

魏力. 微拟球藻中潜在 C₄ 循环对不同抑制剂、光质的响应[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10): 298-302.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.099

微拟球藻中潜在 C₄ 循环对不同抑制剂、光质的响应

魏力^{1,2}

(1. 中国科学院青岛生物能源与过程研究所单细胞研究中心, 山东青岛 266101; 2. 中国科学院大学, 北京 100086)

摘要:为了探讨微拟球藻 C₃、C₄ 循环在碳固定过程中的角色和功能, 通过对其基因组、转录组进行解析, 发现微拟球藻 IMET1 中存在编码磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、苹果酸酶、丙酮酸磷酸双激酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶等 C₄ 途径关键酶的基因。分析了关键 C₄ 基因的进化, 并通过实时荧光定量 PCR 法检测了微拟球藻在不同光质条件下 C₄ 基因(磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶)表达量的变化。此外通过使用不同的化学抑制剂检测这些潜在 C₄ 基因对其的响应。结果表明, IMET1 中存在细菌型磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶, 在系统发育关系上, 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶基因都与硅藻、褐藻进化关系很近。在白光、蓝光、红光等非生物胁迫条件下, 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶的基因表达在蓝光下短期内会显著升高, 而后相对表达又下调。在某些胁迫条件下, 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、丙酮酸磷酸双激酶等活性的升高可能改变了微拟球藻 IMET1 碳代谢途径的走向, C₄ 代谢途径功能加强。

关键词:微拟球藻; C₄ 循环; 抑制剂; 转录动态

中图分类号: S917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0298-05

根据光合作用碳素同化的最初光合产物的不同, 高等植物的光合作用分为 3 类: 分别是 C₃ 植物、C₄ 植物、景天酸代谢 (crassulacean acid metabolism, CAM)^[1]。高等植物中, 绝大多数植物 (约占 90%) 使用 C₃ 循环进行 CO₂ 固定, 即经典的卡尔文循环途径, 只有一些耐干旱植物 (如高粱、玉米、稗草、黍类) 才拥有 C₄ 循环。生长在极端干旱条件下的植物 (如景天、仙人掌等) 能利用 CAM 通路形式光合固碳^[2]。与 C₃ 植物相比, C₄ 植物具有较强的光合作用活性, 它能够通过碳浓缩显著提高固碳酶 - 核酮糖 - 1, 5 - 二磷酸羧化酶/加氧酶 (rubisco) 周围的 CO₂ 浓度, 进而提高光合固碳效率, 并且能够同时改善、提高氮和水的利用效率^[3]。

目前, 我国对浮游植物光合无机碳吸收机制的认识相对滞后, 没有像高等植物一样明确分类。据报道, 水生植物的某些种类 (如 *Hydrilla*、*Egeria*、*Orcuttia*、*Eleocharis* 属) 可以进行 C₄ 形式的光合作用, 但它们并没有大部分陆生 C₄ 植物拥有的 Kranz 结构。在某些非生物胁迫条件下, 这些物种在叶绿体内能够利用 NADP 苹果酸酶 (NADP - ME) 完成苹果酸脱羧反应并释放 CO₂, 从而形成叶绿体内的 CO₂ 浓缩机制 (CO₂ concentrating mechanism, CCM)。C₃、C₄ 途径将在同一细胞中进行, 而磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC) 和 rubisco 分别定位在细胞质、叶绿体中起作用, 这与 C₄ 陆生植物的 C₄ 循环存在很大不同^[4]。水生植物黑藻 (*Hydrilla verticillata*) 具有 C₃ 途径的气体交换和生化特

征, 但当暴露在低浓度的 CO₂ 环境中 10 ~ 12 d, 会诱导产生 C₄ 类型的 CO₂ 浓缩机制^[5]。此外, 海洋藻类由于长期的进化适应仍通过低碳诱导的 CO₂ 浓缩机制来增加主要的光合作用羧化酶 rubisco 周围 CO₂ 的浓度^[6]。通过这个机制能够增加 CO₂ 与 O₂ 的比例, 进而减少光呼吸过程中的能量浪费。海洋藻类光合作用的碳固定途径一般被认为是 C₃ 途径, 但是最近的同位素标记试验、基因组测序数据表明, 藻类中也存在潜在的 C₄ 途径, 即 CO₂ 首先被固定形成四碳分子苹果酸或草酰乙酸, 如海洋硅藻威氏海链藻 (*Thalassiosira weissflogii*) 单细胞中存在 C₄ 途径, 在三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) 中或许存在 1 个潜在的 C₄ 类似碳固定途径^[7]。然而, 1 个介于 C₃ - C₄ 之间的碳固定途径被认为存在于假微型海链藻 (*Thalassiosira pseudonana*) 中。因此, 在不同的硅藻中, 多种类型的 CCM 机制或许存在。绿藻 (*Ostreococcus tauri*) 中已经发现了 C₄ 光合作用的相关基因^[8]。这些 C₄ 基因包括磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC)、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC)、苹果酸酶 (ME)、苹果酸脱氢酶 (MDH)、丙酮酸磷酸双激酶。其中, 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 是一种在维管植物、古细菌、细菌、蓝藻中广泛存在的胞质酶, 它在 HCO₃⁻ 存在的情况下, 催化 PEP 形成 O₂、Pi, 它是高等植物同化碳的酶^[9]。磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 催化 PEPC 逆反应, 普遍存在于动植物、微生物细胞中。尽管环境生态因子对光合作用的碳吸收途径有较大影响, 但是到目前为止, 海洋藻类中有关这方面的认识仍是比较肤浅的。微拟球藻是单细胞光合微藻, 广泛分布于海洋、淡水等环境水域。这一类微藻能够被广泛应用于生物燃料、生物碳减排、其他高附加值等生物技术工业中, 因此, 认识微拟球藻的生理、代谢途径是非常必要的。目前已经有多种微拟球藻完成了基因组测序, 其中在基因组注释中发现有 C₄ 基因的存在^[10-13]。为了深入探

收稿日期: 2014-10-23

基金项目: 国家自然科学基金国际合作项目 (编号: 31010103907)。

作者简介: 魏力 (1980—), 男, 内蒙古通辽人, 博士, 助理研究员, 主要从事微藻碳固定机制的功能基因组学研究。Tel: (0532) 80662658; E-mail: weilil@qibebt.ac.cn。

索环境对微拟球藻的无机碳吸收影响及潜在 C_4 循环的作用,本研究从微拟球藻光合放氧对外源无机碳的响应入手,探讨微拟球藻、衣藻在不同抑制剂条件下的光合放氧及其表观无机碳亲和力,比较了在不同外界非生物环境胁迫(光质)条件下光合放氧的不同响应以及潜在 C_4 基因的表达动态,旨在为微拟球藻在工业上遗传改良提供新的思路。

1 材料与与方法

1.1 藻种和培养条件

微拟球藻(*Nannochloropsis oceanica*) IMET1 由美国马里兰大学陈峰老师友情馈赠,经反复分离纯化至无菌。培养基配方来自于美国亚利桑那州立大学胡强教授实验室修正后的 f/2 培养基,组成成分如下:35 g/L 海盐,1 g/L NaNO_3 , 67 mg/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 3.65 mg/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 4.37 mg/L $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, trace metal mix (0.0196 mg/L $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.012 6 mg/L $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.044 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01 mg/L CoCl_2 , 0.36 mg/L $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 和 vitamin mix (5 $\mu\text{g/L}$ 维生素 B_{12} , 5 $\mu\text{g/L}$ Biotin, 1 mg/L Thiamine HCl)。正式开始试验前将 *N. oceanica* IMET1 在琼脂平板上活化,挑取单克隆藻落接种于液体培养基中,控制培养过程温度为 25 $^{\circ}\text{C}$,连续光照,光照强度为 50 ~ 85 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,通入空气或混有 1.5% CO_2 的空气进行培养,连续活化培养 3 轮,再进行后续试验。在不同光质处理试验中,分别采用白光、蓝光、红光的光照 LED 灯进行试验。莱茵衣藻(CC124)购自衣藻资源中心,培养于 TAP 培养基,配方参考自衣藻资源中心。

1.2 微拟球藻的生长参数测定

将在白光下培养至对数生长期的微藻接种到柱式反应器,接种后分别在蓝光、红光、白光下培养,每天定时取样 1 ~ 3 mL 测定藻液的 $D_{750\text{nm}}$,同时测定光合作用效率 (F_v/F_m),用 Image - PAM (Walz GmbH, Germany) 通过脉冲幅度调制测量微拟球藻活体光系统 II 的荧光参数。先将样品暗适应 15 ~ 20 min,测量最小荧光产额 (F_0),然后应用饱和脉冲法测量最大荧光产额 (F_m),PS II 的最大光化学效率 (F_v/F_m) 计算公式如下:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

1.3 不同抑制剂对微藻的处理

采用不同的抑制剂抑制潜在的 C_4 相关基因编码酶

(如磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 PEPC、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 PEPCK),调查这些抑制剂对微拟球藻光合作用活性的影响,进而探讨潜在的 C_4 循环在微拟球藻的光合固碳中的功能。本研究中共使用了 4 种抑制剂:3 - MPA、Rutin、Quercetin、Baicalein。其中,3 - MPA 是磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 PEPC 的抑制剂,其余 3 种抑制剂都是磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 PEPCK。通过添加不同抑制剂后测定光合放氧速率来探讨其光合活性。

1.4 光合放氧速率的测定

采用液相氧电极方法测定光合放氧速率。离心收集对数生长期藻细胞,弃去上清,重悬于新鲜的培养基中,加入不同的化学抑制剂,取 3 mL 测定光合放氧速率。

1.5 微拟球藻潜在 C_4 基因的分布比较、序列进化分析

微拟球藻潜在 C_4 基因序列分别来自于 GenBank 和本实验室基因组、转录组测序,用 NCBI 上的 BLAST X 程序 (WWW.ncbi.nlm.nih.gov/blast) 将这些序列与其他一些已知序列进行同源性比较,再用 ClustalW 进行比对,用 Mega 4.0 程序构建系统发育树。

1.6 微藻 RNA 提取和反转录制备 cDNA

按照说明书的方法用 Trizol 试剂提取每种处理后的微拟球藻总 RNA,用 DEPC 处理过的水溶解 RNA。用 Moloney Murine Leukemia Virus 反转录酶把 RNA 反转录成 cDNA,用 Nannoview 对其浓度进行测量,随后进行实时定量 PCR 分析。

1.7 荧光定量 PCR 试验

用 Roche 的 Light - cycle 480 Real - Time PCR 系统配合 SYBR Green 荧光染料试剂盒对微拟球藻 IMET1 中潜在 C_4 基因在不同光质胁迫条件下的转录动态进行实时荧光定量 PCR 反应。为了使选择的基因相对表达量标准化,选用 *actin* 基因作为内参基因。根据 PEPC、PEPCK、*actin* 基因序列,用 Primer Express 3.0 设计定量 PCR 引物(表 1)。每个基因的表达都进行 3 次独立重复,并且来自 3 个生物学重复。荧光定量 PCR 反应体系如下:10 μL 2 \times SYBR Premix Ex TaqTM II、1.0 μL 10 pmol/L 上游引物、1.0 μL 10 pmol/L 下游引物、2.0 μL cDNA、6.8 μL 去离子水。荧光定量 PCR 反应程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 40 s,40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法分析实时定量 PCR 结果。

表 1 荧光定量 PCR 所用的引物序列

基因缩写	正向引物	反向引物
<i>Actin</i>	5' - GCCGTTATTGGATGGATATG - 3'	5' - ACAACAACCTCTCCTTCACA - 3'
<i>ME</i>	5' - CCGATACATTACAACTTCTC - 3'	5' - CACCAACCTCACCGTAAT - 3'
<i>PEPC</i>	5' - TGGATTGCTGGAGACTT - 3'	5' - TCTTGCTTGCCTTGGATA - 3'
<i>PEPCK</i>	5' - CCTGTCTTTCGGTCTCT - 3'	5' - TCTTGCTCGTGTGTAGT - 3'
<i>PPDK1</i>	5' - GATGACCACGGAGAAGAT - 3'	5' - GGAGAGCACGAGACATAA - 3'
<i>PPDK3</i>	5' - TTGAAGAACCGTGTGGATAT - 3'	5' - CCGAGAACATCTTGACCTTA - 3'

2 结果与分析

2.1 微拟球藻中潜在 C_4 基因的分布情况

基于目前已经完成的微拟球藻属基因组,系统比较了 C_4 基因在微拟球藻中的分布情况。通过比较发现,在微拟球藻 IMET1、*N. gadihana* CCMP526、*N. oceanica* CCMP1779 中都存

在潜在的 C_4 基因 (*PEPC*、*PEPCK*、*PPDK*、*NADP - ME*、*NAD - ME*、*MDH*),在 CCMP1779 中不存在 *PEPCK* 基因(表 2)。本研究关注的 IMET1 中存在所有潜在的 C_4 基因,这就暗示我们它们或许也使用 C_4 循环进行光合碳固定,也进一步提示我们需要探索这些潜在 C_4 循环基因的功能,特别是在逆境条件下它们的功能。

表2 潜在 C₄ 基因在微拟球藻属的分布情况

C ₄ 循环基因	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC)	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶激酶 (PEPCK)	丙酮酸磷酸双激酶 (PPDK)	NADP - 苹果酸酶 (NADP - ME)	NAD - 苹果酸酶 (NAD - ME)	苹果酸脱氢酶 (MDH)
<i>IMET1</i>	+	+	+	+	+	+
<i>CCMP1779</i>	+	-	+	+	+	+
<i>CCMP526</i>	+	+	+	+	+	+

注：“+”代表存在，“-”代表缺乏。

2.2 潜在 C₄ 基因 *PEPC*、*PEPCK* 的序列进化分析

大多数高等植物中 PEPC 由多个拷贝构成,如在拟南芥、水稻中分别报道了 4、6 个,根据基因、蛋白结构可分为 2 种 PEPC 酶,分别是植物型 PEPC、细菌型 PEPC。笔者对微拟球藻 *IMET1* 中 PEPC 进行了进化分析。基因相似性分析表明,微拟球藻 *IMET1* 中存在 1 个细菌型 PEPC 酶,并且与相近物

种硅藻、褐藻中的 PEPC 具有相对较高同源性,相似性为 58% ~ 65%。与微拟球藻 *N. gaditana* 有 87% 序列相似度(图 1)。硅藻中的 PEPC 被认为参与 C₄ 循环,因此笔者推测,微拟球藻中的细菌型 PEPC 或许也参与 C₄ 光合固碳,需要进一步证实。

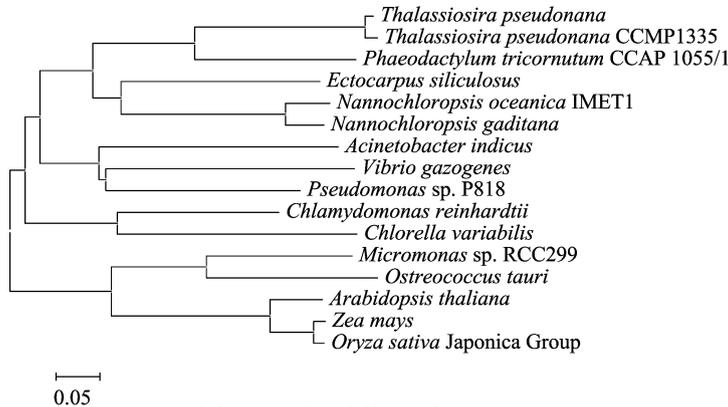


图1 来自不同微藻和高等植物中PEPC进化分析

在不同物种中,PEPCK 在细胞内分布、特性明显不同,编码基因序列、结构存在差异。*IMET1* 中的 PEPCK 与硅藻、褐

藻存在很大的序列相似性,而与绿藻序列相似度较低(图 2),这或许也暗示它潜在参与 C₄ 功能。

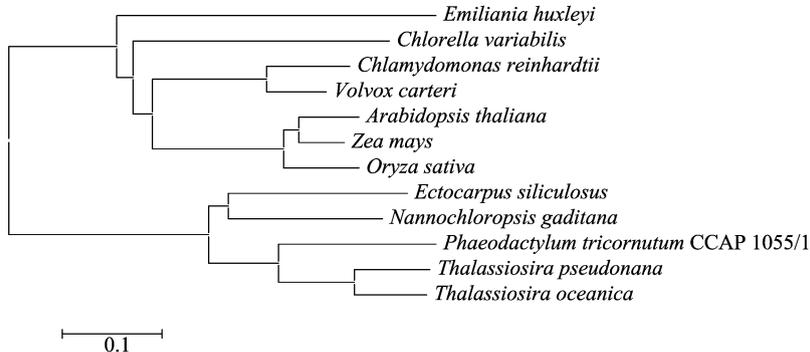


图2 来自不同微藻和高等植物中PEPCK进化分析

2.3 微拟球藻中潜在 C₄ 基因的转录动态

为了探讨潜在的 C₄ 循环在微拟球藻中的角色与功能,笔者进一步测试了微拟球藻中潜在 C₄ 基因在应对外界环境变化时它们的转录动态。光质影响植物光合活性,进而影响植物光合固碳效率,因此笔者试图从光质利用角度来阐述微拟球藻中潜在 C₄ 循环机制。通过荧光定量 PCR 试验,笔者研究了微拟球藻中潜在的 C₄ 基因在不同波长光质(波长约 680 nm 红光、波长约 450 nm 蓝光、白光)下的表达状态,其中 PEPC 的表达在转移到蓝光条件下将被瞬时激活,从图 3 可以看出,3、6 h,相对于白光、红光,蓝光条件下 PEPC 的表达丰度

是最高的;9、12 h,PEPC 在蓝光下的表达丰度又降低,在白光条件下开始升高。笔者推测 PEPC 对光合固碳是有响应的。同样,笔者也关注了 PEPCK 的表达变化,发现也是在 6 h 的蓝光下表达丰度较高,因此,它的升高可能是在光合固碳中发挥作用。

苹果酸酶是广泛存在于动物、植物以及原核生物的一类氧化脱羧酶。植物 C₄ 型 NAD - 苹果酸酶(NAD - ME)和 NADP - 苹果酸酶(NADP - ME)是 C₄ 光合途径的关键酶,催化苹果酸脱羧放出 CO₂,并产生丙酮酸,丙酮酸再生为 PEP,使 C₄ 途径得以循环进行,CO₂ 则被 Rubisco 酶重新固定而进入

卡尔文循环途径。PPDK 是 NADP - ME 型植物 C₄ 光合途径中催化丙酮酸转化成 CO₂ 的原初受体磷酸烯醇式丙酮酸。鉴于它们在 C₄ 循环中的重要性, 笔者也关注了它们的表达变

化, 发现在 6 h 蓝光下, 它们的表达丰度明显高于白光、红光下的表达水平(图 3)。因此, 作为潜在的 C₄ 基因, 它们也可能在光合固碳中起着重要作用。

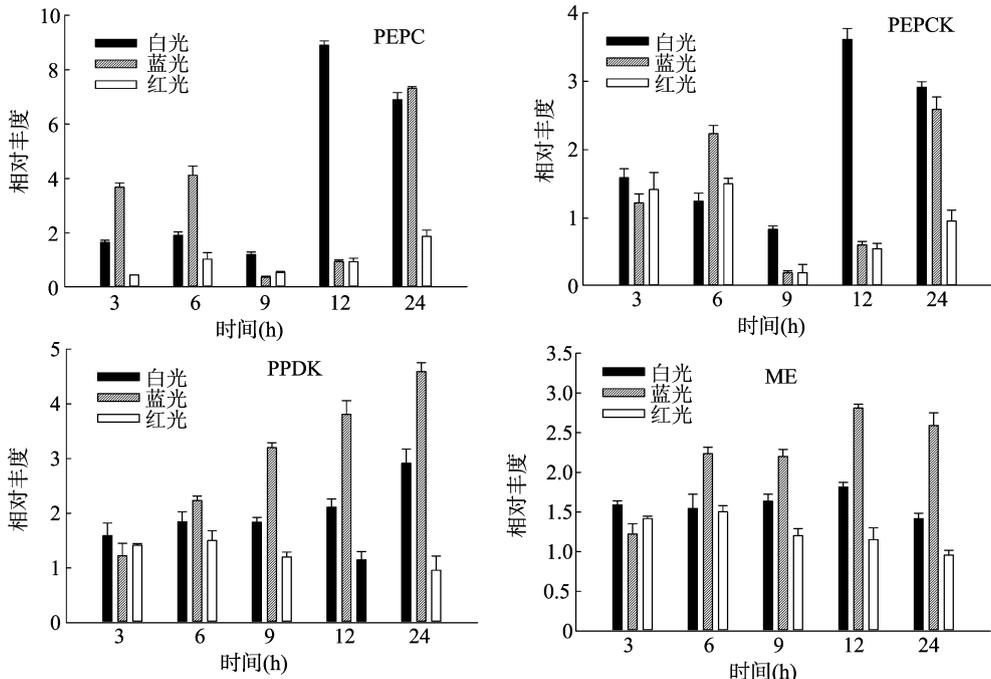


图3 潜在C₄基因在不同光质(白光、红光、蓝光)下转录动态

2.4 微拟球藻 IMET1 在不同光质下光合活性

为了进一步认识微拟球藻在蓝光等不同光质下的生理反应与潜在 C₄ 的关系, 笔者比较了微拟球藻在不同光质条件下, 光合系统 II 最大光合效率 (F_v/F_m) 的变化。结果表明, 在蓝光条件下, 微拟球藻的光合活性最高, 红光条件下的光合活性最低(图 4), 这与潜在 C₄ 基因的表达或许存在相关性, 可见, 这些潜在 C₄ 基因影响微拟球藻光合活性, 进而推测它们在微拟球藻固碳过程中发挥重要功能。

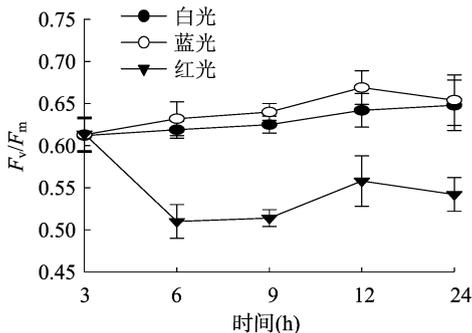


图4 微拟球藻 IMET1 在不同光质下的光合作用活性

2.5 PEPCK 酶抑制剂对植物光合作用活性的影响

为了进一步探讨潜在 C₄ 基因是否参与光合固碳, 笔者采用不同的抑制剂去抑制潜在的 C₄ 相关基因编码酶(如磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 PEPC、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 PEPCK), 调查这些抑制剂对微拟球藻光合作用活性的影响, 进而探讨潜在的 C₄ 循环。尽管 PEPCK 酶广泛存在于微生物、藻、高等植物中, 负责从丙酮酸到磷酸烯醇式丙酮酸的脱羧反应,

参与糖异生过程, 但是在一些高等植物(如玉米、高粱、黍类等)中, PEPCK 酶被认为是 C₄ 循环中的重要酶。笔者采用 PEPCK 酶特异的抑制剂 3 - MPA (3 - mercaptopicolinic acid), 3 - MPA 已经被广泛用于 PEPCK 酶的抑制研究。比较微拟球藻、莱茵衣藻的 PEPCK 酶在特异抑制剂作用下, 微拟球藻、莱茵衣藻光合作用活性变化, 进而比较 PEPCK 酶在微拟球藻、莱茵衣藻生物功能的异同。通过抑制试验结果发现, 当在反应体系中加入 5 mmol/L 3 - MPA 用于抑制 PEPCK 酶时, 微拟球藻、莱茵衣藻的光合活性明显不同, 微拟球藻的 PEPCK 酶被强烈抑制, 莱茵衣藻的 PEPCK 酶被抑制不明显, 说明微拟球藻、莱茵衣藻的 PEPCK 酶对抑制剂 3 - MPA 表现出不同光合活性(图 5)。通常认为莱茵衣藻的 PEPCK 酶不是参与 C₄, 而是参与 TCA 循环的回补反应。可见, 3 - MPA 能抑制 IMET1 中磷酸烯醇式丙酮酸 (PEP) 羧化过程, 因此微拟球藻 IMET1 中部分 CO₂ 的固定可能是由 PEPCK 负责的。

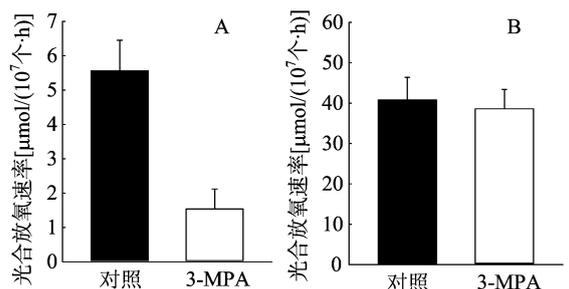


图5 PEPCK酶抑制剂对微拟球藻(A)、莱茵衣藻(B)光合放氧速率的影响

2.6 PEPC 酶抑制剂对微拟球藻光合作用活性的影响

为了探讨潜在的 C_4 基因(PEPC)编码酶在微拟球藻光合固碳中的角色与功能,笔者采用化学抑制剂抑制 PEPC 酶,它催化磷酸烯醇式丙酮酸到丙酮酸,即 PEPCK 酶催化的逆反应。比较微拟球藻、莱茵衣藻的 PEPC 酶在特异抑制剂作用的情况下,微拟球藻、莱茵衣藻光合作用活性变化。结果表明,槲皮素对莱茵衣藻的 PEPC 酶作用不明显,光合放氧速率几乎没有发生变化,基本维持在 $4 \mu\text{mol}/(10^7 \text{个} \cdot \text{h})$ 水平,与未处理组没有显著差别(图6)。对于微拟球藻而言,加入抑制剂后,光合放氧速率从 $5.5 \mu\text{mol}/(10^7 \text{个} \cdot \text{h})$ 下降至 $1.4 \mu\text{mol}/(10^7 \text{个} \cdot \text{h})$ 。可见 IMET1 的 PEPC 酶活性显著被抑制,说明 IMET1 与莱茵衣藻的 PEPC 存在不同功能。从图6可以看出,微拟球藻在黄芩素作用下,光合放氧活性显著降低,光合作用活性从 $5 \mu\text{mol}/(10^7 \text{个} \cdot \text{h})$ 降低到 $1 \mu\text{mol}/(10^7 \text{个} \cdot \text{h})$ 。然而,微拟球藻在芸香苷水合物抑制试验中,光合放氧速率几乎没有受到影响。添加芸香苷抑制剂后,莱茵衣藻的光合放氧、光合活性几乎未受到影响,和对照组相比,处理组的光合放氧速率仍然保持在较高水平,这样看来微拟球藻、莱茵衣藻的 PEPC 酶在3个抑制剂作用下表现出不同的特征。通常认为,莱茵衣藻使用 C_3 途径进行光合 CO_2 固定,因此,笔者推测微拟球藻 IMET1 可能使用 C_4 循环进行 CO_2 固定。

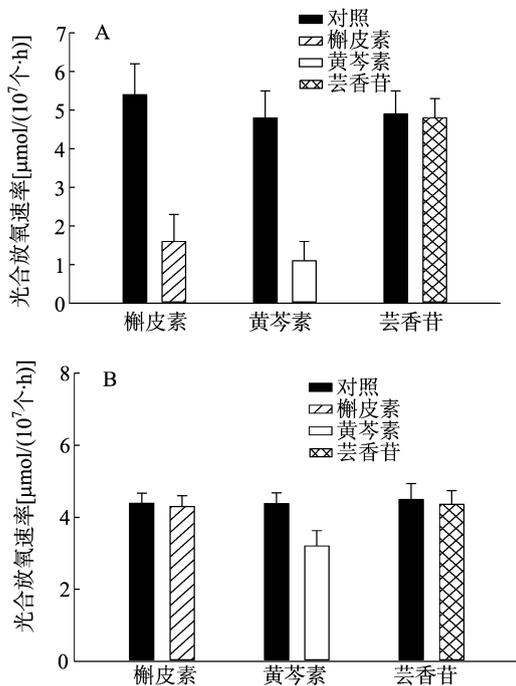


图6 PEPC酶抑制剂对微拟球藻(A)、莱茵衣藻(B)光合放氧速率的影响

3 结论

本研究从生理角度和转录水平探讨了微拟球藻潜在 C_4

的机制,结果表明,微拟球藻 IMET1 中存在 C_4 光合作用固碳途径,通过化合物抑制试验揭示 C_4 途径中酶在 IMET1 与莱茵衣藻中可能起不同的功能,特别是在应对逆境过程中起作用, C_4 基因的表达分析表明,PEPC、PEPCK、ME、PPDK 等在蓝光胁迫条件下比在正常生长条件下转录丰度明显升高。

参考文献:

- [1] Dai Z, Ku M, Edwards G E. C_4 Photosynthesis (the CO_2 - concentrating mechanism and photorespiration) [J]. Plant Physiol, 1993, 103 (1): 83 - 90.
- [2] Beer K D, Baliga N S. Modeling the evolution of C_4 photosynthesis [J]. Cell, 2013, 153 (7): 1427 - 1429.
- [3] Way D A, Katul G G, Manzoni S, et al. Increasing water use efficiency along the C_3 to C_4 evolutionary pathway: a stomatal optimization perspective [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65 (13): 3683 - 3693.
- [4] Sun W, Ubierna N, Ma J Y, et al. The coordination of C_4 photosynthesis and the CO_2 - concentrating mechanism in maize and *Miscanthus x giganteus* in response to transient changes in light quality [J]. Plant Physiology, 2014, 164 (3): 1283 - 1292.
- [5] Magnin N C, Cooley B A, Reiskind J B, et al. Regulation and localization of key enzymes during the induction of Kranz - Less, C_4 - type photosynthesis in *Hydrilla verticillata* [J]. Plant Physiology, 1997, 115 (4): 1681 - 1689.
- [6] Rawat M, Moroney J V. The regulation of carbonic anhydrase and ribulose - 1, 5 - Bisphosphate carboxylase/oxygenase activase by light and CO_2 in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant Physiology, 1995, 109 (3): 937 - 944.
- [7] Roberts K, Granum E, Leegood R C, et al. Carbon acquisition by diatoms [J]. Photosynthesis Research, 2007, 93 (1/2/3): 79 - 88.
- [8] Reinfelder J R, Morel F M. Unicellular C_4 photosynthesis in a marine diatom [J]. Nature, 2000, 407 (6807): 996 - 999.
- [9] Wild B, Wanek W, Postl W, et al. Contribution of carbon fixed by rubisco and PEPC to phloem export in the *Crassulacean* acid metabolism plant *Kalanchoe daigremontiana* [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61 (5): 1375 - 1383.
- [10] Vieler A, Wu G, Tsai C H, et al. Genome, functional gene annotation, and nuclear transformation of the heterokont oleaginous alga *Nannochloropsis oceanica* CCMP1779 [J]. PLoS Genetics, 2012, 8 (11): e1003064.
- [11] Wang D, Ning K, Li J, et al. *Nannochloropsis* genomes reveal evolution of microalgal oleaginous traits [J]. PLoS Genetics, 2014, 10 (1): e1004094.
- [12] Corteggiani Carpinelli E, Telatin A, Vitulo N, et al. Chromosome scale genome assembly and transcriptome profiling of *Nannochloropsis gaditana* in nitrogen depletion [J]. Molecular plant, 2014, 7 (2): 323 - 335.
- [13] Li J, Han D, Wang D, et al. Choreography of transcriptomes and lipidomes of *nannochloropsis* reveals the mechanisms of oil synthesis in microalgae [J]. The Plant Cell, 2014, 26 (4): 1645 - 1665.