

光呼吸代谢途径及其调控的研究进展

侯学文*, 李英杰, 钟琪, 彭新湘

华南农业大学生命科学学院亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广州510642

摘要: 光呼吸是光合自养生物为适应环境 O_2 升高而进化出的一条代谢途径。光呼吸产生C3植物中70%的 H_2O_2 、合成氨基酸、参与氮的同化、生成一碳单位及参与响应植物的多种抗逆过程等, 表明光呼吸在植物的正常生长发育与逆境响应中不可或缺。目前光呼吸途径中除部分转运蛋白未知外, 光呼吸的主要代谢途径已经比较清楚, 但对如此重要的代谢过程是如何受到调控的, 目前的认识却非常有限。文章在总结光呼吸代谢途径研究进展的基础上, 从转录水平、蛋白质修饰水平、蛋白质间互作及生物活性物质的调控等多个层面, 介绍光呼吸调控的最新进展, 以便为今后光呼吸的调控研究理清思路, 并最终利用相关知识改良植物的生长和抗逆性奠定基础。

关键词: 光呼吸; 光呼吸调控; 转录水平调控; 翻译后修饰调控; 酶活性调控

1 光呼吸代谢途径概述

光呼吸是绿色植物在光下消耗 O_2 并伴随着 CO_2 释放的复杂代谢过程。光呼吸代谢的产生是由于核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco; EC: 4.1.1.39)具有羧化/加氧的双重活性, 在 O_2 存在时催化1,5-二磷酸核酮糖(ribulose-1,5-bisphosphate, RuBP)的加氧反应生成1分子的3-磷酸甘油酸(3-phosphoglyceric acid, 3-PGA)和1分子的2-磷酸乙醇酸(2-phosphoglycolate, 2-PG)。其中3-PGA可以直接进入Calvin循环, 而植物为了解除2-PG对植物代谢的毒害以及避免碳的损失, 进化出了复杂的光呼吸代谢途径来回收2-PG (Somerville 2001; Bauwe等2012)。

光呼吸的代谢途径如图1所示: 在叶绿体内, Rubisco催化1分子 O_2 与1分子RuBP生成1分子2-PG和3-PGA (Whitney等1999); 2-磷酸乙醇酸磷酸酶(2-phosphoglycolate phosphatase, PGLP; EC: 3.1.3.18)将2-PG脱去磷酸基团成为乙醇酸(glycolate), 叶绿体内膜上的质体乙醇酸甘油酸转运蛋白(plastidal glycolate glycerate translocator 1, PLGG1)或胆汁酸钠同向转运蛋白6 (bile acid sodium symporter 6, BASS6)将乙醇酸从叶绿体转运至细胞质 (Pick等2013; South等2017), 然后通过可能是孔蛋白(porin)组成的孔道(poren)进入过氧化物酶体。在过氧化物酶体内, 乙醇酸氧化酶(glycolate oxidase,

GLO; EC: 1.1.3.15)催化乙醇酸形成乙醛酸和过氧化氢(H_2O_2) (Zhang等2017), 产生的 H_2O_2 被过氧化氢酶(catalase, CAT; EC: 1.11.1.6)降解为 H_2O 和 O_2 (Queval等2007); 乙醛酸和谷氨酸在谷氨酸:乙醛酸转氨酶(glutamate:glyoxylate aminotransferase, GGAT, EC: 2.6.1.4)的催化下生成甘氨酸(glycine, Gly)和 α -酮戊二酸(Igarashi等2006); 产生的Gly被转运进入胞质后再被转运至线粒体。在线粒体内, 甘氨酸脱羧酶复合体(glycine decarboxylase complex, GDC)催化1分子Gly产生 CO_2 、 NH_3 和甲基四氢乙酸(5,10-methylene tetrahydrofolate, MTHF) (Engel等2007), 由丝氨酸羟甲基转移酶(serine hydroxymethyltransferase, SHMT; EC: 2.1.2.1)将1分子Gly和MTHF催化形成丝氨酸(serine, Ser) (Voll等2006)。Ser被从线粒体转运至胞质后再被转运入过氧化物酶体, 在此丝氨酸:乙醛酸氨基转移酶(serine:glyoxylate aminotransferase, SGAT; EC: 2.6.1.45)将其脱氨形成羟基丙酮酸(Liepmann和Olsen 2001), 随后被定位于过氧化物酶体的羟基丙酮酸还原酶1 (hydroxypyruvate reductase 1, HPR1; EC: 1.1.1.29)还原为甘油酸(Cousins等2011), 甘油酸先被转运至胞质基质; 部分羟基丙酮酸也可被从过氧化物酶体转运到胞质基质, 并被定位于胞质基质的羟

收稿 2018-12-14 修定 2019-02-28

资助 广州市科技计划项目(201707010032和201607020006)。

* 通讯作者(hxw1969@scau.edu.cn)。

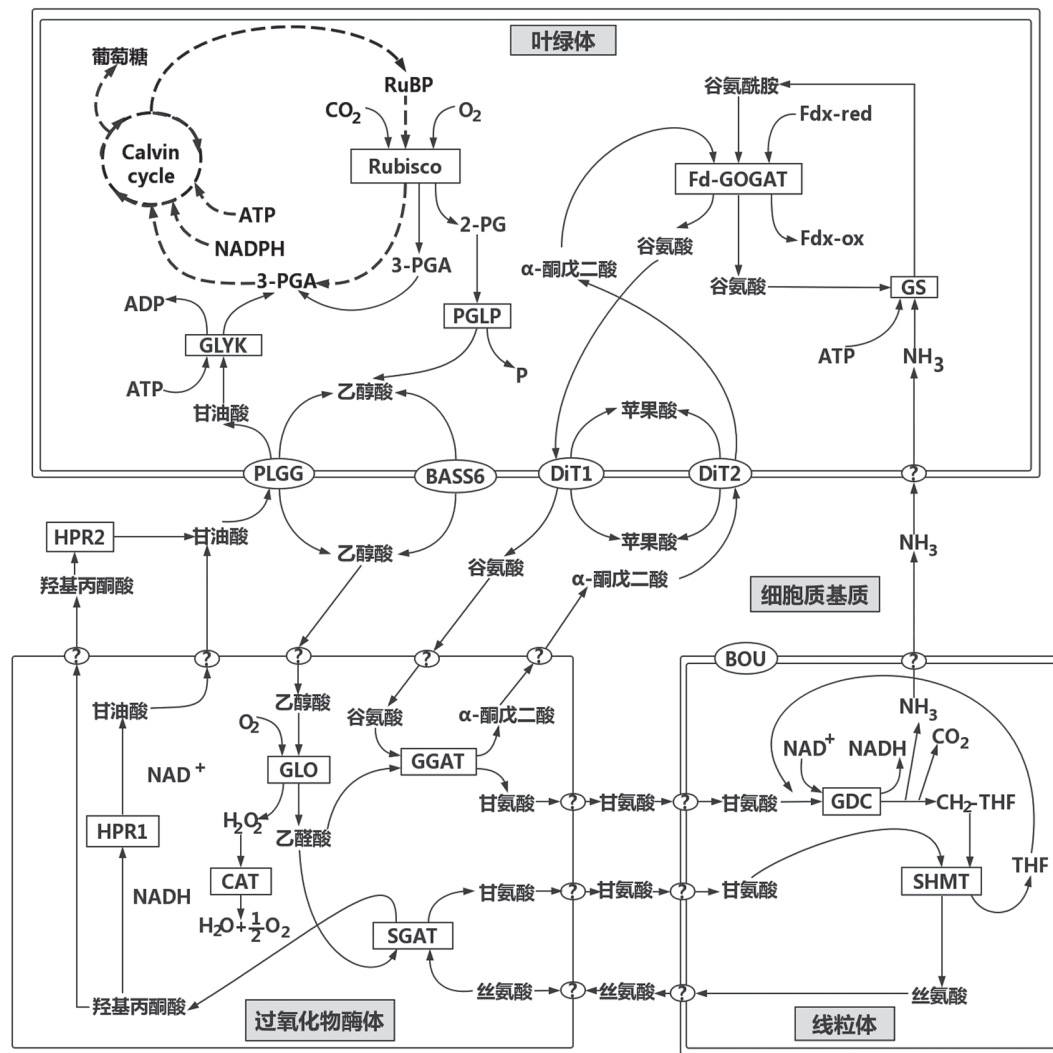


图1 光呼吸代谢途径示意图

Fig.1 Schematic diagram of photorespiration metabolic pathway

虚线条的代谢途径为Rubisco催化的羧化途径,实线条的代谢途径为Rubisco催化的加氧途径,即光呼吸途径。BASS6: 胆汁酸钠同向转运蛋白6; BOU: A BOUT DE SOUFFLE转运蛋白; CAT: 过氧化氢酶; DiT1: 质体2-酮戊二酸/苹果酸转运蛋白1; DiT2: 质体2-谷氨酸/苹果酸转运蛋白2.1; Fd-GOGAT: 铁氧还蛋白依赖的谷氨酸合酶; GGAT: 谷氨酸:乙醛酸氨基转移酶; GDC: 甘氨酸脱羧酶复合体; GLYK: 甘油酸激酶; GLO: 乙醇酸氧化酶; GS: 质体谷氨酰胺合成酶; HPR1/2: 羟基丙酮酸还原酶1/2; PGLP: 2-磷酸乙醇酸磷酸酶; PLGG: 质体乙醇酸/甘油酸转运蛋白; RuBP: 核酮糖-1,5-二磷酸; Rubisco: RuBP羧化酶/加氧酶; SHMT: 丝氨酸羟甲基转移酶; SGAT: 丝氨酸:乙醛酸氨基转移酶; 2-PG: 2-磷酸乙醇酸; 3-PGA: 3-磷酸甘油酸; ? 表示可能存在的未知转运蛋白。

基丙酮酸还原酶2 (HPR2)还原为甘油酸,这两种来源的甘油酸由转运蛋白PLGG1运载至叶绿体,随后叶绿体中的 β -甘油酸-3-激酶(β -glycerate 3-kinase, GLYK; EC: 2.7.1.31)将甘油酸催化形成3-PGA (Boldt等2005),进入Calvin循环。光呼吸途径还涉及到氮的同化,甘氨酸脱羧酶复合体(GDC)催化形成的产物之一 NH_3 被从线粒体转运至叶绿体,在谷

氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS; EC: 6.1.3.2)的催化下将谷氨酸氨化形成谷氨酰胺(Guan等2016); GGAT催化形成的另一产物 α -酮戊二酸从过氧化物酶体被转运至细胞质基质,再由叶绿体膜上的反向转运蛋白(dicarboxylate transporter 2, DiT2)将其转运至叶绿体(同时苹果酸被从叶绿体转运到细胞质基质) (Renné等2003),在铁氧还蛋白依赖的

谷氨酰胺: α -酮戊二酸氨基转移酶(ferredoxin-dependent glutamate synthase, Fd-GOGAT; EC: 1.4.7.1)催化下将谷氨酰胺的一个氨基转移至 α -酮戊二酸生成2分子的谷氨酸(Kissen等2010); 其中部分谷氨酸由叶绿体膜上的反向转运蛋白(2-oxoglutarate/malate transporter 1, DiT1)将其从叶绿体转运至细胞质基质(同时苹果酸被从细胞质基质转运到叶绿体)(Schneidereit等2006), 再由过氧化物酶体上的转运蛋白将谷氨酸转运入过氧化物酶体参与GGAT催化的反应。由此可见, 光呼吸途径涉及到叶绿体、过氧化物酶体、线粒体和细胞质基质四个细胞组分, 必然涉及到许多代谢中间产物的跨膜运输, 据统计可能至少需要25个跨膜运输(Eisenhut等2013a), 但目前已报道的参与光呼吸代谢的转运蛋白仅有BASS6、BOU (A BOUT DE SOUFFLE)、PLGG、DiT1和DiT2。而且虽然已有证据表明BOU是存在于线粒体膜上参与光呼吸代谢的转运蛋白, 但其转运的代谢物尚未确定(Eisenhut等2013b)。因此进一步发掘光呼吸途径中的转运蛋白及其功能是今后光呼吸途径的重要研究方向之一。

光呼吸途径被发现后的很长一段时间都被认为是一个无效的耗能过程, 然而许多试图通过降低或消除光呼吸从而提高植物净光合效率的努力均未能成功; 再加上许多光呼吸突变体, 如*glyk*、*shml*和*plgg1*等, 在正常大气条件下致死或生长受到严重抑制(Boldt等2005; Voll等2006; Pick等2013), 这些结果均有力地暗示光呼吸对植物的正常生长至关重要。越来越多的研究表明, 光呼吸不仅与光合作用、氮同化、呼吸作用、氨基酸合成、一碳代谢和氧化还原信号等基础代谢之间相互关联, 还参与了植物抵抗生物和非生物逆境(Hodges等2016; Xie等2016; Yuan等2017; Busch等2018)。虽然C4植物中光呼吸比C3植物中的弱, 但从C4植物玉米*GLO*的表达下调干涉株系不能在大气条件下正常生长来看, C4植物的光呼吸对其正常生长发育也非常重要(Zelitch等2009)。光呼吸是绿色植物为适应O₂浓度升高而进化出的代谢途径, 具有清除有毒的代谢中间产物、合成重要代谢物、保护植物免受光抑制和增强植物抵抗多种生物和非生物逆境等功能(张智胜和彭新湘2016)。

既然光呼吸对植物如此重要, 那么它必然是受到精密调控的。然而目前对光呼吸调控的研究并不全面与系统, 所知甚少。本文将介绍近年来光呼吸代谢调控的研究进展, 为今后光呼吸调控的研究理清思路, 并为利用获得的知识合理改造光呼吸以提高植物生产效率提供理论基础, 如最近相继在烟草和水稻中, 采用光呼吸代谢改造大幅提高生产能力的报道引起了人们的极大兴趣(Shen等2019; South等2019)。

2 转录水平上对光呼吸代谢途径的调控

如果一个因素发生变化后能导致某些基因的转录水平发生改变, 那么这些基因是受到这个因素调控的。下面将能引起光呼吸关键酶基因转录水平发生变化的主要因素进行介绍。

2.1 光对光呼吸代谢酶基因的表达调控

光呼吸是在光下发生的代谢过程, 研究表明光呼吸关键酶基因的表达基本是光诱导表达的。烟草*GLO*的mRNA水平在照光时增加, 在黑暗中降低(Barak等2001)。拟南芥基因组中存在3个*CAT*基因, 其中*CAT2*定位于过氧化物酶体, 参与拟南芥光呼吸代谢, 光能强烈诱导*CAT2*的表达(Zhong等1994)。拟南芥基因组中有7个基因编码丝氨酸羟甲基转移酶(SHMT), 其中*AtSHMT1*定位于线粒体, 是参与光呼吸的关键酶(Voll等2006), *AtSHM1* (*At4g37930*)受到光的诱导表达, 并且表达水平与光的强度正相关(McClung等2000)。大豆*GDC-H*和*GDC-P*以及黄瓜*HPR1*基因的表达都受到光的诱导(Kim等1991; Sloan等1993); Mano等(1999)用南瓜进行的实验表明, *HPR1*和*HPR2*来自于相同的前体mRNA, 虽然它们的表达都受到光的诱导, 但*HPR2*表达水平的提高明显强于*HPR1*, 说明光通过调控*HPR1*和*HPR2*的不同表达水平对光呼吸产生调控。对Genvestigator数据库中拟南芥表达谱分析发现, 仅光呼吸关键酶基因*GLYK*的表达未发现受到光的诱导(Foyer等2009)。

2.2 丝氨酸对光呼吸代谢酶基因的表达调控

在光呼吸代谢途径中, 甘氨酸到丝氨酸的转变是在线粒体中由GDC和SHMT1依次催化完成的。外源添加1 mmol·L⁻¹的丝氨酸到拟南芥Col-0

培养基中, 2周后处理组叶片丝氨酸含量是对照的2倍, 说明丝氨酸能由根部吸收并被转运到叶片。qRT-PCR分析*PGLP*、*GDC-P*、*GDC-T*、*SHMT*和*GLYK*等光呼吸关键酶基因的昼夜表达情况, 结果表明在丝氨酸处理下这些基因的表达不再被光诱导; 并且这种表达模式的变化与*hpr*突变体中这些基因的表达模式相似。参与合成丝氨酸的基因(*GDC-P*、*GDC-T*、*SHMT*)比光呼吸其他基因的表达更为明显地受到抑制。但添加甘氨酸并未改变光呼吸关键酶基因的昼夜节律, 却促进了GDC各个亚基和SHMT1的表达。这些实验结果表明, 丝氨酸是光呼吸关键酶基因转录的代谢调控因子, 特别是对将甘氨酸催化为丝氨酸的*GDC*和*SHMT*调控更为显著(Timm等2013)。植物光呼吸有助于提高植物抗生物和非生物逆境, 据报道丝氨酸也参与了植物对多种逆境的响应(Ho和Saito 2001; Waditee等2007), 丝氨酸是否是通过光呼吸的调控来实现这一功能值得进一步探索。

3 翻译后修饰对光呼吸代谢途径的调控

蛋白质翻译后修饰是蛋白质功能调节的重要方式, 常见的蛋白修饰包括磷酸化、泛素化、甲基化、乙酰化、糖基化、SUMO化、亚硝基化、氧化等, 这仅是目前已确认的400余种修饰方式的冰山一角, 蛋白质经修饰后可对其功能产生重要影响和精确调控, 显著增加蛋白质功能的多样性和复杂性, 使其更好地适应生命活动的多样性和复杂性(阮班军等2014)。目前研究表明多个光呼吸代谢关键酶也受到多种蛋白质翻译后修饰的调控:

3.1 S-亚硝基化及硝基化对光呼吸代谢酶活性的调控

蛋白质的巯基亚硝基化是指一氧化氮(NO)及其衍生物修饰蛋白质中半胱氨酸残基中的巯基(-SH)形成-SNO, 是NO发挥其信号转导作用的重要方式之一。蛋白质巯基亚硝基化修饰可通过影响蛋白质活性、蛋白质表达、亚细胞定位、蛋白质-蛋白质及蛋白质-核酸分子间相互作用等方式对蛋白质功能进行调控(Stamler等2001)。Ortega-Galisteo等(2012)的研究表明豌豆叶过氧化物酶体中存在蛋白的S-亚硝基化, 采用免疫沉淀技术纯化

了S-亚硝基化蛋白, 采用两种不同的质谱技术鉴定了这些蛋白, 在鉴定的6个蛋白中包括CAT和GOX这两个光呼吸代谢关键酶, 并且它们的酶活性受到S-亚硝基化的抑制。CAT和GOX的S-亚硝基化水平会因镉、2,4-D的处理发生改变, 暗示非生物逆境通过CAT和GOX的S-亚硝基化来调控它们的活性, 进而对光呼吸产生的H₂O₂的水平进行调节, 影响植物对逆境的响应。Camejo等(2013)从对照豌豆叶片线粒体中鉴定出光呼吸途径中的GDC-P、GDC-T、SHMT和GOX被S-亚硝基化修饰, 而从150 mmol·L⁻¹ NaCl处理5 d的材料中仅鉴定出GDC-P被S-亚硝基化修饰, 表明NaCl处理可以通过改变光呼吸途径中关键代谢酶的亚硝基化修饰, 从而对光呼吸途径进行调控。Palmieri等(2010)从拟南芥叶片线粒体中鉴定出光呼吸途径中的GDC和SHMT被S-亚硝基化修饰, 他们还发现1 mmol·L⁻¹ S-亚硝基化修饰供体GSNO处理GDC 20 min会导致75%的酶活性受到抑制, 但该活性可以被加入1 mmol·L⁻¹ 二硫苏糖醇恢复。Corpas等(2013)从豌豆叶片过氧化物酶体中鉴定到4个酪氨酸硝基化修饰的蛋白, 其中一个就是光呼吸途径中的HPR; 过氧化物酶体提取的样品经体外硝基化后, HPR的活性降低了65%。他们进一步采用定点突变技术对拟南芥HPR的分析表明, 其198位的酪氨酸硝基化是其活性降低的主要原因。这些结果表明, S-亚硝基化能够修饰光呼吸途径中的关键酶, 并且对它们的活性产生调控。

3.2 氨基酸残基的氧化还原对光呼吸代谢酶活性的调控

植物细胞的叶绿体、过氧化物酶体、线粒体和细胞质中, 在代谢活动中会产生和消耗NAD⁺/NADH、NADP⁺/NADPH和H₂O₂等氧化还原物质, 以及在某些情况下还会产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS), 因此细胞环境的氧化还原势是处在动态变化中的。蛋白质中的半胱氨酸残基最易受到形成二硫键、谷胱甘肽化、亚硝基化和亚磺酰化等作用而被氧化, 这些氧化作用是可逆的, 蛋白质氧化还原状态的变化会影响蛋白的正确折叠、亚细胞定位及活性等。玉米等单子叶C4植物的

GLYK是受到氧化还原势调控的, 而C3植物和双子叶C4植物的GLYK却不受氧化还原势的调控。Bartsch等(2010)分析GLYK氨基酸序列发现, 玉米的GLYK在C端具有一小段含2个半胱氨酸的序列, 而在水稻、拟南芥的GLYK中却不具有这一序列。在夜间, 这2个半胱氨酸被氧化形成二硫键后玉米的GLYK就失去活性, 但它的活性可以被加入硫氧还蛋白Trxf而完全恢复。如果把这一小段序列融合到水稻、拟南芥的GLYK的C端后, 将使水稻、拟南芥的GLYK具有类似玉米GLYK的氧化抑制活性的特性。

硫氧还蛋白(thioredoxin, Trx)是生物体内广泛存在的具有氧化还原活性的小分子蛋白, 它们通过二硫键和硫醇之间的可逆变化调控靶标蛋白的氧化还原状态, 从而对靶标蛋白的活性起着重要的调节作用。Balmer等(2004)从豌豆、菠菜和马铃薯茎的线粒体中鉴定了50种可溶的Trx偶联的靶标蛋白, 包括线粒体光呼吸途径中GDC的H、P、T和L四个亚基以及SHMT; 并且采用荧光凝胶电泳对Trx对光呼吸途径这两个酶的还原作用进行了验证。这些实验结果表明, 光呼吸途径线粒体中的代谢酶活力是受到氧化还原势调控的。Marchand等(2004)也从拟南芥叶片中鉴定了GDC复合体的H和L两个亚基是Trx的作用靶标, 同时也鉴定出叶绿体Calvin循环中的11个酶和亚基是Trx的作用靶标, 说明光合作用碳反应过程也是受到氧化还原势调控的。虽然现在没有直接的实验证据表明, 叶绿体和过氧化物酶体中的光呼吸代谢酶是Trx的作用靶标, 并且结合其他光呼吸代谢酶也具有多个Cys残基, 我们可以合理推测其他光呼吸代谢关键酶可能也是Trx的作用靶标, 它们的代谢酶活力可能也受到氧化还原势调控。

3.3 磷酸化对光呼吸代谢酶活性的调控

蛋白磷酸化是重要且普遍的蛋白质翻译后修饰方式。生物体内蛋白的磷酸化/去磷酸化可由相应的激酶/磷酸酯酶催化完成, 蛋白经磷酸化/去磷酸化修饰后, 可以导致被修饰的蛋白在活性、亚细胞定位、与其他蛋白的互作及稳定性等方面发生变化, 进而影响蛋白的功能。目前为止, 除GLYK没有发现磷酸化修饰外, 光呼吸途径的其他

代谢酶均有不同程度的磷酸化修饰。如在拟南芥叶片提取物中, 鉴定出了PGLP1、GOX1、GOX2、SGAT1、GDC H1、GDC H2、SHMT1、HPR1和HPR2的磷酸化肽段; 在拟南芥细胞培养提取物中, 鉴定出了PGLP1、GGAT1以及GDC P1、GDC P2和GDC T的磷酸化肽段; 在一些逆境条件之下, 如在缺氧条件下鉴定出GOX1、GOX2, 在缺氮与重新施氮的条件下鉴定出PGLP1、GGAT1、GDC P和GDC T, 在缺磷与重新施磷的条件下鉴定出GDC P1、GDC P2 (Hodges等2013)。Rubisco大亚基的Ser208、Thr246、Tyr239和Thr230在植物中保守且能被磷酸化, 而且靠近底物RuBP的结合位点, 因此这些位点的磷酸化可能会影响酶的催化活性(Lohrig等2009)。这些研究表明, 光呼吸代谢酶的磷酸化是随发育时期及外界条件而发生变化的, 但这些磷酸化是如何调控光呼吸代谢酶的功能目前并不清楚, 是今后进一步研究的方向。

3.4 乙酰化对光呼吸代谢酶活性的调控

赖氨酸的乙酰化修饰是众多蛋白质翻译后修饰的方式之一, 是在特定蛋白赖氨酸乙酰转移酶(lysine acetyltransferase, KAT)的催化下将乙酰辅酶A的乙酰基团转移到赖氨酸的 ϵ 氨基而完成修饰; 在特定条件下又可被赖氨酸脱乙酰化酶(lysine deacetylases, KDACs)解除修饰。赖氨酸的乙酰化对蛋白质的功能有非常显著的影响, 乙酰基团掩盖了 ϵ 氨基的正电荷, 而这对酶的催化活性、蛋白间相互作用和蛋白-DNA相互作用有重要影响(Yang和Seto 2008)。König等(2014)利用LC-MS/MS分析了10日龄拟南芥幼苗线粒体中蛋白质的乙酰化修饰情况, 在总共120个乙酰化修饰的线粒体蛋白质中发现了243个乙酰化位点。其中来自光呼吸途径的SHMT1 (At4g37930)、SHMT2 (At5g26780)、GDC-H (At1g32470)、GDC-P (At1g32470、At2g-26080)和GDC-T (At1g11860)均鉴定出赖氨酸乙酰化肽段。但赖氨酸乙酰化是如何调控光呼吸途径代谢酶的功能的尚未见文献报道。

3.5 泛素化对光呼吸代谢酶活性的调控

蛋白质泛素化修饰是可逆的蛋白质翻译后修饰的方式之一, 蛋白质泛素化修饰是由泛素连接酶催化, 脱泛素化是由泛素特异的蛋白酶(ubiqui-

tin-specific protease, UBP)催化。蛋白质的泛素化修饰除了介导靶标蛋白的降解外,还可以调控靶标蛋白的活性和亚细胞定位,从而在调控细胞周期、细胞凋亡、转录调控、DNA损伤修复、逆境响应等发挥作用(卢亮等2013)。拟南芥叶片线粒体中的SHMT1是光呼吸途径中的关键酶,并且与植物的耐盐性有关。Zhou等(2012)研究发现拟南芥SHMT1可以被泛素化修饰,并通过26S蛋白酶复合体依赖的途径降解;UBP16通过除去SHMT1的泛素化而使SHMT1稳定。SHMT1存在于细胞质和线粒体中,SHMT1的泛素化/脱泛素化修饰可以改变SHMT1的定位分布。UBP16可能通过调控SHMT1的稳定性及亚细胞定位分布,来影响SHMT1的活性,SHMT1通过调控细胞质膜上 Na^+/H^+ 逆转运蛋白的活性而影响 Na^+ 跨膜运输而影响耐盐性。

4 蛋白质间互作对光呼吸代谢途径的调控

蛋白质之间的相互作用是蛋白质发挥其功能的一种重要方式,蛋白质之间的相互作用对蛋白质稳定性、活性、亚细胞定位等均会产生影响,从而对其执行的生物学功能产生调控。Jamai等(2009)发现了一个*glu1-201*突变体,该基因编码光呼吸途径中与氮同化有关的关键酶Fd-GOGAT,在该突变体中虽然没有检测到SHMT1基因有任何突变,但却发现SHMT1的活性变低,并且表现出与*shmt1-1*类似的光呼吸表型。但当*glu1-201*被GLU1回补后,不仅光呼吸表型消失,而且SHMT1的活性也回复到野生型水平,说明Fd-GOGAT具有调控SHMT1活性的能力。SHMT1定位于线粒体,而早期的研究认为Fd-GOGAT定位于叶绿体,它们之间如何调控存在疑问。Jamai等(2009)采用GFP荧光定位技术和生化免疫技术表明Fd-GOGAT具有叶绿体和线粒体双定位,并且利用免疫共沉淀和BiFC技术表明Fd-GOGAT和SHMT1之间存在互作,并调控SHMT1的活性。Zhang等(2016)通过体外及体内Pull-down技术、BiFC和CoIP技术均表明OsGLO1与OsCAT C之间存在互作,并且它们之间的互作可以被水杨酸解聚,推测OsGLO1与OsCAT C之间结合与解聚的可逆变化,就可导致 H_2O_2 水平的波动,从而对环境的变化做出响应。拟南芥*gox1*、

*gox2*单突变体在正常大气中均无光呼吸表型,但*gox1gox2*双突变体却具有光呼吸表型,说明GOX1、GOX2之间存在功能冗余。Kerchev等(2016)在*cat2-2*突变体中找到了一个回复突变体,能够减轻*cat2-2*的光呼吸表型,图位克隆表明此抑制基因是GOX1,但GOX2的突变却不能减轻*cat2-2*的光呼吸表型,说明GOX1、GOX2之间的功能还是有所差异的。这些研究使我们更好地了解光呼吸代谢酶的作用以及它们之间的调控关系。

5 生物活性物质对光呼吸代谢途径的调控

棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)是广泛使用的生防真菌,它能促进植物生长和增强植物对生物和非生物逆境的抗性。在黄瓜根接种棘孢木霉T34菌株几小时后,黄瓜子叶中的水杨酸、茉莉酸及一些抗病过氧化物酶增加,Segarra等(2007)用双向电泳技术及质谱鉴定技术在接种了棘孢木霉T34菌株的黄瓜子叶中鉴定出28个差异表达蛋白,其中包括光呼吸关键酶GS和HPR,说明外源的棘孢木霉能对光呼吸产生调控,增强植物对逆境的抗性。赭曲霉毒素A(ochratoxin A, OTA)是分离自霉菌的异香豆素衍生物,其毒性会造成植物细胞的死亡。Wang等(2012)分别采用转录组与蛋白组学技术鉴定OTA处理拟南芥后的差异表达基因与蛋白,结果分析表明乙烯、水杨酸、茉莉酸等介导了OTA引起的细胞毒性过程,光呼吸途径中的SHMT1的表达及蛋白水平均随之降低,光合作用与光呼吸也从活跃代谢状态转变为相对较弱的状态。Gao等(2014)发现*cat2*突变体中生长素的水平随光强而发生变化,这暗示光呼吸产生的 H_2O_2 与生长素信号传导之间存在关联。Kerchev等(2015)从10 000种化学物质中筛选到34种化学物质能够在高光呼吸条件下挽救*cat2*突变体的致死表型,其中活性最强的是含生长素前体结构的77号化合物,该化合物在植物细胞体内经酶解脱酰胺转变为2-(2,4-二氯苯氧基)丙酸[2-(2,4-dichlorophenoxy) propionic acid, 2,4-DP];进一步发现天然和合成的生长素类物质也具有挽救*cat2*突变体的致死表型的作用。生长素信号途径的激活减轻了高光呼吸条件下*cat2*突变体中支链和芳香族氨基酸的积

累。脱落酸(abscisic acid, ABA)是一个重要的参与植物对生物和非生物逆境响应的植物激素, Li等(2015)通过比较在良好灌溉条件与干旱逆境下 H_2O_2 含量、气孔导度与ABA含量之间的关系, 认为外源添加ABA导致的 H_2O_2 含量上升进一步促进生姜叶片中的气孔关闭, 最终导致生姜叶片的净光合速率(P_n)和光呼吸速率(P_r)的降低。从上述文献报道中可以看出, 许多生物活性物质可以对植物的光呼吸产生调控, 它们之间调控的更深入的机理及如何加以利用以提高植物产量将是今后的研究目标。

6 展望

综上所述, 光呼吸代谢途径在植物的正常生长发育及抵抗逆境方面具有重要作用, 但同时光呼吸代谢途径中转运蛋白、与其他代谢途径的相互作用以及光呼吸代谢途径的精细调控等方面还存在许多知识的空白点, 建议在今后的工作中综合采用正向遗传学、反向遗传学、比较基因组学、转录组技术、蛋白组技术、基因共表达分析以及灵敏且高通量的光呼吸表型筛选技术等相关研究手段, 逐步阐明围绕光呼吸途径及其精细调控的机理。

参考文献(References)

- Balmer Y, Vensel WH, Tanaka CK, et al (2004). Thioredoxin links redox to the regulation of fundamental processes of plant mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 2642–2647
- Barak S, Nejidat A, Heimer Y, et al (2001). Transcriptional and posttranscriptional regulation of the glycolate oxidase gene in tobacco seedlings. *Plant Mol Biol*, 45: 399–407
- Bartsch O, Mikkat S, Hagemann M, et al (2010). An autoinhibitory domain confers redox regulation to maize glycerate kinase. *Plant Physiol*, 153: 832–840
- Bauwe H, Hagemann M, Kern R, et al (2012). Photorespiration has a dual origin and manifold links to central metabolism. *Curr Opin Plant Biol*, 15: 269–275
- Boldt R, Edner C, Kolukisaoglu U, et al (2005). D_3 -Glycerate 3-kinase, the last unknown enzyme in the photorespiratory cycle in *Arabidopsis*, belongs to a novel kinase family. *Plant Cell*, 17: 2413–2420
- Busch FA, Sage RF, Farquhar GD (2018). Plants increase CO_2 uptake by assimilating nitrogen via the photorespiratory pathway. *Nat Plant*, 4: 46–54
- Camejo D, Romero-Puertas MDC, Rodríguez-Serrano M, et al (2013). Salinity-induced changes in *S*-nitrosylation of pea mitochondrial proteins. *J Proteomics*, 79: 87–99
- Corpas FJ, Leterrier M, Begara-Morales JC, et al (2013). Inhibition of peroxisomal hydroxypyruvate reductase (HPR1) by tyrosine nitration. *Biochim Biophys Acta*, 1830: 4981–4989
- Cousins AB, Walker BJ, Pracharoenwattana I, et al (2011). Peroxisomal hydroxypyruvate reductase is not essential for photorespiration in *Arabidopsis* but its absence causes an increase in the stoichiometry of photorespiratory CO_2 release. *Photosynth Res*, 108: 91–100
- Eisenhut M, Pick TR, Bordych C, et al (2013a). Towards closing the remaining gaps in photorespiration—the essential but unexplored role of transport proteins. *Plant Biol*, 15: 676–685
- Eisenhut M, Planchais S, Cabassa C, et al (2013b). *Arabidopsis* A BOUT DE SOUFFLE is a putative mitochondrial transporter involved in photorespiratory metabolism and is required for meristem growth at ambient CO_2 levels. *Plant J*, 73: 836–849
- Engel N, van den Daele K, Kolukisaoglu Ü, et al (2007). Deletion of glycine decarboxylase in *Arabidopsis* is lethal under nonphotorespiratory conditions. *Plant Physiol*, 144: 1328–1335
- Foyer CH, Bloom AJ, Queval G, et al (2009). Photorespiratory metabolism: genes, mutants, energetics, and redox signaling. *Ann Rev Plant Biol*, 60: 455–484
- Gao X, Yuan HM, Hu YQ, et al (2014). Mutation of *Arabidopsis* *CATALASE2* results in hyponastic leaves by changes of auxin levels. *Plant Cell Environ*, 37: 175–188
- Guan M, de Bang TC, Pedersen C, et al (2016). Cytosolic glutamine synthetase Gln1;2 is the main isozyme contributing to GS1 activity and can be up-regulated to relieve ammonium toxicity. *Plant Physiol*, 171: 1921–1933
- Ho CL, Saito K (2001). Molecular biology of the plastidic phosphorylated serine biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Amino Acids*, 20: 243–259
- Hodges M, Deller Y, Keech O, et al (2016). Perspectives for a better understanding of the metabolic integration of photorespiration within a complex plant primary metabolism network. *J Exp Bot*, 67: 3015–3026
- Hodges M, Jossier M, Boex-Fontvieille E, et al (2013). Protein phosphorylation and photorespiration. *Plant Biol*, 15: 694–706
- Igarashi D, Tsuchida H, Miyao M, et al (2006). Glutamate:glyoxylate aminotransferase modulates amino acid content during photorespiration. *Plant Physiol*, 142: 901–910
- Jamai A, Salome PA, Schilling SH, et al (2009). *Arabidopsis*

- photorespiratory serine hydroxymethyltransferase activity requires the mitochondrial accumulation of ferredoxin-dependent glutamate synthase. *Plant Cell*, 21: 595–606
- Kerchev P, Mühlenbock P, Denecker J, et al (2015). Activation of auxin signalling counteracts photorespiratory H₂O₂-dependent cell death. *Plant Cell Environ*, 38: 253–265
- Kerchev P, Waszczak C, Lewandowska A, et al (2016). Lack of GLYCOLATE OXIDASE1, but not GLYCOLATE OXIDASE2, attenuates the photorespiratory phenotype of CATALASE2-deficient *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 171: 1704–1719
- Kim Y, Shah K, Oliver DJ (1991). Cloning and light-dependent expression of the gene coding for the P-protein of the glycine decarboxylase complex from peas. *Physiol Plant*, 81: 501–506
- Kissen R, Winge P, Tran DHT, et al (2010). Transcriptional profiling of an *Fd-GOGAT1/GLU1* mutant in *Arabidopsis thaliana* reveals a multiple stress response and extensive reprogramming of the transcriptome. *BMC Genomics*, 11: 190
- König AC, Hartl M, Boersema PJ, et al (2014). The mitochondrial lysine acetylome of *Arabidopsis*. *Mitochondrion*, 19: 252–260
- Liepmann AH, Olsen LJ (2001). Peroxisomal alanine:glyoxylate aminotransferase (AGT1) is a photorespiratory enzyme with multiple substrates in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 25: 487–498
- Li HD, Wang Y, Xiao J, et al (2015). Reduced photosynthetic dark reaction triggered by ABA application increases intercellular CO₂ concentration, generates H₂O₂ and promotes closure of stomata in ginger leaves. *Environ Exp Bot*, 113: 11–17
- Lohrig K, Muller B, Davydova J, et al (2009). Phosphorylation site mapping of soluble proteins: bioinformatical filtering reveals potential plastidic phosphoproteins in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 229: 1123–1134
- Lu L, Li D, He FC (2013). Bioinformatics advances in protein ubiquitination. *Hereditas*, 35: 17–26 (in Chinese with English abstract) [卢亮, 李栋, 贺福初(2013). 蛋白质泛素化修饰的生物信息学研究进展. *遗传*, 35: 17–26]
- Mano S, Hayashi M, Nishimura M (1999). Light regulates alternative splicing of hydroxypyruvate reductase in pumpkin. *Plant J*, 17: 309–320
- Marchand C, Maréchal PL, Meyer Y, et al (2004). New targets of *Arabidopsis* thioredoxins revealed by proteomic analysis. *Proteomics*, 4: 2696–2706
- McClung CR, Hsu M, Painter JE, et al (2000). Integrated temporal regulation of the photorespiratory pathway: circadian regulation of two *Arabidopsis* genes encoding serine hydroxymethyl transferase. *Plant Physiol*, 123: 381–392
- Ortega-Galisteo AP, Rodriguez-Serrano M, Pazmino DM, et al (2012). S-nitrosylated proteins in pea (*Pisum sativum* L.) leaf peroxisomes: changes under abiotic stress. *J Exp Bot*, 63: 2089–2103
- Palmieri MC, Lindermayr C, Bauwe H, et al (2010). Regulation of plant glycine decarboxylase by S-nitrosylation and glutathionylation. *Plant Physiol*, 152: 1514–1528
- Pick TR, Bräutigam A, Schulz MA, et al (2013). PLGG1, a plastidic glycolate glycerate transporter, is required for photorespiration and defines a unique class of metabolite transporters. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 3185–3190
- Queval G, Issakidis-Bourguet E, Hoeberichts FA, et al (2007). Conditional oxidative stress responses in the *Arabidopsis* photorespiratory mutant *cat2* demonstrate that redox state is a key modulator of day length-dependent gene expression, and define photoperiod as a crucial factor in the regulation of H₂O₂-induced cell death. *Plant J*, 52: 640–657
- Renné P, Dressen U, Hebbeker U, et al (2003). The *Arabidopsis* mutant *dct* is deficient in the plastidic glutamate/malate translocator DiT2. *Plant J*, 35: 316–331
- Ruan BJ, Dai P, Wang W, et al (2014). Progress on post-translational modification of proteins. *Chin J Cell Biol*, 36: 1027–1037 (in Chinese with English abstract) [阮班军, 代鹏, 王伟等(2014). 蛋白质翻译后修饰研究进展. *中国细胞生物学学报*, 36: 1027–1037]
- Schneidereit J, Häusler RE, Fiene G, et al (2006). Antisense repression reveals a crucial role of the plastidic 2-oxoglutarate/malate translocator DiT1 at the interface between carbon and nitrogen metabolism. *Plant J*, 45: 206–224
- Segarra G, Casanova E, Bellido D, et al (2007). Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34. *Proteomics*, 7: 3943–3952
- Shen BR, Wang LM, Lin XL, et al (2019). Engineering a new chloroplastic photorespiratory bypass to increase photosynthetic efficiency and productivity in rice. *Mol Plant*, 12 (2): 199–214
- Sloan JS, Schwartz BW, Becker WM (1993). Promoter analysis of a light regulated gene encoding hydroxypyruvate reductase, an enzyme of the photorespiratory glycolate pathway. *Plant J*, 3: 867–874
- Somerville CR (2001). An early *Arabidopsis* demonstration. Resolving a few issues concerning photorespiration. *Plant Physiol*, 125: 20–24
- South PF, Cavanagh AP, Liu HW, et al (2019). Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field. *Science*, <http://dx.doi.org/10.1126/science.aat9077>

- South PF, Walker BJ, Cavanagh AP, et al (2017). Bile acid sodium symporter BASS6 can transport glycolate and is involved in photorespiratory metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 29: 808–823
- Stamler JS, Lamas S, Fang FC (2001). Nitrosylation: the prototypic redox-based signaling mechanism. *Cell*, 106: 675–683
- Timm S, Florian A, Wittmiss M, et al (2013). Serine acts as a metabolic signal for the transcriptional control of photorespiration-related genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 162: 379–389
- Voll LM, Jamai A, Renné P, et al (2006). The photorespiratory *Arabidopsis shm1* mutant is deficient in *SHM1*. *Plant Physiol*, 140: 59–66
- Waditee R, Bhuiyan NH, Hirata E, et al (2007). Metabolic engineering for betaine accumulation in microbes and plants. *J Biol Chem*, 282: 34185–34193
- Wang Y, Peng XL, Xu WT, et al (2012). Transcript and protein profiling analysis of OTA-induced cell death reveals the regulation of the toxicity response process in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 63: 2171–2187
- Whitney SM, von Caemmerer S, Hudson GS, et al (1999). Directed mutation of the Rubisco large subunit of tobacco influences photorespiration and growth. *Plant Physiol*, 121: 579–588
- Xie XJ, Huang AY, Gu WH, et al (2016). Photorespiration participates in the assimilation of acetate in *Chlorella sorokiniana* under high light. *New Phytol*, 209: 987–998
- Yang XJ, Seto E (2008). Lysine acetylation: codified crosstalk with other posttranslational modifications. *Mol Cell*, 31: 449–461
- Yuan HM, Liu WC, Lu YT (2017). CATALASE2 coordinates SA-mediated repression of both auxin accumulation and JA biosynthesis in plant defenses. *Cell Host Microbe*, 21: 143–155
- Zelitch I, Schultes NP, Peterson RB, et al (2009). High glycolate oxidase activity is required for survival of maize in normal air. *Plant Physiol*, 149: 195–204
- Zhang ZS, Li XY, Cui LL, et al (2017). Catalytic and functional aspects of different isozymes of glycolate oxidase in rice. *BMC Plant Biol*, 17: 135
- Zhang ZS, Peng XX (2016). Multifunctional roles of photorespiration and its regulation for the balance. *Plant Physiol J*, 52: 1692–1702 (in Chinese with English abstract) [张智胜, 彭新湘(2016). 光呼吸的功能及其平衡调控. *植物生理学报*, 52: 1692–1702]
- Zhang ZS, Xu YY, Xie ZW, et al (2016). Association–dissociation of glycolate oxidase with catalase in rice: a potential switch to modulate intracellular H₂O₂ levels. *Mol Plant*, 9: 737–748
- Zhong HH, Young JC, Pease EA, et al (1994). Interactions between light and the circadian clock in the regulation of *CAT2* expression in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 104: 889–898
- Zhou H, Zhao J, Yang Y, et al (2012). Ubiquitin-specific protease16 modulates salt tolerance in *Arabidopsis* by regulating Na⁺/H⁺ antiport activity and serine hydroxymethyltransferase stability. *Plant Cell*, 24: 5106–5122

Recent progress of photorespiration pathway and its regulation

HOU Xue-Wen*, LI Ying-Jie, ZHONG Qi, PENG Xin-Xiang

State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: Photorespiration is a metabolic pathway evolved by photoautotrophic organisms to adapt to the increase of environmental oxygen. Photorespiration has some important physiologic and biochemical functions, such as producing 70% amount H_2O_2 in C3 plant, synthesizing amino acids, involving in nitrogen assimilation, forming C1 unit, and responding to stress resistance. Photorespiration is indispensable in the normal growth of plants and the response to various stress. At present, except for some transporters, the main pathway of photorespiration is well understood. However, knowledge about how this important metabolism is regulated is very limited. In this paper, the recent development of photorespiration regulation will be discussed from various levels, such as transcription, post-translation modification, protein-protein interaction and bioactive substances, on the basis of summarizing the research progress of photorespiration pathway. Discussions here will help to clarify the study on photorespiration regulation, and promote plant growth and stress resistance by using these regulation mechanisms in the future.

Key words: photorespiration; photorespiration regulation; transcriptional regulation; post-translational modification; regulation of enzyme activity

Received 2018-12-14 Accepted 2019-02-28

This work was supported by the Science and Technology Program of Guangzhou, China (201707010032 and 201607020006).

*Corresponding author (hwx1969@scau.edu.cn).