

微囊藻伪空胞 *gvpA*、*gvpC* 与其物理性状之间相关性分析

张永生, 孔繁翔*, 于洋, 张民, 史小丽, 施丽梅

(中国科学院南京地理与湖泊研究所中国科学院湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008)

摘要: 为了探究 *gvpA* 基因拷贝数和 *gvpC* 基因内保守重复序列的作用, 利用 3 株微囊藻包括铜绿微囊藻 FACHB910、FACHB930 以及惠氏微囊藻 FACHB929 为材料; 测量了伪空胞长度、伪空胞直径、相对气体含量、表观压强、临界压强和细胞膨压等性状, 分析了 *gvpA* 基因拷贝数目、*gvpC* 基因内保守重复序列与这些性状之间的相关性. 结果表明, *gvpA* 基因拷贝数目与伪空胞相对气体含量呈极显著线性相关, 相关系数为 0.999; *gvpA* 基因拷贝数目与伪空胞直径呈极显著负相关, 相关系数为 -0.861; *gvpC* 基因内保守重复序列与伪空胞直径呈极显著正相关, 相关系数 0.911, 与伪空胞相对气体含量、表观压强、临界压强呈极显著负相关, 相关系数分别为 -0.851、-0.999、-0.928. 故推测: 同一藻种内, *gvpA* 基因拷贝数是影响伪空胞相对气体含量的主要因素; 伪空胞的直径不仅受到 *gvpC* 基因内保守重复序列数量影响, 而且还可能受到 *gvpA* 基因拷贝数调控.

关键词: 微囊藻; 伪空胞; *gvpA* 基因拷贝数; *gvpC* 基因内保守重复序列; 相关性分析

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)08-2273-06

Correlation Analysis Among Characters of Gas Vesicle in *Microcystis* Strains

ZHANG Yong-sheng, KONG Fan-xiang, YU Yang, ZHANG Min, SHI Xiao-li, SHI Li-mei

(State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: In order to explore the roles of *gvpA* copies and repeated sequences of *gvpC*, three *Microcystis* strains including *M. aeruginosa* FACHB910, *M. aeruginosa* FACHB930 and *M. wessenbergii* FACHB929 were used in this research. The length and diameter of gas vesicle, relative gas vesicle volume, appear pressure values, critical pressure values, cell turgor values were measured, and the correlations among these characters, *gvpA* copies, and repeated sequences of *gvpC* were analyzed. The results indicate that there are a significant positive linear correlation between *gvpA* copies and relative gas vesicle volume ($r = 0.999$); *gvpA* copies are negatively correlated with diameter of gas vesicle ($r = -0.861$). However, repeated sequences of *gvpC* have a significant positive correlation with diameter of gas vesicle ($r = 0.911$), and have significant negative correlations with relative gas vesicle volume, appear pressure values and critical pressure values, with the correlation coefficient of -0.851, -0.999, -0.928 respectively. So we presume that *gvpA* copies are probably the primary impact factor for relative gas vesicle volume. The diameter of gas vesicle is not only regulated by repeated sequences of *gvpC*, but also regulated by *gvpA* copies.

Key words: *Microcystis*; gas vesicle; *gvpA* copies; repeated sequences of *gvpC*; correlation analysis

伪空胞广泛存在浮游蓝藻中, 能够为蓝藻细胞提供浮力, 使蓝藻在水体中垂直迁移, 获得适宜的生长条件, 从而有利于其从水体中获取有限的资源并最终成为优势藻^[1,2]. 伪空胞的气体含量直接影响蓝藻细胞在上浮过程中所受浮力大小, 从而间接地影响蓝藻水华的形成. 影响伪空胞气体含量因素很多, 文献对光照、温度等环境因素对伪空胞的影响研究较多^[3-10]. 在分子水平, 目前研究发现 14 个不同的基因与伪空胞的形成有关^[11-15], 但部分研究集中在 *gvpA* 和 *gvpC*. *gvpA* 几乎在所有产伪空胞的蓝藻中出现^[16,17], 因此推测它是合成伪空胞所必需的, 在大多数具有伪空胞的藻细胞检测到 *gvpA* 基因具有多拷贝, 不同的藻细胞中, 拷贝数有所不同^[18-20], 多个 *gvpA* 拷贝可能使个体更加有利于自然选择^[1], 但 *gvpA* 基因拷贝数的多少影响伪空胞的哪个表型特征并不清楚. *gvpC* 很可能决定着伪空胞的直径,

gvpC 越长, 产生的伪空胞就越宽, 临界压强也就越小^[21,22]. *GvpC* 蛋白重复单位数目与伪空胞结构的强度有密切关系, 利用去污剂或者尿素溶液将 *GvpC* 蛋白伪空胞上去除, 失去了 *GvpC* 蛋白结构的伪空胞更容易坍塌^[21,23,24]. 将 *GvpC* 蛋白重新组装到的只含 *GvpA* 蛋白的鱼腥藻伪空胞上, 临界压强又恢复到原来的水平^[21]. 因此研究 *gvpA* 基因拷贝数、*gvpC* 基因内的保守重复序列数与伪空胞各表型特征之间的相互关系, 对探索者两者对伪空胞的表型特性的影响是至关重要的.

本研究检测了具有不同 *gvpA* 基因拷贝数的伪

收稿日期: 2010-08-24; 修订日期: 2010-11-08

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973) 项目 (2008CB418000)

作者简介: 张永生 (1977 ~), 男, 博士, 主要研究方向为湖泊生态学、环境生物学, E-mail: yszunny@163.com

* 通讯联系人, E-mail: fxxkong@niglas.ac.cn

空胞长度、直径、表观压强、临界压强和相对气体含量,分析这些特征之间的相关性,以期分析 *gvpA* 基因拷贝数和 *gvpC* 基因内的保守重复序列对伪空胞的表型特性的影响提供研究基础,从而也为了解蓝藻水华形成机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 藻种的培养

微囊藻 *M. aeruginosa* FACHB910、*M. aeruginosa* FACHB930 和 *M. wesenbergii* FACHB929 从中国科学院淡水藻种库购买。将该藻种培养在 BG11 培养基(100 mg NaNO₃、10 mg K₂HPO₄、75 mg MgSO₄·7H₂O、40 mg CaCl₂·2H₂O、20 mg Na₂CO₃、6 mg 柠檬酸铁和 1 mg Na₂EDTA·2H₂O、1 L 去离子水),置于 500 mL 的三角瓶(200 mL 培养基)培养,温度为 28℃,光暗比为 12 h:12 h。采用对数生长期的藻细胞进行相关试验。

1.2 *gvp* 基因结构

M. aeruginosa FACHB910、*M. aeruginosa* FACHB930 和 *M. wesenbergii* FACHB929 的 *gvpA*、*gvpC* 的基因结构^[3,24,25](图 1)表明,*gvpA* 的拷贝数分别为 2、3、4,*gvpC* 基因内的保守重复序列为 4、4、3。

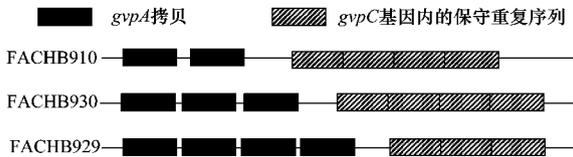


图 1 *gvp* 基因中 *gvpA* 和 *gvpC* 基因结构

Fig.1 Structure of *gvpA* and *gvpC*

1.3 伪空胞分离和纯化

伪空胞分离和纯化参考 Weathers 等^[26]的方法,略有改动:藻细胞培养至对数生长期,在培养基中加入 Mg²⁺ 和青霉素 G,使之最终浓度分别为 1 mmol/L 和 250 μmol·L⁻¹,静置培养 6 h,用 300 r/min 离心收集微囊藻细胞至装有 1 mol/L 甘油的试管中,轻摇试管 10 min,使蓝藻细胞和甘油充分混合。用 3 倍体积 0.02 mol/L、pH 7.7 Tris-Cl 进行渗透冲击,使细胞裂解,4℃ 冰箱放置 4 h,裂解液以 300 r/min 离心过夜,收集液面的淡蓝绿色层,收集液通过不同孔径(1.2、0.8、0.65、0.45 μm)的 GF/C 滤膜进行过滤,所得滤液在 2×30 cm 的 Sepharose 4B 柱上进行凝胶过滤,随后用 0.01 mol/L、pH 7.5 Tris-Cl 溶液

洗脱,得乳白色洗脱液,以 300 r/min 离心 6 h,收集液面白色漂浮层(伪空胞的提取液)于 Eppendorf 管 4℃ 冰箱保存,用于电镜观察。

1.4 负染色电镜

将 200 目铜网覆盖在伪空胞提取液上,静置吸附 15 min 后,用滤纸吸去多余液体,在铜网上滴 0.5 mL 的 2% 醋酸双氧铀溶液,避光染色 10 min,去掉染色液,样品自然干燥,在 H600 透射电子显微镜(Hitachi,日本)下观察,负染色电镜观察试验在南京医科大学完成。

1.5 检测性状

伪空胞的长度、直径:利用 Adobe Photoshop CS 软件的测量工具,伪空胞的两端距离即为伪空胞的长度;伪空胞的宽度即为伪空胞的直径。

伪空胞的表观压强、临界压强:利用细胞流式仪和高斯-牛顿方程计算得到^[27]:

$$y = (S_p - S_f) / (S_a - S_f) \times 100\%$$

$$y = M \frac{1}{1 + e^{a-bx}}$$

式中, y 是某一压强下剩余伪空胞的百分含量; S_p 是某一压强下部分伪空胞破裂后悬液的 SSC (side scatter) 值; S_f 是伪空胞全部破裂后悬液的 SSC 值; S_a 是伪空胞全部完整时悬液的 SSC 值; M 是没有加压时的伪空胞百分含量(100%); x 是悬液受到的压强。表观压强 P_a (悬液中还剩余 50% 完整伪空胞时的压强)和临界压强 P_c (悬液中加入 0.5 mol/L 蔗糖后剩余 50% 完整伪空胞时的压强)可以利用各自的破裂-压力曲线和高斯-牛顿方程计算可得,即 $y = 50\%$, 则 $x = a/b$ 。

伪空胞相对体积:完整细胞时细胞流式仪测得的 SSC 值和细胞受到 1.0 MPa 时完全破裂时的 SSC 值之差即为单个细胞的相对体积^[27]。

1.6 数据处理

试验各性状均检测 3 次,取其平均数;利用 t 检验检测同一性状的差异;用 SPSS 软件进行性状之间的相关性分析。

2 结果与分析

2.1 伪空胞的形态

3 种微囊藻的伪空胞的形态各异(图 2)。同一藻种内的伪空胞的长度不一,*M. wesenbergii* FACHB929 的伪空胞的长度变化较大,最长的伪空胞高达 1 176.38 nm,而最短的伪空胞仅 326.77 nm。*M. aeruginosa* FACHB910 最长和最短的伪空

胞长度差异 301.98 nm, *M. aeruginosa* FACHB930 的伪空胞长度差异幅度为 416.54 ~ 602.38 nm. 试验结果显示,同一藻种内的伪空胞的长度毫无规律可寻;经 *t* 检验发现同一藻种内的伪空胞的直径

变化差异不显著, *M. aeruginosa* FACHB910、*M. aeruginosa* FACHB930 和 *M. wesenbergii* FACHB929 伪空胞直径的差异分别为 2.71、1.66 和 1.98 nm (表 1).

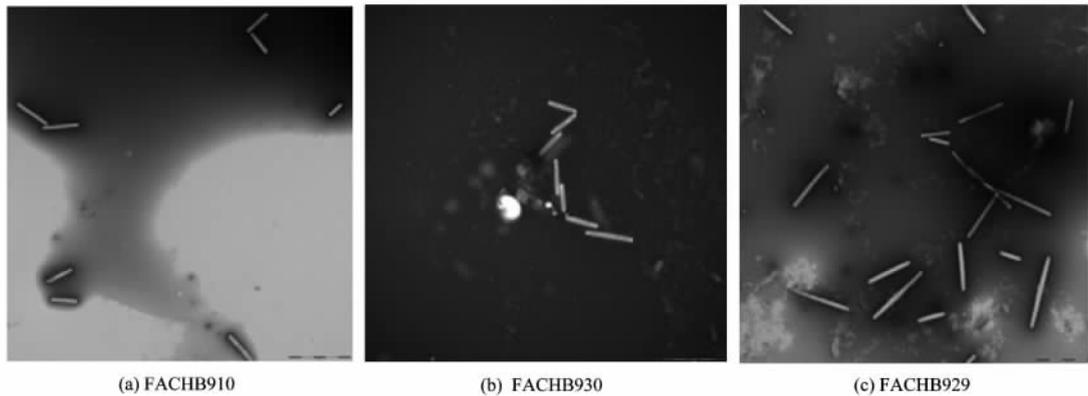


图 2 3 种微囊藻的伪空胞的形态 ($\times 25\ 000$)

Fig. 2 Morphology of the gas vesicles in three cyanobacterias

表 1 3 种微囊藻伪空胞的长度及直径

Table 1 Length and diameter of gas vesicle in three cyanobacterias

藻种	长度范围/nm	平均长度/nm	直径范围/nm	平均直径/nm	统计个数
<i>M. aeruginosa</i> FACHB910	327.15 ~ 629.13	461.68 \pm 106.20	74.77 ~ 77.48	74 \pm 2.14	25
<i>M. aeruginosa</i> FACHB930	416.54 ~ 602.38	544.75 \pm 86.09	72.82 ~ 74.48	73 \pm 0.45	25
<i>M. wesenbergii</i> FACHB929	326.77 ~ 1 176.38	737.35 \pm 266.23	67.33 ~ 69.31	68 \pm 0.97	25

2.2 伪空胞的相对气体含量

伪空胞的相对气体含量用细胞流式仪测得 SSC 值表示. 3 个藻种 *M. aeruginosa* FACHB910、*M. aeruginosa* FACHB930 和 *M. wesenbergii* FACHB929 在未加入蔗糖时,伪空胞的相对气体含量分别为 163.36、262.84 和 358.09. 加入蔗糖时去除细胞膨压后,伪空胞的相对气体含量分别为 87.69、231.96 和 348.18 (表 2), 2 次试验结果均证实伪空胞的相对气体含量与 *gvpA* 拷贝数呈线性关系 (图 3), 说明 *gvpA* 拷贝数是影响伪空胞相对气体含量的主要因素.

M. aeruginosa FACHB910 和 *M. aeruginosa* FACHB930 中 *gvpC* 基因内保守重复序列数均为 4, 2 藻种的破裂-压力曲线见图 4, 两者的表观压强分别为 0.279 MPa 和 0.281 MPa (表 3), 临界压强分别为 0.622 MPa 和 0.665 MPa, *t* 检验证明 2 种藻的表观压强和临界压强差异不显著. *M. wesenbergii*

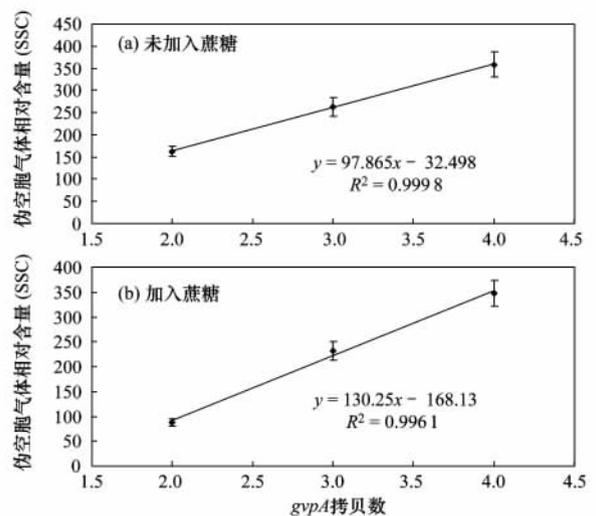


图 3 *gvpA* 与伪空胞相对气体含量的线性关系

Fig. 3 Linear equation between the *gvpA* copies and relative gas vesicle volume

表 2 伪空胞的相对气体含量 (SSC 值)

Table 2 Relative gas vesicle volume of three cyanobacterias (SSC value)

藻种	<i>gvpA</i> 拷贝数	伪空胞相对气体含量 (未加蔗糖)	伪空胞相对气体含量 (加蔗糖)
<i>M. aeruginosa</i> FACHB910	2	163.36 \pm 1.73	87.69 \pm 1.62
<i>M. aeruginosa</i> FACHB930	3	262.84 \pm 1.99	231.96 \pm 1.88
<i>M. wesenbergii</i> FACHB929	4	358.09 \pm 1.31	348.18 \pm 1.71

表 3 伪空胞 3 种压力统计/MPa

Table 3 Statistics of three pressures of gas vesicles/MPa

藻种	<i>gvpC</i> 基因内保守重复序列数	表观压强	临界压强	细胞膨压
<i>M. aeruginosa</i> FACHB910	4	0.279 ± 0.002	0.622 ± 0.003	0.343 ± 0.003
<i>M. aeruginosa</i> FACHB930	4	0.281 ± 0.002	0.665 ± 0.003	0.383 ± 0.005
<i>M. wesenbergii</i> FACHB929	3	0.412 ± 0.002	0.739 ± 0.005	0.328 ± 0.007

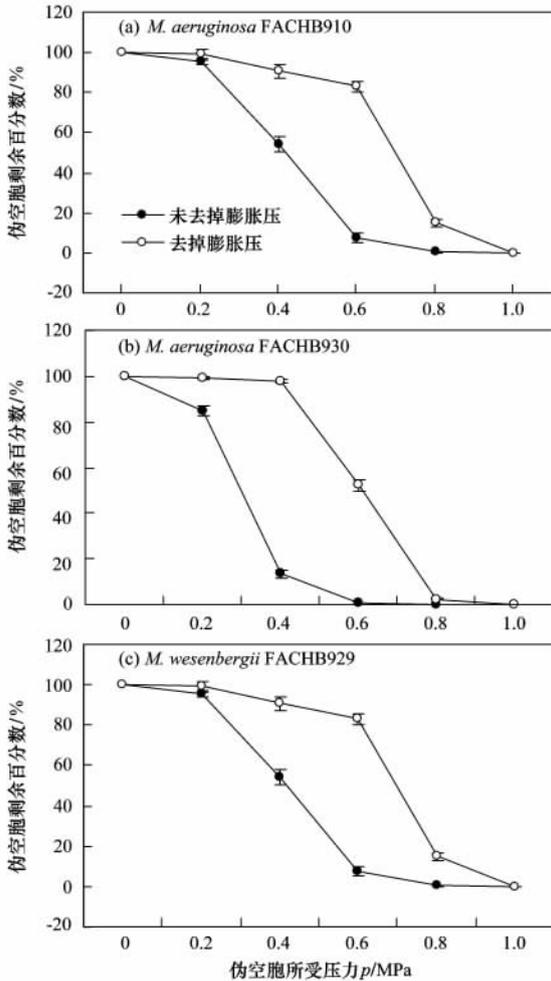


图 4 3 藻种的压力-破裂曲线

Fig. 4 Gas vesicle collapse-pressure curves in three cyanobacterial strains

FACHB929 的 *gvpC* 基因内保守重复序列数为 3, 破裂-压力曲线见图 4, 但是表观压强和临界压强分别为 0.412 和 0.739 MPa, *t* 检验证明 *M. wesenbergii* FACHB929 的表观压强和临界压强与 *M. aeruginosa* FACHB910 或 *M. aeruginosa* FACHB930 的表观压强和临界压强差异显著, 因此可以说明 *gvpC* 基因内保守重复序列数与表观压强和临界压强关系密切。

2.3 伪空胞各性状间相关性分析

伪空胞各性状之间的相关性见表 4. *gvpA* 拷贝数与伪空胞相对气体含量呈极显著正相关, 相关系数为 0.999, 说明 *gvpA* 拷贝数对伪空胞的相对气体含量的影响较大, *gvpA* 拷贝数极可能是影响伪空胞相对气体含量的最主要因素, 该结论与 2.2 节中关于 *gvpA* 拷贝数与伪空胞的相对气体含量关系结论一致; *gvpA* 拷贝数与伪空胞的直径呈极显著负相关, 表明伪空胞 *gvpA* 拷贝数越多, 伪空胞的直径越小; *gvpA* 拷贝数与伪空胞的表观压强和临界压强呈极显著正相关, 相关系数分别为 0.870、0.982, 说明 *gvpA* 拷贝数对伪空胞的表观压强和临界压强影响较大。

gvpC 基因内保守重复序列数与伪空胞的直径呈极显著正相关, 相关系数为 0.911, 和伪空胞相对气体含量呈极显著负相关的相关, 相关系数为 -0.851, 说明 *gvpC* 基因内保守重复序列数与伪空胞的直径有密切关系, 且 *gvpC* 基因内保守重复序列数越多, 伪空胞的含量越少. 但 *gvpC* 基因内保守重复序列数与伪空胞的表观压强和临界压强均呈极显

表 4 伪空胞各性状的相关性分析¹⁾

Table 4 Coefficients of pairwise correlations of gas vesicle characters

	<i>gvpA</i> 拷贝数	<i>gvpC</i> 基因内保守重复序列数	伪空胞的长度	伪空胞直径	伪空胞相对气体含量	表观压强	临界压强	细胞膨压
<i>gvpA</i> 拷贝数	1							
<i>gvpC</i> 基因内保守重复序列数	—	1						
伪空胞的长度	0.539 *	-0.498	1					
伪空胞直径	-0.861 **	0.911 **	-0.587 *	1				
伪空胞相对气体含量	0.999 **	-0.851 **	0.543 *	0.857 **	1			
表观压强	0.870 **	-0.999 **	0.531 *	-0.911 **	0.863 **	1		
临界压强	0.982 **	-0.928 **	0.575 **	-0.917 **	0.980 **	0.934 **	1	
细胞膨压	-0.330	0.740 **	-0.246	0.556 *	-0.318	-0.744 **	-0.457	1

1) * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

著负相关,相关系数分别为: -0.999 和 -0.928 , 和细胞膨压呈极显著正相关,相关系数为 0.740 , 说明 *gvpC* 基因内保守重复序列数与伪空胞结构的强度有密切关系, *gvpC* 基因内保守重复序列数越多, 伪空胞的表观压强和临界压强越小, 细胞膨压越大, *gvpC* 基因内保守重复序列很可能决定着伪空胞的直径, 并且 *gvpC* 基因内保守重复单位数目起着重要的作用。

伪空胞的直径与表观压强和临界压强呈极显著负相关,相关系数分别为 -0.911 和 -0.917 , 和细胞膨压呈显著正相关,相关系数为 0.556 , 说明伪空胞的直径越大, 表观压强和临界压强越小, 伪空胞越容易破裂。

3 讨论

影响伪空胞破裂的环境因素很多^[1,5,6,9], 在伪空胞提取过程中试验操作也可能对伪空胞造成某种程度的破损, 从而影响试验结果的准确性。本研究利用细胞流式仪检测了伪空胞相对气体含量代替伪空胞绝对气体含量, 并且根据细胞流式仪测得 SSC 结果, 计算表观压强和临界压强, 从而避免了因伪空胞破裂而导致测量伪空胞绝对含量不准确的错误。在试验操作过程中, 受影响较大的性状, 例如伪空胞的长度和直径, 本研究采用扩大统计数量和设计重复试验, 尽可能的减少随机误差和系统误差。

迄今为止, 在文献报道的 14 个伪空胞的形成有关的基因^[11-15] 中, *gvpA* 和 *gvpC* 研究最为透彻。在大多数具有伪空胞的藻细胞中检测到了 *gvpA* 基因具有多个拷贝。不同藻种拷贝数有所不同^[18-20]。但是 *gvpA* 基因拷贝数的功能一直没有得到确定, 本研究发现 *gvpA* 基因拷贝数与伪空胞相对气体含量呈极显著正相关, 相关系数高达 0.999 , 并且存在线性回归关系, 由此可以推测 *gvpA* 基因的拷贝数是影响伪空胞相对气体含量的主要因素, 该发现是本研究的重要创新点。但是 *gvpA* 基因的拷贝数与伪空胞相对气体含量之间的线性关系仅在 3 种藻种得到验证, 这种线性关系是否属于曲线回归的一部分, 还应该利用 *gvpA* 基因拷贝数较多的藻种 (*gvpA* 基因的拷贝数最好大于 10), 将完整的 *gvpA* 基因拷贝数与伪空胞相对气体含量之间的曲线绘制完毕, 才能判断两者关系, 但是目前没有发现含有 *gvpA* 基因的拷贝数如此多的藻种; 并且确定 *gvpA* 基因的拷贝数的功能还需要做转基因和功能互补验证试验, 因此准确确定 *gvpA* 基因的拷贝数的功能还有大量后续工作。

gvpA 基因之所以形成多拷贝的原因可能是由于转录是伪空胞产生过程中的限速步骤, 具有多个 *gvpA* 拷贝的个体更加有利于自然选择^[1]。

GvpC 蛋白是由高度保守的 33 个氨基酸残基重复序列单位组成^[11,14]。蓝藻 *gvpC* 基因的差异表现在保守重复单位数量上的差异。不同微囊藻株中 GvpC 蛋白里保守重复的数量不同^[20,24]。 *gvpC* 基因内保守重复序列数与伪空胞结构的强度有密切关系。本研究也发现 *gvpC* 基因内保守重复的数量与伪空胞的表观压强和临界压强存在密切关系, *gvpC* 基因内保守重复数量与伪空胞的直径呈极显著正相关, 而伪空胞直径与表观压强和临界压强呈显著负相关, 即说明 GvpC 蛋白保守重复的数量越多, 伪空胞的直径越小, 表观压强和临界压强愈低; 该结果证实伪空胞强度与 *gvpC* 基因保守重复单位的数量相关。此结论也证实了 Dunton 等^[20] 的假说。

前人研究表明伪空胞的临界压强与直径呈负相关关系^[28,29], GvpC 蛋白保守重复的数量很可能决定着伪空胞的直径。Xu 等^[3] 利用微囊藻 *Microcystis* sp. FACHB854, *M. aeruginosa* FACHB930 和 *M. wesenbergii* FACHB929 等测量了伪空胞的宽度, 认为 GvpC 蛋白保守重复的数量越多, 伪空胞的宽度越大。本研究也发现 *gvpC* 基因内保守重复数量与伪空胞的直径呈极显著正相关, 相关系数高达 0.991 , 但是 *gvpA* 基因拷贝数与伪空胞的直径也存在极显著负相关, 相关系数为 -0.861 。因此试验结果表明伪空胞的直径不仅受到 *gvpC* 基因内保守重复数量影响, 而且还可能受到 *gvpA* 基因拷贝数调控, 可能 GvpC 蛋白与 GvpA 蛋白形成的骨架结构产生周期性的相互作用^[23], 共同决定伪空胞的强度。

伪空胞相对气体含量取决于伪空胞的长度、直径及伪空胞的数量。同一藻种内, 伪空胞的直径差异不显著, 但长度差异显著 (表 1), 因此同一种的蓝藻伪空胞相对气体含量的差异仅取决于伪空胞的长度和伪空胞的个数。本研究发现, 伪空胞的相对气体含量与伪空胞的长度的相关系数不高 ($r = 0.543$), 而伪空胞的相对气体含量与 *gvpA* 基因拷贝数呈极显著相关, 相关系数高达 0.999 。因此笔者推测 *gvpA* 基因拷贝数可能通过影响伪空胞的数量, 从而间接的影响伪空胞相对气体含量。

4 结论

(1) 同一藻种内, *gvpA* 基因拷贝数是影响伪空胞相对气体含量的主要因素。

(2) 伪空胞的直径不仅受到 *gvpC* 基因内保守重复序列数量影响,而且还可能受到 *gvpA* 基因拷贝数调控。

(3) *gvpA* 基因拷贝数也可能影响着伪空胞的数量,从而间接的影响伪空胞相对气体含量。

参考文献:

- [1] Walsby A E. Gas vesicles [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1994, **58**: 94-144.
- [2] Bonnet M P, Poulin M. Numerical modeling of the planktonic succession in a nutrient-rich reservoir: environmental and physiological factors leading to *Microcystis aeruginosa* dominance [J]. Ecological Modelling, 2002, **156**: 93-112.
- [3] Xu M, Xu X D, Gao H, *et al.* The high variability of *gvpA-gvpC* regions in *Microcystis* [J]. Progress in Natural Science, 2007, **17**: 1290-1295.
- [4] Walsby A E. Homeostasis in buoyancy regulation by planktonic cyanobacteria [J]. FEMS Symposium, 1988, **44**: 99-116.
- [5] 成慧敏, 邱保胜. 蓝藻的空胞及其对蓝藻在水中垂直分布的调节[J]. 植物生理学通讯, 2006, **42**(5): 974-980.
- [6] Walsby A E. Gas vesicles and buoyancy in cyanobacteria: interrelations with light [A]. In: Caddick M X, Baumberg S, Hodgson D A, *et al.*, (eds). Microbial Responses to Light and Time [C]. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 69-93.
- [7] Beard S J, Davis P A, Iglesias-Rodríguez D. Gas vesicle genes in *Planktothrix* spp. from Nordic lakes: strains with weak gas vesicles possess a longer variant of *gvpC* [J]. Microbiology, 2000, **146**: 2009-2018.
- [8] Walsby A E, Ng G, Dunn C, *et al.* Comparison of the depth where *Planktothrix rubescens* stratifies and the depth where the daily insolation supports its neutral buoyancy [J]. New Phytologist, 2004, **162**: 133-145.
- [9] Oliver R L. Floating and sinking in gas-vacuolate cyanobacteria [J]. Journal of Phycology, 1994, **30**: 161-173.
- [10] Chu Z S, Jin X C, Yang B, *et al.* Buoyancy regulation of *Microcystis flosaquae* during phosphorus-limited and nitrogen-limited growth [J]. Journal of Plankton Research, 2007, **29**(9): 739-745.
- [11] Jones J G, Young D C, DasSarma S. Structure and organization of the gas vesicle gene cluster on the *Halobacterium halobium* plasmid pNCR100 [J]. Gene, 1991, **102**: 1017-1022.
- [12] Halladay J T, Jones J G, Lin F. The rightward gas vesicle operon in *Halobacterium* plasmid pNRC100: identification of the *gvpA* and *gvpC* gene products by use of antibody probes and genetic analysis of the region downstream of *gvpC* [J]. Journal of Bacteriology, 1993, **175**: 684-692.
- [13] Englert C, Krüger K, Offner S, *et al.* Three different but related gene clusters encoding gas vesicles in halophilic archaea [J]. Journal of Molecular Biology, 1992, **27**: 586-592.
- [14] Horne M, Englert C, Wimmer C, *et al.* A DNA region of 9 kbp contains all genes necessary for gas vesicle synthesis in halophilic archaeobacteria [J]. Molecular Microbiology, 1991, **5**: 1159-1174.
- [15] Englert C, Wanner G, Pfeifer F. Functional analysis of the gas vesicle gene cluster of the halophilic archaeon *Haloferax mediterranei* defines the vac-region boundary and suggests a regulatory role for the *gvpD* gene or its product [J]. Molecular Microbiology, 1992, **6**: 3543-3550.
- [16] Offner S, Hofacker A, Wanner G, *et al.* Eight of fourteen *gvp* genes are sufficient for formation of gas vesicles in halophilic archaea [J]. Journal of Bacteriology, 2000, **182**: 4328-4336.
- [17] Bentley S D, Chater K F, Cerdeno-Tarraga A M, *et al.* Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2) [J]. Nature, 2002, **417**: 141-147.
- [18] Damerval T, Castets A M, Houmard J, *et al.* Gas vesicle synthesis in the cyanobacterium *Pseudanabaena* sp.: occurrence of a single photoregulated gene [J]. Molecular Microbiology, 1991, **5**: 657-664.
- [19] Hayes P K, Powell R S. The *gvpA/C* cluster of *Anabaena flosaquae* has multiple copies of a gene encoding GvpA [J]. Archives of Microbiology, 1995, **164**: 50-57.
- [20] Dunton P G, Walsby A E. The diameter and critical collapse pressure of gas vesicles in *Microcystis* are correlated with GvpCs of different length [J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, **247**: 37-43.
- [21] Hayes P K, Buchholz B, Walsby A E. Gas vesicles are strengthened by the outer-surface protein, GvpC [J]. Archives of Microbiology, 1992, **157**: 229-234.
- [22] Kinsman R, Walsby A E, Hayes P K. GvpCs with reduced numbers of repeating sequence elements bind to and strengthen cyanobacterial gas vesicles [J]. Molecular Microbiology, 1995, **17**: 147-154.
- [23] Walsby A E, Hayes P K. The minor cyanobacterial gas vesicle protein, GvpC, is attached to the outer surface of the gas vesicle [J]. Journal of General Microbiology, 1988, **134**: 2647-2657.
- [24] Mlouka A, Comte K, Castets A M, *et al.* The gas vesicle gene cluster from *Microcystis aeruginosa* and DNA rearrangements that lead to loss of cell buoyancy [J]. Journal of Bacteriology, 2004, **186**: 2355-2365.
- [25] Mlouka A, Comte K, Tandeau de Marsac N. Mobile DNA elements in the gas vesicle gene cluster of the planktonic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, **237**: 27-34.
- [26] Weathers P J, Jost M, Lampert D T A. The gas vacuole membrane of *Microcystis aeruginosa*. A partial amino acid sequence [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1977, **178**: 226-244.
- [27] Brookes J D, Ganf G G, Oliver R L. Heterogeneity of cyanobacterial gas-vesicle volume and metabolic activity [J]. Journal of Plankton Research, 2000, **22**(8): 1579-1589.
- [28] Hayes P K, Walsby A E. The inverse correlation between width and strength of gas vesicles in cyanobacteria [J]. British Phycology Journal, 1986, **21**: 191-197.
- [29] Walsby A E, Bleything A. The dimensions of cyanobacterial gas vesicles in relation to their efficiency in providing buoyancy and withstanding pressure [J]. Journal of General Microbiology, 1988, **134**: 2635-2645.