

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2022-019

光合作用碳同化的合成生物学研究进展

盛阳阳, 徐秀美, 张巧红, 张立新

(河南大学生命科学学院, 省部共建作物逆境适应与改良国家重点实验室, 河南 开封 475004)

摘要: 随着人口增多及耕地面积的减少, 人类对粮食的需求日益增加, 因此保障足够的粮食供给尤为重要。光合作用通过光反应和碳同化把无机物转换成有机物, 是地球上最重要的化学反应。90%以上的植物干物质来源于光合作用固碳反应, 光合作用同化的有机物是作物产量形成的物质基础, 因此提高作物光能利用效率是提高作物产量的重要途径。近年来, 合成生物学在能源、材料、健康和环境等多领域的快速发展, 为提高植物光合效率提供了新的机遇。本文着重讨论了合成生物学在提高光合作用碳同化效率方面的研究进展, 主要集中在提高Rubisco酶的羧化活性、引入CO₂浓缩机制、降低光呼吸等方面; 最后, 对新型光合固碳回路进行探讨, 通过合成生物学对光合作用碳同化模块进行设计、改造、优化和重组, 必将有效提高碳同化效率, 最终提高作物产量。

关键词: 光合作用; 光合作用效率; 合成生物学; 碳同化

中图分类号: Q81 **文献标志码:** A

Advances in synthetic biology for photosynthetic carbon assimilation

SHENG Yangyang, XU Xiumei, ZHANG Qiaohong, ZHANG Lixin

(State Key Laboratory of Crop Stress Adaptation and Improvement, School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, Henan, China)

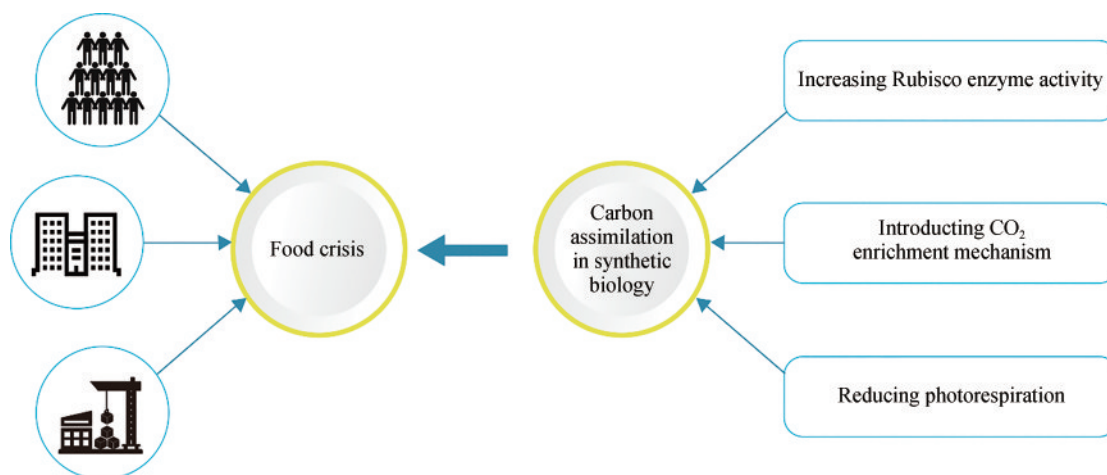
Abstract: With the increase of population and the decrease of cultivated land, human demand for food is increasing. Therefore, it is particularly important to ensure adequate food supply. Photosynthesis is the most important chemical reaction on the earth, which converts inorganic matter into organic matter through light reaction and carbon assimilation. More than 90% of plant dry matter comes from the carbon fixation reaction of photosynthesis. The assimilated organic matter of photosynthesis is the material basis for the formation of crop yield. Therefore, improving the efficiency of crop light energy utilization is an important way to improve crop yield. In recent years, the rapid development of synthetic biology in the fields of energy, materials, health and environment has provided new opportunities for improving plant photosynthetic efficiency. This paper highlights the research progress of synthetic biology in improving the carbon assimilation efficiency of photosynthesis, mainly focusing on: (1) Improving the carboxylation activity of Rubisco enzymes, including identifying Rubisco enzymes with high carboxylation activity, optimizing gene expression regulatory sequences on Rubisco, and co-expressing Rubisco chaperone proteins;

收稿日期: 2022-04-02 修回日期: 2022-06-29

引用本文: 盛阳阳, 徐秀美, 张巧红, 张立新. 光合作用碳同化的合成生物学研究进展[J]. 合成生物学, 2022, 3(5): 870-883

Citation: SHENG Yangyang, XU Xiumei, ZHANG Qiaohong, ZHANG Lixin. Advances in synthetic biology for photosynthetic carbon assimilation[J]. Synthetic Biology Journal, 2022, 3(5): 870-883

(2) Introducing CO₂ concentrating mechanisms, including C₄ photosynthetic enzymes, cyanobacterial transporter proteins, and cyanobacterial carboxysomes; (3) Reducing photorespiration through the introduction of four photorespiratory branches: chloroplast glycerate bypass, peroxisomal glycerate bypass, chloroplast glycolate oxidation bypass, and 3-hydroxypropionate bypass, and the exploration of new branches of photorespiration; Finally, the new photosynthetic carbon fixation circuit is discussed. The design, transformation, optimization and reorganization of photosynthetic carbon assimilation module through synthetic biology will effectively improve the efficiency of carbon assimilation and ultimately improve crop yield.



Keywords: photosynthesis; photosynthetic efficiency; synthetic biology; carbon assimilation

据联合国粮农组织预测，到2050年，世界人口将激增34%，达到91亿，粮食需求将增长50%~70%^[1-2]。由于全球人口数量增多，而可利用耕地面积日益减少，粮食单产必须大幅提升才能满足人类基本需求。气候变化、土地盐化等对农业的影响使问题更加复杂。提高作物产量潜力的策略已经开始在光合作用中研究，以推动一场新的绿色革命^[3-5]。光合作用是作物产量形成的物质基础，90%以上的植物干物质来源于光合作用碳同化，因此，寻找新的技术策略提高作物碳同化效率是增加粮食单产以应对粮食危机的重要手段。

通过理论计算，植物将光能转化为有机物的效率仅约1%左右，光合作用效率还有很大的提升空间^[6-7]。如何提高植物的光能利用率，制造更多的光合产物，是植物生产中的根本性问题。光合作用一般分为两个阶段：第1个阶段称为光反应，将光能转化成同化力（NADPH和ATP）并产生O₂，在类囊体膜上进行；第2个阶段称为碳同化，利用光反应产生的同化力将CO₂转换为糖类，在叶

绿体基质中进行。光合作用可大致分为3个部分：①光能的吸收传递与转换；②电子传递和光合磷酸化；③碳同化过程。光是驱动光合作用的能量来源，光能的吸收、利用和转化直接影响着光合效率和光能利用率。而光能的高效利用不但可以为植物的碳同化提供还原力，还可以进一步促进光能的高效吸收^[8-9]。

合成生物学是21世纪初新兴的由分子生物学、基因组学、信息技术和工程学等融合的交叉学科。它按照人类需求对生物体进行人工设计、改造乃至重新合成非自然功能的生物系统^[10-12]，来解决能源^[13-14]、材料^[15-16]、健康^[17-18]和环境^[19-20]等问题。合成生物学从最初的微生物系统开始，现在已经发展到包括植物系统在内的真核生物中^[21-25]。合成生物学在人工构建新的CO₂同化通路中显示出巨大的潜能，在提高Rubisco酶的羧化活性、引进CO₂浓缩机制、减少碳损耗和降低光呼吸等方面已取得重要研究进展（图1）。本文将对相关研究进行汇总并讨论其在未来农业领域的发展前景。

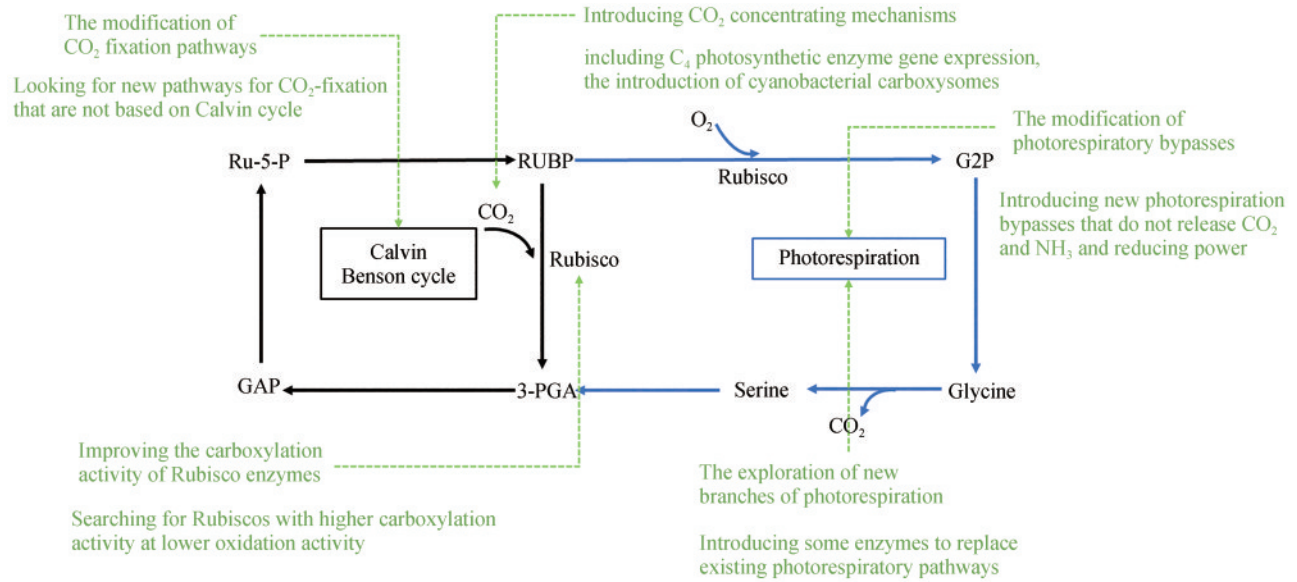


图1 提高光合作用碳同化效率总思路

Ru-5-P—5-磷酸核酮糖; RUBP—1,5-二磷酸核酮糖; G2P—2-磷酸甘油酸; 3-PGA—3-磷酸甘油酸; GAP—丙糖磷酸

Fig. 1 Overview of improving carbon assimilation efficiency of photosynthesis

Ru-5-P—Ribulose 5-phosphate; RUBP—Ribulose 1,5-bisphosphate; G2P—2-phosphoglyceric acid;
3-PGA—3-磷酸甘油酸; GAP—Triose phosphate

1 提高Rubisco 酶的羧化活性

Rubisco (1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶) 是光合作用碳同化的关键酶, 催化 CO_2 同化和光呼吸碳氧化的第1步反应, 在藻类、植物以及部分光合作用细菌中非常保守。Rubisco的羧化效率非常低, 是光合作用碳同化反应的限速酶^[26-28], 因此提高Rubisco酶的羧化活性是提高碳同化效率的重要途径之一。

几十年以来, 研究人员为提高Rubisco催化效率一直不断探索(表1)。科研人员试图在烟草中转化蓝藻Rubisco大亚基*rbcL*基因, 结果发现转基因烟草体内能够检测到蓝藻*rbcL*基因的转录本, 但没有检测到蓝藻*rbcL*蛋白^[38]。由于蓝藻中的*rbcL*基因在烟草中的表达情况不理想, 科学家尝

试将红藻Rubisco大亚基的*rbcL*基因转到烟草中, 转基因烟草与野生烟草相比生长缓慢, 在子叶出芽后36 d, 其长势矮小, 地上部干物质减少。且转基因烟草的可溶性叶蛋白含量较低, 尤其是烟草Rubisco含量较低, 最终导致叶片 CO_2 同化力和植物生长量的降低^[29]。Lin等^[30]敲除编码Rubisco大亚基的天然烟草基因, 通过进一步研究获得了具有功能性蓝藻Rubisco的转基因烟草植株, 该植株具有光合作用能力, 支持自养生长, 在较高的 CO_2 浓度下表现出较好的羧化酶活性。野生型烟草中Rubisco的羧化酶活性没有随着 CO_2 浓度的增加而增加, 这证实了烟草Rubisco酶在 $125 \mu\text{mol/L}$ CO_2 浓度时已经饱和, 且在 $125 \mu\text{mol/L}$ 、 $250 \mu\text{mol/L}$ 和 $640 \mu\text{mol/L}$ 的 CO_2 浓度下, 转基因烟草植株中的Rubisco酶相比野生型均具有更强的羧化酶活性和

表1 Rubisco酶活性的合成生物学研究汇总

Tab. 1 Summary of Rubisco enzyme activity by synthetic biological research

提高Rubisco酶的羧化活性	研究策略	参考文献
寻找其他物种中高活性的Rubisco酶	高羧化酶活性	[29-31]
	高亲和力	[32]
筛选Rubisco酶高活性品种	高羧化酶活性	[33]
人工合成肽	无明显作用	[34]
引进Rubisco生物合成依赖的辅助因子	折叠伴侣蛋白、组装伴侣蛋白及活化酶	[35-37]

更高的CO₂同化率，这为通过寻找其他物种中高羧化活性的Rubisco酶，然后通过基因工程的改造，提高粮食作物中的碳同化效率提供了基础。研究发现红藻 *Griffithsia monilis* 和苋菜 *Amaranthus edulis* 中的Rubisco酶的CO₂特异性/活性比分别是C₃作物的2倍和1.5倍，用红藻和苋菜的Rubisco酶代替现有的C₃作物Rubisco可以分别增加超过25%和17%的碳同化^[31]。此外，Prins等^[33]在25个野生小麦中筛选得到Rubisco酶活性高的优良品种，通过计算得出优良品种中Rubisco酶的碳同化效率比普通小麦增加20%。

Whitney等把深红螺菌 *Rhodospirillum rubrum* 的Rubisco基因转化到烟草中，获得的转基因植株可以存活和繁殖，但是需要高浓度的CO₂。这与细菌Rubisco的动力学特征相一致，即红螺菌Rubisco酶的底物特异系数 (V_oK_o/V_oK_c) 相对于其他物种是比较低的 (V_o 和 V_o 分别为Rubisco酶羧基化和氧化反应的最大速率， K_c 和 K_o 为CO₂和O₂的米氏常数)^[39]。将烟草质体中的Rubisco大亚基替换为人工合成的编码融合肽，即用1条40个氨基酸的柔性链连接烟草Rubisco的大、小亚基。虽然Rubisco的CO₂/O₂专一性或羧化率几乎没有变化，但这种融合策略为烟草质体中同时开始Rubisco的大、小亚基的转化提供了新的思路^[34]。通过对Rubisco酶的工程改造以提高农作物的碳同化效率一直是我们的目标，然而仅仅改进Rubisco是否真的提高田间农作物的碳同化效率还有待证明。

Ishikawa等在水稻中引入高粱Rubisco小亚基，与野生型水稻相比，转基因植株的Rubisco的含量及催化活性均提高，但转基因水稻的光合速率并没有增加，这表明催化活性和Rubisco含量的增加都可能导致酶的光合活性的过剩^[40]。最近的研究中他们进一步利用CRISPR/Cas9基因编辑技术，在之前发表的高粱Rubisco小亚基转基因水稻中进一步敲除了水稻除 *OsRbcSI* 以外的其他4个基因——*OsRbcS2~5*，获得Rubisco沉默水稻株系。结果表明植株中Rubisco含量相较野生型有所下降，而催化速率和CO₂的亲合力则明显上升。虽然过表达高粱Rubisco基因的水稻中Rubisco积累水平较低，但是在高浓度CO₂条件下，相较野生型展现更高的CO₂同化效率，表明高粱Rubisco酶具有更高的羧

化酶活性^[32]。最新研究构建一个RNAi-*RbcS*烟草 (*tobRrΔS*) 体系，通过叶绿体转化 *rbcL-rbcS* 操纵子并加以改造后，其羧化率提高了13%~17%。此研究为在整个植物中引入新的Rubisco复合物提供了一个有效的生物工程改造策略^[41]。

Rubisco的生物合成依赖于辅助因子，包括用于折叠的ES型伴侣蛋白、用于组装的伴侣蛋白RbcX及活化酶(RCA)的调节^[35-36, 42]。RCA是一种核基因编码的可溶性叶绿体蛋白，具有ATPase活性，属于AAA家族成员^[43-44]，普遍存在于高等植物、绿藻和部分光合细菌中^[45]。球形红细菌 *Rhodobacter sphaeroides* 的IC型red Rubisco是一种能够在植物叶绿体中组装的红型Rubisco^[46-49]。共表达Rubisco及其同源活化酶可以提升Rubisco的活性，使植物的光合作用速率和生长提高1倍。更重要的是，球形红细菌Rubisco在未来植物叶绿体中进行优化提供了一个很好的蛋白质支架，这对改善作物光合作用的研究具有重要意义^[50]。最新的研究表明，在水稻中共表达水稻Rubisco酶和玉米Rubisco活化酶，可以减轻持续高温对水稻的危害^[37]。

此外，研究人员在玉米中同时过表达Rubisco大、小亚基及其装配伴侣 *RAFI*。虽然大亚基和小亚基的过表达对Rubisco含量没有明显影响，但Rubisco大、小亚基和 *RAFI* 共表达后，Rubisco的含量增加30%以上，转基因植物中CO₂同化力增加15%^[51]。通过在烟草中表达拟南芥Rubisco大亚基基因及拟南芥装配伴侣 *AtRAFI* 基因，发现转基因烟草本身和同源的Rubisco装配伴侣 *AtRAF1* 已经与拟南芥Rubisco大亚基进行了平行的功能共同进化。*AtRAF1* 形成一个稳定的二聚体，当与其同源拟南芥Rubisco大亚基共同表达时，增强了烟草叶绿体中的杂交组装，并同时改善了叶片的光合作用^[52]。

Flecken等^[53]对蓝藻RCA进行了结构和机制的分析表明，在RCA-Rubisco复合物中，RCA位于复合物中Rubisco的催化位点上，并将Rubisco大亚基的N端尾部拉入六聚体孔。同时置换小亚基的C端，打开催化位点，释放抑制剂，进而调控Rubisco酶的羧化活性。Saschenbrecker等^[54]的研

究表明, RbcX形成1个同型二聚体, 有2个协同的RbcL结合区域, 分别特异性结合RbcL亚基暴露的C端多肽, 使RbcX的外周表面介导RbcL八聚体的组装。Xia等^[55]和Huang等^[56]进一步研究表明每个RAF1二聚体捕获一个RbcL二聚体, 其C端尾部插入到Rubisco的催化位点, 并进一步介导RbcL二聚体的组装, 形成Rubisco的八聚体核心。

2 引进CO₂浓缩机制

除了提高Rubisco酶的羧化活性, 提高Rubisco周围CO₂的浓度也可以提高CO₂同化效率。自然界中已知的Rubisco都具有与羧化酶活性竞争的加氧酶活性, 再加上Rubisco酶活性受其大亚基和小亚基的调控、组装等影响, 多种生物进化出了碳浓缩机制(CCM), 以在Rubisco周围浓缩CO₂^[57-58]。这些CCM会增加Rubisco周围CO₂的浓度, 以提高CO₂/O₂比率^[59]。这种机制广泛存在于进行光合作用的有机体中, 如光合微生物、藻类和植物等, 使生物体在低浓度CO₂环境中也有较高的光合速率。

大自然经过长期的进化, 出现了多种不同的CCM。C₄植物和CAM(景天酸代谢途径)植物先将一个C₃载体羧化成C₄双羧酸中间产物, 然后在Rubisco附近(C₄植物)经过催化, 供Rubisco催化的第2次羧化同化。C₄植物的两次羧化是从空间上分开的: ①在叶肉细胞中, 进行HCO₃⁻的固定, 随后草酰乙酸转化为苹果酸, 或谷氨酸在天冬氨酸转氨酶作用下转化为天冬氨酸; ②四碳酸转运到维管束鞘细胞中; ③四碳酸脱羧产生CO₂, 而后CO₂进入卡尔文循环中形成碳水化合物; ④脱羧产生的三碳酸(丙酮酸或丙氨酸)重新回到叶肉细胞中; ⑤三碳酸在丙酮酸磷酸二激酶作用下产生磷酸烯醇式丙酮酸^[60]。而CAM植物的两次羧化则是从时间上分开的: ①在黑夜, CO₂摄取, 此时气孔是张开的, 生成苹果酸储存在液泡中; ②在白天, 液泡中的苹果酸返回到细胞质基质中, 释放CO₂, 进入卡尔文循环形成碳水化合物^[61]。由于C₃植物缺乏CCM, 所以科学家希望在C₃植物中引入CCM, 提高光合效率以提高作物产量^[62], 据预测引入CCM可使植物产量提高60%, 并提高水和氮

的利用效率^[63]。

首次将CCM转化到水稻中的尝试表明, 转入4种C₄光合酶——磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)、磷酸丙酮酸二激酶(PPDK)、NADP-苹果酸脱氢酶(NADP-MDH)和NADP-苹果酸酶(NADP-ME), 对CCM没有任何改善^[64], 这表明仅仅将C₄光合酶转化到不含CCM的作物中并不能形成CCM, 可能是C₃和C₄植物维管束鞘细胞和叶肉细胞发育差异导致的结果。对C₄水稻CCM进行改造的另一种尝试是改变叶片的解剖结构, Wang等^[65]的研究表明, 在水稻中组成型表达玉米*ZmG2*(GOLDEN2)或*ZmGLK1*(GOLDEN1-LIKE)基因后, 水稻幼苗维管束鞘细胞中的叶绿体和线粒体增大, Rubisco、RCA等光合酶水平的提高, 叶肉细胞与维管束鞘细胞之间的胞间连丝密度增加。最近一项研究报道了使用组成型启动子和基因自身启动子驱动玉米*ZmG1*和*ZmG2*基因在水稻中的表达, 发现所有转基因水稻叶片中维管束鞘细胞中叶绿体的数目和体积均增大, 且具有正常的基粒结构和类囊体膜^[66]。这一系列结果表明GLK能够诱导水稻产生类似C₄植物的花环结构, 是C₃植物中CCM改造的一个方向。

有报道称转运蛋白本身可以提高碳同化率, 尽管同化程度有限^[67]。在水稻^[68]和大豆^[69]中通过转化蓝藻*ictB*基因, 可以提高其光合速率和生物量。尽管蓝藻或莱茵衣藻的其他转运蛋白可以在植物细胞内进行正确定位, 但是并不能增加烟草、拟南芥的产量或者促进其生长^[70-72]。因此, 优化转运蛋白的活动仍然是一个挑战, 但在此之前, 我们要考虑的重点是怎样在C₃植物中组装含有Rubisco的区室, 因为Rubisco区室的建立将使Rubisco周围CO₂浓度进一步增加, 为碳同化效率的提升提供结构基础。

蓝藻的CCM都是基于跨膜(一个或几个膜将介质和Rubisco分开)的HCO₃⁻和(或)CO₂的主动运输完成的^[73]。蓝藻的CCM系统主要由无机碳吸收系统和羧酶体组成^[74-76], 共拥有5种不同的CO₂吸收运输系统^[77]: ①细胞质膜上的BCT1, 一种可诱导的对HCO₃⁻具有高亲和力的转运蛋白, 属于运输ATP酶家族; ②细胞质膜上的SbtA, 一种可诱导的对HCO₃⁻具有高亲和力的依赖Na⁺的转运蛋白,

可能是低流速的 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 同向转运蛋白；③细胞质膜上的 BICA，一种低亲和力、高通量、依赖 Na^+ 的 HCO_3^- 的转运蛋白，可能也是低流速的 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 同向转运蛋白；④NDH- I₄，可能存在于质膜上，是一种基于特殊的 NDH- I 复合物的组成型 CO_2 吸收系统；⑤类囊体膜上的 NDH- I₃，是基于修饰的 NDH- I 复合物的第 2 个 CO_2 吸收系统，在无机碳有限条件下被诱导产生，并且比 NDH- I₄ 具有更高的吸收亲和力。在蓝藻中，Rubisco 被封装在羧酶体中^[77-78]，它们进化出了含有羧酶体、Rubisco^[79] 和碳酸酐酶^[80-81] 蛋白质的细胞。在这种 CCM 中，碳酸氢盐通过主动运输转运到碳酸酐酶缺乏的细胞质中，然后进一步运输到装有 Rubisco 的羧酶体中，被碳酸酐酶脱水形成 CO_2 。人们认为，羧酶体为 CO_2 和 O_2 提供了扩散屏障，使 CO_2 进入、 O_2 释放，从而增强羧化并抑制氧化^[82]，此机制使得 CO_2 的同化在专用区室中进行，增加了 Rubisco 周围 CO_2 的浓度，提高了碳同化效率。CMM 具有多种作用：一是改善 CO_2 供应，在环境中 CO_2 或溶解的无机碳减少时提供竞争优势；二是在 N、P、Fe 和 S 等营养供应不足时改善资源使用效率；三是可以作为一种能量耗散方法。因此，碳浓缩机制对 CO_2 、营养和能量等环境均有重要的调节作用。

羧酶体组装涉及至少 6 个基因产物之间的一系列蛋白质与蛋白质之间的相互作用以形成代谢核心，外壳围绕核心组装。这种复杂性给羧酶体转移、调节和组装到异源系统中带来了重大挑战。在蓝藻中构建一种嵌合蛋白，它在结构上和功能上取代了羧酶体形成所需的 4 种基因产物，该蛋白质是根据羧酶体核心中的蛋白质结构域相互作用设计的，由此产生的羧酶体可以进行光合作用^[83]。所以通过蛋白质结构域的融合来简化羧酶体组装过程也是未来一个提高碳同化的途径。此外，CCM 是一个复杂的调控机制，在 C_3 作物中引入 CCM 是否真的对作物有益，还有待进一步的确定（表 2）。转运蛋白和碳酸酐酶的引入^[72, 86] 以及怎样在 C_3 植物中组装含有 Rubisco 的区室可能会为 C_3 作物提高光合作用碳同化效率提供一个好的解决方案。

此外，另一种途径——将羧酶体引入不含

表 2 CO_2 浓缩机制的合成生物学研究汇总

Tab. 2 Summary of CO_2 enrichment mechanisms by synthetic biological research

引进 CO_2 浓缩机制	研究策略	参考文献
GLK 基因的引入	促进产量增加	[65-66]
转运蛋白的引入	条件促进, 可以提高光合速率和碳同化率	[68-69]
蓝藻羧酶体的引入	有待进一步探索研究	[84-85]

CCM 作物的叶绿体中，也在探索中^[84]。在 C_3 作物叶片中引入蓝藻 CCM 的模拟实验表明，在不改变叶片解剖结构的情况下，可以实现近 60% 的叶片净 CO_2 吸收率。羧酶体在大肠杆菌中的异源表达产生与天然宿主相似的二十面体复合物。在体内，复合物能够与羧酶体蛋白组装并同化 CO_2 ，并且纯化后的蛋白能够在体外同化 CO_2 ，证明了羧酶体在外来宿主中进行稳健组装的潜力^[85]。迄今为止，羧酶体的叶绿体表达一直是一个挑战，需要十几种蛋白质的协调表达。将简化的羧酶体成功引入到叶绿体中，为叶绿体中全功能 α -羧酶体的逐步构建提供了基础^[87]。由于每种作物的生长发育的机制的不同，其体内的叶绿体所需的羧酶体的数目也不清楚^[88]。通过在本氏烟草中瞬时表达多种 β -羧酶体蛋白亚基，能够观察到在植物叶绿体中组装成高度有组织的类似于空的区室组件^[84]。再加上蓝藻羧酶体已在烟草中功能性表达的事实^[33, 40]，这些研究都为将来合成出具有完整功能的叶绿体羧酶体提供理论依据。

3 降低光呼吸

光呼吸即植物在光下吸收 O_2 ，释放 CO_2 。光呼吸始于 Rubisco 酶的双功能性：它不仅催化 Rubisco 的羧化，也催化 Rubisco 的氧化。 O_2 和 CO_2 竞争与 Rubisco 反应，并且 Rubisco 氧化与羧化发生在 Rubisco 的同一活化部位。其催化方向取决于环境中 CO_2 和 O_2 的分压。当 CO_2 分压高于 O_2 分压时，Rubisco 与 CO_2 发生羧化反应生成 PGA（3-磷酸甘油酸）；反之，发生氧化反应，生成 PGA 和磷酸乙醇酸，磷酸乙醇酸在磷酸乙醇酸磷酸酶的作用下变成乙醇酸（ C_2 ）进入 C_2 氧化光合碳循环，简称 C_2 循环，即光呼吸^[89-91]。从碳同化的角度看，光呼

吸将光合作用同化的20%~40%的碳转化为CO₂又重新释放到空气中；从能量的角度看，每释放1分子CO₂需要损耗6.8分子ATP和3分子NADPH，还产生NH₃，由此造成的净光合效率损失达20%~50%^[92-95]。现已经提出了4条替代现有路线的光呼吸支路（表3）：叶绿体甘油酸支路^[96]；过氧化物酶体甘油酸支路^[98]；叶绿体乙醇酸氧化支路^[99]和3-羟基丙酸支路^[101]。与生物体内的自然过程相比，在ATP需求、还原电位、碳化学计量或所涉及的细胞数量方面具有优势^[102]。

在叶绿体甘油酸支路中，将大肠杆菌乙醇酸分解代谢途径引入拟南芥叶绿体中，获得了叶绿体乙醇酸直接转化为甘油酸的植物（图2）。转基因植物生物量大大增加，并含有更多的可溶性糖，这反映了光呼吸的减少和光合作用的增强，说明从光呼吸中转移叶绿体乙醇酸可以通过C₃光合作用提高作物的生产力^[96]。在亚麻荠中引入了编码大肠杆菌乙醇酸分解代谢途径的酶基因，转基因植物减少了光呼吸并增加了光合作用，亚麻荠的产量增加了50%~73%^[103]。然而，仅在叶绿体中表达乙醇酸脱氢酶的转基因品系显示出类似的结果，即旁路导致生长增强，生物量增加，如将大肠杆菌中的乙醇酸脱氢酶转入到马铃薯中，转基因马铃薯表现出更强的光合作用和更高的块茎产量^[97]，且葡萄糖、果糖等的含量均显著上升^[104]。在拟南芥中也有相似的结果^[105]。此外，与乙醛酸盐一起孵育可以增加大豆叶肉细胞中的碳同化^[106]。但是，在这些转基因植物的叶绿体中产生的乙醛酸的作用和命运还不是很清楚。

在过氧化物酶体甘油酸支路中，绕过了线粒体中的甘氨酸到丝氨酸的转化，同时将CO₂释放的位置从线粒体装移到过氧化物酶体，避免了NH₃的释放并保存了还原能力（图2）。把大肠杆菌中的

乙醛酸连接酶和羟基丙酮酸异构酶转化到烟草中，转基因烟草虽然理论上回收了75%的乙醇酸，但是只表达一种关键酶时，植物生长发育受阻^[98]。

在叶绿体乙醇酸氧化支路中，2-磷酸乙醇酸转化为乙醇酸，然后直接被氧化成CO₂，使光呼吸途径的碳全部丢失（图2）。在拟南芥叶绿体中引入完整的乙醇酸分解代谢途径：乙醇酸氧化酶、苹果酸合成酶和过氧化氢酶。过氧化氢酶活性强的拟南芥有较高的光合速率^[99-100]。理论模型预测2-磷酸乙醇酸完全氧化时会产生负面影响，生物量积累所必需的碳和氮的损失会降低光合作用和植物生长的效率^[107]。叶绿体乙醇酸氧化支路最终归因于叶绿体中的CCM^[108]，因为此支路把CO₂全部释放到叶绿体中，然后通过CO₂的同化，来改善光合作用^[109]。已在水稻中观察到叶绿体/基质鞘迫使光呼吸的CO₂通过基质离开细胞，然后重新被Rubisco同化^[110-111]。但是在植物中也存在CO₂从线粒体到叶绿体的主动通道^[112]。因此通过改变光呼吸所产生CO₂的重新定位可能不是增加作物碳同化的高效方式。

与上述所有释放CO₂的支路相反，3-羟基丙酸盐支路通过将2-磷酸乙醇酸先转化为乙醛酸，再经过一系列酶转化为丙酮酸，使光呼吸产物直接返回到碳同化途径中，即实现光呼吸期间CO₂的净同化（图2）。在蓝藻（*S. elongatus*）中异源表达绿曲霉（*Chloroflexus aurantiacus*）和聚磷菌（*Accumulibacter phosphatis*）中的7种酶，成功实现了3-羟基丙酸盐旁路，且所有的酶均具有完整的酶活性。但是没有观察到蓝藻有任何表型的变化，可能是因为其已经存在了非常高效的CCM^[99]。

此外，根据蓝藻乙醇酸脱羧途径整合到C₃光合途径的动力学模型得出，与C₃模型相比，蓝藻

表3 光呼吸支路的合成生物学研究汇总

Tab. 3 Summary of photorespiration pathways by synthetic biological research

降低光呼吸	研究策略	参考文献
叶绿体甘油酸支路	叶绿体乙醇酸转化为甘油酸,生物量增加,无NH ₃ 的释放	[96-97]
过氧化物酶体甘油酸支路	绕过了线粒体中的甘氨酸到丝氨酸的转化,同时将CO ₂ 释放的位置从线粒体转移到过氧化物酶体,无NH ₃ 的释放	[98]
叶绿体乙醇酸氧化支路	光呼吸途径的碳全部丢失,无NH ₃ 的释放	[99-100]
3-羟基丙酸盐支路	实现光呼吸期间CO ₂ 的净同化,无NH ₃ 的释放	[101]

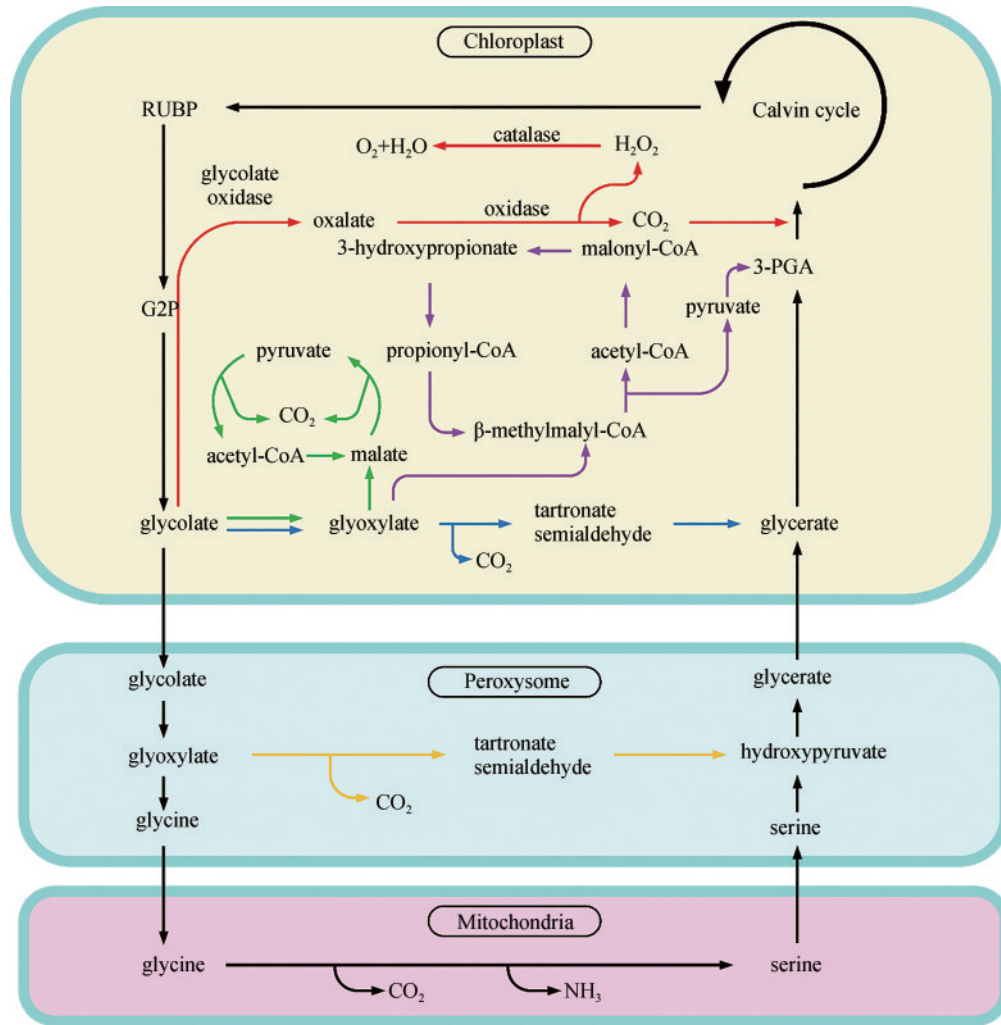


图2 天然和合成的光呼吸支路

黑色箭头，经典的光呼吸旁路；蓝色箭头，叶绿体甘油酸支路；橙色箭头，过氧化物酶体甘油酸支路；绿色箭头，叶绿体乙醇酸氧化支路；紫色箭头，3-羟基丙酸盐支路；红色箭头，水稻中新的光呼吸支路
 RUBP—1,5-二磷酸核酮糖；G2P—2-磷酸甘油酸；3-PGA—3-磷酸甘油酸

Fig. 2 Natural and synthetic photorespiratory bypasses

Black arrow, classic photorespiratory bypass; Blue arrow, chloroplatic glycerate bypass; Orange arrow, peroxisomal glycerate bypass; Green arrow, chloroplatic glycolate oxidation bypass; Purple arrow, 3-hydroxypropionate bypass; Red arrow, A new photorespiratory bypasses in rice
 RUBP—Ribulose 1,5-bisphosphate; G2P—2-phosphoglyceric acid; 3-PGA—3-phosphoglyceric acid

乙醇酸脱羧旁路模型的净光合速率增加了10%，来自支路细胞间CO₂供应增加导致PGA增加54.8%，同时减少光呼吸中间体。该研究增强了C₃植物中蓝藻脱羧途径的工程，以绕过光呼吸，从而提高光合作用的效率^[113]。最近，新的研究中将一种新的光呼吸支路引入水稻叶绿体（图2）。这种支路的特点是在乙醇酸完全氧化成CO₂的过程中不产生还原力，由3种水稻酶（乙醇酸氧化酶、草酸氧化酶和过氧化氢酶）依次催化。携带这3个基因的转基因植物在温室和田间条件下都表现出光

合作用的增强和产量的提高^[114]。

虽然合成光呼吸支路工程能够在一定程度能够降低光呼吸，但是也会对植物产生一些不良的后果。例如，在过氧化物酶体甘油酸支路中，光呼吸氮循环中的一些乙醛酸盐，从转化为甘氨酸的过程中转移出来，转基因植物在暴露于空气中时会表现出应激反应，如生长缓慢、较低的CO₂同化率等^[97]。在叶绿体乙醇酸氧化支路中会产生对植物叶绿体有氧化损害的H₂O₂^[98]。鉴于这种限制，欧盟资助的FET开放项目“未来农业”旨在实施

有效的光呼吸代谢旁路,旨在通过将酶工程和代谢工程相结合,以提高许多栽培作物的光合效率,包括水稻、小麦、大豆、棉花和马铃薯等^[115]。

4 展望

随着全球人口总量的持续增长,在2100年为100亿~150亿人提供粮食是一项具有挑战性的任务,面对有限的土地资源,只有采取强有力的措施来提高作物的生产力才能满足这一任务。

近年来,利用合成生物学提高碳同化率已经取得一定进展,仍有一些亟待解决的问题,主要是:①Rubisco羧化酶活性的调节、Rubisco亚基不能在质体中有效折叠或组装等也是一个复杂的分子机制,限制着农业上的应用;②CCM的形成是一个复杂过程,在C₃作物中引入C₄光合酶,并不能形成CCM。在不含CCM的作物中引入羧酶体,如何实现羧酶体蛋白质的协调表达也是一个限制性因素;③合成的光呼吸支路在一定程度上可以降低光呼吸,但是支路中产生的中间代谢产物,如乙醛酸的命运还不是很清楚,需要进一步的探索。

利用合成生物学对光合作用碳同化进行改造,不仅可以提升作物碳同化效率和生物量,而且还能降低大气中的CO₂浓度,减少温室效应。未来合成生物学可以在以下方面进行改进,以期提高作物的产量:①寻找高羧化活性的Rubisco酶及高效的C₄物种的Rubisco酶;探究Rubisco在叶绿体中的成功折叠、组装到功能维护等多个复杂的分子过程,为在作物中高羧化活性Rubisco酶的功能性表达提供基础。②探究C₄作物中CCM形成的机制及蓝藻羧酶体多种蛋白质的协同表达,为在C₃作物中引入CCM创造条件。③寻找新的光呼吸替代支路,减少光呼吸代谢产物的生成,提升支路释放出的CO₂利用率。④寻找非依赖于卡尔文循环的CO₂同化新途径。通过对已知酶反应的重组设计,对CO₂重新同化,定向转化成人需要的目的产品^[97]。此外,未来合成生物学还可以在以下方面做进一步的研究:①筛选C₃/C₄分化的遗传调控机制和高光效基因,挖掘调控C₄植物花环结构以及C₄途径关键酶基因特异性表达的关键调控因子;

②设计新型光合固碳回路,改造或重组光呼吸支路,重构CO₂回收再利用支路;③建立基于基因组模块化编辑改造技术的精准高效稳定的遗传操作体系,实现高光效功能模块在植物底盘中的优化组装和适配,提高底盘植物的光合效率。通过合成生物学方法设计并重构高光效回路,建立新型高效人工植物光合新体系具有非常大的市场前景,对于推动农业以及食品加工工业等经济发展具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] SILVIA M. Agriculture has to increase production by 70%: FAO chief[EB/OL]. [2009-10-14]. https://english.china.com/zh_cn/business/news/11021613/20091014/15666866.html.
- [2] TILMAN D, CASSMAN K G, MATSON P A, et al. Agricultural sustainability and intensive production practices[J]. *Nature*, 2002, 418(6898): 671-677.
- [3] MAURINO V G, WEBER A P M. Engineering photosynthesis in plants and synthetic microorganisms[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 64(3): 743-751.
- [4] WHITNEY S M, HOUTZ R L, ALONSO H. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO₂-sequestering enzyme, Rubisco[J]. *Plant Physiology*, 2010, 155(1): 27-35.
- [5] 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.
- [6] 程建峰, 沈允钢. 试析光合作用的研究动向[J]. *植物学报*, 2011, 46(6): 694-704.
CHENG J F, SHEN Y G. On the trends of photosynthesis research[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2011, 46(6): 694-704.
- [7] 朱观林, 郭龙彪, 钱前. 水稻的高光效分子育种[J]. *中国稻米*, 2009, 15(5): 5-10.
ZHU G L, GUO L B, QIAN Q. Molecular breeding of rice with high light efficiency[J]. *China Rice*, 2009, 15(5): 5-10.
- [8] 张立新, 卢从明, 彭连伟, 等. 利用合成生物学原理提高光合作用效率的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2017, 33(3): 486-493.
ZHANG L X, LU C M, PENG L W, et al. Progress in improving photosynthetic efficiency by synthetic biology[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2017, 33(3): 486-493.
- [9] 程建峰, 沈允钢. 作物高光效之管见[J]. *作物学报*, 2010, 36(8): 1235-1247.
CHENG J F, SHEN Y G. My humble opinions on high photo-

- synthetic efficiency of crop[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2010, 36(8): 1235-1247.
- [10] 张春霆. 合成生物学: 我国急需发展的前沿科学[J]. *前沿科学*, 2007, 1(3): 55.
- ZHANG C T. Synthetic biology: frontier science in urgent need of development in China[J]. *Frontier Science*, 2007, 1(3): 55.
- [11] DRUBIN D A, WAY J C, SILVER P A. Designing biological systems[J]. *Genes & Development*, 2007, 21(3): 242-254.
- [12] 熊燕, 陈大明, 杨琛, 等. 合成生物学发展现状与前景[J]. *生命科学*, 2011, 23(9): 826-837.
- XIONG Y, CHEN D M, YANG C, et al. Progress and perspective of synthetic biology[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2011, 23(9): 826-837.
- [13] STEEN E J, KANG Y S, BOKINSKY G, et al. Microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals from plant biomass[J]. *Nature*, 2010, 463(7280):559-563.
- [14] DEKISHIMA Y, LAN E I, SHEN C R, et al. Extending carbon chain length of 1-butanol pathway for 1-hexanol synthesis from glucose by engineered *Escherichia coli*[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(30):11399-11401.
- [15] MAHISHI L H, TRIPATHI G, RAWAL S K. Poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) synthesis by recombinant *Escherichia coli* harbouring *Streptomyces aureofaciens* PHB biosynthesis genes: effect of various carbon and nitrogen sources[J]. *Microbiological Research*, 2003, 158(1): 19-27.
- [16] YANG T H, KIM T W, KANG H O, et al. Biosynthesis of polylactic acid and its copolymers using evolved propionate CoA transferase and PHA synthase[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2010, 105(1): 150-160.
- [17] AJIKUMAR P K, XIAO W H, TYO K E J, et al. Isoprenoid pathway optimization for taxol precursor overproduction in *Escherichia coli*[J]. *Science*, 2010, 330(6000): 70-74.
- [18] LEVSKAYA A, CHEVALIER A A, TABOR J J, et al. Engineering *Escherichia coli* to see light[J]. *Nature*, 2005, 438(7067): 441-442.
- [19] TOPP S, GALLIVAN J P. Riboswitches in unexpected places - a synthetic riboswitch in a protein coding region[J]. *RNA*, 2008, 14(12): 2498-2503.
- [20] WERLEN C, JASPERS M C M, VAN DER MEER J R. Measurement of biologically available naphthalene in gas and aqueous phases by use of a *Pseudomonas putida* biosensor[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(1): 43-51.
- [21] ATSUMI S, HANAI T, LIAO J C. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels[J]. *Nature*, 2008, 451(7174): 86-89.
- [22] ZHANG K C, SAWAYA M R, EISENBERG D S, et al. Expanding metabolism for biosynthesis of nonnatural alcohols[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(52): 20653-20658.
- [23] SHEN C R, LAN E I, DEKISHIMA Y, et al. Driving forces enable high-titer anaerobic 1-butanol synthesis in *Escherichia coli*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(9): 2905-2915.
- [24] HANANIA U, ARIEL T, TEKOAH Y, et al. Establishment of a tobacco BY₂ cell line devoid of plant-specific xylose and fucose as a platform for the production of biotherapeutic proteins[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(9): 1120-1129.
- [25] ČERMÁK T, CURTIN S J, GIL-HUMANES J, et al. A multi-purpose toolkit to enable advanced genome engineering in plants[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(6): 1196-1217.
- [26] PARRY M A J, KEYS A J, MADGWICK P J, et al. Rubisco regulation: a role for inhibitors[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(7): 1569-1580.
- [27] ANDERSSON I, BACKLUND A. Structure and function of Rubisco[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2008, 46(3): 275-291.
- [28] ANDERSSON I. Catalysis and regulation in Rubisco[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(7): 1555-1568.
- [29] WHITNEY S M, BALDET P, HUDSON G S, et al. Form I Rubiscos from non-green algae are expressed abundantly but not assembled in tobacco chloroplasts[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2001, 26(5): 535-547.
- [30] 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.
- [31] ZHU X G, PORTIS A R, LONG S P. Would transformation of C3 crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2004, 27(2): 155-165.
- [32] MATSUMURA H, SHIOMI K, YAMAMOTO A, et al. Hybrid Rubisco with complete replacement of rice Rubisco small subunits by sorghum counterparts confers C₄ plant-like high catalytic activity[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(11): 1570-1581.
- [33] 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.
- [34] WHITNEY S M, KANE H J, HOUTZ R L, et al. Rubisco

- oligomers composed of linked small and large subunits assemble in tobacco plastids and have higher affinities for CO₂ and O₂[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(4): 1887-1895.
- [35] DURÃO P, AIGNER H, NAGY P, et al. Opposing effects of folding and assembly chaperones on evolvability of Rubisco[J]. *Nature Chemical Biology*, 2015, 11(2): 148-155.
- [46] GUTTERIDGE S, GATENBY A A. Rubisco synthesis, assembly, mechanism, and regulation[J]. *The Plant Cell*, 1995, 7(7): 809-819.
- [37] QU Y C, SAKODA K, FUKAYAMA H, et al. Overexpression of both Rubisco and Rubisco activase rescues rice photosynthesis and biomass under heat stress[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(7): 2308-2320.
- [38] KANEVSKI I, MALIGA P, RHOADES D F, et al. Plastome engineering of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in tobacco to form a sunflower large subunit and tobacco small subunit hybrid[J]. *Plant Physiology*, 1999, 119(1): 133-142.
- [39] WHITNEY S M, ANDREWS T J. Plastome-encoded bacterial ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) supports photosynthesis and growth in tobacco[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(25): 14738-14743.
- [40] ISHIKAWA C, HATANAKA T, MISOO S, et al. Functional incorporation of sorghum small subunit increases the catalytic turnover rate of Rubisco in transgenic rice[J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(3): 1603-1611.
- [41] MARTIN-AVILA E, LIM Y L, BIRCH R, et al. Modifying plant photosynthesis and growth *via* simultaneous chloroplast transformation of Rubisco large and small subunits[J]. *The Plant Cell*, 2020, 32(9): 2898-2916.
- [42] PARRY M A J, ANDRALOJC P J, MITCHELL R A C, et al. Manipulation of Rubisco: the amount, activity, function and regulation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(386): 1321-1333.
- [43] SPREITZER R J, SALVUCCI M E. Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2002, 53: 449-475.
- [44] PORTIS A R JR. Rubisco activase-rubisco's catalytic chaperone [J]. *Photosynthesis Research*, 2003, 75(1): 11-27.
- [45] 张园, 王玮, 邹琦. Rubisco活化酶的分子生物学[J]. *植物生理学报*, 2004, 40(5): 633-637.
- ZHANG G, WANG W, ZOU Q. Molecular biology of rubisco activase[J]. *Plant Physiology Communications*, 2004, 40(5): 633-637.
- [46] REITH M, CATTOLICO R A. Inverted repeat of *Olisthodiscus luteus* chloroplast DNA contains genes for both subunits of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and the 32,000-dalton Q_B protein: phylogenetic implications[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1986, 83(22): 8599-8603.
- [47] DELWICHE C F, PALMER J D. Rampant horizontal transfer and duplication of Rubisco genes in eubacteria and plastids[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1996, 13(6): 873-882.
- [48] TABITA F R. Microbial ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: a different perspective[J]. *Photosynthesis Research*, 1999, 60(1):1-28.
- [49] JOSHI J, MUELLER-CAJAR O, TSAI Y C C, et al. Role of small subunit in mediating assembly of red-type form I Rubisco[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(2): 1066-1074.
- [50] GUNN L H, MARTIN AVILA E, BIRCH R, et al. The dependency of red Rubisco on its cognate activase for enhancing plant photosynthesis and growth[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(41): 25890-25896.
- [51] SALESSE-SMITH C E, SHARWOOD R E, BUSCH F A, et al. Overexpression of Rubisco subunits with RAF₁ increases Rubisco content in maize[J]. *Nature Plants*, 2018, 4(10): 802-810.
- [52] 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.
- [53] FLECKEN M, WANG H P, POPILKA L, et al. Dual functions of a Rubisco activase in metabolic repair and recruitment to carboxysomes[J]. *Cell*, 2020, 183(2): 457-473.e20.
- [54] 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.
- [55] XIA L Y, JIANG Y L, KONG W W, et al. Molecular basis for the assembly of RuBisCO assisted by the chaperone Raf1[J]. *Nature Plants*, 2020, 6(6): 708-717.
- [56] HUANG F, KONG W W, SUN Y Q, et al. Rubisco accumulation factor 1 (Raf1) plays essential roles in mediating Rubisco assembly and carboxysome biogenesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(29): 17418-17428.
- [57] PARRY M A J, ANDRALOJC P J, SCALES J C, et al. Rubisco activity and regulation as targets for crop improvement[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 64(3): 717-730.
- [58] CAI Z, LIU G X, ZHANG J L, et al. Development of an activi-

- ty-directed selection system enabled significant improvement of the carboxylation efficiency of Rubisco[J]. *Protein & Cell*, 2014, 5(7): 552-562.
- [59] RAVEN J A, COCKELL C S, DE LA ROCHA C L. The evolution of inorganic carbon concentrating mechanisms in photosynthesis[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2008, 363(1504): 2641-2650.
- [60] LANGDALE J A. C₄ cycles: past, present, and future research on C₄ photosynthesis[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(11): 3879-3892.
- [61] KLAUSEN S K, MADSEN T V, MABERLY S C. Crassulacean acid metabolism in the context of other carbon-concentrating mechanisms in freshwater plants: a review[J]. *Photosynthesis Research*, 2011, 109(1/2/3): 269-279.
- [62] 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.
- [63] 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.
- [64] MIYAO M, MASUMOTO C, MIYAZAWA S I, et al. Lessons from engineering a single-cell C₄ photosynthetic pathway into rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(9): 3021-3029.
- [65] WANG P, KHOSHRAVESH R, KARKI S, et al. Re-creation of a key step in the evolutionary switch from C₃ to C₄ leaf anatomy[J]. *Current Biology*, 2017, 27(21): 3278-3287.e6.
- [66] YEH S Y, LIN H H, CHANG Y M, et al. Maize Golden2-like transcription factors boost rice chloroplast development, photosynthesis, and grain yield[J]. *Plant Physiology*, 2021, 188(1): 442-459.
- [67] 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.
- [68] YANG S M, CHANG C Y, YANAGISAWA M, et al. Transgenic rice expressing cyanobacterial bicarbonate transporter exhibited enhanced photosynthesis, growth and grain yield[J]. *Photosynthesis Energy from the Sun*, 2008:1247-1250.
- [69] HAY W T, BIHMIDINE S, MUTLU N, et al. Enhancing soybean photosynthetic CO₂ assimilation using a cyanobacterial membrane protein, *ictB*[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2017, 212: 58-68.
- [70] ROLLAND V, BADGER M R, PRICE G D. Redirecting the cyanobacterial bicarbonate transporters BicA and SbtA to the chloroplast envelope: soluble and membrane cargos need different chloroplast targeting signals in plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 185.
- [71] UEHARA S, ADACHI F, ITO-INABA Y, et al. Specific and efficient targeting of cyanobacterial bicarbonate transporters to the inner envelope membrane of chloroplasts in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 16.
- [72] ATKINSON N, FEIKE D, MACKINDER L C M, et al. Introducing an algal carbon-concentrating mechanism into higher plants: location and incorporation of key components[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(5): 1302-1315.
- [73] BADGER M R, HANSON D, PRICE G D. Evolution and diversity of CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria[J]. *Functional Plant Biology: FPB*, 2002, 29(3): 161-173.
- [74] LONG B M, RAE B D, ROLLAND V, et al. Cyanobacterial CO₂-concentrating mechanism components: function and prospects for plant metabolic engineering[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2016, 31: 1-8.
- [75] RAE B D, LONG B M, BADGER M R, et al. Functions, compositions, and evolution of the two types of carboxysomes: polyhedral microcompartments that facilitate CO₂ fixation in cyanobacteria and some proteobacteria[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2013, 77(3): 357-379.
- [76] LONG B M, BADGER M R, WHITNEY S M, et al. Analysis of carboxysomes from *Synechococcus* PCC7942 reveals multiple Rubisco complexes with carboxysomal proteins CcmM and CcaA[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(40): 29323-29335.
- [77] PRICE G D, BADGER M R, WOODGER F J, et al. Advances in understanding the cyanobacterial CO₂-concentrating-mechanism (CCM): functional components, Ci transporters, diversity, genetic regulation and prospects for engineering into plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 59(7): 1441-1461.
- [78] PRICE G D. Inorganic carbon transporters of the cyanobacterial CO₂ concentrating mechanism[J]. *Photosynthesis Research*, 2011, 109(1/2/3): 47-57.
- [79] SHIVELY J M, BALL F, BROWN D H, et al. Functional organelles in prokaryotes: polyhedral inclusions (carboxysomes) of *Thiobacillus neapolitanus*[J]. *Scientific Reports*, 1973, 182(4112): 584-586.
- [80] CANNON G C, HEINHORST S, KERFELD C A. Carboxysomal carbonic anhydrases: structure and role in microbial CO₂ fixation[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 2010, 1804(2): 382-392.

- [81] SO A K C, ESPIE G S, WILLIAMS E B, et al. A novel evolutionary lineage of carbonic anhydrase (ϵ class) is a component of the carboxysome shell[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(3): 623-630.
- [82] MANGAN N M, FLAMHOLZ A, HOOD R D, et al. pH determines the energetic efficiency of the cyanobacterial CO₂ concentrating mechanism[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(36): E5354-E5362.
- [83] GONZALEZ-ESQUER C R, SHUBITOWSKI T B, KERFELD C A. Streamlined construction of the cyanobacterial CO₂-fixing organelle *via* protein domain fusions for use in plant synthetic biology[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(9): 2637-2644.
- [84] LIN M T, OCCHIALINI A, ANDRALOJC P J, et al. β -Carboxysomal proteins assemble into highly organized structures in *Nicotiana* chloroplasts[J]. *The Plant Journal*, 2014, 79(1): 1-12.
- [85] BONACCI W, TENG P K, AFONSO B, et al. Modularity of a carbon-fixing protein organelle[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(2): 478-483.
- [86] PENGELLY J J L, FÖRSTER B, VON CAEMMERER S, et al. Transplastomic integration of a cyanobacterial bicarbonate transporter into tobacco chloroplasts[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(12): 3071-3080.
- [87] 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.
- [88] 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.
- [89] TCHERKEZ G. The mechanism of Rubisco-catalysed oxygenation[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2016, 39(5): 983-997.
- [90] MAURINO V G, PETERHANSEL C. Photorespiration: current status and approaches for metabolic engineering[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(3): 248-255.
- [91] PETERHANSEL C, MAURINO V G. Photorespiration redesigned[J]. *Plant Physiology*, 2010, 155(1): 49-55.
- [92] FIELD C B, BEHRENFELD M J, RANDERSON J T, et al. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components[J]. *Science*, 1998, 281(5374): 237-240.
- [93] GIORDANO M, BEARDALL J, RAVEN J A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2005, 56: 99-131.
- [94] WINGLER A, LEA P J, QUICK W P, et al. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2000, 355(1402): 1517-1529.
- [95] 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.
- [96] TIMM S, NUNES-NESE 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.
- [97] AHMAD R, BILAL M, JEON J H, et al. Improvement of biomass accumulation of potato plants by transformation of cyanobacterial photorespiratory glycolate catabolism pathway genes[J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2016, 10(5): 269-276.
- [98] 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.
- [99] 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.
- [100] 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.
- [101] 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.
- [102] ERB T J, ZARZYCKI J. Biochemical and synthetic biology approaches to improve photosynthetic CO₂-fixation[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2016, 34: 72-79.
- [103] 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.
- [104] 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.
- [105] FAHNENSTICH H, SCARPECI T E, VALLE E M, et al. Generation of hydrogen peroxide in chloroplasts of *Arabidopsis*

- overexpressing glycolate oxidase as an inducible system to study oxidative stress[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148(2): 719-729.
- [106] OLIVER D J. The effect of glyoxylate on photosynthesis and photorespiration by isolated soybean mesophyll cells[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65(5): 888-892.
- [107] 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.
- [108] PETERHANSEL C, BLUME C, OFFERMANN S. Photorespiratory bypasses: how can they work? [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 64(3): 709-715.
- [109] BETTI M, BAUWE H, BUSCH F A, et al. Manipulating photorespiration to increase plant productivity: recent advances and perspectives for crop improvement[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(10): 2977-2988.
- [110] 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.
- [111] 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.
- [112] BRAUN H P, ZABALETA E. Carbonic anhydrase subunits of the mitochondrial NADH dehydrogenase complex (complex I) in plants[J]. *Physiologia Plantarum*, 2007, 129(1): 114-122.
- [113] KHURSHID G, ABBASSI A Z, KHALID M F, et al. A cyanobacterial photorespiratory bypass model to enhance photosynthesis by rerouting photorespiratory pathway in C₃ plants[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 20879.
- [114] 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.
- [115] Online computer library center: future agriculture project[EB/OL]. <http://www.futureagriculture.eu/>.



通讯作者: 张立新(1970—),男,教授。研究方向为光合作用功能调控机理。

E-mail: zhanglixin@henu.edu.cn



第一作者: 盛阳阳(1990—),男,博士研究生。研究方向为光合作用碳同化。

E-mail: shengyangyang727@163.com