

【生命与健康 / Life and Health】

莱茵衣藻对 MeJA 处理的初期响应模式分析

贾彬, 兰成湘, 李翔宇

深圳大学生命与海洋科学学院, 深圳市海洋生物资源与生态环境科学重点实验室,
广东省海洋藻类生物工程技术研究中心, 广东深圳 518071

摘要: 茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)是植物次生代谢的调节剂, 参与异戊二烯代谢调控, 对莱茵衣藻的异戊二烯类物质合成有重要影响. 为探究莱茵衣藻如何快速响应 MeJA 处理, 测定 MeJA 处理下莱茵衣藻的生长状态和光合效率等生理特征参数, 重点关注 MeJA 处理 24 h 内 2-C-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸(2-C-methynatureyl-D-rythritol-4-phosphate, MEP)合成途径、类胡萝卜素合成途径和甾醇合成途径关键基因的表达水平变化. 结果表明, MeJA 处理降低了莱茵衣藻的生物量积累和光合活性, 上调了 MEP 通路和甾醇合成通路相关基因, 下调了类胡萝卜素合成途径的关键基因. 在转录与生理层面, 莱茵衣藻对于 MeJA 处理的初期响应应具有快速与剂量依赖性的特点. 研究结果为探索微藻类异戊二烯合成和代谢机制提供理论参考.

关键词: 代谢工程; 代谢控制; 莱茵衣藻; 茉莉酸甲酯; 类异戊二烯; 2-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸途径; 光合效率分析; 转录分析

中图分类号: Q946

文献标志码: A

doi: 10.3724/SP.J.1249.2022.03237

Analysis of the initial response pattern of *Chlamydomonas reinhardtii* to methyl jasmonate (MeJA) treatment

JIA Bin, LAN Chengxiang, and LI Xiangyu

College of Life Sciences and Oceanography, Shenzhen Key Laboratory of Marine Bioresources and Ecology, Guangdong Technology Research Center for Marine Algal Bioengineering, Shenzhen University, Shenzhen 518071, Guangdong Province, P. R. China

Abstract: As a chemical elicitor of plants, methyl jasmonate (MeJA) is a regulator of many secondary metabolisms in plants, which participates in the regulation of isoprenoid metabolism and has an important impact on the synthesis of isoprenoids in *Chlamydomonas reinhardtii* (*C. reinhardtii*). In order to explore how *C. reinhardtii* responds rapidly to MeJA treatment, the physiological parameters such as growth rate and photosynthetic efficiency of *C. reinhardtii* under MeJA treatment were measured. The changes in the expression levels of key genes in the 2-C-methynatureyl-D-rythritol-4-phosphate (MEP) pathway and in the carotenoid and sterol synthesis pathway within 24 hours of MeJA treatment were focused. The results showed that MeJA treatment dramatically reduced biomass accumulation and photosynthetic activity of *C. reinhardtii*, prominently activated the expression of key genes in MEP pathway and sterol synthesis, inhibited key genes of carotenoid synthesis pathway. The results at the transcriptional and physiological levels suggested that the influence of MeJA on *C. reinhardtii* was rapid and dose-dependent. This study provides a theoretical reference for exploring the mechanism of isoprene synthesis and metabolism in microalgae.

Received: 2022-02-23; **Accepted:** 2022-04-01; **Online (CNKI):** 2022-04-24

Foundation: National Natural Science Foundation of China (31870343); National Key Research and Development Project of China (2018YFA0902500); Basic and Applied Basic Research Foundation of Guangdong Province (2020A1515010352)

Corresponding author: Assistant professor JIA Bin. E-mail: jiabin@szu.edu.cn

Citation: JIA Bin, LAN Chengxiang, LI Xiangyu. Analysis of the initial response pattern of *Chlamydomonas reinhardtii* to methyl jasmonate (MeJA) treatment [J]. Journal of Shenzhen University Science and Engineering, 2022, 39(3): 237-244. (in Chinese)



<http://journal.szu.edu.cn>

Key words: metabolic engineering; metabolic regulate; *Chlamydomonas reinhardtii*; methyl jasmonate; isoprenoids; 2-C-methnatreyl-D-rythritol-4-phosphate (MEP) pathway; photosynthetic efficiency analysis; transcriptional analysis

光合微藻是单细胞真核生物, 由于其生境广泛^[1]、光合效率高^[2]、可适应极端环境^[3], 以及具有回收无机碳、氮的能力, 在生产高价值化合物等方面广受关注. 微藻还是活性类异戊二烯的天然来源, 如虾青素^[4]、 β -胡萝卜素^[5]和岩藻黄质^[6]等. 莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*, *C. reinhardtii*) 是目前分子研究最为深入的模式藻种之一^[7], 在莱茵衣藻中, 代谢工程手段已被用于生产高价值的异源类异戊二烯^[8-11], 但由于内源异戊二烯底物异戊烯焦磷酸 (isopentenyl pyrophosphate, IPP) 与二甲基丙烯焦磷酸 (dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP) 的供应不足导致异源萜产量低. 因此, 如何促进异戊二烯底物供应, 以及研究异戊二烯的胞内合成和积累机制成为莱茵衣藻异戊二烯工程亟待解决的问题.

茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA) 能够激活茉莉酸信号通路, 参与植物从种子萌发、根系生长、幼苗发育、衰老等发育到防御反应的许多生理过程, 被广泛用于植物次生代谢产物调节^[12-14], 如酚类、类异戊二烯 (青蒿素、紫杉醇和人参皂苷等)、黄酮类、生物碱 (长春花碱和尼古丁) 和苯丙烷类等. 研究发现, MeJA 能够通过增强类异戊二烯的合成途径基因表达, 促进产物的积累^[15-17]. MeJA 处理能使莱茵衣藻中类异戊二烯化合物的合成基因表达改变^[15], 导致三萜类化合物前体角鲨烯和 (S)-2,3-环氧角鲨烯的积累^[16], 诱导中央碳代谢和饱和脂肪酸代谢网络改向, 并选择性改变氨基酸、黄酮类和生物碱的生物合成, 虽然相关代谢物产量的变化在 MeJA 处理 1~2 d 后呈现, 但植物体内的分子应答反应却非常迅速^[17]. 植物对内源或者外源激素 (特别是胁迫类激素) 的刺激极为敏感, 甚至在处理后的几分钟内便在分子水平做出迅速的应答反应. 因此, 研究莱茵衣藻在 MeJA 处理后的初期响应是发现其体内核心响应基因的关键. 莱茵衣藻的异戊二烯合成依赖于叶绿体中的 2-C-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸 (2-C-methnatreyl-D-rythritol-4-phosphate, MEP) 合成途径. 本研究以 h 为时间单位, 探索莱茵衣藻在 MeJA 处理初期的响应特点, 重点关注其生长速度、光合效率、MEP 途径关键基因、类胡萝卜素合成途径关键基因和甾醇类物质合成途径关键基因的变化规律, 以期揭示 MeJA 处理

下莱茵衣藻的异戊二烯代谢的响应, 为研究微藻异戊二烯合成和代谢机制提供理论参考.

1 材料方法

1.1 实验材料与培养条件

莱茵衣藻 UVM4 购自美国衣藻资源中心 (<https://www.chlamycollection.org>). 培养条件为: tris-acetate-phosphate (TAP) 培养基, 温度 25 °C, 光照强度 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 16 h/8 h 光暗交替.

1.2 莱茵衣藻生长状态特征的测定

根据文献^[16]报道, 当 MeJA 浓度达到 1.0 mmol/L 时会促进异戊二烯途径关键中间代谢物的积累, 但也会对细胞生长和生理产生负面影响, 因此本研究使用 3 种浓度 (0.5、1.0 和 1.5 mmol/L) 处理莱茵衣藻. 处理后, 以 h 为单位细胞计数反映 MeJA 对莱茵衣藻生长特征的影响. 同时, 在处理 0、24、48 和 72 h 后分别取 20 mL 藻液, 离心收集细胞, 置于烘箱烘干后测定细胞的质量浓度.

1.3 叶绿素荧光参数的测定

使用 Phytopam 测试仪检测莱茵衣藻的叶绿素荧光参数. 取 2 mL 处理后的藻液加入荧光比色杯, 保持黑暗条件 2 min 后进行饱和脉冲光处理, 测量 PSII 光化学还原的最大量子产率. 使用饱和脉冲光处理 120 s 测量实际光合效率.

1.4 叶绿素与总类胡萝卜素的测定

莱茵衣藻胞内色素使用甲醇提取, 并使用酶标仪进行检测. 取 2 mL 经 MeJA 处理后的藻液, 离心后弃上清, 收集藻细胞, 加入 2 mL 甲醇 (体积分数 $\geq 99\%$), 混匀后于 4 °C 放置 24 h, 离心取上清分别测定波长为 470、652 和 665 nm 处的光密度值 $D(470)$ 、 $D(652)$ 和 $D(665)$, 并通过式 (1)~式 (3) 计算藻液中叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 与总类胡萝卜素的质量浓度 ($\rho_{\text{总}}$, 单位: $\mu\text{g}/\text{mL}$).

$$\rho(\text{叶绿素}a) = 16.72 \times D(665) - 9.16 \times D(652) \quad (1)$$

$$\rho(\text{叶绿素}b) = 34.09 \times D(652) - 15.28 \times D(665) \quad (2)$$

$$\rho_{\text{总}} = \frac{100 \times D(470) - \rho(\text{叶绿素}a) \times 1.63 - \rho(\text{叶绿素}b) \times 104.96}{221} \quad (3)$$

1.5 MEP途径与下游次生代谢产物合成途径基因的实时荧光定量聚合酶链式反应检测

使用Trizol法提取总核糖核酸(ribonucleic acid, RNA). 采用超微量分光光度计(Nanodrop 2000, Thermo Fisher Scientific)测定RNA样品的质量浓度和纯度, 每个样品以 $1\text{ }\mu\text{g}$ 的总RNA量使用Evo M-MLV(湖南艾克瑞)反转录试剂盒合成互补脱氧核糖核酸(complementary deoxyribo nucleic acid, cDNA). 将模板cDNA稀释10倍后进行使用SYBR® Green Premix Pro Taq HS实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)试剂盒(湖南艾克瑞), 以U4核仁小分子核糖核酸(small nucleolar RNA, snoRNA)作为内参, 对MEP途径关键基因(*DXS*、*DXR*、*CMK*、*MDS*和*IDI*)、类胡萝卜素合成关键途径基因(*PSY*、*PDS*、*ZDS*、*CRTISO*和*CHYb*)与甾醇合成关键途径基因(*FPPS*、*SQE*、*CAS*、*CYP51*和*ERG4/24*)进行定量检测, 每个样品设置3个重复.

1.6 数据统计与分析方法

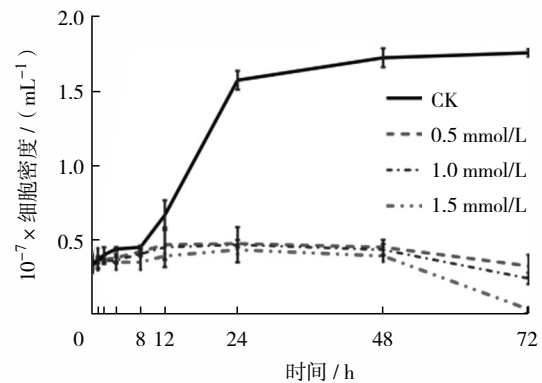
使用GraphPad Prism 8.0软件进行数据的统计分析与作图, 以非处理组为对照(control check, CK), 并通过双因素方差分析Dunnett-*t*检验进行多重比较. 以 $P < 0.01$ 为差异显著, 以 $P < 0.001$ 为差异极显著. 本研究中数据均为用平均值 $\pm$ 标准偏差($\bar{x} \pm s$)表示($n = 3$).

2 实验结果

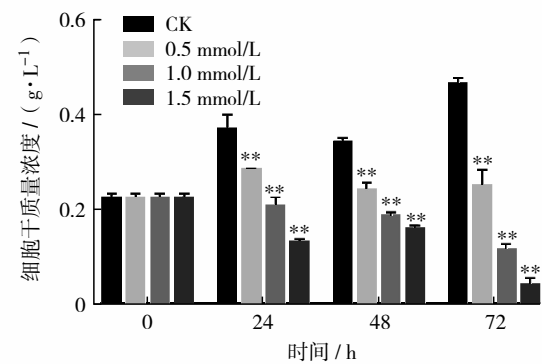
2.1 MeJA处理下的莱茵衣藻生长与光合特征分析

不同浓度MeJA处理时, 藻细胞生长均受到程度抑制不同, 结果见图1(a). 随着处理浓度的提高, 藻细胞受到的抑制程度也越严重. 当MeJA浓度达 1.5 mmol/L 时, 藻细胞死亡数量增加, 处理72 h后, 存活细胞密度不足 $5 \times 10^5\text{ mL}^{-1}$. MeJA处理导致藻干质量下降, 且浓度越高, 细胞干质量下降越迅速, 见图1(b). 综上所述, MeJA对莱茵衣藻的生长具有显著的抑制作用, 且抑制效果与其浓度成正相关.

光合系统对微藻生长和增殖有重要的生理意义. 本研究检测了MeJA处理下莱茵衣藻的光合效率. 结果显示, 在72 h内MeJA处理组的最大光合效率和实际光合效率始终显著低于CK组, 见图2(b). 其中, 1.0 mmol/L 与 1.5 mmol/L MeJA处理



(a) MeJA处理下莱茵衣藻细胞生长曲线



(b) MeJA处理下莱茵衣藻干质量浓度变化

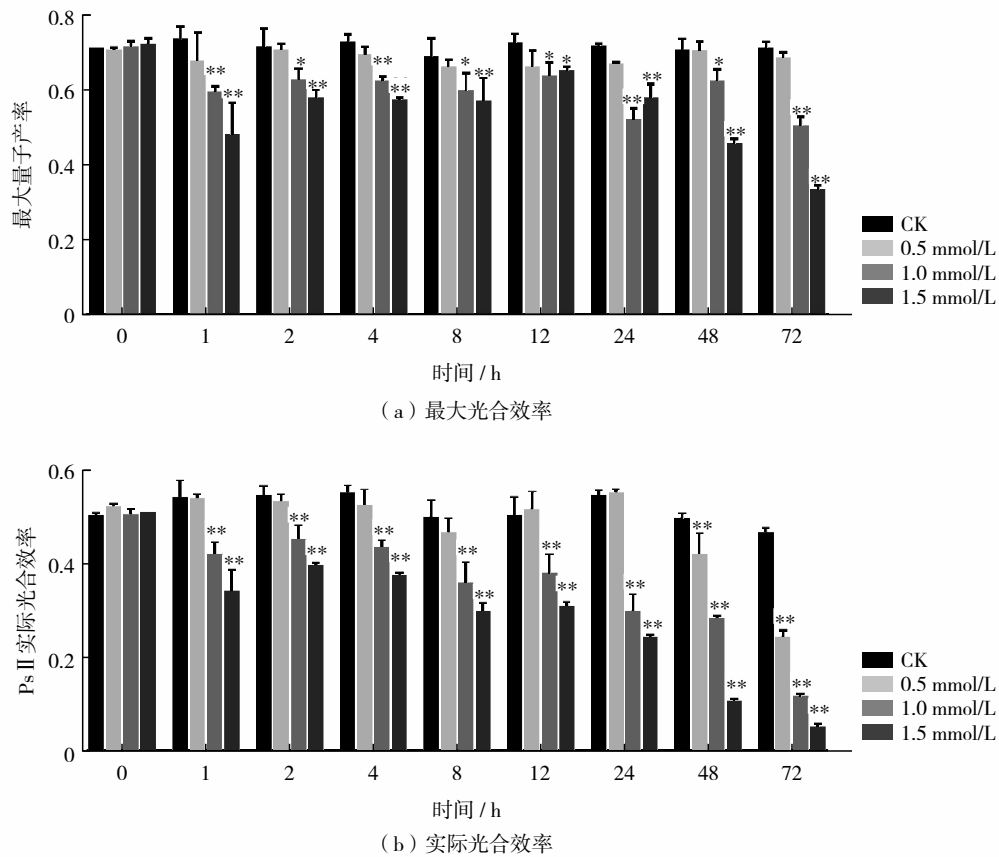
*表示与CK相比, $P < 0.01$, 差异显著;
**表示与CK相比, $P < 0.001$, 差异极显著

图1 不同浓度MeJA处理后细胞的生长曲线与干质量变化
Fig.1 Growth curve and dry weight of *C. reinhardtii* cells after treatment with different concentrations of MeJA

组的最大光合效率和实际光合效率在1 h内呈快速降低趋势(图2), 且实际光合效率随处理时间延长而持续下降. 该结果表明, 高浓度MeJA处理可快速降低莱茵衣藻的光合效率, 对光系统造成不可逆的损伤, 这可能是导致莱茵衣藻细胞增殖受到MeJA抑制的主要因素之一.

2.2 MeJA处理可增强MEP途径关键基因的表达

MeJA处理后, 参与微藻MEP途径5个基因(*DXS*、*DXR*、*CMK*、*MDS*和*IDI*)的表达模式如图3. 由图3可见, MeJA处理增强了MEP途径关键基因表达的上调, 且在不同浓度MeJA处理下, MEP途径基因具有不同的表达模式. 其中, 当MeJA浓度为 1.0 mmol/L 时, 1 h与4 h上调幅度更高; 而当MeJA浓度为 1.5 mmol/L 时, 则在24 h时上调幅度更高. MeJA浓度为 1.0 mmol/L 的处理组在1 h时, *DXS*与*MDS*基因表达上调最为显著, 分别上调至4.63倍与2.11倍; 在4 h时, *DXS*基因表达上调至5.88倍. MeJA浓度为 1.5 mmol/L 的处理组在1 h与4 h时, 仅*DXS*基因表达显著上调, 分别上调至



*表示与CK相比, $P < 0.01$, 差异显著; **表示与CK相比, $P < 0.001$, 差异极显著

图 2 不同浓度 MeJA 处理后最大光合效率与实际光合效率的变化

Fig. 2 Changes of the maximum and actual photosynthetic efficiency after treatment with different concentrations of MeJA

1.78 倍与 3.09 倍; 在处理 24 h 时, *DXS*、*DXR* 与 *CMK* 基因表达分别显著上调至 6.00、38.29 与 5.85 倍。

2.3 MeJA 处理能降低胞内光合色素和调节类胡萝卜素合成基因表达

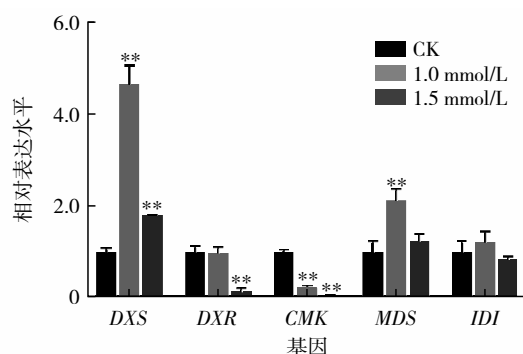
莱茵衣藻的光合色素、类胡萝卜素和甾醇类物质的合成均依赖于 MEP 途径, 而 MeJA 处理能影响莱茵衣藻的 MEP 途径, 并抑制其光合系统活性。因此, 本研究进一步测定 MeJA 处理下莱茵衣藻的光合色素质量浓度变化以及类胡萝卜素合成途径关键基因的表达水平。

不同浓度 MeJA 处理后, 莱茵衣藻胞内叶绿素 a、叶绿素 b 和总类胡萝卜素质量浓度变化如图 4。在处理 24 h 时, 3 种胞内色素质量浓度均升高, 但 MeJA 处理组 (0.5、1.0 和 1.5 mmol/L) 的色素质量浓度均显著低于 CK 组, 且处理浓度越高, 降低的幅度越明显。在处理 24 h 后, 处理组色素质量浓度不再显著上升。其中, 1.0 mmol/L 与 1.5 mmol/L 处理组在处理 48 h 后, 色素开始降低; 在处理 72 h

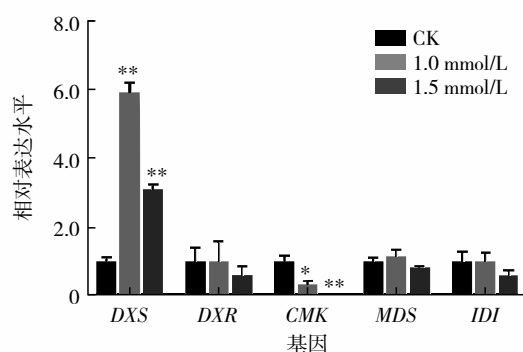
后, 1.5 mmol/L 处理组 3 种胞内色素质量浓度低于处理前, 分别为处理前的 86%、81% 和 78%。qPCR 分析发现, MeJA 会影响类胡萝卜素合成途径的关键基因表达 (图 5)。与对照组相比, MeJA 分别处理 1 h 与 4 h 时, 类胡萝卜素合成途径的基因均受到显著的抑制作用; 处理 24 h 时, 尽管 *PDS*、*ZDS* 与 *CRTISO* 基因的表达水平有所恢复甚至上调, 但限速酶八氢番茄红素合成酶 (phytoene synthase, *PSY*) 基因与下游的 *CHYb* 基因仍被显著抑制。其中, 1.0 mmol/L 与 1.5 mmol/L 处理组的 *PSY* 基因表达量仅为对照的 20% 与 12%, *CHYb* 基因表达量仅为对照的 31% 与 7%。限速酶基因的低表达可能是造成胞内色素降低的原因。

2.4 MeJA 处理能增强甾醇类物质合成途径基因表达

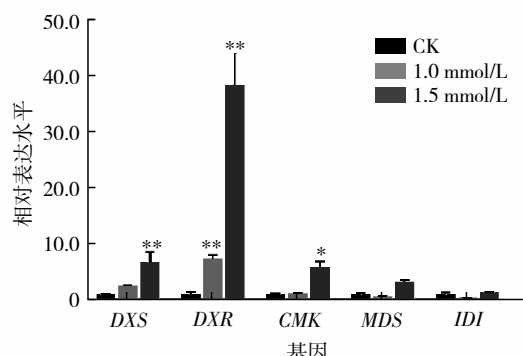
莱茵衣藻的甾醇类物质合成同样依赖于 MEP 途径, 合成途径的关键基因有 *FPPS*、*SQE*、*CAS*、*CYP51* 和 *ERG4/24*。它们在 MeJA 处理下的表达模式如图 6。甾醇类物质合成途径基因在不同浓度 MeJA 处理后均显著上调, 且随着处理时间延长,



(a) 处理后1 h



(b) 处理后4 h



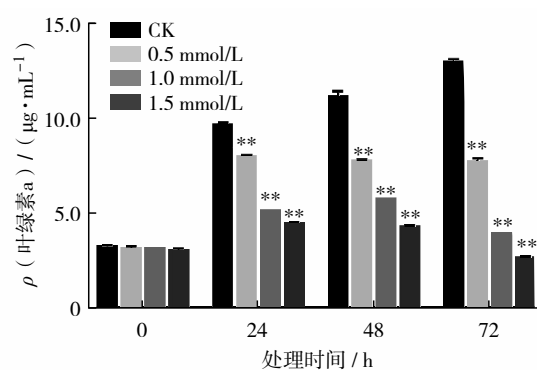
(c) 处理后24 h

*表示与CK相比, $P < 0.01$, 差异显著;
**表示与CK相比, $P < 0.001$, 差异极显著

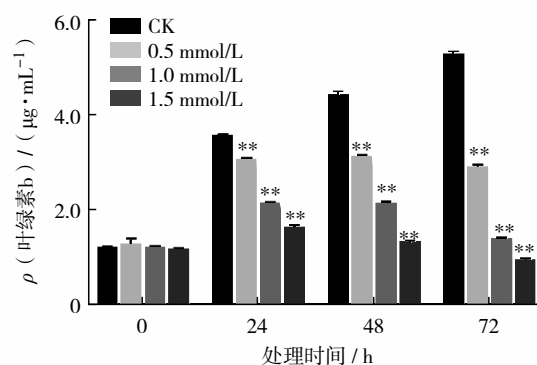
图3 不同浓度 MeJA 处理后 MEP 途径基因的表达水平
Fig. 3 Expression levels of MEP pathway genes after treatment with different concentrations of MeJA

上调幅度持续上升. 在处理4 h时, 1.0 mmol/L 处理组上调幅度更高; 而在处理24 h后, 1.5 mmol/L 处理组上调幅度更加显著. 其中, 1.0 mmol/L 处理组在处理4 h时, *ERG4/24* 基因相对表达水平最高上调至14.47倍, 其他基因分别上调至1.26~7.52倍. 1.5 mmol/L 处理组在处理24 h时, *CYP51* 与 *ERG4/24* 基因相对表达水平分别上调至40.26与23.01倍, 其他基因分别上调至6.11~7.56倍.

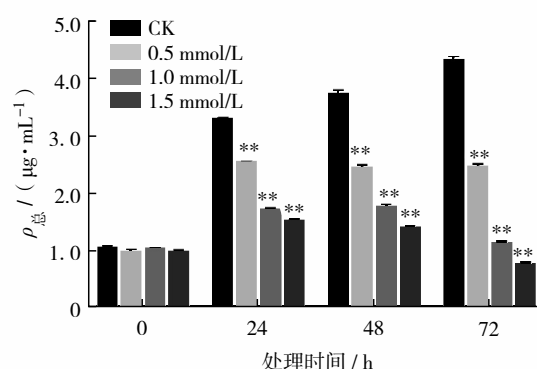
综上所述, MeJA 处理诱导 MEP 途径与甾醇类物质合成途径基因上调表达, 类胡萝卜素合成途径



(a) 叶绿素a



(b) 叶绿素b



(c) 总类胡萝卜素

**表示与CK相比, $P < 0.001$, 差异极显著

图4 不同浓度 MeJA 处理后叶绿素a、叶绿素b、总类胡萝卜素的变化

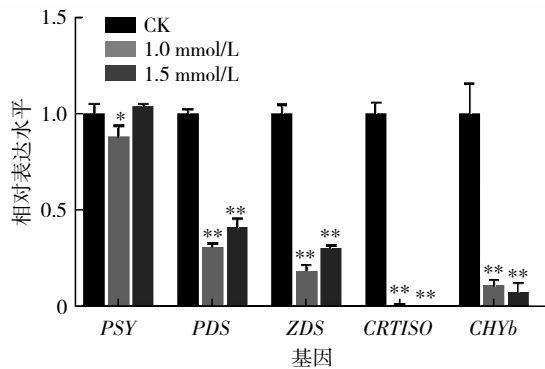
Fig. 4 Changes of chlorophyll a, chlorophyll b and total carotenoids after treatment with different concentrations of MeJA

基因下调, 说明 MeJA 处理下导致异戊二烯更多流向细胞质内甾醇类物质的合成.

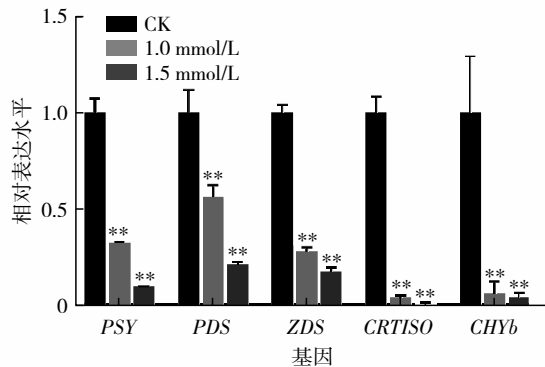
3 讨论

3.1 MeJA 处理诱发莱茵衣藻细胞作出快速响应

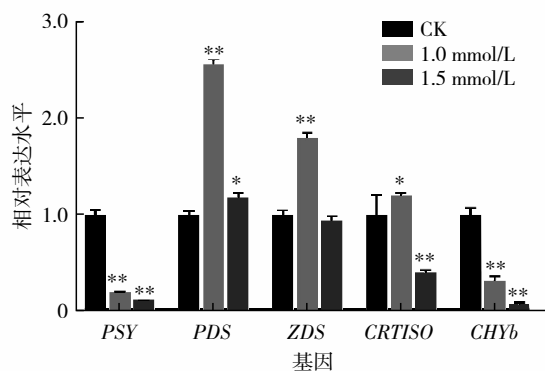
莱茵衣藻是单细胞真核微藻, 对于外源刺激响应十分迅速, 处理后样品早期和晚期的转录水平组间差异大^[18-19]. 因此, 对初期响应模式分析能够更



(a) 处理后 1 h



(b) 处理后 4 h



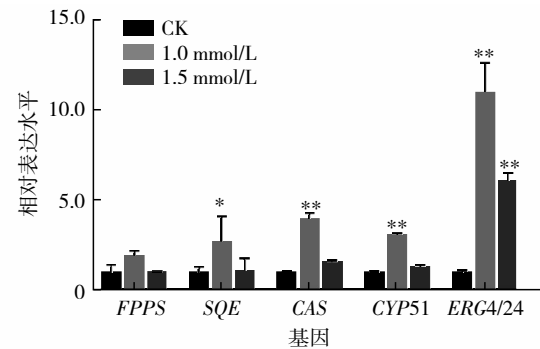
(c) 处理后 24 h

*表示与CK相比, $P < 0.01$, 差异显著;**表示与CK相比, $P < 0.001$, 差异极显著

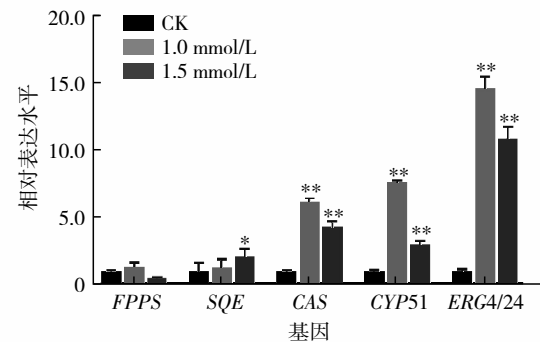
图5 不同浓度 MeJA 处理后类胡萝卜素合成途径基因的表达式

Fig. 5 Expression levels of carotenoid synthesis pathway genes after treatment with different concentrations of MeJA

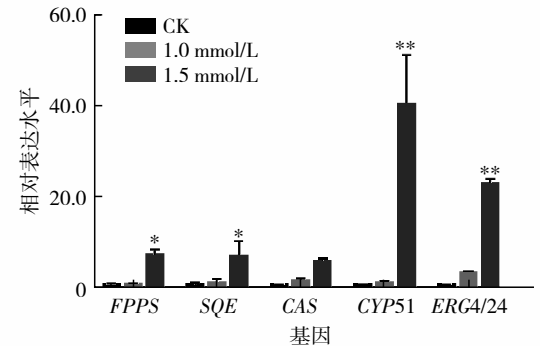
加精准地发现莱茵衣藻在短时间内做出的应答反应机制。MeJA 作为外源刺激剂, 会导致莱茵衣藻在生理生化、代谢与转录水平发生巨大改变。在生理生化水平, MeJA 处理会损伤光系统, 导致光合色素质量浓度降低, 致使光合效率, 细胞活性下降^[16]。在代谢水平, MeJA 处理后莱茵衣藻细胞中心碳代谢和饱和脂肪酸代谢发生广泛的重组, 氨基酸代谢发生选择性改变^[17], 甚至诱导细胞生成新生未知的三萜化合物^[15]。在转录水平, MeJA 处理导



(a) 处理后 1 h



(b) 处理后 4 h



(c) 处理后 24 h

*表示与CK相比, $P < 0.01$, 差异显著;**表示与CK相比, $P < 0.001$, 差异极显著

图6 不同浓度 MeJA 处理后甾醇类物质合成途径基因的表达式

Fig. 6 Expression levels of sterol synthesis genes after treatment with different concentrations of MeJA

致 MEP 通路基因表达发生改变, IPP 和 DMAPP 流向发生改变, 光合色素合成和甾醇类物质合成受阻^[17]。类胡萝卜素是维护光系统活性的重要组成, 对于清除光合作用产生的活性氧有重要的生理意义。因而, 类胡萝卜素合成受阻可能是 MeJA 处理下莱茵衣藻光合活性与细胞活性降低的主要原因之一。本研究发现, 莱茵衣藻细胞对 MeJA 响应快速, 且与处理剂量呈正相关。加入 MeJA 的同时, 莱茵衣藻光系统活性即呈迅速下降, 且随着处理时间的延长持续下降, 降低速度与处理浓度呈现显著的线

性相关。细胞浓度在处理1~2 h后,处理组对照产生了显著的差异,说明莱茵衣藻对MeJA极为敏感,响应快速。

3.2 MeJA对MEP途径与下游代谢网络的调控作用

近年来,莱茵衣藻作为生产异源类异戊二烯的光合细胞工厂受到了一定的关注^[11],但MEP通量有限,导致微藻产萜能力受到限制。1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, DXS)与1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase, DXR)是MEP途径的关键和限速酶,提高它们的表达量能增加MEP途径通量,促进下游产物的积累^[20-22]。本研究发现,莱茵衣藻细胞经1.0 mmol/L MeJA处理1~4 h后,可诱导DXS基因表达迅速上调,但不影响DXR的表达,这可以增加IPP和DMAPP的通量。MeJA减少莱茵衣藻细胞光合色素合成,尽管一些类胡萝卜素合成途径基因在24 h时,表达上调,但类胡萝卜素合成的起始酶基因PSY受到显著抑制,同时,胞内色素质量浓度较低也说明IPP与DMAPP可能从合成光合色素流向细胞质中三萜化合物的合成。

虽然本研究中发现甾醇类物质合成途径的基因上调表达,但也有研究表明,MeJA处理后莱茵衣藻胞内主要甾醇(麦角固醇与7-脱氢多孔甾醇)降低,却同时检测到了尚未表征的未知三萜类产物^[15],该化合物与甾醇使用共同前体底物(S)-2,3-oxidosqualene进行生物合成^[23]。因而推断MeJA可能激活未知基因(如细胞色素P450)的表达,导致胞内产生新的三萜类化合物,而甾醇的减少不利于细胞膜结构稳定,这可能也是生物量减少的原因之一。

结 语

MeJA处理对微藻的生物量积累和光合系统活性有负面影响,造成莱茵衣藻生长速率降低,但可以激活叶绿体内MEP上游合成途径基因与胞质内三萜类化合物合成途径基因的上调,下调类胡萝卜素合成途径关键基因。在转录与生理层面,莱茵衣藻对于MeJA处理的初期响应具有快速与剂量依赖性的特点。莱茵衣藻在MeJA处理早期的响应模式研究为微藻异戊二烯工程设计改造提供新的思路 and 工具,也为在莱茵衣藻中进行合成生物学与代谢工

程研究奠定一定的基础。

致谢:衷心感谢胡章立教授的悉心指导!感谢深圳大学测试中心、生命与海洋科学学院公共仪器服务平台的设备支持!

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31870343);国家重点研发计划资助项目(2018YFA0902500);广东省基础与应用基础研究基金资助项目(2020A1515010352)

作者简介:贾彬(1981—),深圳大学助理教授、博士。研究方向:微藻的基因工程化应用。E-mail: jiabin@szu.edu.cn

引 文:贾彬,兰成湘,李翔宇.莱茵衣藻对MeJA处理的初期响应模式分析[J].深圳大学学报理工版,2022,39(3):237-244.

参考文献 / References:

- [1] 罗秋兰,王潮岗,胡章立.莱茵衣藻APC/C复合物基因家族及CrCDC20表达谱分析[J].深圳大学学报理工版,2018,35(2):172-178.
LUO Qiulan, WANG Chaogang, HU Zhangli. Bioinformatical analysis of genes encoding APC/C complex and the expression profiles analysis of CrCDC20 in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Journal of Shenzhen University Science and Engineering, 2018, 35(2): 172-178. (in Chinese)
- [2] PERIN G, BELLAN A, BERNARDI A, et al. The potential of quantitative models to improve microalgae photosynthetic efficiency [J]. Physiologia Plantarum, 2019, 166(1): 380-391.
- [3] TREVES H, SIEMIATKOWSKA B, L UZAROWSKA U, et al. Multi-omics reveals mechanisms of total resistance to extreme illumination of a desert alga [J]. Nature Plants, 2020, 6(8): 1031-1043.
- [4] VILLARO S, CIARDI M, MORILLAS-ESPANA A, et al. Microalgae derived astaxanthin: research and consumer trends and industrial use as food [J]. Foods, 2021, 10(10): 2303.
- [5] 娄素琳,朱秀兰,曾志勇,等.盐藻microRNAs高通量测序和生物信息学分析[J].深圳大学学报理工版,2018,35(4):331-333.
LOU Sulin, ZHU Xiulan, ZENG Zhiyong, et al. Bioinformatics analysis of *Dunaliella* microRNAs by high-throughput sequencing [J]. Journal of Shenzhen University Science and Engineering, 2018, 35(4): 331-333. (in Chinese)
- [6] LEONG Y K, CHEN C Y, VARJANI S, et al. Producing fucoxanthin from algae - recent advances in cultivation strategies and downstream processing [J]. Bioresource Technology, 2022, 344(Pt A): 126170.
- [7] 黄瑛,李小连,殷剑波,等.3个基因共调控下莱茵

- 衣藻的转录组分析[J]. 深圳大学学报理工版, 2021, 38(2): 194-200.
- HUANG Ying, LI Xiaolian, YIN Jianbo, et al. Transcriptome analysis of *Chlamydomonas reinhardtii* under the co-regulation of three genes [J]. Journal of Shenzhen University Science and Engineering, 2021, 38(2): 194-200. (in Chinese)
- [8] WICHMANN J, BAIER T, WENTNAGEL E, et al. Tailored carbon partitioning for phototrophic production of (E)-alpha-bisabolene from the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Metabolic Engineering, 2018, 45: 211-222.
- [9] LAUERSEN K J, WICHMANN J, BAIER T, et al. Phototrophic production of heterologous diterpenoids and a hydroxy-functionalized derivative from *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Metabolic Engineering, 2018, 49: 116-127.
- [10] LAUERSEN K J, BAIER T, WICHMANN J, et al. Efficient phototrophic production of a high-value sesquiterpenoid from the eukaryotic microalga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Metabolic Engineering, 2016, 38: 331-343.
- [11] EINHAUS A, BAIER T, ROSENSTENGEL M, et al. Rational promoter engineering enables robust terpene production in microalgae [J]. ACS Synthetic Biology, 2021, 10 (4): 847-856.
- [12] RAMIREZ-ESTRADA K, VIDAL-LIMON H, HIDALGO D, et al. Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories [J]. Molecules, 2016, 21 (2): 182.
- [13] VITHANA M D, SINGH Z, JOHNSON S K. Regulation of the levels of health promoting compounds: lupeol, mangiferin and phenolic acids in the pulp and peel of mango fruit: a review [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(8): 3740-3751.
- [14] CHEN Yue, WANG Yunzhu, LÜ(Lyu) Ping, et al. Comparative transcriptomic analysis reveal the regulation mechanism underlying MeJA-induced accumulation of alkaloids in *Dendrobium officinale* [J]. Journal of Plant Research, 2019, 132(3): 419-429.
- [15] COMMAULT A S, FABRIS M, KUZHIUMPARAMBIL U, et al. Methyl jasmonate treatment affects the regulation of the 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate pathway and early steps of the triterpenoid biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Algal Research, 2019, 39: 11.
- [16] COMMAULT A S, KUZHIUMPARAMBIL U, HERDEAN A, et al. Methyl jasmonate and methyl-beta-cyclodextrin individually boost triterpenoid biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* UVM4 [J]. Pharmaceuticals, 2021, 14 (2): 12.
- [17] LEE J-E, CHO Y U, KIM K H, et al. Distinctive metabolomic responses of *Chlamydomonas reinhardtii* to the chemical elicitation by methyl jasmonate and salicylic acid [J]. Process Biochemistry, 2016, 51(9): 1147-1154.
- [18] ZHANG Luoyan, XING Zhaotian, CHEN Liqian, et al. Comprehensive time-course transcriptome and co-expression network analyses identify salt stress responding mechanisms in *Chlamydomonas reinhardtii* strain GY-D55 [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 828321.
- [19] BEAUVAIS-FLUCK R, SLAVEYKOVA V I, COSIO C. Comparative study of Cu uptake and early transcriptome responses in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* and the macrophyte *Elodea nuttallii* [J]. Environmental Pollution, 2019, 250: 331-337.
- [20] XU Chen, WEI Hui, MOVAHEDI A, et al. Evaluation, characterization, expression profiling, and functional analysis of *DXS* and *DXR* genes of *Populus trichocarpa* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 142: 94-105.
- [21] VACCARO M, OCAMPO BERNAL V, MALAFRONT N, et al. High yield of bioactive abietane diterpenes in *Salvia sclarea* hairy roots by overexpressing cyanobacterial *DXS* or *DXR* genes [J]. Planta Medica, 2019, 85(11/12): 973-980.
- [22] YOU M K, LEE Y J, KIM J K, et al. The organ-specific differential roles of rice *DXS* and *DXR*, the first two enzymes of the MEP pathway, in carotenoid metabolism in *Oryza sativa* leaves and seeds [J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 167.
- [23] 杨杰, 詹亚光, 肖佳雷, 等. 细胞色素 P450 在植物三萜和甾醇骨架修饰中的功能研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(10): 1065-1083.
- YANG Jie, ZHAN Yaguang, XIAO Jialei, et al. Research progress on the function of cytochrome P450 in the modification of plant triterpenes and sterol backbones [J]. Science in China: Life Sciences, 2018, 48(10): 1065-1083. (in Chinese)

【中文责编: 晨兮; 英文责编: 艾琳】