

蓝藻 Hox 氢酶催化产氢的调控

宁德刚* 汤晓夏

(江苏大学 环境与安全工程学院 江苏 镇江 212013)

摘要: 蓝藻是唯一能通过光合作用产生清洁可再生燃料氢气的原核微生物。一些蓝藻具有催化产氢活性的镍-铁 Hox 氢酶(双向氢酶), 由于其巨大的应用潜力受到广泛的关注。但 Hox 氢酶在蓝藻产氢过程中调控途径尚不清楚。本文对蓝藻 Hox 氢酶的结构、生态分布和表达调控的研究进展进行了总结。简单介绍了作者近来对模式蓝藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 *hox* 操纵子中两个未知功能基因 *ssl2420* 和 *sll1225* 的研究结果。

关键词: 蓝藻, Hox 氢酶, 氢气, 调控

Hydrogen-producing regulation of Hox hydrogenases in cyanobacteria

NING De-Gang* TANG Xiao-Xia

(School of the Environment and Safety Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China)

Abstract: Cyanobacteria are the only prokaryotes that are able to produce clean, renewable fuel hydrogen gas through oxygenic photosynthesis. The *hox*-encoded bidirectional Ni-Fe hydrogenase in some cyanobacteria species, capable of evolving hydrogen gas, has continued to attract interest due to their application potential. However, the regulation of their enzymatic activity remains largely unexplained. In this review, we summarized the structure, ecological distribution and expression regulation of Hox hydrogenases in cyanobacteria. Besides, we briefly introduced our recent studies on two hypothetical genes, *ssl2420* and *sll1225* in the *hox* operon of *Synechocystis* sp. PCC 6803, and discussed the possible roles of this gene pair in the

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30771176)

*通讯作者: ✉ 306502@ujs.edu.cn

收稿日期: 2013-03-25; 接受日期: 2013-06-21

differential expression of *hox* components.

Keywords: Cyanobacteria, Hox hydrogenase, Hydrogen gas, Regulation

放氧光合作用是光能自养型生物通过吸收光能,利用水光解释放的电子作为还原剂将简单的无机物转化为生物大分子,以维持生物的各种生命活动。在放氧光合自养过程中,释放的电子可将质子还原产生氢气。结构简单的蓝藻是地球上唯一能进行放氧光合作用的原核微生物,其利用光能产氢的最大理论转化效率为10%–13%^[1],但蓝藻光合产氢的实际效率仅有理论转化率的1%^[2]。通过设计适当的培养条件和遗传改造产氢过程,使蓝藻利用光能和水生产清洁可再生的燃料氢气具有巨大的潜力。但蓝藻光合产氢的调控途径尚不完全清楚。因此,对蓝藻产氢调控途径的深入研究对指导蓝藻光合产氢的开发应用具有重要意义。本文综述了近年来蓝藻产氢代谢调控的研究进展。

1 蓝藻的催化产氢酶

蓝藻中有两类催化产氢酶,固氮酶和氢酶。一些丝状蓝藻中的异形胞(Heterocyst)和一些单细胞蓝藻中有镍固氮酶。蓝藻固氮酶的主要生理功能是固定大气中的氮气形成化合态氮^[3],氢气是其在固氮过程中的副产物。固氮酶受缺氮诱导表达,对氧气敏感,在厌氧条件下具有催化活性^[3]。由于固氮酶在固氮作用时需消耗ATP,该酶利用光能产氢的最大理论转化率仅为1.5%^[1]。几乎所有含固氮酶的蓝藻也有氢吸收酶(Hydrogen-uptake enzyme, 又称 Hup hydrogenase)。该酶也对氧敏感,能不可逆的催化H₂产生质子和电子,因此可通过氢气循环利用电子。

蓝藻中另一种催化产氢的酶是 *hox* 基因编码的对氧敏感的镍-铁氢酶。该酶以 NADH 或

NADPH 作为电子供体催化产氢,也可以催化H₂释放电子形成NAD(P)H。因此, Hox 氢酶又称为双向氢酶(Bidirectional hydrogenase)或可逆氢酶(Reversible hydrogenase)。由于蓝藻 Hox 氢酶产氢不消耗ATP,最大理论转化效率为10%–13%^[1],因此受到广泛关注。但 Hox 氢酶对氧敏感成为利用蓝藻高效产氢的障碍。克服这一障碍的策略包括在蓝藻中异源表达耐氧的氢酶、对自源或异源氢酶的耐氧改造以及其他技术措施。

2 蓝藻 Hox 氢酶

蓝藻 Hox 氢酶由 *hox* 基因编码的 HoxE、F、U、Y 和 H 蛋白组分构成(图1)。HoxH 和 Y 组成 Hox 氢酶的催化亚复合体。HoxH 是含催化还原H₂的Ni-Fe活性位点,可通过该活性位点中的Fe络合两个CN配体和一个CO配体^[4]。Hox 氢酶的硫辛酰胺脱氢酶亚复合体(Diaphorase subcomplex)可能是催化亚复合体的酶促氧化还原伴侣。在NAD(P)和NAD(P)H的转化过程中,硫辛酰胺脱氢酶释放或得到的电子可能通过HoxEFUY复合体中的Fe-S簇,使电子转移到位于HoxH亚基中的活性位点,从而将质子还原成H₂或使H₂释放电子。HoxE、F和U与其他细菌中呼吸链复合体I的NuoE、F和G蛋白具有同源性。提示在缺乏NuoE、F和G的蓝藻中,HoxE、F和U蛋白可能参与细胞呼吸作用。但是,缺乏Hox氢酶或*hoxEF*缺失的蓝藻不会因呼吸受损而出现生长缺陷^[5]。尽管如此,HoxE、F和U可能是细菌呼吸或特殊条件下呼吸所必需的蛋白。

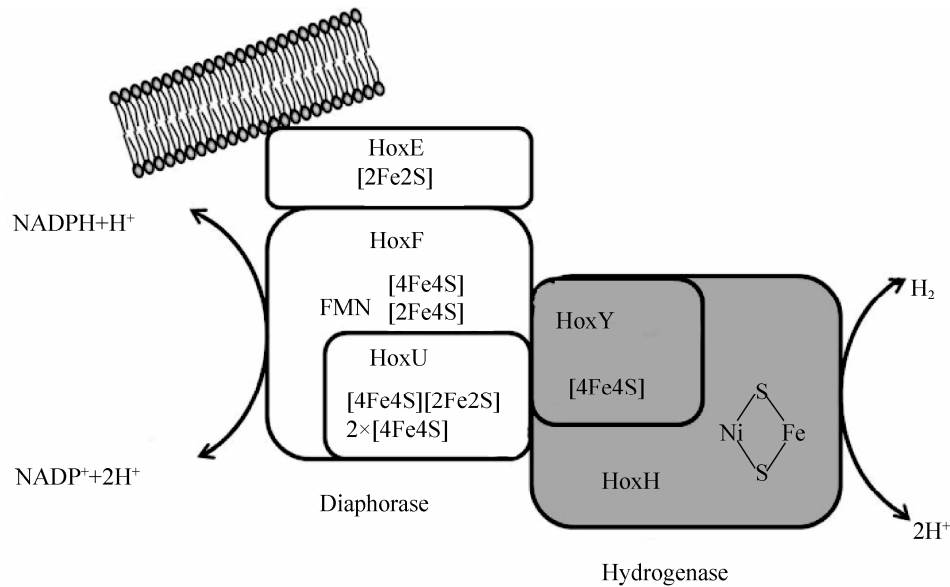


图 1 蓝藻 Hox 氢酶结构示意图

Fig. 1 Structural model of Hox hydrogenase in cyanobacteria

构成蓝藻 Hox 氢酶的亚基需要组装成具有催化活性的复合体。Hyp (Hydrogen pleiotrophy) A、B、C、D、E 和 F 蛋白, 以及高度特异的 HoxW 蛋白酶参与 Hox 氢酶成熟过程^[6]。编码 Hyp 蛋白的基因 *hypABCDEF* 和编码 HoxW 的基因 *hoxW* 与 *hoxEFUYH* 同时表达, 是生成具有活性 Hox 氢酶所必需的^[6]。但蓝藻中 Hox 酶组装、成熟和参与这一过程的蛋白表达调控所知甚少。在大肠杆菌中, HypA 和 B 将 Ni 离子插入由异源二聚体构成的 Ni-Fe 氢酶催化中心^[7]。HypA 是金属伴侣蛋白, HypB 调控 HypA 与氢酶大亚基之间的相互作用, 并催化水解 GTP 便于插入 Ni^[7]。HypE 和 F 参与由氨甲酰磷酸产生的 CN 配体, CN 被 HypCD 复合体结合的 Fe 络合^[7-8]。HypC 是将从 HypD 中分离的 Fe 插入活性位点的一个小伙伴蛋白^[9]。HoxW 是高度特异的蛋白酶, 降解氢酶催化亚基 C 末端, 可能是大肠杆菌中氢酶成熟的最后一步^[10]。Ni 离子可部分弥补蓝藻中 HypA 或 B 的缺失^[6,8], 提示蓝藻 Hox 氢酶的组装可能具有与大肠

杆菌异源二聚体氢酶成熟类似的机制。但是, 由 5 个亚基构成的蓝藻 Hox 氢酶组装成熟的过程可能更为复杂。

3 蓝藻 Hox 氢酶基因的生态分布

蓝藻一般在有氧光照条件下生长, 但也能遭遇无氧或微氧黑暗的生长环境。如微生物席 (Microbial mat)、湖泊沉积、表面水华以及土壤中的蓝藻都会经历黑暗的无氧生长环境。高密度的蓝藻群落会阻挡光照, 抑制氧气扩散。另外, 伴随昼夜周期和高呼吸速率, 蓝藻也会遭遇黑暗无氧环境。开阔海洋的浅层一般能维持较高水平的氧气浓度 (200 $\mu\text{mol/L}$ 以上)^[11]。生长在这种环境中的蓝藻不会出现无氧生长, 因此缺少 *hox* 基因^[12]。微生物席、盐泽和潮间带中的蓝藻都有 *hox* 基因^[13]。对蓝藻 *hoxH* 和 *hupL* 的系统发育分析发现, 绿非硫细菌 *Chloroflexus aurantiacus* 可能是所有光合细菌的共同祖先, 蓝细菌 Hox 和 Hup 氢酶来源于类

-*Chloroflexus* 细菌^[12-13]。Hup 氢酶和 Hox 氢酶在不同蓝藻中的分布反应了这些基因在由共同的祖先进化过程中的差别选择: 根据生态需求或限制, 在不同的藻株基因组中这些氢酶被选择保留或丢失。因此, *hox* 基因的生态分布提示 Hox 氢酶可能作为氧化还原状态的调节因子, 维持微氧或无氧生长的细胞适当的还原力, 使蓝藻适应缺氧胁迫^[12-13]。

4 *hox* 基因的表达

一些蓝藻中的 Hox 氢酶基因在有氧或无氧条件下都能表达^[14-15], 但有些蓝藻在微氧或无氧条件下 *hox* 基因高水平表达^[16-18]。*hox* 的转录水平也受光照强度的调控: 在光照条件下增加, 在黑暗条件下降低^[19-20]; 在强光照条件下 *hox* 高水平转录; 当 Calvin 循环受到抑制时, *hox* 转录水平也受到抑制^[17]。这些结果提示在光合作用过程中, Hox 氢酶可能通过产氢调控细胞氧化还原水平, 阻止载体被过度还原。有些蓝藻的 *hox* 操纵子转录受氮源水平调控。鱼腥藻 *Anabaena variabilis* 在固氮条件下 *hoxYH* 转录水平较高, 并且这种现象同时出现在异形胞和营养细胞中^[21], 此时 Hox 氢酶可能具有氢吸收酶的作用。但念珠藻 *Nostoc muscorum* CCAP 1453/12 在固氮和非固氮条件下 *hox* 基因为组成型转录^[22]。

编码 Hox 氢酶各亚基的基因在不同蓝藻中的遗传结构也不相同。在集胞藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 中, *hoxE*、*F*、*U*、*Y* 和 *H* 位于同一操纵子中 (<http://genome.kazusa.or.jp/cyanobase>) (图 2)。但在黑暗或电子传递受到抑制时, *hoxE* 和 *F* 转录水平较 *hoxU*、*Y* 或 *H* 增加更多^[17]。*hox* 各基因不同转录水平的调控机制尚不清楚。一种可能的解释是在这些特殊条件下, *hox* 基因的转录产物可能被选择性加工。另一种可能是由于 *hoxE* 和 *F* 是该操纵子中最前面的两个基因, 在黑暗或电子传递受到抑制时, 转录被提前终止, 导致 *hoxE* 和 *F* 有较高水平的转录本。因此, 特定条件下产生 *hox* 基因转录本水平差异的原因和生理功能还有待阐明。

5 *hox* 基因的表达调控

蓝藻 *hox* 基因在不同条件下的转录调控非常复杂, 其转录调控的研究主要集中于几种模式蓝藻。*Synechocystis* sp. PCC 6803 中 *hox* 启动子序列有 3 个区域是其转录活性所必需的^[15], 已鉴定的 *hox* 操纵子的转录调控因子 LexA 和 CyAbrB 可结合于这些调控序列^[15,23-24]。LexA 可能是 *hox* 基因负转录调控因子, 而 CyAbrB 正调控 *hox* 基因的转录。在大肠杆菌中, 受胁迫激活的 LexA 因子调控 SOS 调控元。LexA 可能调控同样存在于 *Synechocystis* sp. PCC 6803 中的

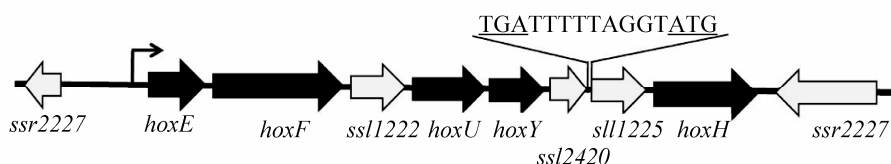


图 2 集胞藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 的 *hox* 操纵子遗传结构示意图

Fig. 2 Schematic diagram showing the genetic structure of the *hox* operon of *Synechocystis* sp. PCC 6803

注: 弯曲箭头: *hox* 启动子; 碱基: *ssl12420* 和 *ssl1225* 之间的核苷酸序列; 起始密码子和终止密码子以下划线标出。

Note: The bend arrow indicates the *hox* promoter. The space sequence between *ssl12420* and *ssl1225* is shown above, and the start or end codons are underlined.

SOS 调控元, 但与大肠杆菌的 LexA 的作用有所不同^[25]。蓝藻中一些受 LexA 调控的基因控制细胞氧化还原状态, LexA 的调控活性可能受细胞中氧化还原状态控制^[26]。此外, 有些受 LexA 调控的基因参与无机碳源的吸收或受碳源水平的调控^[27]。如编码 NaHCO_3 转运蛋白的基因 *sbtA* 受 LexA 调控。尽管 CO_2 水平不影响 LexA 结合于 *sbtA* 启动子, 但低水平 CO_2 激活该基因转录^[26]。因此, 蓝藻中 LexA 可能受转录后修饰调控, 但这种特殊修饰及其调控机制有待证明。

Synechocystis sp. PCC 6803 中 *hox* 基因转录的正调控因子 CyAbrB 由基因 *sll0395* 编码, 是必需蛋白。*sll0395* 与 *hox* 转录调控模式相同, 并且 CyAbrB 可与 *hox* 启动子和自身的启动子结合。CyAbrB 过量表达导致 *hoxE* 转录水平增加和氢酶活性升高, 抑制其表达导致 *hoxE* 转录水平和氢酶活性下降^[24]。但 CyAbrB 是否影响所有 *hox* 基因的转录水平尚不清楚。黑暗或抑制电子传递可诱导高水平的 *hoxEF* 转录产物, 但位于同一操纵子中 *hoxUYH* 的转录产物并没有出现相同水平的增加; 在有些条件下 LexA 和 CyAbrB 转录水平的变化并不与 *hox* mRNA 水平完全相关^[17]。因此, 可能存在尚未鉴定的转录因子调控 *hox* 操纵子中基因的差异表达。此外, LexA 和 CyAbrB 转录后的修饰也可能导致其基因转录本水平与其活性水平不一致。在念珠藻 *Nostoc* sp. PCC 7120 中, CyAbrB 同源蛋白 CalA 调控氢酶成熟的基因 *hyp* 的转录。过量表达 CalA 时, *hypC* mRNA 水平下降, 但 *hoxE* mRNA 水平维持稳定^[28-29]。通过调控 *hyp* 基因的表达, CalA 会影响成熟氢酶的产生。CalA 也调控铁超氧化物歧化酶基因^[29]。因此, 与 LexA 一样, CalA 可能也受细胞中的氧化还原条件调控。两种蓝藻中过量表达转录因子 CyAbrB 或

CalA 对 *hoxE* 基因的转录产生不同的作用效果^[24,28], 提示蓝藻中 Hox 氢酶基因的调控并不完全保守。

在 *Synechocystis* sp. PCC 6803 的 *hox* 操纵子中, 除编码 Hox 氢酶亚基的基因外, 还有 3 个假定蛋白基因 *ssl1222*、*ssl2420* 和 *sll1225*(图 2)。其中 *ssl2420* 和 *sll1225* 的编码序列相隔 9 个碱基。本文作者利用此前构建的选择性表达系统^[30-31]证明 *ssl2420* 和 *sll1225* 构成 Vap (Virulence associated protein) 家族的毒素 - 抗毒素 (Toxin-antitoxin, TA) 系统(结果待发表)。其中, *ssl2420* 编码的抗毒素含转录调控因子的螺旋-转角-螺旋(Helix-turn-helix, HTH) DNA 结合结构域, *sll1225* 编码毒素具有保守的 PIN (N-terminal domain of the pilin biogenesis protein PilT) 结构域。已鉴定的 Vap 毒素蛋白具有序列特异的核糖核酸内切酶活性, 能降解 tRNA 或 mRNA。*Synechocystis* sp. PCC 6803 的 *hox* 操纵子中的 *ssl2420* 和 *sll1225* 构成的 Vap 家族 TA 系统是否参与其他基因的转录调控或转录后调控值得进一步研究。

6 Hox 氢酶催化产氢调控研究展望

蓝藻 Hox 氢酶催化产氢具有巨大开发应用潜力。Hox 氢酶可能的生理作用是通过可逆化产氢调节氧化还原状态, 维持微氧或无氧生长的细胞适当的还原力^[12-13]。因此, 实现蓝藻产氢的工程应用, 一方面需要通过遗传学和生理学手段增加 Hox 氢酶的表达水平和催化活性, 另一方面减少生长消耗的还原能力, 最大程度的将还原力流向氢酶, 提高蓝藻光能产氢转化效率。但是, 不同蓝藻 *hox* 基因的遗传结构、相同环境条件或不同代谢状态下 *hox* 表达调控和不同 Hox 亚基的表达水平的差异, 提示不同蓝藻中 Hox 催化产氢活性的调控并不完全相同。

因此, 对蓝藻 Hox 产氢调控的研究应该集中在具有工程化应用基础的一些蓝藻, 特别是具有较高产氢水平、遗传背景清楚、便于遗传改造和工程化培养的蓝藻。在以下方面值得重点关注: 蓝藻中尚待鉴定的细胞因子对 *hox* 基因在不同水平上的调控作用; Hox 氢酶表达水平与 Hox 活性变化的关系、以及特定环境因素对参与调控 Hox 氢酶的表达、组装和成熟的细胞因子活性的影响。

参 考 文 献

- [1] Ghirardi ML, Dubini A, Yu JP, et al. Photobiological hydrogen-producing systems[J]. Chemical Society Reviews, 2009, 38(12): 52–61.
- [2] Brentner LB, Peccia J, Zimmerman JB. Challenges in developing biohydrogen as a sustainable energy source: Implications for a research agenda[J]. Environmental & Science Technology, 2010, 44(7): 2243–2254.
- [3] Tsygankov AA. Nitrogen-fixing cyanobacteria: A review[J]. Applied Biochemical Microbiology, 2007, 43(3): 250–259.
- [4] Germer F, Zebger I, Saggu M, et al. Overexpression, isolation, and spectroscopic characterization of the bidirectional [NiFe] hydrogenase from *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(52): 36462–36472.
- [5] Howitt CA, Vermaas WFJ. Subunits of the NAD(P)-reducing nickelcontaining hydrogenase do not act as part of the type-1 NAD(P)H dehydrogenase in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803[A]//Peschek GA, Löffelhardt W, Schmetterer G. The Phototrophic Prokaryotes[M]. New York: Kluwer Academic, 1999: 595–601.
- [6] Hoffmann D, Gutekunst K, Klissenbauer M, et al. Mutagenesis of hydrogenase accessory genes of *Synechocystis* sp. PCC 6803. Additional homologues of *hypA* and *hypB* are not active in hydrogenase maturation[J]. FEBS Journal, 2006, 273(19): 4516–4527.
- [7] Blokesch M, Paschos A, Bauer A, et al. Analysis of the transcarbamoylation-dehydration reaction catalyzed by the hydrogenase maturation proteins HypF and HypE[J]. European Journal of Biochemistry, 2004, 271(16): 3428–3436.
- [8] Hube M, Blokesch M, Bock A. Network of hydrogenase maturation in *Escherichia coli*: role of accessory proteins HypA and HybF[J]. Journal Bacteriology, 2006, 184(14): 3879–3885.
- [9] Magalon A, Bock A. Analysis of the HypC-HycE complex, a key intermediate in the assembly of the metal center of the *Escherichia coli* hydrogenase[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(28): 21114–21120.
- [10] Theodoratou E, Paschos A, Magalon A, et al. Nickel serves as a substrate recognition motif for the endopeptidase involved in hydrogenase maturation[J]. European Journal of Biochemistry, 2000, 267(7): 1995–1999.
- [11] Emerson S, Stump C, Johnson B, et al. *In situ* determination of oxygen and nitrogen dynamics in the upper ocean[J]. Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers, 2002, 49(5): 941–952.
- [12] Ludwig M, Schulz-Friedrich R, Appel J. Occurrence of hydrogenases in cyanobacteria and anoxygenic photosynthetic bacteria: Implications for the phylogenetic origin of cyanobacterial and algal hydrogenases[J]. Journal of Molecular Evolution, 2006, 63(6): 758–768.
- [13] Barz M, Beimgraben C, Staller T, et al. Distribution analysis of hydrogenases in surface waters of marine and freshwater environments[J]. PLoS One, 2010, 5: e13846.
- [14] Appel J, Phunpruch S, Steinmüller K, et al. The bidirectional hydrogenase of *Synechocystis* sp. PCC 6803 works as an electron valve during photosynthesis[J]. Archiv of Microbiology, 2000, 173(5/6): 333–338.

- [15] Gutekunst K, Phunpruch S, Schwarz C, et al. LexA regulates the bidirectional hydrogenase in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 as a transcription activator[J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 58(3): 810–823.
- [16] Axelsson R, Lindblad P. Transcriptional regulation of *Nostoc* hydrogenases: effects of oxygen, hydrogen, and nickel[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(1): 444–447.
- [17] Kiss E, Kos PB, Vass I. Transcriptional regulation of the bidirectional hydrogenase in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. *Journal of Biotechnology*, 2009, 142(1): 31–37.
- [18] Sjöholm J, Oliveira P, Lindblad P. Transcription and regulation of the bidirectional hydrogenase in the cyanobacterium *Nostoc* sp. strain PCC 7120[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(17): 5435–5446.
- [19] Ito H, Mutsuda M, Murayama Y, et al. Cyanobacterial daily life with Kai-based circadian and diurnal genome-wide transcriptional control in *Synechococcus elongatus*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(33): 14168–14173.
- [20] Kucho K, Okamoto K, Tsuchiya Y, et al. Global analysis of circadian expression in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(6): 2190–2199.
- [21] Boison G, Bothe H, Schmitz O. Transcriptional analysis of hydrogenase genes in the cyanobacteria *Anacystis nidulans* and *Anabaena variabilis* monitored by RT-PCR[J]. *Current Microbiology*, 2000, 40(5): 315–321.
- [22] Axelsson R, Oxelfelt F, Lindblad P. Transcriptional regulation of *Nostoc* uptake hydrogenase[J]. *FEMS Microbiology Letter*, 1999, 170(1): 77–81.
- [23] Oliveira P, Lindblad P. LexA, a transcription regulator binding in the promoter region of the bidirectional hydrogenase in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. *FEMS Microbiology Letter*, 2005, 251(1): 59–66.
- [24] Oliveira P, Lindblad P. An AbrB-like protein regulates the expression of the bidirectional hydrogenase in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(3): 1011–1019.
- [25] Li S, Xu ML, Su ZC. Computational analysis of LexA regulons in cyanobacteria[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 527.
- [26] Lieman-Hurwitz J, Haimovich M, Shalev-Malul G, et al. A cyanobacterial AbrB-like protein affects the apparent photosynthetic affinity for CO₂ by modulating low-CO₂-induced gene expression[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(4): 927–936.
- [27] Domain F, Houot L, Chauvat F, et al. Function and regulation of the cyanobacterial genes *lexA*, *recA* and *ruvB*: LexA is critical to the survival of cells facing inorganic carbon starvation[J]. *Molecular Microbiology*, 2004, 53(1): 65–80.
- [28] Agervald A, Zhang XH, Stensjö K, et al. CalA, a cyanobacterial AbrB protein, interacts with the upstream region of *hypC* and acts as a repressor of its transcription in the cyanobacterium *Nostoc* sp. strain PCC 7120[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(3): 880–890.
- [29] Agervald A, Baebprasert W, Zhang XH, et al. The CyAbrB transcription factor CalA regulates the iron superoxide dismutase in *Nostoc* sp. strain PCC 7120[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(10): 2826–2837.
- [30] 常家宁, 宁德刚. 蓝细菌 PCC 6803 染色体上的一对毒素-抗毒素基因的鉴定[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(1): 31–36.
- [31] Ning DG, Jiang Y, Liu ZY, et al. Characterization of a chromosomal type II toxin-antitoxin system *mazEaFa* in the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56035.