

## 蛋白核小球藻 *psbA* 基因的克隆及其在自养和异养培养的表达变化

孙雪\*, 吴晓微, 徐年军, 杨锐

(宁波大学生命科学与生物工程学院, 教育部应用海洋生物技术重点实验室, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** *psbA* 基因是高等植物和藻类中介导光合电子传递 D1 蛋白的编码基因, 该基因受光照等因素的调控。以单细胞绿藻蛋白核小球藻为材料, 克隆了 *psbA* 全编码序列并用荧光定量 PCR 的方法研究了自养和异养藻 *psbA* 基因转录水平的变化, 以揭示不同培养方式下 *psbA* 基因表达变化规律。结果克隆到 2 595 bp *psbA* 序列, 包括 676 bp 的 5'-非翻译区和 857 bp 的 3'-非翻译区。该 *psbA* 基因开放阅读框编码 353 个氨基酸, A + T 百分含量为 58.0%, 其成熟的 D1 蛋白加工方式与高等植物高粱相似。荧光定量结果表明, 自养藻在光周期内 *psbA* 基因表达量先升高后下降, 而异养藻 *psbA* 表达变化不明显。从自养转为异养 2 h 时 *psbA* 表达量略有升高, 4 h 后下降至转化前的 0.41 倍并缓慢下降, 而从异养转为自养 *psbA* 表达量增加, 4 h 时增加至 1.69 倍, 4 h 后趋于稳定。不同浓度光合抑制剂 DCMU 降低自养小球藻 *psbA* 转录活性至未添加组的 40% ~ 59%, 而不同程度地促进了异养藻 *psbA* 的转录表达。

**关键词:** 蛋白核小球藻; *psbA* 基因; 荧光定量 PCR; 表达

**中图分类号:** Q 785; S 917

**文献标志码:** A

小球藻 (*Chlorella*) 是一种重要的经济绿藻, 常作为光合作用和植物遗传学研究的模式藻。同时, 小球藻既可以进行自养生长, 又可进行高密度异养培养。小球藻的自养与异养培养的生物化学变化及差异表达基因都已有相关的研究报告<sup>[1-2]</sup>。但小球藻在异养培养过程的光合作用基因的转录变化研究很少见报道。

*psbA* 基因是高等植物中最早被克隆的光合作用基因之一, 其编码产物是植物类囊体膜蛋白 D1 蛋白 (Q<sub>p</sub> 蛋白)。D1 蛋白是光系统 II 的两个核心亚基之一, 在光合电子的传递中发挥重要作用。该蛋白也是光合作用中研究光饱和和光抑制的一个主要位点, 其合成、降解和修复等过程受光照、氧化压力、UV 辐射等环境因素的影响<sup>[3-4]</sup>。此外, D1 蛋白还有三嗪类除草剂如莠去津 (atrazine) 和脲类除草剂如 DCMU (敌草隆) 等的结合位点<sup>[5]</sup>。*psbA* 基因具有光诱导性和高效活性的启动子, 在启动子活性和光调控机制方面广

泛研究<sup>[6-7]</sup>。如蓝藻中通常有 3 ~ 4 个 *psbA* 基因, 这些不同 *psbA* 基因家族在不同光强和光抑制等条件下的光转录调控机制和调控方式等是蓝藻中的研究热点<sup>[8-9]</sup>。而绿藻中 *psbA* 基因的研究不多, 已有详细报道的仅有莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*)<sup>[10]</sup> 和盐生杜氏藻 (*Dunaliella salina*)<sup>[11]</sup>。以上两种绿藻 *psbA* 基因均有多个内含子, 但小球藻与其不同, 单拷贝且无内含子。目前 GenBank 数据库中仅收录了普通小球藻 (*C. vulgaris*) 和椭圆小球藻 (*C. ellipsoidea*) 的 *psbA* 全序列, 而关于小球藻 *psbA* 基因转录水平的调控与表达未见报道。

本研究以蛋白核小球藻 (*C. pyrenoidosa*) 为实验材料, 在获得 *psbA* 部分序列的基础上, 利用基因组步移技术克隆了 *psbA* 基因全编码序列, 并运用荧光定量 PCR 技术比较了光暗周期、自养与异养转化及光合作用抑制剂 DCMU 对 *psbA* 基因转录水平的影响, 从而为揭示 *psbA* 基因的光

收稿日期: 2010-12-10 修回日期: 2011-06-29

资助项目: 国家自然科学基金项目 (30700610); 浙江省自然科学基金项目 (Y3080490); 浙江省公益性项目 (2010C33066); 浙江省优秀青年教师资助计划项目

通讯作者: 孙雪, E-mail: sunxue@nbu.edu.cn

诱导表达特性、自养与异养转化及光抑制机理提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

蛋白核小球藻 F-9 于 2005 年 6 月购自中国科学院水生生物研究所。培养基用 Knop 自养和异养培养基<sup>[12]</sup>, 培养温度为 25 °C, 其中自养培养光照强度约 3 000 lx, 光暗周期为 12 L/12 D; 异养培养葡萄糖浓度为 10.0 g/L, 24 h 黑暗培养。

### 1.2 试剂和引物

基因组步移试剂盒 Genome Walker 购自 Clontech 公司。RNA 提取试剂 Trizol 购自 Invitrogen 公司。荧光定量 PCR 所用试剂盒 PrimeScript RT reagent kit 和 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> 均购自大连宝生物工程有限公司。荧光定量 PCR 用 18S rDNA 为内标基因, 其正反向引物分别为 5'-GAGTATGGTCGCAAGGCTGAA-3' 和 5'-AACCTGACAAGGCAACCCAC-3', 扩增长度为 200 bp; *psbA* 基因的荧光定量 PCR 正反向引物分别为 5'-GAAAACGAATCAGCTAACGAAG-3' 和 5'-AAGCAGTGAACCAAATACCAAC-3', 扩增长度为 178 bp。均由上海英骏生物技术有限公司合成。

### 1.3 实验方法

*psbA* 基因全编码序列的克隆 在吴晓微等<sup>[13]</sup>获得 848 bp 长 *psbA* 基因序列的基础上, 再通过基因组步移技术获得 *psbA* 基因 5' 和 3' 端未知序列。

荧光定量 PCR 于 4 °C 8 000 r/min 离心 10 min 收集藻液 3 ~ 5 mL, 用 Trizol 试剂提取 RNA。电泳检测后再进行反转录和荧光定量 PCR (Rotor-Gene 6000), 其反应体系为 20 μL, 其中 SYBR Premix Ex Taq (2 ×) 10 μL, 正反向引物 (10 μmol/L) 各 0.4 μL, RT 反应液 2 μL。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 10 s, 55 °C 20 s, 72 °C 30 s, 40 个循环。反应结束后, 用 Rotor-Gene Q 系列软件进行定量结果的分析。

光周期实验 将培养至对数期的藻分别于光周期开始的 0、1、2、4、8 和 12 h 取样, 测定各时间点 *psbA* 基因的相对表达量。

自养与异养相互转化实验 分别在自养转化为异养培养和异养转化为自养培养后的 0、2、

4、8、12 和 24 h 取样比较 *psbA* 基因相对表达量。

DCMU 处理实验 分别在对数生长期的自养和异养藻中加入 1/1 000 体积的终浓度分别为 10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup> 和 10<sup>-7</sup> mol/L 的 DCMU, 培养 6 h 后取样比较 *psbA* 基因相对表达量。

## 2 结果

### 2.1 *psbA* 基因编码序列的分析

在已扩增得到蛋白核小球藻 F-9 *psbA* 基因 848 bp 序列 (GenBank 号 EU043047) 的基础上, 通过基因组步移技术获得 *psbA* 全编码序列 2 595 bp (更新的 EU043047), 其中 5' 端序列长 676 bp, 开放阅读框 (ORF) 长 1 062 bp, 3' 端长 857 bp。该蛋白核小球藻 *psbA* 基因编码的 D1 蛋白由 353 个氨基酸组成, 与 GenBank 数据库中普通小球藻 D1 蛋白的氨基酸数目 (NP\_045767) 相同, 比椭圆小球藻 (CAA44621) 多了一个氨基酸, 其序列与两者相似性分别高达 99% 和 96%。

密码子的偏好性分析 在蛋白质编码过程中, 某一物种或某一基因通常倾向于使用一种或几种特定的同义密码子, 这种现象称为密码子的偏好性。对蛋白核小球藻 F-9 *psbA* 基因编码区序列进行密码子的偏好性分析, 结果表明, 编码的 353 个氨基酸中由唯一密码子决定的氨基酸只有 5 个, 分别是 Gln、His、Lys、Trp 和 Met。其余氨基酸均存在同义密码子, 其同义密码子使用频率 (relative synonymous codon usage, RSCU) 值大于 1 的有 23 个, 其中偏好性最强的 3 个密码子 Arg、Leu、Gly 的 RSCU 值分别为 5.57、4.55 和 3.63。

使用 MEGA3.1 软件对 *psbA* 开放阅读框序列进行碱基分析, 发现 *psbA* 基因密码子的第 3 位核苷酸中, A 占 24.1%, G 占 19.8%, C 占 22.2%, T 占 33.9%。(A + T)% 为 58.0%, 与藻类叶绿体基因组 A + T 含量较高的特点相一致。

根据 *psbA* 序列推测的 D1 蛋白结构 蛋白核小球藻 F-9 *psbA* 基因共编码 353 个氨基酸, 通过软件预测其编码蛋白质的等电点为 5.08, 分子量为 38.81 ku。*psbA* 基因的编码区中, 有两个可能的翻译起始密码子 (ATG)。第 2 个起始密码子可能是信号肽的剪切位点, 因此成熟的加工肽链比原肽链少 36 个氨基酸, 即成熟形式的 D1 蛋白 (从第 2 个起始密码子算起) 则只有 317 个氨基酸。该结构特点与高粱叶绿体的 *psbA* 基因类似<sup>[6]</sup>。

## 2.2 不同培养条件下 *psbA* 基因转录水平的变化

自养和异养光周期(12 h) 图 1-a 给出了蛋白核小球藻 F-9 在自养的一个光照周期(12 h)内 *psbA* 的 mRNA 量的变化。结果显示,*psbA* 在光周期内的表达变化总趋势是先升后降再升高。即从开始给光到光照 4 h 小球藻 *psbA* 转录量增加,4 h 时升至起始的 4.24 倍,到 8 h 时又回到起始量的 2.43 倍,在 12 h 时又升高至起始的 4.45 倍(重复实验结果规律类似)。该光周期内 *psbA* mRNA 量的变化说明该基因是受光照调控的,这

与光照下藻体进行光合作用,从而加强了对光合电子传递的 D1 蛋白需求的应答反应有关。

图 1-b 为异养培养小球藻在暗周期(12 h)内的表达变化情况。整个周期内 *psbA* 基因表达量差别不大,除了 8 h 时表达量最高(为起始的 1.30 倍)之外,其余时间点 *psbA* 的表达量在 1.0 ~ 1.3 倍之间波动。这说明在黑暗中 *psbA* 比较稳定。该现象与 MOHAMED 等<sup>[9]</sup> 研究集胞藻 (*Synechocystis*) 6803 时发现比起光照条件下,*psbA* 在黑暗中其 mRNA 的稳定性更强相一致。

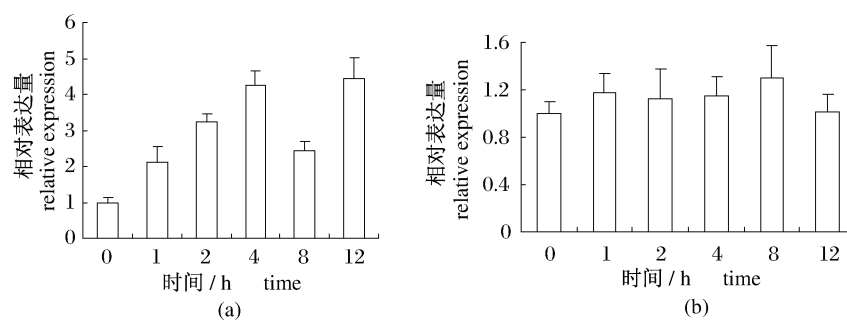


图 1 自养光周期(a)和异养光周期(b)蛋白核小球藻 *psbA* 的转录表达变化

Fig. 1 The changes of *psbA* transcription expression of *C. pyrenoidosa* during the autotrophic period (a) and heterotrophic period (b)

自养和异养相互转化 自养培养小球藻转为异养培养后 *psbA* 转录表达量先略有升高后下降,4 h 之后趋于稳定(图 2-a)。在 2 h 时 *psbA* mRNA 水平约为转化前的 1.13 倍,推测该时间段藻体处于从自养培养到异养培养的转变期,自养光照的影响仍然存在,并且可能与 *psbA* 基因转录的应答延滞有关。2 h 之后开始下降,到 4 h 时 *psbA* 表达量已降为原来的 0.41 倍,4 h 之后 *psbA* 转录水平随时间变化呈缓慢降低趋势。

异养培养转化为自养培养结果(图 2-b)显示,在 0 ~ 4 h 时间内 *psbA* 表达量呈上升趋势,到 4 h 时约为转化前的 1.69 倍,4 h 之后表达量基本保持稳定。推测在 0 ~ 4 h 内,藻细胞处于异养向自养转化期间,在该时间段由于光照等原因 *psbA* 基因可能被诱导表达。4 h 后藻细胞已基本适应自养培养条件,*psbA* 基因的转录趋于稳定。转化后期(4 h 之后) *psbA* mRNA 趋于稳定这一现象与自养转化为异养的过程类似。

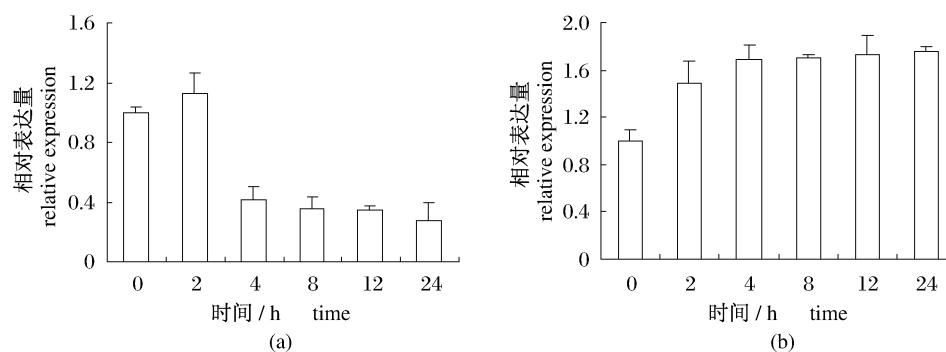


图 2 自养转为异养(a)和异养转为自养(b)后蛋白核小球藻 *psbA* 的转录水平变化

Fig. 2 The variations of *psbA* transcription expression of *C. pyrenoidosa* during the process from autotrophy to heterotrophy (a) and from heterotrophy to autotrophy (b)

光合抑制剂 DCMU 处理 光合抑制剂 DCMU 的作用位点是 D1 蛋白,为了研究 DCMU 对 *psbA* 基因转录水平的影响,我们选取 4 个不同浓度 DCMU 处理 6 h 后进行 *psbA* 基因的荧光定量 PCR 分析。图 3-a 结果表明,各添加 DCMU 组均表现为 *psbA* 转录活性的抑制,大约降为未添加 DCMU 的 40% ~ 59%。但并没有表现出剂量效应,即没有象 DCMU 抑制生长那样随其浓度升高而生长抑制程度增加。

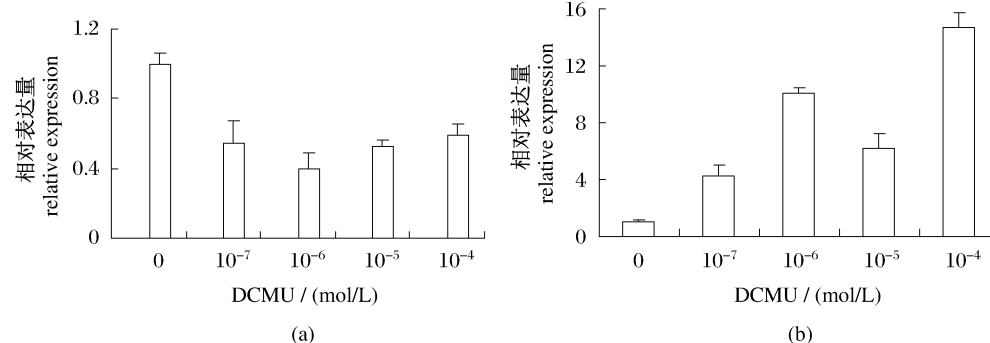


图 3 DCMU 对自养 (a) 和异养 (b) 蛋白核小球藻 *psbA* 转录水平变化的影响

Fig. 3 The effects of DCMU addition on *psbA* transcription expression of *C. pyrenoidosa* under the autotrophic cultivation (a) and heterotrophic cultivation (b) conditions

### 3 讨论

在高等植物叶绿体蛋白中,*psbA* 基因编码的类囊体膜蛋白 D1 蛋白历来受到人们特别的重视。而低等藻类 *psbA* 基因的研究相对较晚,并且藻类 *psbA* 基因与高等植物有不同之处。陆生高等植物 *psbA* 一般是无内含子的单拷贝基因,而藻类的情况相对复杂,如蓝藻中通常有 3 ~ 4 个 *psbA* 基因;纤细裸藻 (*Euglena gracilis*) 一个拷贝但有 4 个内含子<sup>[14]</sup>;而同为绿藻门的莱茵衣藻 *psbA* 有两个拷贝各有 4 个内含子<sup>[10]</sup>,盐生杜氏藻单拷贝 5 个内含子<sup>[11]</sup>,而小球藻 *psbA* 基因单拷贝且无内含子。目前 GenBank 数据库中仅收录了两种小球藻的 *psbA* 全序列,本文又克隆了蛋白核小球藻的 *psbA* 基因全序列,其编码氨基酸序列与同属的普通小球藻和椭圆小球藻的相似性高达 96% 以上,其成熟 D1 蛋白的加工方式与高等植物高粱类似。

光合作用相关基因在光暗周期中的表达规律的研究并不多。如 KLEIN 等<sup>[15]</sup>发现光照可以使黑暗 8 d 的大麦 *psbA* 和 *rbcL* 的转录量增加,并

且前者增加量是后者的 2 ~ 4 倍。QIAN 等<sup>[16]</sup>研究了 3 条光合作用基因—*psaB* (PSI 反应中心蛋白)、*psbC* (CP43 叶绿体蛋白复合物) 和 *rbcL* (Rubisco 大亚基基因) 在普通小球藻一个光周期 (光暗周期为 14 L: 8 D) 内的表达变化,三者都是在光照周期内转录量先升后降,*psaB* 和 *psbC* 在光照 12 h 时 (*rbcL* 在光照 8 h) 分别达到最大转录量,这一点与本实验结果比较类似,*psbA* 也是在光照开始后先升后降。自养与异养转化过程对 *psbA* 的影响超过了自养与异养周期节律性的影响。

*psbA* 基因的表达调控等研究在蓝藻中最多,蓝藻 *psbA* 是多基因家族,一般有 3 个以上,这些不同的 *psbA* 对环境因子调控的应答反应也不同。如 SUMMERFIELD 等<sup>[17]</sup>发现集胞藻 (*Synechocystis* sp.) 中 *psbA* 表达丰度受低氧的环境因子影响而上调。KÓŠ 等<sup>[18]</sup>发现细长聚球藻 (*Synechococcus elongatus*) 中不同光照强度下优势表达的 *psbA* 不同,如光强由 40  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  升高到 500  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  时 *psbA1* 优势表达就变成 *psbA3* 占据优势。

光合作用抑制剂 DCMU 对植物光合作用基因表达影响的报道不多, QIAN 等<sup>[16]</sup> 研究表明 3 种光合作用基因—*psaB*、*psbC* 和 *rbcL* 在除草剂莠去津(从 50 ~ 400  $\mu\text{g}$  浓度)处理 48、72、96 h 时转录表达降低。虽然他们所用的除草剂及所研究的目的光合作用基因与本文都不同,但结果相似。ALFONSO 等<sup>[19]</sup> 研究表明 DCMU 可以诱导集胞藻 *psbA* 基因转录的瞬间启动,而延长与 DCMU 的温育时间,可以导致 *psbA* 转录的渐进降低和转录物稳定性的增加,并提出了可能的机理。FRANCOEUR 等<sup>[20]</sup> 研究表明 DCMU 处理 5 min 即可显著抑制光照下的附生藻类的光合作用。本实验结果表明,DCMU 可以显著抑制光照下自养藻的光合作用基因 *psbA* 的表达,但对黑暗培养的异养藻却不抑制,相反还不同程度地促进了 *psbA* 基因的表达,具体的原因有待进一步实验来解释。

#### 参考文献:

- [ 1 ] WANG H Y, GUO S Y, ZHENG B S, *et al.* Growth and biochemical components of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultivations [ J ]. Journal of South China University of Technology ( Natural Science Edition ), 2004, 32 ( 5 ): 47 - 50.
- [ 2 ] HILGARTH C, SAUCER N, TANNER W. Glucose increases the expression of the ATP/ADP translocator and the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes in *Chlorella* [ J ]. The Journal of Biological Chemistry, 1991, 266 ( 35 ): 24044 - 24047.
- [ 3 ] NISHIYAMA Y, YAMAMOTO H, ALLAKHVERDIEV S I, *et al.* Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery [ J ]. The European Molecular Biology Organization Journal, 2001, 20 ( 20 ): 5587 - 5594.
- [ 4 ] CAMPBELL D, ERIKSSON M J, OQUIST G, *et al.* The cyanobacterium *Synechococcus* resists UV-B by exchanging photosystem II reaction-center D1 proteins [ J ]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95 ( 1 ): 364 - 369.
- [ 5 ] PFISTER K, STEINBACK K E, GARDNER G, *et al.* Photoaffinity labeling of an herbicide receptor protein in chloroplast membranes [ J ]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1981, 78 ( 2 ): 981 - 985.
- [ 6 ] 吴乃虎, 方晓华, 施晓梅, 等. 高粱叶绿体 *psbA* 基因的结构特征及其 5'-非编码区的调控效应 [ J ]. 中国科学 ( C 辑 ), 1999, 29 ( 4 ): 397 - 406.
- [ 7 ] SIPPOLA K, ARO E M. Expression of *psbA* genes is regulated at multiple levels in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942 [ J ]. Photochemistry and Photobiology, 2000, 71 ( 6 ): 706 - 714.
- [ 8 ] CONSTANT S, PEREWOSKA I, ALFONSO M, *et al.* Expression of the *psbA* gene during photoinhibition and recovery in *Synechocystis* PCC 6714: inhibition and damage of transcriptional and translational machinery prevent the restoration of photosystem II activity [ J ]. Plant Molecular Biology, 1997, 34 ( 1 ): 1 - 13.
- [ 9 ] MOHAMED A, ERIKSSON J, OSIEWACZ H D, *et al.* Differential expression of the *psbA* genes in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803 [ J ]. Molecular and General Genetics, 1993, 238 ( 1 - 2 ): 161 - 168.
- [ 10 ] MAUL J E, LILLY J W, CUI L, *et al.* The *Chlamydomonas reinhardtii* plastid chromosome: islands of genes in a sea of repeats [ J ]. The Plant Cell, 2002, 14 ( 11 ): 2659 - 2679.
- [ 11 ] SMITH D R, LEE R W, CUSHMAN J C, *et al.* The *Dunaliella salina* organelle genomes: large sequences, inflated with intronic and intergenic DNA [ J ]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 83 doi: 10.1186/1471-2229-10-83
- [ 12 ] 韩兴梅, 李元广, 魏晓东, 等. 转免防御素基因小球藻异养培养的培养基优化研究 [ J ]. 水生生物学报, 2006, 30 ( 5 ): 547 - 552.
- [ 13 ] 吴晓微, 孙雪, 陆开形, 等. 小球藻 *psbA* 基因的克隆与序列分析 [ J ]. 水产科学, 2008, 27 ( 7 ): 360 - 362.
- [ 14 ] HALLICK R B, HONG L, DRAGER R G, *et al.* Complete sequence of *Euglena gracilis* chloroplast DNA [ J ]. Nucleic Acids Research, 1993, 21 ( 15 ): 3537 - 3544.
- [ 15 ] KLEIN R R, MULLET J E. Light-induced transcription of chloroplast genes *psbA* transcription is differentially enhanced in illuminated barley [ J ]. The Journal of Biological Chemistry, 1990, 265 ( 4 ): 1895 - 1902.
- [ 16 ] QIAN H F, SHENG G D, LIU W, *et al.* Inhibitory effects of atrazine on *Chlorella vulgaris* as assessed by real-time polymerase chain reaction [ J ]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27 ( 1 ): 182 - 187.

- [17] SUMMERFIELD T C, TOEPEL J, SHERMAN L A. Low-oxygen induction of normally cryptic *psbA* genes in cyanobacteria [ J ]. *Biochemistry*, 2008, 47 (49) :12939 – 12941.
- [18] KÓS P B, DEÁK Z, CHEREGI O, *et al.* Differential regulation of *psbA* and *psbD* gene expression, and the role of the different D1 protein copies in the cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 [ J ]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2008, 1777 (1) :74 – 83.
- [19] ALFONSO M, PEREWOSKA I, CONSTANT S, *et al.* Redox control of *psbA* expression in cyanobacteria *Synechocystis* strains [ J ]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 1999, 48(2 – 3) :104 – 113.
- [20] FRANCOEUR S N, JOHNSON A C, KUEHN K A, *et al.* Evaluation of the efficacy of the photosystem II inhibitor DCMU in periphyton and its effects on nontarget microorganisms and extracellular enzymatic reactions [ J ]. *Journal of the North American Benthological Society*, 2007, 26(4) :633 – 641.

## The cloning of *psbA* gene and its expression profiles under the autotrophic and heterotrophic cultivation in green algae *Chlorella pyrenoidosa*

SUN Xue\* , WU Xiao-wei , XU Nian-jun , YANG Rui

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** The D1 protein of photosystem II plays a key role in electron transfer in higher plants and algae. The *psbA* gene, which encoded D1 protein, was regulated by multiple environmental factors such as light. In order to discover the transcriptional patterns of *psbA* in the unicellular green alga *Chlorella pyrenoidosa* under autotrophic and heterotrophic cultivations, the complete coding sequence of *psbA* gene was cloned and its transcriptional expressions were investigated by real-time PCR method. The cloned *psbA* gene was 2 595 bp long with a 5'-untranslated region of 676 bp and a 3'-untranslated region of 857 bp. The open reading frame of *psbA* encoded 353 amino acids, its A + T percentage content was 58.0%, and the processing way of mature D1 protein was similar to that of higher plant *Sorghum vulgare*. Real-time PCR results showed that during the 12 h culture period *psbA* transcription quantities underwent a rising and then a slow declining process under autotrophic nutrition, while they showed no significant difference under heterotrophic growth. In the process from autotrophy to heterotrophy, *psbA* expression quantities rose a little at 2 h and reduced to 0.41-fold 4 h later, then decreased gradually. While in the process of heterotrophy to autotrophy *psbA* expression increased to 1.69-fold at 4 h and then maintained at a steady levels. The *psbA* expression decreased about 40%–59% after different concentration DCMU added in the autotrophic cultivation, but was promoted in the heterotrophic cultivation to a certain degree.

**Key words:** *Chlorella pyrenoidosa*; *psbA* gene; real-time PCR; expression profiles

**Corresponding author:** SUN Xue. E-mail: sunxue@nbu.edu.cn