

DOI: 10.13376/j.cbls/20240151

文章编号: 1004-0374(2024)10-1226-14



彭新湘, 华南农业大学生命科学学院二级教授、博士研究生导师。1983年于湖南农业大学获农学学士学位, 1986、1989年于华南农业大学分别获理学硕士、博士学位。1989年至今在华南农业大学从事科研与教学工作, 其间在国际水稻研究所、美国旧金山州立大学和康奈尔大学开展博士后和访学研究。长期致力于植物光合作用与高光效机理及应用研究, 在重构光呼吸通路创制高光效作物研究方面取得重要进展。近五年来, 在 *Molecular Plant*、*Plant Physiology*、*The Plant Journal*、*Journal of Experimental Botany* 等核心学术期刊发表多篇研究论文。

## 光呼吸演化、调控与遗传改良

朱国辉, 张智胜, 彭新湘\*

(华南农业大学生命科学学院, 广州 510642)

**摘要:** 光呼吸代谢起始于核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco) 的加氧酶活性, 代谢其加氧反应产生的 2-磷酸乙醇酸 (2-PG) 并实现有机碳的回收。从演化角度看, 光呼吸的出现是植物适应地球高氧和低二氧化碳环境的必然结果, 它提高了植物对变化环境的适应能力, 但降低了光合效率和生产力。此外, 目前认为光呼吸不仅仅是一条代谢补救途径, 而是整合到了植物整体代谢网络, 影响有氧环境下植物光合作用等基础代谢。调节和遗传改良光呼吸代谢, 是提高植物光合效率的有效途径。本文综述了近年来光呼吸演化、代谢调控以及遗传改良等方面的研究进展, 对未来通过调控光呼吸以开展作物高光效改良进行了展望。

**关键词:** 光合作用; 光呼吸; 演化; 代谢调控; 遗传改良; 高光效

**中图分类号:** Q945.1 **文献标志码:** A

## Photorespiration evolution, regulation, and genetic improvement

ZHU Guo-Hui, ZHANG Zhi-Sheng, PENG Xin-Xiang\*

(College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Photorespiration originates metabolically from the oxygenase activity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco), which metabolizes 2-phosphoglycolate (2-PG) produced by the oxygenation reaction of Rubisco to recycle organic carbon. From an evolutionary perspective, the emergence of photorespiration is inevitable for plants to adapt to the high oxygen and low carbon dioxide environment on the earth. Photorespiration improves plant adaptability to changing environments but reduces photosynthetic efficiency and productivity. Current research suggests that photorespiration is not only a metabolic repair pathway, but is integrated into the whole metabolic network of plants, influencing plant primary metabolism such as photosynthesis in aerobic environments. Regulating and genetically improving photorespiration is considered to be an effective approach to

收稿日期: 2024-02-01; 修回日期: 2024-04-01

基金项目: 国家重点研发计划(2020YFA0907600); 国家自然科学基金项目(32070265, 32270252)

\*通信作者: E-mail: xpeng@scau.edu.cn

improve photosynthetic efficiency. This article focuses on the research progresses in the evolution, regulation, and genetic improvement of photorespiration. Some prospects for improving the photosynthetic efficiency of crops by manipulating photorespiration metabolism are proposed.

**Key words:** photosynthesis; photorespiration; evolution; metabolic regulation; genetic improvement; high photosynthetic efficiency

光呼吸是光养生物在光下吸收 O<sub>2</sub> 释放 CO<sub>2</sub> 的过程, 源于核酮糖 -1,5- 二磷酸羧化酶 / 加氧酶 (Rubisco) 的加氧反应。Rubisco 催化核酮糖 -1,5- 二磷酸 (RuBP) 羧化反应生成 3- 磷酸甘油酸 (3-PGA), 后者进入光合碳循环实现碳固定; 催化 RuBP 加氧反应生成 3-PGA 和 2- 磷酸乙醇酸 (2-PG)。2-PG 是光合碳循环多种酶的抑制剂, 对光合作用可产生负调控作用<sup>[1-2]</sup>。光呼吸代谢以 2-PG 为起始底物, 催化 2 分子 2-PG 最终再生为 1 分子 3-PGA, 此过程可以对 2-PG 进行解毒, 同时实现对 75% 有机碳的回收<sup>[3]</sup>。

植物光呼吸已经历 25 亿 ~32 亿年的演化历程, 现在认为, 光呼吸不仅仅只是一条 2-PG 代谢的补救途径, 而且是植物在有氧环境下生长发育所必需的代谢过程。一方面, 光呼吸整合到了植株整体代谢网络, 影响植物光合作用、呼吸作用、氮同化、一碳代谢和细胞氧化还原平衡等基础代谢<sup>[4-5]</sup>。另一方面, 光呼吸参与生物和非生物胁迫响应, 是植物应对环境胁迫的重要组成部分<sup>[6-8]</sup>。因此, 精准调节光呼吸代谢是维持植物高效光合作用和环境适应性的重要机制。

光呼吸与光合作用固定 CO<sub>2</sub> 过程同时发生, 是 C<sub>3</sub> 植物中仅次于光合作用的第二大代谢流<sup>[9]</sup>。在大气环境条件下, 光呼吸可降低 C<sub>3</sub> 植物 20%~30% 的光合效率<sup>[10]</sup>。鉴于光呼吸碳损耗和高耗能的特性, 优化光呼吸代谢被认为是提高植物光合效率的一个关键突破口。近年来, 科学家在 Rubisco 改良和光呼吸支路重构等方面取得重要进展。本文将系统总结近年来光呼吸演化、代谢调控和遗传改良方面的研究进展, 并对未来作物高光效改良等提出一些思考。

## 1 光呼吸的演化

谈光呼吸的演化问题, 一定绕不开 Rubisco, 从其命名便可知它具有羧化与加氧双重催化活性。Rubisco 起源于约 35 亿年前一种产甲烷的古细菌<sup>[11-12]</sup>, 推测其祖先是一种在 5'- 甲硫腺苷循环代谢中起催化作用的古烯醇酶<sup>[13-14]</sup>。至今已分辨出四种不同类

型的 Rubisco, 通常表示为 I~IV, 其中 IV 没有羧化酶活性, 所以自然界光养生物中存在的为类型 I、II、III。类型 III 可能是其他几种类型的共同祖先, 但也有证据表明类型 I~III 是由类型 IV 演化而来<sup>[14-15]</sup>。Rubisco 起源时环境中几乎没有氧, 仅有的极微量氧气来自于紫外线对水的光解作用, 其浓度仅为现在氧浓度的 10<sup>-14</sup><sup>[16]</sup>, 而 CO<sub>2</sub> 浓度却是现在的 100 倍以上<sup>[17]</sup>。正因为当时缺少选择压, 即高浓度 CO<sub>2</sub> 和缺 O<sub>2</sub> 环境, 导致起源时的 Rubisco 对 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的分辨特异性差, 也就是说, 在结构水平与催化机制方面 Rubisco 没有严格区分 CO<sub>2</sub> 与 O<sub>2</sub> 的能力。但由于当时极低的氧浓度, 其实际加氧反应是可以忽略不计的。

大约 27 亿年前, 随着蓝细菌放氧光合的出现, 大气 CO<sub>2</sub> 开始被固定至生物质, 部分沉积或不再返回全球碳循环<sup>[17]</sup>。与此同时, 光合作用以 H<sub>2</sub>O 作为还原剂, 通过光反应产生等量的氧释放至其局部环境和大气中<sup>[18]</sup>。因此, 蓝细菌、藻类植物, 尤其是随之演化而来的陆生植物, 协力将大气氧浓度提升至了现今的水平 (21%), 而 CO<sub>2</sub> 浓度下降到原来的 1/100<sup>[17, 19]</sup>。因为大气 CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> 比值的急剧下降, 强大的选择压虽然使 Rubisco 对 CO<sub>2</sub> 的特异性有所提高, 譬如, 某些厌氧光合细菌 Rubisco 的速率特异比 (*S<sub>co</sub>*) 为 15, 蓝细菌为 50~60, 陆生植物可达 80~130, 均值为 100 左右。但遗憾的是, 研究发现 Rubisco 速率特异比的提高总是以降低其最大羧化反应速率为代价<sup>[20-21]</sup>。尽管仍有科学家认为 Rubisco 的加氧反应是其起源时缺氧环境下产生的一种缺陷或失误, 但也有研究表明现今的 Rubisco 已趋近完美状态<sup>[20]</sup>。因此, Rubisco 的基因工程改造能否完成几十亿年来强选择压力下所没有完成的任务, 仍要拭目以待。

随着系统学研究的进展, 越来越多的证据表明光呼吸是伴随着古蓝细菌的放氧光合而共同演化<sup>[22-23]</sup>。这一假设首先是依据光呼吸的许多酶与蓝细菌中的蛋白同源<sup>[24-25]</sup>, 并且认为只有在放氧光合出现后, 随着大气氧的递增使 Rubisco 周围的氧浓度升高, 才会激发其加氧反应产生 2-PG。但也有学者反驳

认为,地球有相当长的时期是处于一种缺氧状态,蓝细菌光合释放的氧气会快速释放扩散至大气中而被稀释。因此,直至23亿~24亿年前大气氧浓度才有一次爆发式提升,史称大氧化事件(Great Oxidant Events, GOE),但浓度也只有现在氧浓度的1/100左右(0.2%~0.3%),并且这一浓度持续了长达20亿年之久<sup>[23]</sup>。因此早先的观点认为,光呼吸是在5亿年前陆生植物定植大陆和大量繁衍后才得以演化,因为直至那时大气氧浓度才提升至接近现今的水平(21%)。但有新的证据表明,尽管蓝细菌放氧光合出现后相当一段时间的大气氧浓度依然相对较低,但海洋微生物群落形成了一种垫子式叠层结构(microbial mats or mat-building microbes),类似于现代的叠层岩结构,表面被胞外多糖和无机沉积物覆盖<sup>[9, 26-27]</sup>。在这种条件下,光合作用产生的氧气可能大量富集于密集的蓝细菌群落结构内部,导致Rubisco周围的氧浓度会相当高<sup>[23]</sup>,于是加氧反应产生大量2-PG就不可避免。由于2-PG对细胞有毒性作用,在蓝细菌中共演化出一条原初的光呼吸通路以消除其毒害似乎是情理之中。

现已知在蓝细菌中主要存在两条彼此部分冗余的2-PG代谢途径:即类似于植物的光呼吸途径和细菌甘油酸途径<sup>[22, 28]</sup>。此外,在部分蓝细菌菌株中还发现一条乙醛酸氧化脱羧途径,即在草酸脱羧酶和甲酸脱氢酶的协同作用下将乙醛酸完全氧化为CO<sub>2</sub><sup>[22, 28]</sup>。蓝细菌中这些代谢2-PG途径的发现令科学家非常意外,因为已知蓝细菌有CO<sub>2</sub>浓缩机制(CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism, CCM),所以长期认为诸如蓝细菌、藻类植物、C<sub>4</sub>植物等的光呼吸很弱,无需存在代谢2-PG的途径,也不应该有所谓的光呼吸表型。然而,利用CCM型生物的光呼吸突变体研究证明,它们也像C<sub>3</sub>植物一样,在空气中生长严重受阻甚至致死,只能在高浓度CO<sub>2</sub>环境中生长<sup>[22, 29-30]</sup>。由此看来,光呼吸功能在所有放氧光合生物中似乎是不可或缺的。

拟南芥中所有涉及光呼吸代谢的蛋白都与蓝细菌集胞藻6803的基因组有亲缘关系,并且它们都与代谢2-PG相关<sup>[28]</sup>,因此现行的观点认为,15亿年前蓝细菌通过原初内共生事件的发生,将其放氧光合与光呼吸一同转移至了某种真核藻类植物中,也从此开启了高等植物光合作用与光呼吸的演化之旅<sup>[22, 31-33]</sup>。但随着研究的进一步深入,发现大多数光呼吸酶可以溯源至更早的原核祖先古蓝细菌和古变形菌<sup>[24]</sup>。因此认为,光呼吸酶为混合式双重起源,

其中Rubisco、甘油酸激酶(glycerate kinase, GLYK)和乙醇酸氧化酶(glycolate oxidase, GLO/GOX)起源于蓝细菌,而甘氨酸脱羧酶(glycine decarboxylase, GDC)、丝氨酸羟甲基转移酶(serine hydroxymethyltransferase, SHMT)、羟基丙酮酸还原酶(hydroxypyruvate reductase, HPR)和谷氨酸:乙醛酸氨基转移酶(glutamate:glyoxylate aminotransferase, GGAT)则由变形菌起源<sup>[25, 31, 34]</sup>。但也有证据显示,陆生植物GLO是由真核生物最后的共有祖先的一个基因遗传而来,而该基因本身又是从细菌的乳酸氧化酶衍生而来<sup>[35]</sup>。光呼吸酶由蓝细菌和变形菌双重起源的理论似乎与现代陆生植物光呼吸和光合作用是从蓝细菌共演化而来的观点不太相符。但已有越来越多的证据表明,现代陆生植物基因组来自不同内共生事件,不但有起源于洛基古菌祖先的真核寄主细胞的基因,而且多数来自古蓝细菌和古变形菌的内共生事件<sup>[27, 32-33, 36]</sup>。因此,变形菌(线粒体祖先)对现代植物光呼吸的贡献可以理解为,虽然蓝细菌中GDC、SHMT、HPR和GGAT的同源基因通过原初内共生事件应该是一同转移至了真核寄主中,但因为与真核寄主线粒体中已存的基因功能冗余,以致在随后的内共生基因转移(EGT)和原藻基因组分离过程中,蓝细菌自身某些酶的基因拷贝丢失<sup>[27]</sup>,只有很少量保留了下来,如GDC中L亚基的一个拷贝是蓝细菌起源的<sup>[25]</sup>。但进一步的问题是,蓝细菌光呼吸的酶又源自哪里?基因组比对分析发现,光呼吸酶基因的同源序列在大多数异养细菌基因组中都能找到,因此认为代谢2-PG的酶可能还早于放氧光合的演化<sup>[25, 27]</sup>。

## 2 光呼吸代谢调控

光呼吸代谢源于Rubisco的加氧反应。从源头上看,光呼吸通量受Rubisco加氧酶活性及其周围O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>分压的影响。光呼吸基因和代谢酶也受到各个层面的调控,以协调植物适应不同环境所需的光呼吸通量。

### 2.1 光和CO<sub>2</sub>对光呼吸基因的调节

光呼吸是植物在光照条件下发生的代谢过程,与光合作用基因类似,许多光呼吸基因具有光响应元件(light-responsive elements, LREs),介导光诱导的基因表达<sup>[37]</sup>。Genvestigator数据库转录谱显示,拟南芥光呼吸核心酶编码基因的转录表达几乎都会受到光诱导,包括光呼吸核心酶编码基因PGLP1、HPRI、GGT1、SGAT、SHMI和GDC-H/P/L/T,以



及光呼吸氮循环相关基因 *GS2* 和 *GLU1*<sup>[38-39]</sup>。相反, 这些基因的转录表达均被渗透胁迫和低硝酸盐处理抑制<sup>[38]</sup>, 这也说明光呼吸基因通常以整体上调或下调的方式响应环境变化。光呼吸基因转录表达受到高光、高温和干旱等胁迫的诱导上调, 参与植物对逆境胁迫的响应<sup>[6, 8]</sup>。光呼吸是消耗能量和还原力的代谢过程, 正常光照条件下可消耗 C<sub>3</sub> 植物 32% ATP 和 28% NADH, 逆境条件下此比例更高<sup>[40]</sup>。逆境胁迫下光呼吸通过消耗过剩的能量和还原力, 可阻止细胞活性氧 (ROS) 积累, 增强植物的抗逆性。研究表明, 过量表达拟南芥 *PGLP1*、*HPR1* 或水稻 *GLO1*, 可以增强植物对高温、高光等非生物胁迫的抗逆性, 提高逆境下光合作用效率<sup>[41-43]</sup>。

在波动光或光暗转换环境下, 植物的光呼吸基因可能产生可变剪接或者启动子可变选择, 并影响光呼吸代谢。拟南芥 *GLYK* 基因存在受光敏素调控的可变启动子, 可在不同转录起始位点转录出不同长度的 mRNA, 产生具有不同 N- 端的蛋白质异构体。光照条件下转录的长 mRNA 编码质体定位的 ptGLYK, 暗条件下转录的短 mRNA 编码胞质定位的 cytGLYK<sup>[44]</sup>。cytGLYK 催化细胞质中甘油酸生成 3-PGA, 后者再进入光合碳循环, 构成了一条光呼吸旁路。胞质 GLYK 旁路减少了叶绿体中的 ATP 消耗, 增加了 ATP/NADPH 比例, 可减轻波动光诱导的光抑制作用<sup>[44]</sup>。拟南芥和水稻中都存在两种 HPR 蛋白, 即过氧化物酶体定位的 HPR1 和胞质定位的 HPR2, 分别由不同基因编码<sup>[45-46]</sup>。而南瓜的两个 HPR 异构体则由同一个前体 mRNA 通过内含子可变剪接产生: HPR1 定位于过氧化物酶体, HPR2 则位于细胞质中, 其合成受发育阶段和光信号的调节<sup>[47]</sup>。通过形成不同转录本或对原初转录本的可变剪接, 可灵活高效地控制光呼吸基因的表达种类、数量以及亚细胞定位, 调节光呼吸代谢。

大气 CO<sub>2</sub> 是影响植物光合作用和光呼吸的重要环境因子。一方面, 高浓度 CO<sub>2</sub> 促进 Rubisco 羧化酶活性, 提高植物光合速率和碳的固定; 另一方面, 通过与 O<sub>2</sub> 竞争 Rubisco 酶活性中心, 高浓度 CO<sub>2</sub> 可抑制植物光呼吸代谢<sup>[48]</sup>。研究表明, 提高环境 CO<sub>2</sub> 浓度短期内可显著提升 C<sub>3</sub> 植物的光合速率, 而长期生长于高浓度 CO<sub>2</sub> 下会出现 CO<sub>2</sub> 适应 (CO<sub>2</sub> acclimation) 现象, 即植物光合速率下降、生长减缓<sup>[49-50]</sup>。有研究认为 CO<sub>2</sub> 适应现象与光呼吸的抑制有关, 因光呼吸促进叶绿体中苹果酸向外转运, 后者在细胞质中可为硝酸还原提供反应所需的

NADH, 当光呼吸受抑时会抑制硝酸还原和氮的同化作用<sup>[51-52]</sup>。

不同 CO<sub>2</sub> 浓度直接调节 Rubisco 羧化 / 加氧活性, 还影响光呼吸基因的表达。转录组数据显示, 莱茵衣藻中大多数光呼吸基因的转录水平被低浓度 CO<sub>2</sub> 诱导上调<sup>[42]</sup>; 然而, 在拟南芥中, 无论是短时间从高浓度 CO<sub>2</sub> (1% CO<sub>2</sub>, 低光呼吸) 转移到大气 CO<sub>2</sub> 环境 (0.04% CO<sub>2</sub>, 高光呼吸), 或是长时间高浓度 CO<sub>2</sub> 适应, 均未显著改变光呼吸基因的转录表达<sup>[53-54]</sup>, 这也暗示 CO<sub>2</sub> 对植物光呼吸代谢的调节存在多样的方式, 比如对光呼吸酶的过硫化修饰等<sup>[55-56]</sup>。

## 2.2 蛋白质翻译后修饰调节光呼吸代谢酶

随着蛋白质组学技术的发展, 大量潜在的具有翻译后修饰 (post-translational modification, PTM) 的肽段得到鉴定, 这些修饰包括蛋白质磷酸化、泛素化、乙酰化, 以及氧化还原修饰例如亚硝基化、谷胱甘肽化、次磺酸化、过硫化修饰和二硫键形成等。其中, 磷酸化修饰和氧化还原修饰是光呼吸酶最为常见的 PTM 形式 (表 1)。

### 2.2.1 磷酸化修饰光呼吸酶

根据数据库 Plant PTM Viewer (<https://www.psb.ugent.be/webtools/ptm-viewer>)<sup>[57]</sup>, 几乎所有的光呼吸酶都有潜在的磷酸化修饰位点 (表 1), 但目前只有少数几个得到确认及功能研究。

拟南芥 SHMT1 第 31 位丝氨酸 (Ser31) 是潜在的磷酸化修饰位点, 将此氨基酸模拟磷酸化 (S31D) 或非磷酸化 (S31A) 转化 *shmt1-1* 突变体, 均能恢复突变体黄化矮小的表型; 然而, 在盐或干旱胁迫时, S31D 互补株系出现严重的生长缺陷; 研究显示, Ser31 磷酸化 SHMT1 蛋白的稳定性下降, 其酶活性降低<sup>[60]</sup>。拟南芥 HPR1 第 335 位酪氨酸 (Tyr335) 模拟磷酸化 (T335D) 或非磷酸化 (T335A) 转化 *hpr1-1* 突变体, 发现 T335A 能完全回补 *hpr1-1* 光呼吸表型, 而 T335D 互补株系则不能, 表明 Tyr335 磷酸化调节拟南芥 HPR 酶活性<sup>[61]</sup>。对拟南芥和玉米 GLO 潜在的磷酸化位点进行突变, 体外表达蛋白后进行酶活性测定, 发现拟南芥 GLO 模拟磷酸化突变 (T4D、T158D 和 T265D) 抑制其酶活性, 玉米对应位点也呈现类似的特点<sup>[62]</sup>。有研究表明, 水稻 MAPK2 (mitogen-activated protein kinase 2) 与光呼吸酶 GLO 和 HPR 存在相互作用, 可磷酸化修饰 GLO 和 HPR 并降低其酶活性; 研究还发现, *mapk2* 突变体光呼吸速率下降, 光呼吸代谢中间产物积累减少, 证实 MAPK2 是一个光呼吸相关蛋白激酶<sup>[63]</sup>。

表1 拟南芥中光呼吸酶常见的翻译后修饰形式及其位点

基因号	蛋白	磷酸化	亚硝基化(-SNO)	谷胱甘肽化(S-SSG)	次磺酸化(S-SOH)	二硫键(S-S)
AtCG00490	RBCL	S10 S208 S228 S321 S341 S359 T23 T26 T34 T147 T173 T246 T330 T342 T466 T471	C172 C192 C221 C247 C284 C427 C459	C172 C247 C427	C172 C192 C221 C247 C427	C192 C284 C449
At1G67090	RBCS1A	S79 S113 S135 S177 T77 T133 T162 T179	C96 C132 C145 C167		C132 C145 C167	C167
At5G38430	RBCS1B	S32 S135 T113 T133 T162	C96 C132 C145		C132 C145	
At5G38420	RBCS2B	S32 S77 S135 T113 T133 T162	C96 C132 C145 C167		C132 C145	
At5G38410	RBCS3B	S48 S77 S135 T113 T133 T162	C96 C132 C145 C167		C132 C145	
At5G36700	PGLP1	S38 T122 S356	C239 C320			
At3G14420	GOX1	S201 S212 S364 T158 T355 T360				C343
At3G14415	GOX2	T158 S201 S212				C343
At1G23310	GGAT1	S275 T399	C18 C226 C239 C297 C377 C382 C417		C149 C226 C239 C417	C149
At1G11860	GDC-T	S174 S268 S331 S337 S393	C75 C151		C75	C75 C88 C151 C276
At4G33010	GDC-P1	T49 T92 S476 S1002	C98 C245 C463 C777 C943	C98 C402 C463 C777 C943 C1022	C463 C777 C943	C569 C777
At2G26080	GDC-P2	S46 S47 S1008	C251 C469 C783 C949		C783 C949 C1028	C575 C783
At1G48030	GDC-L1	S19 S31 S190 S319 T318	C71 C82 C372		C87 C372	C71 C82 C87 C372
At3G17240	GDC-L2	S190 S319 T318	C71 C82 C372 C483		C87 C372	C71 C82 C87 C372
At2G35370	GDC-H1	S120 S140 S141				C158
At1G32470	GDC-H3	S21 S30 S121 S142				C159
At4G37930	SHMT1	S12 S13 S26 S232 T46	C125			
At2G13360	SGAT	S37 S215	C142 C297			C181
At1G68010	HPR1	S228 S229 S365	C38 C43 C271			
At1G79870	HPR2	S45			C86	
At1G80380	GLYK	T222 T223				C160

注：数据来源于Plant PTM Viewer 2.0<sup>[57]</sup>以及文献Keech等(2017)<sup>[58]</sup>和Hodges (2022)<sup>[59]</sup>。

### 2.2.2 氧化还原修饰光呼吸酶

光依赖的蛋白质氧化还原修饰广泛参与光合作用相关的代谢过程，包括光合电子传递、Rubisco活化、光合碳循环、叶绿素和淀粉合成等，从而实现植物多条代谢途径的协同运行和对光能的高效利用<sup>[64-66]</sup>。光呼吸也是光依赖的代谢过程，目前对光

呼吸酶的氧化还原修饰研究不多。

氧化还原蛋白质组学数据表明，几乎所有的光呼吸代谢酶都可以被巯基参与的氧化还原所调节(表1)。线粒体甘氨酸脱羧酶(GDC)是光呼吸代谢调控的关键酶，也是氧化还原调节的主要靶点<sup>[67]</sup>。组学数据表明，GDC亚基(GDC-H/L/P)受到亚硝

基化、谷胱甘肽化和过硫化修饰, GSNO (NO 供体) 处理抑制 GDC 酶活性<sup>[68-69]</sup>。拟南芥 *er-ant1* 突变体中甘氨酸和 ROS 积累, 呈现典型的光呼吸表型; 其机制可能是过量积累的 ROS 通过氧化修饰 GDC 亚基, 降低了 GDC 酶活性<sup>[70]</sup>。蛋白质组学数据显示, 光呼吸酶广泛存在硫化氢 (H<sub>2</sub>S) 介导的过硫化修饰, 尤其是在非光呼吸条件下 (0.7% CO<sub>2</sub>); 光呼吸酶的过硫化修饰影响其酶活性, 比如, 外源 NaHS (H<sub>2</sub>S 供体) 处理可以显著提高谷氨酰胺合成酶 (GS)、HPR 和 GLO 酶活性<sup>[67-68]</sup>。此外, 蛋白质互作数据也为光呼吸酶的氧化还原调节提供了新的线索, 比如, 拟南芥 PGLP1 与叶绿体内氧化还原作用因子 2-Cys PRX (2-Cys-peroxiredoxin)、NTRC (NADPH-Trx reductase C) 存在互作<sup>[71-72]</sup>。

光呼吸酶的氧化还原修饰或许不是直接发生的, 而是通过硫氧还蛋白 (Trx) 或谷氧还蛋白 (Grx) 介导完成。植物 Trxs 种类众多, 分布广泛, 拟南芥包含 7 个亚家族 (Trx *h*、*o*、*f*、*m*、*x*、*y*、*z*) 20 多种不同的异构体, 分别定位在叶绿体、线粒体、细胞核、内质网和细胞质<sup>[66]</sup>。研究表明, 拟南芥线粒体定位的 Trx *o1* 和 Trx *h2* 介导 GDC-L/mtLPD1 的氧化还原修饰, 调节 mtLPD 酶活性和光呼吸代谢<sup>[73-74]</sup>。有意思的是, mtLPD 不仅是 GDC 的亚基, 同时也是线粒体丙酮酸脱氢酶和  $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶的亚基。在这些酶系统中, mtLPD 负责将电子传递给 NAD<sup>+</sup> 形成 NADH, 因此, Trx *o1*、Trx *h2* 可能通过调节 mtLPD 酶活性调控线粒体 NADH 的产生; 反之, Trxs 通过感知线粒体氧化还原状态 (NADH/NAD<sup>+</sup> 比值), 可以反馈调节 mtLPD 的酶活性。在光照条件下, Trxs 的这种调节机制很好地微调了光呼吸和三羧酸循环流量, 协助植物更好地适应外界环境的变化<sup>[67]</sup>。

### 2.3 光呼吸酶的互作和光呼吸 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的调控

生物体代谢酶并不总是均匀分布在细胞中, 一些代谢途径中连续催化的多个酶可以在时间和空间上聚集在一起, 形成瞬时的结构-功能复合体, 称为代谢子 (Metabolon)<sup>[75]</sup>。代谢子涉及蛋白质表面之间的多价相互作用, 可能伴有液-液相分离 (liquid-liquid phase separation, LLPS), 形成无膜微区域<sup>[76]</sup>。微区域内集合了代谢所需的必要成分, 代谢中间产物在复合体内被酶连续转化, 从而形成底物代谢通道<sup>[76]</sup>。植物中多个代谢途径已被证实存在酶-酶互作和代谢通道, 比如糖酵解、三羧酸循环、嘌呤核苷酸和淀粉合成等<sup>[77-79]</sup>。

利用菠菜叶片分离的过氧化物酶体进行实验, 发现在膜完整和膜破损情况下, 甘油酸以相同的速率产生, 表明过氧化物酶体中的光呼吸酶可能以代谢子形式存在, 中间产物形成代谢通道<sup>[80-81]</sup>。水稻过氧化物酶体中 GLO 催化乙醇酸生成乙醛酸, 并伴随 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生, 过氧化氢酶 (catalase, CAT) 催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的分解。研究发现, GLO 与 CAT 存在动态互作, 其互作/解离状态受到水杨酸 (SA) 的调节<sup>[82-83]</sup>。研究进一步证实 GLO-CAT 复合体中存在高效的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 代谢通道, 细胞及植株水平的实验表明 SA、CO<sub>2</sub> 以及光/暗变化等均可诱导 GLO-CAT 互作/解离状态发生快速可逆性变化, 从而导致 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 波动性发生<sup>[84-85]</sup>。这些研究表明, 光呼吸酶之间的互作形成底物通道, 可调节代谢速率和光呼吸代谢通量, 从而快速响应环境变化。

光呼吸途径产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在植物生物和非生物胁迫响应中发挥重要作用。干旱胁迫下 C<sub>3</sub> 植物 70% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 来自于乙醇酸的氧化<sup>[86]</sup>。在拟南芥和番茄中, 抑制 GLO 编码基因的表达会减少 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的产生, 降低植物的抗病性<sup>[87-88]</sup>。研究发现, 植物叶片局部机械损伤可快速诱导系统叶片中 GLO-CAT 互作增强, 降低光呼吸 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平, 此过程依赖谷氨酰胺受体和钙信号; 在该研究中还观察到, 光呼吸 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 下降与质外体 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 升高形成反向时空互作, 这是一种新的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 系统信号时空及稳态调节机制<sup>[85]</sup>。

### 2.4 光呼吸代谢物的反馈调节作用

2-PG 是磷酸丙糖异构酶、景天庚酮糖-1,7-二磷酸酶和磷酸果糖激酶的抑制剂, 调节光合碳循环和糖酵解<sup>[1-2]</sup>。研究表明, 2-PG 作为代谢信号物质 (或调节因子), 影响植物体内碳的利用和分配。例如, 通过改变 *PGLP1* 的表达量, 2-PG 调节光合碳循环向 RuBP 再生与淀粉合成的碳流分配, 较低水平的 2-PG 促进淀粉的生物合成<sup>[2, 89]</sup>。也有研究报道, 2-PG 和  $\alpha$ -酮戊二酸 (2-OG) 协同调节植物体内的碳氮平衡。在正常情况下, Rubisco 羧化反应产生大量磷酸丙糖, 后者进入三羧酸循环生成  $\alpha$ -酮戊二酸 (2-OG), 作为碳骨架参与氮的同化作用<sup>[90]</sup>; 而 CO<sub>2</sub> 浓度较低时, Rubisco 加氧反应促进 2-PG 的积累。研究显示, 2-PG 与 2-OG 在蓝细菌中的浓度是负相关的, 两者通过与 NAD(P)H 脱氢酶调节子 (NdhR) 的竞争性结合调节碳氮平衡<sup>[91-92]</sup>。当蓝细菌中氮浓度偏低时 (碳过剩), 2-OG 浓度升高, NdhR 与 2-OG 结合后与 DNA 启动子区域的亲和力增强, 从而抑制碳转运相关基因的转录; 而当碳浓度偏



低时, 2-PG 结合 NdhR 并诱导其构象发生变化, 解除其转录抑制子活性, 促进碳转运相关基因大量表达<sup>[91]</sup>。

乙醛酸抑制叶绿体中 Rubisco 的活性和植物光合作用<sup>[93-94]</sup>。水稻中下调 *GLO* 表达会同时导致乙醇酸和乙醛酸的积累, 但只有乙醛酸的含量与 Rubisco 活化状态、光合速率呈显著负相关<sup>[94]</sup>。在拟南芥和水稻中均鉴定到胞质定位的乙醛酸还原酶 (glyoxylate reductase), 其催化乙醛酸转化为乙醇酸, 且对乙醛酸具有很高的亲和力, 表明植物乙醛酸的积累受到严格的调控<sup>[95-96]</sup>。丝氨酸被认为是一种代谢信号物质, 反馈调节光呼吸基因的转录表达。外源丝氨酸处理后, 拟南芥光呼吸基因 (比如 *PGLP1*、*SHM1*、*GLYK* 等) 转录水平不再受到光诱导<sup>[39]</sup>。通过对不同气体条件下 (2%、20%、40% O<sub>2</sub>) 烟草叶片光呼吸流量的定量分析, 发现高光呼吸条件下甘氨酸通常会大量积累, 其作为光呼吸代谢中间产物中相对无毒的分子, 是一个安全缓冲库; 而由甘氨酸转化而来的丝氨酸可从光呼吸循环中大量逸出。根据流量计算, 约有 23%~41% 的光呼吸碳以丝氨酸的方式从循环中输出, 作为氮源用于氨基酸和蛋白质的生物合成<sup>[97]</sup>。总的来说, 当植物遭遇环境变化时, 光呼吸通过其代谢物水平的变化, 对 Rubisco、光合碳循环等形成反馈调节, 从而调节光呼吸与固碳之间的平衡和代谢流量。

### 3 光呼吸的遗传改良

#### 3.1 提高Rubisco羧化效率

Rubisco 是光合碳同化过程的核心酶, 然而 Rubisco 的羧化效率非常低 (较低的转化数和 CO<sub>2</sub> 亲和力), 是整个光合代谢途径的限速酶<sup>[98-99]</sup>。因此, 对 Rubisco 进行工程改造以提升其 CO<sub>2</sub> 固定效率, 是提高 C<sub>3</sub> 作物光合作用效率的重要策略之一。

高等植物 Rubisco 是由 8 个大亚基 (RbcL) 和 8 个小亚基 (RbcS) 组成的 L<sub>8</sub>S<sub>8</sub> 十六聚体结构<sup>[100-101]</sup>。Rubisco 活性位点位于相邻 RbcL 形成的二聚体内部, 其活性位点无法严格区分 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>[102]</sup>, 使得 Rubisco 不可避免地固定氧从而导致能量和碳损失 (光呼吸过程)。过去几十年, 研究人员一直希望通过筛选 Rubisco 突变体或基因工程改造 RbcL 活性中心, 以同步提高 Rubisco 的羧化速率和 CO<sub>2</sub> 特异性, 但一直未能取得有效进展<sup>[103-105]</sup>。

相比 C<sub>3</sub> 植物, C<sub>4</sub> 植物与一些固碳微生物具有更高的羧化速率, 例如常见的 C<sub>3</sub> 作物水稻、小麦、

马铃薯等 Rubisco 的羧化反应转化数 ( $K_{cat}^c$ ) 仅为 1~3 s<sup>-1</sup>, C<sub>4</sub> 作物玉米、甘蔗的  $K_{cat}^c$  介于 4~5 s<sup>-1</sup>, 而属于蓝细菌成员之一的细长聚球菌其  $K_{cat}^c$  高至 14 s<sup>-1</sup><sup>[12, 106-107]</sup>。生化模型预测, 若能将 C<sub>4</sub> 植物或蓝细菌等的 Rubisco 导入 C<sub>3</sub> 植物, 有望显著增加 C<sub>3</sub> 植物的固碳效率, 增产 25%~30%<sup>[21, 108]</sup>。然而 Rubisco 在叶绿体中的折叠组装与活化机制非常复杂, 往往需要一系列辅助因子 (如叶绿体伴侣蛋白 Cpn60、Rubisco 积累因子 Rbf1) 和活化酶, 现已知只有少数异源 Rubisco 可在 C<sub>3</sub> 植物体内表达并组装形成有功能的 Rubisco 全酶。Lin 等<sup>[108]</sup> 构建了蓝细菌大、小亚基及其装配蛋白的多基因表达载体, 通过质体转化技术将这些基因转化至烟草叶绿体基因组并敲除了烟草自身的 *RbcL* 基因, 获得的转基因烟草可组装出有活性的蓝细菌 Rubisco 全酶, 该 Rubisco 虽然具有更高的羧化活性和 CO<sub>2</sub> 同化速率, 但其表达量以及与 CO<sub>2</sub> 的亲和力均较低, 以致该转基因烟草仅能在高 CO<sub>2</sub> 条件下 (9 000 ppm) 正常生长<sup>[109]</sup>。红藻的 RbcL 与 RbcS 被证实能够很好地在烟草叶绿体中自行组装, 将其与红藻 Rubisco 活化酶一同转入烟草, 能显著提升 Rubisco 的羧化速率。但其 Rubisco 同样表现出较低的 CO<sub>2</sub> 亲和力, 该植株无法在正常大气条件下存活, 只有在高 CO<sub>2</sub> 条件下才能正常生长, 光合效率和生物量无明显上升<sup>[110]</sup>。变形菌来源的 Rubisco 也可在无外源组装辅助因子的条件下在烟草叶绿体中形成有活性的 Rubisco 全酶, 然而其转基因植株也只可在高 CO<sub>2</sub> 环境中存活。此外, 利用 C<sub>4</sub> 作物高粱的 *RbcS* 基因替换水稻自身 *RbcS* 基因, 获得的杂合 Rubisco 也表现出与上述 Rubisco 相似的催化特性, 该水稻材料只在高浓度 CO<sub>2</sub> 条件下才表现出更高的 CO<sub>2</sub> 同化速率<sup>[111]</sup>。

值得注意的是, 近年来一些研究通过对自然界不同物种来源的 Rubisco 进行比较分析发现, 不同光养生物自然变异的 Rubisco 其羧化速率 ( $K_{cat}^c$ ) 与 CO<sub>2</sub> 特异性 ( $S_{c_0}$ ) 存在负相关的关系, 即具有较高  $K_{cat}^c$  的 Rubisco 对 CO<sub>2</sub> 的亲和力与特异性反而较低 ( $K_c$  较高,  $S_{c_0}$  较低)<sup>[112-114]</sup>, 这与上述转基因植物中新组装的 Rubisco 相较于其本底 Rubisco 表现出的催化特性的变化趋势相一致。因此, 现阶段通过遗传改良 Rubisco 来提高 C<sub>3</sub> 植物光合固碳效率, 仍面临理论和实践的挑战。

#### 3.2 加速光呼吸代谢, 促进光合速率

如前所述, 2-PG、乙醛酸等物质的积累可抑制光合碳循环的一些关键酶。因此, 提高光呼吸代谢

速率,降低其中间代谢物积累水平,或许可以提高植物光合效率。为了确定光呼吸代谢的限速步骤,研究人员将拟南芥等从高 $\text{CO}_2$ 生长环境中转移至正常大气条件,发现甘氨酸水平短时间内大量积累,表明甘氨酸到丝氨酸的转化过程可能是光呼吸的限速步骤之一<sup>[115]</sup>。随后对 $\text{C}_3$ 植物中光呼吸酶编码基因进行过表达,通过比较分析发现,GDC活性上调可显著降低植物中甘氨酸的积累,同时也减少光呼吸其他代谢物的含量,进一步证明GDC是调控光呼吸代谢速率的一个限速酶<sup>[67, 116]</sup>。相较于野生型,*GDC-H*与*GDC-L*过表达拟南芥植株的光呼吸速率上升10%~25%,净光合速率上升15%~25%,生物量增加达33%~47%<sup>[116-117]</sup>。在大田种植条件下,*GDC-H*过表达烟草的光合速率显著上升,生物量增加40%~47%<sup>[118]</sup>。也有研究报道,在拟南芥中过表达*PGLP1*可提高光呼吸代谢通量,过表达植株的叶片直径、地上部鲜重和干重分别增加11%、5%~9%和6%<sup>[2]</sup>。这些研究结果目前还未在主要粮食作物中进行验证,不过已有结果表明,过表达特定光呼吸基因可以反馈调节光合作用,这为通过光呼吸改造提升植物光合效率提供了新的思路。

### 3.3 在 $\text{C}_3$ 植物中创建光呼吸代谢支路

光呼吸代谢在线粒体中释放的 $\text{CO}_2$ 不能及时

有效地被重新固定。因此,构建光呼吸支路的主要目标是在线粒体甘氨酸脱羧反应之前,分流光呼吸中间代谢物至其他可减少碳素损耗的代谢途径,从而提高植物的净光合效率<sup>[119]</sup>。近十多年来,在叶绿体中将乙醇酸作为起始代谢物质,引入多个酶促反应将光呼吸碳回补至光合碳循环的光呼吸支路设计策略,被证实可有效提升 $\text{C}_3$ 植物羧化效率与生物量(表2)。

2007年,Kebeish等<sup>[120]</sup>首次将大肠杆菌甘油酸代谢途径引入拟南芥构建了GGT光呼吸支路,该支路把大肠杆菌来源的乙醇酸脱氢酶(GDH)、乙醛酸聚醛酶(GCL)和羟基丙二酸半醛还原酶(TSR)导入拟南芥叶绿体,分流光呼吸乙醇酸生成甘油酸并同时释放 $\text{CO}_2$ 。此途径在叶绿体中形成的甘油酸可直接回补至光合碳循环,而释放的 $\text{CO}_2$ 则能提高叶绿体中Rubisco周围的 $\text{CO}_2$ 浓度。从能量的角度分析,GGT途径比植物本身光呼吸途径更节省能量<sup>[120, 126]</sup>。与野生型相比,GGT拟南芥植株的 $\text{CO}_2$ 补偿点降低,净光合速率和生物量显著提高。该支路后续还被导入马铃薯、亚麻芥和黄瓜等作物,也显著提高了相关作物的光合效率与生物量<sup>[127-129]</sup>,这条支路的高光效表型性状与系统模型的计算分析结果一致<sup>[130]</sup>。另有一个出乎意料的结果是,仅将

表2 近年来主要光呼吸支路基因元件与增产效果

光呼吸支路基因元件	转化植物	温室种植生物量	大田种植生物量	文献
<i>GDH</i> : 大肠杆菌乙醇酸脱氢酶	拟南芥	增加	未检测	Kebeish et al., 2007 <sup>[120]</sup>
<i>GCL</i> : 大肠杆菌乙醛酸聚醛酶				
<i>TSR</i> : 大肠杆菌羟基丙二酸半醛还原酶				
<i>GLO</i> : 拟南芥乙醇酸氧化酶	拟南芥	增加	未检测	Maier et al. 2012 <sup>[121]</sup>
<i>MS</i> : 南瓜苹果酸合酶				
<i>CAT</i> : 大肠杆菌过氧化氢酶				
<i>GDH</i> : 莱茵衣藻乙醇酸脱氢酶	烟草	增加	增加	South et al. 2019 <sup>[122]</sup>
<i>MS</i> : 南瓜苹果酸合酶				
同时利用RNAi下调叶绿体乙醇酸转运蛋白 <i>PLGG1</i>				
<i>GLO</i> : 水稻乙醇酸氧化酶	水稻	增加	增加	Shen et al. 2019 <sup>[123]</sup>
<i>OXO</i> : 水稻草酸氧化酶				
<i>CAT</i> : 水稻过氧化氢酶				
<i>GLO</i> : 水稻乙醇酸氧化酶	水稻	增加	增加	Wang et al. 2020 <sup>[124]</sup>
<i>CAT</i> : 大肠杆菌过氧化氢酶				
<i>GCL</i> : 大肠杆菌乙醛酸聚醛酶				
<i>TSR</i> : 大肠杆菌羟基丙二酸半醛还原酶				
<i>AGAT</i> : 天冬氨酸:乙醛酸氨基转移酶	拟南芥	下降	未检测	Roell et al. 2021 <sup>[125]</sup>
<i>BHAA</i> : $\beta$ -羟基天冬氨酸醛缩酶				
<i>BHAD</i> : $\beta$ -羟基天冬氨酸脱水酶				
<i>ISR</i> : 亚胺琥珀酸还原酶				



大肠杆菌 GDH 单独导入到拟南芥和马铃薯叶绿体中,转基因植物光合效率和生物量(或产量)也显著提高<sup>[120, 128]</sup>,这表明叶绿体中可能存在其他的乙醛酸代谢产生 CO<sub>2</sub> 的途径<sup>[131]</sup>,但有待进一步的实验验证。

Maier 等<sup>[121]</sup>将拟南芥 GLO、南瓜苹果酸合酶(MS)和大肠杆菌 CAT 导入拟南芥叶绿体(GMC 支路)。该支路首先利用外源导入的上述代谢酶催化光呼吸乙醇酸生成苹果酸,生成的苹果酸再通过内源的苹果酸酶和丙酮酸脱氢酶转化成 CO<sub>2</sub>,进而形成 CO<sub>2</sub> 浓缩机制提高 Rubisco 羧化效率。能量计算分析显示,GMC 途径可能比植物内源光呼吸途径更加耗能,但却表现出了更高的净光合速率与生物量<sup>[121, 126]</sup>。

South 等<sup>[122]</sup>在烟草中再次验证了上述起始于乙醇酸分解代谢的光呼吸支路,该研究在烟草叶绿体中构建了三条支路:支路 1 是重复 GGT 途径,即在叶绿体中导入大肠杆菌 GDH、GCL 和 TSR;支路 2 是重复 GMC 途径,即在叶绿体中导入拟南芥 GLO、大肠杆菌 CAT 和南瓜 MS;支路 3 是在叶绿体中导入莱茵衣藻 GDH 和南瓜 MS,同时利用 RNAi 下调乙醇酸转运蛋白 PLGG1 的表达,以抑制乙醇酸转运出叶绿体,提升上述光呼吸支路分流效果。温室种植条件下支路 1 和支路 3 转基因烟草植株的光合速率与生物量均显著上升,田间试验发现支路 3 可使烟草的生物量增加 25%,而且下调 PLGG1 后可增产 40%<sup>[122]</sup>。该研究首次在大田种植条件下系统验证了光呼吸支路对 C<sub>3</sub> 植物光合作用与生物量的促进作用,揭示了光呼吸支路改造在农业生产方面的应用潜力。

本课题组在水稻中创建了两条新的光呼吸支路:(1)在水稻叶绿体中导入水稻自身的三个酶,即水稻 GLO、草酸氧化酶(OXO)和 CAT,分流乙醇酸直接在叶绿体中分解释放出 CO<sub>2</sub>(GOC 支路);(2)在水稻叶绿体中导入水稻 GLO、大肠杆菌 CAT、GCL 和 TSR,使光呼吸产生的部分乙醇酸直接在叶绿体内转化为甘油酸同时释放 CO<sub>2</sub>(GCGT 支路)。与野生型相比,GOC 和 GCGT 植株的净光合速率分别提高 15%~22% 和 6%~16%,生物量提高 14%~35% 和 16%~28%,春季大田产量提高 7%~27% 和 13%~27%;但两条支路均出现了结实率下降的问题,尤其是秋季大田种植的下跌幅度更大,导致其籽粒产量不升反降<sup>[123-124]</sup>。通过对其结实率下降机制的研究发现,高光效水稻中淀粉等光合产物在

茎和茎鞘中大量积累,导致光合产物转运不畅从而影响了“源-库-流”的协调性,最终导致花粉育性下降、结实率降低(未发表数据)。此外,该途径还有可能在特定环境下影响植株的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 代谢<sup>[84-85]</sup>。总之,GOC 与 GCGT 支路是首次在主要粮食作物中适配成功且在大田种植条件下能显著提升 C<sub>3</sub> 作物光合效率与产量的人工支路。

上述光呼吸支路通过分流乙醇酸代谢,使原本在线粒体释放的 CO<sub>2</sub> 部分或全部释放到叶绿体,以此形成 CO<sub>2</sub> 浓缩机制以提高 Rubisco 羧化效率。但这些支路仍涉及叶绿体中的 CO<sub>2</sub> 释放和碳损失,不尽完美。 $\beta$ -羟基天冬氨酸循环(BHAC)是近年来发现的一种微生物乙醇酸同化途径,该代谢途径可将乙醇酸氧化为乙醛酸,再经过酶促反应将其转化为草酰乙酸(C<sub>4</sub> 光合途径的代谢物),全过程不存在碳氮损失<sup>[132]</sup>,理论上 BHAC 途径比之前报道的光呼吸支路具备更高的固碳效率。2021 年,Roell 等<sup>[125]</sup>成功将 BHAC 途径导入到拟南芥过氧化物酶体。表型观测发现,在大气 CO<sub>2</sub> 条件下 BHAC 拟南芥的生长受到抑制,但在高 CO<sub>2</sub> 条件下可正常生长。代谢物分析表明,BHAC 拟南芥可显著积累草酰乙酸,并且草酰乙酸可被高效转化为天冬氨酸等。此外,BHAC 拟南芥中 3-磷酸甘油酸水平降低,说明其本底光呼吸途径被抑制,回流至光合碳循环的光呼吸碳素减少,而新生成的草酰乙酸无法在 C<sub>3</sub> 植物中有效回补至光合碳循环。因此,BHAC 途径降低了正常 CO<sub>2</sub> 条件下的光合同化效率,影响植物生长。该研究成功将 BHAC 途径引入 C<sub>3</sub> 植物,并通过把光呼吸代谢物转为 C<sub>4</sub> 光合途径代谢物草酰乙酸,成功将光呼吸和 C<sub>4</sub> 代谢相耦合,为将来在 C<sub>3</sub> 植物中构建依赖于光呼吸的碳富集新机制提供了思路。

近年来,计算工具被广泛用于新代谢途径的系统设计,Trudeau 等<sup>[133]</sup>基于计算设计与定向进化策略,人工合成了一种羟乙酰 CoA 合成酶(GCS,可将乙醇酸转化为羟乙酰 CoA),并利用 GCS 与自然界现有的酶设计了一条分流光呼吸乙醇酸生成 RuBP 的途径,该合成途径不释放 CO<sub>2</sub>,而合成的 RuBP 可用作 Rubisco 催化反应底物;模型计算分析显示,这条合成的光呼吸支路可增强碳的固定。该团队<sup>[134]</sup>后续又开发了一种新的羟乙酰 CoA 羧化酶(GCC),与 Rubisco 等天然 CO<sub>2</sub> 固定酶相比,GCC 催化效率更高。利用 GCS 与 GCC 组成羧化模块,可将乙醇酸转化为甘油酸回补进入光合碳循环。根据化学计量,若将 GCS-GCC 模块与自然光呼吸

等过程相连接, 预计可使植物的固碳效率提高75%~150%。上述代谢模块目前还未在 C<sub>3</sub> 植物中转化, 但提供了通过人工设计新的代谢酶与代谢途径来提升植物光合效率的新思路。

#### 4 展望

植物光呼吸已经历 25 亿~32 亿年的演化历程, 有人认为历经漫长演化选择的光呼吸代谢应已趋于完美, 人为改造优化光呼吸的可行性存疑。然而, 从演化的角度看, 光呼吸的出现是植物适应不断变化的环境的必然结果, 生物演化往往只为存活与繁衍而牺牲其生产力和效率, 因此, 现行的光呼吸途径对高光效未必是最优的方案。近年来对 C<sub>3</sub> 植物光呼吸代谢的改造取得了重要进展, 多个改造支路显著提高了植物正常生长条件下的光合效率和生物量。但光呼吸影响植物整体代谢, 是所有光养生物不可或缺的代谢途径。因此, 光呼吸改造应遵循适时适量分流代谢的原则, 重构的光呼吸支路应尽量避免对植株基础代谢造成负面影响, 这也是未来改造光呼吸创制高光效作物值得关切之处。

光呼吸与体内多个基础代谢相互关联, 解析其调控机制应该是未来一个重要的研究方向。所有光呼吸酶都是潜在的多种翻译后修饰靶标, 包括蛋白质磷酸化和氧化还原修饰。然而, 这些修饰还需要进一步的验证, 尤其是体内的验证, 以了解它们的生理功能及其与环境变化之间的关联。这些翻译后修饰可能成为未来调节光呼吸的靶标, 为提高植物环境适应性和创制高光效作物奠定基础。

#### [参 考 文 献]

- [1] Li J, Weraduwage SM, Preiser AL, et al. A cytosolic bypass and G6P shunt in plants lacking peroxisomal hydroxypyruvate reductase. *Plant Physiol*, 2019, 180: 783-92
- [2] Flügel F, Timm S, Arrivault S, et al. The photorespiratory metabolite 2-phosphoglycolate regulates photosynthesis and starch accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2017, 29: 2537-51
- [3] Hagemann M, Bauwe H. Photorespiration and the potential to improve photosynthesis. *Curr Opin Chem Biol*, 2016, 35: 109-16
- [4] Timm S, Florian A, Fernie AR, et al. The regulatory interplay between photorespiration and photosynthesis. *J Exp Bot*, 2016, 67: 2923-9
- [5] Hodges M, Deller Y, Keech O, et al. Perspectives for a better understanding of the metabolic integration of photorespiration within a complex plant primary metabolism network. *J Exp Bot*, 2016, 67: 3015-26
- [6] Voss I, Sunil B, Scheibe R, et al. Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response. *Plant Biol*, 2013, 15: 713-22
- [7] Jiang X, Walker BJ, He SY, et al. The role of photorespiration in plant immunity. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1125945
- [8] Sunil B, Saini D, Bapatla RB, et al. Photorespiration is complemented by cyclic electron flow and the alternative oxidase pathway to optimize photosynthesis and protect against abiotic stress. *Photosynth Res*, 2019, 139: 67-79
- [9] Bauwe H, Hagemann M, Fernie AR. Photorespiration: players, partners and origin. *Trends Plant Sci*, 2010, 15: 330-6
- [10] Zhu XG, Long SP, Ort DR. Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 235-61
- [11] Nisbet EG, Nisbet RER, Nisbet E, et al. Methane, oxygen, photosynthesis, rubisco and the regulation of the air through time. *Philos T R Soc B*, 2008, 363: 2745-54
- [12] Whitney SM, Houtz RL, Alonso H. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO<sub>2</sub>-sequestering enzyme, Rubisco. *Plant Physiol*, 2011, 155: 27-35
- [13] Albers E. Metabolic characteristics and importance of the universal methionine salvage pathway recycling methionine from 5'-methylthioadenosine. *IUBMB Life*, 2009, 61: 1132-42
- [14] Ashida H, Danchin A, Yokota A. Was photosynthetic RuBisCO recruited by acquisitive evolution from RuBisCO-like proteins involved in sulfur metabolism? *Res Microbiol*, 2005, 156: 611-8
- [15] Tabita FR, Hanson TE, Li H, et al. Function, structure, and evolution of the RubisCO-like proteins and their RubisCO homologs. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2007, 71: 576-99
- [16] Buick R. When did oxygenic photosynthesis evolve? *Philos T R Soc B*, 2008, 363: 2731-43
- [17] Peterhansel C, Horst I, Niessen M, et al. Photorespiration. *Arabidopsis Book*, 2010, 8: e0130
- [18] Xiong J, Bauer CE. Complex evolution of photosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 503-21
- [19] Igamberdiev AU, Lea PJ. Land plants equilibrate O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> concentrations in the atmosphere. *Photosynth Res*, 2006, 87: 177-94
- [20] Tcherkez GG, Farquhar GD, Andrews TJ. Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 7246-51
- [21] Zhu XG, Portis AR, Long SP. Would transformation of C<sub>3</sub> crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis. *Plant Cell Environ*, 2004, 27: 155-65
- [22] Eisenhut M, Ruth W, Haimovich M, et al. The photorespiratory glycolate metabolism is essential for cyanobacteria and might have been conveyed endosymbiotically to plants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 17199-204
- [23] Hagemann M, Fernie AR, Espie GS, et al. Evolution of

- the biochemistry of the photorespiratory C2 cycle. *Plant Biol*, 2013, 15: 639-47
- [24] Bauwe H, Hagemann M, Kern R, et al. Photorespiration has a dual origin and manifold links to central metabolism. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15: 269-75
- [25] Kern R, Bauwe H, Hagemann M. Evolution of enzymes involved in the photorespiratory 2-phosphoglycolate cycle from cyanobacteria via algae toward plants. *Photosynth Res*, 2011, 109: 103-14
- [26] Fernie AR, Bauwe H. Wasteful, essential, evolutionary stepping stone? The multiple personalities of the photorespiratory pathway. *Plant J*, 2020, 102: 666-77
- [27] Hagemann M, Kern R, Maurino VG, et al. Evolution of photorespiration from cyanobacteria to land plants, considering protein phylogenies and acquisition of carbon concentrating mechanisms. *J Exp Bot*, 2016, 67: 2963-76
- [28] Eisenhut M, Kahlon S, Hasse D, et al. Plant-like C2 glycolate cycle and the bacterial-like glycerate pathway cooperate in phosphoglycolate metabolism in cyanobacteria. *Plant Physiol*, 2006, 142: 333-42
- [29] Zelitch I, Schultes NP, Peterson RB, et al. High glycolate oxidase activity is required for survival of maize in normal air. *Plant Physiol*, 2009, 149: 195-204
- [30] Suzuki KUOT, Marek LF, Spalding MH. A photorespiratory mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol*, 1990, 93: 231-7
- [31] Hackenberg C, Kern R, Hüge J, et al. Cyanobacterial lactate oxidases serve as essential partners in N<sub>2</sub> fixation and evolved into photorespiratory glycolate oxidases in plants. *Plant Cell*, 2011, 23: 2978-90
- [32] Spang A, Saw JH, Jørgensen SL, et al. Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature*, 2015, 521: 173-9
- [33] Koonin EV. Archaeal ancestors of eukaryotes: not so elusive any more. *BMC Biol*, 2015, 13: 84
- [34] Kern R, Eisenhut M, Bauwe H, et al. Does the *Cyanophora paradoxa* genome revise our view on the evolution of photorespiratory enzymes? *Plant Biol*, 2013, 15: 759
- [35] Esser C, Kuhn A, Groth G, et al. Plant and animal glycolate oxidases have a common eukaryotic ancestor and convergently duplicated to evolve long-chain 2-hydroxy acid oxidases. *Mol Biol Evol*, 2014, 31: 1089-101
- [36] Ku C, Nelson-Sathi S, Roettger M, et al. Endosymbiotic origin and differential loss of eukaryotic genes. *Nature*, 2015, 524: 427-32
- [37] Laxa M, Fromm S. Co-expression and regulation of photorespiratory genes in *Arabidopsis thaliana*: a bioinformatic approach. *Curr Plant Biol*, 2018, 14: 2-18
- [38] Foyer CH, Bloom AJ, Queval G, et al. Photorespiratory metabolism: genes, mutants, energetics, and redox signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2009, 60: 455-84
- [39] Timm S, Alexandra F, Maria W, et al. Serine acts as a metabolic signal for the transcriptional control of photorespiration-related genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2013, 162: 379-89
- [40] Walker BJ, VanLoocke A, Bernacchi CJ, et al. The costs of photorespiration to food production now and in the future. *Annu Rev Plant Biol*, 2016, 67: 107-29
- [41] Cui L, Lu Y, Li Y, et al. Overexpression of glycolate oxidase confers improved photosynthesis under high light and high temperature in rice. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1165
- [42] Wang Z, Wang Y, Wang Y, et al. HPR1 is required for high light intensity induced photorespiration in *Arabidopsis thaliana*. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 4444
- [43] Timm S, Woitschach F, Heise C, et al. Faster removal of 2-phosphoglycolate through photorespiration improves abiotic stress tolerance of *Arabidopsis*. *Plants*, 2019, 8: 563
- [44] Ushijima T, Hanada K, Gotoh E, et al. Light controls protein localization through phytochrome-mediated alternative promoter selection. *Cell*, 2017, 171: 1316-25. e12
- [45] Ye N, Yang G, Chen Y, et al. Two hydroxypyruvate reductases encoded by *OsHPR1* and *OsHPR2* are involved in photorespiratory metabolism in rice. *J Integr Plant Biol*, 2014, 56: 170-80
- [46] Timm S, Nunes-Nesi A, Pärnik T, et al. A cytosolic pathway for the conversion of hydroxypyruvate to glycerate during photorespiration in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20: 2848-59
- [47] Mano S, Hayashi M, Nishimura M. Light regulates alternative splicing of hydroxypyruvate reductase in pumpkin. *Plant J*, 1999, 17: 309-20
- [48] Somerville CR. An early *Arabidopsis* demonstration. Resolving a few issues concerning photorespiration. *Plant Physiol*, 2001, 125: 20-4
- [49] Bloom AJ. Photorespiration and nitrate assimilation: a major intersection between plant carbon and nitrogen. *Photosynth Res*, 2015, 123: 117-28
- [50] Xu Z, Jiang Y, Zhou G. Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO<sub>2</sub> with environmental stress in plants. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 701
- [51] Bloom AJ, Burger M, Asensio JSR, et al. Carbon dioxide enrichment inhibits nitrate assimilation in wheat and *Arabidopsis*. *Science*, 2010, 328: 899-903
- [52] Rachmilevitch S, Cousins AB, Bloom AJ. Nitrate assimilation in plant shoots depends on photorespiration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101: 11506-10
- [53] Eisenhut M, Bräutigam A, Timm S, et al. Photorespiration is crucial for dynamic response of photosynthetic metabolism and stomatal movement to altered CO<sub>2</sub> availability. *Mol Plant*, 2017, 10: 47-61
- [54] Xi Y, Cai J, Li G, et al. High CO<sub>2</sub> facilitates fatty acid biosynthesis and mitigates cellular oxidative stress caused by CAC2 dysfunction in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2023, 115: 1316-30
- [55] Aroca A, Garcia-Diaz I, Garcia-Calderon M, et al. Photorespiration: regulation and new insights on the potential role of persulfidation. *J Exp Bot*, 2023, 74: 6023-39
- [56] García Calderón M, Vignane T, Filipovic MR, et al.



- Persulfidation protects from oxidative stress under nonphotorespiratory conditions in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 2023, 238: 1431-45
- [57] Willems P, Horne A, Van Parys T, et al. The plant PTM Viewer, a central resource for exploring plant protein modifications. *Plant J*, 2019, 99: 752-62
- [58] Keech O, Gardeström P, Kleczkowski LA, et al. The redox control of photorespiration: from biochemical and physiological aspects to biotechnological considerations. *Plant Cell Environ*, 2017, 40: 553-69
- [59] Hodges M. Photorespiration and improving photosynthesis [M]//Lüttge U, Cánovas FM, Risueño MC, et al. *Progress in botany* (Vol. 84). Springer Nature, 2022: 171-219
- [60] Liu Y, Mauve C, Lamothe Sibold M, et al. Photorespiratory serine hydroxymethyltransferase 1 activity impacts abiotic stress tolerance and stomatal closure. *Plant Cell Environ*, 2019, 42: 2567-83
- [61] Liu Y, Guérard F, Hodges M, et al. Phosphomimetic T335D mutation of hydroxypyruvate reductase 1 modifies cofactor specificity and impacts *Arabidopsis* growth in air. *Plant Physiol*, 2020, 183: 194-205
- [62] Jossier M, Liu Y, Massot S, et al. Enzymatic properties of recombinant phospho-mimetic photorespiratory glycolate oxidases from *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*. *Plants*, 2020, 9: 27
- [63] Xu Z, Guo W, Mo B, et al. Mitogen-activated protein kinase 2 specifically regulates photorespiration in rice. *Plant Physiol*, 2023, 193: 1381-94
- [64] Michelet L, Zaffagnini M, Morisse S, et al. Redox regulation of the Calvin-Benson cycle: something old, something new. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 470
- [65] Buchanan BB. The path to thioredoxin and redox regulation in chloroplasts. *Annu Rev Plant Biol*, 2016, 67: 1-24
- [66] Geigenberger P, Thormählen I, Daloso DM, et al. The unprecedented versatility of the plant thioredoxin system. *Trends Plant Sci*, 2017, 22: 249-62
- [67] Timm S, Hagemann M. Photorespiration-how is it regulated and how does it regulate overall plant metabolism? *J Exp Bot*, 2020, 71: 3955-65
- [68] Palmieri MC, Lindermayr C, Bauwe H, et al. Regulation of plant glycine decarboxylase by s-nitrosylation and glutathionylation. *Plant Physiol*, 2010, 152: 1514-28
- [69] Aroca Á, Serna A, Gotor C, et al. S-Sulfhydration: a cysteine posttranslational modification in plant systems. *Plant Physiol*, 2015, 168: 334-42
- [70] Hoffmann C, Plochanski B, Haferkamp I, et al. From endoplasmic reticulum to mitochondria: absence of the *Arabidopsis* ATP antiporter endoplasmic reticulum adenylate transporter1 perturbs photorespiration. *Plant Cell*, 2013, 25: 2647-60
- [71] Cerveau D, Kraut A, Stotz HU, et al. Characterization of the *Arabidopsis thaliana* 2-Cys peroxiredoxin interactome. *Plant Sci*, 2016, 252: 30-41
- [72] González M, Delgado-Requerey V, Ferrández J, et al. Insights into the function of NADPH thioredoxin reductase C (NTRC) based on identification of NTRC-interacting proteins *in vivo*. *J Exp Bot*, 2019, 70: 5787-98
- [73] Reinholdt O, Schwab S, Zhang Y, et al. Redox-regulation of photorespiration through mitochondrial thioredoxin o1. *Plant Physiol*, 2019, 181: 442-57
- [74] Da Fonseca Pereira P, Souza PVL, Hou LY, et al. Thioredoxin2 contributes to the redox regulation of mitochondrial photorespiratory metabolism. *Plant Cell Environ*, 2020, 43: 188-208
- [75] Srere PA. Complexes of sequential metabolic enzymes. *Annu Rev Biochem*, 1987, 56: 89-124
- [76] Pareek V, Sha Z, He J, et al. Metabolic channeling: predictions, deductions, and evidence. *Mol Cell*, 2021, 81: 3775-85
- [77] Graham JWA, Williams TCR, Morgan M, et al. Glycolytic enzymes associate dynamically with mitochondria in response to respiratory demand and support substrate channeling. *Plant Cell*, 2007, 19: 3723-38
- [78] Zhang Y, Beard KFM, Swart C, et al. Protein-protein interactions and metabolite channelling in the plant tricarboxylic acid cycle. *Nat Commun*, 2017, 8: 15212
- [79] Zhang Y, Fernie AR. Metabolons, enzyme-enzyme assemblies that mediate substrate channeling, and their roles in plant metabolism. *Plant Commun*, 2021, 2: 100081
- [80] Heupel R, Heldt HW. Protein organization in the matrix of leaf peroxisomes. A multi-enzyme complex involved in photorespiratory metabolism. *Eur J Biochem*, 1994, 220: 165-72
- [81] Reumann S. The structural properties of plant peroxisomes and their metabolic significance. *Biol Chem*, 2000, 381: 639
- [82] Zhang Z, Xu Y, Xie Z, et al. Association-dissociation of glycolate oxidase with catalase in rice: a potential switch to modulate intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels. *Mol Plant*, 2016, 9: 737-48
- [83] Li X, Liao M, Huang J, et al. Glycolate oxidase-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production regulates IAA biosynthesis in rice. *BMC Plant Biol*, 2021, 21: 326
- [84] Li X, Liao M, Huang J, et al. Dynamic and fluctuating generation of hydrogen peroxide via photorespiratory metabolic channeling in plants. *Plant J*, 2022, 112: 1429-46
- [85] Li X, Chen L, Zeng X, et al. Wounding induces a peroxisomal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decrease via glycolate oxidase-catalase switch dependent on glutamate receptor-like channel-supported Ca<sup>2+</sup> signaling in plants. *Plant J*, 2023, 116: 1325-41
- [86] Noctor G, Veljovic-Jovanovic S, Driscoll S, et al. Drought and oxidative load in the leaves of C<sub>3</sub> plants: a predominant role for photorespiration? *Ann Bot*, 2002, 89: 841-50
- [87] Rojas CM, Senthil-Kumar M, Wang K, et al. Glycolate oxidase modulates reactive oxygen species-mediated signal transduction during nonhost resistance in *Nicotiana benthamiana* and *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24: 336-52
- [88] Ahammed GJ, Li X, Zhang G, et al. Tomato photorespiratory

- glycolate-oxidase-derived H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production contributes to basal defence against *Pseudomonas syringae*. *Plant Cell Environ*, 2018, 41: 1126-38
- [89] Levey M, Timm S, Mettler-Altmann T, et al. Efficient 2-phosphoglycolate degradation is required to maintain carbon assimilation and allocation in the C<sub>4</sub> plant *Flaveria bidentis*. *J Exp Bot*, 2019: 575-87
- [90] Huergo LF and Dixon R. The emergence of 2-oxoglutarate as a master regulator metabolite. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2015, 79: 419-35
- [91] Jiang Y, Wang X, Sun H, et al. Coordinating carbon and nitrogen metabolic signaling through the cyanobacterial global repressor NdhR. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: 403-8
- [92] Forchhammer K, Selim KA. Carbon/nitrogen homeostasis control in cyanobacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 2020, 44: 33-53
- [93] Campbell WJ, Ogren WL. Glyoxylate inhibition of ribulosebiphosphate carboxylase/oxygenase activation in intact, lysed, and reconstituted chloroplasts. *Photosynth Res*, 1990, 23: 257-68
- [94] Lu Y, Li Y, Yang Q, et al. Suppression of glycolate oxidase causes glyoxylate accumulation that inhibits photosynthesis through deactivating Rubisco in rice. *Physiol Plantarum*, 2014, 150: 463-76
- [95] Dellerio Y, Jossier M, Schmitz J, et al. Photorespiratory glycolate-glyoxylate metabolism. *J Exp Bot*, 2016, 67: 3041-52
- [96] Zhang Z, Liang X, Lu L, et al. Two glyoxylate reductase isoforms are functionally redundant but required under high photorespiration conditions in rice. *BMC Plant Biol*, 2020, 20: 1-12
- [97] Fu X, Gregory LM, Weise SE, et al. Integrated flux and pool size analysis in plant central metabolism reveals unique roles of glycine and serine during photorespiration. *Nat Plants*, 2023, 9: 169-78
- [98] Busch FA. Photorespiration in the context of Rubisco biochemistry, CO<sub>2</sub> diffusion and metabolism. *Plant J*, 2020, 101: 919-39
- [99] Prywes N, Phillips NR, Tuck OT, et al. Rubisco function, evolution, and engineering. *Annu Rev Biochem*, 2023, 92: 385-410
- [100] Bracher A, Whitney SM, Hartl FU, et al. Biogenesis and metabolic maintenance of Rubisco. *Annu Rev Plant Biol*, 2017, 68: 29-60
- [101] Bauwe H. Photorespiration-Rubisco's repair crew. *J Plant Physiol*, 2023, 280: 153899
- [102] Hauser T, Popilka L, Hartl FU, et al. Role of auxiliary proteins in Rubisco biogenesis and function. *Nat Plants*, 2015, 1: 15065
- [103] Mueller-Cajar O, Whitney SM. Directing the evolution of Rubisco and Rubisco activase: first impressions of a new tool for photosynthesis research. *Photosynth Res*, 2008, 98: 667-75
- [104] Somerville C, Ogren W. Genetic modification of photorespiration. *Trends Plant Sci*, 1982, 7: 171-4
- [105] Lin MT, Orr DJ, Worrall D, et al. A procedure to introduce point mutations into the Rubisco large subunit gene in wild-type plants. *Plant J*, 2021, 106: 876-87
- [106] Hermida-Carrera C, Kapralov MV, Galmes J. Rubisco catalytic properties and temperature response in crops. *Plant Physiol*, 2016, 171: 2549-61
- [107] Young JN, Heureux AM, Sharwood RE, et al. Large variation in the Rubisco kinetics of diatoms reveals diversity among their carbon-concentrating mechanisms. *J Exp Bot*, 2016, 67: 3445-56
- [108] Lin MT, Salihovic H, Clark FK, et al. Improving the efficiency of Rubisco by resurrecting its ancestors in the family Solanaceae. *Sci Adv*, 2022, 8: eabm6871
- [109] Lin MT, Occhialini A, Andralojc PJ, et al. A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. *Nature*, 2014, 513: 547-50
- [110] Gunn LH, Avila EM, Birch R, et al. The dependency of red Rubisco on its cognate activase for enhancing plant photosynthesis and growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117: 25890-6
- [111] Matsumura H, Shiomi K, Yamamoto A, et al. Hybrid Rubisco with complete replacement of rice rubisco small subunits by sorghum counterparts confers C<sub>4</sub> plant-like high catalytic activity. *Mol Plant*, 2020, 13: 1570-81
- [112] Bathellier C, Tcherkez G, Lorimer GH, et al. Rubisco is not really so bad. *Plant Cell Environ*, 2018, 41: 705-16
- [113] Yonatan S, Elad N, Ron M, et al. Cross-species analysis traces adaptation of Rubisco toward optimality in a low-dimensional landscape. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 8: 3475-80
- [114] Flamholz AI, Prywes N, Moran U, et al. Revisiting trade-offs between rubisco kinetic parameters. *Biochemistry*, 2019, 58: 3365-76
- [115] Timm S, Mielewczik M, Florian A, et al. High-to-low CO<sub>2</sub> acclimation reveals plasticity of the photorespiratory pathway and indicates regulatory links to cellular metabolism of *Arabidopsis*. *PLoS One*, 2012, 7: e42809
- [116] Timm S, Florian A, Arrivault S, et al. Glycine decarboxylase controls photosynthesis and plant growth. *FEBS Lett*, 2012, 586: 3692-7
- [117] Timm S, Wittmiß M, Gamlien S, et al. Mitochondrial dihydrolipoyl dehydrogenase activity shapes photosynthesis and photorespiration of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 2015, 27: 1968-84
- [118] López-Calcano PE, Fisk S, Brown KL, et al. Overexpressing the H-protein of the glycine cleavage system increases biomass yield in glasshouse and field-grown transgenic tobacco plants. *Plant Biotechnol J*, 2019, 17: 141-51
- [119] Ort DR, Merchant SS, Alric J, et al. Redesigning photosynthesis to sustainably meet global food and bioenergy demand. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: 8529-36
- [120] Kebeish R, Niessen M, Thiruveedhi K, et al. Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 593-9
- [121] Maier A, Fahnenstich H, von Caemmerer S, et al.

- Transgenic introduction of a glycolate oxidative cycle into *A. thaliana* chloroplasts leads to growth improvement. *Front Plant Sci*, 2012, 3: 38
- [122] South PF, Cavanagh AP, Liu HW, et al. Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field. *Science*, 2019, 363: eaat9077
- [123] Shen B, Wang L, Lin X, et al. Engineering a new chloroplastic photorespiratory bypass to increase photosynthetic efficiency and productivity in rice. *Mol Plant*, 2019, 12: 199-214
- [124] Wang L, Shen B, Li B, et al. A synthetic photorespiratory shortcut enhances photosynthesis to boost biomass and grain yield in rice. *Mol Plant*, 2020, 13: 1802-15
- [125] Roell MS, Schada VBL, Westhoff P, et al. A synthetic C<sub>4</sub> shuttle via the  $\beta$ -hydroxyaspartate cycle in C<sub>3</sub> plants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118: e2115634118
- [126] Peterhansel C, Krause K, Braun HP, et al. Engineering photorespiration: current state and future possibilities. *Plant Biol*, 2013, 15: 754-8
- [127] Dalal J, Lopez H, Vasani NB, et al. A photorespiratory bypass increases plant growth and seed yield in biofuel crop *Camelina sativa*. *Biotechnol Biofuels*, 2015, 8: 175
- [128] Ahmad R, Bilal M, Jeon J, et al. Improvement of biomass accumulation of potato plants by transformation of cyanobacterial photorespiratory glycolate catabolism pathway genes. *Plant Biotechnol Rep*, 2016, 10: 269-76
- [129] Chen Z, Kang X, Nie H, et al. Introduction of exogenous glycolate catabolic pathway can strongly enhances photosynthesis and biomass yield of cucumber grown in a low-CO<sub>2</sub> environment. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 702
- [130] Xin C, Tholen D, Devloo V, et al. The benefits of photorespiratory bypasses: how can they work? *Plant Physiol*, 2015, 167: 574-85
- [131] Blume C, Behrens C, Eubel H, et al. A possible role for the chloroplast pyruvate dehydrogenase complex in plant glycolate and glyoxylate metabolism. *Phytochemistry*, 2013, 95: 168-76
- [132] Schada Von Borzyskowski L, Severi F, Krüger K, et al. Marine Proteobacteria metabolize glycolate via the  $\beta$ -hydroxyaspartate cycle. *Nature*, 2019, 575: 500-4
- [133] Trudeau DL, Edlich-Muth C, Zarzycki J, et al. Design and *in vitro* realization of carbon-conserving photorespiration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: E11455-64
- [134] Scheffen M, Marchal DG, Beneyton T, et al. A new-to-nature carboxylation module to improve natural and synthetic CO<sub>2</sub> fixation. *Nat Catal*, 2021, 4: 105-15