

聚球藻 7942 光自养培养的碳代谢和能量代谢

颜日明^{1,2}, 张志斌², 朱筠^{2,3}, 储炬¹

1 华东理工大学 生物反应器国家重点实验室, 上海 200237

2 江西师范大学生命科学学院 江西省亚热带植物利用与保护重点实验室, 南昌 330022

3 宜春学院, 宜春 336000

摘要: 代谢通量分析是研究微藻光自养培养过程中 CO₂ 和光能利用的一个非常有用的工具。本研究建立了聚球藻 7942 光自养培养代谢网络, 并通过代谢通量方法分析了不同入射光强下的碳代谢流分布和能量代谢。研究结果表明, CO₂ 固定是代谢能量和还原力消耗的主要途径, 分别约占总消耗能量的 85%和 70%。研究还发现在一定光强范围, 基于 ATP 生成的细胞得率和最大细胞得率基本维持不变, 分别约为 2.80 g/mol ATP 和 2.95 g/mol ATP, 但基于总吸收光能的细胞得率和对应的光能转换效率则随着光强的增加而降低。

关键词: 聚球藻 7942, 连续培养, 代谢通量分析, 能量代谢, 光能转化

Carbon and energetic metabolism of *Synechococcus* sp. PCC7942 under photoautotrophic conditions

Riming Yan^{1,2}, Zhibin Zhang², Du Zhu^{2,3}, and Ju Chu¹

1 State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

2 Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropical Plant Resources of Jiangxi Province, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China

3 Yichun University, Yichun 336000, China

Abstract: Metabolic flux analysis is a very powerful tool to understand CO₂ fixation and light energy utilization of microalgae during photoautotrophic cultivation. A comprehensive network structure for the autotrophic growth of *Synechococcus* sp. PCC7942 was proposed, and the carbon and energetic metabolism under different incident light intensity was investigated based on metabolic flux analysis in this paper. These results showed that CO₂ fixation was the main energy and reducing potential trap which accounted for 85% and 70% of the total energy and reducing potential consumption respectively. We also found that the cell yield and the maximum cell yield based on ATP synthesis were maintained 2.80 g/mol and 2.97 g/mol respectively under the appointed incident intensity. But the cell yield on absorbed light energy their corresponding energy conversion efficiency were descended with the increasing of incident intensity.

Keywords: *Synechococcus* sp. PCC7942, continuous cultivation, metabolic flux analysis, energetic metabolism, light energy conversion

Received: May 11, 2009; **Accepted:** July 9, 2009

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 20506009), Natural Science Foundation of Jiangxi Province (No. 0530095), Education Department of Jiangxi (No. GJJ08147).

Corresponding author: Du Zhu. Tel: +86-79-53200616; E-mail: zhudu12@163.com

Ju Chu. Tel: +86-21-64253021; E-mail: juchu@ecust.edu.cn

国家自然科学基金项目(No. 20506009), 江西省自然科学基金(No. 0530095), 江西省教育厅(No. GJJ08147)资助。

微藻作为光自养生长微生物, 大多以光能作为能源, CO_2 为碳源进行生长。光能是影响藻细胞生长和产物生成的最重要的因素, 因此对于光能的利用效率研究一直是植物和藻类研究的重点之一。利用代谢通量分析方法研究藻类的光能利用效率是近年来微藻研究的一个重要方向, 尤其通过对光自养微藻生长过程中细胞内代谢流的研究, 有助于从细胞代谢角度了解微藻培养的碳流和能流传递规律, 为提高微藻产量和光能利用效率提供依据。迄今已有一些研究者对微藻培养的碳流和能流传递规律进行了分析, Cogne 等^[1]和 Nishioka 等^[2]利用代谢通量分析分别研究了钝顶节旋藻(*Arthrospira platensis*)和聚球藻 MA19(*Synechococcus* sp. MA19)光自养条件下的碳流分布规律, 喻国策等^[3]阐述了鱼腥藻 7120(*Anabeana* sp. PCC7120)在混养条件下的碳流分布和能量利用情况, Yang 等^[4]则更详细地比较了蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)在不同营养类型下的代谢流分布规律及能量利用效率。但是到目前为止, 对于蓝藻的光合自养代谢流分析研究工作还很少。蓝藻作为光合作用基础研究的理想模式系统, 对其光合自养代谢流的研究, 不但能够了解光自养微藻的生长和能量代谢规律, 为提高细胞得率和光能转化率提供理论依据, 也能够为光合自养微藻大规模培养技术的发展奠定基础。

聚球藻 7942 (*Synechococcus* sp. PCC7942)是一种营专一性光自养生长的单细胞原核蓝藻, 其不仅在光合作用等研究方面是一种广泛采用的模式蓝藻, 而且也是外源基因表达的有效宿主。本研究以聚球藻 7942 为研究材料, 采用恒化培养技术, 应用代谢通量分析方法对其在不同光强下生长过程中的碳代谢和能量代谢进行了研究, 并获得相关结果。

1 材料和方法

1.1 藻种与培养基

聚球藻 7942 (*Synechococcus* sp. PCC7942)由中国科学院水生生物研究所藻种库提供。实验培养基采用改良的 BG-11 培养基^[5]。

1.2 连续培养方法

藻细胞在总装量为 2.5 L 的玻璃平板式光生物反应器(25 cm×36 cm×2.8 cm)中进行(图 1), 工作体

积 1.8 L, 光照由 6 支均匀排列于反应器外部的日光灯管提供(Philips, 8 W), 通过调节光源位置的远近, 使入射光强分别为 $25.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、 $47.3 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 $86.7 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 培养温度为 28°C , 空气流量为 0.5 vvm。藻细胞接种后初始浓度为细胞干重 0.04 g/L, 先分批培养至稳定期, 再用双通道恒流泵(BT1-200E 型, 上海琪特)同时以恒速加入新鲜培养基和抽出培养液, 稀释率均为 0.0417 h^{-1} , 每隔 12 h 取样测定菌体浓度和 pH, 连续 4 次变化在 5%以内认为达到稳定。

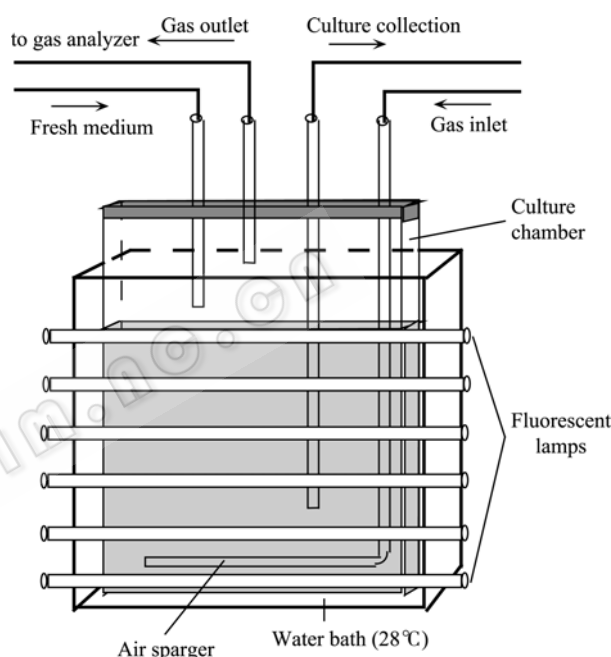


图 1 聚球藻 7942 光自养连续培养装置
Fig. 1 Equipment for continuous cultivation of *Synechococcus* sp. PCC7942 under photoautotrophic condition.

1.3 分析方法

细胞浓度通过 721 型分光光度计检测波长为 730 nm 处的吸收值得到。藻细胞在 $OD_{730}=0\sim 0.85$ 范围内与干重成线性关系: $X (\text{g/L})=0.352 OD_{730}$, $R^2=0.998$;

光强采用光合有效辐射计(北京师范大学光电仪器厂)测定;

叶绿素浓度采用比色法测定^[6];

碳水化合物含量采用硫酸-苯酚法^[7];

蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法^[8];

藻液中碳酸盐测定采用盐酸滴定法^[9];

藻细胞碳(C)、氧(O)、氮(N)和氢(H)元素含量

用 Elementar Vario EL III 型元素分析仪(德国)进行测定。

尾气 CO₂ 和 O₂ 浓度分别采用 PA200-GXH 型红外线气体分析器 PA200-CJ 型磁机械式氧分析器(重庆川仪分析仪器有限公司)在线测定。

2 代谢流分析

2.1 代谢网络构建

聚球藻 7942 初级碳代谢包括卡尔文(Calvin)循环、糖酵解(EMP)途径、磷酸己糖(HMP)循环、三羧

酸(TCA)循环和乙醛酸循环等途径^[10]。由于聚球藻 7942 是专一性原核光自养微生物,细胞中没有叶绿体,光合色素都结合于细胞质类囊体膜上,与光合作用有关的酶存在于细胞质中,因此卡尔文循环和磷酸戊糖途径可进行合并。Smith 等^[11]利用同位素标记对营专一性自养与兼性异养微生物的生化基础进行了研究,提出营专一性光自养微生物具有不完全三羧酸循环。TCA 循环中维持碳源稳定是通过 PEP 羧化酶催化固定 CO₂ 来实现^[12]。此外光自养生长的聚球藻细胞中异柠檬酸裂解酶的活性很低^[13]; Hoare

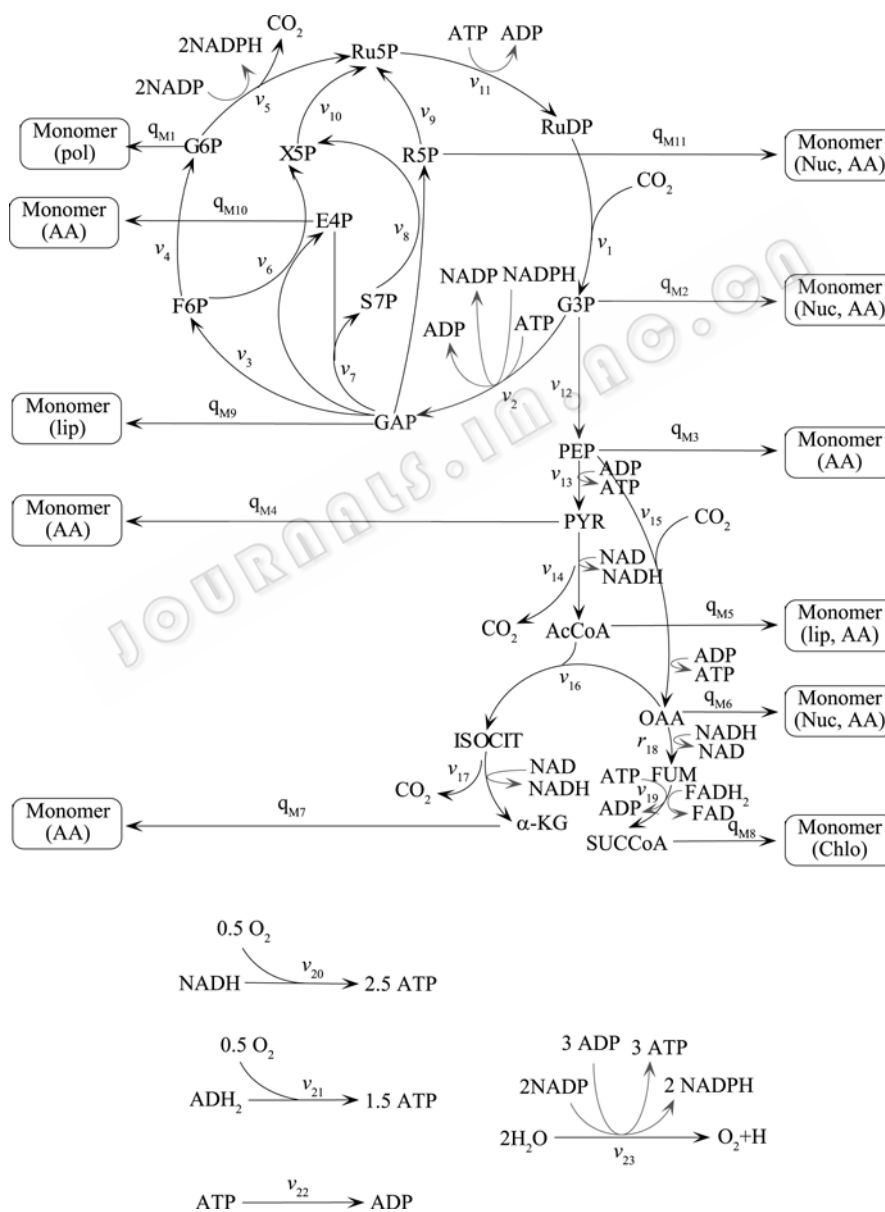


图 2 聚球藻 7942 主要代谢网络简图

Fig. 2 A schematic view of key pathways of central metabolism in *Synechococcus* sp. PCC7942.

& Moore 利用同位素示踪, 研究乙酸如何进入藻体, 没有发现乙醛酸循环起作用的证据^[14], 因此本研究中不考虑乙醛酸循环。为了降低代谢网络的复杂性和减少代谢流量平衡方程, 本研究还做了以下一些简化: 1) 按照固定比例进行的反应, 简化为一个方程式, 特别是大分子物质的合成, 如 DNA 和 RNA 等; 2) 只列出主要代谢物质的流量平衡方程; 3) 藻细胞通过光呼吸所损耗的 CO₂ 极小且不容易测定^[15], 可忽略代谢网络中的光呼吸作用; 4) 聚球藻 7942 在以 NaHCO₃ 为主要碳源的光自养培养过程中, 消耗的碳源基本上用于藻细胞的生长, 因此假定所有代谢物出口全部合成菌体, 其中细胞的脂肪酸组成比例与单体组成分别来自文献[16-19]。由此获得聚球藻 7942 光自养条件下的主要碳代谢途径简图(图 2), 相应反应方程式见文后附录 1。

2.2 碳代谢流计算

代谢流分析的理论基础是物料平衡, 代谢物之间的转变遵循化学反应计量关系。

以 r_i 表示代谢反应网络中第 i 种代谢物的积累速率, 则有

$$r_i = \sum a_{ij}v_j \quad (1)$$

式(1)中 a_{ij} 和 v_j 分别表示第 i 种代谢物在第 j 个反应中的化学计量系数和反应流量。整个代谢网络中的所有代谢物可以组成如下线性方程组

$$r = Gv \quad (2)$$

式(2)中 G 为 $m \times n$ 的化学计量系数矩阵, r 和 v 分别为 m 维代谢物累积速率向量和 n 维流量向量。上述反应网络中包含 18 个方程和 30 个代谢流量, 其中包括 12 个已知流量和 18 个未知流量。通过矩阵的分割将 G 转化为 2 个矩阵 G_c 和 G_m , 由于在稳态时中间代谢物无积累, 因此剩下的 18 个未知流量可通过正定线性方程组获得。根据

$$0 = Gv = G_m v_m + G_c v_c \quad (3)$$

则

$$v_c = -(G_c)^{-1} G_m v_m \quad (4)$$

式(3)和(4)中 G_m 、 G_c 分别表示已知和未知代谢物的化学计量系数矩阵, v_m 、 v_c 分别表示已知和未知代谢物流量向量。

以 CO₂ 进入 Calvin 循环的比速率为基准, 利用 Matlab 软件可以计算出所有相对未知流量, 进而获

得聚球藻 7942 的碳代谢流量分布(图 3)。

3 结果与分析

3.1 碳代谢流分布

从图 3 可以看出, 聚球藻 7942 细胞利用光能固定 CO₂, 推动卡尔文循环、糖酵解途径以及不完全三羧酸循环不断进行。藻细胞通过 1,5-二磷酸核酮糖羧化/氧化酶所固定的 C 在 G3P 处进行分流, 87%左右进入磷酸戊糖途径, 仅有很少一部分进入了糖酵解途径。同时发现, 和混养或异养不同, 6-磷酸果糖(F6P)经 6-磷酸葡萄糖(G6P)形成 5-磷酸核酮糖(Ru5P)途径的代谢流量相对经 5-磷酸木酮糖(X5P)和 5-磷酸核糖(R5P)形成 5-磷酸核酮糖(Ru5P)的流量小很多, 这说明光自养条件下, 6-磷酸葡萄糖脱氢酶受到限制, Calvin 循环固定 CO₂ 的还原力 NADPH 主要来自光合磷酸化, 而不是通过磷酸戊糖途径, 同时也说明后者是 5-磷酸核酮糖(Ru5P)的主要再生途径。由于 5-磷酸核酮糖(Ru5P)的再生是 Calvin 循环的重要组成部分, 因此 Ru5P 的再生速率对于叶绿体的光合作用起重要作用^[20]。藻细胞在不同的培养光强下, Ru5P 的再生速率会有所不同。随着光强的增加, CO₂ 固定速率会加快, 这就要求藻细胞具有较高的 Ru5P 再生速率来维持 Calvin 循环的进行, 但光强的进一步增加也会使藻细胞的光合系统和电子传递光抑制程度增加^[21], 从而使 Calvin 循环速率相对降低, Ru5P 再生速率也随之降低。因此在本实验中, 光强为 47.3 μmol/(m²·s)时的 Ru5P 再生速率比高光强 86.7 μmol/(m²·s)和低光强 25.2 μmol/(m²·s)时的要大一些, 从而使得 47.3 μmol/(m²·s)光强下 6-磷酸果糖(F6P)经 6-磷酸葡萄糖(G6P)形成 5-磷酸核酮糖(Ru5P)的代谢流量要比其他 2 个光强条件下低。此外, 由于酵解途径和 TCA 循环是合成细胞前体物质的重要途径, 从这 2 条途径的代谢通量数据可以看出, 47.3 μmol/(m²·s)光强下的代谢物流量要高于其他 2 个光强, 说明在该光强下更有利于细胞前体物质的合成。

3.2 能量代谢分析

利用代谢流分布结果, 可以获得 ATP 和 NAD(P)H 的产生和消耗速率(表 1)。藻细胞 ATP 的总产生量 r_{ATP} 为光合磷酸化、底物磷酸化和氧化磷

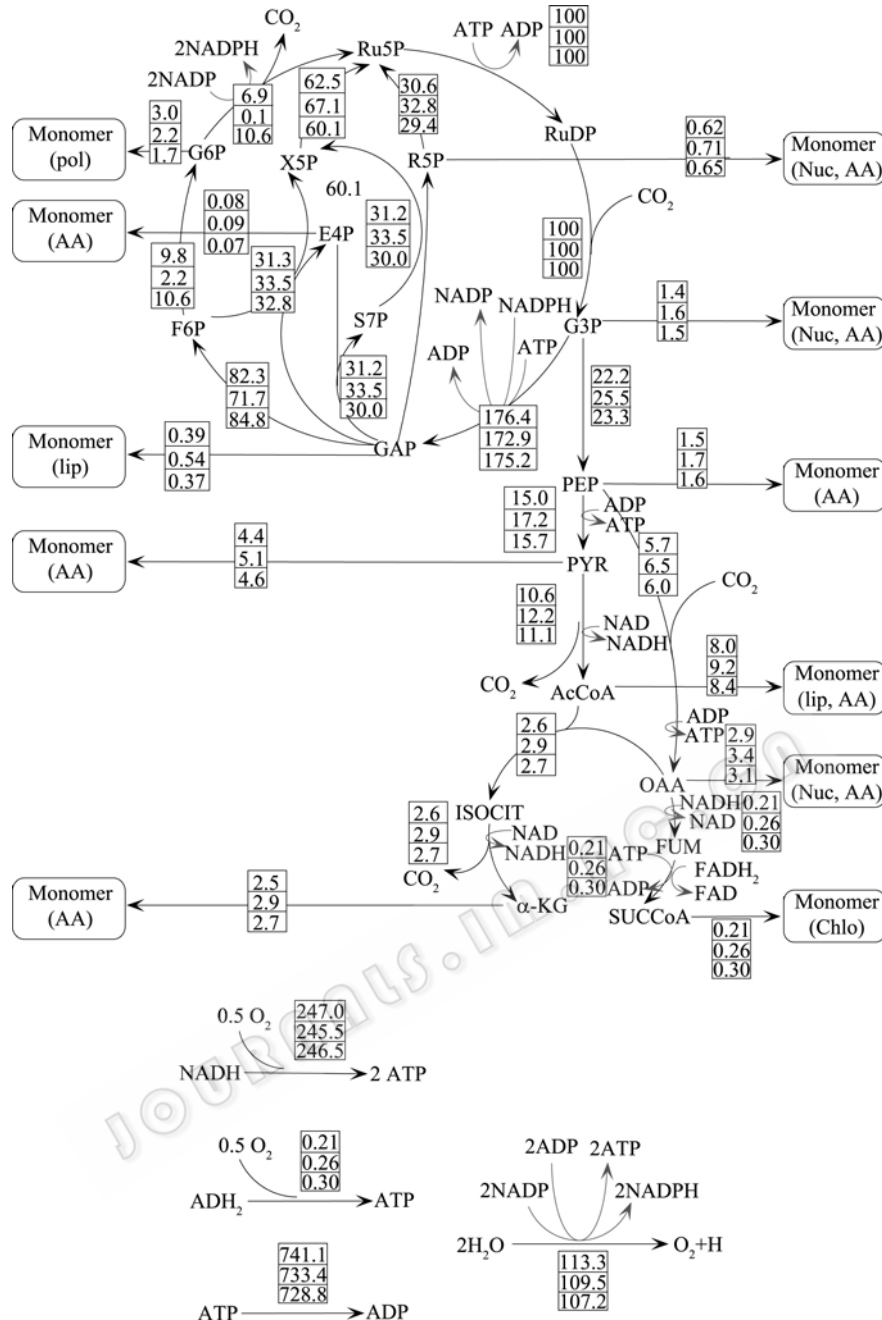


图 3 聚球藻 7942 在入射光强分别为 86.7、47.3 和 25.2 μmol/(m²·s)时的代谢流分布

Fig. 3 Metabolic flux distribution (expressed as mol/100 mol CO₂ fixed) of *Synechococcus* sp. PCC7942 at incident light intensity of 86.7, 47.3 and 25.2 μmol/(m²·s), respectively.

酸化 3 方面总和, 其中 90%以上来自光合磷酸化。聚球藻 7942 生长过程中用于光合 CO₂ 固定所需 ATP 较多, 约占 ATP 总消耗的 85%, 而用于细胞物质合成的 ATP 量则仅占 10%左右。同样, 从还原力 NAD(P)H 的产生和消耗情况来看, 光合磷酸化也是 NAD(P)H 产生的主要途径, 约占总产生量的 90%, 而通过中间代谢途径(磷酸戊糖途径、糖酵解途径和

TCA 循环等)产生的 NAD(P)H 则很少。同时也可以看到, Calvin 循环是 NAD(P)H 的主要消耗途径, 达到总消耗的 70%以上。这也进一步表明了光能是光自养藻类的主要能量和还原力提供者, 藻细胞通过光合磷酸化作用, 能产生大量的 ATP 和 NAD(P)H, 用来推动暗反应将 CO₂ 固定, 同时也推动细胞的生长和产物合成。

表 1 聚球藻 7942 光自养培养过程中 ATP 与 NAD(P)H 的产生与利用(mmol/(g·h))

Table 1 Generation and utilization of ATP and NAD(P)H in the autotrophic culture of *Synechococcus* sp. PCC7942 (mmolATP/(g·h))

	Incident intensity (μmol/(m ² ·s))		
	86.7	47.3	25.2
ATP production			
Photophosphorylation	13.80	13.34	13.06
Direct ATP	0.42	0.48	0.43
Oxidative phosphorylation	0.83	1.07	1.30
ATP consumption			
Calvin Cycle	12.77	12.56	12.70
Synthesis of cell mass	1.49	1.61	1.40
Maintenance	0.78	0.71	0.69
NAD(P)H production			
Photophosphorylation	4.60	4.45	4.35
Intermediary metabolism	0.54	0.62	0.70
NAD(P)H consumption			
Calvin Cycle	3.58	3.51	3.56
Synthesis of cell mass	0.53	0.56	0.51

3.3 能量利用与转化效率

光自养条件下藻细胞吸收光能后, 通过光合系统的光合磷酸化反应, 产生大量能量和还原力供细胞合成和产物生成。根据上述代谢流数据, 可以获得聚球藻 7942 在光自养条件下基于 ATP 生成的细胞得率, 从而进一步了解聚球藻 7942 光自养培养下的能量利用情况。

根据

$$Y_{ATP} = \mu / r_{ATP} \quad (5)$$

和

$$\frac{1}{Y_{ATP}} = \frac{1}{Y_{ATP}^{MAX}} + \frac{m_{ATP}}{\mu} \quad (6)$$

可以得到不同光强下基于 ATP 的藻细胞得率 Y_{ATP} 和最大藻细胞得率 Y_{ATP}^{MAX} (表 2), 结果表明, 在给定光强条件下, 基于 ATP 生成的藻细胞得率和最大藻细胞得率变化不大, 分别约为 2.80 g/mol ATP 和 2.95 g/mol ATP。这是由于在这些光强下, 藻细胞所吸收光能均超过了光合磷酸化所需要, 因而细胞通过调节电子传递速率和活性光合中心数量^[21], 使多余的光能以热耗散、产生荧光等方式消耗, 从而将光合磷酸化水平维持在一个较稳定的水平。

由于光合作用过程的复杂性和途径的漫长性,

表 2 聚球藻 7942 光自养培养过程中能量利用

Table 2 Energy utilization of *Synechococcus* sp. PCC7942 in the autotrophic culture

	Incident intensity (μmol/(m ² ·s))		
	86.7	47.3	25.2
Cell yield based on ATP production			
r_{ATP} (mmol/(g·h))	15.11	14.89	14.30
Y_{ATP} (g/mol ATP)	2.77	2.80	2.82
Y_{ATP}^{MAX} (g/mol ATP)	2.92	2.94	2.97
Cell yield based on light energy absorption			
E_{ab} (kJ/(g·h))	9.98	6.23	3.84
$Y_{X/E}$ (10 ⁻³ g/kJ)	4.18	6.69	10.85
η_E (%)	4.62	7.28	11.35

藻细胞吸收的光能并不能全部转化为能被细胞直接利用的 ATP 形式的化学能, 因此藻细胞在不同的培养条件具有不同的光能转化效率。

藻细胞的光能吸收速率公式^[1]

$$E_{ab} = \frac{AI_0 \{1 - \exp[-\alpha(X) \cdot L]\}}{X} \quad (7)$$

式(7)中 E_{ab} 为比光能吸收速率, A 为光照比表面积, I_0 为入射光强, X 为细胞浓度, L 为光径, $\alpha(X)$ 表示光吸收系数, 与细胞浓度 X 有关, 其值可用式(8)计算

$$\alpha(X) = 126.17X^{0.7094} \quad (8)$$

用 $Y_{X/E}$ 和 η_E 分别表示基于总吸收光能的细胞得率和光能转化效率, 则有

$$Y_{X/E} = \frac{\mu}{E_{ab}} \quad (9)$$

$$\eta_E = \frac{r_{ATP}}{E_{ab}} \quad (10)$$

根据式(7)、(9)和(10)可以获得聚球藻 7942 在光自养条件下的光能利用数据(表 2)。从结果来看, 随着入射光强的增加, 基于总吸收光能的藻细胞得率有所下降, 并且远低于 Y_{ATP} , 这可能是由于实际吸收的光能有相当一部分通过其他途径耗散而使得转化率很低所引起, 从表 2 可以看到, 在实验的 3 个入射光强下吸收的光能转化效率分别仅为 11.35%、7.28%和 4.62%。

4 小结

本研究在连续培养的基础上, 建立了专一光自养生长的聚球藻 7942 细胞代谢网络, 并利用物料平

衡, 计算了不同入射光强下的碳流分布。同时运用代谢通量分析方法对聚球藻 7942 细胞生长过程中的能量代谢进行了分析, 结果发现, 在给定光强下, 基于 ATP 的细胞得率和最大细胞得率基本维持不变, 而藻细胞的光能转化效率随着光强的增加而降低, 光能利用率较低。这表明当光能的供应超过藻细胞光合磷酸化所需的能量时, 光合电子传递速率和活性光合中心数目成了光能转化效率的限制因素^[21]。因而提高藻细胞的光能利用率, 一方面可以通过基因工程手段降低藻类细胞的捕光色素含量^[22-25]或者增强 ATP 合酶的活性^[21]来提高电子传递速率和光合效率, 另一方面通过合理的光生物反应器设计, 既能降低光能的供应而又不会导致光能限制来达到提高光能利用效率的目的^[26]。

Appendix I

Biochemical reactions for flux estimation

Calvin cycle and pentose phosphate pathway

- (1) $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 + \text{RuDP} \Rightarrow 2\text{G3P}$
- (2) $\text{G3P} + \text{ATP} + \text{NADPH} + \text{H} \Rightarrow \text{GAP} + \text{ADP} + \text{NADP} + \text{Pi}$
- (3) $2\text{GAP} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{F6P} + \text{Pi}$
- (4) $\text{F6P} \Leftrightarrow \text{G6P}$
- (5) $\text{G6P} + 2\text{NADP} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{Ru5P} + \text{CO}_2 + 2\text{NADPH} + 2\text{H}$
- (6) $\text{F6P} + \text{GAP} \Rightarrow \text{X5P} + \text{E4P}$
- (7) $\text{E4P} + \text{GAP} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{S7P} + \text{Pi}$
- (8) $\text{S7P} + \text{GAP} \Rightarrow \text{R5P} + \text{X5P}$
- (9) $\text{R5P} \Rightarrow \text{Ru5P}$
- (10) $\text{X5P} \Rightarrow \text{Ru5P}$
- (11) $\text{Ru5P} + \text{ATP} \Rightarrow \text{RuDP} + \text{ADP}$

Glycolytic pathway and uncomplete tricarboxylic acid cycle

- (12) $\text{G3P} \Leftrightarrow \text{PEP} + \text{H}_2\text{O}$
- (13) $\text{PEP} + \text{ADP} \Rightarrow \text{PYR} + \text{ATP}$
- (14) $\text{PYR} + \text{NAD} + \text{CoA} \Rightarrow \text{ACCoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2 + \text{H}$
- (15) $\text{PEP} + \text{CO}_2 + \text{ADP} \Rightarrow \text{OAA} + \text{ATP}$
- (16) $\text{OAA} + \text{AcCoA} + \text{H}_2\text{O} \Leftrightarrow \text{ISOCIT} + \text{CoA} + \text{H}$
- (17) $\text{ISOCIT} + \text{NAD} \Leftrightarrow \alpha\text{KG} + \text{NADH} + \text{CO}_2$
- (18) $\text{OAA} + \text{NADH} + \text{H} \Leftrightarrow \text{FUM} + \text{NAD} + \text{H}_2\text{O}$
- (19) $\text{FUM} + \text{FADH}_2 + \text{ATP} + \text{CoA} \Leftrightarrow \text{SUCCoA} + \text{ADP} + \text{Pi} + \text{FAD}$

Oxidative phosphorylation ($P/O=2$)

- (20) $\text{NADH} + 0.5\text{O}_2 + 2\text{ADP} + 2\text{Pi} + 2\text{H} \Rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NAD} + 2\text{ATP}$

- (21) $\text{FADH}_2 + 0.5\text{O}_2 + \text{ADP} + \text{Pi} + 2\text{H} \Rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{FAD} + \text{ATP}$

Miscellaneous reaction

- (22) $\text{ATP} \Rightarrow \text{ADP}$

Light reactions

- (23) $2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NADP} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi} + 0.125\text{APF} \Rightarrow 2\text{NADPH} + 2\text{H} + 2\text{ATP} + \text{O}_2$

Biosynthesis of macromolecules

- (24) $\text{G6P} + 2\text{ATP} \Rightarrow \text{CAR}$
- (25) $\text{R5P} + 1.235\text{ASP} + 2.185\text{GLN} + 0.61\text{GLY} + 1.22\text{FTHF} + 0.61\text{CO}_2 + 8.68\text{ATP} + 0.765\text{NAD} \Rightarrow \text{RNA} + 2.185\text{GLU} + 0.845\text{FUM} + 1.22\text{THF} + 8.68\text{ADP} + 8.68\text{Pi} + 0.765\text{NADH} + 0.765\text{H}$
- (26) $\text{R5P} + 1.22\text{ASP} + 2.06\text{GLN} + 0.5\text{GLY} + 1.22\text{FTHF} + 0.5\text{CO}_2 + \text{NADPH} + 0.78\text{NAD} + 8.22\text{ATP} \Rightarrow \text{DNA} + 0.72\text{FUM} + 2.06\text{GLU} + 1.22\text{THF} + 8.22\text{ADP} + 8.22\text{Pi} + 0.78\text{NADH} + \text{NADP} + 0.78\text{H}$
- (27) $0.07888\text{ALA} + 0.05193\text{AGR} + 0.02902\text{ASN} + 0.09701\text{ASP} + 0\text{CYS} + 0.07362\text{GLU} + 0.02356\text{GLN} + 0.0723\text{GLY} + 0.01534\text{HIS} + 0.05127\text{ILE} + 0.08151\text{LEU} + 0.0631\text{LYS} + 0.01578\text{MET} + 0.03812\text{PHE} + 0.06573\text{PRO} + 0.03155\text{SER} + 0.07493\text{THR} + 0.01249\text{TRP} + 0.03812\text{TYR} + 0.09202\text{VAL} + 4\text{ATP} \Rightarrow \text{PROT}$
- (28) $\text{GAP} + \text{NADH} + 16\text{AcCoA} + 26.65\text{NADPH} + 28\text{H} + 14\text{ATP} + \text{O}_2 \Rightarrow \text{DG} + \text{NAD} + 26.65\text{NADP} + 14\text{ADP} + 14\text{Pi} + 16\text{CoA} + \text{H}_2\text{O}$
- (29) $8\text{SUCCoA} + 8\text{Gly} + 10\text{AcCoA} + 9\text{ATP} + 15\text{NADPH} + \text{Mg}^{2+} + \text{MYTHF} \Rightarrow \text{CHLO} + 4\text{NH}_3 + 14\text{CO}_2 + 15\text{NADP} + \text{THF} + 9\text{ADP}$

REFERENCES

- [1] Cogne G, Gros JB, Dussap CG. Identification of a metabolic network structure representative of *Arthrospira (Spirulina) platensis* metabolism. *Biotechnol Bioeng*, 2003, **84**(6): 667-676.
- [2] Nishioka M, Nishiuma H, Miyake M, *et al.* Metabolic flux analysis of a poly- β -hydroxybutyrate producing cyanobacterium, *Synechococcus* sp. MA19, grown under photoautotrophic conditions. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2002, **7**: 295-302
- [3] Yu GC, Cai ZL, Shi DJ, *et al.* Investigation of mixotrophic growth of *Anabaena* sp. pcc 7120 by stoichiometric model on cell biosynthesis. *Chin J Appl Environ Biol*, 2001, **7**(5): 420-427.
喻国策, 蔡昭铃, 施定基, 等. 应用细胞合成计量关系模型分析鱼腥藻 7120 的混合营养生长. *应用与环境生物学报*, 2001, **7**(5): 420-427.
- [4] Yang C, Hua Q, Shimizu K. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/

- dark-heterotrophic conditions. *Biochem Eng J*, 2000, **6**: 87-102.
- [5] Zhu D, Li YG, Ye Q, *et al.* Effects of nitrogen sources and initial NaHCO_3 concentrations on the growth and Thymosin $\alpha 1$ expression of transgenic *Synechococcus* sp. PCC7942. *High Technol Lett*, 2003, **12**: 76-80.
朱笃, 李元广, 叶勤, 等. 氮源和初始 NaHCO_3 浓度对转 T 1 基因聚球藻 7942 生长与表达的影响. *高技术通讯*, 2003, **12**: 76-80.
- [6] Hall DO, Rao KK. *Photosynthesis*. 5th ed. Cambridge: Press Syndicate of Cambridge, 1994: 43-48.
- [7] Ning ZX. *Manual of Components Analysis of Food*. Beijing: China Light Industry Press, 1998: 541-543.
宁正祥. *食品成分分析手册*. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 541-543.
- [8] Wei PH. *Experiment and Guide for Biochemistry*. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 1994: 27-30.
韦平和. *生物化学实验与指导*. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 27-30.
- [9] Fresenius W, Quentin KE. *Water Analysis*. Berlin Heidelberg: Springer-verlag, 1988.
- [10] Pan RZ, Dong YD. *Phytophysiology*. 3rd ed. Beijing: High Education Press, 1995: 69-96.
潘瑞炽, 董愚得. *植物生理学*. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 1995: 69-96.
- [11] Smith AJ, London J, Stanier RY. Biochemical basis of obligate autotrophy in blue-green algae and *Thiobacilli*. *J Bacteriol*, 1967, **94**(4): 972-983.
- [12] Wiskic T. Control of the Kerbs cycle. Davices DD ed. *The Biochemistry of Plants (II)*. New York: Academic Press, 1980: 244-275.
- [13] Pearce J, Carr NG. The metabolism of acetate by the blue-green algae, *Anabaena variabilis* and *Anacystis nidulans*. *J Gen Microbiol*, 1967, **49**(2): 301-313.
- [14] Hoare DS, Moore RB. Photoassimilation of organic compounds by autotrophic blue-green algae. *Biochim Biophys Acta*, 1965, **109**(2): 622-625.
- [15] Tolbert NE. Photorespiration//Davices DD ed. *The Biochemistry of Plants (II)*. New York: Academic Press, 1980: 50-80.
- [16] Piorreck M, Pohl P. Preparatory experiments for the axenic mass-culture of microalgae. Part I: Biomass production, total protein, chlorophyll, lipid and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. *Phytochemistry*, 1984, **23**(2): 207-216.
- [17] Fowden L. A comparison of the compositions of some algal proteins. *Ann Bot*, 1954, **18**: 257-266.
- [18] Kung SD, Moscarello MA, Williams JP. Studies with deoxyribonucleic acid from blue-green algae. *Plant Physiol*, 1972, **49**(3): 331-334.
- [19] Biswas BB, Myers J. A methyl cytidine from the ribonucleic acid of *Anacystis nidulans*. *Nature*, 1960, **186**(4720): 238-239.
- [20] Mott KA, Jensen RG, O'Leary JW, *et al.* Photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate concentrations in intact leaves of *Xanthium strumarium* L.. *Plant Physiol*, 1984, **76**: 968-971.
- [21] Han BP, Han ZG, Fu X. *Algal Photosynthesis: Mechanisms and Models*. Beijing: Science Press, 2004.
韩博平, 韩志国, 付翔. *藻类光合作用: 机理与模型*. 北京: 科学出版社, 2004.
- [22] Nakajima Y, Ueda R. Improvement of photosynthesis in dense microalgal suspension by reduction of light harvesting pigments. *J Appl Phycol*, 1997, **9**: 503-510.
- [23] Nakajima Y, Ueda R. Improvement of microalgal photosynthetic productivity by reducing the content of light harvesting pigment. *J Appl Phycol*, 1999, **11**: 195-201.
- [24] Nakajima Y, Tsuzuki M, Ueda R. Reduced photoinhibition of a phycocyanin-deficient mutant of *Synechocystis* PCC 6714. *J Appl Phycol*, 1999, **10**: 447-452.
- [25] Wang GH, Chen LH, Li GB, *et al.* Improving photosynthesis of microalgae by changing the ratio of light-harvesting pigments. *Chin Sci Bull*, 2005, **50**(15): 1622-1626.
- [26] Masahiko M, Yoshitomo W, Hiroshi S. Investigation of photobioreactor design for enhancing the photosynthetic productivity of microalgae. *Biotechnol Bioeng*, 2000, **69**(6): 693-698.