



微生物群系降解污染物的多组学策略与应用

黄逸群, 文凌宇, 唐鸿志*

上海交通大学生命科学技术学院, 微生物代谢国家重点实验室, 上海 200240

*联系人, E-mail: tanghongzhi@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2021-11-23; 接受日期: 2022-03-28; 网络版发表日期: 2022-08-01

国家重点研发计划(批准号: 2021YFA0909500)、国家自然科学基金(批准号: 32030004)和上海市优秀学术带头人计划(批准号: 20XD1421900)资助

摘要 微生物在自然界的广泛分布与代谢灵活性赋予它们对于大量外源性物质的降解能力。人类的生产活动将多种外源性污染物大量释放到土壤、水体和大气中造成严重的环境污染问题, 污染位点的原位微生物群系往往通过成员间代谢协作和外界环境因素的共同作用下实现外源性污染物的部分或完全矿化。传统污染物降解研究以微生物的分离培养和单菌研究为主, 而高通量检测技术的发展使宏基因组、宏转录组、宏蛋白质组、代谢组及多组学组合策略为微生物群系水平研究污染物降解和生态修复提供可行性。本文主要针对各组学在探索微生物群系结构、挖掘功能基因、解析代谢途径、阐明成员间相互作用、分析污染物代谢胁迫等方面的应用与局限性, 并展望其在未来生态修复与环境污染降解研究的发展方向 and 前景。

关键词 微生物群系, 组学, 生态修复, 污染物降解

现代社会的工业运作、农业生产和家庭活动的过程中将大量人为污染物释放到大气、水体和土壤引起一系列的环境污染, 典型污染物包括石油烃、多环芳烃、有机卤化物、微塑料、重金属、农药和抗生素等^[1-5]。这些物质大多具备相对稳定的化学结构, 并可通过大气循环、水循环进行地区转移对环境安全造成威胁^[6,7]; 或通过食物链进行生物富集对人体健康造成代谢紊乱等不利影响^[8,9]。物理和化学技术(污染物吸附、膜过滤、离子交换、电动混凝等)方法在污染物处理方面已有广泛应用, 但此类工艺普遍具有污染物降解不完全、副产物二次污染、降解成本较高的特

点^[10-13]。污染环境中的土著微生物群系常具有对污染物的较高耐受性。微生物利用污染物作为碳源或氮源, 并将其降解为下游代谢中间体或完全矿化^[14]。大量新型生物降解基因存在于微生物基因组或质粒上, 赋予微生物广阔的外源性物质分解代谢能力, 让微生物成为生态修复的重要资源库^[15]。传统单菌研究策略(“菌株分离培养-生理生化检测-降解功能表征-代谢途径分析”)在推进污染物降解和生态修复起到关键作用, 但大量的微生物由于营养需求未知、共生依存关系不明和物理化学条件不详等认知局限或技术限制无法从环境样本中分离出来, 限制生态修复研究的发展^[16]。

引用格式: 黄逸群, 文凌宇, 唐鸿志. 微生物群系降解污染物的多组学策略与应用. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 686-697

Huang Y Q, Wen L Y, Tang H Z. Multi-omics strategies and applications for the degradation of pollutants by microbiome (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 686-697, doi: 10.1360/SSV-2021-0426

天然或人工微生物群系内部的共生依存和代谢互动,可以降低单一微生物的代谢负荷,并可通过微生物物种的不同组合增强生物降解能力或拓展底物谱^[17],微生物群系在污染物去除方面表现出良好潜力^[18].不依赖微生物培养的组学技术成为研究污染物胁迫下微生物群系水平的代谢活动、遗传调控、相互作用等方面的有效工具(图1).标记基因分析^[19]、宏基因组学^[20]、宏转录组学^[21]、宏蛋白质组学^[22]、代谢组学^[23]等一系列技术可以在污染环境原位分析微生物群系进行污染物降解过程中物种丰度、基因、蛋白质和代谢途径以及中间代谢产物,拓展对未培养与难培养微生物、新降解途径的认知,帮助获取新的污染物生物降解关键基因和阐明分子调控机理.本综述通过回顾不同组学方法和组合策略在微生物群系水平上的生态修复和污染物降解应用及研究进展,探讨不同组学方法的技术局限性与优化方向,为系统化研究微生物群系内部相互作用与外界相互作用提供方向.

1 组学策略与应用

1.1 标记基因分析

标记基因分析(marker gene analysis)基于环境DNA样本的靶向区域序列设计引物进行特异性扩增,用于鉴定样本所处环境中的微生物组成.靶向区域一般包括用于序列比对实现微生物种类识别的可变区和两端用于设计引物的保守区,可以实现属级分类的分辨率^[24].核糖体蛋白基因(16S rRNA gene)是细菌最常使用的标记基因,16S rRNA序列具有多个可变区,其中V3~V4可变区的引物组合经过充分测试普遍认为是高效、可靠的分类依据^[25].真菌通常使用内部转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)作为标记基因,研究发现ITS包含多个可变区,其中ITS2相比ITS1的长度更短、GC变异更低、谱系特异性引物的选择范围更广,是真菌物种多样性鉴定的分类依据^[26].

相对于其他组学技术,标记基因分析的样本制备相对简单,测序成本较低,为研究大规模的空间和时间跨度下环境微生物群系多样性与变化研究提供条件.空间跨度层面,活性污泥在全球范围广泛应用,污泥依赖于物种组分复杂的微生物群系去除来自市政、工业等废水中的大量营养物质和污染物(工业副

产物、农药和药物)乃至病毒^[27].2019年基于六大洲23个国家的污水处理厂活性污泥的16S rRNA的标记基因分析发现全球活性污泥细菌群系拥有高达10亿个微生物,但依旧拥有一个含28种操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)全球核心活性污泥菌群(主要为*Proteobacteria*)可能在废水处理发挥重要作用.同时活性污泥作为一个受到较强人为影响的生态环境,但活性污泥细菌群系组成很可能由随机过程(扩散和漂移)进行驱动^[28].时间跨度层面,石油钻井平台和油轮运输的意外溢油是海洋石油烃污染的重要来源,即使通过机械辅助回收或清洗,海岸的潮间带地区仍然不断累积大量石油烃,对沿海和海洋生态系统造成长期的影响^[29].Acosta-González研究团队^[30]对西班牙油轮所导致石油烃污染海滩对微生物群系的长期影响进行评估,发现早期(2004年)样本中微生物群系结构由*Gammaproteobacteria*和*Deltaproteobacteria*主导,而后期(2007年)样本中*Bacteroidetes*比例从几乎不存在上升成为微生物群系的重要组成部分,说明石油烃污染对海滩细菌群系施加了强大的选择压力.

生态环境中微生物群系组成与丰度会因为自然变化或人为污染等产生波动,因此部分微生物具有成为特定污染的指示物种或生物传感器的潜力.Smith研究团队^[31]基于受到核废料场污染的地下水样本和墨西哥湾石油污染样本中的16S rRNA序列集以机器学习的方法构建了能够区分受铀、硝酸盐或石油污染的地点与未受污染的地点的分类模型,用于环境污染监控.

从早期的UPARSE算法到近年来的DADA2, USEARCH-UNOISE3, Deblur等算法,标记基因分析的生物信息学工具与分析流程向高精度聚类的趋势不断发展.如DADA2的扩增子序列变体(amplicon sequence variants, ASV)相比UPARSE算法的OTUs提高了序列相似性要求,修正测序错误,减少物种注释的假阳性.同时测序成本的下降和集成化分析工具QIIME2的完善也为标记基因分析的高样本量和广地域研究提供可行性.标记基因分析技术在研究污染环境中原位微生物群系相比传统培养技术具有优势,有助于研究人员快速了解污染环境中微生物群系的组成结构和变化趋势.但标记基因分析技术也具有局限性:如扩增引物偏好性会直接影响物种丰富度;只能基于分类信息预测部分代谢功能潜力(表1)^[19,32,33].

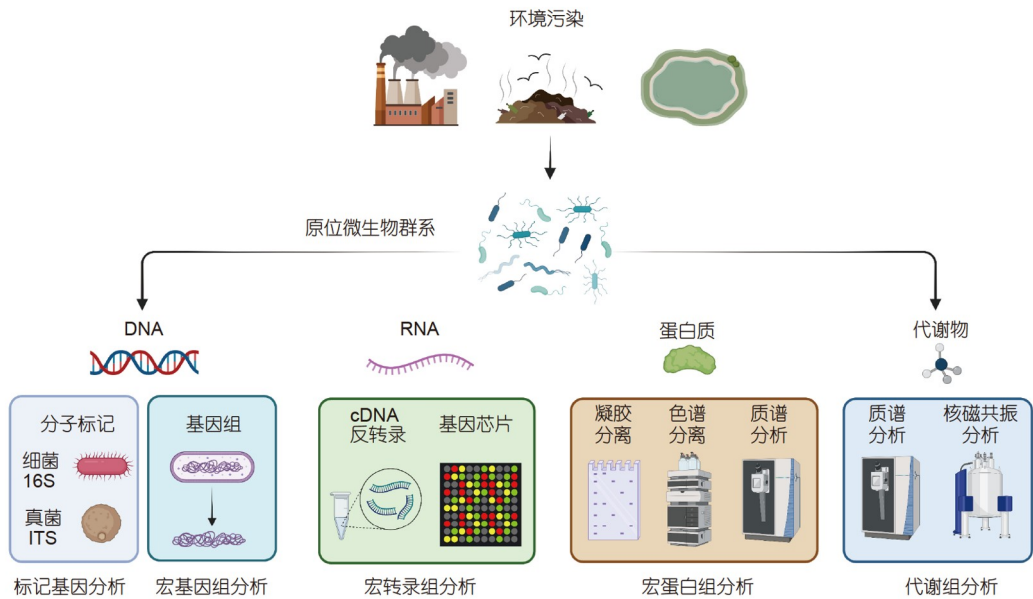


图 1 微生物群系的多组学研究策略示意图(基于Biorender绘制)
Figure 1 Schematic diagram of the multi-omics research strategy of the microbiome (created with Biorender)

表 1 不同组学策略的优点与局限性
Table 1 Advantages and limitations of omics strategies for assessing microbial communities

方法	优点	局限性
标记基因分析	样品制备简单, 测序成本较低 参考公共数据库较为完善 流程化的成熟分析与流程	存在引物偏好性, 导致物种丰度误差 基于分类信息只能部分预测微生物群系代谢功能
宏基因组分析	可推断微生物的功能基因与相对丰度 可组装微生物群系的微生物基因组 可挖掘新的基因家族	功能基因注释范围有限且可能存在错误 MAG的错误率较高, 完整度较低
宏转录组分析	可区别活跃、休眠和死亡微生物 直接评估不同微生物基因活跃程度差异	RNA稳定性差, 样品制备复杂, 部分环境难提取高质量RNA 存在环境生物RNA污染, 影响后续分析
宏蛋白质组分析	可挖掘新的功能蛋白 直接比较不同环境下微生物群系的蛋白质差异	公共蛋白质数据库完整度不足 肽段与蛋白序列的错误匹配导致蛋白预测错误或假阳性
代谢组分析	评估微生物整体代谢概况(非靶向代谢组) 可检测环境中特定代谢物(靶向代谢组)	代谢物的种类繁多, 不同检测方法存在偏差

1.2 宏基因组分析

宏基因组学是对样本中所有微生物DNA进行测序的方法, 相比标记基因分析可以获得更详细的基因组信息和分类分辨率^[24], 主要分为两类: 基于序列的宏基因组学和基于功能的宏基因组学。

(1) 基于序列的宏基因组学. 基于序列的宏基因组学主要利用序列信息和公共数据库(如KEGG和egg-NOG等)进行比对预测微生物群系的种群结构和代谢潜力, 包括环境微生物群系比较、功能基因鉴定、完

整代谢途径阐明等^[34]. 微生物群系复杂性导致测序数据难以通过从头组装(*de novo assembly*)产生完整的微生物基因组, 但利用MaxBin2, MetaBAT2, CONCOCT等工具可基于碎片化的重叠群(Contigs)的核苷酸组成和测序深度来部分重构宏基因组组装基因组(*metagenome-assembled genomes*, MAG), 用于解析微生物群系中物种的代谢潜力, 获取未培养或难培养微生物在生态修复方面的新型污染物降解酶^[35].

宏基因组可以辅助评估不同微生物群系面对生态

系统污染的抗性与代谢基因的分布趋势, 通过将印度、巴西和沙特阿拉伯的红树林沉积物宏基因组与海洋陆地样本的宏基因组进行比较, 发现三者都具备高丰度的氟喹诺酮类药物和吡啶黄素抗性蛋白, 并具有比海洋样本更多的重金属污染抗性基因^[36]. 四氯乙烯和三氯乙烯等有机卤化物在工业具有广泛应用, 研究者发现*Dehalococcoides*在混合微生物群系相比纯培养状态中可以更高效地降解有机卤化物, 通过宏基因组测序分析三氯乙烯降解微生物群系的物种组成和功能基因, 并确认与*Dehalococcoides*相关的17个推定的还原性脱卤酶基因可供后续功能研究^[37]. Nicolas研究团队^[38]基于大西洋北海油田生产平台退役的混凝土储油结构内样本进行MAG重建, 基于MAG揭示了大量与储存油体内的低分子量芳香烃(苯和甲苯)直接相关的降解基因, 发现*Dethiosulfatibacter*和*Cloacimonadetes*是该人造海洋结构微生物群系里的主导微生物, 而同样富含烃类的天然油藏或海洋深流中二者都属于低丰度菌株, 表明长期存储特定化合物的人造工业设施与长期受特定化合物影响的自然生态环境可能巨大差异, 需要进一步的探索与研究.

微生物群系内不同微生物间的相互作用也是生态修复与污染物降解的关键研究方向. 微生物之间的相互作用, 可以起到优势互补, 合力调节环境因子, 配合上下游代谢降解等重要作用. 一项对三个含*Dehalococcoides*的微生物群系进行宏基因组比较的研究, 解析了微生物群系中非脱卤菌属(*Acetogens/Fermenters*, *Methanogenic Archaea*, δ -*Proteobacteria*)在类咕嘛辅因子、蛋氨酸和维持厌氧环境方面辅助*Dehalococcoides*生长与卤化有机化合物还原的重要作用^[39]. 对苯二甲酸酯(terephthalate, TA)是塑料生产的原材料, 是塑料废水的典型污染物, TA降解微生物群系的成型需要较长的时间(200~300天)并且难以维持, 基于宏基因组测序研究团队在*Pelomaculum*中发现一系列与TA降解直接相关的脱羧、脱芳构化和 β 氧化基因并推定其为TA上游代谢负责微生物, 而*Thermotogae*, *Syntrophus*和候选门OP5和WWE1主要以作为下游代谢负责微生物通过代谢互连的方式共同完成TA降解^[40].

基于序列的宏基因组学的局限性包括需要充足的先验知识(如基因序列的保守性)进行功能预测; 数据库中存储的许多基因功能未知造成功能基因组成分分析中存在偏差^[41], 需要更多的微生物生理与功能表征研

究对数据库进行注释信息的追加和修正; 目前二代测序技术在宏基因组学应用较为广泛, 对于复杂环境样本所组装的MAG常具有较高的错误率、污染率和低完整度^[42]等, 需要通过增加测序深度来提升微生物群系成员的基因组覆盖率, 减少测序误差和低丰度的影响. 第三代测序技术(如PacBio, Nanopore)的发展突破了单次测序所获得DNA序列片段的长度限制, 减少了组装重叠群和支架所引入的序列错误, 从而获得高质量MAG. 高质量MAG为高通量技术直接研究污染环境微生物群系的微生物种内变异提供了可行性^[43], Cross研究团队^[44]开发的“反相基因组学”技术基于高质量MAG中的独特膜蛋白基因设计从复杂微生物群系中选择性分离细菌或古细菌细胞的抗体, 靶向分离污染环境中关键降解微生物. 基于序列的宏基因组学有助于阐明污染环境微生物群系的代谢特征, 挖掘污染物降解相关功能基因及基因家族, 推断污染环境微生物群系中关键降解微生物与污染物降解代谢网络.

(2) 基于功能的宏基因组学. 功能宏基因组学无需对环境样本微生物进行分离和培养, 分析尚未注释的基因序列功能, 主要步骤包括宏基因组文库构建、克隆载体连接、宿主表达、功能表征验证. 首先提取样本中所有微生物DNA, 使用合适的限制性内切酶或机械作用将DNA进行片段化, 将DNA片段连接到线性化克隆载体(质粒、黏粒或细菌人工染色体)当中制备成宏基因组文库. 然后选取遗传背景清晰, 遗传操作方法完善的表达宿主(如大肠杆菌*Escherichia coli*)对宏基因组文库进行表达, 基于筛选试验分离并选择表达特定酶功能的基因或基因簇, 并分析后续代谢产物^[45].

因此功能宏基因组学可以在没有先验知识的情况下挖掘生物新基因、多肽和次级代谢物来研究代谢功能. Lewin研究团队^[46]通过大肠杆菌建立挪威大陆架海上油藏的宏基因组DNA的fosmid克隆文库, 发现了一种在90℃可保持热稳定性并对金属离子具有耐受性的新型酯酶. 对于芳香族化合物降解基因, Suenaga研究团队^[47]基于焦化厂废水活性污泥构建克隆文库成功分离出43个外二醇双加氧酶基因并发现其中25个属于新型蛋白酶亚家族; 任何军队^[48]从多氯联苯污染土壤构建宏基因组文库成功在大肠杆菌异源表达一个新型2,4-二氯苯酚羟化酶.

传统阳性克隆筛选方法如琼脂平板筛选存在耗时长、低通量、劳动密集、阳性克隆概率低下等特点,

功能宏基因组学结合流式细胞仪、微流控技术等技术可实现对宏基因组文库克隆的高通量筛选, 实现高效资源挖掘^[49]。功能宏基因组学的局限性主要体现在DNA片段和表达宿主的高要求, 如要求插入序列的基因或基因簇的完整度足以出现功能表型^[50]; 宿主微生物能够表达异源基因, 蛋白序列能够实现正常折叠和修饰^[51]; 宿主微生物能够承受异源基因表达带来的转录谱干扰和毒性^[52]。前者主要通过宏基因组DNA提取方法和宏基因组载体优化, 后者可以测试多种宿主微生物(如*Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas putida*, *Burkholderia graminis*等)^[51]来增加异源表达成功率。

1.3 宏转录组分析

宏转录组学是对样本中所有微生物RNA进行测序的方法, 能够定量测量在不同环境条件下mRNA分子的动态变化和基因组尺度上不同基因的表达强度差异, 区分环境中活跃生物体与休眠或死亡的生物体^[24]和直接评估外源物质影响下的微生物活动^[53]。宏转录组学早期常通过cDNA或寡核苷酸微阵列或基因芯片对已知的靶向基因进行表达检测^[54], 目前主要基于样本中所有转录本反转录而来的cDNA进行测序分析^[20]。

环境微生物群系在自然环境中受到外源污染物的胁迫或冲击时, 部分基因可能会响应环境因子的变化, 从而产生转录水平上的变化。宏转录组学通过对不同基因的转录本进行基因表达谱聚类、功能注释、差异基因鉴定等分析方法, 可用于研究污染环境中微生物群系的关键菌株、代谢途径、功能基因等领域。关键菌株挖掘方面, 黄巧云团队^[55]以甲基汞污染的稻田土壤为样品, 基于宏转录组测序和共生网络、LEfSe分析和随机森林建模等分析发现*Catenulisporaceae*, *Frankiaceae*, *Mycobacteriaceae*和*Thermomonosporaceae*很可能是微生物群系中的甲基汞降解关键微生物, 而铜元素的添加会促进*Xanthomonadaceae*的富集和提高微生物群系对甲基汞的降解效率。代谢途径解析方面, Falk研究团队^[56]以多环芳烃、多氯联苯污染的淡水沉积物为研究对象发现, 污染物是微生物群系多样性和代谢功能变化的主要驱动力, 并基于N-还原、 β -氧化、产甲烷、聚酯合成相关代谢的转录本表达差异提出硝酸盐还原和甲烷生成可能是底特律河沉积物中污染物转化主要过程并参与碳分解代谢的伴随

途径。功能基因挖掘方面, Mukherjee团队^[57]从重金属污染土壤中提取并构建真核细胞cDNA文库, 基于重金属(铜镉锌钴)敏感型酵母构建文库克隆, 成功挖掘能耐受高浓度铜的真核醛脱氢酶。与宏基因组相比, 宏转录组能够分辨出微生物群系中的活跃菌属或基因, 更有利于研究微生物群系降解污染物的降解机理与调控机制。

宏转录组的主要限制因素是RNA的稳定性差, 半衰期短; 其他生物的RNA污染; 污染环境种类繁多, 而许多环境因素(如样本类型、微生物种类、营养成分)会直接影响RNA提取效率, 如土壤样本中的土壤颗粒会直接影响细胞裂解效率并吸附核酸吸附^[58]。目前已开发出适用于不同的场景与实验室条件的多种RNA提取方法(如Trizol法、热酚抽提法、硅胶膜旋转柱技术)和标准化试剂盒来优化RNA的纯度与产量^[59,60]。

1.4 宏蛋白质组学分析

宏蛋白质组是在特定时间点内微生物群系的所有蛋白质集合^[61], 应用于分析微生物群系原位活动、阐明污染物的生态毒性与微生物胁迫响应、解析污染物转化或矿化途径和筛选关键降解功能蛋白等方面^[62]。

蛋白质组的研究可以分为“自下而上”和“自上而下”两种策略。两种策略的共性是依赖两种主要的蛋白质分离策略: (i) 凝胶分离技术, 包括仅依赖蛋白质分子量分离的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、基于蛋白质的等电点和分子量进行分离的双向聚丙烯酰胺凝胶电泳(two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, 2D-PAGE)和使用荧光染料标记实现蛋白定量的双向荧光差异凝胶电泳(two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis, 2D-DIGE); (ii) 色谱分离技术, 通过高压液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)、反相HPLC、多维液相色谱(multi-dimensional chromatography, MDLC)等对短肽纯化分离。后续通过质谱(mass spectrometry, MS)技术如串联质谱(MS/MS)、四级杆飞行时间串联质谱(quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Q-TOF-MS)和基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)进行蛋白鉴定。二者的差异是自下而上策略的蛋白质混

合物需要先经过蛋白酶处理消化成肽段进入质谱仪进行电离, 直接通过MS光谱推断肽序列(无需数据库)和光谱库的比对搜索(需要数据库). 微生物群系的样品肽段可以来源于同一物种的同源蛋白, 也可以是不同物种的功能蛋白保守结构域(如ABC转运蛋白), 提高了肽段的分配与组装难度^[22]. 自上而下策略, 分离纯化后的蛋白质混合物将直接电离进行后续分析, 该方法可以保留完整的一级结构用于更精准的后续分析, 但高分子量蛋白质容易在样本提取、凝胶纯化过程中发生随机断裂, 导致该策略在复杂环境(如土壤微生物群系)中受到限制^[63,64].

活性污泥、生物膜的微生物群系中细胞外蛋白是细胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)的重要成分, 其主要由酶和结构蛋白组成, 主要功能包括促进菌胶团的形成、污染物吸附与降解和毒性物质脱毒等^[65]. 宏蛋白质组是解析污水降解菌群的细胞外蛋白质鉴定与功能分析的有效工具. 陈猷鹏研究团队^[66]针对污水处理厂不同环境(厌氧、缺氧和好氧)下污泥进行宏蛋白质组分析, 发现厌氧污泥样品的细胞外蛋白相比缺氧和好氧污泥样品具有更多的催化活性蛋白(如水解酶)并且直接导致污泥间的絮体结构差异. 宏蛋白质组可用于分析原位污染物降解的关键微生物、功能酶系和菌群互作, 如Herbst研究团队^[67]将¹³C标记的萘和芴添加至多环芳烃污染的工厂水层, 通过结合宏蛋白质组和蛋白质稳定同位素探测技术, 发现*Burkholderiales*, *Actinomycetales*和*Rhizobiales*是原位污染物降解微生物群系中较为活跃的微生物, 其中*Burkholderiales*是驱动水层中萘降解的关键微生物. Benndorf团队^[68]在2,4-二氯苯氧基乙酸(2,4-D)污染土壤样品发现2,4-D双加氧酶和外膜蛋白的表达, 在氯苯污染的地下水样本中发现邻苯二酚1,2-双加氧酶参与污染物代谢. Ferrer研究团队^[69]基于西班牙多环芳烃污染样本对4个微生物群系的宏蛋白质组分析, 重建了复杂微生物群系中萘在不同微生物间的“假定”降解网络.

宏蛋白质组研究在环境污染研究领域中可以挖掘在特定污染物胁迫的相关蛋白, 研究关键污染物降解酶系功能和互作机理. 它也是研究群系遗传多样性(宏基因组)与群系功能多样性联系的重要工具. 而宏蛋白质组的应用挑战包括参考蛋白质组数据库的完整度不足, 无法鉴定部分污染胁迫出现差异表达的蛋白^[70];

参考蛋白质数据库的不同选择会直接影响蛋白质鉴定结果并影响后续的功能分析^[71]; 蛋白质鉴定过程中部分肽序列可能与多种不同蛋白质都可以匹配(如真核细胞的不同蛋白质亚型), 并可能会分配至样本中不存在的蛋白质或物种造成肽段拼接错误、数据规模过大和序列注释冗余等问题^[72].

1.5 代谢组学分析

代谢组学是针对特定条件下细胞内低分子量代谢物的研究, 代谢物是生物代谢途径的中间体或最终产物, 它们的浓度水平会由于遗传因素差异和环境因素变化(如污染物)而导致发生波动, 直接反映了细胞基因组与环境之间的相互作用^[73]. 代谢组学分析的高通量检测工具包括质谱技术和核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)技术. 二者都可以在单次测量中实现大范围的代谢物结构鉴定和浓度测量. 常用的质谱技术包括气相色谱飞行时间质谱(gas chromatography time-of-flight mass spectrometry, GC-TOF-MS)、高效液相色谱质谱(liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS)或毛细管电泳质谱(capillary electrophoresis-mass spectrometry, CE-MS)仪器. 代谢组学研究对象为低分子量(<1000 Da)的有机代谢物^[15], 主要分为两种分析策略: 非靶向代谢组学和靶向代谢组学. 非靶向代谢组学主要在于尽可能无偏差地收集和鉴定样品中代谢物种类与浓度, 可以从生物样品中常规检测到数千个代谢物特征峰供后续分析, 具有非特异、全面的特点^[74]. 靶向代谢组学主要可以基于特定代谢物的先验知识进行样品制备和分析方法的优化, 更具针对性地研究特定代谢物或代谢途径.

人为污染物的排放与扩散会对环境原位微生物群体造成影响, 代谢组学有助于评估污染物(如重金属、多环芳烃、农药)对微生物的生理毒性与影响. 微生物在重金属污染胁迫下会通过分泌胞外多糖、有机酸(如草酸和柠檬酸)、氨基酸或短肽(如谷胱甘肽)等物质来耐受或减少重金属毒性^[75,76]. Booth基于荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)在铜离子胁迫下的生物膜细胞样本和游离态细胞样本的代谢组, 发现游离态细胞存在由铜毒性引发的显著氧化应激反应(烟酸与烟酰胺代谢). 在生物膜细胞中并未观察到类似的氧化应激反应, 而是由胞外多糖相关代谢占据主导, 表明胞

外多糖分泌辅助形成的生物膜是*Pseudomonas fluorescens*抵抗重金属污染的保护机制^[77]。Keum研究团队^[78]评估*Sinorhizobium*以菲为碳源和普通碳源(葡萄糖、丙酮酸、LB)的非靶向代谢组数据,发现菲降解代谢组与其他碳源代谢组的主成分分析中存在明显差异,包括TCA循环、丙酮酸代谢、辅因子生物合成和脂肪酸组成,说明微生物可能在实现降解污染物和抵抗生理毒性时,会对大范围的初级代谢和潜在次级代谢进行整体代谢调整导致代谢物谱的显著变化。刘思彤团队^[79]对自养和混合营养的厌氧氨氧化菌菌群进行代谢组分析,发现相比不同营养来源状态下的群系结构变化,营养添加所导致的代谢变化(如嘌呤、嘧啶、腐胺合成等)是影响厌氧氨氧化菌菌群的氮去除率和生物量的主要原因。微生物群体中不同微生物可以通过代谢物的传递实现污染物共代谢,同种微生物也可以通过部分代谢物(如N-酰基高丝氨酸内酯)实现群体感应完成协作^[80]。

与宏基因组、宏蛋白质组的研究对象为化学结构具有较高相似性的核苷酸或氨基酸所不同,代谢组学的主要限制是代谢物范围十分广泛,涵盖有机酸、醇、酮、疏水性脂质和复杂化合物(如抗生素、信号分子、辅因子)^[81]。不同检测方法的底物理化性质需求和灵敏度存在差异,如NMR相比质谱技术无需复杂的样品制备过程,但灵敏度和底物覆盖范围不如质谱技术。而质谱技术中GC-MS适用于挥发性有机物,LC-MS适用于难挥发性有机物的检测。代谢物理化性质的显著差异和动态变化特性使得难以使用单一的检测技术来确认特定条件下生物或环境中的全部代谢产物。

1.6 多组学联合分析

目前微生物研究的单一组学手段不足以完全表征微生物复杂的生理生化现象,如宏基因组中预测的基因在实际环境中不一定能够正常表达,而宏转录组的基因表达水平并不代表生物体中蛋白质的数量与生理活性^[82]。将多组学的多层面生理生化信息,如宏基因组的功能基因注释、宏转录组的基因表达水平、宏蛋白质组的功能蛋白挖掘、代谢组的代谢物转化与分布进行整合分析,可以避免不同技术的检测偏差,实现组学数据间的交叉验证(如关键功能蛋白质及mRNA的相关性),更全面地揭示微生物生理状态^[83],是理解微

生物群体在污染物降解机制和阐明生态修复原理的重要工具。

微生物群体多组学整合研究中宏基因组学具有良好的合作延展性。宏基因组和宏转录组的整合分析中可以实现测序序列的共同组装从而提高组装重叠群的质量^[84],并在分类注释、基因注释、基因组分箱、代谢途径构建等多方面进行共同分析。张彤团队^[85]首先基于宏基因组学功能注释和靶向代谢组重建微生物群体水平的双酚A的矿化代谢网络,通过组装基因组发现*Sphingomonas*具有完整的双酚A降解基因,而*Pseudomonas*, *Leucobacter*和*Pandoraea*仅具备部分双酚A降解相关基因。进一步通过宏转录组分析基因组中的基因表达水平发现*Sphingomonas*可能与*Pseudomonas*存在交叉喂养(cross-feeding)的协同作用强化了混合菌群的双酚A降解效率。

宏基因组和宏蛋白质组的整合分析中,宏基因组可以提供源自相同样本/环境的基因数据库从而改善蛋白质或肽段的注释结果,并且基于分类注释结果在公共数据库针对性寻找合适的参考数据^[86]。如Festa研究团队^[87]以菲作为唯一碳源培养天然菲降解菌群、人工菌群(由天然菌群分离来的7种微生物组成)和*Sphingobium* AM(由天然菌群分离的单菌)的过程中,人工菌群和单菌都展现出相比天然菌群更强的降解能力,表明天然菌群中微生物间的负相互作用。基于天然微生物菌群构建功能宏基因组学,团队发现天然菌群中未成功培养的*Burkholderia*具备菲降解基因簇,通过宏蛋白质组检测发现两种微生物在天然菌群都具有降解酶活性,说明二者间可能存在底物竞争的负相关作用。

三种以上组学整合分析目前也逐步应用到环境方法研究中,Wilmes研究团队^[88]基于工厂废水中微生物群系首先进行代谢组学和标记基因分析(16S rRNA)发现*Candidatus Microthrix*与群系内脂质积累(棕榈油酸、油酸)相关。结合宏基因组和宏转录组分析,*Candidatus Microthrix*可能通过基因表达的微调实现环境资源的高效利用。后续团队对不同时期微生物群系样本间进行多组学比较分析,通过群系范围内的代谢网络重建和关键功能基因的拓扑网络分析,团队发现不同季节中微生物群系的物种组成变化可能较大,但遗传潜力和功能基因表达方面没有显著差异^[89]。

目前边际相关分析(Pearson相关性、Spearman秩相关性等)、降维分析(PCA, CIA等)、回归分析(线性和广义线性模型等)等统计学方法常用于挖掘多组学的大数据集中隐藏的生物学信息^[90,91]。人工合成微生物组是微生物群系研究在工业生产和生态修复的重要研究方向, 结合多组学数据和数学建模可以预测特定微生物群系在特定环境条件(底物负载、氧化还原条件、pH)的生理状态, 并通过代谢网络分析来指导人工合成微生物组的优化^[93,94]。但数据的异质性和稀疏性依旧是多组学数据处理、整合、管理、转换和建模的巨大挑战^[95,96]。

2 总结与展望

由于目前微生物的分离培养局限, 许多原位污染环境中的关键降解微生物仍无法实现分离或纯培养, 限制了生态修复和污染物降解的相关研究。组学研究策略为研究污染环境中微生物整体群系提供了有效的表征手段, 标记基因分析可以不依赖培养分析群系结构, 宏基因组分析可以预测微生物的代谢潜力并通过

文库构建挖掘新的功能基因, 宏转录组可以辅助研究微生物群体面对特定污染物的转录调控机制, 宏蛋白质组和代谢组学可以辅助功能蛋白筛选和阐明外界污染胁迫下微生物的代谢响应等。

随着测序技术发展和成本降低, 从单一组学研究向多种组学技术联合研究的趋势越来越明显, 未来多组学分析的挑战可能集中在以下方面。(1) 多组学实验设计和数据获取标准化。如样本元数据统一(位点、季节、频率、特定时间)和理化条件相似(温度、pH、盐度)以避免环境中的天然微生物菌群的周期性变化; 不同组学的样品提取方法优化; 分析平台的一致性和自动化操作来实现批次效应影响的最小化。(2) 多组学数据处理流程标准化。用于综合评估微生物群系的分类学和分子特征(基因家族、代谢途径、功能模块)。如数据集归一化、缺失值插补、特征选择等数据预处理算法^[97]和多组学聚类算法、多组学网络分析算法等新分析模型的开发来优化分析结果^[95,98]。目前多组学的有效结合已为微生物群系提供高效的分析策略, 并为后续关键生态修复、污染物降解和人工微生物组构建研究带来广阔前景。

参考文献

- Shen M, Huang W, Chen M, et al. (Micro)plastic crisis: un-ignorable contribution to global greenhouse gas emissions and climate change. *J Cleaner Production*, 2020, 254: 120138
- Yadav I C, Devi N L, Syed J H, et al. Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: a comprehensive review of India. *Sci Total Environ*, 2015, 511: 123–137
- Reddy C M, Arey J S, Seewald J S, et al. Composition and fate of gas and oil released to the water column during the *Deepwater Horizon* oil spill. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 20229–20234
- Chowdhury S, Mazumder M A J, Al-Attas O, et al. Heavy metals in drinking water: occurrences, implications, and future needs in developing countries. *Sci Total Environ*, 2016, 569–570: 476–488
- Dann A B, Hontela A. Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. *J Appl Toxicol*, 2011, 31: 285–311
- Horton A A, Walton A, Spurgeon D J, et al. Microplastics in freshwater and terrestrial environments: evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Sci Total Environ*, 2017, 586: 127–141
- Alvarez A, Saez J M, Davila Costa J S, et al. Actinobacteria: current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere*, 2017, 166: 41–62
- Akash M S H, Sabir S, Rehman K. Bisphenol A-induced metabolic disorders: from exposure to mechanism of action. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2020, 77: 103373
- Benjamin S, Masai E, Kamimura N, et al. Phthalates impact human health: epidemiological evidences and plausible mechanism of action. *J Hazard Mater*, 2017, 340: 360–383
- Kim S, Chu K H, Al-Hamadani Y A J, et al. Removal of contaminants of emerging concern by membranes in water and wastewater: a review. *Chem Eng J*, 2018, 335: 896–914
- Garcia-Segura S, Ocon J D, Chong M N. Electrochemical oxidation remediation of real wastewater effluents—a review. *Process Saf Environ*

- Protection, 2018, 113: 48–67
- 12 Bhati V S, Hojamberdiev M, Kumar M. Enhanced sensing performance of ZnO nanostructures-based gas sensors: a review. *Energy Rep*, 2020, 6: 46–62
- 13 Dai Y, Zhang N, Xing C, et al. The adsorption, regeneration and engineering applications of biochar for removal organic pollutants: a review. *Chemosphere*, 2019, 223: 12–27
- 14 Bouhajja E, Agathos S N, George I F. Metagenomics: probing pollutant fate in natural and engineered ecosystems. *Biotechnol Adv*, 2016, 34: 1413–1426
- 15 Mishra S, Lin Z, Pang S, et al. Recent advanced technologies for the characterization of xenobiotic-degrading microorganisms and microbial communities. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 632059
- 16 Lewis W H, Tahon G, Geesink P, et al. Innovations to culturing the uncultured microbial majority. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19: 225–240
- 17 Mehrete G T, Dastager S G, Dharne M S. Biodegradation of mixed polycyclic aromatic hydrocarbons by pure and mixed cultures of biosurfactant producing thermophilic and thermo-tolerant bacteria. *Sci Total Environ*, 2019, 679: 52–60
- 18 Patowary K, Patowary R, Kalita M C, et al. Development of an efficient bacterial consortium for the potential remediation of hydrocarbons from contaminated sites. *Front Microbiol*, 2016, 7: 476–488
- 19 Levy-Booth D J, Prescott C E, Grayston S J. Microbial functional genes involved in nitrogen fixation, nitrification and denitrification in forest ecosystems. *Soil Biol Biochem*, 2014, 75: 11–25
- 20 Mason O U, Hazen T C, Borglin S, et al. Metagenome, metatranscriptome and single-cell sequencing reveal microbial response to *Deepwater Horizon* oil spill. *ISME J*, 2012, 6: 1715–1727
- 21 Cui H, Zhou W, Deng Y, et al. Meta-transcriptomic profiling of functional variation of freshwater microbial communities induced by an antidepressant sertraline hydrochloride. *Sci Total Environ*, 2021, 786: 147434
- 22 Herbst F A, Lünsmann V, Kjeldal H, et al. Enhancing metaproteomics—the value of models and defined environmental microbial systems. *Proteomics*, 2016, 16: 783–798
- 23 Serra-Compte A, Corcoll N, Huerta B, et al. Fluvial biofilms exposed to desiccation and pharmaceutical pollution: new insights using metabolomics. *Sci Total Environ*, 2018, 618: 1382–1388
- 24 Knight R, Vrbanac A, Taylor B C, et al. Best practices for analysing microbiomes. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16: 410–422
- 25 Barb J J, Oler A J, Kim H S, et al. Development of an analysis pipeline characterizing multiple hypervariable regions of 16S rRNA using mock samples. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0148047
- 26 Yang R H, Su J H, Shang J J, et al. Evaluation of the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS), specifically ITS1 and ITS2, for the analysis of fungal diversity by deep sequencing. *PLoS ONE*, 2018, 13: e0206428
- 27 van Loosdrecht M C M, Brdjanovic D. Anticipating the next century of wastewater treatment. *Science*, 2014, 344: 1452–1453
- 28 Wu L, Ning D, Zhang B, et al. Global diversity and biogeography of bacterial communities in wastewater treatment plants. *Nat Microbiol*, 2019, 4: 1183–1195
- 29 Bernabeu A M, Nuez de la Fuente M, Rey D, et al. Beach morphodynamics forcements in oiled shorelines: coupled physical and chemical processes during and after fuel burial. *Mar Pollut Bull*, 2006, 52: 1156–1168
- 30 Acosta-González A, Rosselló-Móra R, Marqués S. Characterization of the anaerobic microbial community in oil-polluted subtidal sediments: aromatic biodegradation potential after the *Prestige* oil spill. *Environ Microbiol*, 2013, 15: 77–92
- 31 Smith M B, Rocha A M, Smillie C S, et al. Natural bacterial communities serve as quantitative geochemical biosensors. *mBio*, 2015, 6: e00326–15
- 32 Langille M G I, Zaneveld J, Caporaso J G, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 814–821
- 33 Paulson J N, Stine O C, Bravo H C, et al. Differential abundance analysis for microbial marker-gene surveys. *Nat Methods*, 2013, 10: 1200–1202
- 34 Malla M A, Dubey A, Yadav S, et al. Understanding and designing the strategies for the microbe-mediated remediation of environmental contaminants using omics approaches. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1132
- 35 Ufarté L, Laville É, Duquesne S, et al. Metagenomics for the discovery of pollutant degrading enzymes. *Biotechnol Adv*, 2015, 33: 1845–1854
- 36 Imchen M, Kumavath R, Barh D, et al. Comparative mangrove metagenome reveals global prevalence of heavy metals and antibiotic resistome across different ecosystems. *Sci Rep*, 2018, 8: 11187

- 37 Brisson V L, West K A, Lee P K H, et al. Metagenomic analysis of a stable trichloroethene-degrading microbial community. *ISME J*, 2012, 6: 1702–1714
- 38 Vigneron A, Cruaud P, Ducellier F, et al. Syntrophic hydrocarbon degradation in a decommissioned off-shore subsea oil storage structure. *Microorganisms*, 2021, 9: 356
- 39 Hug L A, Beiko R G, Rowe A R, et al. Comparative metagenomics of three Dehalococcoides-containing enrichment cultures: the role of the non-dechlorinating community. *BMC Genomics*, 2012, 13: 327
- 40 Lykidis A, Chen C L, Tringe S G, et al. Multiple syntrophic interactions in a terephthalate-degrading methanogenic consortium. *ISME J*, 2011, 5: 122–130
- 41 Quince C, Walker A W, Simpson J T, et al. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol*, 2017, 35: 833–844
- 42 Bowers R M, Kyrpides N C, Stepanauskas R, et al. Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea. *Nat Biotechnol*, 2017, 35: 725–731
- 43 Van Rossum T, Ferretti P, Maistrenko O M, et al. Diversity within species: interpreting strains in microbiomes. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18: 491–506
- 44 Cross K L, Campbell J H, Balachandran M, et al. Targeted isolation and cultivation of uncultivated bacteria by reverse genomics. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 1314–1321
- 45 Mirete S, Morgante V, González-Pastor J E. Functional metagenomics of extreme environments. *Curr Opin Biotechnol*, 2016, 38: 143–149
- 46 Lewin A, Strand T A, Haugen T, et al. Discovery and characterization of a thermostable esterase from an oil reservoir metagenome. *AER*, 2016, 04: 68–86
- 47 Suenaga H, Ohnuki T, Miyazaki K. Functional screening of a metagenomic library for genes involved in microbial degradation of aromatic compounds. *Environ Microbiol*, 2007, 9: 2289–2297
- 48 Lu Y, Yu Y, Zhou R, et al. Cloning and characterisation of a novel 2,4-dichlorophenol hydroxylase from a metagenomic library derived from polychlorinated biphenyl-contaminated soil. *Biotechnol Lett*, 2011, 33: 1159–1167
- 49 Ngara T R, Zhang H. Recent advances in function-based metagenomic screening. *Genomics Proteomics BioInf*, 2018, 16: 405–415
- 50 Jansson J K, Hofmockel K S. The soil microbiome—from metagenomics to metaproteomics. *Curr Opin Microbiol*, 2018, 43: 162–168
- 51 Craig J W, Chang F Y, Kim J H, et al. Expanding small-molecule functional metagenomics through parallel screening of broad-host-range cosmid environmental DNA libraries in diverse *Proteobacteria*. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76: 1633–1641
- 52 Warren R L, Freeman J D, Levesque R C, et al. Transcription of foreign DNA in *Escherichia coli*. *Genome Res*, 2008, 18: 1798–1805
- 53 Maurice C F, Haiser H J, Turnbaugh P J. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*, 2013, 152: 39–50
- 54 Stedtfeld R D, Baushke S W, Tourlousse D M, et al. Development and experimental validation of a predictive threshold cycle equation for quantification of virulence and marker genes by high-throughput nanoliter-volume PCR on the OpenArray platform. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74: 3831–3838
- 55 Zhou X Q, Hao Y Y, Gu B, et al. Microbial communities associated with methylmercury degradation in paddy soils. *Environ Sci Technol*, 2020, 54: 7952–7960
- 56 Falk N, Reid T, Skoyles A, et al. Microbial metatranscriptomic investigations across contaminant gradients of the Detroit River. *Sci Total Environ*, 2019, 690: 121–131
- 57 Mukherjee A, Yadav R, Marmesse R, et al. Heavy metal hypertolerant eukaryotic aldehyde dehydrogenase isolated from metal contaminated soil by metatranscriptomics approach. *Biochimie*, 2019, 160: 183–192
- 58 Mukherjee A, Reddy M S. Metatranscriptomics: an approach for retrieving novel eukaryotic genes from polluted and related environments. *3 Biotech*, 2020, 10: 71
- 59 Atshan S S, Shamsudin M N, Lung L T T, et al. Improved method for the isolation of RNA from bacteria refractory to disruption, including *S. aureus* producing biofilm. *Gene*, 2012, 494: 219–224
- 60 Fitzpatrick A H, Rupnik A, O'Shea H, et al. High throughput sequencing for the detection and characterization of RNA viruses. *Front Microbiol*, 2021, 12: 621719
- 61 Wilmes P, Bond P L. The application of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis and downstream analyses to a mixed community of prokaryotic microorganisms. *Environ Microbiol*, 2004, 6: 911–920

- 62 Schneider T, Keiblinger K M, Schmid E, et al. Who is who in litter decomposition? Metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. *ISME J*, 2012, 6: 1749–1762
- 63 Toby T K, Fornelli L, Kelleher N L. Progress in top-down proteomics and the analysis of proteoforms. *Annu Rev Anal Chem*, 2016, 9: 499–519
- 64 Abiraami T V, Singh S, Nain L. Soil metaproteomics as a tool for monitoring functional microbial communities: promises and challenges. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 2020, 19: 73–102
- 65 Zhang P, Zhu J, Xu X Y, et al. Identification and function of extracellular protein in wastewater treatment using proteomic approaches: a minireview. *J Environ Manage*, 2019, 233: 24–29
- 66 Zhang P, Shen Y, Guo J S, et al. Extracellular protein analysis of activated sludge and their functions in wastewater treatment plant by shotgun proteomics. *Sci Rep*, 2015, 5: 12041
- 67 Herbst F A, Bahr A, Duarte M, et al. Elucidation of in situ polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by functional metaproteomics (protein-SIP). *Proteomics*, 2013, 13: 2910–2920
- 68 Benndorf D, Balcke G U, Harms H, et al. Functional metaproteome analysis of protein extracts from contaminated soil and groundwater. *ISME J*, 2007, 1: 224–234
- 69 Guazzaroni M E, Herbst F A, Lores I, et al. Metaproteogenomic insights beyond bacterial response to naphthalene exposure and bio-stimulation. *ISME J*, 2013, 7: 122–136
- 70 Shim J E, Lee W S. On-line analytical framework for the 2-DE based proteome information. *Expert Syst Appl*, 2009, 36: 7528–7534
- 71 Tanca A, Palomba A, Deligios M, et al. Evaluating the impact of different sequence databases on metaproteome analysis: insights from a lab-assembled microbial mixture. *PLoS ONE*, 2013, 8: e82981
- 72 Kleiner M, Thorson E, Sharp C E, et al. Assessing species biomass contributions in microbial communities via metaproteomics. *Nat Commun*, 2017, 8: 1558
- 73 Raamsdonk L M, Teusink B, Broadhurst D, et al. A functional genomics strategy that uses metabolome data to reveal the phenotype of silent mutations. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 45–50
- 74 Patti G J, Yanes O, Siuzdak G. Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 263–269
- 75 Fomina M, Hillier S, Charnock J M, et al. Role of oxalic acid overexcretion in transformations of toxic metal minerals by *Beauveria caledonica*. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71: 371–381
- 76 Salazar-Ramírez G, Flores-Vallejo R D C, Rivera-Leyva J C, et al. Characterization of fungal endophytes isolated from the metal hyperaccumulator plant *Vachellia farnesiana* growing in mine tailings. *Microorganisms*, 2020, 8: 226
- 77 Booth S C, Workentine M L, Wen J, et al. Differences in metabolism between the biofilm and planktonic response to metal stress. *J Proteome Res*, 2011, 10: 3190–3199
- 78 Keum Y S, Seo J S, Li Q X, et al. Comparative metabolomic analysis of *Sinorhizobium* sp. C4 during the degradation of phenanthrene. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 80: 863–872
- 79 Feng Y, Zhao Y, Guo Y, et al. Microbial transcript and metabolome analysis uncover discrepant metabolic pathways in autotrophic and mixotrophic anammox consortia. *Water Res*, 2018, 128: 402–411
- 80 Tan C H, Koh K S, Xie C, et al. The role of quorum sensing signalling in EPS production and the assembly of a sludge community into aerobic granules. *ISME J*, 2014, 8: 1186–1197
- 81 Stenuit B, Eysers L, Schuler L, et al. Emerging high-throughput approaches to analyze bioremediation of sites contaminated with hazardous and/or recalcitrant wastes. *Biotechnol Adv*, 2008, 26: 561–575
- 82 Lindgreen S, Adair K L, Gardner P P. An evaluation of the accuracy and speed of metagenome analysis tools. *Sci Rep*, 2016, 6: 19233
- 83 Zhang W, Li F, Nie L. Integrating multiple ‘omics’ analysis for microbial biology: application and methodologies. *Microbiology*, 2010, 156: 287–301
- 84 Narayanasamy S, Jarosz Y, Muller E E L, et al. IMP: a pipeline for reproducible reference-independent integrated metagenomic and metatranscriptomic analyses. *Genome Biol*, 2016, 17: 260
- 85 Yu K, Yi S, Li B, et al. An integrated meta-omics approach reveals substrates involved in synergistic interactions in a bisphenol A (BPA)-degrading microbial community. *Microbiome*, 2019, 7: 16
- 86 Tanca A, Palomba A, Fraumene C, et al. The impact of sequence database choice on metaproteomic results in gut microbiota studies. *Microbiome*, 2016, 4: 51

- 87 Festa S, Coppotelli B M, Madueño L, et al. Assigning ecological roles to the populations belonging to a phenanthrene-degrading bacterial consortium using omic approaches. *PLoS ONE*, 2017, 12: e0184505
- 88 Muller E E L, Pinel N, Laczny C C, et al. Community-integrated omics links dominance of a microbial generalist to fine-tuned resource usage. *Nat Commun*, 2014, 5: 5603
- 89 Roume H, Heintz-Buschart A, Muller E E L, et al. Comparative integrated omics: identification of key functionalities in microbial community-wide metabolic networks. *npj Biofilms Microbiomes*, 2015, 1: 15007
- 90 Heintz-Buschart A, May P, Laczny C C, et al. Integrated multi-omics of the human gut microbiome in a case study of familial type 1 diabetes. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 16180
- 91 Bakker O B, Aguirre-Gamboa R, Sanna S, et al. Integration of multi-omics data and deep phenotyping enables prediction of cytokine responses. *Nat Immunol*, 2018, 19: 776–786
- 92 Lawson C E, Harcombe W R, Hatzepichler R, et al. Common principles and best practices for engineering microbiomes. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17: 725–741
- 93 Xu Z, Hu H, Xu P, et al. Development and application of synthetic microbiome. *Synthe Biol Jtemp*, 2021, 2: 181–193
- 94 Jiang D, Armour C R, Hu C, et al. Microbiome multi-omics network analysis: statistical considerations, limitations, and opportunities. *Front Genet*, 2019, 10: 995
- 95 Bittner L, Halary S, Payri C, et al. Some considerations for analyzing biodiversity using integrative metagenomics and gene networks. *Biol Direct*, 2010, 5: 47
- 96 Lê Cao K A, Martin P G P, Robert-Granié C, et al. Sparse canonical methods for biological data integration: application to a cross-platform study. *BMC BioInf*, 2009, 10: 34
- 97 Rappoport N, Shamir R. Multi-omic and multi-view clustering algorithms: review and cancer benchmark. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 10546–10562

Multi-omics strategies and applications for the degradation of pollutants by microbiome

HUANG YiQun, WEN LingYu & TANG HongZhi

State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

The wide distribution and metabolic flexibility of microorganisms in nature endow them with the capacity to degrade large amounts of xenobiotic substances. Human production activities release a variety of xenobiotic pollutants into the soil, water and atmosphere causing serious environmental pollution problems. Xenobiotic contaminants are partially or completely mineralized by the combination of metabolic collaboration among microbiome and environmental factors. Traditional pollutant degradation studies are based on isolation and culture of microorganisms, while high-throughput strategies such as metagenome, metatranscriptome, metaproteome and metabolome provide technical support to investigate pollutant degradation and ecological remediation by microbiome. This article mainly introduces the applications of different omics in exploring the microbiome in pollutant degradation and ecological restoration.

microbiome, omics, ecological restoration, pollutant degradation

doi: [10.1360/SSV-2021-0426](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0426)