

specificity, glutaraldehydized erythrocyte

* This work was supported by a grant from The Key Project of Tianjin Natural Science Foundation.

** Corresponding author. Tel: 86-22-28193592, E-mail: caoxiaohong88@yahoo.com.cn

Received: November 6, 2002 Accepted: December 28, 2002

知识与动态

用基因工程提高光合同化 CO₂ 效率的

一个关键酶——果糖-1,6-二磷酸酶

马为民^{1,2)} 施定基¹⁾ 王全喜²⁾

(¹⁾中国科学院植物研究所, 北京 100093; ²⁾上海师范大学生物系, 上海 200234)

增加绿色植物光合同化 CO₂ 的能力, 无论对提高农作物产量, 还是缓解大气环境中 CO₂ 浓度日益升高的威胁, 都有重大的现实意义和深远的影响. 因此, 提高光合作用效率一直是在植物学、农业、林业、环境、海洋等领域工作的学者和生产者千方百计为之努力的方向. 虽然近百年来国内外已从整体、器官、组织、细胞、叶绿体和光合膜水平上取得了卓越的成果, 但如何在基因水平调控上取得成效, 近年来才有所突破.

最近 10 年中, 在植物基因工程的一个主要进展是增加了突变体和转基因植物的研究. 而在光合作用的酶基因调控中, 研究最多、最深的是核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶-加氧酶 (Rubisco) 的调控, 如, 最近 Hong 等在研究菠菜 Rubisco L 上的 Leu290 被 Phe 取代, 其 Ω 值 (羧化作用/氧化作用) 下降, 而 Val262 用 Leu 取代, Ala222 用 Thr 取代可提高 Ω 值和恢复固定 CO₂ 的能力, 以及利用转基因技术培育出能降低 Rubisco 蛋白量的烟草与 C₄ 植物黄花菊 (*Flaveria bidentis*), 但都没有明显提高光合效率. 最近, 果糖-1,6-二磷酸酶 (EC 3.1.3.11, FBPase) 的转基因研究出现了重大的突破.

FBPase 是调控光合和 PO₄³⁻ 循环的关键酶之一, 也是一个用基因工程提高光合同化 CO₂ 效率的关键酶. 该酶催化的反应处于代谢物离开卡尔文 (Calvin) 循环, 流入淀粉合成的一个分支点上, 并且是不可逆的. 与 Calvin 循环中的其他酶相比, FBPase 的含量极低, 该酶活性轻微受抑制, 就会导致 Calvin 循环更新能力的减弱、光合活性的急剧下降. 因此, Calvin 循环中的 FBPase 在决定碳元素到最终产物的分配上有着重要的战略地位.

2001 年, Miyagawa 等在《Nature Biotechnology》上报道, 把蓝藻叶绿体中的果糖-1,6-二磷酸酶 (FBPase) / 景天庚酮糖-1,7-二磷酸酶 (SBPase) 转入烟草叶绿体中, 在大气中 CO₂ 浓度为 360ppm 条件下, 明显提高了转基因烟草光合固定 CO₂ 的效率和糖类的累积, 同时也加速了其生长. 该研究是从基因水平上来调控 FBPase 活性. 过去人们认为, 要提高碳同化效率, 必须调控碳同化途径中的一套酶, 而这是首次表明了改变一个酶就能显著地提高植物的光合作用, 同时也是首次在转基因植物中用增加酶含量的方法来研究.

FBPase/SBPase 是从聚球藻 (*Synechococcus* sp. PCC 7942) 中分离出来的一个单独的酶. 它能催化水解对于更新 Calvin 循环中原碳受体——核酮糖-1,5-二磷酸 (RuBP) 所必需的果糖-1,6-二磷酸 (FBP) 或景天庚酮糖-1,7-二磷酸 (SuBP). 在高等植物中相应的反应是被两个分离的 FBPase/SBPase 所催化, 并且它们是被两个不同基因所编码的, 与蓝藻中的 FBPase/SBPase 没有重大的同源性. 因此, 蓝藻和高等植物之间的转基因不会出现基因沉默现象. 这是这两类生物之间转基因成功的原因之一. 作者设计了含有叶绿体中 FBPase/SBPase 的转基因烟草纯合体株系. 在 18 周后, 在两个株系——TpFS-3 和 TpFS-6 中, 明显提高了 FBPase/SBPase 的活性, 并且相对野生型烟草来说, 它们在高度和总干重上均增加了 1.5 倍. TpFS-3 植物也有更大的叶子、根和更粗的茎. 与上述表型观察一致的是, 在正常的大气中, CO₂ 浓度饱和以及光照强度大于 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下, TpFS-3 和 TpFS-6 与野生型植物相比, 光合活性分别提高了 1.24 倍和 1.20 倍. 同时在转基因植物中, 增加了有机物磷酸化代谢水平, 包括磷酸二羟丙酮, 果糖-6-磷酸和 RuBP, 还有各种碳水化合物.

2002 年, Thorbjørnsen 等成功地把土豆 (*Solanum tuberosum* L.) 叶绿体中的 FBPase (cp-FBPase) 基因克隆出来, 并转化到土豆块茎的造粉体. 与野生型的土豆块茎相比, 转基因土豆块茎中有着更高的 cp-FBPase 活性, 并合成了更多的淀粉. 在土豆块茎造粉体中过表达 cp-FBPase, 是生物合成淀粉的一条新途径.

因此, 对 FBPase 转基因的研究, 为调控 Calvin 循环、增加作物产量以及控制 CO₂ 开辟了一条新路.

2002 年, Wood 在《Trends in Plant Science》上指出, Miyagawa 等的文章是第一篇通过转基因手段来提高植物光合, 他强调: 蓝藻基因工程铺平了增加作物产量的道路. 在这样背景下, 我们与中国科学院上海有机化学研究所陈海宝研究员实验室合作, 正在通过蓝藻基因工程来强化 Calvin 循环的代谢途径, 提高蓝藻同化 CO₂ 的效率, 以期降低大气中的 CO₂, 减缓温室效应. 现在已经成功地把从小麦叶绿体中克隆的 FBPase 转入蓝藻中, 并证明可提高转基因蓝藻的光合同化 CO₂ 的效率.