

以微藻固碳减轻碳排放及其强化策略

王 艺, 陈丹青, 毛炜炜, 李鹏程, 宋春风*

(天津大学 环境科学与工程学院, 天津 300350)

摘要: 广泛使用化石燃料导致二氧化碳等温室气体排放量持续攀升, 给全球气候变化和生态系统带来了深刻而不可逆的影响, 这不仅引发了环境问题, 更对地球的气候稳定和生物多样性构成了严重威胁。在众多的碳减排方法中, CCUS 技术是实现二氧化碳长期减排的重要手段, 其中碳捕集是核心环节, 包括从能源利用、工业生产和大气中分离二氧化碳的过程。在这一领域中, 本文着重介绍了微藻固碳技术的重要性和有效性。与此同时进一步指出, 通过调节微藻的生长条件, 如光照、温度、pH、营养元素和二氧化碳浓度, 可以显著提高微藻的固碳能力。目前, 通过随机诱变、适应性实验室进化和基因工程等策略, 正在筛选生长速度快、耐受性强、二氧化碳固定效率高、生物量大的微藻品种。这不仅有助于推进碳达峰和碳中和目标, 也将为实现能源的清洁、绿色、低碳和高效利用提供坚实的基础, 从而支持全面实施可持续发展战略。通过这种方式, 微藻固碳技术有望在应对全球变暖和促进环境可持续发展发挥作用。

关键词: 微藻; 全球变暖; 碳中和; 光合作用; CO₂ 减排

中图分类号: X701; X505

文献标识码: A

Carbon sequestration by microalgae to reduce carbon emission and strengthening strategy

WANG Yi, CHEN Danqing, MAO Weiwei, LI Pengcheng, SONG Chunfeng*

(School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300350, China)

Abstract: The widespread use of fossil fuels has led to a significant increase in carbon dioxide and other greenhouse gas emissions, contributing to the adverse effects of global climate change and impacting ecosystems worldwide. These rising emissions not only create environmental problems but also pose a serious threat to the earth's climate stability and biodiversity. Among the various methods to reduce carbon emissions, Carbon Capture, Utilization, and Storage (CCUS) technology stands out as a crucial tool for achieving long-term carbon dioxide reduction. CCUS technology captures carbon dioxide from emission sources such as coal-fired power plants, industrial processes, and even directly from the atmosphere. This study focuses on the potential of microalgae for carbon sequestration, highlighting their ability to capture and store carbon. To further enhance the carbon sequestration ability of microalgae, it is essential to optimize their growth conditions. Factors such as light intensity, temperature, pH, nutrient availability, and carbon dioxide concentration can significantly impact the efficiency of carbon sequestration by microalgae. Researchers have been exploring various strategies, including random mutagenesis, adaptive laboratory evolution, and genetic engineering, to select microalgae species with desirable traits. These traits include a rapid growth rate, strong tolerance to stress, high CO₂ fixation efficiency, and the ability to produce large biomass. By employing these approaches, scientists aim to enhance the carbon peaking and carbon neutrality efforts simultaneously. Additionally, this research will provide a robust and scalable solution, supporting the full implementation of sustainable development

收稿日期: 2023-12-29

修回日期: 2024-02-15

DOI: 10.20078/j.eep.20240301

基金项目: 河北省湿地保护与绿色发展协同创新中心开放基金资助项目 (2023HBXCZX2-8)

作者简介: 王 艺 (2000—), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 主要研究方向为微藻固碳。E-mail: ethereal_wy@163.com

通讯作者: 宋春风 (1985—), 男, 河北承德人, 教授, 主要研究方向为温室气体减排、环境生物技术、清洁能源。E-mail: chunfeng.song@tju.edu.cn

strategies. Microalgae carbon sequestration technology is expected to play a significant role in combating global warming and promoting environmental sustainability by capturing and storing carbon dioxide efficiently. Overall, the utilization of microalgae for carbon sequestration has enormous potential. By optimizing growth conditions and employing advanced genetic engineering techniques, microalgae-based CCUS technology can become a key contributor to mitigating climate change, preserving biodiversity, and facilitating the transition towards a sustainable future.

Keywords: Microalgae; Global warming; Carbon neutrality; Photosynthesis; CO₂ emission reduction

0 引言

随着化石燃料的广泛使用,CO₂等温室气体的大量排放导致全球气候变化和生态破坏问题日益严重^[1]。全球变暖已成为一个紧迫的全球性问题。预计到2100年,全球平均气温将上升2℃,而到2400年将进一步上升4.2℃^[2]。温室气体积累的长期影响还包括冰川融化、海洋酸化、极端干旱和农作物产量下降,这些都将严重影响人类健康、生态多样性和农业生产^[3]。

目前,人们正在积极寻求减少CO₂排放、缓解气候变暖的方法,这对于实现可持续发展至关重要^[4]。碳中和技术,尤其是CO₂捕集、利用与封存(CCUS)技术,发挥着关键作用。CCUS技术是实现CO₂长期减排的重要手段,其中碳捕集是核心环节,涉及从能源利用、工业生产和大气中分离CO₂的过程^[5]。

化学吸收、物理吸附、膜分离、低温精馏和微藻生物固存是常见碳捕集技术方法^[6]。传统的CO₂利用方法包括化学催化转化和辅助生产石油等。然而,考虑到能源消耗和CO₂利用效率,化学吸收和生物转化的结合被认为是一种有效的解决方案。特别是CO₂吸收与微藻转化(CAMC)系统,将CO₂吸收与微藻培养结合,既环保又经济,有助于提高CO₂捕集和利用效率。

生物转化法是微藻等光合固碳生物通过光合作用的暗反应(卡尔文循环)将无机碳转化为有机化合物的方法。微藻是高效的光合固碳生物,其大约50%的生物质是碳,理论上每千克干重可以固定1.83 kg CO₂。因此,微藻固碳技术被认为是目前最重要、最有效的固碳方法之一。

微藻作为一种高效的CO₂固定生物体,分为真核微藻和原核微藻2大类。它们具备许多传统作物无法比拟的优势,是目前固碳领域中最有潜力的生物之一^[7]。其固定CO₂的独特优势主要包括以下几点。

(1)直接利用太阳能:与物理化学方法相比,微藻固碳过程可以直接利用太阳能,从而节省了大量能源。(2)高光合效率:微藻利用太阳能固定CO₂的效率远超其他陆生植物,大约是其10~50倍。(3)快速生长:微藻繁殖速度快,可在数小时内完成繁殖,这一速度远超高等植物。(4)循环利用CO₂:微藻通过光合作用将CO₂转化为生物能源,而生物能源产生的CO₂又可以通过微藻固定和转化,形成环境友好且可持续的循环^[8]。(5)强大的环境适应性:微藻能够在极端环境下生存,如沿海滩涂、盐碱地和沙漠等,不占用耕地^[9]。(6)转化工业废气:微藻能够将电厂烟气等工业废气转化为无机碳源,同时使用城市污水和工农业废水作为营养源,低成本培养。(7)产生高附加值产品:微藻可用于生产多种高附加值产品,如食品、饲料、化妆品、药品、肥料、生物活性物质和各类生物燃料^[10]。

此外,微藻固定CO₂机理研究表明,通过调节生长条件(如光照、温度、pH、营养元素、CO₂浓度)可以进一步提高微藻的固碳能力^[11]。目前,通过随机诱变、适应性实验室进化和基因工程等策略,筛选出生长速度快、耐受性强、CO₂固定效率高、生物量大的微藻品种。

尽管微藻固碳技术面临一些挑战,如培养成本、规模化生产和生物质的有效利用等,但可以采取一系列方法提高微藻的固碳效率,建立更加优化的微藻固碳机制。这不仅有助于推进碳达峰、碳中和目标,也为实现能源的清洁、绿色、低碳和高效利用提供了坚实的基础,从而支撑全面实施可持续发展战略。

1 影响微藻固定CO₂效率的因素

微藻的生长及其对CO₂的固定效率受到多种因素的影响,包括光照、温度、CO₂浓度、pH、混合和曝气方式以及盐度等^[12]。这些物理、化学参数对微藻的生长有直接或间接的影响。

1.1 光照

光照是微藻进行光合作用的关键能量来源,在微藻细胞获取并储存固定碳的过程中扮演着至关重要的角色^[13]。通过精细调控光源、光强、光照时间和照射区域等因素,可以有效地控制微藻细胞生长和代谢过程,从而优化其光合作用效率和生物量产出。

光强对微藻的生长和代谢活动有重要影响。过高的光照强度可能导致光氧化和光抑制,而光照不足则可能抑制微藻生长^[14]。一般认为,光抑制是导致藻类产量降低的主要因素。在较弱的光照条件下,微藻的生长速度会随着光强的增加而线性上升,直至达到光饱和点。然而,如果光照强度继续增强,脂质合成的效率则会下降。光强度对微藻生长的影响可分为3个阶段:光抑制、光限制(也称为补偿光强度)和光饱和。在光饱和阶段,微藻达到最大光合速率,生长速度稳定。

WAHIDIN 等^[15]表明影响微藻培养生长速度的关键因素包括光周期(暗周期和光周期),微藻生长与光暗周期模式密切相关。微藻光合作用的第一阶段是由光驱动的,在这个阶段,光将还原型辅酶 I (NADP) 和二磷酸腺苷 (ADP) 转化为储存能量的还原型辅酶 II (NADPH) 和三磷酸腺苷 (ATP) 分子。第二阶段,即暗阶段,由 CO₂ 固定和通过卡尔文循环(图 1)同化组成,目的是在第一阶段产生的 NADPH 和 ATP 的帮助下产生有机化合物(葡萄糖)。WAHIDIN 等的研究表明,光暗周期为 18 h : 6 h 时,微藻可由对数生长阶段过渡到稳定生长阶段。在光强为 100 μmol · m⁻² · s⁻¹、光暗周期为 18 h : 6 h 的条件下,微藻生长最佳,细胞密度、特定生长率和脂质产量最大。

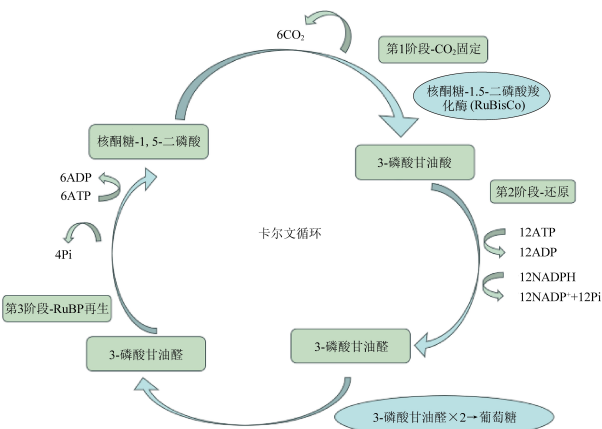


图 1 卡尔文循环

Fig. 1 Calvin cycle

在微藻的光合作用研究领域,不同类型的光源及其对藻类生长的影响一直是关注焦点。SATHONG 等^[16]通过模拟实验,深入探讨了 LED 灯和荧光灯等光源对微藻生长速度的影响。研究发现,使用荧光灯作为光源时,微藻的生长效率显著高于其他光源。此外,为了最大限度地提高荧光灯照射下的光合作用效果,可以使用蓝色光和红色光。含有叶绿素 a 和叶绿素 b 的藻类,主要依赖红光和蓝光进行光捕获。SINGH 等^[17]研究表明,绿藻由于含有叶绿素 a 和叶绿素 b,比褐藻和红藻生长得更好。研究人员还探讨了不同光强度和波长下微藻的生长情况,发现蓝色、白色、绿色和红色 LED 光是微藻生长的主要单色光波长,特别是在蓝光条件下,微藻的生长速率最高。

1.2 温度

温度对微藻的生长和光合作用具有决定性的影响。绝大多数微藻物种在 15 ~ 30 °C 温度范围内能有效进行光合作用和细胞分裂,然而它们的最佳生长温度通常为 20 ~ 25 °C。在低于最佳生长温度的情况下,随着温度的升高,光合作用和细胞分裂的效率会逐渐提升。这一现象归因于卡尔文循环相关酶活性的增强,其中每增加 10 °C,光合作用、细胞分裂和生长速度都可能翻倍,直到达到对微藻生长不利的温度。当温度超过微藻的最佳生长温度时,其生长速率会急剧下降。这通常是由热应激引起,热应激可能导致酶功能失活变性或影响参与光合作用的蛋白质。当温度超过最佳生长阈值时对微藻的负面影响甚至比低温时更为严重。可通过绘制微藻的生长曲线验证温度对微藻生长的影响。在最佳温度之外,生长速率的下降趋势通常是线性的,并且随着温度的进一步升高或降低,可能会突然达到微藻致死温度,具体情况取决于物种^[18]。在适宜的温度范围内,随着温度的降低,核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶 (RuBisCo 酶) 的活性下降,不饱和脂肪酸的比例升高,生长速率减慢,生物量减少,固碳效率也显著降低。

1.3 pH

pH 对微藻的生理代谢存在显著影响,尤其是在细胞代谢酶的活性和对各种离子的摄取及利用方面。大多微藻在中性条件下培养效果最佳,特别是 pH 为 7.5 ~ 8.5 时,固碳的能量成本较低,因为此时 HCO₃⁻ 向细胞质转移的能量消耗较少^[19]。微藻细胞生长过程中消耗的无机碳 (C_i) 会导致培养液 pH 升高,进而改变微藻的生化反应特性,并

可能使细胞破裂。pH 的波动会影响碳酸酐酶 (CA) 的活性,进而影响微藻的生长。通过使用 NaOH 或 CaCO₃ 等缓冲液,调节 pH 至最适合微藻生长的水平,从而提高 CO₂ 固定率和生物质产量。微藻固定 CO₂ 不仅与其生物量相关,还与营养吸收、光合活性及多种酶促反应密切相关。酸性条件下,由于游离 CO₂ 浓度的增加,有利于耐酸性微藻固定 CO₂。在碱性条件下,由于 CO₃²⁻ 增多,CO₂ 溶解度提高,从而有利于耐碱性微藻的生长。适宜的 pH 有助于光合生物的正常生长和发育。pH 根据培养物中 CO₂ 的浓度而有所不同,因此可以通过调节 CO₂ 浓度控制溶液 pH。适宜的 pH 是获取最大脂质含量的关键条件。当使用纯 CO₂ 或高 CO₂ 含量的烟气曝气培养微藻时,溶解的 CO₂ 会降低培养基的 pH,形成酸性环境。随后,微藻在光合作用过程中吸收 CO₂,使培养液 pH 升高。

1.4 营养元素

微藻生长和光合作用的有效性很大程度上受到关键营养物质碳、氮和磷的影响,这些元素不仅是微藻细胞合成的基石,也是生物量增长的重要因素。磷和氮是维持微藻生长所必需的主要营养物质。碳氮比 (C/N) 也是一个关键因素,它影响增值组分的固碳效率、生物量的积累以及生产力^[20]。例如,在螺旋藻的培养中,当 NH₄HCO₃ 与 NaNO₃ 的比例为 1 : 4 时,可实现较高的碳利用效率 (40.45%),但过高的 NH₄HCO₃ 浓度会对微藻产生毒性效应,进而降低生物产率。

磷的浓度对微藻的生长和脂质积累有显著影响。微藻可以利用磷酸化作用将 ADP 转化为 ATP,同时通过细胞吸附或调节 pH 沉淀磷酸盐^[21]。氮是微藻基本代谢的关键部分,主要以亚硝酸盐、硝酸盐、氨盐或铵的形式存在^[22]。在氮剥夺条件下,微藻能够产生更多的脂质,但其生长速度会降低。

1.5 CO₂ 浓度

CO₂ 浓度对微藻生长和碳同化效率有显著影响。当 CO₂ 浓度过高时,叶绿体基质区域会发生酸化,导致卡尔文循环中关键酶失活,从而抑制微藻生长并降低其碳同化效率。在低 CO₂ 浓度条件下,微藻启动碳浓缩机制 (CCM) (图 2) 以提供足够的 CO₂ 给 RuBisCo 酶,故光合速率降低,生长代谢及生物量积累缓慢^[23]。

当通入高浓度的 CO₂ 时,微藻细胞内的 RuBisCo 酶得到充足的 CO₂ 供应,无需再通过碳酐

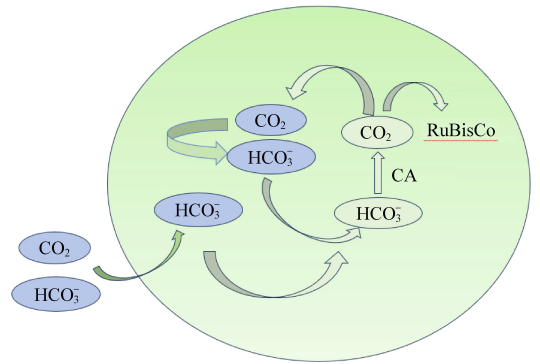


图 2 碳浓缩机制

Fig. 2 Carbon concentration mechanism

酸酶将 HCO₃⁻ 催化转换为 CO₂,从而降低能量消耗,为光合反应提供更多的 ATP,加快微藻的生长速率。同时,随着 CO₂ 浓度的提高,微藻细胞内硝酸还原酶、亚硝酸还原酶的含量也增加,加速 NO₃⁻ 催化还原过程,最终转化为铵盐以合成含氮化合物。

藻类能够在一定的 CO₂ 浓度下生长而不受抑制,但这种耐受性有限^[24]。高浓度的 CO₂ 对藻类产生两方面的影响:一方面,过高的 CO₂ 浓度会造成环境压力,进而影响藻类的生物量和其捕获 CO₂ 的能力;另一方面,随着碳酸氢盐的形成,环境的 pH 会降低,进一步影响藻类的生长。

2 提高微藻光合效率的策略

选择生长快、环境适应强和高固碳能力的微藻是提升微藻固碳效率的关键步骤^[25]。除了筛选具有优越性质的天然微藻品种外,运用随机诱变、适应性实验室进化 (ALE) 和基因工程等方法增强微藻的特定代谢表型和提升其环境适应性,也成为了常见且有效的手段 (图 3)。此外,提升微藻的固碳能力有时与其快速生长的条件存在一定的冲突。因此,可以通过这些技术进一步优化藻类的生产力,从而在固碳效率和生长速度之间取得更好的平衡。

2.1 随机诱变

随机诱变是一种有效且经济的方法,用于创造具有理想特性的微藻突变体,如高效碳固定、脂质生产、CO₂ 耐受性和耐酸性^[26]。这种方法的优势在于不需要特定的方向或设计,便能够产生具有多样性的微藻细胞库,便于后续根据特定需求选择适合的微藻。随机诱变可通过使用不同的诱变剂实现^[27],包括化学诱变剂 (如 NTG) 和物理诱变手段,例如重离子、伽马射线和紫外线射线。突变特性的不稳定性和可逆性突显了开发有效的选

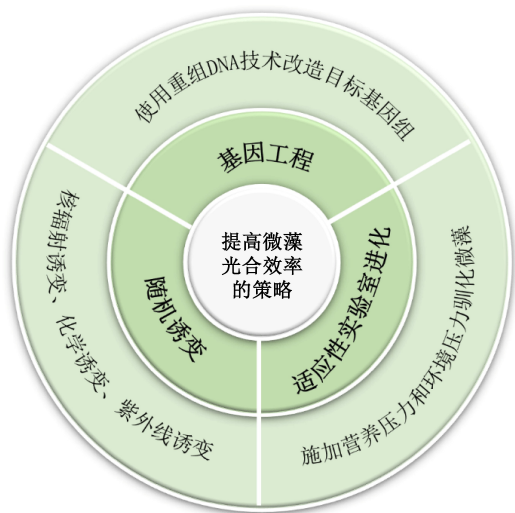


图3 提高微藻光合效率的策略

Fig. 3 Strategies for improving photosynthetic efficiency of microalgae

择方法和确保表型稳定性的重要性。适当的选择方法曾是这种技术的主要限制,然而现在已经通过使用高通量筛选方法得到了解决,如流式细胞仪(FACS)。这些进步极大地提高了随机诱变技术在微藻改良中的应用潜力。

2.1.1 核辐射诱变

伽马射线是一种在原子核能级转换和退激发过程中产生的辐射形式,比紫外线和X射线具有更强的穿透能力,并能与细胞内分子,尤其是水分子发生相互作用,产生自由基。自由基可能破坏细胞中的大分子结构,如蛋白质、核酸和碳水化合物,从而导致遗传特征变化。 ^{60}Co 和 ^{137}Cs 是最常用的伽马射线诱变源。为了培育出具有快速固定 CO_2 和高脂质生产能力的微藻,CHENG等^[28]采用了2轮伽马射线诱变,并使用尼罗红染色和荧光显微镜进行筛选。经突变处理的微藻的生物量生产能力显著提升,达到了原来的7.6倍,培养周期也从15 d缩短至12 d。此外,突变体的脂质积累能力也显著提高,是未经突变的微藻的20倍。

2.1.2 化学诱变

化学诱变剂在微藻改良应用中十分广泛,其诱变潜力和作用机制已被深入研究。其中,最常用的一类化学诱变剂是烷化剂,其含有活性的烷基团能替换DNA碱基上的原有烷基,常见的目标是鸟嘌呤^[29]。在DNA复制过程中,化学诱变改变了模板链上的核苷酸,导致核苷酸的替换、插入或缺失,从而使DNA序列变化。

2.1.3 紫外线诱变

紫外线诱变是一种在微藻遗传和生理代谢改

变方面快速而有效的方法。与化学诱变相比,紫外线诱变提供了更灵活的控制,同时避免了可能的二次污染问题^[30]。在紫外光辐射下,DNA最大的吸收峰位于260 nm,这个波长的紫外光诱导了嘧啶二聚体的形成,其中2个相邻的嘧啶基因通过共价键连接。这些二聚体的存在削弱了DNA双链间的氢键,导致DNA双螺旋结构扭曲,干扰了碱基的正常配对,可能引起突变或细胞死亡。此外,嘧啶二聚体的形成还阻碍了DNA双螺旋的解绕,从而影响DNA的复制和转录过程。

在一项紫外诱变研究中,ANTHONY等^[31]发现,在乙酰辅酶A羧化酶(ACCCase)的编码区,亮氨酸残基被丝氨酸残基取代。这种点突变导致乙酰辅酶A中的非极性疏水氨基酸被极性亲水氨基酸所替换,改变了它们之间的氢键。突变后的ACCCase活性显著提高,这一发现强有力地证明了基因突变能够有效增强微藻的脂质生产能力。通过紫外线辐射诱变,LI等^[32]成功培育出了一种突变微藻WUST4,它具有耐受高浓度 CO_2 (20%)和烟气的的能力,同时表现出较高的 CO_2 固定能力。紫外线辐射诱变所产生的突变体普遍表现出更佳的固碳特性。例如,QI等^[33]发现一些突变体表现出更高的生物量生产力、更强的 CO_2 耐受性以及更高的脂质或碳水化合物含量。这些研究表明,紫外线诱变是一种有效的方法,能够显著提升微藻在 CO_2 固定和生物质生产方面的性能。

2.2 适应性实验室进化

适应性实验室进化(ALE)是一种基于随机突变和自然选择的微藻改良方法,不仅可作为研究进化的工具,也可用于提升微藻的表型、性能和稳定性^[34]。ALE的成效依赖于微藻的初始细胞密度及所采用的胁迫策略^[35]。这些胁迫策略包括营养压力和环境压力,如温度、光照和有机溶剂耐受性,恰当的胁迫选择对提高ALE效率至关重要。在实验条件下,可通过自然选择在特定环境中培养,直至获得稳定的代谢表型和含有有益突变的进化微藻。微藻因其快速分裂能力、高突变率和较小的基因组,成为理想的ALE研究对象。ALE通过在特定环境中延长培养期和自然选择过程,促进有益突变的产生和固定。蛋白质组学、转录组学、基因组学和代谢组学等生物信息学技术的应用,有助于识别ALE中的关键突变机制,从而为微藻的工业化应用和生物学研究提供依据。

2.3 基因工程

基因工程主要聚焦于基因表达和转录水平的

调控,通过使用重组 DNA 技术在分子层面上改造目标基因组。这一过程大致可分为 3 种策略:第一种是添加外源基因以提供所需的表型特性;第二种是通过基因破坏或删除、或利用 RNA 干扰技术抑制现有基因的表达;第三种是强化和激活非自然启动子下的基因表达^[36]。

2.3.1 启动子

实现重组蛋白和代谢产物的高产量,关键在于识别和优化那些能够有效促进转基因表达的顺式调控元件。这些元件,如启动子,负责控制所需产物的编码,其精确选择和优化可以显著提升转基因编码产品的表达水平,从而优化生物合成过程和产量。在微藻生产领域,已经发现了多个能够持续导致高基因表达的内源性启动子。RAMA-RAJAN 等^[37]从微藻中鉴定出 2 个内源性常态启动子 HSP90 和 EPPSII,它们的表达性能比常用的 B-微管蛋白(TUB)启动子高出 3.1~4.5 倍。另外,2 个源自小球藻的氮缺乏诱导内源性启动子(CvNDI1 和 CvNDI2 基因)成功用于表达人类粒细胞-集落刺激因子,利用小球藻的内源性基因组分表达了重组蛋白,建立了新的蛋白表达体系^[38]。

2.3.2 基因编辑和调控

基因组编辑技术涉及使用定点核酸酶,这些酶可以被编程以精确操纵几乎任何目标 DNA 序列^[39]。它们通过引发 DNA 双链断裂并激活细胞的 DNA 修复机制来实现操作,可用于敲除基因或与供体 DNA 一起引入以插入转基因。这些技术已广泛应用于各种生物体中。最初,研究人员使用了锌指核酸酶(ZFNs)和类转录激活因子核酶(TALENs)等 DNA 结合域来实现基因组编辑。然而,在过去十年中,出现了一种更高效的系统,即 CRISPR/Cas9(聚集的调控性间隔短回文重复序列/CRISPR 关联)基于 RNA 引导的 DNA 内切酶。CRISPR/Cas9 系统最初来源于免疫反应,其中单个引导 RNA (sgRNA) 将 Cas9 蛋白引导到外源 DNA 并诱导其降解。最近,这一技术被用于改进微藻工程。GREINER 等^[40]通过使用锌指核酸酶(ZFN)、CRISPR/Cas9 以及重组 Cas9 优化了几种微藻的基因编辑方案,并开发了快速分离分选择性基因突变体的方案。

2.3.3 转录工程

转录工程学专注于通过工程转录元素(例如转录因子 TFs)同时调控多个基因在代谢途径中

的表达。转录因子通过与 DNA 序列中的特定基序结合,从而调控基因的表达水平,通过影响与 RNA 聚合酶的互作来实现上调或下调基因的转录^[41]。这种方法与传统的单一基因工程方法不同,它可以同时影响代谢途径中的多个组成部分。在微藻中,大多数转录因子是通过预测方法发现的,它们的具体功能尚未完全了解。然而,借助 RNA 测序数据构建的拟议转录调控网络已经将转录因子与微藻细胞代谢的不同方面及其结合位点联系起来。这为利用基因工程工具增加微藻中不同代谢产物的产量提供了可能性。这一方法旨在通过精确控制基因表达,提高微藻中目标代谢物的生产效率。

2.3.4 基因转化

在成功设计和克隆最佳表达载体后,需要将质粒载体 DNA 有效地插入微藻的基因组,以减少在转化后所需的筛选时间。微藻的转化过程可以采用多种方法,包括生物弹射粒子轰击法、玻璃珠搅拌法、电穿孔法、农杆菌介导法和纳米粒子法^[42]。电穿孔法是最常见且最有效的方法之一,特别适用于微藻核转化,可以实现高达 100 倍以上的成功转化率。该方法涉及施加电脉冲,在细胞壁上形成微小的孔道,能够使外源 DNA 进入^[43]。目前,已经确定电穿孔法参数的优化方法,可以实现最高的转化效率。MUÑOZ 等^[44]研究了在 4 种不同的微藻物种中获得最佳转化效果所需的电压设置、细胞浓度、光强度和 DNA 片段大小。这些信息可以用于设计转化实验以预测适当试验条件。

3 结论与展望

微藻的固碳能力及其在光合作用中的独特性质提供了一种有望缓解气候变化和能源危机的生物学途径。在研究微藻 CO₂ 固定效率的过程中,光、温度、pH、营养元素以及 CO₂ 浓度都是影响微藻生长和光合效率的关键因素。通过对这些因素的综合考虑,制定更有效的培养策略,从而提高微藻的 CO₂ 固定效率。同时,为了进一步增强微藻的碳减排能力,可以通过随机诱变、适应性实验室进化和基因工程等策略优化微藻。这些努力将微藻的固碳性能推向新的高峰。

未来的研究可以进一步深入以下几个方向:首先,深入研究不同光、温度、pH 等因素之间的相互作用,以优化微藻的生长条件;其次,对于提高

微藻光合效率的策略,可以进一步探索多种方法结合的应用,以取得更好的效果;此外,随着基因工程技术的不断发展,可以考虑引入更多新颖的基因编辑技术,以更精确地设计和优化微藻的基因组。

总体而言,深入了解和优化这些因素对于提高微藻的CO₂固定效率具有重要意义,同时未来的研究将继续推动这一领域的发展,为可持续发展和环境保护做出更大贡献。

参考文献 (References):

[1] YORO K O, DARAMOLA M O. CO₂ emission sources, greenhouse gases, and the global warming effect [M]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2020: 3–28.

[2] MALHI G S, KAUR M, KAUSHIK P. Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review [J]. Sustainability, 2021, 13(3): 1318.

[3] SHIVANNA K R. Climate change and its impact on biodiversity and human welfare [J]. Proceedings of the Indian National Science Academy, 2022, 88(2): 160–171.

[4] REDCLIFT M. Sustainable development and global environmental change: Implications of a changing agenda [J]. Global Environmental Change, 1992, 2(1): 32–42.

[5] CHEN S, LIU J, ZHANG Q, et al. A critical review on deployment planning and risk analysis of carbon capture, utilization, and storage (CCUS) toward carbon neutrality [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2022, 167: 112537.

[6] NANDA S, REDDY S N, MITRA S K, et al. The progressive routes for carbon capture and sequestration [J]. Energy Science & Engineering, 2016, 4(2): 99–122.

[7] SINGH U B, AHLUWALIA A S. Microalgae: A promising tool for carbon sequestration [J]. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, 2013, 18(1): 73–95.

[8] ZHAO B, SU Y. Process effect of microalgal–carbon dioxide fixation and biomass production: A review [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014, 31: 121–132.

[9] ONYEAKA H, MIRI T, OBIKEKE K C, et al. Minimizing carbon footprint via microalgae as a biological capture [J]. Carbon Capture Science & Technology, 2021, 1: 100007.

[10] OLGUÍN E J, SÁNCHEZ GALVÁN G, ARIAS OLGUÍN I I, et al. Microalgae–based biorefineries: Challenges and future trends to produce carbohydrate enriched biomass, high–added value products and bioactive compounds [J]. Biology, 2022, 11(8): 1146.

[11] MORALES M, SÁNCHEZ L, REVAH S. The impact of environmental factors on carbon dioxide fixation by microalgae [J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(3): fnx262.

[12] GATAMANENI B L, ORSAT V, LEFSRUD M. Factors affecting growth of various microalgal species [J]. Environmental Engineering Science, 2018, 35(10): 1037–1048.

[13] ZENG J, WANG Z, CHEN G. Biological characteristics of en-

ergy conversion in carbon fixation by microalgae [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2021, 152: 111661.

[14] CARVALHO A P, SILVA S O, BAPTISTA J M, et al. Light requirements in microalgal photobioreactors: An overview of biophotonic aspects [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89: 1275–1288.

[15] WAHIDIN S, IDRIS A, SHALEH S R M. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. [J]. Bioresource Technology, 2013, 129: 7–11.

[16] SATTHONG S, SAEGO K, KITRUNGLOADJANAPORN P, et al. Modeling the effects of light sources on the growth of algae [J]. Advances in Difference Equations, 2019, 2019: 1–6.

[17] SINGH S P, SINGH P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2015, 50: 431–444.

[18] TEOH M L, CHU W L, MARCHANT H, et al. Influence of culture temperature on the growth, biochemical composition and fatty acid profiles of six antarctic microalgae [J]. Journal of Applied Phycology, 2004, 16: 421–430.

[19] DE FARIASSILVA C E, SFORZA E, BERTUCCO A. Effects of pH and carbon source on *Synechococcus* PCC 7002 cultivation: Biomass and carbohydrate production with different strategies for pH control [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2017, 181: 682–698.

[20] LI S, SONG C, LI M, et al. Effect of different nitrogen ratio on the performance of CO₂ absorption and microalgae conversion (CAMC) hybrid system [J]. Bioresource Technology, 2020, 306: 123126.

[21] LIN Y H, NISHIKAWA S, JIA T Z, et al. One-pot chemo-enzymatic synthesis and one-step recovery of length-variable long-chain polyphosphates from microalgal biomass [J]. Green Chemistry, 2023, 25(23): 9896–9907.

[22] SALBITANI G, CARFAGNA S. Ammonium utilization in microalgae: A sustainable method for wastewater treatment [J]. Sustainability, 2021, 13(2): 956.

[23] CHENG J, ZHU Y, ZHANG Z, et al. Modification and improvement of microalgae strains for strengthening CO₂ fixation from coal-fired flue gas in power plants [J]. Bioresource Technology, 2019, 291: 121850.

[24] YADAV G, MATHIMANI T, SEKAR M, et al. Strategic evaluation of limiting factors affecting algal growth—An approach to waste mitigation and carbon dioxide sequestration [J]. Science of the Total Environment, 2021, 796: 149049.

[25] XU X, GU X, WANG Z, et al. Progress, challenges and solutions of research on photosynthetic carbon sequestration efficiency of microalgae [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2019, 110: 65–82.

[26] TROVÃO M, SCHÜLER L M, MACHADO A, et al. Random mutagenesis as a promising tool for microalgal strain improvement towards industrial production [J]. Marine Drugs, 2022, 20(7): 440.

- [27] BLEISCH R, FREITAG L, IHADJADENE Y, et al. Strain development in microalgal biotechnology—Random mutagenesis techniques[J]. *Life*, 2022, 12(7): 961.
- [28] CHENG J, ZHU Y, ZHANG Z, et al. Modification and improvement of microalgae strains for strengthening CO₂ fixation from coal-fired flue gas in power plants[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 291: 121850.
- [29] FU D, CALVO J A, SAMSON L D. Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12(2): 104–120.
- [30] KANAKDANDE A P, KHOBRADE C N, MANE R S. Ultraviolet induced random mutagenesis in *Bacillus amyloliquefaciens* (MF 510169) for improving biodiesel production[J]. *Fuel*, 2021, 304: 121380.
- [31] ANTHONY J, RANGAMARAN V R, GOPAL D, et al. Ultraviolet and 5' fluorodeoxyuridine induced random mutagenesis in *Chlorella vulgaris* and its impact on fatty acid profile: A new insight on lipid-metabolizing genes and structural characterization of related proteins[J]. *Marine Biotechnology*, 2015, 17: 66–80.
- [32] LI F F, YANG Z H, ZENG R, et al. Microalgae capture of CO₂ from actual flue gas discharged from a combustion chamber[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2011, 50(10): 6496–6502.
- [33] QI F, WU D, MU R, et al. Characterization of a microalgal UV mutant for CO₂ biofixation and biomass production[J]. *Biomed Research International*, 2018, 2018.
- [34] ZHANG B, WU J, MENG F. Adaptive laboratory evolution of microalgae: A review of the regulation of growth, stress resistance, metabolic processes, and biodegradation of pollutants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 737248.
- [35] SUN X M, REN L J, ZHAO Q Y, et al. Microalgae for the production of lipid and carotenoids: A review with focus on stress regulation and adaptation [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2018, 11: 1–16.
- [36] HLAVOVA M, TUROCZY Z, BISOVA K. Improving microalgae for biotechnology—From genetics to synthetic biology[J]. *Biotechnology Advances*, 2015, 33(6): 1194–1203.
- [37] RAMARAJAN M, FABRIS M, ABBRIANO R M, et al. Novel endogenous promoters for genetic engineering of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana* CCMP526 [J]. *Algal Research*, 2019, 44: 101708.
- [38] SHIN J H, CHOI J, JEON J, et al. The establishment of new protein expression system using N starvation inducible promoters in *Chlorella* [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 12713.
- [39] WEEKS D P, SPALDING M H, YANG B. Use of designer nucleases for targeted gene and genome editing in plants[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(2): 483–495.
- [40] GREINER A, KELTERBORN S, EVERS H, et al. Targeting of photoreceptor genes in *Chlamydomonas reinhardtii* via zinc-finger nucleases and CRISPR/Cas9[J]. *Plant Cell*, 2017, 29(10): 2498–2518.
- [41] BAJHAIYA A K, MOREIRA J Z, PITTMAN J K. Transcriptional engineering of microalgae: Prospects for high-value chemicals[J]. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35(2): 95–99.
- [42] JINKERSON R E, JONIKAS M C. Molecular techniques to interrogate and edit the *Chlamydomonas* nuclear genome[J]. *The Plant Journal*, 2015, 82(3): 393–412.
- [43] ALLARD B, TEMPLIER J, LARGEAU C. An improved method for the isolation of artifact-free algaenans from microalgae [J]. *Organic Geochemistry*, 1998, 28(9–10): 543–548.
- [44] MUÑOZ C F, DE JAEGER L, STURME M H J, et al. Improved DNA/protein delivery in microalgae—A simple and reliable method for the prediction of optimal electroporation settings[J]. *Algal Research*, 2018, 33: 448–455.