1 دانشکده علوم،‌ گروه زيست شناسي، دانشگاه فردوسي مشهد، مشهد،‌ ايران.

2 مؤسسه بيوشيمي و بيوتكنولوژي گياهي، دانشگاه مونستر، مونستر،‌ آلمان.

**www.2icp.ir**

**رويكردي جديد براي توليد نوري هيدروژن زيستي توسط ريزجلبك‌ها، به‌واسطه‌ي مصرف سريع و ايمن اكسيژن**

*فاطمه خسروي‌تبار 1 ، پروانه ابريشم‌چي1، مايكل هيپلر2*

**چکیده**

تولید نوری هیدروژن توسط ریزجلبک سبز *Chlamydomonas reinhardtii* یکی از مقرون‌به‌صرفه‌ترين روش‌هاي توليد هیدروژن است، هرچند در طبيعت فرآيند توليد نوري هیدروژن توسط آنزيم هیدروژناز،‌ يك فرآيند به‌شدت ناپايدار است. دليل اين امر حساسيت شديد آنزيم هیدروژناز به اكسيژن توليد شده طي فتوسنتز است. رايج‌ترين راه‌كار مقابله با اين معضل، توقف توليد اكسيژن توسط مهار PSII طي روش دو فازي فقر سولفات مي‌باشد،‌ كه يك روش زمان‌بر و هزينه‌بر است. پژوهش حاضر راه‌كاري جايگزين براي رفع اين مشكل ارائه داد كه اساس آن حذف اكسيژن فتوسنتزي، طي افزودن يك تركيب شيميايي جاذب اكسيژن به‌نام oxysorb به محيط‌كشت بود.

بررسي اثر oxysorb بر روي نرخ رشد سلول‌هاي دو سويه‌ي CC124 و *pgr5* نشان داد كه غلظت‌هاي زياد اين تركيب (mM 200) براي سلول‌هاي مذكور سمي بوده و غلظت‌هاي متوسط آن (mM 100) غير سمي بود. Oxysorb در غلظت‌هاي كم (mM 50) يك اثر محرك رشد بر روي سلول‌هاي هر دو سويه نشان داد. تيمار كشت‌هاي جلبكي هر دو سويه با oxysorb (شامل 100 mM سديم‌آسكوربات و 5 mg/l كوپريك‌سولفات)، در هر دو شرايط كشت فتوهتروتروف و فتواتوتروف، توليد هیدروژن را در يك محيط كشت حاوي سولفات القا كرد. به‌علاوه، مقادير هیدروژن توليد شده توسط كشت‌هاي فتوهتروتروفيك CC124 و pgr5 به‌روش oxysorb، 2 تا 5.5 برابر بيش‌تر از روش فقر سولفات بود.

در اين رويكرد oxysorb قادر بود به‌سرعت و بدون توليد ROS و همچنين بدون القاي هيچ‌گونه آسيب به PSII، شرايط بي‌هوازي را براي كشت‌هاي كلاميدوموناس فراهم كرده و بدين ترتيب طي يك مدل تك‌فازي، توليد H2 را با نرخي بالاتر از مدل دوفازي رايج امكان‌پذير كند.

كلمات كليدي: توليد هیدروژن، oxysorb، فقر سولفات، جاذب اكسيژن،*‌ Chlamydomonas reinhardtii*

مراجع:

µg/ml: microgram per millilitre

H2: hydrogen

mM: milimolar

O2: oxygen

*pgr5*: proton gradient regulation 5 mutant

PSII: photosystem II

ROS: reactive oxygen species

1. E. K. Stigka.,Paravantis, J. A., and Mihalakakou, G. K., Social acceptance of renewable energy sources: A review of contingent valuation applications. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 32 (2014) 100-106.
2. S. Oh Logan, B. E., Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. Water research, 39 (2005) 4673-4682.
3. L. M. Gandia.,Arzamedi, G., and Diéguez, P. M., Renewable hydrogen technologies: production, purification, storage, applications and safety. Newnes, 2013.
4. S. Szwaja Grab-Rogalinski, K., Hydrogen combustion in a compression ignition diesel engine. international journal of hydrogen energy, 34 (2009) 4413-4421.
5. Midilli.,Ay, M..,Dincer, I., and Rosen, M., On hydrogen and hydrogen energy strategies: I: current status and needs. Renewable and sustainable energy reviews, 9 (2005) 255-271.
6. N. Armaroli Balzani, V., The hydrogen issue. ChemSusChem, 4 (2011) 21-36.
7. Hemschemeier.,Fouchard, S..,Cournac, L..,Peltier, G., and Happe, T., Hydrogen production by Chlamydomonas reinhardtii: an elaborate interplay of electron sources and sinks. Planta, 227 (2008) 397-407.
8. S. T. Stripp.,Goldet, G..,Brandmayr, C..,Sanganas, O..,Vincent, K. A..,Haumann, M..,Armstrong, F. A., and Happe, T., How oxygen attacks [FeFe] hydrogenases from photosynthetic organisms. Proceedings of the National Academy of Sciences, 106 (2009) 17331-17336.
9. M. L. Ghirardi.,Togasaki, R. K., and Seibert, M., Oxygen sensitivity of algal H 2-production. Applied biochemistry and biotechnology, 63 (1997) 141.
10. D. Yang.,Zhang, Y..,Barupal, D. K..,Fan, X..,Gustafson, R..,Guo, R., and Fiehn, O., Metabolomics of photobiological hydrogen production induced by CCCP in Chlamydomonas reinhardtii. international journal of hydrogen energy, 39 (2014) 150-158.
11. R. Surzycki.,Cournac, L..,Peltier, G., and Rochaix, J.-D., Potential for hydrogen production with inducible chloroplast gene expression in Chlamydomonas. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104 (2007) 17548-17553.
12. Dubini Ghirardi, M. L., Engineering photosynthetic organisms for the production of biohydrogen. Photosynthesis research, 123 (2015) 241-253.
13. J. Minagawa Crofts, A. R., A robust protocol for site-directed mutagenesis of the D1 protein inChlamydomonas reinhardtii: A PCR-splicedpsbA gene in a plasmid conferring spectinomycin resistance was introduced into apsbA deletion strain. Photosynthesis research, 42 (1994) 121-131.
14. Scoma.,Krawietz, D..,Faraloni, C..,Giannelli, L..,Happe, T., and Torzillo, G., Sustained H2 production in a Chlamydomonas reinhardtii D1 protein mutant. Journal of biotechnology, 157 (2012) 613-619.
15. H.-D. Lin.,Liu, B.-H..,Kuo, T.-T..,Tsai, H.-C..,Feng, T.-Y..,Huang, C.-C., and Chien, L.-F., Knockdown of PsbO leads to induction of HydA and production of photobiological H2 in the green alga Chlorella sp. DT. Bioresource technology, 143 (2013) 154-162.
16. Melis.,Zhang, L..,Forestier, M..,Ghirardi, M. L., and Seibert, M., Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green AlgaChlamydomonas reinhardtii. Plant physiology, 122 (2000) 127-136.
17. E. Eroglu Melis, A., Photobiological hydrogen production: recent advances and state of the art. Bioresource technology, 102 (2011) 8403-8413.
18. O. Kruse Hankamer, B., Microalgal hydrogen production. Current Opinion in Biotechnology, 21 (2010) 238-243.
19. L. A. Márquez-Reyes.,Del Pilar Sánchez-Saavedra, M., and Valdez-Vazquez, I., Improvement of hydrogen production by reduction of the photosynthetic oxygen in microalgae cultures of Chlamydomonas gloeopara and Scenedesmus obliquus. International Journal of Hydrogen Energy, 40 (2015) 7291-7300.
20. E. Graf, Oxygen removal, 1994, Google Patents.
21. G. Mackinney, Absorption of light by chlorophyll solutions. J. biol. Chem, 140 (1941) 315-322.
22. U. K. Laemmli, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. nature, 227 (1970) 680.
23. B. Naumann.,Stauber, E. J..,Busch, A..,Sommer, F., and Hippler, M., N-terminal processing of Lhca3 is a key step in remodeling of the photosystem I-light-harvesting complex under iron-deficiency in Chlamydomonas reinhardtii. Journal of Biological Chemistr, 28 (2005) 124-132.
24. M. Hippler.,Klein, J..,Fink, A..,Allinger, T., and Hoerth, P., Towards functional proteomics of membrane protein complexes: analysis of thylakoid membranes from Chlamydomonas reinhardtii. The Plant Journal, 28 (2001) 595-606.
25. G. Sandmann Böger, P., Copper-mediated lipid peroxidation processes in photosynthetic membranes. Plant Physiology, 66 (1980) 797-800.
26. J. Steinbeck.,Nikolova, D..,Weingarten, R..,Johnson, X..,Richaud, P..,Peltier, G..,Hermann, M..,Magneschi, L., and Hippler, M., Deletion of Proton Gradient Regulation 5 (PGR5) and PGR5-Like 1 (PGRL1) proteins promote sustainable light-driven hydrogen production in Chlamydomonas reinhardtii due to increased PSII activity under sulfur deprivation. Frontiers in plant science, 6 (2015) 892.
27. J. Marín-Navarro.,Esquivel, M. G., and Moreno, J., Hydrogen production by Chlamydomonas reinhardtii revisited: Rubisco as a biotechnological target. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 26 (2010) 1785-1793.

D. K. Khona.,Shirolikar, S. M..,Gawde, K. K..,Hom, E..,Deodhar, M. A., and D'souza, J. S., Characterization of salt stress-induced