

Energimyndighetens titel på projektet – svenska CyanoFuels, Hållbar produktion av solbränslen	
Energimyndighetens titel på projektet – engelska CyanoFuels, Sustainable production of solar fuels	
Universitet/högskola/företag Uppsala universitet	Avdelning/institution Mikrobiell kemi, Institutionen för Kemi-Ångström
Adress Box 256, 751 05 Uppsala	
Namn på projektledare Peter Lindblad	
Namn på ev övriga projektdeltagare Hao Xie, Xufeng Liu	
Nyckelord: 5-7 st Cyanobakterier, Bioteknik, CO ₂ , Solbränslen, Genteknik, Butanol, Etanol	

Förord

Projektet ”CyanoFuels, Hållbar produktion av solbränslen” (CyanoFuels) finansierades av Energimyndigheten under åren 2019 till 2022.

Innehållsförteckning

Sammanfattning	1
Inledning/Bakgrund	2
Genomförande	2
Resultat	3
Diskussion	7
Publikationslista	7
Referens	9
Bilagor	10

Sammanfattning

Projektet ”CyanoFuels, Hållbar produktion av solbränslen” har utvecklat effektiva modifierade fotosyntetiska mikroorganismer, cyanobakterier, som tillverkar antingen etanol eller butanol från koldioxid och solenergi. Varje enskild cyanobakteriecell är en minifabrik för direkt alkoholproduktion. Den specifika etanol eller butanol-produktionen har ökat stegvis under projektperioden med 600 mg 1-butanol per L och dag som det mest signifikanta resultatet.

Projektet visar att det går att modifiera cyanobakterier till effektiva producenter av solbränslen - Gröna cellfabriker som tillverkar bränslen (tex etanol och butanol) från koldioxid istället för att växa och bilda biomassa. Nästa steg blir att demonstrera ett komplett system där modifierade cyanobakterier använder koldioxid som råvara för att bilda etanol eller butanol som sedan koncentreras till en färdig produkt redo för marknaden.

Summary

The project "CyanoFuels, Sustainable production of solar fuels" has developed efficient modified photosynthetic microorganisms, cyanobacteria, which produce ethanol or butanol from carbon dioxide and solar energy. Each individual cyanobacterial cell is a mini-factory for direct alcohol production. The specific ethanol and butanol productions have gradually increased during the project period with 600 mg 1-butanol per L and day being the most significant result. The project shows that it is possible to modify cyanobacteria into efficient producers of solar fuels - Green cell factories that produce fuels (e.g. ethanol or butanol) from carbon dioxide instead of growing and forming biomass. The next step will be to demonstrate a complete system where modified cyanobacteria use carbon dioxide as a raw material to form ethanol or butanol that is then concentrated into a final product ready for the market.

Inledning/Bakgrund

Det finns ett stort behov av att utveckla förnybara och klimat-/koldioxid-neutrala bränslen. Projektet CyanoFuels adresserar alkoholer, specifikt etanol och butanol, som kan användas som "blend-in" bränslen i transportsektorn. Dessutom har butanol en stor kemisk marknad, butanol är en så kallad "bulk chemical" från vilken bland annat många olika lösningsmedel, plaster och gummi kan tillverkas. Butanol kan även omvandlas till flygbränsle. Det finns redan en marknad för förnybar grön butanol, fermentativ anaerobisk nedbrytning av biomassa med hjälp av bakterier av släktet *Clostridium*.

Solen är en mycket stor primär energikälla. En direkt omvandling av solenergi till solbränslen är teoretiskt betydligt mer effektivt än att gå till exempel via växter och biomassa. Fotosyntetiska mikroorganismer (cyanobakterier) är ett av få alternativ för en direkt omvandling av solens energi till solbränslen. Cyanobakterier kan modifieras till att tillverka många olika produkter, etanol och butanol är två exempel. De modifierade cyanobakteriecellerna fungerar som minifabriker/biokatalysatorer för direkt omvandling av koldioxid och solenergi till vald produkt - Gröna cellfabriker som tillverkar produkter som idag kommer från olja. I projektet CyanoFuels modifierades cyanobakterier till att producera antingen etanol eller butanol kombinerat med en ökad förmåga att ta upp koldioxid och därmed högre solbränsleproduktion. Solbränslen är koldioxidneutrala och återanvänder atmosfärisk och/eller infångad koldioxid när bränslet produceras. Hållbar produktion av solbränslen leder till avsevärt minskade utsläpp av växthusgaser och banar väg för att minska användandet av fossila bränslen. Projektet bidrar till att nå främst följande miljömål: Hållbar energi för alla, Bekämpa klimatförändringarna, samt Hållbar industri, innovationer och infrastruktur.

Genomförande

Cyanobakterier har genetiskt modifierats till att effektivt omvandla koldioxid och solenergi till antingen etanol, 1-butanol eller isobutanol. Alla metoder och

tekniker finns beskrivna i projektets publikationer. Bildad etanol eller butanol lämnar cellen och går utan motstånd ut till det vattenbaserade odlingsmediet utanför cellen. Mängden bildad produkt, etanol eller butanol, kvantifieras med gaskromatografi. Projektet har genomförts av en doktorand (planerad disputation i slutet av 2023), en senior forskare (deltid), grundutbildnings-studenter samt huvudansvarig PI.

Resultat

Projektets resultat i förhållande till mål i ansökan/kontrakt

I projektet CyanoFuels fanns fyra tydliga målbeskrivningar, mål 1 till 4 nedan. Samtliga mål har uppnåtts under projektperioden. Alla resultat är publicerade.

Mål 1. ”Det övergripande målet med projektet är att produktionshastigheten och verkningsgraden av solbränslen ska vara tillräcklig för att attrahera industriellt intresse och stöd för en kommersialiseringsprocess.”

Resultat. Projektets butanol-producerande cyanobakterier har fått stor publicitet, erkännande och fortsätter från slutet av 2022 (1 november) till början av 2023 (sista april) som ett ”innovations projekt” med finansiering från Vinnova.

a) Utvald som “*Top 10 Innovation in Research & Development with Commercial Potential of the Technological Innovation 2050*” av den japanska statliga organisationen Innovation for Cool Earth Forum (ICEF) år 2019.

Motivering: “Solar energy becomes biofuel without solar cells - Uppsala University has successfully developed microorganisms that efficiently produce butanol directly from carbon dioxide and solar energy, without the need for biomass or solar cells.”

Uppsala University has successfully developed microorganisms that efficiently produce butanol directly from carbon dioxide and solar energy, without the need for biomass or solar cells.

b) Med på IVA's 100 list år 2020 (IVA Research2Business), ”...
forskningsprojekt inom området hållbarhet med stor potential att skapa nytta genom exempelvis affärs- och metodutveckling eller samhällspåverkan.



Top 10 Innovations Research & Development: Commercial Potential of the Technological Innovation by 2050 **No. A8**

タイトル / Title
太陽光発電パネルを用いないバイオ燃料の製造

Solar energy becomes biofuel without solar cells

機関 / Organization
Uppsala University

期間 / Period
2019年6月
June/2019

ウプサラ大学は、バイオマスや太陽電池がなくても、二酸化炭素と太陽エネルギーからブタノールを効率的に産出できる微生物の開発に成功した。

Cyanobacteria producing 1-butanol from solar energy and CO₂
写真提供 / Source Uppsala University

Uppsala University has successfully developed microorganisms that efficiently produce butanol directly from carbon dioxide and solar energy, without the need for biomass or solar cells.

ICEF 2019

Vår forskning är med på IVA's 100-lista 2020 som listar forskningsprojekt inom området **hållbarhet** med stor potential att skapa nytta genom exempelvis affärs- och metodutveckling eller samhällspåverkan.



c) Ett flertal kontakter mellan projektledaren/projektet och både större och mindre företag inom energisektorn och kemikalieindustrin har etablerats.

Under hösten 2022 beviljades ett fokuserat sex månaders projekt inom det Strategiska innovationsprogrammet Bioinnovation, Hypotesprövning steg 1. Projektet *Gröna Cellfabriker, Hållbara kemikalier från CO₂* genomförs under perioden 1 november 2022 till sista april 2023 med målsättningen att utveckla och demonstrera konceptet fotosyntetisk butanolproduktion genom att använda modifierade cyanobakterier (<https://www.vinnova.se/p/grona-cellfabriker-hallbara-kemikalier-fran-co2/>). Bland annat kommer projektet leverera mindre behållare med ren/koncentrerad butanol producerad från koldioxid och solenergi med tillhörande beräkningar över mängd och effektivitet samt en teoretisk plan för storskalig produktion. Projektet genomförs i samarbete med ”Desert Ocean Renewable Fuels & Chemicals” AB som bidrar med gedigna kunskaper kring beräkningar och dokumentation, samt tekniska lösningar av flöden och processer.

Mål 2. ”Med nya modifierade stammar visa 30% ökad CO₂-fixering under omgivande CO₂-nivå (luft, 0,04% CO₂) och 45% ökad CO₂-fixering under betingelser som efterliknar en rökgaskomposition (8-12% CO₂).”

Resultat. Modifierade stammar av *Synechocystis* PCC 6803 med ökad CO₂-fixering har skapats. Den totala kolfixeringen, och vidare kol-metabolismen, har ökat med mer än 45%, dvs ökningen av summan av kol till produkt och kol till biomassa/tillväxt, både under ambient CO₂-nivå samt under förhöjd (cirka 10%) CO₂-nivå, överstiger 45% (Liu et al 2021, Roussou et al 2021).

Liu, X., Xie, H., Roussou, S., Miao, R. and LINDBLAD, P. 2021. Engineering cyanobacteria for photosynthetic butanol production. In: Photosynthesis. Biotechnological Applications with Microalgae (Ed: Rögner, M.) Chapter 2, pages 33-56. Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston. ISBN: 978-3110716917.

Roussou, S., Albergati, A., Liang, F. and LINDBLAD, P. 2021. Engineered cyanobacteria with additional overexpression of selected Calvin-Benson-Bassham enzymes show further increased ethanol production. *Metabolic Engineering Communications* 12: e00161.

Mål 3. ”Utveckla grundläggande förståelse av metabolismens flöden i de modifierade stammarna. Identifiera uppbyggda metaboliter / flaskhalsar för ytterligare ökning av solbränsleproduktionen.”

Resultat. I samarbete med forskare i USA som har tillgången till de nödvändiga teknikerna och utrustningen har vi utvecklat en grundläggande förståelse av metabolismens flöden i modifierade stammar och identifierat flaskhalsar för ökad produktion.

För metaboliter och metaboliska flöden användes LC-MS/MS i Professor Morgans forskargrupp vid Purdue University (West Lafayette, USA), Yu et al 2019, och för koldioxid upptag samt gasutbyten och flöden MIMS i Dr Yu's forskargrupp vid NREL (Boulder, USA), Douci et al 2019. Under projektiden har

vi sedan byggt upp motsvarande kompetens vid Institutionen för kemi-Ångström, Uppsala universitet, och, utifrån annan finansiering, införskaffat bland annat HPLC-MS och GC-MS utrustning för att kunna genomföra motsvarande undersökningar.

Douchi, D., Liang, F., Cano, M., Xiong, W., Wang, B., Maness, P.C., LINDBLAD, P. and Yu, J. 2019. Membrane-Inlet Mass Spectrometry enables a quantitative understanding of inorganic carbon uptake flux and carbon concentrating mechanisms in metabolically engineered cyanobacteria. *Frontiers in Microbiology*, section Microbial Physiology and Metabolism 10: 1356.

Yu King Hing, N., Liang, F., LINDBLAD, P. and Morgan, J. 2019. Combining isotopically non-stationary metabolic flux analysis with proteomics to unravel the regulation of the Calvin-Benson-Bassham cycle in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Metabolic Engineering* 56: 77-84.

Mål 4. ”Med nya modifierade stammarna visa 100% mer etanolproduktion (jämfört med Liang et al 2018, forskargruppens mål var ännu högre, 200% ökning), samt 2,5 g 1-butanol L/vecka och 250 mg iso-butanol/L/vecka.”

Resultat

a) Etanol: Genom att överuttrycka olika kombinationer av två enzymer i Calvin-Benson-Bassham cykeln har vi skapat stammar av *Synechocystis* PCC 6803 som producerar 2,5 till 9x mer etanol samtidigt som de har 12 till 30% lägre tillväxt/biomassa produktion, Roussou et al 2021.

b) 1-butanol: Stammar av *Synechocystis* PCC 6803 som bildar 302 mg 1-butanol per L och dag (Liu et al 2019), senare följt av 600 mg 1-butanol per L och dag, 4,2 g 1-butanol per L och vecka, med en ”carbon partitioning efficiency” (andel av fixerat C som blir 1-butanol istället för biomassa/tillväxt) av 60% har utvecklats, Wichmann et al 2021.

c) Isobutanol: Stammar av *Synechocystis* PCC 6803 som bildar 60 mg isobutanol per L och dag, 420 mg isobutanol per L och vecka, har utvecklats (Xie and Lindblad 2022). Storskalig systematisk genetisk modifiering av *Synechocystis* har utvecklats stammar som producerar en titer på drygt 1.2 g isobutanol per L, Xie and Lindblad 2023.

Liu, X., Miao, R., Lindberg, P. and LINDBLAD, P. 2019. Modular engineering for efficient biosynthesis of 1-butanol from CO₂ in cyanobacteria. *Energy & Environmental Science* 12 (9): 2765-2777.

Roussou, S., Albergati, A., Liang, F. and LINDBLAD, P. 2021. Engineered cyanobacteria with additional overexpression of selected Calvin-Benson-Bassham enzymes show further increased ethanol production. *Metabolic Engineering Communications* 12: e00161.

Wichmann, J., Lauersen, K.J., Biondi, N., Christensen, M., Guerra, T., Hellgardt, K., Kuronen, M., Lindberg, P., Rösch, C., Yunus, I.S., Jones, P., LINDBLAD, P. and Kruse, O. 2021. Engineering Biocatalytic Solar Fuel Production: The

PHOTOFUEL Consortium. Trends in Biotechnology 39 (4): 323-327. doi: 10.1016/j.tibtech.2021.01.003

Xie, H. and LINDBLAD, P. 2022. Effects of expressing 2-keto acid pathway enzymes on photosynthetic isobutanol production. Microbial Cell Factories 21: 17. doi: 10.1186/s12934-022-01738-z

Xie, H. and LINDBLAD, P. 2023. Sustainable production of photosynthetic isobutanol and 3-methyl-1-butanol production in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. Inskickad

Yu King Hing, N., Liang, F., LINDBLAD, P. and Morgan, J. 2019. Combining isotopically non-stationary metabolic flux analysis with proteomics to unravel the regulation of the Calvin-Benson-Bassham cycle in *Synechocystis* sp. PCC 6803. Metabolic Engineering 56: 77-84.

A. Under projektperioden sammanfattade vi återkommande kunskapsläget kring modifierade cyanobakterier för solbränsleproduktion, utmaningar för framtiden samt etablerade begreppet ”fotosyntetisk butanol”:

a. “Current processes and future challenges of photoautotrophic production of acetyl-CoA-derived solar fuels and chemicals in cyanobacteria (Miao et al 2020)

b. “Engineering cyanobacteria for photosynthetic butanol production” (Liu et al 2021)

c. “Current advances in engineering cyanobacteria and their applications for photosynthetic butanol production” (Liu et al 2022)

Miao, R., Xie, H., Liu, X., Lindberg, P. and LINDBLAD, P. 2020. Current processes and future challenges of photoautotrophic production of acetyl-CoA-derived solar fuels and chemicals in cyanobacteria. Current Opinion in Chemical Biology 59: 69-76. doi: 10.1016/j.cbpa.2020.04.013

Liu, X., Xie, H., Roussou, S., Miao, R. and LINDBLAD, P. 2021. Engineering cyanobacteria for photosynthetic butanol production. In: Photosynthesis. Biotechnological Applications with Microalgae (Editor: Rögner, M.) Chapter 2, pages 33-56. Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston. ISBN: 978-3110716917. doi: 10.1515/9783110716979-002

Liu, X., Xie, H., Roussou, S. and LINDBLAD, P. 2022. Current advances in engineering cyanobacteria and their applications for photosynthetic butanol production. Current Opinion in Biotechnology 73: 143-150. doi: 10.1016/j.copbio.2021.07.014

B. 2021 sammanfattade vi konceptet Gröna cellfabriker i en kortare (1000 ord) mer allmän text; *Green cell factories for sustainable CO₂-neutral chemical and fuel production without the use of fossil resources* i bransch tidskriften *Microbiologist* (Lindblad et al 2021). Där lyfte vi bland annat fram att koldioxid

kan användas som råvara vid kemikalieproduktionen vilket innebär att vi inte behöver använda dagens teknik som utgår från fossila resurser.

C. 2022 presenterades koldioxid-baserade bränslen och kemikalier i höstupplagan av tidskriften *European Biotechnology* under rubriken "Energy: Biology strikes back". Framsteg och framtidsutsikter för olika bakteriella system från olika organisationer och företag diskuterades. CyanoFuels med sina Gröna cellfabriker som bildar butanol från koldioxid och solenergi lyftes specifikt fram som en intressant teknik.

Diskussion

Projektet ”CyanoFuels, Hållbar produktion av solbränslen” har utvecklat effektiva modifierade fotosyntetiska mikroorganismer, cyanobakterier, som tillverkar antingen etanol eller butanol från koldioxid och solenergi. Cyanobakterierna omvandlas till gröna cellfabriker som tillverkar solbränslen istället för att växa och bilda biomassa. Den specifika etanol eller butanol-produktionen har stegvis ökat under projektperioden med 600 mg 1-butanol per L och dag som det mest signifikanta resultatet. Det senare har fått stor publicitet, erkännande och fortsätter från slutet av som ett ”innovations projekt” med finansiering från Vinnova (<https://www.vinnova.se/p/grona-cellfabriker-hallbara-kemikalier-fran-co2/>).

Våra egna interna beräkningar och uppskattningar har visat att framtidens modifierade cyanobakterier kommer att producera betydligt mer produkt än vad de gör idag. Tillsammans med optimerade odlingssystem och teknik att koncentrera bildad produkt så ser vi framför oss en intressant teknologi som använder koldioxid för att tillverka produkter som idag genereras från olika oljeprodukter.

Intresset för Gröna cellfabriker kommer båda från energi- och transportsektorerna samt den industri som släpper ut koldioxid. Gröna cellfabriker gör det möjligt att bilda många av de kemikalier, inklusive bränslen, från koldioxid, utfälld/anrikad från rökgaser eller/och som gas, och solenergi utan att använda fossila resurser. På längre sikt en process som möjliggör att börja fasa ut användandet av fossila resurser, onekligen en långsiktig hållbar lösning.

Nästa steg är att demonstrera ett komplett system där modifierade cyanobakterier använder koldioxid som råvara, gärna den koldioxid som kommer från industrins rökgaser, för att bilda etanol eller butanol som koncentreras till en färdig produkt redo för marknaden.

Publikationslista

Douchi, D., Liang, F., Cano, M., Xiong, W., Wang, B., Maness, P.C., LINDBLAD, P. and Yu, J. 2019. Membrane-Inlet Mass Spectrometry enables a quantitative understanding of inorganic carbon uptake flux and carbon concentrating mechanisms in metabolically engineered cyanobacteria. *Frontiers in*

Microbiology, section Microbial Physiology and Metabolism 10: 1356. doi: 10.3389/fmicb.2019.01356

LINDBLAD, P., Liu, X. and Woo, H.M. 2021. Green cell factories for sustainable CO₂-neutral chemical and fuel production without the use of fossil resources. *Microbiologist* 22 (4): 20-22. ISSN 1479-2699

Liu, X., Miao, R., Lindberg, P. and LINDBLAD, P. 2019. Modular engineering for efficient biosynthesis of 1-butanol from CO₂ in cyanobacteria. *Energy & Environmental Science* 12 (9): 2765-2777. doi: 10.1039/C9EE01214A
Commentary by Hess, W.R. 2019. Advances in the Direct Production of Biofuels via Photosynthesis. Joule 3: 2074-2075. *The approach presented by Liu et al bears substantial potential for the production of many other solar chemicals in cyanobacteria and can also be applied to other microorganisms.* doi: 10.1016/j.joule.2019.08.021

Liu, X., Xie, H., Roussou, S., Miao, R. and LINDBLAD, P. 2021. Engineering cyanobacteria for photosynthetic butanol production. In: *Photosynthesis. Biotechnological Applications with Microalgae* (Editor: Rögner, M.) Chapter 2, pages 33-56. Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston. ISBN: 978-3110716917. doi: 10.1515/9783110716979-002

Liu, X., Xie, H., Roussou, S. and LINDBLAD, P. 2022. Current advances in engineering cyanobacteria and their applications for photosynthetic butanol production. *Current Opinion in Biotechnology* 73: 143-150. doi: 10.1016/j.copbio.2021.07.014

Miao, R., Xie, H., Liu, X., Lindberg, P. and LINDBLAD, P. 2020. Current processes and future challenges of photoautotrophic production of acetyl-CoA-derived solar fuels and chemicals in cyanobacteria. *Current Opinion in Chemical Biology* 59: 69-76. doi: 10.1016/j.cbpa.2020.04.013

Roussou, S., Albergati, A., Liang, F. and LINDBLAD, P. 2021. Engineered cyanobacteria with additional overexpression of selected Calvin-Benson-Bassham enzymes show further increased ethanol production. *Metabolic Engineering Communications* 12: e00161. doi: 10.1016/j.mec.2021.e00161

Wichmann, J., Lauersen, K.J., Biondi, N., Christensen, M., Guerra, T., Hellgardt, K., Kuronen, M., Lindberg, P., Rösch, C., Yunus, I.S., Jones, P., LINDBLAD, P. and Kruse, O. 2021. Engineering Biocatalytic Solar Fuel Production: The PHOTOFUEL Consortium. *Trends in Biotechnology* 39 (4): 323-327. doi: 10.1016/j.tibtech.2021.01.003

Xie, H. and LINDBLAD, P. 2022. Effects of expressing 2-keto acid pathway enzymes on photosynthetic isobutanol production. *Microbial Cell Factories* 21: 17. doi: 10.1186/s12934-022-01738-z

Xie, H. and LINDBLAD, P. 2023. Sustainable production of photosynthetic isobutanol and 3-methyl-1-butanol production in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. Inskickad

Yu King Hing, N., Liang, F., LINDBLAD, P. and Morgan, J. 2019. Combining isotopically non-stationary metabolic flux analysis with proteomics to unravel the regulation of the Calvin-Benson-Bassham cycle in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Metabolic Engineering* 56: 77-84. doi: 10.1016/j.ymben.2019.08.014

Referens

Förutom referenserna ovan

Liang, F., Englund, E., Lindberg, P. and LINDBLAD, P. 2018. Engineered cyanobacteria with enhanced growth show increased ethanol production and higher biofuel to biomass ratio. *Metabolic Engineering* 46: 51-59. doi: 10.1016/j.ymben.2018.02.006

Bilagor

Bifogar sju utvalda vetenskapliga artiklar baserade på resultat från projektet CyanoFuels. Alla är publicerade OpenAccess, dvs fritt tillgängliga för alla.

Bilaga 1. Douchi, D., Liang, F., Cano, M., Xiong, W., Wang, B., Maness, P.C., LINDBLAD, P. and Yu, J. 2019.

Membrane-Inlet Mass Spectrometry enables a quantitative understanding of inorganic carbon uptake flux and carbon concentrating mechanisms in metabolically engineered cyanobacteria.

Frontiers in Microbiology, section Microbial Physiology and Metabolism 10: 1356

Bilaga 2. Liu, X., Miao, R., Lindberg, P. and LINDBLAD, P. 2019.

Modular engineering for efficient biosynthesis of 1-butanol from CO₂ in cyanobacteria.

Energy & Environmental Science 12 (9): 2765-2777

Bilaga 3. Liu, X., Xie, H., Roussou, S. and LINDBLAD, P. 2022.

Current advances in engineering cyanobacteria and their applications for photosynthetic butanol production.

Current Opinion in Biotechnology 73: 143-150

Bilaga 4. Miao, R., Xie, H., Liu, X., Lindberg, P. and LINDBLAD, P. 2020.

Current processes and future challenges of photoautotrophic production of acetyl-CoA-derived solar fuels and chemicals in cyanobacteria.

Current Opinion in Chemical Biology 59: 69-76

Bilaga 5. Roussou, S., Albergati, A., Liang, F. and LINDBLAD, P. 2021.

Engineered cyanobacteria with additional overexpression of selected Calvin-Benson-Bassham enzymes show further increased ethanol production.

Metabolic Engineering Communications 12: e00161

Bilaga 6. Xie, H. and LINDBLAD, P. 2022.

Effects of expressing 2-keto acid pathway enzymes on photosynthetic isobutanol production.

Microbial Cell Factories 21: 17

Bilaga 7. Yu King Hing, N., Liang, F., LINDBLAD, P. and Morgan, J. 2019.

Combining isotopically non-stationary metabolic flux analysis with proteomics to unravel the regulation of the Calvin-Benson-Bassham cycle in *Synechocystis* sp. PCC 6803.

Metabolic Engineering 56: 77-84