

衣藻二氧化碳浓缩机制及其调控的研究进展

秦燕, 范波, 苗贵东 (兴义民族师范学院生物与化学学院, 贵州兴义 562400)

摘要 当低浓度 CO_2 限制微藻光合作用时, CO_2 浓缩机制 (CCM) 是一种有效的无机碳 (Ci) 吸收策略, 以保证微藻的正常生存和繁殖。CCM 主要是通过升高 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 附近的 CO_2 浓度增强光合作用的效率, 同时抑制光呼吸的进行。CCM 的关键步骤包括无机碳的聚集吸收、Rubisco 对 CO_2 的固定和碳酸酐酶催化的不同 Ci 的转换。CCM 中分子调控元件的有序协作, 不仅可以帮助细胞感知周围 CO_2 的浓度, 诱导调节 CCM 基因的表达, 还可以协调衣藻在低浓度 CO_2 环境下光合作用中碳和其他代谢途径的相互作用。总结了目前以衣藻作为模式生物对真核藻类 CCM 的研究概况、调控机理, 以及 CCM 机制在农业方面的应用和展望。

关键词 衣藻; 二氧化碳浓缩机制; 调控机理; 无机碳吸收系统

中图分类号 Q 949.21 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)04-0020-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.04.006



开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):

Research Progress on the CO_2 Concentrating Mechanism and Its Regulation in *Chlamydomonas*

QIN Yan, FAN Bo, MIAO Gui-dong (College of Biology and Chemistry, Xingyi Normal University for Nationalities, Xingyi, Guizhou 562400)

Abstract CO_2 concentrating mechanism (CCM) is an effective way for carbon assimilation that enables microalgae to survive and proliferate in the limiting CO_2 concentration. CCM can improve the CO_2 concentration near the Rubisco to enhance the photosynthetic efficiency and suppress the photorespiration. The key components of CCM include inorganic carbon (Ci) uptake, Ci fixation by Rubisco and the interconversion of different Ci catalyzed by CA. An array of the molecular regulatory elements can facilitate cells to sense the CO_2 concentration, regulate the expression of the CCM and to coordinate the photosynthetic carbon metabolism and other metabolic processes in response to limiting CO_2 conditions. This review summarized the current understanding of the eukaryotic algal CCM, based largely on *Chlamydomonas* as a model organism, to illustrate how *Chlamydomonas* adapts to the limiting CO_2 and how its CCM was regulated.

Key words *Chlamydomonas*; CO_2 concentrating mechanism; Regulation mechanism; Ci absorption system

光合作用中的碳代谢可称为地球上最重要的化学反应, 地球上全部绿色植物的生长都离不开光合作用, 是全球碳循环的关键环节。光合作用过程中核心的途径是卡尔文循环 (CCB), 此循环包含一系列的生化反应, 通过这些反应无机碳 (Ci) 转化成有机碳, 并将太阳能储存在碳水化合物中。CCB 循环最初是在绿藻 *Chlorella* 和 *Scenedesmus* 中阐明的^[1]。绿藻中的莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 以其独特的优势, 逐渐成为模式生物来研究生物学的热点问题, 如光合作用、光合趋光性、鞭毛/纤毛生物学、藻脂生物学。因为衣藻是一种单倍体生物, 生活周期短、遗传背景清楚, 衣藻的光合作用结构、光合作用中的光反应和暗反应中碳的代谢与高等植物非常相似^[2-5], 因此在衣藻中的很多发现可以直接适用于高等植物。衣藻作为一种生活在特殊环境中的单细胞生物, 与其他藻类一样, 有其独特和灵活的代谢特征和基因表达调控的独特机制, 使其能够在外界条件波动极大的环境中生存下来^[3-4, 6-7]。

光合自养的生物已经进化出许多适应策略来应对周围各种不利的环境条件, 其中一个例子就是 CO_2 浓缩机制 (CCM), 这是蓝细菌和真核微藻为适应地球上古老大气中 CO_2 浓度降低和 O_2 浓度升高进化出来的一种响应机制。1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 是光合作用过

程中碳吸收的核心酶, 它在 CCB 循环中催化第一步也是最重要的一步羧化反应, 催化 CO_2 与 RuBP 的结合, 实现无机碳向有机碳的转化。Rubisco 是一种古老的酶, 进化中存在于高浓度 CO_2 低浓度 O_2 的环境中。目前大气中的 CO_2 浓度远远低于 Rubisco 羧化酶的活性所需要的饱和浓度, 大气中高比率的 O_2/CO_2 提高了 Rubisco 加氧酶的活性, 这使其进入既消耗能量又释放 CO_2 的光呼吸途径^[8]。CCM 机制则通过弥补 Rubisco 羧化酶效率低的特点, 提高 CO_2 浓度, 增加光合作用的效率。目前在植物中已经进化出不同的策略提高 Rubisco 附近 CO_2 浓度, 增强 Rubisco 羧化酶的活性同时降低加氧酶活性, 实现高效率的光合作用。这些策略出现在不同类群植物的不同发育阶段, 包括高等植物中多样化的 C_4 代谢途径和微藻、蓝细菌中多样化的 CCMs^[9-10]。

CCM 与藻类植物光合作用、代谢活动、生长发育等方面密切相关, 也是提高藻类生物量的关键因素。了解 CCM 可以更好地理解这些微观的生产者们是如何影响全球环境的, 并可指导对藻类进行遗传和分子手段的操作, 以提高其生物产量。对 CCM 机制的理解, 还有助于实现人工设计将藻类特定特征引入到 C_3 植物提高其光合效率^[11-12]。蓝细菌的 CCM 已经在几个模式蓝细菌中得到广泛研究^[13]。近几年, 以衣藻作为真核光合模式生物, 对 CCM 分子机制的理解也有了极大的进步。笔者主要是结合目前对衣藻 CCM 的理解及与无机碳吸收的相互作用, 来总结衣藻是如何适应低 CO_2 浓度的环境条件以及它的 CCM 是如何调节的。

1 CO_2 浓缩机制的概述

微藻 CCM 是基于单细胞的 CO_2 浓缩机制, 其依赖于多

基金项目 贵州省教育厅青年科技人才成长项目 (黔教合 KY 字 [2019]221 号); 兴义民族师范学院博士科研基金项目 (18XYBS02); 黔西南州 2019 年州级科技计划自筹资金项目 (2019-2-50)。

作者简介 秦燕 (1980—), 女, 山东莱芜人, 副教授, 博士, 从事细胞与分子生物学研究。

收稿日期 2020-07-11

种无机碳吸收系统(图1)。这些无机碳吸收系统在细胞内形成以 HCO_3^- 为主的 C_i 库,库内的 CO_2 浓度比水中的 CO_2 浓度高 1 000 倍,这可能是目前已知最有效的 C_i 吸收系统^[14]。CCM 主要是通过升高 Rubisco 附近的 CO_2 浓度增强光合作用的效率,同时抑制光呼吸的进行。

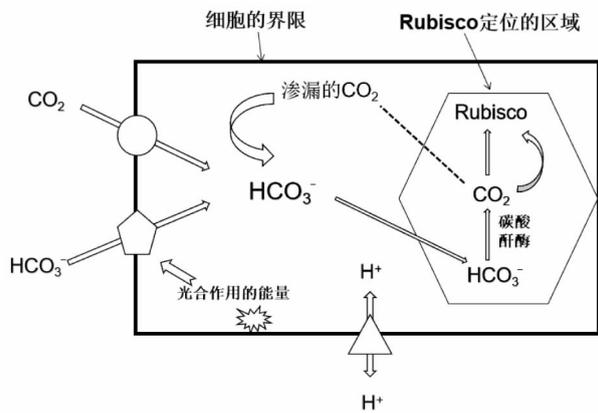


图1 微藻二氧化碳浓缩机制(CCM)的简化^[14]

Fig.1 Simplification of carbon dioxide concentration mechanism (CCM) for microalgae

CCM 是一种非常灵活调控的机制,可适应多种低浓度的 CO_2 条件,通过不同的调控网络与其他生理过程协调,如光合作用、光呼吸中的碳代谢、细胞周期和昼夜节律等。微藻

在多种低 CO_2 浓度条件下发生了一系列的适应性反应,包括 CCM 基因的诱导表达、代谢活动的变化、生理的变化等。许多 CCM 研究将自然界的 CO_2 浓度区分为 2 种生理状态:高 CO_2 浓度状态(CO_2 浓度 1%~5%)和受限制的低 CO_2 浓度状态(CO_2 浓度 0~0.03%)。事实上,自然界存在多种 CO_2 浓度的环境条件,如有的藻类生活在 CO_2 浓度高的土壤中,有的生活在富含有机质的 CO_2 浓度极低的水生条件。微藻在多种 CO_2 浓度条件下的适应性研究都已被阐明,这反映了微藻可以适应多种自然生境条件。

2 衣藻中的二氧化碳浓缩机制

本质上讲,CCM 的核心是活性 C_i 的吸收系统,而活性 C_i 的吸收包括 HCO_3^- 的跨膜运输、 CO_2 的吸收、碳酸酐酶(CA)对不同状态 C_i 的转化和遗漏 CO_2 的重新捕获。在衣藻中, C_i 的吸收主要发生在质膜、叶绿体膜和叶绿体类囊体膜上^[15]。通过转录组分析,确定了许多低 CO_2 浓度条件下响应的基因如编码 C_i 的转运体、 CO_2 吸收系统和 CA(表1)。通过对 CCM 突变体的分子生物学研究,确定出许多 C_i 吸收的关键成分。在受限制的低 CO_2 浓度条件下,不同的膜 C_i 转运体、 CO_2 吸收系统和不同的 CA 参与了 CCM 的过程(图2)。这些 C_i 吸收系统通过一系列调控元件的调控,从转录水平和翻译后水平 2 个层面调控基因的表达,使衣藻快速地适应不同的环境条件。

表1 衣藻 CCM 中的关键蛋白和参与蛋白汇总^[14]

Table 1 Summary of key proteins and participating proteins in chlamydomonas CCM

蛋白质名称 Protein name	细胞中的定位 Location in cells	可能的功能 Possible functions	蛋白家族 Protein family	CO_2 的浓度条件 CO_2 concentration conditions
碳酸酐酶 CA				
CAH1	胞质外周	胞质外碳酸酐酶	碳酸酐酶 α 型	低 CO_2 浓度
CAH2	胞质外周	胞质外碳酸酐酶	碳酸酐酶 α 型	高 CO_2 浓度
CAH3	类囊体腔	类囊体腔碳酸酐酶	碳酸酐酶 α 型	低 CO_2 浓度
CAH4	线粒体	线粒体碳酸酐酶	碳酸酐酶 β 型	低 CO_2 浓度
CAH5	线粒体	线粒体碳酸酐酶	碳酸酐酶 β 型	低 CO_2 浓度
CAH6	叶绿体基质	叶绿体基质碳酸酐酶	碳酸酐酶 β 型	未知
C_i 转运体 C_i transporter				
HLA3	质膜	HCO_3^- 转运	ABC 转运体	低 CO_2 浓度
LCI1	质膜	C_i 转运	未知	低 CO_2 浓度
LCIA	叶绿体膜	HCO_3^- 转运	甲酸亚硝酸盐转运体	低 CO_2 浓度
CCP1	叶绿体膜	C_i 转运(未实验证实)	线粒体载体蛋白	低 CO_2 浓度
CCP2	叶绿体膜	C_i 转运(未实验证实)	线粒体载体蛋白	低 CO_2 浓度
CemA	叶绿体膜	质子分泌	蓝细菌 PexA	未知
RHP1	质膜	CO_2 通道	Rh(恒河猴)蛋白	高 CO_2 浓度
RHP2	质膜	CO_2 通道	Rh(恒河猴)蛋白	高 CO_2 浓度
CO_2 吸收 CO_2 absorption				
LCIB	叶绿体基质	CO_2 吸收	未知	低 CO_2 浓度
LCIC	叶绿体基质	CO_2 吸收	未知	低 CO_2 浓度
LCID	未知	CO_2 吸收(未实验证实)	未知	未知
LCIE	未知	CO_2 吸收(未实验证实)	未知	未知
基因表达 Gene expression				
CIA5/CCM1	细胞核	转录调控因子	锌指蛋白	低 CO_2 浓度
LCR1	细胞核	转录因子	Myb 型转录因子	低 CO_2 浓度
蛋白核功能 Protein nuclear function				
CIA6	未知	蛋白核的形成	SET 结构域甲基转移酶	低 CO_2 浓度

以下主要介绍了活性 C_i 如何从细胞外通过各种膜系统进入到类囊体基质中的过程,以及膜上和膜内有哪些 C_i 转运体蛋白参与了此过程。

2.1 细胞表面 在水生环境中,有 CO_2 和 HCO_3^- 这 2 种无机碳形式。当 CO_2 在液相和气相达到平衡时,溶解 CO_2 的量

取决于气相中 CO_2 的分压,但是水中的 CO_2 扩散速率比空气中慢 10^4 倍。水中 CO_2 转化成 HCO_3^- 的速率依赖于 pH。因为碳酸酐酶的解离常数(pKa 值)接近 6.4,在中性到碱性 pH 时, HCO_3^- 占主导地位。为了保持细胞表面有足够多的 HCO_3^- 和 CO_2 ,需要大量有活性的 HCO_3^- 转运体或有活性的

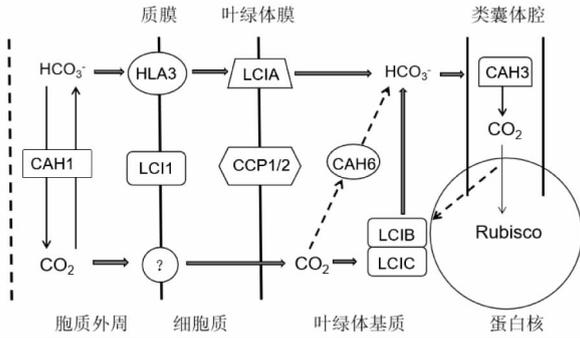


图2 受限的CO₂浓度下衣藻CCM的示意模型^[14]

Fig.2 Schematic model of *Chlamydomonas* CCM with restricted CO₂ concentration

CO₂吸收系统驱动大量的Ci流,这就需要有多数CA维持Ci的供应来保持HCO₃⁻和CO₂的平衡。CAH1是质膜外的碳酸酐酶,该蛋白在受限的低CO₂浓度条件下诱导表达,其功能可能是维持质膜HCO₃⁻转运体运输的HCO₃⁻的平衡或活性CO₂吸收系统中CO₂的平衡^[16]。

2.2 穿越质膜 Ci进入细胞的第一道屏障是质膜。因为细胞膜对带电荷的Ci如HCO₃⁻是不能通透的,所以Ci进入细胞需要膜上的Ci转运体的协助。目前已经从衣藻中鉴定出2个HCO₃⁻转运体HLA3和LC11参与此过程。

HLA3是一种定位于质膜上的ABC转运体蛋白,含有ABC转运体特有的结构域,在衣藻和很多绿藻中都发现了HLA3转运体,该蛋白在CO₂浓度低时发挥作用。ABC转运蛋白介导的HCO₃⁻的吸收在蓝细菌中也有报道^[13]。

LC11是质膜上的另一个Ci转运体^[17]。该蛋白有几个预测的跨膜结构域,但是未鉴定出具有功能的模体。如果在lcr1突变体中过表达LC11可以在低CO₂浓度下提高光合作用对Ci的亲合力,并能促进HCO₃⁻的吸收^[18]。此蛋白对Ci种类吸收的偏好性仍不清楚。与其他参与Ci吸收的蛋白不同,LC11蛋白被认为是一种孤儿蛋白,即在与衣藻亲缘关系很近的物种(即使在团藻Volvox中,没有确定出序列同源物,只在衣藻和其他几个绿藻基因组中预测出几个膜蛋白与该蛋白的空间结构相似)。

2.3 细胞质内 目前仍不清楚胞质中哪些成分参与活性Ci的吸收以及Ci是否会在胞质中积累。如果胞质中Ci浓度低时,则需要CA的存在捕获更多的CO₂。自然界中,CA一般分为α、β、γ3类,目前从衣藻中已经鉴定出12个编码碳酸酐酶蛋白的基因CAs,包括3种α-CAs、6种β-CAs和3种γ-CAs,分别定位于线粒体(5个)、叶绿体基质(1个)、类囊体基质(1个)、胞质(1个)、壁膜间隙(3个),CAH7的定位仍然未知^[19]。定位于胞质中的CAH9蛋白,其基因序列独特,与其他几种基因的序列差别较大,目前功能未知。定位于线粒体中的CAH4、CAH5,两者的核酸序列高度相似可达95%,均形成反向重复的结构^[19],这2个蛋白在受限的CO₂浓度下可被诱导大量表达,但这2个蛋白的功能未知,有可能不直接在CCM中发挥作用^[20]。有研究发现如果将衣藻细胞从CO₂浓度高的

区域移动到CO₂浓度低的区域,线粒体将会从中间位置移动到靠近质膜的位置,这种线粒体位置的移动可能是因为质膜上转运体的电荷发生变化引起的^[21]。

2.4 穿越叶绿体膜 Ci吸收过程中的另一道障碍是叶绿体膜。有人从衣藻中分离出游离叶绿体,在叶绿体中观察到了活性Ci吸收的整个过程,并鉴定出许多叶绿体膜上的Ci转运体^[17]。

LCIA是唯一确定参与低CO₂浓度下跨叶绿体膜转运HCO₃⁻的蛋白。在衣藻中,LCIA是一个主动运输的转运体,LCIA作为一种通道协助Ci进入叶绿体,其发挥功能需要与质膜上其他蛋白如HLA3或LC11协同作用完成,它们共同将HCO₃⁻逆着叶绿体膜上的电位转运至叶绿体内^[15-22]。

叶绿体膜上还鉴定出CCP1和CCP2这2种Ci转运体,这2个叶绿体蛋白几乎完全相同,它们的序列与线粒体运载蛋白超家族高度相似^[23]。但是有人推测此蛋白可能不参与Ci吸收^[24],认为或许CCP1/2的功能被掩盖^[20]或者它们只是参与了适应低CO₂浓度其他代谢物的转运^[24]。有关CCP1/2在CCM中的功能需要更深入的研究。

叶绿体膜上另外一种膜蛋白CemA可能也是一种Ci转运体,它是质体ycf10基因的表达产物,ycf10基因的破坏会引起叶绿体中Ci吸收的降低^[25]。此蛋白在蓝细菌中的同源物对于CO₂的传递是必不可少的^[26]。

2.5 叶绿体基质 叶绿体基质中有很多蛋白参与Ci的积累。LCIB是广泛分布于叶绿体基质中的蛋白质^[15],催化基质中CO₂转化为HCO₃⁻而保持基质中Ci的积累,此功能类似蓝细菌中ChpX和ChpY蛋白(也称为CupA和CupB)^[27]。一般认为LCIB只在极低CO₂浓度下发挥作用。在一些真核藻类和多种蓝细菌基因组中只发现一个LCIB的同源物^[3,20,28],可能LCIB是以单体的形式发挥作用。在极低CO₂浓度下,LCIB与LCIA协同完成HCO₃⁻的吸收^[15]。但是LCIB参与的Ci吸收的分子机制没有太多证据支持。

LCIB还与其同源物LCIC形成异源多聚体LCIB/LCIC复合物^[15],但LCIC在Ci吸收中是否起作用仍不清楚。LCIB/LCIC复合物一般定位于2个分开的区域,分散在整个基质中或集中分布在蛋白核周围。在极低CO₂浓度时,复合物会特异地定位于蛋白核周围,在低CO₂浓度或高CO₂浓度时,复合物会分布在整个基质中^[15]。调控LCIB/LCIC复合物定位的分子机制还不清楚。

在衣藻叶绿体基质中还有一种碳酸酐酶CAH6,其功能是在碱性基质条件下将CO₂转化成HCO₃⁻,以维持基质中高浓度的Ci或者重新捕获渗漏的CO₂^[29]。

除了LCIB/LCIC和CAH6以外,还发现了另外2种LCIB同源物——LCID和LCIE,推测它们可能在Ci吸收中起作用^[30]。

2.6 类囊体和蛋白核 在大多数藻类中,Rubisco定位于叶绿体内一个称为蛋白核的结构中(图3)。在衣藻中,蛋白核是一个液体样的细胞器,Rubisco的小亚基(SSU)和EPY1蛋白对蛋白核的形成起重要作用,利于其形成液体样的结

构^[31]。蛋白核外面被淀粉鞘包围,淀粉鞘的形态直接影响蛋白核的数量和 CCM 的功能^[32]。蛋白核由 Rubisco 的大小亚基组成^[33],在蛋白核内部, HCO_3^- 被碳酸酐酶 CAH3 催化脱水生成 CO_2 ,被附近的 Rubisco 羧化进入卡尔文循环。碳酸酐酶 CAH3 催化 HCO_3^- 脱水转化成 CO_2 的效率很高,会促

进细胞内 C_i 的大量积累,可达到野生型的 5 倍^[34]。Blanco-Rivero 等^[35]将衣藻从高 CO_2 浓度转移到低 CO_2 浓度时,发现 CAH3 被磷酸化,碳酸酐酶的活性提高,但 CAH3 蛋白的量并没有增多,这说明 CAH3 翻译后加工也可以调控 CCM,使其适应低 CO_2 浓度条件。

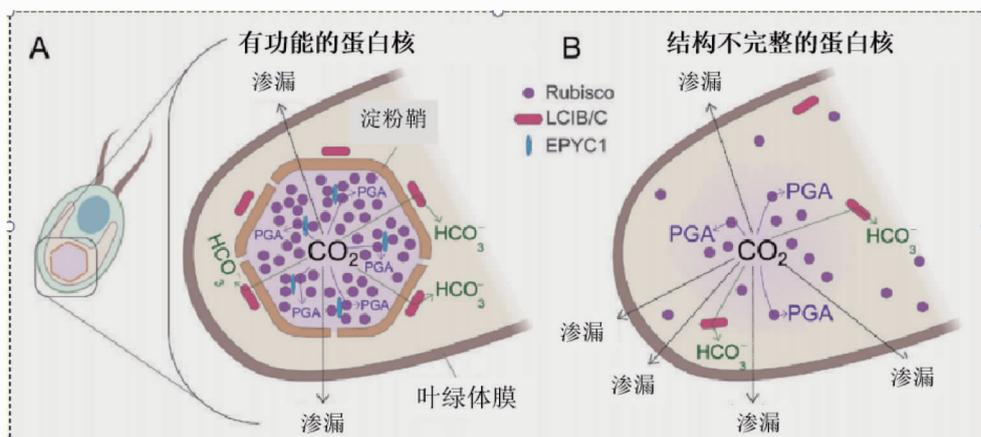


图3 衣藻中蛋白核阻止 CO_2 渗漏的示意图^[38]

Fig.3 Schematic diagram of protein core in *Chlamydomonas* preventing CO_2 leakage

利用原位低温电子断层扫描术已观察到衣藻蛋白核的三维结构^[36],显示类囊体的垛叠层和蛋白核通过圆柱形的蛋白核小管连接在一起。在蛋白核小管中有成束的多个平行的小管。蛋白核小管上的 CAH3 催化平行小管中的 HCO_3^- 转化成 CO_2 , 释放到蛋白核中。

Rubisco 主要分布在叶绿体基质和蛋白核中,其动态分布与 CO_2 浓度有关:在受限制的低浓度 CO_2 条件下,几乎所有的 Rubisco 都分布在蛋白核中,而在高浓度 CO_2 条件下,只有 50% 的 Rubisco 定位在蛋白核^[33]。Rubisco 的大小亚基对蛋白核的形成起重要作用^[33],尤其是小亚基含有重要的结构元件,负责将 Rubisco 定位于蛋白核中。另外,蛋白 CIA6 和 SAGA1 也参与蛋白核的形成^[37-38]。SAGA1 可调节蛋白核周围淀粉鞘的形态,但 CIA6 是否直接参与 Rubisco 的定位和诱导 CCM 基因表达仍不确定。

2.7 渗漏 CO_2 的重新捕获 蛋白核周围的 CO_2 如果没有及时被 Rubisco 羧化,则会扩散渗漏。而 CO_2 屏障和 CO_2 循环机制则可防止多余 CO_2 的渗漏。有研究表明,低 CO_2 浓度下,蛋白 CAH6 和 LCIB/LCIC 复合物参与了渗漏 CO_2 的重新捕获过程^[29,35];在极低 CO_2 浓度下,蛋白 CAH6/LCID 或 LCIE 可重新固定渗漏的 CO_2 。

3 衣藻中 CCM 的调控

3.1 低浓度 CO_2 环境下 CCM 的调控

3.1.1 CCM 相关基因的调控。 CCM 相关基因在低浓度 CO_2 条件下会出现动态的变化趋势。转录水平上分析发现,许多 CCM 关键基因在受限制 CO_2 浓度下表达会上调,如 *LCI1*、*LCIA*、*LCIB*、*HLA3* 及参与光呼吸的基因^[14,17]。蛋白水平上分析发现,低 CO_2 浓度条件下,许多蛋白如碳酸酐酶 CAH1、CAH4 和 CAH5 以及 2 个 C_i 转运体 CCP1 和 CCP2 也会诱导表达^[14]。

Brueggeman 等^[39]对衣藻转录组数据进行了分析,并统计了低 CO_2 浓度下基因调控的情况;当把衣藻从高 CO_2 浓度转移至受限制的 CO_2 浓度时,15 500 个衣藻基因中 14%~38% (2 200~5 880 个) 的基因表达发生改变;在低 CO_2 浓度或者极低 CO_2 浓度下,1 000~2 000 个基因表达明显上调,其中许多是 CCM 相关的基因^[39]。另外,一些响应 CO_2 胁迫基因的表达水平发生了剧烈的变化,也包括很多重要的 CCM 基因,如 C_i 转运基因 (*LCI1*、*LCIA*、*HLA3*、*CCP1/2*、*LCIB* 等) 和 CA 基因 (*CAH1*、*CAH4/5*)^[40],其中有些是编码可溶性蛋白和膜蛋白的功能未知的基因,这些基因可用来作为候选基因研究是否参与 C_i 转运、吸收或其他 CCM 的功能。另外,有些基因在低 CO_2 浓度下高表达、高 CO_2 浓度下不表达,如 *LCI1*、*LCIA*、*LCR1*、*HLA3*、*CCP1*、*CAH4/5* 等;也有些 CCM 关键基因如 *LCIB* 和 *CAH3* 在低 CO_2 浓度下则表达水平显著上调,而在高 CO_2 浓度下表现为低水平的组成型表达,说明这些基因可能参与了低 CO_2 浓度下 CCM 的过程。

3.1.2 调控 CCM 基因表达的元件。 大量证据证明,在衣藻中存在一个从多层面调控 CCM 表达的网络系统,但是对 CCM 调控的分子机制仍不清楚。目前只有 2 种调控蛋白 CIA5 (也称 CCM1) 和 LCR 被确认可能调控衣藻中 CCM 相关基因的表达。

3.1.3 CCM 基因的翻译后调控。 基因的翻译后调控在调节细胞功能中广泛存在,这种机制比转录水平的调控更能使细胞快速地应对环境的变化。很早就有研究表明衣藻为了适应受限制 CO_2 浓度会发生蛋白磷酸化,但是 CCM 相关蛋白的磷酸化是最近才鉴定出来的,如将衣藻从高浓度 CO_2 转移到受限制 CO_2 浓度时,2 个类囊体蛋白 LCI5 和 UEP 发生了磷酸化^[41],以及 CAH3 在受限制 CO_2 浓度时也发生了磷酸化。对衣藻的磷酸化蛋白组进行系统分析也发现了许多

CCM 相关蛋白的磷酸化,如 HLA3、LCIC、LCID、LCI15、CAs 以及低 CO₂ 浓度下诱导表达的其他蛋白^[42]。

除了磷酸化,蛋白质的谷胱甘肽化也是一种翻译后调控,如在衣藻中的 LCIB 和许多参与卡尔文循环的蛋白^[43]。另外,CIA5 中存在的 SUMO 的修饰位点可能也是一种翻译后调控机制,尽管功能未知。

在衣藻适应受限制 CO₂ 浓度时可能存在多种翻译后修饰作为信号,但这些修饰的分子机制仍不确定。

3.2 低 CO₂ 浓度条件下碳同化的调控 衣藻光合作用的光反应和暗反应过程与高等植物非常相似^[20],然而衣藻因为具有其独特而灵活的碳代谢特征以及细胞内独特的区室化,使其能够在不同的环境中生存和繁殖^[3]。在衣藻中,前期固定的 Ci 最终都要进入卡尔文循环;CO₂ 首先与五碳化合物 RuBP 在 Rubisco 的催化下生成两分子的 3-磷酸甘油酸(3-PGA),然后通过两步反应将 3-PGA 还原成 3-磷酸甘油醛,此步反应将会消耗光反应中产生的 ATP 和 NADPH,而后 3-磷酸甘油醛经过一系列反应重新生成 RuBP,其中产生的许多中间产物可参与细胞内其他代谢途径。Rubisco 除了催化 RuBP 与 CO₂ 的羧化反应,还会催化 RuBP 与 O₂ 的加氧反应,此反应产生一分子的 3-PGA 和一分子的磷酸乙醇酸,进入光呼吸代谢途径。当外界环境条件中 CO₂ 浓度受限制时,则会有一些代谢的碳从卡尔文循环中流入光呼吸代谢途径。然而,在低 CO₂ 浓度条件下,衣藻的卡尔文循环和光呼吸这 2 种代谢途径都会被调控以适应底物浓度受限的条件。

3.2.1 卡尔文循环。在衣藻中已经鉴定出卡尔文循环的全部基因,这些基因在高 CO₂ 浓度和受限制的低 CO₂ 浓度的条件下均发挥作用。研究表明,大多数卡尔文循环中的酶受底物浓度限制,有些酶的浓度比其底物还高^[44]。在细胞内只有几种酶的浓度是与底物浓度相似接近饱和的,如 Rubisco、FBP(1,6-二磷酸果糖酶)、SBP(1,7-二磷酸景天庚酮糖酶),通过调节这些酶的活性来提高光合效率是一种翻译后调控过程。

为适应低 CO₂ 浓度条件,衣藻卡尔文循环中的基因表达会发生变化,如 Rubisco 亚基 RbcS1、RbcS2 和 RbcL 的转录表达会升高;Rubisco 小亚基 RBCS1、ALD3(醛缩酶)、PGK(磷酸甘油酸激酶)、GAP(3-磷酸甘油醛脱氢酶)和 SBP 的转录水平则会下调。有研究表明,卡尔文循环中酶的蛋白数量的变化并非与转录本数量的变化一致^[44]。卡尔文循环的调控可能是翻译后修饰或者底物抑制/激活等方面。许多卡尔文循环酶通过翻译后修饰如谷胱甘肽化或铁氧还蛋白二硫键的变化进行氧化还原调控^[43,45]。氧化还原调控是建立起来的一种很好的系统,可将光合作用中的光反应和暗反应融合在一起,使细胞在适应多变环境时通过不同的细胞过程进行能量的分配。

3.2.2 光呼吸。当周围环境中 CO₂/O₂ 比率降低时,Rubisco 加氧酶的活性增强,产生磷酸乙醇酸,进入光呼吸代谢途径,抑制磷酸丙糖异构酶的活性,从而干扰 RuBP 的再生。转录组水平和代谢水平的研究表明将衣藻从高浓度 CO₂ 转移到

低浓度 CO₂ 后,衣藻会有一个快速且短暂的光呼吸代谢的升高过程。转录组数据显示,当将衣藻细胞从高浓度 CO₂ 转入低浓度 CO₂ 4 h 后,编码丙氨酸转氨酶(ALT)的基因、甘油酸激酶(GLYK)的基因、乙醇酸脱氢酶(GYD1)的基因、羟基丙酮酸还原酶 1(HPR1)的基因、丝氨酸乙醛酸氨基转移酶 1(SGA1)的基因和所有编码甘氨酸脱羧酶亚基的基因(二氢硫辛酸脱氢酶 IDLDH1 除外)均出现基因表达的上调^[40],这些基因的表达受 CO₂ 浓度和 CIA5 的调控。代谢组学的研究表明,光呼吸途径中的中间产物如甘氨酸、甘油酸盐、乙醛酸丝氨酸和 3-磷酸甘油醛的量会明显升高。代谢物的水平在衣藻转入低浓度 CO₂ 30 min 后升高,但 24 h 内恢复至初始水平。一般认为衣藻在适应低 CO₂ 浓度时,光呼吸途径中酶基因的表达、酶活性和代谢物水平的升高是暂时的,而后随着 CCM 被诱导,均会恢复至初始的水平,CCM 提高了 Rubisco 周围的 CO₂ 浓度从而抑制了 Rubisco 加氧酶的活性,降低光呼吸。

尽管认为光呼吸是衣藻对外界低 CO₂ 浓度时调节碳代谢的重要机制,但许多其他的碳代谢途径如淀粉代谢、糖酵解或脂代谢、呼吸作用中碳代谢均与光合作用过程中碳代谢密切相连,这些代谢与其他营养成分的代谢如氮、硫、磷和金属元素的吸收使得藻类能快速适应多变的环境进行生长繁殖,阐明这个复杂的网络体系将是未来研究的方向。

4 衣藻 CCM 转入高等植物的研究

为了满足不断增长的全球人口的物质需求,到 2050 年粮食产量要提高 85% 以上。仅通过传统农作物选育的方法或者农田扩展的方法,这个目标产量是不可能实现的。已经证实的一个可行的方法是通过遗传工程提高作物的光合效率。光合作用中限制 CO₂ 固定的重要因素是 Rubisco 酶的催化效率低。为了减少光呼吸,一些光合产物会通过 CCMs 提高 Rubisco 活性位点周围 CO₂/O₂ 比率。有模型表明,如果将 CCM 成功引入主要粮食作物如水稻、小麦和 大豆,可以使碳固定提高 60%,同时还能提高水和氮的利用率^[46]。许多 CCM 和光合作用工程的策略正在继续研究,最有前景的是将衣藻的 CCM 转入农作物中以提高农作物的光合效率。为了提高 Rubisco 周围的 CO₂ 浓度,目前正在进行衣藻 CCM 蛋白核和 HCO₃⁻转运体的改造、蓝细菌 CCM 羧酶体和无机碳转运体的改造、Rubisco 蛋白动力学的改造、光呼吸中基因的改造以及优化卡尔文循环中 RuBP 的再生等^[47]。

为了将衣藻的 CCM 引入高等植物,需要系统完整的分析方法。前期的工作已经取得了重大的进展,如已将蓝细菌的 Rubisco 转入烟草质体中以改造 C₃ 植物^[48];蓝细菌中的 HCO₃⁻转运蛋白 BicA 也成功地在烟草的质体中表达^[49];衣藻 CCM 蛋白 HLA3、LCIA 和 LCIB 成功在高等植物中表达,衣藻的 Rubisco 成功引入拟南芥中并能在拟南芥中稳定表达^[50];在大肠杆菌中功能性组装完成了卡尔文循环^[51]等。如果要鉴定高等植物中 CCM 的核心成分,可以将 CCM 引入到一个异源的、生长迅速、无 CCM 的光合系统中,如苔藓(小立碗藓)、地钱、植物细胞培养系统或者不含 CCM 的绿藻中。人工建造一套有功能的 CCM 的核心成分对于指导植物基因

工程有重要作用。

未来研究 CCM 功能可以通过杂交系统实现, CCM 成分可取自多种来源的物种, 如绿藻、蓝藻、硅藻、定鞭藻类和角苔。另外, 还可通过合成蛋白质执行特定功能, 如合成 Rubisco 连接体用于匹配连接高等植物的 Rubisco, 合成一种嵌合蛋白用于多种成分的正确组装^[52]。

5 总结与展望

衣藻 CCM 可以增加 Rubisco 周围的 CO₂ 浓度, 从而增强光合效率。衣藻 CCM 中除了典型的 Ci 吸收系统中转运蛋白 HLA3、LCIA 和 CAs 外, 衣藻内还发现了许多新的 Ci 吸收系统, 包括 LCIB/LCIC、LCI1 和未被描述的蛋白, 这些蛋白均是受限 CO₂ 浓度下诱导表达的。对这些蛋白的分子功能及其他 Ci 吸收系统进行研究, 不仅可以更好地理解 CCM, 还可以提供一套完整的方案提高藻类和高等植物获取 Ci 的效率。目前实验室正在研究喀斯特水体中绿藻的 CCM 与非喀斯特水体中绿藻的 CCM 的不同, 以期能为更深入地理解 CCM 补充数据支持。

因为真核藻类和高等维管植物进化上有比较近的亲缘关系、相似的光合作用, 所以真核藻类的 CCM 可能有更大的优势转入高等植物。未来迫切需要一个模型用来指导将衣藻的成分转化到高等植物中。将衣藻 CCM 或者杂交 CCM 引入 C₃ 植物将是一个巨大的挑战, 但是正确利用资源一定能将其变成现实。

因为水生环境的复杂多变, 以衣藻为模式生物对 CCM 的许多研究还不是很系统。从细胞水平和分子水平上对蓝细菌和真核微藻 CCM 机制更详尽的研究以及准确将 CCM 引入高等植物以提高高等植物的光合作用效率将是未来的研究方向。

参考文献

- [1] BENSON A A, CALVIN M. Carbon dioxide fixation by green plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1950, 1(1): 25–42.
- [2] HARRIS E H. *Chlamydomonas* as a model organism[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 363–406.
- [3] GROSSMAN A R, CROFT M, GLADYSHEV V N, et al. Novel metabolism in *Chlamydomonas* through the lens of genomics[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2007, 10(2): 190–198.
- [4] MERCHANT S S, PROCHNIK S E, VALLON O, et al. The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions[J]. *Science*, 2007, 318(5848): 245–250.
- [5] SPALDING M H. Photosynthesis and photorespiration in freshwater green algae[J]. *Aquat Bot*, 1989, 34(1/2/3): 181–209.
- [6] GROSSMAN A R, CATALANOTTI C, YANG W, et al. Multiple facets of anoxic metabolism and hydrogen production in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *New Phytol*, 2011, 190(2): 279–288.
- [7] SPALDING M H. Microalgal carbon-dioxide-concentrating mechanisms: *Chlamydomonas* inorganic carbon transporters[J]. *J Exp Bot*, 2008, 59(7): 1463–1473.
- [8] SPREITZER R J, SALVUCCI M E. RUBISCO: Structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 449–475.
- [9] GIORDANO M, BEARDALL J, RAVEN J A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2005, 56: 99–131.
- [10] SAGE R F, SAGE T L, KOCACINAR F. Photorespiration and the evolution of C₄ photosynthesis[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 19–47.
- [11] PRICE G D, PENGELLY J J L, FORSTER B, et al. The cyanobacterial CCM as a source of genes for improving photosynthetic CO₂ fixation in

- crop species[J]. *J Exp Bot*, 2013, 64(3): 753–768.
- [12] MCGRATH J M, LONG S P. Can the cyanobacterial carbon-concentrating mechanism increase photosynthesis in crop species? A theoretical analysis[J]. *Plant Physiol*, 2014, 164(4): 2247–2261.
- [13] 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]. *J Exp Bot*, 2008, 59(7): 1441–1461.
- [14] WANG Y J, STESSMAN D J, SPALDING M H. The CO₂ concentrating mechanism and photosynthetic carbon assimilation in limiting CO₂: How *Chlamydomonas* works against the gradient[J]. *The plant journal*, 2015, 82(3): 429–448.
- [15] WANG Y J, SPALDING M H. Acclimation to very low CO₂: Contribution of limiting CO₂ inducible proteins, LCIB and LCIA, to inorganic carbon uptake in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Plant Physiol*, 2014, 166(4): 2040–2050.
- [16] COLEMAN J R, LUINENBURG I, MAJEAU N, et al. Sequence analysis and regulation of expression of a gene coding for carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Can J Bot*, 1991, 69(5): 1097–1102.
- [17] BUROW M D, CHEN Z Y, MOUTON T M, et al. Isolation of cDNA clones of genes induced upon transfer of *Chlamydomonas reinhardtii* cells to low CO₂[J]. *Plant Mol Biol*, 1996, 31(2): 443–448.
- [18] OHNISHI N, MUKHERJEE B, TSUJIKAWA T, et al. Expression of a low CO₂-inducible protein, LCI1, increases inorganic carbon uptake in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(9): 3105–3117.
- [19] MORONEY J V, MA Y B, FREY W D, et al. The carbonic anhydrase isoforms of *Chlamydomonas reinhardtii*: Intracellular location, expression, and physiological roles[J]. *Photosynth Res*, 2011, 109(1/2/3): 133–149.
- [20] SPALDING M H. The CO₂-concentrating mechanism and carbon assimilation[M]//HARRIS E H, STERN D B, WITMAN G B. *The Chlamydomonas* sourcebook; Vol 2. 2nd ed. London: Academic Press, 2009: 257–301.
- [21] AMOROSO G, SÜLTEMEYER D, THYSEN C, et al. Uptake of HCO₃⁻ and CO₂ in cells and chloroplasts from the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Dunaliella tertiolecta*[J]. *Plant Physiol*, 1998, 116(1): 193–201.
- [22] WU W, PETERS J, BERKOWITZ G A. Surface charge-mediated effects of Mg²⁺ on K⁺ flux across the chloroplast envelope are associated with regulation of stromal pH and photosynthesis[J]. *Plant Physiol*, 1991, 97(2): 580–587.
- [23] CHEN Z Y, LAVIGNE L L, MASON C B, et al. Cloning and overexpression of two cDNAs encoding the low-CO₂-inducible chloroplast envelope protein LIP-36 from *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Plant Physiol*, 1997, 114(1): 265–273.
- [24] POLLOCK S V, COLOMBO S L, PROUT D L, et al. Rubisco activase is required for optimal photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in a low-CO₂ atmosphere[J]. *Plant Physiol*, 2003, 133(4): 1854–1861.
- [25] ROLLAND N, DORNE A J, AMOROSO G, et al. Disruption of the plastid ycf10 open reading frame affects uptake of inorganic carbon in the chloroplast of *Chlamydomonas*[J]. *EMBO J*, 1997, 16(22): 6713–6726.
- [26] KATO A, LEE K S, FUKUZAWA H, et al. ccmA homologue essential to CO₂ transport in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(9): 4006–4010.
- [27] PRICE G D, MAEDA S I, OMATA T, et al. Modes of active inorganic carbon uptake in the cyanobacterium, *Synechococcus* sp. PCC7942[J]. *Funct Plant Biol*, 2002, 29(3): 131–149.
- [28] YAMANO T, TSUJIKAWA T, HATANANO K, et al. Light and low-CO₂-dependent LCIB-LCIC complex localization in the chloroplast supports the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51(9): 1453–1468.
- [29] MORONEY J V, YNALVEZ R A. Proposed carbon dioxide concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Eukaryot Cell*, 2007, 6(8): 1251–1259.
- [30] WANG Y J, SPALDING M H. An inorganic carbon transport system responsible for acclimation specific to air levels of CO₂ in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(26): 10110–10115.
- [31] FREEMAN ROSENZWEIG E S, XU B, CUELLAR L K, et al. The eukaryotic CO₂-concentrating organelle is liquid-like and exhibits dynamic reorganization[J]. *Cell*, 2017, 171(1): 148–162.

参考文献

- [1] 王珍,冯浩. 秸秆不同还田方式对土壤入渗特性及持水能力的影响[J]. 农业工程学报, 2010, 26(4): 75-80.
- [2] 李清泉. 秸秆还田技术应用发展现状与前景分析[J]. 中国农村小康科技, 2008(9): 10-11.
- [3] 潘剑吟, 代万安, 尚占环, 等. 秸秆还田对土壤有机质和氮素有效性影响及机制研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(5): 526-535.
- [4] 朱利群, 张大伟, 卞新民. 连续秸秆还田与耕作方式轮换对稻麦轮作田土壤理化性状变化及水稻产量构成的影响[J]. 土壤通报, 2011, 42(1): 81-85.
- [5] 王允青, 王静, 郭熙盛, 等. 不同水分条件下连续多年秸秆还田对水稻、油菜产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(24): 11464-11465.
- [6] 刘禹池, 冯文强, 秦鱼生, 等. 长期秸秆还田与施肥对成都平原稻-麦轮作下作物产量和土壤肥力的影响[J]. 西南农业学报, 2015, 28(1): 240-247.
- [7] 张翰林, 吕卫光, 郑宪清, 等. 不同秸秆还田年限对稻麦轮作系统温室气体排放的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(3): 302-308.
- [8] RICE E L. Allelopathy [M]. 2nd edition. New York: Academic Press, 1984.
- [9] SEAL A N, PRATLEY J E, HAIG T, et al. Identification and quantitation of compounds in a series of allelopathic and non-allelopathic rice root exudates[J]. Journal of chemical ecology, 2004, 30(8): 1647-1662.
- [10] 周艳丽, 程智慧, 孟焕文. 大蒜根系分泌物对不同受体蔬菜的化感作用[J]. 应用生态学报, 2007, 18(1): 81-86.
- [11] QI Y Z, ZHEN W C, LI H Y. Allelopathy of decomposed maize straw products on three soil-borne diseases of wheat and the analysis by GC-MS[J]. Journal of integrative agriculture, 2015, 14(1): 88-97.
- [12] 曾任森, 林家联, 骆世明, 等. 螻蛄的生化他感作用及生化他感作用物的分离鉴定[J]. 生态学报, 1996, 16(1): 20-27.
- [13] 王大力, 祝心如. 三裂叶豚草的化感作用研究[J]. 植物生态学报, 1996, 20(4): 330-337.
- [14] 马瑞霞, 刘秀芬, 袁光林, 等. 小麦根区微生物分解小麦残体产生的化感物质及其生物活性的研究[J]. 生态学报, 1996, 16(6): 632-639.
- [15] 杨善元, 俞子文, 孙文浩, 等. 凤眼莲根系中抑菌物质分离与鉴定[J]. 植物生理学报, 1992, 18(4): 399-402.
- [16] 刘秀芬, 马瑞霞. 根际区他感化学物质的分离、鉴定与生物活性的研究[J]. 生态学报, 1996, 16(1): 1-10.
- [17] 阎飞, 杨振明, 韩丽梅. 植物化感作用(Allelopathy)及其作用物的研究方法[J]. 生态学报, 2000, 20(4): 692-696.
- [18] 华中农学院土壤农化教研组, 华中农学院化学教研组. 用分配薄层层析测定土壤中挥发性有机酸——影响水稻早发的土壤障碍因素诊断技术之一[J]. 湖北农业科学, 1976, 15(12): 33-36.
- [19] 孙文浩, 余叔文, 杨善元, 等. 凤眼莲根系分泌物中的克藻化合物[J]. 植物生理学报, 1993, 19(1): 92-96.
- [20] 黎海彬, 李小明. 大孔吸附树脂及其在天然产物研究中的应用[J]. 广东化工, 2005, 32(3): 22-25.
- [21] TANG C S, YOUNG C C. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of bigalga limpgrass (*Hemarthria altissima*) [J]. Plant physiology, 1982, 69(1): 155-160.
- [22] 严衍祿. 现代仪器分析[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1995: 51-194.
- [23] 胡帅珂. 水稻秸秆化感物质对水稻生长发育的影响及消除化感影响的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- [24] CHUNG I M, AHN J K, YUN S J. Identification of allelopathic compounds from rice (*Oryza sativa* L.) straw and their biological activity[J]. Canadian journal of plant science, 2001, 81(4): 815-819.
- [25] 李波, 魏亚凤, 季桦, 等. 水稻秸秆还田与不同耕作方式下影响小麦出苗的因素[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2013, 34(2): 60-63.
- [26] 张斯梅, 顾克军, 许博, 等. 稻秸还田与播种方式影响小麦出苗及产量的大田试验研究[J]. 中国农学通报, 2016, 32(33): 29-33.
- [27] 李波, 魏亚凤, 薛亚光, 等. 稻草浸提液对小麦种子萌发及幼苗生长的化感效应[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(31): 18-19, 22.
- [28] 李波, 杨阳, 曹文韬, 等. 稻秆浸提液对小麦根尖和胚乳结构及幼苗生长的影响[J]. 南方农业学报, 2018, 49(11): 2162-2168.
- [29] 董雪芳, 李俊, 赖运平, 等. 水稻秸秆浸提液对小麦幼苗的化感作用[J]. 西华师范大学学报(自然科学版), 2010, 31(2): 144-147, 153.
- [30] 李逢雨, 孙锡发, 冯文强, 等. 水稻秸秆水浸提液对小麦的化感作用研究[J]. 西南农业学报, 2008, 21(4): 960-964.
- [31] 李波, 刘建, 熊飞, 等. 稻秆还田量对盆栽越冬小麦生理特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2012, 32(5): 937-940.
- [32] 李波, 刘建, 熊飞, 等. 稻秆还田深度对盆栽越冬小麦结构和生理特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2012, 32(4): 722-727.
- [33] 季陆鹰, 葛胜, 朱伟, 等. 稻秸秆不同还田方式对小麦生育进程及产量的影响[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(4): 79-80.
- [34] WANG H X, GAU B, SLADE W O, et al. The global phosphoproteome of *Chlamydomonas reinhardtii* reveals complex organellar phosphorylation in the flagella and thylakoid membrane [J]. Mol Cell Proteomics, 2014, 13(9): 2337-2353.
- [35] ZAFFAGNINI M, BEDHOMME M, GRONI H, et al. Glutathionylation in the photosynthetic model organism *Chlamydomonas reinhardtii*: A proteomic survey [J]. Mol Cell Proteomics, 2012, 11(2): 1-15.
- [36] METTLER T, MÜHLHAUS T, HEMME D, et al. Systems analysis of the response of photosynthesis, metabolism, and growth to an increase in irradiance in the photosynthetic model organism *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant Cell, 2014, 26(6): 2310-2350.
- [37] MORISSE S, MICHELET L, BEDHOMME M, et al. Thioredoxin-dependent redox regulation of chloroplast phosphoglycerate kinase from *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. J Biol Chem, 2014, 289(43): 30012-30024.
- [38] 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.
- [39] 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.
- [40] 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.
- [41] PENGELLY J J, FÖRSTER B, VON CAEMMERER S, et al. Transplastomic integration of a cyanobacterial bicarbonate transporter into tobacco chloroplasts [J]. J Exp Bot, 2014, 65(12): 3071-3080.
- [42] ATKINSON N, LEITÄN, ORR D J, et al. Rubisco small subunits from the unicellular green alga *Chlamydomonas* complement Rubisco-deficient mutants of *Arabidopsis* [J]. New Phytol, 2017, 214(2): 655-667.
- [43] ANTONOVSKY N, GLEIZER S, NOOR E, et al. Sugar synthesis from CO₂ in *Escherichia coli* [J]. Cell, 2016, 166(1): 115-125.
- [44] 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]. Plant Cell, 2015, 27(9): 2637-2644.

(上接第25页)

- [32] MUKHERJEE A, MORONEY J V. How protein-protein interactions contribute to pyrenoid formation in *Chlamydomonas* [J]. J Exp Bot, 2019, 70(19): 5033-5035.
- [33] MEYER M T, GENKOV T, SKEPPER J N, et al. Rubisco small-subunit α -helices control pyrenoid formation in *Chlamydomonas* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(47): 19474-19479.
- [34] SHUTOVA T, KENNEWEG H, BUCHTA J, et al. The photosystem II-associated Cah3 in *Chlamydomonas* enhance the O₂ evolution rate by proton removal [J]. EMBO J, 2008, 27(5): 782-791.
- [35] BLANCO-RIVERO A, SHUTOVA T, ROMÁN M J, et al. Phosphorylation controls the localization and activation of the luminal carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. PLoS One, 2012, 7(11): 1-10.
- [36] ENGEL B D, SCHAFFER M, CUELLAR L K, et al. Correction: Native architecture of the *Chlamydomonas* chloroplast revealed by *in situ* cryo-electron tomography [J/OL]. eLife, 2015, 4[2020-03-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26367339/>. doi: 10.7554/eLife.11383.
- [37] MA Y B, POLLOCK S V, XIAO Y, et al. Identification of a novel gene, CIA6, required for normal pyrenoid formation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant Physiol, 2011, 156(2): 884-896.
- [38] ITAKURA A K, CHAN K X, ATKINSON N, et al. A Rubisco-binding protein is required for normal pyrenoid number and starch sheath morphology in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(37): 18445-18454.
- [39] BRUEGGEMAN A J, GANGADHARAIHA D S, CSERHATI M F, et al. Activation of the carbon concentrating mechanism by CO₂ deprivation coincides with massive transcriptional restructuring in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant Cell, 2012, 24(5): 1860-1875.
- [40] FANG W, SI Y Q, DOUGLASS S, et al. Transcriptome-wide changes in *Chlamydomonas reinhardtii* gene expression regulated by carbon dioxide and the CO₂-concentrating mechanism regulator CIA5/CCM1 [J]. Plant Cell, 2012, 24(5): 1876-1893.
- [41] TURKINA M V, BLANCO-RIVERO A, VAINONEN J P, et al. CO₂ limitation induces specific redox-dependent protein phosphorylation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Proteomics, 2006, 6(9): 2693-2704.