

# 转基因聚球藻 7942 培养中光传递及其对细胞生长的影响

朱 笃<sup>1</sup>, 李元广<sup>1</sup>, 叶 勤<sup>1</sup>, 魏晓东<sup>1</sup>, 章 军<sup>2</sup>

(1. 华东理工大学海洋生化工程研究所生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237;

2. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

**摘 要:**对转入源胸腺素 $\alpha 1$ 基因聚球藻 7942 光生物反应器分批培养过程中光的分布、平均光强变化及其对藻细胞生长的影响进行了分析. 结果表明, Hyperbolic 光衰减模型较之 Lambert-Beer 光衰减模型能更好地描述转基因聚球藻 7942 培养液中的光衰减; 随着藻细胞密度的增加, 光生物反应器内平均光强不断减小, 藻细胞的光能吸收速率也不断降低, 反应器中“暗区”体积不断加大; 培养时间 0~1.5 d, 藻细胞能获得充足光能, 因而呈指数生长; 1.5 d 后藻细胞处于光限制, 比生长速率不断下降, 但体积光能吸收速率达到最大并保持恒定, 藻细胞进入线性生长期; 5 d 后光生物反应器“暗区”体积超过了反应器总体积的 50%, 藻细胞吸收的光能用于维持的比例不断增加, 从而导致生长速率下降; 培养 8 d, 转基因聚球藻 7942 中人源胸腺素 $\alpha 1$ 表达量为 4.53 mg/L.  
**关键词:**光衰减; 光分布; 平均光强; 分批培养; 光生物反应器; 人胸腺素 $\alpha 1$ ; 转基因聚球藻 7942  
**中图分类号:** Q949.21      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1009-606X(2003)03-0231-07

## 1 前 言

微藻在天然色素、多糖、多不饱和脂肪酸、维生素和药物生产、废水处理以及氢气生产等方面具有巨大的潜力, 而且近 20 年来, 微藻基因工程发展迅速, 许多外源基因被转入微藻中并获得表达, 可望用于转基因药物的生产, 因此微藻特别是转基因微藻培养技术的研究越来越引起人们的重视.

微藻作为光自养生长微生物, 在培养方面与一般异养微生物有明显的区别. 在异养培养微生物中, 能源(碳源)均匀地分布在生物反应器中, 因而其培养过程中的数学模拟和过程优化相对简单. 而藻细胞生长是以光作为能源, 光能是影响藻细胞光合活性最重要的因素. 光不能储存在培养系统中, 必须连续不断地供应以支持藻细胞生长. 而且由于藻液对光的吸收与散射, 使其不能透过较深的藻液, 这给维持藻细胞高速生长和高  $\text{CO}_2$  固定速率带来困难<sup>[1]</sup>. 如何提高光的供应效率和藻细胞对光能的利用率是光生物反应器设计和培养工艺优化的关键, 因此微藻培养过程中的光传递及其对细胞生长的影响是首要研究的问题, 此方面研究一直为当今微藻培养中的研究热点<sup>[2-5]</sup>.

胸腺素 $\alpha 1$ ( $\text{T}\alpha 1$ )是一种免疫调节剂及增强剂, 可用于治疗癌症、肝炎及艾滋病等. 为了利用微藻这一新的外源基因表达系统生产  $\text{T}\alpha 1$ , 章军等<sup>[6]</sup>将  $\text{T}\alpha 1$  基因整合入聚球藻 7942(*Synechococcus* sp. PCC7942)染色体中并获得表达. 刘仁海等<sup>[7]</sup>通过小鼠口服实验证明, 转  $\text{T}\alpha 1$  基因聚球藻 7942 能显著提高小鼠的抗氧化能力, 初步表明转  $\text{T}\alpha 1$  基因聚球藻 7942 有可能开发为口服型的药物, 具有较高的应用价值. 本文在 1.5 L 气升式光生物反应器中对转  $\text{T}\alpha 1$  基因聚球藻 7942 培养过程中光衰减规律、光生物反应器中光的分布以及平均光强的变化规律进行了研究, 并就光生物反应器中光的

收稿日期: 2003-02-10, 修回日期: 2003-04-14

基金项目: 国家海洋 863 基金资助项目(编号: 819-Q01); 上海市科技启明星计划及上海市重点学科部分资助

作者简介: 朱笃(1971-), 男, 江西省高安市人, 讲师, 在职博士生, 从事生化工程研究; 李元广, 通讯联系人, E-mail: ygli@ecust.edu.cn.

分布以及光能变化对藻细胞生长的影响进行了分析, 以期为光生物反应器设计和转 T $\alpha$ 1 基因聚球藻 7942 培养工艺优化及过程放大提供相关的理论和实验依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 藻种

转 T $\alpha$ 1 基因聚球藻 7942 由厦门大学生命科学学院构建, 用红光诱导 T $\alpha$ 1 表达<sup>[6]</sup>。

### 2.2 培养基

采用改进的 BG-11 培养基<sup>[8]</sup>(g/L): NaNO<sub>3</sub> 1.5, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.075, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.036, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 0.070, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7.36, 柠檬酸 0.006, 柠檬酸铁铵 0.006, EDTA 0.002 以及 1 ml/L A-5 微量元素储液。A-5 微量元素储液组成(g/L): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2.86, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1.81, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.222, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.39, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.079, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.0492。培养过程中每 ml 培养液中加入 25  $\mu$ g 硫酸卡那霉素。

### 2.3 培养条件

种子培养于 250 ml 摇瓶中进行, 装液量为 150 ml, 培养温度 30 $^{\circ}$ C, 光照由通过摇床上方的平行荧光灯管提供, 摇瓶表面的光照强度 4 klx, 摇床转速 140 r/min, 培养时间为 3 d。

分批培养于 1.5 L 气升式光生物反应器中进行, 罐体直径 0.07 m, 高 0.39 m, 上升管的直径 0.05 m, 高 0.16 m。装液量 1 L, 接种量 10%, 培养温度 30 $^{\circ}$ C, 通气量 0.5 L/min, 培养过程中光源由套于反应器外部的 3 支环形荧光灯(Philips, 22 W)提供, 入射光强为 9 klx。

### 2.4 诱导条件

将气升式反应器中培养的藻液转移入自制的 1.2 L 平板式光生物反应器(厚度 2 cm)中, 两侧用 3 klx 的红光进行诱导 3 h, 控温 30 $^{\circ}$ C, 鼓泡通气, 通气量为 0.5 L/min。藻细胞经诱导后离心, 弃上清, 加入包被液重新悬浮藻体, 用超声波破碎, 离心取上清液测定 T $\alpha$ 1 表达量。

### 2.5 分析方法

藻细胞浓度测定采用浊度法, 根据波长 730 nm 的光密度(OD<sub>730</sub>), 由标准曲线计算藻体干重:  $X=0.42OD_{730}(R^2=0.993)$ 。光衰减的测定参见文献[4], 光强测定采用 ST-85 自动量程照度计(北京师范大学光电仪器厂), 照度计测定值与光合有效量子辐射密度的关系为: 1 klx=15.76  $\mu$ E/(m<sup>2</sup>·s)=13.05 kJ/(m<sup>2</sup>·h)<sup>[9]</sup>; T $\alpha$ 1 测定采用 ELISA 法<sup>[10]</sup>。

### 2.6 数学分析方法

模型的参数估计与方程的求解利用 Matlab 6.1 软件, 参数估计方法采用最小二乘法, 方程的求解采用 Cotes 法数值积分, 相关性检验采用软件 Origin 5.0。

## 3 结果与讨论

### 3.1 光强在藻液中的衰减

合理估计藻液中的光衰减是分析光生物反应器中光分布与平均光强的一个关键因素。在入射光强为 40 klx 条件下, 测定了不同浓度藻液、不同光程下的光衰减。在相同光程下, 随着藻细胞浓度的增加, 光强迅速下降。在相同的藻细胞浓度下, 随着光程的增加, 光强呈指数衰减(图 1)。

光的衰减通常采用光衰减系数  $A(X)$  来表示:

$$A(X) = \ln(I_0/I)/L. \quad (1)$$

由于 Lambert-Beer 定律(式 2)比较简单, 因此被广泛用于描述藻液中的光衰减:

$$A(X) = K_a X \quad (2)$$

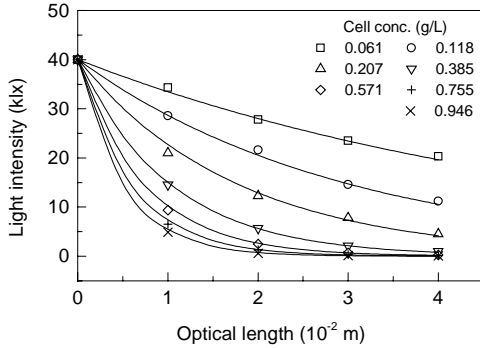


图 1 光强随细胞浓度和光程的衰减  
Fig.1 Light attenuation at different cell concentrations

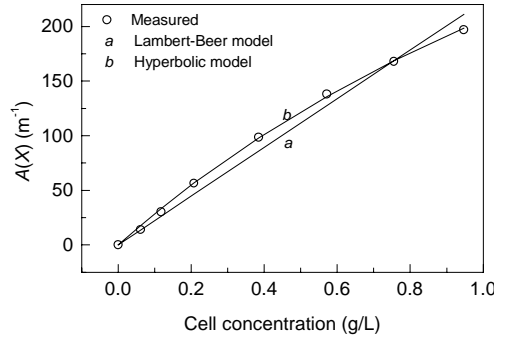


图 2 藻液光衰减系数实测值与模型计算值比较  
Fig.2 Comparison between the measured and calculated light attenuation coefficients

利用上式对各种藻细胞浓度下实际光衰减系数进行拟合, 得出消光系数  $K_a=223 \text{ m}^2/\text{kg}$  ( $R^2=0.978$ ). 而从图 2 可知, Lambert-Beer 定律用于预测较宽细胞浓度范围藻液中光衰减不能获得令人满意的结果. 因此采用双曲线模型<sup>[11,12]</sup>估计藻液中的光衰减, 即式(2)中的  $K_a$  变为  $A_{\max}/(b+X)$ :

$$A(X) = A_{\max} X / (b + X), \quad (3)$$

其中参数  $A_{\max}=670 \text{ m}^{-1}$ ,  $b=2.25 \text{ kg/m}^3$  ( $R^2=0.999$ ). 可以看出, 双曲线模型能很好地描述转  $T\alpha 1$  基因聚球藻 7942 藻液中的光衰减(图 2). 利用光衰减的双曲线模型计算的不同浓度和不同光程下光强与实测值进行比较, 结果表明二者能较好吻合, 平均相对误差为 4.3%(图 1).

### 3.2 分批培养

入射光强为 9 klx 时转  $T\alpha 1$  基因聚球藻 7942 分批培养过程的生长曲线见图 3. 在培养过程中, 培养液的 pH 变化幅度不大, 为 9.33~10.51. 初始 1.5 d 藻细胞呈指数生长, 1.5~5 d 为线性生长期[线性生长速率为  $0.29 \text{ g}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ], 5 d 后进入减速期, 培养 10 d 藻细胞的密度达到  $2.08 \text{ g/L}$ . 为了考察藻细胞停止生长是否由于营养盐的缺乏引起的, 在分批培养 8 d 时添加除  $\text{NaHCO}_3$  外的所有培养基营养成分, 结果藻细胞浓度未增加, 这表明藻细胞停止生长并非营养缺乏所致. 由于培养 1.5 d 后藻细胞的比生长速率不断地变化, 为了计算 1.5 d 后任一时刻藻细胞的比生长速率, 利用式(4)所示的多项式经验模型对藻细胞的生长进行描述(图 3), 结果表明预测值与实测值之间的平均相对误差为 1.48%.

$$X = -0.017t^2 + 0.399t - 0.168. \quad (4)$$

根据细胞比生长速率定义:

$$\mu = \frac{dX}{Xdt}. \quad (5)$$

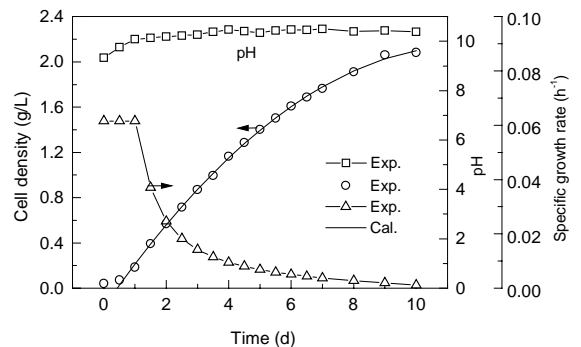


图 3 分批培养中藻细胞的生长及 pH 随时间的变化  
Fig.3 The algal cell growth and pH in the batch culture

利用式(4)与(5),可计算出任一时刻的比生长速率. 经过 1.5 d 的指数生长后,随着藻细胞浓度的增加,藻细胞的比生长速率不断下降(图 3).

将培养 8 d 的转基因聚球藻 7942 细胞转移入板式光生物反应器中进行诱导,测得细胞内 Tα1 的含量为 2.37 mg/(g·d), 由于此时的细胞浓度为 1.91 g/L, 因此表达量为 4.53 mg/L.

### 3.3 反应器中平均光强变化与藻细胞的光能利用

由于光衰减导致光在光生物反应器中分布不均匀,给藻细胞培养过程中的数学模拟和过程优化带来困难,因此必须确定一个能合理反映光生物反应器中光照状况的参数.

入射光强被广泛用作描述光生物反应器中光供应的参数,但这种方法仅适用于细胞浓度较低和光路较短的情况. 建立在入射光强基础上的数学模型通常假设所有的细胞都能接受到入射光强,然而这种假设在大规模和高密度微藻培养过程中偏差很大. 因此评价光生物反应器中光照条件,入射光强不是一个理想的参数<sup>[5]</sup>.

相对于入射光强,平均光强是描述光生物反应器中光照条件更好的参数<sup>[13]</sup>. 在板式光生物反应器中,平均光强的计算较为简单,但对于其他形状的光生物反应器平均光强的计算则较为困难. Molina 等<sup>[14]</sup>提出了表面光照均匀的圆柱形反应器平均光强的计算公式:

$$I_{av} = \frac{2I_0}{RK_a} \left[ 1 - \int_0^{\frac{\pi}{2}} \cos \phi \exp(-2RK_a X \cos \phi) d\phi \right]. \quad (6)$$

利用式(6)和(3)中的消光系数以及藻细胞浓度,可计算出转基因聚球藻 7942 培养过程中光生物反应器中平均光强的变化情况. 随着藻细胞密度的增加,光生物反应器中平均光强在初始 1.5 d 内急剧下降,1.5 d 后则下降相对较缓慢(图 4).

利用平均光强与式(3)所得比消光系数可计算出培养过程中藻细胞的光能比吸收速率( $E_{ab}$ )和光能体积吸收速率( $E_{vol}$ )<sup>[14]</sup>:

$$E_{ab} = I_{av} A_{max} / (K + X), \quad (7) \quad E_{vol} = I_{av} A_{max} X / (K + X). \quad (8)$$

由图 4 可见,随着平均光强的减少,转基因聚球藻 7942 光能比吸收速率也随之减少. 虽然转基因聚球藻 7942 光能的比吸收速率不断地减少,但单位体积藻细胞吸收光能在 0~1.5 d 内迅速上升,第 1.5 d 后基本保持恒定.

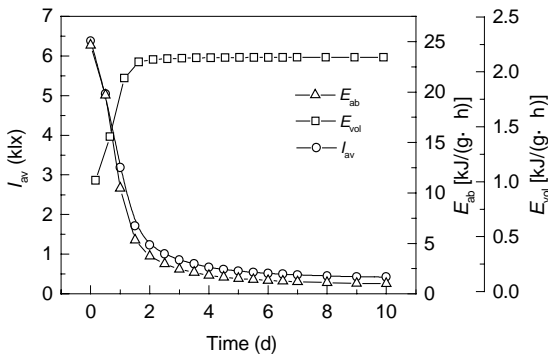


图 4 分批培养平均光强、光能比吸收速率与体积光能吸收速率随时间的变化

Fig.4 Variations of average irradiance,  $E_{ab}$  by the biomass unit and  $E_{vol}$  with time during batch culture

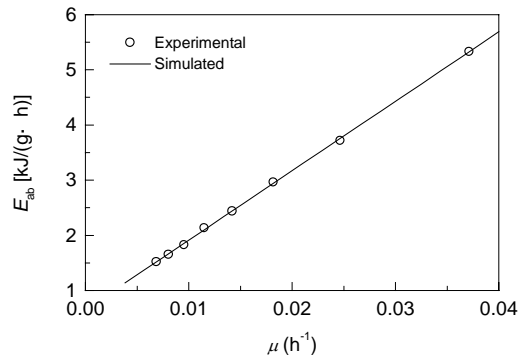


图 5 光能比吸收速率与藻细胞比生长速率的关系

Fig.5 Relationship between the average specific light utilization rate and the cell specific growth rate

在光能充足的条件下,藻细胞吸收的部分能量会以热能等形式损失,从而引起细胞的光能得率系数降低,因此采用线性生长期实验结果来研究藻细胞光能吸收与比生长速率的关系<sup>[15]</sup>. 参照基质比消耗速率的概念,细胞光能比吸收速率与比生长速率之间存在下列线性关系(图 5):

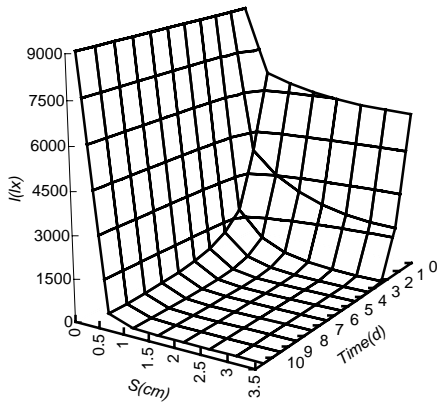
$$E_{ab} = \mu/Y_G + m, \quad (9)$$

采用最小二乘法拟合实验数据,可得细胞光能得率系数  $Y_G=8.01 \times 10^{-3}$  g/kJ, 光能维持系数  $m=0.68$  kJ/(g·h).

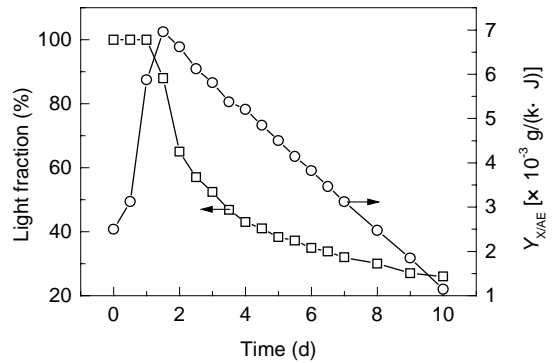
### 3.4 光的分布

由上可知,随着转基因聚球藻 7942 细胞浓度的增加,反应器内光照状况不断变化,藻细胞比生长速率不断减少. 为了解藻细胞培养过程中光生物反应器内光照状况的动态过程,利用 Evers<sup>[16]</sup> 提出的模型[式(10)],对微藻培养过程中光生物反应器内光强的分布进行了计算,结果见图 6(a). 在生长初期,藻细胞密度较低,光在整个光生物反应器中较均一分布,藻细胞能获得足够的光进行生长;但随着藻细胞密度的增加,光在藻液中的衰减不断增加,反应器内出现了“光区”和“暗区”. 藻细胞在“光区”能获得较多的光能,而在“暗区”光能较低甚至没有光照. 一般认为低于细胞维持所需光强的区域为是“暗区”<sup>[17]</sup>. 在培养的第 1 d 内,整个生物反应器中都有充分的光照,但随着藻细胞密度的增加,“光区”的体积迅速减小,“暗区”体积迅速增大,培养 10 d,光生物反应器的受光体积仅占总体积的 26%[图 6(b)]. 由于反应器内流体的混合作用,藻细胞在“光区”和“暗区”之间来回运动,表现为光暗循环.

$$I(S, X) = \frac{I}{\pi} \int_0^\pi \exp\left\{-K_a X \left[ (R-S)\cos\phi + [R^2 - (R-S)^2 \sin^2\phi]^{0.5} \right]\right\} d\phi. \quad (10)$$



(a) Light distribution in the photobioreactor



(b) Light fraction of photobioreactor and biomass yield on light energy

图 6 分批培养过程中光在光生物反应器中的分布变化及光区体积与藻细胞光能得率变化  
Fig.6 Light distribution in the photobioreactor and variation of light fraction of photobioreactor and biomass yield on light energy during the course of batch culture

### 3.5 光生物反应器中光传递与细胞生长

在 0~1.5 d,光生物反应器内光的分布均一,藻细胞能吸收到充足的光能,因此呈现指数生长;培养 1.5 d 后,随着藻细胞光能的比吸收速率的减少,藻细胞的光能限制变得越来越严重,导致比生长速率不断下降. 但反应器的体积光能吸收速率达到最大并保持恒定,因而藻细胞的生长速率保

持相对恒定, 呈现线性生长. 虽然体积光能吸收速率保持恒定, 但从第 5 d 开始, 藻细胞生长速率呈现减小的趋势(图 3). 这是由于随着藻细胞浓度的增加, 光在生物反应器中“暗区”不断加大, 藻细胞光暗循环的时间延长. 研究表明, 培养过程中保持适当的暗期将有利于提高藻细胞的光合作用和生长速率<sup>[18]</sup>, 在本实验条件下, 转基因聚球藻 7942 在培养 1.5 d “暗区”约为反应器总体积的 12%, 藻细胞的吸收光能得率( $Y_{X/AE}$ )最大[图 6(b)]. 但随着“暗区”体积继续加大, 第 5 d “暗区”的体积占反应器体积的 60%, 藻细胞停留于暗区的时间延长, 藻细胞消耗于维持的能量增加; 同时随着光暗循环时间的延长, 藻细胞光化学量子得率以及光能转化为化学能效率减少<sup>[18]</sup>, 从而降低了藻细胞生长速率和光能得率.

虽然良好的混合条件能加快藻细胞的光暗循环, 提高光生物反应器的产率, 但这仅在暗区较小的情况下才有效<sup>[3]</sup>. 因此, 提高转基因聚球藻 7942 的培养效率, 必须通过改进光生物反应器和培养工艺来实现. 如采用光径较小的板式光生物反应器以减少暗区体积, 加快光暗循环; 或在反应器中安装光纤, 以强化光在反应器中的分布. 在培养工艺上可采用连续培养(包括半连续培养), 保持反应器中适宜的藻细胞密度和适当的暗区体积, 以提高反应器体积光能利用率.

## 4 结 论

(1) 双曲线模型能较好地描述转  $T\alpha 1$  基因聚球藻 7942 培养液中的光衰减.

(2) 分批培养过程中, 随着藻细胞浓度的增加, 光生物反应器的“光区”体积与平均光强都不断减少.

(3) 藻细胞的光能得率系数和维持系数分别为  $8.01 \times 10^{-3}$  g/kJ 和 0.68 kJ/(g·h).

(4) 在 0~1.5 d, 藻细胞密度较低, 整个生物反应器光分布均一, 光能充足, 藻细胞呈指数生长; 培养 1.5 d 后, 虽然细胞光能比吸收速率减少, 但体积光能吸收速率达到最大并保持恒定, 因而藻细胞表现为线性生长; 但培养 5 d 后, 反应器中暗区体积超过了反应器总体积的 60%, 用于维持的能量在藻细胞吸收能量中所占比例增加, 从而导致藻细胞生长呈现减速.

(5) 培养 8 d, 转基因聚球藻 7942 中  $T\alpha 1$  表达量为 4.53 mg/L.

符号表:

$A_{\max}$	最大光衰减系数 ( $m^{-1}$ )	$I_0$	入射光强 (lx)	$t$	时间 (d)
$A(X)$	光衰减系数 ( $m^{-1}$ )	$K$	常数 (g/L)	$X$	生物量 (g/L)
$b$	双曲线模型参数 ( $kg/m^3$ )	$K_a$	消光系数 ( $m^2/kg$ )	$Y_{X/AE}$	吸收光能得率 (g/kJ)
$E_{ab}$	光能比吸收速率 [ $kJ/(g \cdot h)$ ]	$L$	光程 (m)	$Y_G$	光能得率系数 (g/kJ)
$E_{vol}$	体积光能吸收速率 [ $kJ/(L \cdot h)$ ]	$R$	反应器半径 (m)	$\phi$	光入射角( $^\circ$ )
$I_{av}$	平均光强 (lx)	$S$	反应器内与表面距离 (cm)	$\mu$	比生长速率 ( $h^{-1}$ )

参考文献:

- [1] Bannister T T. Estimation of Absorption Coefficient of Scattering Suspensions Using Opal Glass [J]. *Limnol. Oceanogr.*, 1988, 33: 607-615.
- [2] 康瑞娟, 蔡昭玲, 施定基. 光强在鱼腥藻 7120 中的衰减及其对藻细胞生长的影响 [J]. *化工冶金*, 2000, 21(4): 384-388.
- [3] Ogonna J C, Tanaka H. Light Requirement and Photosynthetic Cell Cultivation-development of Processes for Efficient Light Utilization in Photobioreactors [J]. *J. Appl. Phycol.*, 2000, 12: 207-218.
- [4] 康瑞娟, 蔡昭玲, 施定基. 蓝藻培养体系中光强衰减的研究 [J]. *水生生物学报*, 2002, 26(3): 112-115.
- [5] Ogonna J C, Yada H, Tanaka H. Light Supply Coefficient — A New Engineering Parameter for Photobioreactor Design [J]. *J. Ferment. Bioeng.*, 1995, 80: 369-376.
- [6] 章军, 宋新强, 徐虹, 等. 利用同源重组质粒 pUTK 转化蓝藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 及胸腺素  $\alpha 1$  的表达 [J]. *海洋科学*, 2001, 25(6): 1-3, 34.

- [7] 刘仁海, 章军, 周克夫, 等. 转胸腺素 $\alpha 1$  基因聚球藻抗氧化作用的研究 [J]. 中国海洋药物, 2002, 2: 4–7.
- [8] Stanier R Y, Kunisawa R, Mandel M, et al. Purification and Properties of Unicellular Blue-green Algae [J]. Bacteriological Reviews, 1971, 35(2): 171–205.
- [9] 加藤荣. 光合作用研究方法 [M]. 北京: 科学出版社, 1998. 189–190.
- [10] 朱笃, 陈天圣, 李元广, 等. 胸腺素 $\alpha 1$  间接 ELISA 法建立及其在转基因蓝藻中的应用 [J]. 海洋科学, 2002, 26(12): 1–4.
- [11] Radmer R, Behrens P, Arnett K. Analysis of the Productivity of a Continuous Algal Culture System [J]. Biotechnol. Bioeng., 1987, 29: 488–492.
- [12] Fernandez F G A, Camacho F G, Perez J A S, et al. A Model for Light Distribution and Average Solar Irradiance Inside Outdoor Tubular Photobioreactors for the Microalgal Mass Culture [J]. Biotechnol. Bioeng., 1997, 55: 701–714.
- [13] Camacho-Rubio F, Padiál-Vico A, Martínez-Sancho M E. The Effect of the Mean Intensity of Light on the Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Intern. Chem. Eng., 1985, 25: 283–288.
- [14] Molina Grima E, García Camacho F, Sánchez Pérez J A, et al. Evaluation of Photosynthetic Efficiency in Microalgal Cultures Using Averaged Irradiance [J]. Enz. Microbial. Technol., 1997, 21: 375–381.
- [15] Iehana M. Kinetic Analysis of the Growth of *Chlorella vulgaris* [J]. Biotechnol. Bioeng., 1990, 36: 198–206.
- [16] Evers E G A. Module for Light-limited Continuous: Growth, Shading, and Maintenance [J]. Biotechnol. Bioeng., 1991, 38: 254–259.
- [17] Merchuk J C, Ronen M, Giris S, et al. Light/Dark Cycles in the Growth of the Red Microalga *Prophyridium* sp. [J]. Biotechnol. Bioeng., 1998, 59: 705–713.
- [18] Janssen M, Janssen M, de Winter M, et al. Efficiency of Light Utilization *Chlamydomonas reinhardtii* under Medium-duration Light: Dark Cycles [J]. J. Biotechnol., 2000, 78: 123–137.

## Light Transfer and Its Effect on Cell Growth in the Culture of Transgenic *Synechococcus* sp. PCC7942

ZHU Du<sup>1</sup>, LI Yuan-guang<sup>1</sup>, YE Qin<sup>1</sup>, WEI Xiao-dong<sup>1</sup>, ZHANG Jun<sup>2</sup>

(1. Inst. Marine Bioproc. Eng., State Key Lab. Bioreactor Eng., East China Univ. Sci. & Technol., Shanghai, 200237;

2. School of Life Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

**Abstract:** The variation of light distribution and average irradiance in a photobioreactor during batch culture of transgenic *Synechococcus* sp. PCC7942 carrying thymosin  $\alpha 1$  gene was modeled, and their effects on algal cell growth were analyzed. Light attenuation in the suspension culture of the transgenic *Synechococcus* sp. PCC7942 could be predicted more accurately with a hyperbolic model than with the Lambert–Beer model. With algal cell concentration increasing, the average irradiance in the photobioreactor and the specific light energy absorbance rate decreased continuously, and illumination zone decreased gradually after 1.5 d cultivation, resulting in the reduction of the cell specific growth rate; since light energy absorbed in the volume unit was constant after 1.5 d, the algal cell was in the linear growth phase; with dark zone exceeded 60% of the volume of the photobioreactor after 5 d cultivation, energy used for cell maintenance increased and the cell growth rate decreased. The thymosin  $\alpha 1$  expression level of recombinant microalgal cell was 4.53 mg/L for 8 d cultivation.

**Key words:** light attenuation; light distribution; average irradiance; batch culture; photobioreactor; human thymosin  $\alpha 1$ ; transgenic *Synechococcus* sp. PCC7942