物标志物并研究其功能及各种分子之间的相互关系,进而阐明发生反应的信号通路及代谢网络^[66]。国内代谢组学研究的专家许国旺研究员曾对各组学的作用进行了如下总结:基因组学反映什么是可以发生的,转录组学反映什么是可能要发生的,蛋白组学反映什么是赖以发生的,而代谢组学则反映什么是已经发生^[67]。多组学结合对于阐明生命的奥秘具有重要意义。多组学作为一个较新的研究方向,在过去的数十年迅猛发展,尤其在生物科学及生物医学领域获得了广泛应用^[68]。在环境领域,应用多组学技术可以深入了解外源刺激下生物体在生物化学及生理层面的变化,全面地揭示生物体对于外源干扰的响应机制。毒理学研究中多组学技术可用于鉴定一系列负反应的生物标志物,进而参考已建立的有害结局通路(AOPs)鉴定化合物的潜在毒性作用机制(MoAs)^[69]。

Lu等^[70]采用基于尼罗红染色的细胞组学(流式细胞仪及激光共聚焦扫描显微镜)和基于UPLC/QTOF-MS技术的脂质组学结合的方法研究了NaCl胁迫条件下雪衣藻(*Chlamydomonas nivalis*)的响应。研究发现:NaCl暴露7h时总脂、中性脂及极性脂含量达到最大值,同时鉴定出了NaCl胁迫下与细胞膜稳定性、信号传导及光合作用速率相关的7个大类22种脂质生物标志物。Mandelli等^[71]为了探究极端微生物丝状栖热菌(*Thermus filiformis*)对高温环境的响应机制,通过转录组学、蛋白质组学及代谢组学多组学结合鉴定发生变化的主要基因/蛋白质/代谢产物以期研究其耐热机制。研究发现:高温引起氧化胁迫且抑制糖酵解及三羧酸循环相关的基因表达,葡萄糖的代谢主要通过磷酸戊糖途径而不是糖酵解途径,蛋白质的分解、氧化应激反应及氨酰tRNA合成酶的复制等过程均与丝状栖热菌的耐热机制有关。

多组学技术还可以应用于研究重金属、有机污染物等潜在污染物对生物体的毒性作用机制以及风险评估。Santos等^[72]采用转录组学和脂质组学联合

的方法研究环境浓度Cu($3.2 \sim 128 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)暴露对三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)的毒性影响机制,转录组学分析发现Cu会引起活性氧的产生及氧化磷酸化而对三刺鱼产生毒性影响且参与调控胆固醇的生物合成相关酶的基因下调,脂质代谢组学分析发现脂质代谢产物的变化及相关通路的改变与转录组学的结果匹配。同年,Williams等^[73]采用转录组学和脂质组学联合的方法探讨环境浓度的多环芳烃类(二苯蒽,DbA)对三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)的影响机制,从分子调控和生物功能层面揭示了DbA对三刺鱼的干扰,DbA诱导细胞色素P450酶相关基因的表达,且影响胆汁酸的生物合成、类固醇化合物代谢及内分泌功能。随后,Zhang等^[74]利用这2种组学联合评估污水处理厂废水及源自工业园区的混合化学废水对小鼠的毒性影响,为化学工业园区的环境健康风险评估筛选合适的生物标志物。自1970s以来阻燃剂在人们的日常生活中稳步增加,传统阻燃剂对于生物体的毒性影响已有很多研究,而新型阻燃剂的毒性研究相对较少。Scanlan等^[75]于2015年采用基因转录组学、基于NMR技术的代谢组学和脂质组学多组学结合方法研究了7种新型阻燃剂对大型蚤的毒性机制,结果发现1/10 LC₅₀剂量暴露水平下:五溴联苯醚(pentaPBDE)会影响转录和翻译、八溴联苯醚(octaBDE)和四溴邻苯二甲酸双(2-乙基己基)酯(BEH-TEBP)会影响鞘磷脂合成机制、BZ54干扰Wnt和Hedgehog信号通路及糖胺聚糖降解,而溴化的FM550系列化合物显著改变mRNA且影响大型蚤营养物质的摄取和利用。

3 展望 (Prospect)

作为一门新兴的学科,脂质组学依赖于高通量、高分辨率的分析技术与完整的生物信息学系统相结合,在环境领域的研究取得了一定进展。但到目前为止脂质组学的研究仍存在很多挑战:

1) 目前仍没有样品(尤其是极性高、难挥发、热不稳定及易分解)制备的统一标准,没有样品分析的统一技术^[76-77]。任何一种分析技术都不能同时对脂质组中的所有化合物进行分析,只能通过选择性结合各类分析技术。而仪器设备范围和分析误差的存在又给脂质组学分析增加了挑战。

2) 与其他组学类似,脂质代谢物鉴定仍是脂质组学的一个关键问题。尽管前面提及近年来已经建立和开发了大量数据库,但是这些数据库几乎都没有全面覆盖所有的脂质组。同时,准确定量生物体

内的各种脂质化合物仍然存在争议^[78]。

3) 鉴定出脂质生物标志物后,如何解释所观察到的变化对生物体的生物学意义具有一定的挑战。生物信息学技术是分析脂质组学数据的有效工具^[79],脂质代谢途径及网络研究所涉及的数据整合、代谢途径及网络的绘制均需依赖其完成。而生物信息学技术目前仍处于初步阶段,需要进一步的发展和完善^[7]。

4) 脂质组学与其他组学结合的多组学技术是一种强有力的工具,其高通量筛选特征为研究外界干扰对生物体的刺激提供新的视角,成为毒理学发展的新趋势。然而欧洲化学品生态毒理学和毒理学中心(European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, ECETOC)指出多组学应用于有毒有害化学品的监管评估仍不能满足诸如 REACH 法规的基本要求,缺乏标准化的方法^[80-81]。多组学技术应用于有毒有害化合物的风险评估仍存在一些挑战,亟需科研工作者共同努力使其更好地为环境领域研究服务。

通讯作者简介:应光国(1964-),男,博士,研究员,博士生导师,主要研究方向为污染物化学和生态毒理学。

参考文献 (References):

- [1] 蔡教英, 欧阳克蕙, 上官新晨, 等. 脂质代谢组学的研究进展[J]. 动物营养学报, 2011, 23(11): 1870-1876
Cai J Y, Ouyang K H, Shanguan X C, et al. Recent advances in lipidomics [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2011, 23(11): 1870-1876 (in Chinese)
- [2] Han X, Gross R W. Global analyses of cellular lipidomics directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry: A bridge to lipidomics [J]. Journal of Lipid Research, 2003, 44(6): 1071-1079
- [3] Wenk M R. The emerging field of lipidomics [J]. Nature-Reviews Drug Discovery, 2005, 4(7): 594-610
- [4] Fahy E, Subramaniam S, Brown H A, et al. A comprehensive classification system for lipids [J]. Journal of Lipid Research, 2005, 46(5): 839-862
- [5] Watson A D. Thematic review series: Systems biology approaches to metabolic and cardiovascular disorders. Lipidomics: A global approach to lipid analysis in biological systems [J]. Journal of Lipid Research, 2006, 47(10): 2101-2111
- [6] Guschina I A, Harwood J L. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae [J]. Progress in Lipid Research, 2006, 45(2): 160-186
- [7] 蔡潭溪, 刘平生, 杨福全, 等. 脂质组学研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2010, 37(2): 121-128
Cai T X, Liu P S, Yang F Q, et al. The research advances in the field of lipidomics [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2010, 37(2): 121-128 (in Chinese)
- [8] Han X. Lipidomics for studying metabolism [J]. Nature Reviews Endocrinology, 2016, 12(11): 668-679
- [9] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509
- [10] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 1959, 37(8): 911-917
- [11] Hara A, Radin N S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent [J]. Analytical Biochemistry, 1978, 90(1): 420-426
- [12] Löfgren L, Ståhlman M, Forsberg G B, et al. The BUMEx method: A novel automated chloroform-free 96-well total lipid extraction method for blood plasma [J]. Journal of Lipid Research, 2012, 53(8): 1690-1700
- [13] Chen S, Hoene M, Li J, et al. Simultaneous extraction of metabolome and lipidome with methyl tert-butyl ether from a single small tissue sample for ultra-high performance liquid chromatography/mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1298: 9-16
- [14] Gregory K E, Bird S S, Gross V S, et al. Method development for fecal lipidomics profiling [J]. Analytical Chemistry, 2012, 85(2): 1114-1123
- [15] Hauff S, Vetter W. Quantification of fatty acids as methyl esters and phospholipids in cheese samples after separation of triacylglycerides and phospholipids [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 636(2): 229-235
- [16] Li M, Yang L, Bai Y, et al. Analytical methods in lipidomics and their applications [J]. Analytical Chemistry, 2013, 86(1): 161-175
- [17] Orozco-Solano M, Ruiz-Jiménez J, De Castro M D L. Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(8): 1227-1235
- [18] Bogusz S, Hantao L W, Braga S C G N, et al. Solid-phase microextraction combined with comprehensive two-dimensional gas chromatography for fatty acid profiling of cell wall phospholipids [J]. Journal of Separation Science, 2012, 35(18): 2438-2444
- [19] Herrero M, Vicente M J, Cifuentes A, et al. Characteriza-

- tion by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry of the lipid fraction of *Spirulina platensis* pressurized ethanol extract [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, 21(11): 1729-1738
- [20] Dong W, Shen Q, Baibado J T, et al. Phospholipid analyses by MALDI-TOF/TOF mass spectrometry using 1,5-diaminonaphthalene as matrix [J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2013, 343: 15-22
- [21] Goto-Inoue N, Hayasaka T, Zaima N, et al. Imaging mass spectrometry for lipidomics [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2011, 1811(11): 961-969
- [22] Fuchs B. Analysis of phospholipids and glycolipids by thin-layer chromatography-matrix-assisted laser desorption and ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1259: 62-73
- [23] Quehenberger O, Armando A M, Dennis E A. High sensitivity quantitative lipidomics analysis of fatty acids in biological samples by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2011, 1811(11): 648-656
- [24] McDonald J G, Smith D D, Stiles A R, et al. A comprehensive method for extraction and quantitative analysis of sterols and secosteroids from human plasma [J]. *Journal of Lipid Research*, 2012, 53(7): 1399-1409
- [25] Bamba T, Lee J W, Matsubara A, et al. Metabolic profiling of lipids by supercritical fluid chromatography/mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1250: 212-219
- [26] Wang K, Jiang D, Sims C E, et al. Separation of fluorescently labeled phosphoinositides and sphingolipids by capillary electrophoresis [J]. *Journal of Chromatography B*, 2012, 907: 79-86
- [27] Fernando H, Bhopale K K, Kondraganti S, et al. Lipidomic changes in rat liver after long-term exposure to ethanol [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2011, 255(2): 127-137
- [28] Wu H, Volponi J V, Oliver A E, et al. *In vivo* lipidomics using single-cell Raman spectroscopy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(9): 3809-3814
- [29] Shulaev V. Metabolomics technology and bioinformatics [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2006, 7(2): 128-139
- [30] Roessner U, Wagner C, Kopka J, et al. Simultaneous analysis of metabolites in potato tuber by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *The Plant Journal*, 2000, 23(1): 131-142
- [31] Goodacre R, Vaidyanathan S, Dunn W B, et al. Metabolomics by numbers: Acquiring and understanding global metabolite data [J]. *Trends in Biotechnology*, 2004, 22(5): 245-252
- [32] Wang Q, Wu C, 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
- [33] Niemelä P S, Castillo S, Sysi-Aho M, et al. Bioinformatics and computational methods for lipidomics [J]. *Journal of Chromatography B*, 2009, 877(26): 2855-2862
- [34] Sud M, Fahy E, Cotter D, et al. Lmsd: Lipid maps structure database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 35(suppl_1): D527-D532
- [35] Watanabe K, Yasugi E, Oshima M. How to search the glycolipid data in "LIPIDBANK for Web", the newly developed lipid database in Japan [J]. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 2000, 12(65): 175-184
- [36] Caffrey M, Hogan J. LIPIDAT: A database of lipid phase transition temperatures and enthalpy changes. DMPC data subset analysis [J]. *Chemistry and Physics of Lipids*, 1992, 61(1): 1-109
- [37] Wishart D S, Jewison T, Guo A C, et al. HMDB 3.0-the human metabolome database in 2013 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 41(D1): D801-D807
- [38] Kanehisa M, Araki M, Goto S, et al. KEGG for linking genomes to life and the environment [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 36(suppl_1): D480-D484
- [39] Lu N, Wei D, Jiang X L, et al. Fatty acids profiling and biomarker identification in snow alga *Chlamydomonas nivalis* by NaCl stress using GC/MS and multivariate statistical analysis [J]. *Analytical Letters*, 2012, 45(10): 1172-1183
- [40] Lu N, Wei D, Chen F, et al. Lipidomic profiling and discovery of lipid biomarkers in snow alga *Chlamydomonas nivalis* under salt stress [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2012, 114(3): 253-265
- [41] Vítová M, Goecke F, Sigler K, et al. Lipidomic analysis of the extremophilic red alga *Galdieria sulphuraria* in response to changes in pH [J]. *Algal Research*, 2016, 13: 218-226
- [42] Degenkolbe T, Giavalisco P, Zuther E, et al. Differential remodeling of the lipidome during cold acclimation in natural accessions of *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2012, 72(6): 972-982
- [43] Higashi Y, Okazaki Y, Myouga F, et al. Landscape of the lipidome and transcriptome under heat stress in *Arabidop-*

- sis thaliana* [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 10533
- [44] Marcher A B, Loft A, Nielsen R, et al. RNA-seq and mass-spectrometry-based lipidomics reveal extensive changes of glycerolipid pathways in brown adipose tissue in response to cold [J]. Cell Reports, 2015, 13(9): 2000-2013
- [45] Hu C, Hoene M, Zhao X, et al. Lipidomics analysis reveals efficient storage of hepatic triacylglycerides enriched in unsaturated fatty acids after one bout of exercise in mice [J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13318
- [46] Yan X, Xu J, Chen J, et al. Lipidomics focusing on serum polar lipids reveals species dependent stress resistance of fish under tropical storm [J]. Metabolomics, 2012, 8(2): 299-309
- [47] Gorrochategui E, Casas J, Porte C, et al. Chemometric strategy for untargeted lipidomics: Biomarker detection and identification in stressed human placental cells [J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 854: 20-33
- [48] Bus J S, Aust S D, Gibson J E. Lipid peroxidation: A possible mechanism for paraquat toxicity [J]. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology, 1975, 11(1): 31-38
- [49] Słaba M, Bernat P, Różalska S, et al. Comparative study of metal induced phospholipid modifications in the heavy metal tolerant filamentous fungus *Paecilomyces marquandii* and implications for the fungal membrane integrity [J]. Acta Biochimica Polonica, 2013, 60(4): 695-700
- [50] Mehta S K, Gaur J P. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris* [J]. The New Phytologist, 1999, 143(2): 253-259
- [51] Yu X Z, Lin Y J, Fan W J, et al. The role of exogenous proline in amelioration of lipid peroxidation in rice seedlings exposed to Cr (VI) [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 123: 106-112
- [52] ul Hassan Z, Ali S, Ahmad R, et al. Biochemical and molecular responses of oilseed crops to heavy metal stress [M]// Parvaiz Ahmad. Oilseed Crops: Yield and Adaptations Under Environmental Stress. John Wiley & Sons Ltd., 2017: 236
- [53] Cloez I, Dumont O, Piciotti M, et al. Alterations of lipid synthesis in the normal and dysmyelinating trembler mouse sciatic nerve by heavy metals (Hg, Pb, Mn, Cu, Ni) [J]. Toxicology, 1987, 46(1): 65-71
- [54] Calvano C D, Italiano F, Catucci L, et al. The lipidome of the photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* R26 is affected by cobalt and chromate ions stress [J]. Biometals, 2014, 27(1): 65-73
- [55] 李国琛, 王颜红, 吴仁安, 等. 基于 MALDI-TOF-MS 的脂质组学研究——鲫鱼受镉暴露的潜在生物标志物 [J]. 高等学校化学学报, 2010, 31(2): 269-273
- Li G C, Wang Y H, Wu R A, et al. MALDI-TOF-MS for lipidomics analysis-potential biomarker for cadmium effect on crucian carp (*Carassius auratus*) [J]. Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese, 2010, 31 (2): 269-273 (in Chinese)
- [56] Marques A S, Bedia C, Lima K M G, et al. Assessment of the effects of As (III) treatment on Cyanobacteria lipidomic profiles by LC-MS and MCR-ALS [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, 408(21): 5829-5841
- [57] Kania-Korwel I, Wu X, Wang K, et al. Identification of lipidomic markers of chronic 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) exposure in the male rat liver [J]. Toxicology, 2017, 390: 124-134
- [58] Nault R, Fader K A, Lydic T A, et al. Lipidomic evaluation of aryl hydrocarbon receptor-mediated hepatic steatosis in male and female mice elicited by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin [J]. Chemical Research in Toxicology, 2017, 30(4): 1060-1075
- [59] Lai K P, Lee J C Y, Wan H T, et al. Effects of inutero PFOS exposure on transcriptome, lipidome, and function of mouse testis [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(15): 8782-8794
- [60] Jungnickel H, Potratz S, Baumann S, et al. Identification of lipidomic biomarkers for coexposure to subtoxic doses of benzo [a] pyrene and cadmium: The toxicological cascade biomarker approach [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(17): 10423-10431
- [61] Zhong H, Dong L, Dong Q, et al. Quantitative analysis of aberrant fatty acid composition of zebrafish hepatic lipids induced by organochlorine pesticide using stable isotope-coded transmethylation and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 404(1): 207-216
- [62] Zhao C, Tang Z, Yan J, et al. Bisphenol S exposure modulate macrophage phenotype as defined by cytokines profiling, global metabolomics and lipidomics analysis [J]. Science of the Total Environment, 2017, 592: 357-365
- [63] Huang S S Y, Benskin J P, Veldhoen N, et al. A multi-omic approach to elucidate low-dose effects of xenobiotics in zebrafish (*Danio rerio*) larvae [J]. Aquatic Toxicology, 2017, 182: 102-112
- [64] Folmes C D L, Dzeja P P, Nelson T J, et al. Metabolic plasticity in stem cell homeostasis and differentiation [J]. Cell Stem Cell, 2012, 11(5): 596-606
- [65] Yao Q, Xu Y, Yang H, et al. Global prioritization of dis-

- ease candidate metabolites based on a multi-omics composite network [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 17201
- [66] Hood L, Heath J R, Phelps M E, et al. Systems biology and new technologies enable predictive and preventative medicine [J]. *Science*, 2004, 306(5696): 640-643
- [67] 许国旺. 代谢组学——方法与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 333
- Xu G W. Metabonomics-Methods and Application [M]. Beijing: Science Press, 2008: 333 (in Chinese)
- [68] Jammers A, Blust R, De Coen W. Omics in algae: Paving the way for a systems biological understanding of algal stress phenomena? [J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 92(3): 114-121
- [69] Sauer U G, Deferme L, Gribaldo L, et al. The challenge of the application of omics technologies in chemicals risk assessment: Background and outlook [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2017, 91: S14-S26
- [70] Lu N, Wei D, Jiang X L, et al. Regulation of lipid metabolism in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* in response to NaCl stress: An integrated analysis by cytomic and lipidomic approaches [J]. *Process Biochemistry*, 2012, 47(7): 1163-1170
- [71] Mandelli F, Couger M B, Paixão D A A, et al. Thermal adaptation strategies of the extremophile bacterium *Thermus filiformis* based on multi-omics analysis [J]. *Extremophiles*, 2017, 21(24): 1-14
- [72] Santos E M, Ball J S, Williams T D, et al. Identifying health impacts of exposure to copper using transcriptomics and metabolomics in a fish model [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 44(2): 820-826
- [73] Williams T D, Wu H, Santos E M, et al. Hepatic transcriptomic and metabolomic responses in the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) exposed to environmentally relevant concentrations of dibenzanthracene [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(16): 6341-6348
- [74] Zhang Y, Deng Y, Zhao Y, et al. Using combined bio-omics methods to evaluate the complicated toxic effects of mixed chemical wastewater and its treated effluent [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 272: 52-58
- [75] Scanlan L D, Loguinov A V, Teng Q, et al. Gene transcription, metabolite and lipid profiling in eco-indicator *Daphnia magna* indicate diverse mechanisms of toxicity by legacy and emerging flame-retardants [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(12): 7400-7410
- [76] Han X, Holtzman D M, McKeel D W. Plasmalogen deficiency in early Alzheimer' s disease subjects and in animal models: Molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2001, 77(4): 1168-1180
- [77] Han X. Multi-dimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics and the altered lipids at the mild cognitive impairment stage of Alzheimer' s disease [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2010, 1801(8): 774-783
- [78] Wang M, Wang C, Han X. Selection of internal standards for accurate quantification of complex lipid species in biological extracts by electrospray ionization mass spectrometry-What, how and why? [J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2017, 36(6): 693-714
- [79] Han R H, Wang M, Fang X, et al. Simulation of triacylglycerol ion profiles: Bioinformatics for interpretation of triacylglycerol biosynthesis [J]. *Journal of Lipid Research*, 2013, 54(4): 1023-1032
- [80] Sauer U G, Deferme L, Gribaldo L, et al. The challenge of the application of omics technologies in chemicals risk assessment: Background and outlook [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2017, 91: S14-S26
- [81] Buesen R, Chorley B N, da Silva Lima B, et al. Applying omics technologies in chemicals risk assessment: Report of an ECETOC workshop [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2017, 91: S3-S13 ◆