

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2022-002

植物二氧化碳代谢途径改造研究进展

史梦琳^{1,2}, 周琳^{1,3}, 王庆^{1,3}, 赵磊^{1,2,3}¹ 中国科学院天津工业生物技术研究所, 天津 300308; ² 中国科学院系统微生物工程重点实验室, 天津 300308;³ 国家合成生物技术创新中心, 天津 300308)

摘要: 降碳减排是我国可持续发展过程中的一项重大战略决策。为如期实现“碳达峰、碳中和”宏伟目标,我国需在提高生态碳汇能力上取得突破。植物光合作用有利于增加地球碳汇,而光呼吸和呼吸作用过程则释放CO₂。自然状态下,上述CO₂代谢过程能量利用率低、人工改造并提高植物CO₂固定的难度较大。因此,在植物体内重构新的人工代谢途径,有望大幅提高植物CO₂固定能力,是解决人类社会发展瓶颈的有效途径之一。本文分别介绍了植物光合作用、光呼吸和呼吸作用中与CO₂固定、释放相关途径,并指出可用于改造的潜在靶点;重点综述了植物体内已构建的人工固碳途径及其代谢原理,系统分析评价了不同途径的CO₂固定能力和限制因素;最后,对人工设计及合成植物CO₂代谢通路、基于零碳排放的新型物质生产等关键问题进行了探讨,并对植物CO₂代谢途径的改造发展趋势进行了展望。

关键词: 植物; CO₂代谢; 改造; 合成生物学; 碳中和

中图分类号: Q945 **文献标志码:** A

Advances in the study on the modification of carbon dioxide metabolic pathways in plants

SHI Menglin^{1,2}, ZHOU Lin^{1,3}, WANG Qing^{1,3}, ZHAO Lei^{1,2,3}¹Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China; ²Key Laboratory of Systems Microbial Biotechnology, Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China;³National Center of Technology Innovation for Synthetic Biology, Tianjin 300308, China)

Abstract: Reducing carbon emissions is a major strategic decision in the process of sustainable development in China. In order to achieve the ambitious goal of “carbon peak, carbon neutrality” on schedule, China needs to make a breakthrough in improving the ecological carbon sink capacity. Plant photosynthesis is beneficial to increase the Earth's carbon sink by fixing atmospheric carbon dioxide or inorganic carbon to produce organic compounds, while CO₂ is released in the process of photorespiration and respiration which reduce carbon sinks by degrading the organic compounds into other substrates. Energy utilization rate of the above-mentioned CO₂ natural metabolic process is low,

收稿日期: 2022-01-12 修回日期: 2022-02-17

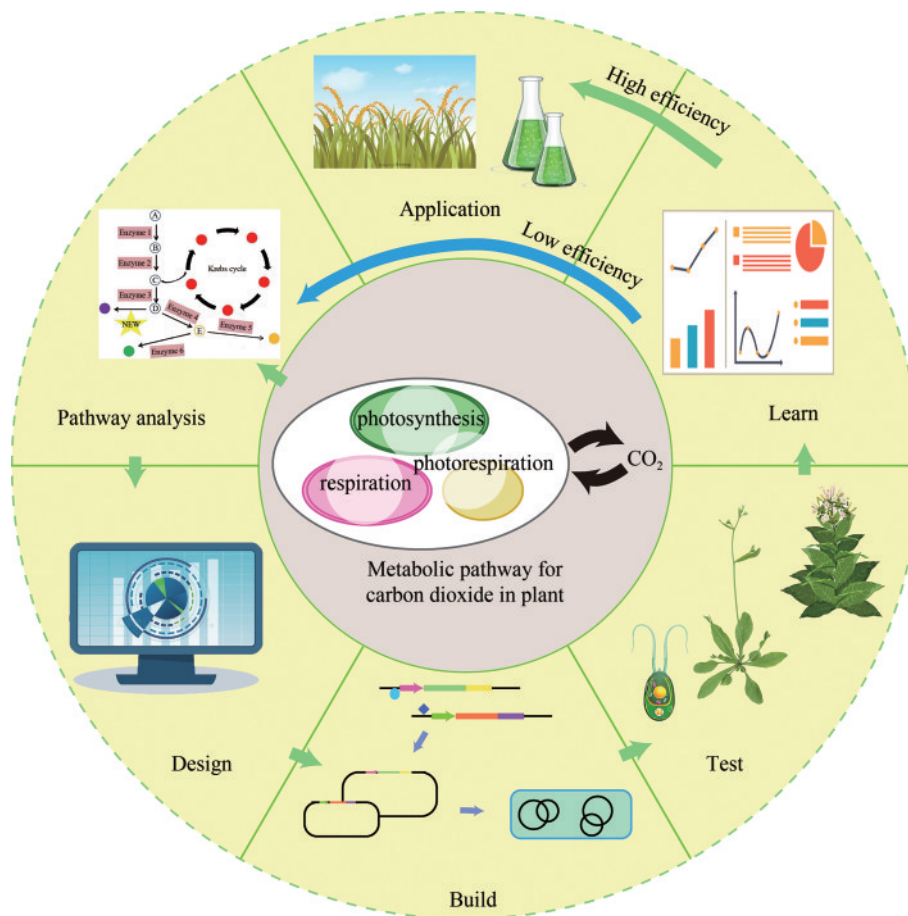
基金项目: 天津市合成生物技术创新能力提升行动项目 (TSBICIP-CXRC-027, TSBICIP-IJCP-001); 中国科技部科技合作计划项目 (KY202001017)

引用本文: 史梦琳, 周琳, 王庆, 赵磊. 植物二氧化碳代谢途径改造研究进展[J]. 合成生物学, 2022, 3(5): 985-1005

Citation: SHI Menglin, ZHOU Lin, WANG Qing, ZHAO Lei. Advances in the study on the modification of carbon dioxide metabolic pathways in plants [J].

Synthetic Biology Journal, 2022, 3(5): 985-1005

and those processes are difficult to be artificially modified and improved in plants due to the characters and limitations of the relevant enzymes. Therefore, reconstructing new artificial metabolic pathways with synthetic biology in plants is expected to greatly improve the plant CO₂ fixation capacity, which is one of the effective ways to solve the bottleneck of humanity development in the future. In the present review, we introduce the metabolic pathways associated with CO₂ fixation and release which are involved in plant photosynthesis, photorespiration and respiration, respectively, and then point out the potential targets that could be used for modification by synthetic biology. In each section, we mainly discuss the artificial carbon fixation pathways that have been implemented in plants and their underlying principles. Especially, the modification of photorespiration is particularly discussed and several pathways are mentioned in details which shed lights on the design of artificial pathway in the future. Then we compare the capacity of each pathway in carbon fixation and limitation. Finally, we propose the key questions of designing and synthesizing novel carbon fixation pathway in plants, and the zero-carbon releasing design is mainly discussed. The development trend of transformation of plant CO₂ metabolic pathway by synthetic biology is also forecasted.



Keywords: plant; CO₂ metabolism; synthetic biology; modification; synthetic biology; carbon neutrality

据估计，植物每年所固定的碳约占大气中碳总量的1/5，相当于化石燃料燃烧所排碳的10倍之多，在生态碳汇中发挥重要作用^[1]。我国需要积

极开展碳减排关键技术研发和创新，以提高生态碳汇能力。绿色植物可通过叶绿体利用光能，把二氧化碳（CO₂）和水转化为储存能量的有机物，

同时释放出氧气 (O_2), 为整个生命系统提供物质和能量, 是增加地球碳汇的过程。如图1所示, 植物 CO_2 代谢途径主要涉及光合作用、光呼吸和呼吸作用。自然界条件下, 植物可利用光合作用光反应生成的 ATP 和 NADPH, 通过卡尔文循环将 CO_2 转化为有机物。但该过程核心的酶核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 存在催化速度慢、反应复杂等诸多问题, 导致天然固碳途径效率较低。同时, 由于 Rubisco 为双功能酶, 其可通过氧化反应造成 CO_2 再释放, 引起高达 25% 的固碳损失^[3-5]。另外, 植物呼吸作用可将有机物氧化降解, 也是释放 CO_2 的过程。因此, 需要在上述天然 CO_2 代谢途径改造上取得突破, 以大幅增加植物生态碳汇能力。

采用合成生物学技术等改造天然碳代谢途径、重构新型人工碳代谢通路, 有望大幅提高植物 CO_2 固定能力。目前, 科学家已在植物光合固碳途径与 Rubisco 优化、 CO_2 富集、光呼吸和呼吸作用改造等方面取得突破。基于此, 本文分别介绍了植物光合作用、光呼吸和呼吸作用中与 CO_2 固定、释放相关的途径, 并指出可用于改造的潜在靶点; 重点综述了植物体内已构建的人工固碳途径, 系

统分析评价了不同途径的 CO_2 固定能力和限制因素; 最后, 对人工设计并合成植物 CO_2 代谢通路、基于零碳排放的新型物质生产等关键问题进行了探讨, 并对植物 CO_2 代谢途径的合成生物学改造发展趋势进行了展望。

1 光合固碳改造

植物固碳过程依赖于光合系统, 相关复合体主要包括: 光系统 I (PS I)、光系统 II (PS II)、Cytb₆f 及 ATP 酶复合体等。该过程始于光系统 II 对光子的吸收, 植物体利用光能将水分子裂解, 释放的电子传递给质体醌, 并在类囊体膜两侧建立跨膜质子梯度以用于产生 ATP。电子可通过光合电子传递链, 依赖光系统 I 产生还原性的 NADPH。光反应所产生的大部分能量和还原力, 被用于卡尔文循环: 在 Rubisco 催化作用下, CO_2 与核酮糖-1,5-二磷酸 (RuBP) 反应, 产生 3-磷酸甘油酸 (PGA)。PGA 被进一步转化为 1,3-二磷酸甘油酸和甘油醛-3-磷酸 (G3P), 该过程需要 ATP 和 NADPH。之后, G3P 可被催化生成 RuBP、葡萄糖、蔗糖和其他碳

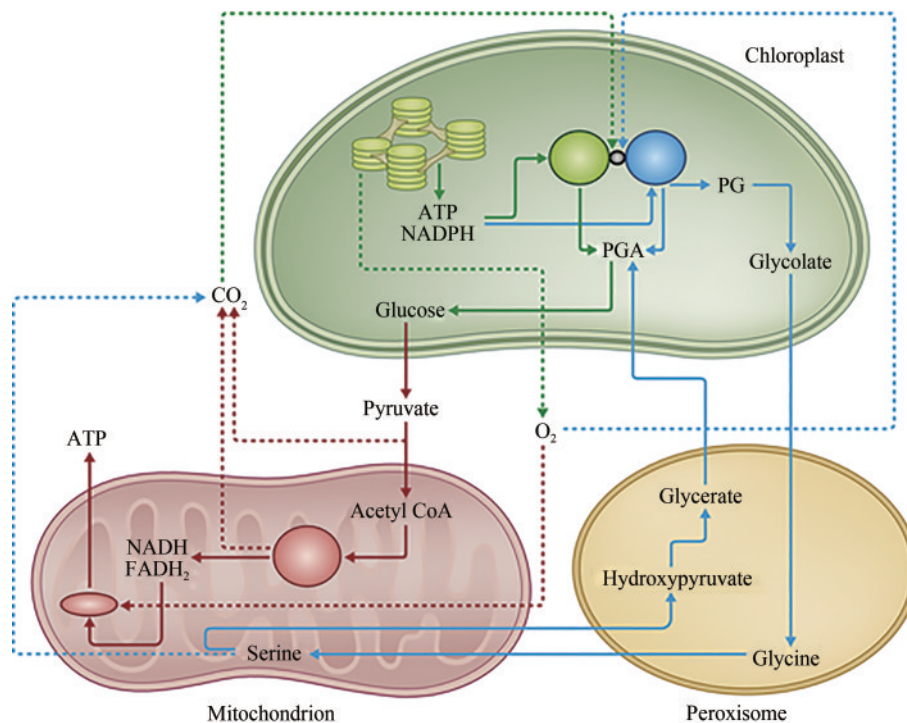


图1 植物天然二氧化碳代谢相关途径^[2]

Fig. 1 Natural pathways of carbon dioxide metabolism in plants^[2]

基分子^[5]。围绕上述光合固碳过程进行改造已取得了一系列进展。

1.1 光合系统的优化

光合作用系统改造是一个新兴的研究领域，通过在系统建模的指导下开发新的元件、途径和调节回路，以创建更有效的光合系统。该领域研究范围较广，既包括天然光合系统的优化和产物高效利用，也包括重建全新的乃至自然界中不存在的系统。

1.1.1 光能利用效率的优化

自然光合作用已有数十亿年的进化历史，但其光能利用效率不到1%，这直接限制下游固碳能力。可见，光合效率尚有较大的提升空间。因此，发掘自然光合系统的限速步骤并对其优化，是改善光合系统的主要途径^[6]。由于已有较多光系统组装相关综述文章，本部分聚焦点主要包括光系统天线的优化，及提升光系统对波动光的响应能力等。

(1) 光系统天线的优化

由于所吸收光能过剩，大部分被吸收的光不能转化为化学能，而是以热量的形式被耗散出去（图2）。尤其是在光照强烈的时间区段内，该现象更为明显，这增强了植物在进化过程的适应能力^[7]。然而，在现代集约化农业生产中，较少出现大量植物争夺有限自然光的情况。科学家普遍认为光系统天线过于庞大^[7-9]；因此，减小天线

尺寸有望提高植物生物量和产量^[7-8]。捕光天线调控蛋白TLA1、TLA2是莱茵衣藻叶绿素（Chl）天线大小调控的关键因子，其过表达株系的叶绿素天线更大，单个细胞中Chl b含量更高；反之，其敲减株系的叶绿素天线尺寸变小且Chl b含量降低，且类囊体结构松散。可见，天线大小显著影响植物光合作用，但该研究并未统计生物量相关数据^[10]。莱茵衣藻*tla2*突变体在光自养条件下生长良好，光合作用的量子产量与野生型相似。在高密度培养中，由于*tla2*突变株消除了对阳光的过度吸收和浪费性耗散，其生物量将高于野生型。因此，微藻*tla2*型突变可使单个细胞过度吸收阳光的能力最小化，有助于大幅提高整体的生产力^[11]。

(2) 提高光系统对波动光的响应能力

自然状态下，植物处于波动光生长环境中，其光合效率取决于遮光所导致的非光化学猝灭系数（NPQ）的降低速度。当处于有限光照条件时，残余NPQ会以热量的形式消耗掉部分可用光能，进而降低植物光合效率。由于NPQ的缓慢弛豫时间是植物光合作用限制因子，所以缩短NPQ弛豫时间是优化光合系统、提升固碳能力的关键策略之一^[6, 12-13]。

qE作为NPQ的最快响应组分，其在黑暗条件5 min内即可完成弛豫^[14]。qE的发生依赖PS II捕光超级复合物的构象变化；其中，LHC家族蛋白PsbS对qE诱导至关重要^[15-17]。过表达PsbS可增加qE容量，进而减少光抑制^[18]，但不会增加生物量^[19]。因此，过表达PsbS可加速NPQ诱导过程，

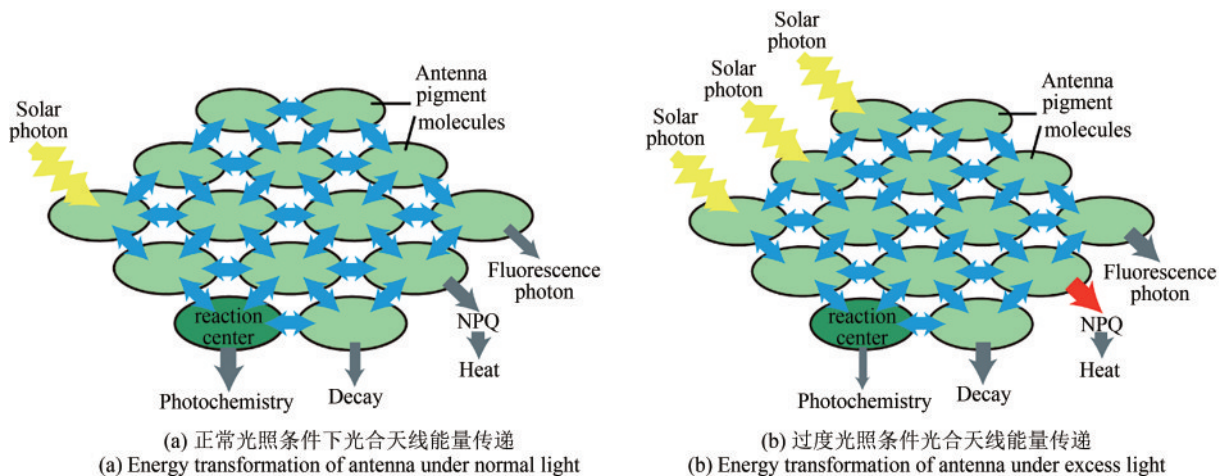


图2 光合天线吸收光能示意图

Fig. 2 Schematic diagram of energy absorption of photosynthetic antenna

特别是NPQ的弛豫过程。

叶黄素循环发生在类囊体中，叶黄素Vx在强光或其他胁迫条件下形成玉米黄质Zx，这是qE响应所必需的^[15, 20]。由强光到弱光过渡时，Zx到Vx的再转换对NPQ完全弛豫尤其重要^[14]；该反应由位于类囊体膜基质侧的ZEP催化完成^[21]。ZEP是一种快速翻转蛋白，类似于PS II的D1蛋白，其降解率远高于其他大多数植物蛋白^[22-23]。ZEP活性可能是通过蛋白质稳定性调控的。当ZEP与黄质脱环氧化酶和PsbS一起过表达时，植物生物量更大^[24]。因此，通过调控NPQ弛豫过程有望提高光合系统对波动光的响应能力，提高光合固碳能力。

(3) 拓宽天然光合系统吸光范围

对于植物和大多数藻类，能够被有效利用的光谱范围主要局限于可见光，波长约在400~700 nm，这仅占太阳光谱范围的一半左右。然而，某些藻类含有的特定色素（叶绿素d和叶绿素f）或色素蛋白（藻胆体），其吸光范围可扩展到远红区域，约700~750 nm^[25-26]。因此，开发藻胆体、叶绿素d或叶绿素f在高等植物中应用潜力，可扩大现有植物的光吸收范围，进而增强光合效率。

1.1.2 光合固碳效率的优化

(1) 改善CO₂的扩散能力

由于CO₂具有扩散作用，导致C₄植物叶肉细胞胞质和C₃植物叶绿体的Rubisco羧化位点CO₂分压较低^[27-28]。因此，改善叶片内部CO₂扩散特性，是提高光合效率的有效途径。现有结果证明，CO₂的扩散能力随温度升高而升高^[29-31]，且与细胞壁厚度、组成等均相关^[32-33]。由于叶片CO₂扩散速率测定较为困难，导致高CO₂扩散材料的筛选变得极具挑战，这阻碍了相关机制的研究进展。但通过蛋白质工程改善Rubisco特性，有望增加羧化效率，这是提高作物产量的关键策略。相关内容将在以下部分进行重点讨论。

(2) Rubisco的优化

长期以来，科学家将Rubisco作为固碳系统的首要优化目标，其目的是提高底物选择性和动力学性能^[34-36]，但迄今为止尚未取得理想效果。研究发现：来源于陆地植物、绿藻和蓝藻的Rubisco，其催化速度和底物特异性成反比。当增强Rubisco对CO₂特异性以降低Rubisco加氧酶活性时，会降

低CO₂催化速率^[37-38]。

相比之下，源于硅藻的Rubisco则具有不同的催化特征：硅藻具有CO₂浓缩机制，其Rubisco羧化率接近C₃植物，但其氧化速率却非常低^[39]。这表明，不同来源的Rubisco动力学数据可能会有较大差异。因此，可以通过拓宽研究范围来确定降低Rubisco加氧酶活性的最优替代途径^[40-41]。此外，将源于红藻或蓝藻的高特异性Rubisco转化到作物中，要比改造天然Rubisco动力学参数更有效。尤其是，将Rubisco优化与碳浓缩机制改造相结合时，更有助于提高植物固碳能力^[42]。然而，用红藻Rubisco替代烟草内源Rubisco时，红藻的Rubisco并未在烟草体内形成功能复合体，这表明共表达Rubisco伴侣蛋白的重要性^[43]。而在细菌中，已实现Rubisco复合体的全组装^[44]，这在植物体组装完整Rubisco复合体提供参考。通过结合物种特异性结构与功能关系的研究^[45-46]及Rubisco组装所需关键因子^[47-49]，可为筛选特异性强、催化效率高的Rubisco提供重要支持^[45-49]。

(3) 提高Rubisco附近的CO₂浓度

除对Rubisco进行直接改造外，在叶绿体中增加CO₂浓度也是减少Rubisco氧化反应的重要手段，如在植物体内导入藻类的CO₂浓缩系统（CCM）^[50]等。功能性CCM组分主要包括羧酶体或蛋白核结构、碳酸酐酶及无机碳转运体等^[51-55]。羧酶体是光合细菌中的微室，其外层有蛋白质壳包围，内含碳酸酐酶、Rubisco蛋白等^[55-56]。蛋白核作为一个亚细胞微室，与羧酶体具有类似的功能，存在于许多真核藻类和角苔类陆生植物中。与羧酶体不同，蛋白核外层被淀粉鞘和蛋白质层包围^[57]。

CCM部分组分已被成功导入植物体，这在植物体内构建CCM系统奠定重要基础^[58-59]。研究表明，将蓝藻β-羧酶体组分CcmM35与Rubisco大、小亚基整合进烟草后^[42]，可形成早期羧酶体结构，并在叶绿体基质中形成大分子复合物。在本氏烟草瞬时表达多种β-羧酶体蛋白，包括CcmK2、CcmM、CcmL、CcmO和CcmN等，可形成高度有序的空室类似结构^[42]。其中，CcmM的SSUL模块可参与Rubisco蛋白聚集过程^[60]。在高等植物叶绿体中组装蓝藻α-羧酶体结构，可提升细胞内碳酸氢盐含量；其介导浓缩形成的CO₂，

可大量聚集在 Rubisco 周围^[61]，有利于羧化反应的进行。目前，已在烟草叶绿体中成功合成简化羧酶体结构。即便其功能不完整，该转基因烟草仍可在二氧化碳浓度升高的情况下实现自养生长。

除 CCM 微室自身结构外，只有 Rubisco 正确定位到微室中，才能确保其 CCM 结构完整性，而 Rubisco 结构的复杂性给 CCM 重建带来巨大挑战。在类蛋白核形成过程中，Rubisco 组装由其小亚基的 α -螺旋介导，该结构可能与类蛋白核连接蛋白存在相互作用^[62-63]。当替换掉莱茵衣藻 Rubisco 小亚基表面的两个 α -螺旋时，其催化能力不变。因此，该材料可作为底盘细胞，用于检测新候选蛋白与类蛋白核的连接能力^[64]。到目前为止，在植物叶绿体中组装完整羧酶体和类蛋白核结构仍具有极大挑战。这需要对 CCM 结构、组装和功能作进一步深入解析，以确定负责组装和正确靶向 Rubisco 到 CCM 微室的最少基因^[57]。

若在植物体内重构类蛋白核结构，首先需要将散布的 Rubisco 形成聚集体形式。同高等植物类似，藻类 Rubisco 由 8 个小亚基和 8 个大亚基对称排列在一起；但藻类中，EPYC1 蛋白可将 Rubisco 高度聚集在蛋白核结构中^[63]。计算模拟结果表明，结构松散、柔韧的 EPYC1 蛋白既可与单个 Rubisco 的多个位点结合，也可将相邻的 Rubisco 连接在一起 [图 3(a)]。通过这种方式，EPYC1 可将 Rubisco 聚集在蛋白核矩阵中。但番茄等陆地植物中未发现 EPYC1 同源蛋白，这可能是其无法形成类蛋白核结构的原因之一。除 EPYC1 之外，

RCA1、SMM7 等参与 Rubisco 聚集体形成过程的其他关键因子也已基本明确 [图 3(b)]^[65]。

将 C_4 光合系统引入 C_3 作物，也可增加 Rubisco 附近 CO_2 供给。大多数 C_4 植物位于热带和亚热带区域，其对高光呼吸的适应能力更强^[66-68]。在 C_4 植物叶肉细胞中， CO_2 在 PEP 羧化酶催化作用下生成苹果酸盐。之后，该四碳二羧酸盐被运输到维管束鞘细胞并完成脱羧反应^[68]，这增加了 Rubisco 附近的 CO_2 浓度。但 C_4 植物中，每固定 1 分子 CO_2 需要 2 分子额外的 ATP。同时，将 C_4 光合系统引入 C_3 植物时，需要考虑光合过程中生化反应的变化，且高光合活性的维管束鞘细胞要求叶片结构也需有所改变^[69-70]。由于缺乏对 C_4 光合作用机制的了解， C_3 向 C_4 转化研究进展缓慢。但目前，已有向水稻成功转入 C_4 光合系统的报道^[71]。可以预见，倘若 C_4 水稻工程实现，必将掀起新一轮的绿色革命。

1.2 光合产物高效利用

在设计合成新型代谢途径时，需整体考虑光合作用与其下游产物利用之间的相互关系。不仅要最大限度地供给底物，还要解除代谢反馈抑制以维持较高光合效率。通过控制“源”与“库”相互作用，优化光合产物的运输、储存和消耗，以提高光能的整体利用率。目前在生物能源生产过程中，生物质需经过大量后续加工才可获得液体燃料；因此可以采用合成生物策略，将碳储存

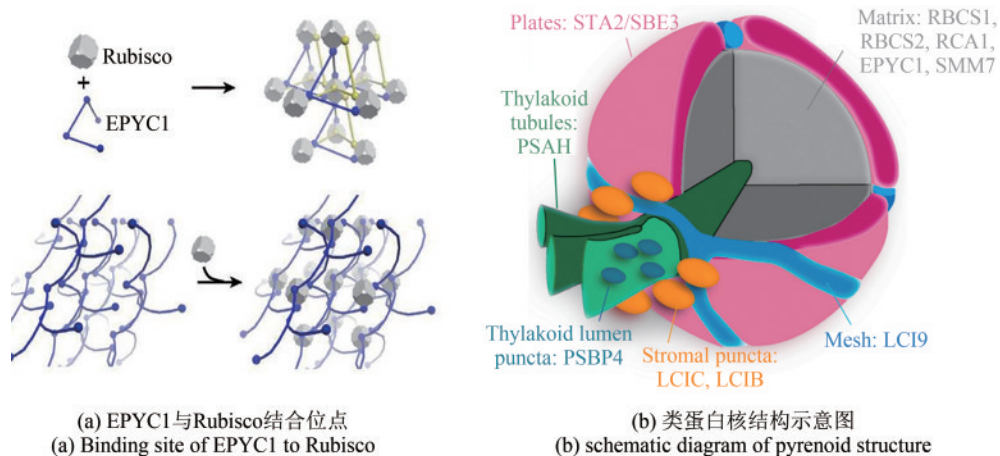


图3 类蛋白核关键因子及结构示意图^[63]

Fig. 3 Schematic diagram of key factors and structure of pyrenoid^[63]

到油脂中以生产较高价值的生物产品，如三酰基甘油酯等。三酰基甘油酯可以很容易地转化为生物柴油、航空燃料和润滑油等，而这些原本只能源于化石燃料^[72]。通过增加叶片或种子油脂产量，也可获得高价值饲料或食品作物^[73]。通过将碳源循环到油脂中，可提高能源作物光合效率。

除上述天然光合系统的改造外，采用合成生物学方法可创造非天然光合系统。利用计算机代谢模型优化设计光合作用，能有效整合各个代谢通路的信息，达到提高光合效率的最佳目标^[74]。另外，Rubisco的底物特异性和催化效率较低，是限制光合能力的主要原因。已有研究表明，可以通过设计新型CO₂固定通路，绕过Rubisco催化步骤并缩短光呼吸途径^[75-76]。该内容将在“光呼吸途径”改造部分重点讨论。

1.3 光合固碳系统改造后的应用

在衣藻中，减小光合天线尺寸可提高其光能利用率和整体生产力^[11]。高等植物中，大豆叶绿素b缺失突变体的天线减小后，其光合效率可增加30%^[77]；烟草叶绿素缺失突变体的天线减少后，其茎叶的生物量提高了25%^[78]。当拟南芥调控蛋白HPE1突变后，其光合天线也会减小，且光合效率和生物量也有所增加^[79]。可见，通过优化植物光合天线系统，可降低光损耗、提高光能利用率，进而其增强其固碳能力。

另外，通过缩短NPQ弛豫时间也可优化光合系统，以提升固碳能力。在拟南芥中过表达PsbS可增加qE容量，进而减少光抑制^[18]，但不会增加生物量^[19]。但是，当ZEP与黄质脱环氧化酶和PsbS一起过表达时，不仅缩短烟草从光保护中的恢复时间，还显著提高了烟草生长速率^[24]。由于光保护机制存在于大多数开花植物中，上述研究结果可为粮食作物改良提供理论依据。

2 光呼吸途径改造

2.1 光呼吸代谢途径

早在1920年，德国科学家奥托·瓦布（Otto

Warburg）就发现植物光合速率会随着氧分压的升高而降低，即瓦布效应。直到1955年，约翰·德柯尔（John Decker）^[80]发现烟草叶片在光照突然停止之后，会释放出大量CO₂。他认为，这是植物在光照条件下发生的“呼吸”，即光呼吸（photorespiration）。之后，Zelitch和Tolbert等^[81-83]经过一系列深入研究，绘制出完整的光呼吸代谢途径。光呼吸是所有需要通过卡尔文循环来固碳的绿色细胞在低CO₂、高O₂和光照条件下进行的耗能、耗O₂且释放CO₂的生化过程。

Rubisco作为双功能酶，其发挥功能时可形成活性中间体。该中间体既可以与CO₂发生羧化反应，也可以与O₂发生氧化反应。研究证实：植物Rubisco活性位点更利于发生羧化反应，约占Rubisco总反应的75%^[84]。在地球形成早期，仅有少量O₂，Rubisco催化活性不受CO₂和O₂影响^[85]，但进化过程可能导致Rubisco不能很好地区别O₂和CO₂。

光呼吸过程中，Rubisco催化RuBP与O₂反应，产生PGA和2-磷酸乙醇酸(2-PG)。PGA是Rubisco羧化反应产物，能够进入卡尔文循环。而2-PG则很难被再利用，还会抑制光合反应固碳酶。高等植物中，2-PG可通过叶绿体、过氧化物酶体及线粒体内的一系列反应被消耗^[86]。

2.2 光呼吸生理功能

光呼吸对植物尤为重要，其被长期抑制时，植物则不能正常生长。虽然C₄植物光呼吸已减弱很多，但它仍然是不可缺少的。丧失2-PG代谢能力的突变体，在正常条件下无法生长^[87]，这主要由于2-PG会抑制几种关键酶，如磷酸甘油醛异构酶（参与RuBP的再生）^[88]、磷酸果糖激酶^[89]等。通过光呼吸代谢途径，可将2-PG转化为PGA，进而实现解毒功能。其他光呼吸中间产物的积累，对植物细胞也是有毒的，如乙醇酸会影响CO₂吸收^[90]；乙醛酸不但能抑制Rubisco活性^[91-92]，还会影响CO₂同化速率^[93]。光呼吸会消耗光合固碳及ATP和NADPH，在C₃植物中可导致高达50%的光合效率损失^[94]。因此，作为光合作用的耗能副反应，通过降低光呼吸有望提高光合效率。

2.3 光呼吸途径的改造方式

植物光呼吸会造成固碳损失，可通过以下3种方法提高植物底盘固碳能力：①优化 Rubisco 或在其周围增加 CO₂ 浓度，以提高其羧化效率而减少 RuBP 氧化率^[95]；②通过基因突变或过表达来改变天然光呼吸途径，减少毒副产物并提高碳回收率^[96]；③导入新型光呼吸替代途径，以减少光呼吸损耗^[97]。以下将对相关内容进行详细介绍。

2.3.1 天然光呼吸途径的改造

前期研究发现：大多数光呼吸突变体在正常条件下，生长均受到严重影响，甚至出现致死表型；但是，提高 CO₂ 浓度可使突变体表型恢复正常^[98-106]。虽然，研究突变体可解析光呼吸机理，但这并不能提供降低光呼吸的有效方法。大豆和小麦的大田试验研究表明，光合速率增加的品种，其光呼吸效率也更高。因此可能无法仅利用光呼吸自然变异来发掘光呼吸水平较低而生产力较高的植物^[107]。但对烟草光呼吸自然变异突变体研究发现，低光呼吸植株也可有较高的光合速率和生长率。这可能与过氧化物酶体中过氧化氢酶水平的升高有关，而不是与光呼吸水平降低相关，但该表型无法稳定遗传^[108-110]。由此看出，天然光呼吸途径改造较为复杂，需考虑较多因素。

水稻和小麦等 C₃ 植物，能够捕获和再同化光呼吸所释放的 CO₂^[111-112]，即其可在提高 CO₂ 利用率的同时而无需减少光呼吸速率，该策略可被用于高产作物的开发。另外，通过增加光呼吸通量以减少有毒中间产物 2-PG 和乙醇酸等的积累，可加快碳回收速率以使 PGA 重新进入 C₃ 循环，最终提高 RuBP 再生速度。比如，当过表达线粒体甘氨酸脱羧酶复合体 L 蛋白和 H 蛋白时，可分别导致植物光合和生长速率的增加，这可能得益于光呼吸通量的增加^[104, 113-115]。此外，当烟草暴露于高光呼吸胁迫条件下，过表达 H 蛋白可减少 PS II 的伤害^[115]。可见，增加光呼吸通量可使植物更好地应对高光呼吸胁迫，提高作物产量^[115]。不难看出，对天然光呼吸途径进行改造以增加 CO₂ 利用率，是光呼吸改造的重要思路之一^[115-116]，但具体改造靶点和策略仍待探索。

2.3.2 新型光呼吸替代途径的构建

光呼吸改造被认为是提高植物固碳能力的有效途径之一^[117]。由于光呼吸中间产物乙醇酸对细胞有毒性作用，所以新型光呼吸替代途径的构建大都以乙醇酸为底物。目前，已有研究表明通过设计催化步骤，可以将乙醇酸转化为其他物质，同时将 CO₂ 重新释放到叶绿体中（图4），提高 CO₂ 浓度以增加 Rubisco 羧化速率^[106, 118-119]。

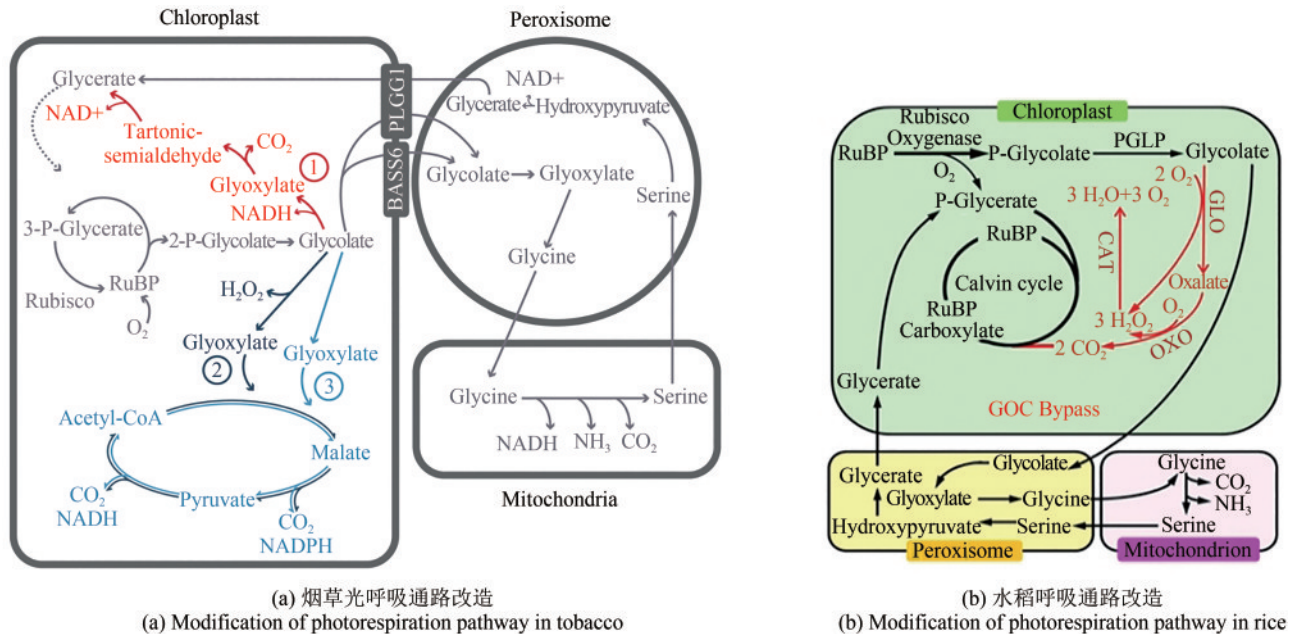


图4 以增加叶绿体中 CO₂ 浓度为目的的光呼吸通路改造^[106, 118-119]

Fig. 4 Photorespiration pathway modification aimed at increasing CO₂ concentration in chloroplasts^[106, 118-119]

South 等^[120]共设计了3条光呼吸替代途径[图4(a)]:途径1与天然光呼吸途径类似,将约75%的乙醇酸转化进入了卡尔文循环,而CO₂则释放到叶绿体中;在途径2和3中,乙醇酸则被完全氧化为CO₂并直接释放至叶绿体,同时在该过程中生成还原力。上述3条途径,均促进转基因植物的生长并提高了其生物量。Shen 等^[118]在水稻中利用乙醇酸氧化酶、草酸氧化酶和过氧化氢酶设计了新型光呼吸旁路,乙醇酸也被完全氧化为CO₂,转基因植物的光合效率和产量均有所提高[图4(b)]。上述通路均无需能量损耗,可以实现CO₂在叶绿体的直接利用。

将大肠杆菌乙醇酸代谢途径导入植物体内,可使光呼吸中间产物乙醇酸完全转化为甘油酸以进入卡尔文循环。该方法中,仅消耗少量ATP且可避免产生NH₃,同时在Rubisco附近富集CO₂^[121-123]。该途径已在拟南芥、马铃薯和亚麻荠等物种中进行了测试,结果表明转基因植物的光合效率和生物量均有所提高。研究表明仅在植物中表达乙醇酸脱氢酶即可促进植物生长,无需引入整条途径,而其深层机制则需进一步解析^[121-123]。将GCL和羟基丙酮酸异构酶在烟草过氧化物酶体中表达时,可使光呼吸途径绕过线粒体而直接将乙醛酸转化为甘油酸。然而,羟基丙酮酸异构酶并未被成功定位到过氧化物酶体中,且转基因植物的生长并未发生变化^[124]。在细菌中,通过3-羟基丙酸途径,可将乙醇酸转化为丙酮酸^[76]。在植物体内,该代谢途径能否工作?能否在不释放CO₂前提下实现乙醇酸再利用,以提高植物光合效率?这些问题的探索,将有助于提高植物固碳效率。

此外,在植物叶绿体中引入乙醇酸氧化酶途径,可使乙醇酸完全脱羧,理论上会增加Rubisco周围的CO₂浓度;从而起到减少Rubisco氧化反应,增加生物量的目的^[125]。的确,当在拟南芥中引入乙醇酸氧化酶途径时,可导致其生长速率增加^[125]。但与天然光呼吸途径相比,该替代途径会消耗更多能量^[126],并且无法将磷酸甘油酸返还到碳循环过程,这暗示其中可能存在某些尚未被发现的作用机理^[125, 127]。由于乙醇酸氧化酶催化过程会伴随过氧化氢的产生,因此可利用藻类乙醇酸脱氢酶代替乙醇酸氧化酶的功能^[128-129]。

但不可避免的是,上述途径改造所新产生的CO₂,仅有部分可得到有效固定,仍存在固碳损失;因此,探索基于零CO₂释放、乙醇酸直接向乙酰辅酶A等生物质转换的新型代谢通路,对于减少光呼吸碳损耗意义更为重大。Trudeau 等^[130]已成功设计了将乙醇酸还原为乙醇醛的两步酶反应,并通过与天然酶进一步组合获得了零CO₂释放的光呼吸旁路。Scheffen 等^[131]也通过开发一种新型的羟乙酰辅酶A羧化酶,并结合羟乙酰辅酶A合成酶和羟丙基二酰辅酶A还原酶,实现了零CO₂释放的乙醇酸到甘油酸的转化。另外,Bar-Even^[132]也提出另外两个可能的光呼吸旁路,来避免光呼吸中的碳损失,仍有待于进一步探索。

通过阻断植物天然光呼吸途径,可以测试新型光呼吸旁路的转化效率,使通路流量达到最大化。模型分析表明,只要光呼吸产生的乙醇酸全部进入旁路,可使转基因植物光合效率提高约16%^[126]。目前,可通过靶向RNA干扰、基因编辑等方法达到阻断光呼吸通路的目的。同时,也很有必要在农业生产条件下,实际测试光呼吸旁路的效果,以达到提高作物产量的目的^[24, 115]。目前,利用快速克隆技术,可将整个代谢途径相关基因克隆到单载体上,单次转化完成转基因过程^[133-134],这为测试代谢通路提供了技术保障。

2.3.3 利用计算机进行光呼吸代谢通量模型计算

利用计算机结合基因组工程和合成生物学技术进行代谢通量模型计算,简化了光呼吸通路改造设计步骤。未经检验的新途径也可以通过计算模型评估,节约人力财力,优化实验设计。

计算机模型预测的准确性取决于代谢路径是否详尽。目前,光呼吸酶功能的研究结果,绝大部分源于突变体和体外酶活分析^[117, 135]。加强体内代谢通量分析,能够更好地理解光呼吸代谢,特别是在田间条件下对重要农业作物的分析^[116, 126, 136-138]。随着对光呼吸的不断深入了解,有助于更好地确定光呼吸代谢对中心碳代谢的其他分支及对植物次生代谢途径的影响。例如,C₃植物可通过光呼吸生成丝氨酸,光呼吸途径通过活性氧(ROS)信号通路,参与非生物和生物胁迫响应^[139-140]。此外,在CO₂浓度升高的条件下,光呼吸速率的降低对氮同化有负反馈作用。因此,光呼吸对植物氨基酸

合成代谢十分重要^[141]。光呼吸中间体参与其他代谢途径，但尚不清楚这是植物功能的必要条件，还是陆生植物光呼吸循环进化的结果^[142]。在许多条件下，Rubisco氧化作用的减少或完全抑制有利于C₃植物的生长^[143-144]。

2.4 光呼吸途径改造后的应用

虽然CCM部分组分已被成功导入植物体中，但对Rubisco直接改造后的植物尚未得到广泛应用^[58-59]。先前研究表明，引入CCM碳酸氢盐转运体将对光合作用产生促进作用。计算模型表明，在作物体内导入蓝藻碳酸氢盐转运体(BicA)，可使光合效率增加9%；导入所有已知碳酸氢盐转运体，可使光合效率提高约16%^[145]。将藻类CCM组分整合表达，包括在类囊体腔内表达碳酸酐酶、CAH3或在烟草叶绿体内膜共表达碳酸盐转运体、LCIA等，可获得CO₂吸收提高的转基因材料，其光合效率和生物量也有所提高^[146]。在C₃作物中引入C₄光合系统可增加Rubisco附近CO₂浓度，但由于该过程复杂导致研究进展较慢。虽然已有向水稻成功转入C₄光合系统的报道^[71]，但要实现C₄水稻大规模生产还需要做出较大努力。

天然光呼吸途径的改造较为复杂，需考虑较多因素。而新型光呼吸替代途径的构建，被认为是提高植物固碳能力的有效途径之一。在烟草^[120]和水稻^[118]中设计新型光呼吸旁路以增加乙醇酸利用率，可使植物的生长和生物量都有显著提高，且固碳效率也进一步提高。在拟南芥、马铃薯和亚麻荠等物种中导入大肠杆菌乙醇酸代谢途径后，转基因植物的光合效率和生物量也均有所提高^[121-123]。由此可见，新型光呼吸替代途径的构建与导入，有望在提高植物固碳能力中发挥重要作用。

3 呼吸作用改造

3.1 植物呼吸作用

植物的呼吸作用和光呼吸过程中，均消耗O₂释放CO₂。光呼吸只在光下进行，但呼吸作用在光

照、黑暗中均可发生，光对线粒体呼吸作用的影响还存在争议^[147]。线粒体参与有氧呼吸过程的最后步骤：在有机酸氧化驱动下，通过氧化磷酸化产生大量的ATP，释放CO₂并将O₂还原为水。此外，线粒体还参与了许多其他重要的细胞生理过程，如植物碳氮代谢、光合作用、氧化应激反应等。因此，呼吸作用对于维持植物基本代谢十分重要，通过抑制呼吸作用来减少CO₂排放的操作难度较大，相关研究较少。

线粒体呼吸通过各种机制与光合作用、叶绿体功能联系在一起：线粒体功能障碍会影响植物叶绿体的生物功能^[148-149]；线粒体ETC是抗坏血酸生物合成的位点^[150]，也是光合作用过程中过量还原当量的氧化位点^[151]；TCA循环是氮同化过程中有机酸的来源^[152]；光依赖的通过线粒体呼吸的甘氨酸氧化，对二磷酸核酮糖的光呼吸再生至关重要^[153]。线粒体呼吸在植物对胁迫的反应中发挥着关键作用，它能够提供ATP和还原剂，产生或吸收ROS，并且是次生代谢的碳中间体的来源^[151]。呼吸机制在耐盐^[153]、耐旱^[154]、耐温^[155]和病毒防御^[156]中发挥着关键作用。随着CO₂水平的升高，植物线粒体呼吸相关基因表达增强，从而导致线粒体数量的增加和呼吸速率的升高，这可能会对植物生长及全球CO₂水平的响应产生影响^[157]。

呼吸作用可分解光合作用形成的葡萄糖并产生ATP，为植物体提供能量。糖酵解过程中，葡萄糖被分解为丙酮酸，丙酮酸被氧化形成乙酰辅酶A，并释放出1分子CO₂。乙酰辅酶A进入三羧酸途径后，可被氧化生成CO₂，并产生可用于线粒体电子传递链的还原剂。这些还原剂和柠檬酸循环中产生的琥珀酸被氧化后，会在线粒体内膜产生质子梯度，进而驱动ATP合成。植物线粒体呼吸可以分为4个部分：①三羧酸(TCA)循环负责有机酸的氧化脱羧作用，导致NADP和FAD的还原，以及ADP底物水平磷酸化形成ATP；②经典氧化磷酸化(OXPHOS)电子传递链，耦合NADH和FADH₂氧化、氧的还原，以传递质子并进行氧化磷酸化；③电子传递链的非能量守恒旁路，交替氧化酶(AOX)和鱼藤酮不敏感的2型NAD(P)H脱氢酶；④为这些过程提供底物和辅助因子的胞质内载体和通道，可促进呼吸产物释放到细胞其

余部分。

在经典的细胞色素介导的电子传递链 (ETC) 外, 植物线粒体还具有一种非磷酸化 (非能量节约) 的呼吸电子传递途径, 将电子从 NAD(P)H 传递到氧, 该途径在氰化物和鱼藤酮 (COX 和 CI 的有效抑制剂) 存在时仍具有功能。对氰化物不敏感的呼吸作用是由交替氧化酶 (AOX) 介导的, 该分支可催化 UQH_2 的氧化, 在不发生质子转移的情况下将 O_2 还原为水。AOX 在植物线粒体中起抗氧化作用, 在大多数植物中由多个基因编码, 可分为 AOX1 型和 AOX2 型^[158]。

吡啶核苷酸 [NAD(P)H/NAD(P)⁺] 和腺嘌呤核苷酸 (ATP/ADP) 库与呼吸代谢密切相关, 因为 NAD(P)H 氧化通常与 ATP 形成相耦合, NAD(P)H 氧化和 ATP 形成之间的紧密耦合会导致代谢失衡, 进而对碳代谢和线粒体功能产生负面影响^[159-161]。AOX 提供了一种减少代谢失衡的机制, 因为它减弱了 NAD(P)H 氧化和 ATP 形成之间的紧密耦合。如果氧化还原剂和/或消耗碳水化合物的呼吸需求大于产生额外 ATP 的需求, 那么增加 AOX 介导的呼吸作用即可满足需求。另一方面, 通过将电子流从 AOX 转移到 Cyt 氧化酶, 可以满足 ATP 增加的需求, 而不必增加碳氧化速率或还原力的周转。

AOX 呼吸会降低 mETC 产生 ROS^[153, 162-163] 和一氧化氮^[164] 的速率。敲除或过表达 AOX 可引起细胞清除 ROS 能力的改变^[162, 165-167], 并改变 ROS 诱导的大分子氧化修饰的数量^[168-170]。应激条件影响线粒体功能, 从而影响 mETC 生成 ROS 的速率^[171]。反过来, 这些 ROS 作为信号分子, 将线粒体功能方面的信息传递给细胞的其他部分, 以诱导有益的反应, 涉及核基因表达的变化^[171-172]。由于 AOX 影响线粒体 ROS 的生成, 其活性可能影响线粒体的应激信号功能。例如烟草与病原菌 *Pseudomonas syringae*^[173] 的相互作用。烟草对 *P.syringae* pv. *maculicola* 的反应中, 线粒体基质中的 O_2 持续升高, 随后是防御基因表达的改变和超敏反应 (HR) 导致细胞死亡。此外, 病原体 *P.syringae* pv. *phaseolicola* 感染 AOX 敲减株系会引起 O_2 爆发, 类似于感染 *P.syringae* pv. *maculicola* 的情况^[173]。说明在细胞应激反应中, AOX 影响线粒体 ROS 信号的生成。

3.2 呼吸作用改造应用

呼吸作用对植物基础代谢尤为重要, 对其进行改造的操作空间较小。表面上看, AOX 呼吸是对能量和碳资源的浪费, 但敲减 AOX 对整个植物生长产生影响, 这与生长阶段、环境条件和植物种类等相关。正常生长条件下, AOX 改变通常不会造成明显的生长变化^[174-179]。抑制 AOX 可略微改善生长^[180-182], 而过表达 AOX 会轻微降低生长^[153, 181-182]。另外, 在胁迫条件下 (如缺水、渗透胁迫、高盐、低温), AOX 含量的变化往往显著影响植物生长。在这些情况下, 抑制 AOX 对生长有负面影响^[174, 178], 而过表达 AOX 则有积极影响^[153, 174-175, 177-179, 181, 183]。除了对生长的影响外, AOX 提高了植物从严重水分胁迫^[162, 184] 或其他胁迫条件中恢复的能力^[185-187]。此外, AOX 影响生长的原因, 可能源于它与光合作用之间存在相互作用。烟草在长期适度水分缺乏的条件下, AOX 敲减株系的固碳率和生长速率显著降低, 而 AOX 过表达株系的固碳速率显著提高^[178]。这说明, AOX 对光合代谢的有利影响明显超过了呼吸产能降低所造成的生长势损失。由此可见, 对 AOX 呼吸途径进行调控, 可改善植物 CO_2 固定能力。

4 未来展望

4.1 光合固碳改造

在植物体系中, 通过过表达某些蛋白, 可以促进光合作用和生长; 而 PS I 可以通过与相关成分偶联, 产生有价值的化合物, 如氢或电。此外, 整个光合复合物也可在异养生物中表达, 构建自养-异养杂合生物。未来仍需要解决的问题包括: ①提高体内光合系统组分与其他相关成分偶联的效率; ②拓展光合模块, 以覆盖整个光系统或开发复杂天线系统。

单细胞真核绿藻与高等植物进化关系密切, 具有叶绿体和完整的光合作用。因此, 利用微生物系统中典型的高进化速率, 通过选择有利的遗传变异来微调和优化光合过程是未来工作的重要方向。将整个多蛋白复合物在远亲物种之间进行

转移, 需要合成更大的光合模块并确定大量辅助因子^[44]。在未来工作中, 可结合不同物种的光合模块, 设计出新的光合作用变体(图5)。使携带蓝藻衍生藻胆体的植物, 在弱光条件下即可进行光合作用; 或使蓝藻利用高等植物衍生的LHC作为天线来吸收利用强光, 也可将蓝藻叶绿素d和f(可以吸收远红外和近红外光)整合到藻类或植物的光合系统中, 以扩展驱动光合作用的可用光谱区域^[188-189]。

4.2 光呼吸途径改造

基因组工程和合成生物学为改变光呼吸提供了新方法, 结合合成生物学技术, 使用系统工程方法来概念化、设计、构建和测试多种新型光呼吸代谢通路, 有望提高作物产量(图5)。利用计算机进行代谢通量模型计算, 简化了光呼吸通路改造设计步骤。计算模型表明, 源于大肠杆菌的乙醇酸氧化途径, 有望增加高达16%的光合效率和生物量, 尤其是在天然光呼吸途径通量减少或消除的情况下^[126]。此外, 计算模型还可用于评估未经检验的新途径, 包括对光呼吸等途径进行模拟操作, 也可提供意想不到的效果。

在计算机中建立光呼吸模型, 生成大型数据集及大量标准化部件库, 便于设计光呼吸途径来提高作物产量。越来越多的基因组信息, 将为探索天然光呼吸途径的遗传多样性和潜在的可塑性提供帮助。为充分了解光呼吸作用的变化如何影响植物生长, 还需要清楚数据来源物种。总之, 目前优化光呼吸的努力已初显成效。这些结果通过进一步优化后, 最终将从模式生物转移到目标作物, 并在一系列相关的农业环境下进行评估。

4.3 呼吸作用途径改造

植物线粒体呼吸也是碳代谢的重要一环, 但是线粒体呼吸通过各种机制与光合作用和叶绿体功能复杂地联系在一起, 而且线粒体呼吸在植物对胁迫的反应中发挥着关键作用, 一味盲目地抑制线粒体呼吸可能会抑制植物生长甚至直接导致植物死亡。因此, 以线粒体呼吸为目标进行遗传操作来提高植物固碳效率的研究远不如光合或光

呼吸的研究多, 且更多聚焦于AOX的抗性功能。

4.4 植物固碳改造可能发展方向与挑战

通过上述分析可以发现: 呼吸作用对植物基础代谢尤为重要, 对其进行改造的操作空间较小。相比而言, 光合作用及光呼吸路径改造则有更大提升空间。尤其是缩短光呼吸代谢步骤、提高光呼吸代谢中间产物利用率等可操作性强, 是提高植物固碳效率的重要突破点(表1)。

在大多数的光呼吸途径改造中, 多采用传统的基因工程方法(如基因突变、单基因转化等)。但改造效果较难准确评估, 往往在实验后期才可判断其实验效果。而合成生物学的快速进展, 正在为光呼吸改变提供新的思路。基于合成生物学思路, 采用系统工程方法来设计、构建和测试新型光呼吸替代通路, 将在较大幅度上提高改造效率。

同时, 不可否认的是, 现有固碳改造相关研究多以模式植物为对象, 其成果究竟能否在大田作物和经济作物上应用, 仍待进一步探索。除了要考虑各种植物遗传背景的不同外, 气候变化的影响也应充分考虑在内。考虑到大规模作物培养的条件, 远不如实验室精细。因此, 对环境条件要求宽松的研究成果, 可能会有更广阔的应用前景。

4.5 合成生物学快速发展将促进植物固碳改造

合成生物学将工程原理与分子生物学相结合, 提供了设计和构建生物部件的能力。这使得标准化零件成为可能, 可快速组装构建, 以便在生物系统中进行测试。第1套标准化的生物部件是BioBricks, 主要设计用于原核生物代谢工程。Golden Gate、Golden Braid以及其他类似克隆技术可为植物合成生物学提供标准化部件^[190-194]。植物合成生物学的局限性来自于代谢物与基因组的复杂且高度有序的调控, 导致不可预见的未知因素较多。为优化植物合成生物学的设计部分, 需要研究不同候选基因、启动子及启动子调控等。使用不同的启动子, 可以防止同源依赖的基因沉默, 这种沉默可能是由于多次使用一个组成型启动子

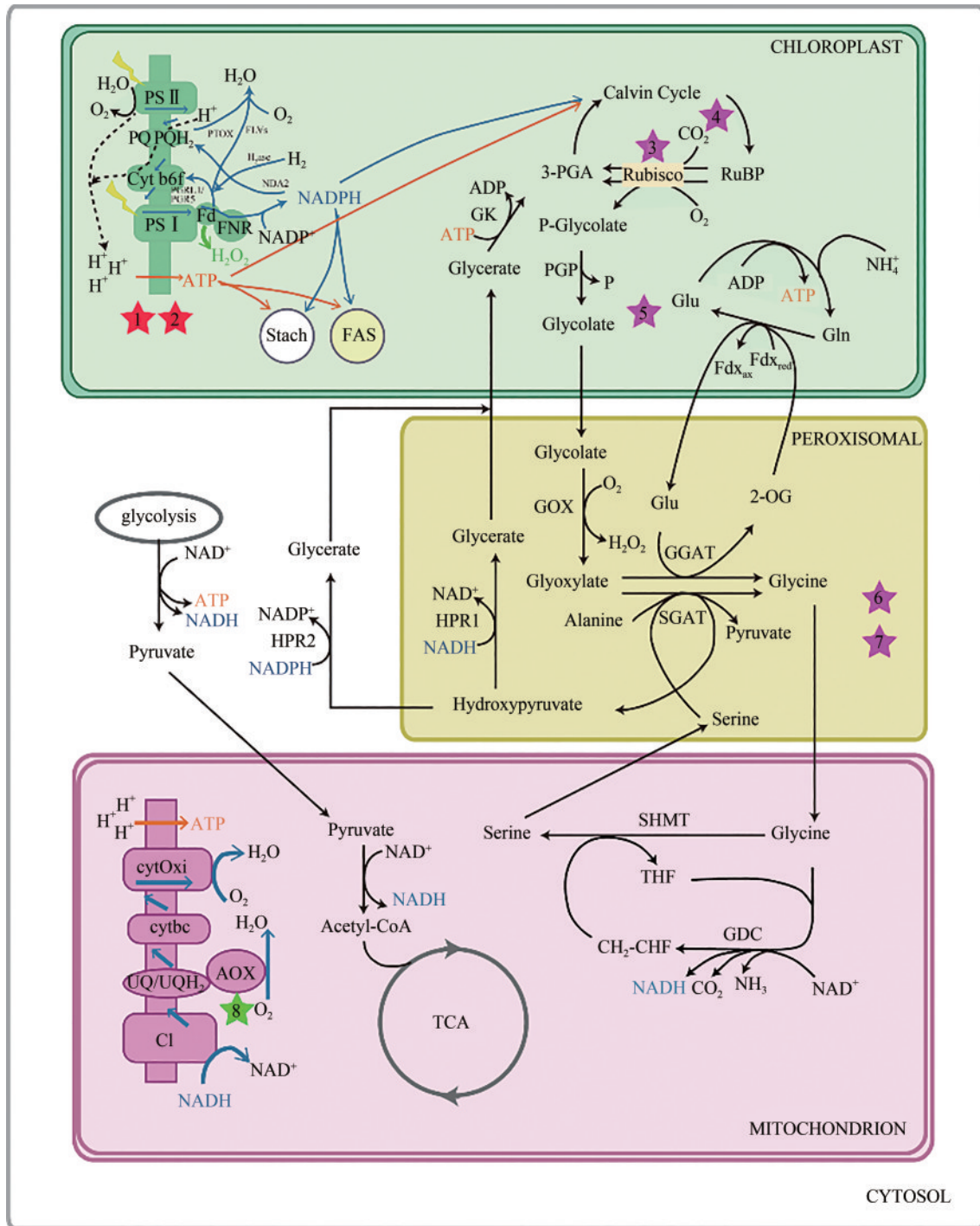


图5 植物碳代谢改造潜在靶点图示

(★光合固碳改造; ★光呼吸途径改造; ★: 呼吸作用途径改造)

1—天然光合作用元件改造; 2—外源蛋白导入以优化光合效率; 3—Rubisco 优化设计以提高其羧化能力; 4—增加 CO₂ 供给能力; 5—天然光呼吸途径的改造或新型光呼吸替代途径的构建; 6,7—增加光呼吸通量或代谢中间产物再利用; 8—呼吸作用途径改造 (AOX 调整)

Fig. 5 Schematic diagram of potential targets for carbon metabolism modification in plants

(★Photosynthesis modification; ★Photorespiration modification; ★ Respiration modification)

1—Modification of natural photosynthetic elements; 2—Exogenous protein are introduced to optimize photosynthetic efficiency;

3—Rubisco optimization design to improve its carboxylation capacity; 4—Increase CO₂ supply capacity;

5—Reconstruction of natural photorespiration pathway or construction of alternative pathway for new photorespiration;

6, 7—Increase photorespiration flux or reuse of metabolic intermediates; 8—Modification of respiratory pathway (AOX adjustment)

表1 植物固碳改造策略与效果

Tab.1 Modification strategies for plant carbon sequestration and their effects

涉及部分	改造对象或方式	改造效果
光合作用	光系统天线	降低光损耗、提高光能利用率和生物量
	光系统对波动光的响应能力	有望提高光系统对波动光的响应能力,减少光抑制
	天然光合系统吸光范围	有望将植物吸光范围扩展到远红区域,进而增强光合效率
	CO ₂ 扩散能力	可改善叶片内部CO ₂ 扩散特性,是提高光合效率的有效途径;其扩散能力与温度、细胞壁厚度和组成等均相关。由于叶片CO ₂ 扩散速率测定较为困难,致该部分研究缓慢
	Rubisco催化特性	Rubisco催化特性改造尚未取得实质性进展;通过筛选不同物种特异性Rubisco或将Rubisco与碳浓缩机制改造相结合,有望改善植物固碳能力
Rubisco附近的CO ₂ 浓度	通过将CCM系统、蛋白核或将C ₄ 光合系统引入C ₃ 作物等,可增加CO ₂ 供给。但需要考虑光合过程中生化反应的变化及叶片结构的改变,C ₃ 向C ₄ 植物转化研究仍待加强	
光呼吸	天然光呼吸途径	改造较为复杂,需考虑较多因素;增加光呼吸通量可使植物更好地应对高光呼吸胁迫,提高生物量,但具体改造靶点和策略仍待探索
	新型光呼吸替代途径	导入新型光呼吸替代途径,可将毒性副产物化为其他生物物质,同时将CO ₂ 重新释放到叶绿体中,在提高CO ₂ 浓度的同时减少植物固碳损失;基于零CO ₂ 释放的新型替代通路,可避免光呼吸中的碳损失,在增加植物固碳方面有较大潜力
	光呼吸代谢通量模型计算	将计算技术与基因组工程、合成生物学技术等技术结合,进行代谢通量模型分析,可简化和评估光呼吸通路改造设计,优化实验设计
呼吸作用	交替氧化酶 AOX	呼吸作用对植物基础代谢尤为重要,对其进行改造的操作空间较小;不同体系和生长条件下, AOX 表达量变化对固碳和生长影响不同,对其进行有效改造的策略仍待探索中

后导致的^[195-197]。此外,这种预先设计可以测试一系列启动子的强度。利用工程循环原理和机器学习,从多轮优化中获得的信息更加全面准确。

随着合成生物学的快速发展,新途径设计水平不断提升。这可以部分解决天然固碳途径存在的缺陷,使得人工生物固碳效率显著提升,是当前合成生物学研究的热点。未来通过新途径设计改造与优化,持续提升人工生物固碳效率。这对于解决环境、能源、粮食等重大问题,实现可持续绿色生物制造进程等具有重要的理论和实践价值。

参 考 文 献

- [1] KEENAN T F, WILLIAMS C A. The terrestrial carbon sink[J]. Annual Review of Environment and Resources, 2018, 43: 219-243.
- [2] DUSENGE M E, DUARTE A G, WAY D A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration[J]. The New Phytologist, 2019, 221(1): 32-49.
- [3] BAUWE H, KOLUKISAOGLU Ü. Genetic manipulation of glycine decarboxylation[J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(387): 1523-1535.
- [4] PETERHANSEL C, HORST I, NIESSEN M, et al. Photorespiration[J]. Arabidopsis Book, 2010, 8: e0130.
- [5] TIMM S, HAGEMANN M. Photorespiration—how is it regulated and how does it regulate overall plant metabolism? [J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(14): 3955-3965.
- [6] LONG S P, MARSHALL-COLON A, ZHU X G. Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential[J]. Cell, 2015, 161(1): 56-66.
- [7] MELIS A. Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency[J]. Plant Science, 2009, 177(4): 272-280.
- [8] ORT D R, ZHU X G, et al. Optimizing antenna size to maximize photosynthetic efficiency[J]. Plant Physiology, 2010, 155(1): 79-85.
- [9] ORT D R, MERCHANT S S, ALRIC J, et al. Redesigning photosynthesis to sustainably meet global food and bioenergy demand[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(28): 8529-8536.
- [10] MITRA M, KIRST H, DEWEZ D, et al. Modulation of the light-harvesting chlorophyll antenna size in *Chlamydomonas reinhardtii* by *TLA1* gene over-expression and RNA interference[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 2012, 367(1608): 3430-3443.
- [11] KIRST H, GARCÍA-CERDÁN J G, ZURBRIGGEN A, et al. Assembly of the light-harvesting chlorophyll antenna in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* requires expression of the *TLA2-CpFTSY* gene[J]. Plant Physiology, 2011, 158(2): 930-945.

- [12] ZHU X G, LONG S P, ORT D R. Improving photosynthetic efficiency for greater yield[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 235-261.
- [13] MURCHIE E H, NIYOGI K K. Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 2010, 155(1): 86-92.
- [14] NILKENS M, KRESS E, LAMBREV P, et al. Identification of a slowly inducible Zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Bioenergetics*, 2010, 1797(4): 466-475.
- [15] NOCTOR G, REES D, YOUNG A, et al. The relationship between Zeaxanthin, energy-dependent quenching of chlorophyll fluorescence, and trans-thylakoid pH gradient in isolated chloroplasts[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1991, 1057(3): 320-330.
- [16] LI X P, BJÖRKMAN O, SHIH C, et al. A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting[J]. *Nature*, 2000, 403(6768): 391-395.
- [17] CROUCHMAN S, RUBAN A, HORTON P. PsbS enhances nonphotochemical fluorescence quenching in the absence of Zeaxanthin[J]. *FEBS Letters*, 2006, 580(8): 2053-2058.
- [18] LI X P, MULLER-MOULE P, GILMORE A M, et al. PsbS-dependent enhancement of feedback de-excitation protects photosystem II from photoinhibition[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(23): 15222-15227.
- [19] GŁOWACKA K, KROMDIJK J, KUCERA K, et al. Photosystem II Subunit S overexpression increases the efficiency of water use in a field-grown crop[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 868.
- [20] NIYOGI K K, GROSSMAN A R, BJÖRKMAN O. *Arabidopsis* mutants define a central role for the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion[J]. *The Plant Cell*, 1998, 10(7): 1121-1134.
- [21] JAHNS P, LATOWSKI D, STRZALKA K. Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle: the role of antenna proteins and membrane lipids[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2009, 1787(1): 3-14.
- [22] LI L, NELSON C J, TRÖSCH J, et al. Protein degradation rate in *Arabidopsis thaliana* leaf growth and development[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(2): 207-228.
- [23] LI L, ARO E M, MILLAR A H. Mechanisms of photodamage and protein turnover in photoinhibition[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(8): 667-676.
- [24] KROMDIJK J, GŁOWACKA K, LEONELLI L, et al. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection[J]. *Science*, 2016, 354(6314): 857-861.
- [25] BLANKENSHIP R E, CHEN M. Spectral expansion and antenna reduction can enhance photosynthesis for energy production[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2013, 17(3): 457-461.
- [26] LI Y Q, CHEN M. Novel chlorophylls and new directions in photosynthesis research[J]. *Functional Plant Biology: FPB*, 2015, 42(6): 493-501.
- [27] EVANS J R, VON CAEMMERER S. Carbon dioxide diffusion inside leaves[J]. *Plant Physiology*, 1996, 110(2): 339-346.
- [28] FLEXAS J, NIINEMETS U, GALLÉ A, et al. Diffusional conductances to CO₂ as a target for increasing photosynthesis and photosynthetic water-use efficiency[J]. *Photosynthesis Research*, 2013, 117(1/2/3): 45-59.
- [29] VON CAEMMERER S, EVANS J R. Temperature responses of mesophyll conductance differ greatly between species[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2015, 38(4): 629-637.
- [30] GROSZMANN M, OSBORN H L, EVANS J R. Carbon dioxide and water transport through plant aquaporins[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2017, 40(6): 938-961.
- [31] UBIERNA N, GANDIN A, BOYD R A, et al. Temperature response of mesophyll conductance in three C₄ species calculated with two methods: ¹⁸O discrimination and *in vitro* V_{max}[J]. *The New Phytologist*, 2017, 214(1): 66-80.
- [32] EVANS J R, KALDENHOFF R, GENTY B, et al. Resistances along the CO₂ diffusion pathway inside leaves[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(8): 2235-2248.
- [33] ELLSWORTH P V, ELLSWORTH P Z, KOTEYEVA N K, et al. Cell wall properties in *Oryza sativa* influence mesophyll CO₂ conductance[J]. *The New Phytologist*, 2018, 219(1): 66-76.
- [34] SOMERVILLE C R, OGREN W L. Genetic modification of photorespiration[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1982, 7(5): 171-174.
- [35] MUELLER-CAJAR O, WHITNEY S M. Directing the evolution of Rubisco and Rubisco activase: first impressions of a new tool for photosynthesis research[J]. *Photosynthesis Research*, 2008, 98(1/2/3): 667-675.
- [36] WHITNEY S M, SHARWOOD R E. Construction of a tobacco master line to improve Rubisco engineering in chloroplasts[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(7): 1909-1921.
- [37] TCHERKEZ G G B, FARQUHAR G D, ANDREWS T J. Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(19): 7246-7251.
- [38] SAVIR Y, NOOR E, MILO R, et al. Cross-species analysis traces adaptation of Rubisco toward optimality in a low-dimensional landscape[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(8): 3475-3480.
- [39] YOUNG J N, HEUREUX A M C, SHARWOOD R E, et al. Large variation in the Rubisco kinetics of diatoms reveals diversity among their carbon-concentrating mechanisms[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(11): 3445-3456.
- [40] ORR D J, ALCÁNTARA A, KAPRALOV M V, et al. Survey-

- ing Rubisco diversity and temperature response to improve crop photosynthetic efficiency[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(2): 707-717.
- [41] PRINS A, ORR D J, ANDRALOJC P J, et al. Rubisco catalytic properties of wild and domesticated relatives provide scope for improving wheat photosynthesis[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(6): 1827-1838.
- [42] LIN M T, OCCHIALINI A, ANDRALOJC P J, et al. A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops[J]. *Nature*, 2014, 513(7519): 547-550.
- [43] LIN M T, HANSON M R. Red algal Rubisco fails to accumulate in transplastomic tobacco expressing *Griffithsia monilis rbcL* and *rbcS* genes[J]. *Plant Direct*, 2018, 2(2): e00045.
- [44] AIGNER H, WILSON R H, BRACHER A, et al. Plant RuBisCo assembly in *E. coli* with five chloroplast chaperones including BSD2[J]. *Science*, 2017, 358(6368): 1272-1278.
- [45] VALEGÅRD K, HASSE D, ANDERSSON I, et al. Structure of rubisco from *Arabidopsis thaliana* in complex with 2-carboxyarabinitol-1, 5-bisphosphate[J]. *Acta Crystallographica Section D, Structural Biology*, 2018, 74(Pt 1): 1-9.
- [46] VALEGÅRD K, ANDRALOJC P J, HASLAM R P, et al. Structural and functional analyses of Rubisco from arctic diatom species reveal unusual posttranslational modifications[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(34): 13033-13043.
- [47] SASCHENBRECKER S, BRACHER A, RAO K V, et al. Structure and function of RbcX, an assembly chaperone for hexadecameric Rubisco[J]. *Cell*, 2007, 129(6): 1189-1200.
- [48] FEIZ L, WILLIAMS-CARRIER R, WOSTRIKOFF K, et al. Ribulose-1, 5-bis-phosphate carboxylase/oxygenase accumulation Factor1 is required for holoenzyme assembly in maize[J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(8): 3435-3446.
- [49] WHITNEY S M, BIRCH R, KELSO C, et al. Improving recombinant Rubisco biogenesis, plant photosynthesis and growth by coexpressing its ancillary RAF₁ chaperone[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11): 3564-3569.
- [50] RAE B D, LONG B M, FÖRSTER B, et al. Progress and challenges of engineering a biophysical CO₂-concentrating mechanism into higher plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(14): 3717-3737.
- [51] MORITA E, ABE T, TSUZUKI M, et al. Presence of the CO₂-concentrating mechanism in some species of the pyrenoid-less free-living algal genus *Chloromonas* (Volvocales, Chlorophyta) [J]. *Planta*, 1998, 204(3): 269-276.
- [52] KINNEY J N, AXEN S D, KERFELD C A. Comparative analysis of carboxysome shell proteins[J]. *Photosynthesis Research*, 2011, 109(1/2/3): 21-32.
- [53] NIEDERHUBER M J, LAMBERT T J, YAPP C, et al. Super-resolution microscopy of the β -carboxysome reveals a homogeneous matrix[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2017, 28(20): 2734-2745.
- [54] SHARWOOD R E. Engineering chloroplasts to improve Rubisco catalysis: prospects for translating improvements into food and fiber crops[J]. *The New Phytologist*, 2017, 213(2): 494-510.
- [55] SOMMER M, CAI F, MELNICKI M, et al. β -Carboxysome bioinformatics: identification and evolution of new bacterial microcompartment protein gene classes and core locus constraints[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(14): 3841-3855.
- [56] RAE B D, LONG B M, WHITEHEAD L F, et al. Cyanobacterial carboxysomes: microcompartments that facilitate CO₂ fixation[J]. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2013, 23(4/5): 300-307.
- [57] SHARWOOD R E. A step forward to building an algal pyrenoid in higher plants[J]. *The New Phytologist*, 2017, 214(2): 496-499.
- [58] HANSON M R, LIN M T, CARMO-SILVA A E, et al. Towards engineering carboxysomes into C₃ plants[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2016, 87(1): 38-50.
- [59] OCCHIALINI A, LIN M T, ANDRALOJC P J, et al. Transgenic tobacco plants with improved cyanobacterial Rubisco expression but no extra assembly factors grow at near wild-type rates if provided with elevated CO₂[J]. *The Plant Journal*, 2016, 85(1): 148-160.
- [60] WANG H, YAN X, AIGNER H, et al. Rubisco condensate formation by CcmM in β -carboxysome biogenesis[J]. *Nature*, 2019, 566(7742): 131-135.
- [61] LONG B M, HEE W Y, SHARWOOD R E, et al. Carboxysome encapsulation of the CO₂-fixing enzyme Rubisco in tobacco chloroplasts[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 3570.
- [62] MEYER M T, GENKOV T, SKEPPER J N, et al. Rubisco small-subunit α -helices control pyrenoid formation in *Chlamydomonas*[J]. *PNAS*, 2012, 109(47): 19474-19479.
- [63] MACKINDER L C M, MEYER M T, METTLER-ALTMANN T, et al. A repeat protein links Rubisco to form the eukaryotic carbon-concentrating organelle[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(21): 5958-5963.
- [64] ATKINSON N, LEITÃO N, ORR D J, et al. Rubisco small subunits from the unicellular green alga *Chlamydomonas* complement Rubisco-deficient mutants of *Arabidopsis*[J]. *The New Phytologist*, 2017, 214(2): 655-667.
- [65] MACKINDER L C M, CHEN C, LEIB R D, et al. A spatial interactome reveals the protein organization of the algal CO₂-concentrating mechanism[J]. *Cell*, 2017, 171(1): 133-147.e14.
- [66] SAGE R F, SAGE T L, KOCACINAR F. Photorespiration and the evolution of C₄ photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63: 19-47.
- [67] SCHLÜTER U, WEBER A P M. The road to C₄ photosynthesis: evolution of a complex trait *via* intermediary states[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2016, 57(5): 881-889.
- [68] FURBANK R T. Walking the C₄ pathway: past, present, and fu-

- ture[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(14): 4057-4066.
- [69] MATSUOKA M, FURBANK R T, FUKAYAMA H, et al. Molecular engineering of C₄ photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, 52: 297-314.
- [70] SCHULER M L, MANTEGAZZA O, WEBER A P. Engineering C₄ photosynthesis into C₃ chassis in the synthetic biology age[J]. *The Plant Journal*, 2016, 87(1): 51-65.
- [71] VON CAEMMERER S, QUICK W P, FURBANK R T. The development of C₄ rice: current progress and future challenges[J]. *Science*, 2012, 336(6089): 1671-1672.
- [72] LAKSHMI N M, BINOD P, SINDHU R, et al. Microbial engineering for the production of isobutanol: current status and future directions[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 12308-12321.
- [73] VANHERCKE T, BELIDE S, TAYLOR M C, et al. Up-regulation of lipid biosynthesis increases the oil content in leaves of *Sorghum bicolor*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(1): 220-232.
- [74] LI P H, BRUTNELL T P. *Setaria viridis* and *Setaria italica*, model genetic systems for the Panicoid grasses[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(9): 3031-3037.
- [75] BAR-EVEN A, NOOR E, LEWIS N E, et al. Design and analysis of synthetic carbon fixation pathways[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(19): 8889-8894.
- [76] SHIH P M, ZARZYCKI J, NIYOGI K K, et al. Introduction of a synthetic CO₂-fixing photorespiratory bypass into a cyanobacterium[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(14): 9493-9500.
- [77] PETTIGREW W T, HESKETH J D, PETERS D B, et al. Characterization of canopy photosynthesis of chlorophyll-deficient soybean isolines[J]. *Crop Science*, 1989, 29(4): 1025-1029.
- [78] KIRST H, GABILLY S T, NIYOGI K K, et al. Photosynthetic antenna engineering to improve crop yields[J]. *Planta*, 2017, 245(5): 1009-1020.
- [79] JIN H L, LI M S, DUAN S J, et al. Optimization of light-harvesting pigment improves photosynthetic efficiency[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(3): 1720-1731.
- [80] DECKER J P. A rapid, postillumination deceleration of respiration in green leaves[J]. *Plant Physiology*, 1955, 30(1): 82-84.
- [81] ZELITCH I. Increased rate of net photosynthetic carbon dioxide uptake caused by the inhibition of glycolate oxidase[J]. *Plant Physiology*, 1966, 41(10): 1623-1631.
- [82] ZELITCH I. The effect of glycidate, an inhibitor of glycolate synthesis, on photorespiration and net photosynthesis[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1974, 163(1): 367-377.
- [83] TOLBERT N E. Microbodies-peroxisomes and glyoxysomes[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1971, 22: 45-74.
- [84] GRIFFITHS H. Designs on Rubisco[J]. *Nature*, 2006, 441(7096): 940-941.
- [85] EHLERINGER J R, SAGE R F, FLANAGAN L B, et al. Climate change and the evolution of C₄ photosynthesis[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1991, 6(3): 95-99.
- [86] DELLERO Y, JOSSIER M, SCHMITZ J, et al. Photorespiratory glycolate-glyoxylate metabolism[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(10): 3041-3052.
- [87] ZABALETA E, MARTIN M V, BRAUN H P. A basal carbon concentrating mechanism in plants? [J]. *Plant Science*, 2012, 187: 97-104.
- [88] ANDERSON L E. Chloroplast and cytoplasmic enzymes (II): Pea leaf triose phosphate isomerases[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology*, 1971, 235(1): 237-244.
- [89] KELLY G J, LATZKO E. Inhibition of spinach-leaf phosphofructokinase by 2-phosphoglycollate[J]. *FEBS Letters*, 1976, 68(1): 55-58.
- [90] ENGQVIST M K M, SCHMITZ J, GERTZMANN A, et al. GLYCOLATE OXIDASE3, a glycolate oxidase homolog of yeast l-lactate cytochrome c oxidoreductase, supports l-lactate oxidation in roots of *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(2): 1042-1061.
- [91] CAMPBELL W J, OGREN W L. Glyoxylate inhibition of ribulosebisphosphate carboxylase/oxygenase activation in intact, lysed, and reconstituted chloroplasts[J]. *Photosynthesis Research*, 1990, 23(3): 257-268.
- [92] COOK C M, MULLIGAN R M, TOLBERT N E. Inhibition and stimulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase by glyoxylate[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1985, 240(1): 392-401.
- [93] CHASTAIN C J, OGREN W L. Photorespiration-induced reduction of ribulose bisphosphate carboxylase activation level[J]. *Plant Physiology*, 1985, 77(4): 851-856.
- [94] WALKER B J, VANLOOCKE A, BERNACCHI C J, et al. The costs of photorespiration to food production now and in the future[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2016, 67: 107-129.
- [95] RAINES C A. Transgenic approaches to manipulate the environmental responses of the C₃ carbon fixation cycle[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2006, 29(3): 331-339.
- [96] PETERHANSEL C, BLUME C, OFFERMANN S. Photorespiratory bypasses: how can they work? [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 64(3): 709-715.
- [97] MAURINO V G, WEBER A P M. Engineering photosynthesis in plants and synthetic microorganisms[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 64(3): 743-751.
- [98] SOMERVILLE C R, OGREN W L. A phosphoglycollate phosphatase-deficient mutant of *Arabidopsis*[J]. *Nature*, 1979, 280(5725): 833-836.
- [99] HALL N P, KENDALL A C, LEA P J, et al. Characteristics of a photorespiratory mutant of barley (*Hordeum vulgare* L.) deficient in phosphoglycollate phosphatase[J]. *Photosynthesis Research*, 1987, 11(1): 89-96.
- [100] MURRAY A J S, BLACKWELL R D, LEA P J. Metabolism of

- hydroxypyruvate in a mutant of barley lacking NADH-dependent hydroxypyruvate reductase, an important photorespiratory enzyme activity[J]. *Plant Physiology*, 1989, 91(1): 395-400.
- [101] BOLDT R, EDNER C, KOLUKISA OGLU U, et al. D-GLYCOLATE 3-KINASE, the last unknown enzyme in the photorespiratory cycle in *Arabidopsis*, belongs to a novel kinase family[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(8): 2413-2420.
- [102] SCHWARTE S, BAUWE H. Identification of the photorespiratory 2-phosphoglycolate phosphatase, PGLP1, in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144(3): 1580-1586.
- [103] TIMM S, NUNES-NEZI A, PÄRNIK T, et al. A cytosolic pathway for the conversion of hydroxypyruvate to glycerate during photorespiration in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(10): 2848-2859.
- [104] TIMM S, FLORIAN A, ARRIVAUULT S, et al. Glycine decarboxylase controls photosynthesis and plant growth[J]. *FEBS Letters*, 2012, 586(20): 3692-3697.
- [105] PICK T R, BRÄUTIGAM A, SCHULZ M A, et al. PLGG1, a plastidic glycolate glycerate transporter, is required for photorespiration and defines a unique class of metabolite transporters[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(8): 3185-3190.
- [106] SOUTH P F, WALKER B J, CAVANAGH A P, et al. Bile acid sodium symporter BASS₆ can transport glycolate and is involved in photorespiratory metabolism in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(4): 808-823.
- [107] ALIYEV J A. Photosynthesis, photorespiration and productivity of wheat and soybean genotypes[J]. *Physiologia Plantarum*, 2012, 145(3): 369-383.
- [108] ZELITCH I, DAY P R. The effect on net photosynthesis of pedigree selection for low and high rates of photorespiration in tobacco[J]. *Plant Physiology*, 1973, 52(1): 33-37.
- [109] ZELITCH I. Selection and characterization of tobacco plants with novel O₂-resistant photosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 1989, 90(4): 1457-1464.
- [110] ZELITCH I. Control of plant productivity by regulation of photorespiration[J]. *BioScience*, 1992, 42(7): 510-516.
- [111] SAGE T L, SAGE R F. The functional anatomy of rice leaves: implications for refixation of photorespiratory CO₂ and efforts to engineer C₄ photosynthesis into rice[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2009, 50(4): 756-772.
- [112] BUSCH F A, SAGE T L, COUSINS A B, et al. C3 plants enhance rates of photosynthesis by reassimilating photorespired and respired CO₂[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2013, 36(1): 200-212.
- [113] TIMM S, WITTMIB M, GAMLIEN S, et al. Mitochondrial dihydrolipoyl dehydrogenase activity shapes photosynthesis and photorespiration of *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(7): 1968-1984.
- [114] SIMKIN A J, LOPEZ-CALCAGNO P E, DAVEY P A, et al. Simultaneous stimulation of sedoheptulose 1, 7-bisphosphatase, fructose 1,6-bisphosphate aldolase and the photorespiratory glycine decarboxylase-H protein increases CO₂ assimilation, vegetative biomass and seed yield in *Arabidopsis*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(7): 805-816.
- [115] LÓPEZ-CALCAGNO P E, FISK S, BROWN K L, et al. Over-expressing the H-protein of the glycine cleavage system increases biomass yield in glasshouse and field-grown transgenic tobacco plants[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(1): 141-151.
- [116] TIMM S, FLORIAN A, FERNIE A R, et al. The regulatory interplay between photorespiration and photosynthesis[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(10): 2923-2929.
- [117] BAUWE H, HAGEMANN M, FERNIE A R. Photorespiration: players, partners and origin[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(6): 330-336.
- [118] SHEN B R, WANG L M, LIN X L, et al. Engineering a new chloroplastic photorespiratory bypass to increase photosynthetic efficiency and productivity in rice[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(2): 199-214.
- [119] WANG L M, SHEN B R, LI B D, et al. A synthetic photorespiratory shortcut enhances photosynthesis to boost biomass and grain yield in rice[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(12): 1802-1815.
- [120] SOUTH P F, CAVANAGH A P, LIU H W, et al. Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field[J]. *Science*, 2019, 363(6422): eaat9077.
- [121] KEBEISH R, NIESSEN M, THIRUVEEDHI K, et al. Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(5): 593-599.
- [122] NÖLKE G, HOUDELET M, KREUZALER F, et al. The expression of a recombinant glycolate dehydrogenase polyprotein in potato (*Solanum tuberosum*) plastids strongly enhances photosynthesis and tuber yield[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2014, 12(6): 734-742.
- [123] DALAL J, LOPEZ H, VASANI N B, et al. A photorespiratory bypass increases plant growth and seed yield in biofuel crop *Camelina sativa*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, 8: 175.
- [124] DE F C CARVALHO J, MADGWICK P J, POWERS S J, et al. An engineered pathway for glyoxylate metabolism in tobacco plants aimed to avoid the release of ammonia in photorespiration[J]. *BMC Biotechnology*, 2011, 11: 111.
- [125] MAIER A, FAHNENSTICH H, VON CAEMMERER S, et al. Transgenic introduction of a glycolate oxidative cycle into *A. thaliana* chloroplasts leads to growth improvement[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2012, 3: 38.
- [126] XIN C P, THOLEN D, DEVLOO V, et al. The benefits of photorespiratory bypasses: how can they work? [J]. *Plant Physiology*, 2014, 167(2): 574-585.
- [127] PETERHANSEL C, KRAUSE K, BRAUN H P, et al. Engineering photorespiration: current state and future possibilities[J].

- Plant Biology (Stuttgart, Germany), 2013, 15(4): 754-758.
- [128] ABOELMY M H, PETERHANSEL C. Enzymatic characterization of *Chlamydomonas reinhardtii* glycolate dehydrogenase and its nearest proteobacterial homologue[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 79: 25-30.
- [129] SCHMITZ J, SRIKANTH N V, HÜDIG M, et al. The ancestors of diatoms evolved a unique mitochondrial dehydrogenase to oxidize photorespiratory glycolate[J]. Photosynthesis Research, 2017, 132(2): 183-196.
- [130] TRUDEAU D L, EDLICH-MUTH C, ZARZYCKI J, et al. Design and *in vitro* realization of carbon-conserving photorespiration[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(49): E11455-E11464.
- [131] SCHEFFEN M, MARCHAL D G, BENEYTON T, et al. A new-to-nature carboxylation module to improve natural and synthetic CO₂ fixation[J]. Nature Catalysis, 2021, 4(2): 105-115.
- [132] BAR-EVEN A. Daring metabolic designs for enhanced plant carbon fixation[J]. Plant Science, 2018, 273: 71-83.
- [133] ENGLER C, GRUETZNER R, KANDZIA R, et al. Golden gate shuffling: a one-pot DNA shuffling method based on type II restriction enzymes[J]. PLoS One, 2009, 4(5): e5553.
- [134] GIBSON D G, YOUNG L, CHUANG R Y, et al. Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases[J]. Nature Methods, 2009, 6(5): 343-345.
- [135] SOMERVILLE C R, OGREN W L. Mutants of the cruciferous plant *Arabidopsis thaliana* lacking glycine decarboxylase activity[J]. The Biochemical Journal, 1982, 202(2): 373-380.
- [136] RACHMILEVITCH S, COUSINS A B, BLOOM A J. Nitrate assimilation in plant shoots depends on photorespiration[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(31): 11506-11510.
- [137] TIMM S, MIELEWCZIK M, FLORIAN A, et al. High-to-low CO₂ acclimation reveals plasticity of the photorespiratory pathway and indicates regulatory links to cellular metabolism of *Arabidopsis*[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e42809.
- [138] FLÜGEL F, TIMM S, ARRIVAVULT S, et al. The photorespiratory metabolite 2-phosphoglycolate regulates photosynthesis and starch accumulation in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2017, 29(10): 2537-2551.
- [139] FERNIE A R, BAUWE H, EISENHUT M, et al. Perspectives on plant photorespiratory metabolism[J]. Plant Biology, 2013, 15(4): 748-753.
- [140] TIMM S, BAUWE H. The variety of photorespiratory phenotypes—employing the current status for future research directions on photorespiration[J]. Plant Biology, 2013, 15(4): 737-747.
- [141] BUSCH F A, SAGE R F, FARQUHAR G D. Plants increase CO₂ uptake by assimilating nitrogen *via* the photorespiratory pathway[J]. Nature Plants, 2018, 4(1): 46-54.
- [142] HAGEMANN M, KERN R, MAURINO V G, et al. Evolution of photorespiration from cyanobacteria to land plants, considering protein phylogenies and acquisition of carbon concentrating mechanisms[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(10): 2963-2976.
- [143] WHEELER R M, MACKOWIAK C L, SAGER J C, et al. Proximate composition of CELSS crops grown in NASA's biomass production chamber[J]. Advances in Space Research, 1996, 18(4/5): 43-47.
- [144] LONG S P, ZHU X G, NAIDU S L, et al. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? [J]. Plant, Cell & Environment, 2006, 29(3): 315-330.
- [145] MCGRATH J M, LONG S P. Can the cyanobacterial carbon-concentrating mechanism increase photosynthesis in crop species? A theoretical analysis[J]. Plant Physiology, 2014, 164(4): 2247-2261.
- [146] NÖLKE G, BARSOUM M, HOUDELET M, et al. The integration of algal carbon concentration mechanism components into tobacco chloroplasts increases photosynthetic efficiency and biomass[J]. Biotechnology Journal, 2019, 14(3): e1800170.
- [147] TCHERKEZ G, GAUTHIER P, BUCKLEY T N, et al. Leaf day respiration: low CO₂ flux but high significance for metabolism and carbon balance[J]. The New Phytologist, 2017, 216(4): 986-1001.
- [148] FEILER H S, NEWTON K J. Altered mitochondrial gene expression in the nonchromosomal stripe 2 mutant of maize[J]. The EMBO Journal, 1987, 6(6): 1535-1539.
- [149] ROUSSELL D L, THOMPSON D L, PALLARDY S G, et al. Chloroplast structure and function is altered in the NCS₂ maize mitochondrial mutant[J]. Plant Physiology, 1991, 96(1): 232-238.
- [150] BARTOLI C G, PASTORI G M, FOYER C H. Ascorbate biosynthesis in mitochondria is linked to the electron transport chain between complexes III and IV [J]. Plant Physiology, 2000, 123(1): 335-344.
- [151] SARADADEVI K, RAGHAVENDRA A S. Dark respiration protects photosynthesis against photoinhibition in mesophyll protoplasts of pea (*Pisum sativum*)[J]. Plant Physiology, 1992, 99(3): 1232-1237.
- [152] HANNING I, HELDT H W. On the function of mitochondrial metabolism during photosynthesis in spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves (partitioning between respiration and export of redox equivalents and precursors for nitrate assimilation products)[J]. Plant Physiology, 1993, 103(4): 1147-1154.
- [153] SMITH C A, MELINO V J, SWEETMAN C, et al. Manipulation of alternative oxidase can influence salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Physiologia Plantarum, 2009, 137(4): 459-472.
- [154] ATKIN O K, MACHEREL D. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance[J]. Annals of Botany, 2008, 103(4): 581-597.
- [155] LEE B H, LEE H, XIONG L M, et al. A mitochondrial complex I defect impairs cold-regulated nuclear gene expression[J]. The Plant Cell, 2002, 14(6): 1235-1251.
- [156] DUTILLEUL C, GARMIER M, NOCTOR G, et al. Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis, set antioxi-

- dant capacity, and determine stress resistance through altered signaling and diurnal regulation[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(5): 1212-1226.
- [157] LEAKEY A D B, XU F X, GILLESPIE K M, et al. Genomic basis for stimulated respiration by plants growing under elevated carbon dioxide[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(9): 3597-3602.
- [158] CONSIDINE M J, HOLTZAPFFEL R C, DAY D A, et al. Molecular distinction between alternative oxidase from monocots and dicots[J]. *Plant Physiology*, 2002, 129(3): 949-953.
- [159] NOCTOR G, FOYER C H. Homeostasis of adenylate status during photosynthesis in a fluctuating environment[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(suppl_1): 347-356.
- [160] KRAMER D M, EVANS J R. The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity[J]. *Plant Physiology*, 2010, 155(1): 70-78.
- [161] HUANG P, BRUTNELL T P. A synthesis of transcriptomic surveys to dissect the genetic basis of C_4 photosynthesis[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2016, 31: 91-99.
- [162] GIRAUD E, HO L H M, CLIFTON R, et al. The absence of ALTERNATIVE OXIDASE1a in *Arabidopsis* results in acute sensitivity to combined light and drought stress[J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(2): 595-610.
- [163] CVETKOVSKA M, VANLERBERGHE G C. Alternative oxidase modulates leaf mitochondrial concentrations of superoxide and nitric oxide[J]. *The New Phytologist*, 2012, 195(1): 32-39.
- [164] IGAMBERDIEV A U, BYKOVA N V, SHAH J K, et al. Anoxic nitric oxide cycling in plants: participating reactions and possible mechanisms[J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 138(4): 393-404.
- [165] AMIRSADEGHI S, ROBSON C A, MCDONALD A E, et al. Changes in plant mitochondrial electron transport alter cellular levels of reactive oxygen species and susceptibility to cell death signaling molecules[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2006, 47(11): 1509-1519.
- [166] PASQUALINI S, PAOLOCCI F, BORGOGNI A, et al. The overexpression of an alternative oxidase gene triggers ozone sensitivity in tobacco plants[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2007, 30(12): 1545-1556.
- [167] WATANABE C K, HACHIYA T, TERASHIMA I, et al. The lack of alternative oxidase at low temperature leads to a disruption of the balance in carbon and nitrogen metabolism, and to an up-regulation of antioxidant defence systems in *Arabidopsis thaliana* leaves[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2008, 31(8): 1190-1202.
- [168] WANG J, RAJAKULENDRAN N, AMIRSADEGHI S, et al. Impact of mitochondrial alternative oxidase expression on the response of *Nicotiana tabacum* to cold temperature[J]. *Physiologia Plantarum*, 2011, 142(4): 339-351.
- [169] VISHWAKARMA A, BASHYAM L, SENTHILKUMARAN B, et al. Physiological role of AOX1a in photosynthesis and maintenance of cellular redox homeostasis under high light in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 81: 44-53.
- [170] DAHAL K, VANLERBERGHE G C. Alternative oxidase respiration maintains both mitochondrial and chloroplast function during drought[J]. *The New Phytologist*, 2017, 213(2): 560-571.
- [171] HUANG S B, VAN AKEN O, SCHWARZLÄNDER M, et al. The roles of mitochondrial reactive oxygen species in cellular signaling and stress response in plants[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(3): 1551-1559.
- [172] NG S, DE CLERCQ I, VAN AKEN O, et al. Anterograde and retrograde regulation of nuclear genes encoding mitochondrial proteins during growth, development, and stress[J]. *Molecular Plant*, 2014, 7(7): 1075-1093.
- [173] CVETKOVSKA M, VANLERBERGHE G C. Alternative oxidase impacts the plant response to biotic stress by influencing the mitochondrial generation of reactive oxygen species[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2013, 36(3): 721-732.
- [174] FIORANI F, UMBACH A L, SIEDOW J N. The alternative oxidase of plant mitochondria is involved in the acclimation of shoot growth at low temperature. A study of *Arabidopsis* AOX1a transgenic plants[J]. *Plant Physiology*, 2005, 139(4): 1795-1805.
- [175] Murakami Y, Toriyama K. Enhanced high temperature tolerance in transgenic rice seedlings with elevated levels of alternative oxidase, *osaox1a*[J]. *Plant Biotechnology*, 2008, 25:361-364. MURAKAMI Y, TORIYAMA K. Enhanced high temperature tolerance in transgenic rice seedlings with elevated levels of alternative oxidase, *OsAOX1a*[J]. *Plant Biotechnology*, 2008, 25(4): 361-364.
- [176] Yoshida K, Watanabe C K, Terashima I, et al. Physiological impact of mitochondrial alternative oxidase on photosynthesis and growth in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2011, 34:1890-9. YOSHIDA K, WATANABE C K, TERASHIMA I, et al. Physiological impact of mitochondrial alternative oxidase on photosynthesis and growth in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2011, 34(11): 1890-1899.
- [177] LI C R, LIANG D D, XU R F, et al. Overexpression of an alternative oxidase gene, *OsAOX1a*, improves cold tolerance in *Oryza sativa* L[J]. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2013, 12(4): 5424-5432.
- [178] DAHAL K, VANLERBERGHE G C. Improved chloroplast energy balance during water deficit enhances plant growth: more crop per drop[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 69(5): 1183-1197.
- [179] YANG H L, DENG L B, LIU H F, et al. Overexpression of *BnaAOX1b* confers tolerance to osmotic and salt stress in rapeseed[J]. *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 2019, 9(10): 3501-3511.
- [180] MATHY G, CARDOL P, DINANT M, et al. Proteomic and

- functional characterization of a *Chlamydomonas reinhardtii* mutant lacking the mitochondrial alternative oxidase 1[J]. *Journal of Proteome Research*, 2010, 9(6): 2825-2838.
- [181] SKIRYCYZ A, DE BODT S, OBATA T, et al. Developmental stage specificity and the role of mitochondrial metabolism in the response of *Arabidopsis* leaves to prolonged mild osmotic stress[J]. *Plant Physiology*, 2009, 152(1): 226-244.
- [182] SWEETMAN C, WATERMAN C D, RAINBIRD B M, et al. AtNDB2 is the main external NADH dehydrogenase in mitochondria and is important for tolerance to environmental stress[J]. *Plant Physiology*, 2019, 181(2): 774-788.
- [183] PHAM H M, KEBEDE H, RITCHIE G, et al. Alternative oxidase (AOX) over-expression improves cell expansion and elongation in cotton seedling exposed to cool temperatures[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131(11): 2287-2298.
- [184] WANG J, VANLERBERGHE G C. A lack of mitochondrial alternative oxidase compromises capacity to recover from severe drought stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 149(4): 461-473.
- [185] FENG H Q, GUAN D D, SUN K, et al. Expression and signal regulation of the alternative oxidase genes under abiotic stresses[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2013, 45(12): 985-994.
- [186] VANLERBERGHE G C. Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(4): 6805-6847.
- [187] DEL-SAZ N F, RIBAS-CARBO M, MCDONALD A E, et al. An *in vivo* perspective of the role(s) of the alternative oxidase pathway[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(3): 206-219.
- [188] LOUGHLIN P, LIN Y K, CHEN M. Chlorophyll *d* and *Acaryochloris marina*: current status[J]. *Photosynthesis Research*, 2013, 116(2/3): 277-293.
- [189] HO M Y, SHEN G Z, CANNIFFE D P, et al. Light-dependent chlorophyll *f* synthase is a highly divergent paralog of PsbA of photosystem II[J]. *Science*, 2016, 353(6302): aaf9178.
- [190] ENGLER C, YOULES M, GRUETZNER R, et al. A golden gate modular cloning toolbox for plants[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2014, 3(11): 839-843.
- [191] LIU W S, STEWART C N JR. Plant synthetic biology[J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(5): 309-317.
- [192] PATRON N J, ORZAEZ D, MARILLONNET S, et al. Standards for plant synthetic biology: a common syntax for exchange of DNA parts[J]. *The New Phytologist*, 2015, 208(1): 13-19.
- [193] FUENTES P, ZHOU F, ERBAN A, et al. A new synthetic biology approach allows transfer of an entire metabolic pathway from a medicinal plant to a biomass crop[J]. *eLife*, 2016, 5: e13664.
- [194] SHIH P M, VUU K, MANSOORI N, et al. A robust gene-stacking method utilizing yeast assembly for plant synthetic biology[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13215.
- [195] MATZKE M A, MATZKE A J M. Homology-dependent gene silencing in transgenic plants: what does it really tell us? [J]. *Trends in Genetics*, 1995, 11(1): 1-3.
- [196] MEYER P, SAEDLER H. Homology-dependent gene silencing in plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, 47:23-48.
- [197] MATZKE M A, AUFSATZ W, KANNO T, et al. Homology-dependent gene silencing and host defense in plants[J]. *Advances in Genetics*, 2002, 46: 235-275.



通讯作者：赵磊(1985—)，男，博士，研究员。研究方向为植物合成生物学与代谢工程等。

E-mail: zhaol@tib.cas.cn



第一作者：史梦琳(1991—)，女，博士后。研究方向为植物固碳途径解析与改造等。

E-mail: shiml@tib.cas.cn