



近10年光合作用领域若干重要研究进展

杨文强^{1,*}, 林荣呈^{1,*}, 端木德强², 李磊³, 卢从明⁴, 欧阳敏⁵, 王文达¹, 孙韬⁶, 田利金¹, 王柏臣¹, 朱新广⁷

¹中国科学院植物研究所光生物学重点实验室, 北京100093

²华中农业大学生命科学技术学院, 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 武汉430070

³南开大学生命科学学院, 天津300071

⁴山东农业大学生命科学学院, 小麦育种全国重点实验室, 山东泰安271018

⁵华中农业大学生命科学技术学院, 作物遗传改良全国重点实验室, 武汉430070

⁶天津大学生物安全战略研究中心, 天津300072

⁷中国科学院分子植物科学卓越创新中心, 上海200032

*共同通信作者: 杨文强(wqyang@ibcas.ac.cn)、林荣呈(rclin@ibcas.ac.cn)

摘要: 光合作用是地球上几乎所有生命的能量和物质基础, 其应用与农业、能源和环境的可持续发展密切相关。本文主要概述了近10年来光合作用研究在光合膜蛋白结构与光反应机理、光合碳代谢、叶绿体生物发生与发育、光合作用蛋白质量控制、光合色素合成与叶绿体反向信号、光保护与环境适应、光合作用与农业、光合作用与合成生物学和光合产氢与人工光合作用等方向的前沿进展, 探讨了未来发展趋势。

关键词: 光合作用; 叶绿体; 光保护; 蛋白质量控制; 碳代谢; 光反应; 合成生物学

Multiple of important progress on photosynthesis in the last 10 years

YANG Wenqiang^{1,*}, LIN Rongcheng^{1,*}, DUANMU Deqiang², LI Lei³, LU Congming⁴, OUYANG Min⁵, WANG Wenda¹, SUN Tao⁶, TIAN Lijin¹, WANG Baichen¹, ZHU Xinguang⁷

¹Key Laboratory of Photobiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

²National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

³College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

⁴National Key Laboratory of Wheat Improvement, College of Life Science, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

⁵National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

⁶Center for Biosafety Research and Strategy, Tianjin University, Tianjin 300072, China

⁷CAS Center of Excellence for Molecular Plant Sciences, Shanghai 200032, China

*Co-corresponding authors: Yang WQ (wqyang@ibcas.ac.cn), Lin RC (rclin@ibcas.ac.cn)

Abstract: Photosynthesis is the energy and material basis of almost all living organisms on earth. The application of photosynthesis is closely related with the sustainable development of agriculture, energy, and environment. This review mainly summarizes the progress of the recent decade, including structures of

photosynthetic membrane proteins and the mechanisms of photo-reactions, photosynthetic carbon metabolism, biogenesis and development of chloroplast, photosynthetic protein quality control, biosynthesis of photosynthetic pigments and chloroplast retrograde signaling, photoprotection and environmental adaptation, photosynthesis and agriculture, photosynthesis and synthetic biology, and photosynthetic hydrogen production and artificial photosynthesis. Future research and development trends are also discussed.

Key words: photosynthesis; chloroplast; photo protection; protein quality control; carbon metabolism; light reaction; synthetic biology

人类自18世纪开始发现并不断深入认识光合作用。光合作用是植物和藻类把二氧化碳(CO₂)和水合成有机物并放出氧气的过程,是地球生物圈的能量与物质基础,并为生命活动提供氧气。光合作用研究一直备受重视和关注,不仅有重大的前沿科学问题,而且其应用与人类社会面临的粮食、能源、生态和环境等问题都密切相关。光合作用系统十分复杂,不仅需要光反应与暗反应的有机衔接,而且要求蛋白质与色素的高效搭配;不仅需要叶绿体内各种过程的精确运作,而且要求叶绿体与其他细胞器的有效协同。光反应是光合作用的引擎,光能的吸收、传递和转化发生在由光系统II、细胞色素 b_6f 、光系统I和ATP合酶组成的光合膜蛋白复合物上。光合膜蛋白复合物的精细结构解析与功能研究是近10年光合作用研究领域的热点,也取得了一系列的重要突破。破解吸能、传能和转能及水裂解机理是理解光合作用和实现仿生模拟的理论基础。暗反应固定CO₂是作物产量形成的物质基础,也是生态系统碳汇的源泉。

近10年来,光合作用研究取得了很多重要的进展,对植物生物学及生命科学领域产生了重要的影响。本文从光合膜蛋白结构与光反应机理、光合碳代谢、叶绿体生物发生与发育、光合作用质量控制、光合色素合成与叶绿体反向信号、光保护与环境适应等方向对部分成果进行了梳理;同时,随着学科交叉和应用基础研究的深入,本文还总结了光合作用在农业、合成生物学以及人工光合等方向的研究进展概况。最后我们探讨了未来光合作用研究的若干发展趋势。由于篇幅所限,文献量大,难以面面俱到,很多出色的研究工作未能列入,我们表示歉意。

1 光合膜蛋白结构与光反应机理

光反应在光合生物膜上一系列具有特定空间构象和精密排布的蛋白复合物及其附属的电子传递体中进行,可以实现非常高效的光电转换,转化的量子效率可达95%。而且光合膜蛋白复合物可以将底物水裂解为氧气(或以硫化氢生产单质硫),建立起跨膜的质子梯度,实现ATP合成,同时驱动电子传递,为固碳反应提供还原力和能量。从原核的厌氧光合细菌、放氧蓝细菌、真核红藻、绿藻等多种藻类,进化到多样化的陆地高等植物,它们的光合膜蛋白也经历了数十亿年的演化过程,演化为不同的形态和组合形式,但将光能高效转化为化学能这一根本原则或其核心结构是保守的。

紫色光合细菌的反应中心晶体结构作为人类解析的第一个膜蛋白结构获得1988年诺贝尔化学奖之后(Deisenhofer等1985),光合膜蛋白领域的结构生物学、光谱学和生理生化研究热度迅速提升,并在光反应机理方面取得众多里程碑式的进展(Arp等2020; Croce和van Amerongen 2020)。2000年前后,我国科学家开始在多个光合膜蛋白结构生物学研究中崭露头角并不断取得突破。尤其是近10年来,我国科学家抓住晶体学手段和单颗粒冷冻电镜技术突破的机遇,在多个专业方向上取得世界领先的研究成果,也将光合膜蛋白和光反应机理研究推向了新的发展阶段。

1.1 光反应中心复合物与原初光化学反应

近年来报道的多个紫色和绿色光合细菌的光反应中心与天线复合物结构(Niwa等2014; Qian等2018; Xin等2018; Yu等2018b; Chen等2020b),揭示了不同细菌的捕光策略,为理解远古地质时期光

合生物的光适应策略提供了新见解。自放氧蓝藻进化出2个光系统后,藻类和植物等利用2个光系统进行原初光反应。光系统II (photosystem II, PSII)捕获并利用光能、驱动电子传递的机理此前已研究得比较清楚,但催化水裂解、释放氧气的反应机理还需高分辨结构来验证和推进。Umena等(2011)解析了嗜热蓝藻PSII 0.19 nm分辨率的晶体结构,首次提出了 Mn_4CaO_5 簇催化中心的不规则椅状结构和反应机理,这项成果也入选了由*Science*杂志评选的“2011年世界十大科技突破”。但光催化的水裂解反应是一个动态的S态循环, Mn_4CaO_5 簇催化中心在黑暗状态下接收4个光子后可实现 $\text{S}_0 \rightarrow \text{S}_1 \rightarrow \text{S}_2 \rightarrow \text{S}_3 \rightarrow (\text{S}_4) \rightarrow \text{S}_0$ 的动态变化,并在释放1个氧分子后同时恢复到 S_0 状态(Pushkar等2008)。2015年以来,科研人员利用时间分辨的X射线自由电子激光技术,进一步成功解析了PSII放氧反应的多个过渡态($\text{S}_1 \sim \text{S}_3$),观察到了光催化下质子转移、电子传递、底物水分子催化、氧双键生成等过程中的精细结构变化(Shen 2015; Suga等2015, 2017, 2019a; Young等2016; Kern等2018; Britt和Marchiori 2019)。这些研究使我们对光合水裂解机理有了更加详细的了解,*Science*杂志在2011年评论,“这些进展为未来清洁能源的开发提供了一把钥匙,对未来的文明发展具有相当重要的意义”。

放氧光合生物的光系统I (PSI)是第二个原初反应中心,接收来自PSII的电子形成线性电子传递链,进而将电能转化为还原力以还原 CO_2 形成有机物。2001年以来,国外团队解析了蓝藻PSI三聚体和豌豆光系统I和捕光天线(light-harvesting complex I, LHCI)的晶体结构,初步建立起PSI蛋白亚基和辅因子的工作模型(Jordan 2001; Amunts等2010)。我国在原子分辨率水平解析了豌豆PSI-LHCI的晶体结构(Qin等2015),清晰描述了4个LHCI天线蛋白(Lhca1~4)与PSI核心的互作关系和传能路径,建立了LHCI天线中红叶绿素进行uphill传能的结构模型,这项工作入选当年的“中国生命科学十大进展”。

1.2 捕光天线与光能捕获、传递

绿藻和陆地植物利用LHC蛋白为捕光天线拓展2个光系统的捕光能力,可通过磷酸化调节光能在PSI和PSII之间的能量分配,同时也是强光下淬

灭过剩激发能非光化学淬灭(non-photochemical quenching, NPQ)的重要位点。在20世纪90年代德国科学家开始通过二维晶体衍射获得了豌豆LHCII的不完整结构模型,我国科学家率先突破菠菜LHCII的原子分辨率的三维晶体结构解析(Liu等2004),展示了高等植物LHCII三聚体亚基形成和叶绿素a/b分布的结构细节,阐述了天线亚基之间色素的能量传递方式和路径,发现了LHCII中4个类胡萝卜素分子,提出了参与NPQ的叶绿素和新黄素位点,也为后续的LHC家族的结构与功能研究奠定了重要基础。在单颗粒冷冻电镜技术突破后,菠菜和豌豆LHCII天线与PSII和PSI形成超级复合物的电镜结构先后获得解析(Wei等2016; Su等2017; Pan等2018b),进一步揭示了PSII-LHCII中LHC单体和三聚体天线的多样性排布,阐明了PSI-LHCI-LHCII中的磷酸化细节和调控机制,系统解析了高等植物光系统和捕光天线中吸能、传能和转能机理和调控机制。

国内外科学家进一步利用冷冻电镜手段研究了绿藻的PSI-LHCI、PSII-LHCII和PSI-LHCI-LHCII超复合物结构(Qin等2019; Shen等2019b; Sheng等2019; Su等2019; Suga等2019b; Perez-Boerema等2020; Caspy等2022),它们与高等植物有明显的蛋白亚基和色素差异,这可能与适应水下光环境有关。有趣的是,“红色系”海洋硅藻的捕光天线被称为岩藻黄素-叶绿素a/c蛋白复合体(fucoxanthin chlorophyll a/c-binding antenna protein, FCP),除叶绿素a外,可利用叶绿素c和岩藻黄素有效捕获绿光。我国科学家率先解析了一种FCP同质二聚体1.8 Å分辨率的晶体结构,发现了叶绿素c和岩藻黄素的排布细节,揭示了岩藻黄素捕获绿光的新机制(Wang等2019)。同时,解析了硅藻PSI-FCPI和PSII-FCPII的冷冻电镜结构(Nagao等2019, 2020; Pi等2019; Xu等2020a),发现硅藻PSI-FCP复合物外围多达24个FCP亚基在核心外围形成三层分布,是目前最大的单体光系统与LHC捕光天线结构;而PSII-FCPII不同于已报道的高等植物PSII-LHCII,FCP多以单体、二聚体和四聚体形式存在。这些天线结构与功能的差异,解释了硅藻适应复杂多变海洋光环境下的分子机制,相关成果入选了2019年度中国科学

十大进展和国家“十三五”科技创新成就展。

相对于高等植物和其他藻类,原核蓝藻和低等的真核红藻以水溶性的藻胆蛋白为主要捕光天线,并可以形成超大分子量的藻胆体。近年来,我国科学家解析了多个藻胆体的结构(Zhang等2017b; Ma等2020; Zheng等2021; Kawakami等2022),特别是阐明了862个蛋白亚基、2 048个捕光色素组成的16.8 M超大藻胆体结构(Zhang等2017b; Ma等2020),这做为“原子级的生命科学研究”的代表性成果之一,被共同列入*Science*杂志评选的“2017年世界十大科学突破”。另外,蓝藻中的PSI可以多聚为三聚体或四聚体形式,在铁元素缺乏的条件下还可以形成多种PSI-IsiA以适应环境变化(Kato等2019, 2020; Toporik等2019; Zheng等2019; Akita等2020; Cao等2020; Chen等2020c; Hamaguchi等2021; Xu等2021),相关的复合物也通过原位的原子力显微镜技术得以验证(Zhao等2020b)。这些多样的捕光天线结构,既从多角度阐明了每一个物种的独特生态位下所具有的特性,又发现了光合物种演化保留的共性,多层次、多维度地展现了光合蛋白机器的调控方式和传能规律。

1.3 光保护和非光化学淬灭

光合生物在面临高光等胁迫环境时,其光合膜蛋白在保持高效的能量传递效率的同时,进化出多种光保护机制以防止强光下的光破坏(Demmig-Adams等2014)。2015年报道的植物光保护蛋白PsbS晶体结构,提供了关于高等植物的光保护机制的结构见解,但其响应类囊体膜囊腔侧pH变化的机制仍不清楚(Fan等2015)。在绿藻和硅藻中,强光诱导的LHCSR蛋白结构还完全未知。虽然触发NPQ依赖以上pH响应蛋白,但利用突变体和超快光谱验证了LHCII三聚体可淬灭大部分的过剩激发能(Nicol等2019)。最近,国外科学家团队报道了低等光合生物蓝藻的光收集和光保护两种状态下藻胆体结构(Domínguez-Martín等2022),在原子水平上观察到了类胡萝卜素蛋白参与蓝藻光保护的过程,这都为进一步了解和研究光合作用的光适应机制提供了重要支持。

1.4 电子传递与能量平衡

PSI、PSII、细胞色素 $cytb_6/f$ 、ATP合酶以及

NDH等复合物在光合膜上具有特定的空间排布方式来转化和传递能量。PSI和PSII通过 $cytb_6/f$ 复合物连接,形成光合线性电子转移,而NDH复合物则介导光合环式电子传递。2019年报道的菠菜细胞色素 $cytb_6/f$ 复合物冷冻电镜近原子级分辨率结构(Malone等2019),提供了电子传递网络的潜在位点的结构细节,并提供了细胞色素 $cytb_6/f$ 复合物在光合作用中所起的催化调节作用新见解。近两年,我国科学家报道了蓝藻NDH复合物(Pan等2020; Zhang等2020a)和PSI-NDH超大复合物电镜结构(Shen等2022; Su等2022),描绘了NDH的多亚基结构模型以及植物Lhca5和Lhca6天线介导环式电子传递的细节,为理解叶绿体固碳反应或应对逆境等不同条件下的ATP和还原力的平衡奠定了结构基础,也为未来设计和改良作物提升光合效率提供理论基础和重要靶点。

1.5 光系统的组装与修复

光合膜上PSII复合物的生物发生并不是自发的,目前已经鉴定出20多个辅助因子调控PSII组装或损伤后修复(Nixon等2010; Nickelsen和Rengstl 2013)。最近几年报道的多个组装中间体结构(Huang等2021a; Xiao等2021; Zabret等2021),部分验证了已有的PSII组装理论模型,分别阐述了Psb27、Psb28和Psb34等辅助因子对PSII组装的调节,勾勒出PSII组装的关键步骤和基本流程。但由于PSII组装、损伤和修复是动态复杂、多步骤调控的过程,仍须在分子和原子水平上深入研究其他组装因子的结构和功能细节。

综上所述,国内外科学家向人们展示了多物种光合膜蛋白及其辅因子的空间结构,从原子水平阐述了光反应的发生机理和转能机制,展现了不同生态位下光系统的保守性和多样性;另一方面,利用高分辨晶体结构和最先进的自由电子激光技术对光催化水裂解过程进行动态结构捕获,将精巧的蛋白机器的反应瞬间精准定格,阐明了光催化水裂解发生过程中光系统的多种状态。此外,环式电子传递复合物等超级巨大、动态柔性的微量光合膜蛋白结构也得到解析,而且结合此前大量的生理生化、遗传学和分子生物学研究成果,将光反应机理研究推进到新的历史阶段,也为进一步

进行高光效作物设计和人工模拟光合作用提供了新的理论基础和技术途径。

2 光合碳代谢

工业革命以来, 随着化石燃料的大量使用, 大气中 CO_2 浓度大幅上升, 自然灾害频发。科学家们开始关注大气中 CO_2 浓度显著提升对植物生长发育造成的影响。Bloom等(2010)人首先发现 CO_2 浓度显著提升抑制了拟南芥和小麦的氮同化。Myers等(2014)人发现大气中 CO_2 浓度上升严重影响了 C_3 植物种子中的蛋白质、氨基酸、维生素以及金属离子的积累, 进而影响了粮食的营养。粮食重要营养成分的降低对人类的健康造成极为不利的影响。但 CO_2 浓度的上升对 C_4 植物没有任何影响, 对豆科植物的影响也相对较小。Bloom (2015)提出了“光呼吸是决定植物体内碳-氮平衡的关键”的观点。大气中 CO_2 浓度的上升导致叶片内 CO_2 浓度随之升高。由于Rubisco周围的 CO_2/O_2 的比值增高抑制了光呼吸, 进而影响了后续的生化反应, 最终影响 C_3 植物的生长发育。

光呼吸一直被认为是一个耗费光合作用所固定的碳和所储存能量的过程。科学家们一直试图通过降低光呼吸速率来提高作物的光合效率。2019年, 我国和美国科学家分别在*Molecular Plant*和*Science*上发表了通过改变光呼吸速率提高作物产量的论文(Shen等2019a; South等2019)。二者设计原理基本一致, 都是通过加入新的旁路改变光呼吸中间产物乙醇酸(glycolate)的代谢路径, 使 CO_2 的释放过程尽量在叶绿体中完成。但其设计理念却存在很大差异, 前者在设计旁路的同时还利用基因干扰技术大幅降低了叶绿体乙醇酸-甘油酸(glycolate- glycerate)转运蛋白的表达量, 意图降低乙醇酸从叶绿体流出量。在植物中, 包括光呼吸速率极低的玉米中, 光呼吸都是不可或缺的(Zelitch等2009)。早在1996年日本学者在*Nature*上发表论文, 提出在 C_3 植物中光呼吸是一种重要的保护机制, 它能使烟草免遭光氧化损伤, 并推测光呼吸过程与氮同化过程相关(Kozaki和Takeba 1996)。Rachmilevitch等(2004)人在《美国科学院院刊》(*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*

of America, PNAS)上发表论文指出 C_3 植物中氮同化严格依赖光呼吸。目前, 大量研究表明 C_3 植物中光呼吸是碳同化途径和氮同化、硫同化、脂肪酸合成、一碳单位的合成的连接过程。我国科学家在水稻中设计了光呼吸旁路, 但并未阻碍乙醇酸的外流, 有效地避免了极端胁迫条件下对光呼吸运行的阻碍, 为植物抵御胁迫提供了缓冲。同时, 通过大规模筛选从大量的突变体中筛选光合效率高的优良株系, 并对其生长量、产量、氮含量等多项指标进行了详细的测定(Shen等2019a)。遗传学上的改变加上大规模的筛选实现了对光呼吸途径的进一步优化。尽管这种大规模的筛选过程也要耗费大量的人力和物力, 他们先进的理念为在作物中开展合成生物学研究提供了重要思路。

由于大气中 CO_2 浓度上升对 C_4 植物几乎没有任何影响, 因此 C_4 植物光合作用机制的研究工作成为科学家们的研究热点。在过去10年中, C_4 植物光合作用机制的研究取得了长足的进展, 科学家们对 C_4 植物及其光合作用机制有了全新的认识。目前, C_4 光合作用被视为趋同进化最具活力的例子, 大约有62次独立起源, 而且这个数字还会增长(Sage等2011; Sage 2017)。 C_4 光合作用是个复杂的性状, 不仅有叶片解剖学结构的变化, 而且生物化学代谢机制也发生了相应的变化, 这一进化需要成百上千的基因随之进化(Hibberd和Covshoff, 2010; Gowik等2011)。 C_4 植物叶片的Kranz (花环)结构-叶肉细胞包绕着维管束鞘细胞形成同心圆结构是 C_4 植物的结构基础。这两类细胞中的光合膜蛋白以及碳、氮、硫等同化途径中的酶在两类细胞中呈不对称分布。研究表明 C_4 植物中参与 CO_2 固定和浓缩的酶, 例如碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenol pyruvate carboxylase, PEPC)、苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)、丙酮酸磷酸双激酶(pyruvate orthophosphate dikinase, PPDK)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenol pyruvate carboxykinase)等均起源于植物体内糖异生等基础代谢途径。编码这些酶的基因在 C_4 物种中至少要有2个以上的拷贝, 一个行使 C_4 光合作用功能, 而其他的行使基础代谢功能。这些酶的活性都是严格受光强调控, 并且通常是通过磷酸化等

翻译后修饰实现的(Chen等2014; Bovdilova等2019; Cao等2023)。根据维管束鞘细胞中利用的脱羧酶不同, C₄植物被分为3种亚型: 依赖于NADP的苹果酸酶(NADP-ME)、依赖于NAD的苹果酸酶(NAD-ME)和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK型)。所有进行C₄光合作用的粮食作物, 例如玉米、高粱、甘蔗和谷子等均属于NADP-ME亚型。研究表明NADP-ME亚型C₄植物的氮利用效率远远高于NAD-ME和PEPCK亚型(Pinto等2016), 并且对低光的适应能力也远远高于另外2种亚型(Sonawane等2018)。另外, NADP-ME亚型C₄植物的叶片中的花环结构比NAD-ME和PEPCK植物叶片中的花环结构进化得更完美。与另外2种亚型相比, NADP-ME亚型的维管束鞘细胞中PSII几乎完全缺失, 但是其内的环式电子传递链却远比叶肉细胞发达(Majeran等2010; Munckage 2016)。这种结构优化了光能在两类细胞中的分配, 更有利于提高光能的利用效率(Maai等2011; Alvarez等2019)。因为ATP、还原力的形成途径和代谢途径在两类光合细胞中的不均匀分布, 导致能量和代谢中间产物如苹果酸、天冬氨酸、磷酸烯醇式丙酮酸等在两类细胞中形成较大的浓度梯度(Arrivault等2017)。Zhao等(2022a)利用计算生物学分析表明维持叶肉细胞中高浓度的PEP和3-磷酸甘油酸, 以及在维管束鞘细胞中维持适当程度的氧化状态是C₄光合作用高光效所必须的。两类细胞的中间代谢产物和能量的浓度差异加速了C₃和C₄酸在两类细胞中的穿梭速度, 从而实现两类细胞中的碳氮平衡和能量平衡, 这也正是NADP-ME亚型C₄植物光合效率较高的原因所在(Schlüter和Weber 2020)。再有一点, 与NAD-ME和PEPCK亚型相比, NADP-ME亚型对线粒体的依赖相对较小, 这在一定程度上也减少了能量损耗(Fan等2022)。C₄植物两类光合细胞内代谢酶类和光合蛋白质的不均衡分布的遗传学机制, 无论在进化上还是解剖上都是最值得思考的事情。太阳光是由不同波长的单色光组成的复合光。波长较长的红光和波长较短的蓝光对于叶片的穿透能力有很大不同(Slattery等2016)。有研究表明激活的蓝光信号促进玉米叶肉细胞PSII的组装, 而红光信号可能对维管束鞘细胞中基因的表达更有影响(Hen-

dron和Kelly 2020)。

自从20世纪90年代以来很多科学家试图利用基因工程技术将C₄光合路径引入稻麦等C₃作物中, 籍此提高其产量。近30年来, 科学家们向水稻中导入了编码C₄途径关键酶基因, 但均未获得预期效果(Furbank 2016)。科学家们认识到C₄光合作用是一个极其复杂的性状, 只有深入理解其遗传机制, 绘制出工程蓝图, 才有可能实现这一愿景。C₄光合性状的进化源于高光、高温、干旱等非生物胁迫逆境。近10年来, 科学家们试图通过推演C₄光合碳代谢途径的进化历程来揭示其分子机制。Sage等(2013)比较不同光合类型的黄顶菊的叶片解剖超微结构和气体交换机制, 提出了甘氨酸在叶肉细胞和维管束鞘细胞间的穿梭机制的形成是C₂光合作用的基本特征。在此基础上, Mallmann等(2014)比较同一种属中的C₃、C₃-C₄中间型和C₄类型3种光合类型的黄顶菊的基因表达状况, 通过计算分析提出建立一个光呼吸CO₂泵(C₂光合作用)是C₄进化的前提条件。尽管这个CO₂浓缩机制并不先进, 甚至有些低效, 但这是C₄光合作用进化起始的关键一步(Schulze等2016)。根据这个模型, C₂光合途径改变了两类细胞中的氮代谢的平衡。为了重新平衡氮, 一些基因表达引发了氮的循环机制。这一理论成为研究C₄光合作用进化机制的指导。Borghi等(2022)利用¹³C标记技术分析了9个黄顶菊品种的52个代谢产物, 发现苹果酸-丙酮酸穿梭途径在C₄-like型到C₄型的品种中显著上升。这些工作表明在C₄进化过程中代谢途径逐步建立, 为构建高效的碳代谢途径提供了重要参考。

3 叶绿体生物发生与发育

近年来, 关于叶绿体生物发生和发育的研究取得了深入进展。质体以不同的形式存在, 其形态与功能多样, 叶绿体仅代表其中一种特殊形式。质体的特性与丰度都受发育和环境因子的控制, 对叶绿体生物发生的调控具有共性。首先, 叶绿体生物发生需要蛋白质翻译、输入和周转的正常进行, 这包括核基因编码蛋白的转运、叶绿体基因的转录翻译以及光合膜复合物的组装。其次, 代谢产物的合成与运输是叶绿体以及类囊体生物发生所必

需的。第三,细胞核和叶绿体之间的协调是必不可少的,这对于核编码和质体编码蛋白与色素按照一定化学计量组装非常关键。此外,其他生物信号,如细胞器间的信号协调、激素信号、病原菌侵染等,以及非生物信号,如光、高温等胁迫都对叶绿体发育与生物合成有重要影响。这一部分主要讨论前两点,第三点在其他部分讨论。

3.1 质体的发育

在多细胞植物中存在叶绿体、色质体、淀粉质体、黄化质体或脂质体等,它们都是从同一种未分化的前体,即前质体发育而来的(Jarvis和López-Juez 2013)。近年来人们对质体的转化机制进行了大量研究。Zhu等(2020)揭示了绒毡层脂质体中ZmMs33介导的脂质合成对玉米花药发育的重要作用。Llorente等(2020)证明光合能力丧失和类胡萝卜素产量增加是叶绿体分化为色质体的关键。Ling等(2021)揭示了被膜E3连接酶SP1介导的叶绿体蛋白降解在色质体分化及果实成熟中的作用。Wu等(2020)报道了番茄R2R3 MYB亚家族SIMYB72调节叶绿素、类胡萝卜素和类黄酮代谢以及色质体发育中的重要作用。Sun等(2019b)发现了含锌指结构域的DnaJ蛋白ORANGE在萌发子叶中黄化质体转化为叶绿体的关键作用。原片层体(prolamellar body, PLB)在光诱导的黄化质体-叶绿体转变过程中提供储存的脂质和辅因子(Fujii等2019)。Cazzonelli等(2020)报道了类胡萝卜素信号与DET1并行作用,以控制PLB形成以及PIF3等的转录水平,从而微调长时间黑暗组织中的质体发育。Sandoval-Ibáñez等(2021)认为曲率类囊体1(CURT1)蛋白有助于维持PLB形态,是去黄化过程中类囊体膜成熟所必需的。Liang等(2022)进一步发现CURT1A是去黄化过程中PLB小管粒前类囊体组装所必需的,而CURT1C有助于黑暗中的立方晶体生长。

3.2 核编码蛋白的运输调控叶绿体的发育

叶绿体由蓝细菌经内共生演变而来,作为半自主性细胞器,其蛋白生物合成有其独特性。叶绿体含2 500~3 000个蛋白,而叶绿体基因组仅编码约100种蛋白,绝大多数叶绿体蛋白由核基因编码(Jarvis和López-Juez 2013)。核编码的叶绿体蛋白在细胞质中作为前体合成,大部分具有N末端靶向

信号肽。位于叶绿体内外被膜TOC/TIC转运子(translocon at the outer/inner envelope of chloroplasts)识别转运信号肽并协助前体蛋白穿过被膜进入叶绿体基质(Jin等2022; Liu等2023)。TIC和TOC组分突变往往破坏叶绿体发育并导致植物死亡,这表明TOC/TIC组分对于叶绿体正常发育的重要性。

TOC复合物主要由2种GTPase受体Toc34和Toc159以及Toc75通道组成,Toc34和Toc159识别前体蛋白与转运肽,Toc75起易位通道的作用(Paila等2015; Schnell 2019; Lee和Hwang 2021)。TIC复合物的组分一直存在争议。Tic20通常被认为是TIC复合物中的蛋白转运通道,而Tic110也被认为是一个独立通道(Kovács-Bogdán等2010)。但Tic110作为蛋白通道的作用一直受到质疑。Kikuchi等人(2013)鉴定了1-MD易位复合物的3种新成分:Tic56、Tic100和Tic214。与*tic20-I*敲除突变体一样,*tic100*或*tic56*突变体幼苗白化致死,1-MD易位复合物的完整性受损。Loudya等人(2022)发现了Tic100的G366R替代突变体*tic100^{cue8}*中叶绿体蛋白输入减少,1-MD复合物含量降低;*tic100^{cue8}*的R345Q突变纠正了*tic100^{cue8}*导致的蛋白输入缺陷。Ramundo等(2020)鉴定了莱茵衣藻1-MD复合物,表明该复合物的成分是保守的。Zhao等(2022b)在拟南芥和衣藻中发现了1-MD复合物的额外成分Tic12,*tic12*突变体严重白化且幼苗致死,表明Tic12对植物生存至关重要。

在TOC和TIC复合物组装机理研究方面,Chen等(2018b)发现内膜蛋白TIC236能够结合外膜通道TOC75。*tic236*突变体胚胎致死,TIC236抑制突变体中TOC和TIC复合物间的关联显著减弱。Fang等(2022)发现Tic236蛋白稳态提高时,叶绿体前体蛋白输入增强,包括质体分裂相关蛋白FTSZ2,说明叶绿体蛋白输入与叶绿体分裂存在某种关联。而拟南芥Tic236的玉米同源物DEK5在叶绿体分裂和 β -桶状外膜蛋白(如Toc75)的靶向中发挥作用,可能间接影响蛋白输入(Zhang等2019)。最近我国科学家分别在*Cell*与*Nature*撰文,解析了衣藻TOC-TIC复合物的冷冻电镜结构,结构显示TOC复合物(Toc75、Toc90和Toc34)和TIC复合物(Tic214、Tic20、Tic100和Tic56)的主要亚基、叶绿体易位相关

蛋白(Ctap3、Ctap4和Ctap5)和新鉴定的小内膜蛋白(Simp1-3); 但该结构中没有发现Tic110及Tic236 (Jin等2022; Liu等2023)。

叶绿体蛋白的跨膜运输还需要马达蛋白, 但其组分也存在争议。早期认为基质伴侣蛋白Hsp93、cpHsp70和Hsp90C是基于ATP酶活性的输入马达(Inoue等2013; Huang等2016a; Jeong等2022)。然而Kikuchi等(2018)发现了新的2-MD马达复合物, 该复合物由FtsHi1、FtsHi2、FtsHi4、FtsHi5、FtsH12、质体NAD-苹果酸脱氢酶(pdNAD-MDH)和Ycf2组成(Kikuchi等2018; Schreier等2018)。*ftsHi1*、*ftsHi2*、*ftsHi4*、*ftsHi5*或*ftsH12*突变体胚胎致死, *FtsHi1-1*基因的S524F点突变体(*arc1*)与Hsp93-V、cpHsp70或Hsp90C缺陷突变体一样, 前体蛋白输入显著缺陷(Kikuchi等2018)。pdNAD-MDH的功能则可能是通过提供ATP参与蛋白质输入。最近, Xing等(2022)表明拟南芥Ycf2的衣藻同源物Orf2971参与蛋白向叶绿体的易位, 具有ATP酶活性, 并能与含Tic20、Tic214和FtsH样蛋白复合物共纯化。

进入叶绿体基质蛋白会被进一步分选运输到不同的功能部位, 参与光合电子传递链的光合蛋白需要通过基质分选因子的分选、靶向运输到类囊体膜运输途径。Bédard等(2017)通过对*tic40*的抑制子筛选, 发现了编码Alb4和与Alb3、Alb4互作的新型基质蛋白, 将蛋白输入、基质靶向运输和类囊体生物发生联系起来。Ouyang等(2020)发现Tat转运途径的关键分选因子STT1与STT2, 揭示了相分离驱动叶绿体蛋白运输的新机制。STT1与STT2的N端内部无序区域IDR基序识别Tat底物信号肽, C端Ankyrin repeat结构域反向平行形成STT异源二聚体; 这些多价相互作用驱动STT复合物与底物共相分离进而促使底物分选与靶向到类囊体膜的Hcf-106/cpTatC通道。Klasek等(2020)发现叶绿体伴侣蛋白(Cpn60)促进质体I型信号肽酶1 (Plsp1)的类囊体输入组装, 其中Cpn60捕获并释放插入Plsp1, cp-SecA1识别游离Plsp1进行整合。Anderson等(2021)发现真核光合生物的叶绿体和线粒体含有尾锚定蛋白3 (Get3)负责输入GET途径的底物蛋白并靶向类囊体。

3.3 叶绿体基因转录翻译调控叶绿体发育与生物合成

叶绿体基因转录翻译对叶绿体生物合成以及植物发育至关重要。它位于叶绿体RNA和蛋白质代谢的交叉点。RNA代谢包括RNA合成、折叠、修饰、加工、降解和翻译。Yang等(2017)发现了叶绿体定位R-环去除酶AtRNH1C对质体R-环稳态、基因组不稳定性和发育的重要作用。Wang等(2021b)进一步阐明了R-环的同源重组修复机制。Takusagawa等(2021)发现具有DNA结合高迁移率组盒结构域串联重复序列的蛋白HBD1介导的叶绿体和线粒体DNA压缩机制。Ding等(2019)揭示了叶绿体的转录暂停机制: mTERF5在psbEFLJ的转录暂停区募集额外的pTAC6, 将其组装到PEP复合物中来调节psbEFLJ的转录。Métégnier等(2021)发现mTERF9促进叶绿体16S和23S rRNA积累与核糖体组装和翻译机制。Douchi等(2016)发现psaC转录调控因子MAC1在psaC mRNA的5'非翻译区起作用, 从而稳定mRNA。Jiang等(2019)发现BSF与叶绿体*petB/petD*的基因间区结合, 稳定petB mRNA并刺激petD的翻译。Ozawa等(2020)报道了八肽重复蛋白MTH1能够靶向两种不同的转录物(*atpH*和*atpI*基因的5'非翻译区), 提出了共同调节两个质子半通道表达的新机制。DeTar等(2021)表明内被膜KEA1和KEA2同时缺失导致质体rRNA的成熟缺陷。Zou等(2020)揭示了拟南芥叶绿体rRNA甲基转移酶CMAL介导的16S rRNA甲基化对核糖体生物发生的重要作用。Tieu Ngoc等(2021)进一步发现CMAL对叶绿体生物发生以及植物的激素反应至关重要。Liu等(2022)发现多效性发育缺陷(PDD)的自然变异调控叶绿体基因表达与发育。Ma等(2022)表明番茄GR-RBP家族蛋白Sl-RBP1与SlEIF4A2翻译起始复合物结合并引导靶RNA进入, 促进其翻译以调节叶绿体功能。Hristou等(2019)证明cpSRP54的核糖体相关池在许多叶绿体编码的类囊体膜蛋白的共翻译整合中起关键作用。

近年来研究也发现了一些参与RNA编辑的新组分。Zhang等(2014)报道了叶绿素合成相关基因

蛋白PPO1与MORF蛋白互作参与叶绿体RNA编辑。Zhang等(2017)与Cui等(2017)发现了水稻中的MORF因子WSP1与RNA结合蛋白DUA1参与叶绿体的发育调控。Zhao等(2019)发现*gun1*突变在逆行信号传导过程中调节了质体中约1/3的RNA编辑位点的编辑效率。Liu等(2021a)等报道了水稻蛋白酶OsClpR1调控叶绿体发育以及RNA编辑。Yuan等(2022)进一步揭示了MORF2和MORF9调节四吡咯生物合成和胚胎发生中的作用。以上研究分别建立了叶绿体RNA编辑与色素合成、叶绿体细胞核信号以及叶绿体质量控制的联系。

3.4 类囊体膜的形成调控叶绿体生物发生

类囊体的形成和堆积由脂质生物合成、囊泡形成、类囊体堆积和光系统组装调节。在脂质运输方面, Du等(2018)揭示了单半乳糖甘油二酯(monogalactosyl diglyceride, MGDG)周转、叶绿体超微结构和活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生与不利环境条件间的联系。Yao等(2023)揭示了拟南芥Sec14同源蛋白AtSFH5和AtSFH7在将磷脂酸(phosphatidic acid, PA)从内质网转移到叶绿体的结构基础, 及其在调节叶绿体脂质组成和类囊体发育中的作用。

囊泡运输是类囊体形成所必需的。过去的研究揭示了VIPPI及其互作蛋白伴侣Hsp90.5、cpSA-R1和SCO2在囊泡形成与运输的作用(Feng等2014; Zagari等2017)。Hennig等(2015)发现VIPPI能激发蓝细菌以及叶绿体的膜融合。Heidrich等(2018)发现这种融合需要 Mg^{2+} 。Liu等(2021a)发现VIPPI环状铰链与ESCRT-III蛋白中的铰链类似有助于组装, 从而形成柔性聚合物, 表明Vipp1、PspA和ESCRT-III依赖性膜重塑的保守机制。Hertle等(2020)发现拟南芥Sec14样的叶绿体蛋白CPSFL1结合磷脂酰肌醇磷酸盐(phosphoinositides, PIPs)和PA, 促进囊泡形成。García-Cerdán等(2022)等表明莱茵衣藻CPSFL1结合植物素和 β -胡萝卜素, 从而调节植物素合成和类胡萝卜素运输。Kim等(2022)表明CPS-FL1可能在疏水配体(如PQ-9和类胡萝卜素)通过叶绿体囊泡形成或直接结合PIPs的膜运输中发挥作用。

光合电子传递链PSI、PSII、Cyt b_6f 以及ATP

合成酶复合物组装直接影响类囊体膜形成以及叶绿体发育。在光系统II组装机理研究方面, Zagari等(2017)报道了DnaJ样蛋白SCO2与捕光色素LH-CB1互作, 参与囊泡运输与PSII-LHCII复合物的组装与累积。García-Cerdán等(2019)发现PSII的组装因子红素氧还蛋白1 (RBD1)与细胞色素b559共同保护PSII中间复合物在从头组装和修复过程中免受光氧化损伤。Yu等(2018a)发现高度保守的Ycf48蛋白与新合成的前体D1亚基结合, 并与YidC协同促进与D2结合, 从而促进PSII反应中心中间体的组装。Kiss等(2019)发现蓝细菌膜结合红细胞介素样蛋白RubA可能与Ycf48协同作用促进PSII组装与氧化还原修复。在PSI组装机制研究中, Nella-epalli等(2018)发现保守的叶绿体编码辅助因子Ycf3及其伴侣Y3IP1与Ycf4形成了介导PSI组装的模块。在Cyt b_6f 的组装机制研究方面, Sandoval-Ibáñez等(2022)表明DEIP1与复合物的PetA和PetB亚基互作, 介导Cyt b_6f 中间体的组装。Li等(2023b)发现拟南芥NTA1通过DUF1279结构域和C末端序列与Cyt b_6f /PetB、PetD、PetG和PetN互作并介导其组装。在ATP合成酶组装机制研究方面, Mao等(2015)报道了ATP γ 亚基的组装因子PAB与Cpn60介导的 γ 亚基折叠下游促进其组装到催化核心。随后Zhang等(2018)发现ATP合成酶组装因子BFA1作为支架蛋白, 通过与CF1 β 、 γ 和 ϵ 亚基互作促进CF1 α/β 异二聚体与CF1 γ 的结合。Reiter等(2020)揭示了ATP合成酶组装因子CGL160调节CF $_1$ -CF $_0$ 活性与组装的机制。

镁、铁以及锰是光系统复合物组装与行使电子传递功能的关键金属元素。Zhang等(2022a)报道了拟南芥转运蛋白MGR8和MGR9参与叶绿体 Mg^{2+} 的摄取。Schneider等(2016)发现拟南芥类囊体膜蛋白PAM7在 Mn^{2+} 摄入类囊体中发挥作用, 以确保最佳PSII性能。Zhang等(2018)发现PAM71的内被膜同源蛋白CMT1负责叶绿体 Mn^{2+} 摄取, 缺失突变导致类囊体堆积缺陷。Eisenhut等(2018)表明CMT1和PAM71在叶绿体被膜和类囊体膜向PSII输送Mn过程中顺序发挥作用。Zhang等(2021c)发现拟南芥J蛋白DJA5与DJA6将结合的 Fe^{2+} 传递给Fe-S簇的组装因子SUFBCD复合物, 从而完成Fe-S

簇的组装。

4 光合作用蛋白质质量控制

叶绿体中含3 000多种蛋白质,叶绿体在不同环境条件下的蛋白质稳态调控是叶绿体正常运转的基础,是保证不同环境条件下植物光合作用和重要代谢活动有效进行的前提,涉及到复杂的叶绿体蛋白质质量控制机制。本文概括了5~10年该领域的代表性研究进展,主要包括叶绿体蛋白质通过TOC-TIC复合体内运与光合作用中叶绿体PSII的组装、叶绿体内未折叠或错误折叠的蛋白质通过分子伴侣或蛋白酶进行多种途径的修复或降解、叶绿体蛋白酶对异常积累蛋白质的清除与PSII的修复维持光合作用稳态以及其他逆境条件下叶绿体快速调节代谢适应环境变化的蛋白质翻译后修饰途径。

4.1 叶绿体蛋白质内运

叶绿体基因组编码约100种蛋白质,大部分叶绿体定位蛋白由细胞核来编码,核编码蛋白质在细胞质中合成后以前体蛋白的形式进入叶绿体。前体蛋白N端的前导肽和叶绿体外膜蛋白上受体相互作用紧密结合,进一步插入到TOC复合体(叶绿体外膜的易位子),并与TIC复合体(叶绿体内膜的易位子)互作形成TOC-TIC超复合体。近期莱茵衣藻中TOC-TIC的蛋白质结构被解析,并发现了6种新组分Toc52、Toc39、Toc10、Tic35、Tic13和YlmG。TOC复合体由Toc120、Toc75、Toc34和Toc39组成,而TIC是由Tic20和YlmG的跨膜螺旋形成的。两者由Tic214、Tic100、Tic56、Toc52和Tic35组成的包膜间隙(intermembrane space, IMS)支架进行连接,其中仅有Tic214由叶绿体基因编码(Jin等2022; Liu等2023)。而柳振峰团队发现莱茵衣藻TOC复合物主要是由Toc34、Toc90和Toc75共同形成, Ctap4-Ctap3复合物位于Toc90的侧面;膜间隙复合物主要包括Tic214、Tic100、Tic56、Ctap3和Ctap5,它们相互缠绕并形成梯形塔状结构;TIC复合物主要包括Tic214、Tic20、Ctap5以及3个分别命名为Simp1、Simp2和Simp3的小亚基(Liu等2023)。近期,我国科学家发现莱茵衣藻叶绿体基因组最大基因编码的蛋白Orf2971在叶绿体蛋白质稳态调控中发

挥重要作用,Orf2971不仅与叶绿体内膜上的TIC复合体以及可能为蛋白转运提供能量的FtsHi蛋白相互作用,还与基质一侧的分子伴侣在相同的组分中,这表明该蛋白可能参与蛋白转运,同时将未折叠的蛋白靶向给合适的分子伴侣(Moulin 2022; Xing等2022)。

4.2 光系统II的组装

叶绿体PSII可使水裂解产生氧气并且是光损伤的重要靶点。PSII超级复合体由反应中心和外周捕光色素复合体组成,其组装过程包括PSII反应中心的形成、初级PSII复合体组装完成以及捕光色素复合体的装配,有多种蛋白因子作为组装辅因子参与装配。在真核藻类和高等植物中,PSII的组装可分为早期、中期和末期3个时期。首先, Cytb-559与D2蛋白结合形成D2-Cytb559复合体,再与由D1前体(pD1)和PsbI聚合而成的二聚体结合,然后D1前体的C末端经CtpA蛋白酶改造成为成熟的D1蛋白,最终形成反应中心。近期,我国科学家首次解析了嗜热蓝藻Psb27-PSII中间复合体的三维结构,研究发现,该蛋白复合体是由2个Psb27-PSII单体按照C2对称性组装而成的二聚体,每个Psb27-PSII单体含有16个蛋白亚基、35个叶绿素分子、11个胡萝卜素分子、2个去镁叶绿素分子和大量的脂分子(Huang等2021a)。在PSII的囊腔侧, Psb27蛋白通过与CP43亚基相互作用结合在中间复合体上,结合的Psb27与锰簇稳定蛋白PsbO在复合体上存在一定程度的结构冲突。还发现中间复合体CP43、CP47、D2亚基及其他核心小亚基中与PsbO或PsbU亚基结合的一些局部构象发生变化,阻止了PsbO和PsbU与PSII复合体在水裂解催化中心锰簇组装前过早地结合。这是目前解析的第一个PSII中间复合体结构,对进一步揭示放氧光合生物PSII的组装修复过程提供了重要的结构基础(Huang等2021a)。在PSII组装的末期,捕光色素复合体组装到PSII上并发生二聚化反应,形成PSII-LHCII超复合物,受到免疫亲环蛋白质(CYP28)的调节(Zhu等2022)。

4.3 叶绿体分子伴侣和蛋白酶

叶绿体是进行光合作用的场所。未折叠或错误折叠的蛋白质进入会损害正常叶绿体,由负责蛋白质折叠的分子伴侣和负责蛋白质降解的蛋白

酶组成的质量控制系统则会对其进行监控以维持叶绿体功能的正常运行。

分子伴侣是一类协助细胞内分子组装和协助蛋白质折叠的蛋白质。在叶绿体中鉴定的分子伴侣有: I型伴侣蛋白、Hsp70家族、Hsp90家族和Hsp100家族(de Luna-Valdez等2019)。有研究发现, 在拟南芥叶绿体中Hsp70的表达与其耐热性日变化有关, 白天耐热性高同时具有较高的Hsp70表达量(Dickinson等2018)。在蓝藻集胞藻属PCC6803中, Hsp70还参与类囊体膜蛋白复合物的生物发生及维持(Thurotte等2020)。Hsp70存在共伴侣蛋白, 如叶绿体GrpE和J蛋白, J蛋白可以提高Hsp70与底物蛋白的结合能力(Zhao等2022)。Hsp90C伴侣水平会影响植物光合作用相关基因的表达以及光依赖性ROS的产生, 含量过少还会激活免疫反应, 最终引起细胞死亡(Islam等2020)。水稻中的一种NAC蛋白OsJ10gBTF3可通过与Hsp90家族伴侣OsHSP82协调介导叶绿体蛋白输入来调节花粉和叶绿体发育(Liu等2021b)。Hsp100家族有8个成员(ClpB、ClpC和ClpD类), 近期有研究报道了拟南芥的叶绿体解聚酶ClpB3对高温和pH具有显著的耐受性, 低pH时活性的降低可能是由于氨基酸残基质子化导致NBD失活(Parcerisa等2020)。

迄今为止, 已鉴定到20多种叶绿体蛋白水解酶, FtsH的典型功能是通过切割PSII反应中心蛋白D1亚基来修复PSII损伤引起的光抑制, Deg蛋白酶在此过程中协助其完成工作。近期, 侯昕研究组发现在高温胁迫下拟南芥FtsH11通过降解BFA3, 下调叶绿体ATP合酶的组装从而降低类囊体腔中质子外流以帮助维持质子梯度。另外, 该研究还发现FtsH11可能参与Cyt *b₆f*在高温胁迫下的稳定(Yue等2023)。FtsH12在非光合质体中表达, 位于内包膜中, 其C端暴露于基质。FtsH12含量减少会导致叶片表型、色素沉着和质体超微结构发生变化(Mielke等2021)。最近发现FtsH12-FtsHi可与pNAD-MDH形成复合物, 进一步在转录水平影响TIC复合物的丰度(Mielke等2020)。

4.4 细胞核和叶绿体编码蛋白质的光逆境应答

叶绿体中光合磷酸化蛋白质复合体都是由叶绿体和核编码的亚基组成的, 叶绿体的正常功能

依赖于叶绿体和核编码基因的协调表达。叶绿体蛋白质应答受许多环境因素的调节, 各种胁迫条件, 特别是抑制叶绿体功能的光胁迫也一直是人们关注的重点。叶绿体通过反向信号影响细胞核编码基因的表达, 林荣呈团队近期对反向信号进行了较为细致的研究, 强光照射下, $^1\text{O}_2$ 诱导后, EXECUTER1 (EX1)瞬时积累并从质体转移到细胞核, 并与转录因子WRKY18和WRKY40相互作用, 作为转录共激活因子促进 $^1\text{O}_2$ 反应基因的表达(Li等2022e)。

近期对于经典高周转蛋白质D1及其他高周转率蛋白质的研究有新进展。有研究分析了烟草幼苗高光处理后, 编码PSII D1反应中心蛋白的psbA mRNA上的核糖体结合量增加, 并揭示了明显的光诱导psbA翻译的激活(Schuster等2020)。此外, 通过研究PSII组装缺陷的玉米和拟南芥突变体叶绿体发现, OHP1/OHP2/HCF244复合物若结合D1/PsbI可抑制D1翻译, 若结合翻译调控因子HCF173则激活D1翻译, 这表明该复合物是翻译自调节机制的枢纽, 该机制在PSII生物发生和修复过程中协调D1合成与对新生D1的需求(Chotewutmontri等2020)。我国科学家通过多组学分析发现高光激活蛋白酶表达和蛋白质降解类氨基酸的快速富集, 证实了高光引发广泛的蛋白质降解(Li等2022b)。虽然蛋白质因为光损伤发生快速降解, 多数蛋白质的编码基因被高光激活表达, 蛋白质的丰度并未发生明显变化, 而仅有少数蛋白质的编码基因未被激活, 蛋白质水平呈现降低趋势, 从而成为光损伤的蛋白质靶点。

4.5 叶绿体蛋白质的翻译后修饰及功能

蛋白质的翻译后修饰(protein post-translational modifications, PTM)修饰调控叶绿体DNA复制、控制转录效率、调节翻译机制并影响叶绿体内的代谢活动。近年来, 有相关研究发现, 拟南芥短期波动光处理后, 结构蛋白曲率类囊体(CURT1)的CURT1B N端磷酸化水平随之改变, 这也导致PSII核心蛋白磷酸化水平的增加(Trotta等2019)。另外, 磷酸化还与叶绿体运动有着一定的联系, THRUMIN1蛋白是拟南芥正常叶绿体运动所必需的, 已被证明定位在质膜上, 并通过N端固有无序区(IDR)与肌动蛋白细丝发生快速的光依赖相互作用(Dwyer

和Hangarter 2021)。

还有一种在真核生物中普遍发生的就是乙酰化,最近报道核穿梭相互作用酶(NSI; AT1G32070)是拟南芥叶绿体中的活性赖氨酸乙酰转移酶。研究表明,叶绿体乙酰转移酶NSI是类囊体蛋白复合物在光合状态转变过程中动态重组所必需的(Ko-skela等2018)。此外乙酰化还影响着D1的合成,莱茵衣藻叶绿体丙酮酸脱氢酶复合物(cpPDC)的二氢脂酰胺乙酰转移酶亚基DLA2赖氨酸乙酰化促进其RNA结合活性,在PSII从头生物发生过程中对D1的合成至关重要(Neusius等2022)。另外近期研究表明,叶绿体乙酰转移酶NSI/GNAT2在光收集的调节中也发挥功能。GNAT2和状态转变7 (STN7)突变体中的颗粒包装具有相似的特征,因为突变体的类囊体结构不响应从黑暗到光照的转变,这与野生型形成鲜明对比。这些结果表明,GNAT2酶除了通过STN7磷酸化介导的调控外,还可能通过调控叶绿体蛋白乙酰化参与类囊体结构的组织和动力学(Rantala等2022)。

泛素化修饰在叶绿体蛋白的降解调控中发挥重要作用。研究者发现TOC装置受泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasomesystem, UPS)的调节,该过程由SP1的包膜定位泛素E3连接酶抑制因子控制(Kessler 2012; Ling等2012)。在这个过程中,需要从叶绿体膜上提取目标蛋白,研究确定了降解叶绿体外被膜(OEM)蛋白所需的2个因子: SP2和CDC48。前者是OEM中的原核来源的Omp85型 β 桶通道,后者是位于细胞质中的保守的真核生物AAA+伴侣。研究证明了SP2和CDC48蛋白协同作用,实现了从OEM中提取泛素化蛋白(“逆转录易位”),该系统被称为叶绿体相关蛋白降解,或CHLORAD (Ling等2019)。该团队继续深入研究,证明CHLORAD直接作用于多种叶绿体蛋白,不仅是TOC装置,并且UPS广泛地影响叶绿体功能,包括光合作用和脂代谢(Sun等2022b)。此外,我国科学家发现CDC48复合体与2种叶绿体内蛋白RbcL和AtpB结合,并调节它们的泛素依赖的降解(Li等2022a)。上述研究都证实了叶绿体蛋白泛素化降解对叶绿体蛋白质稳态调控具有重要作用。

类泛素化(small ubiquitin-like modifier, SUMO)

修饰是一种翻译后修饰,包括将一个SUMO蛋白添加到目标蛋白的赖氨酸残基上。除了影响蛋白质的稳定性外,它还调节蛋白质的活性、相互作用和亚细胞定位。SUMO修饰与其他蛋白质的共价结合影响植物中不同的细胞过程。近些年来有研究揭示了TOC复合物的稳定性不仅受到泛素依赖的叶绿体相关蛋白降解途径的动态调控,而且TOC复合物也由SUMO修饰系统调节。该研究确定了SUMO系统和叶绿体蛋白导入机制之间的调控联系(Watson等2021)。拟南芥中叶绿体外膜上2种趋光素PHOT1和PHOT2控制的过程会受到SUMO修饰途径的破坏。在光胁迫和热胁迫处理下,拟南芥成熟叶片中发现了PHOT2的SUMO修饰(Labuz等2021)。另外近期研究表明,各种叶绿体蛋白的SUMO修饰对于它们在热胁迫下精确定位到叶绿体至关重要(Zheng等2022b)。

5 光合色素合成与叶绿体反馈信号

植物和藻类在叶绿体中通过四吡咯途径合成叶绿素和血红素,光合色素与蛋白结合维持光合作用的有效进行。同时,四吡咯途径中多个中间代谢物作为信号分子感受叶绿体功能状态并调控细胞核基因表达。

5.1 叶绿素f的合成与功能

叶绿素分子因化学结构的差异而具有不同的吸收峰。Chen等(2010)鉴定到一种新型叶绿素f (Chl *f*),其最大光吸收波长达到706 nm,表明光合生物能利用的光谱范围更广。Airs等(2014)认为,红移Chl *f*只在少数蓝细菌中存在,并且其合成需要近红外光诱导。Trinugroho等(2020)发现D1亚基的同源蛋白PsbA4与PSII结合,能够将Chl *a*氧化并转变为Chl *f*; D1蛋白突变2个氨基酸导致PSII不能裂解水,然而却能合成Chl *f*。

Kato等(2020)发现远红外光适应下的PSI中结合了83个Chl *a*和7个Chl *f*, PSI最大吸收波长延伸至750~800 nm。Chl *f*结合在PSI的外围,增强光吸收激发能转移,但是不直接参与电荷分离和PSI中的电子传递(Kato等2020)。Chl *f*在PSII中同样具有活性, PSII中插入Chl *f*使电荷分离速度加快,能够提高远红外光环境下的PSII的光量子效率(Gisriel等

2022; Mascoli等2022; Viola等2022)。Tros等(2020)在*Synechococcus* sp. PCC 7002中异源合成Chl *f*, 将蓝细菌PSI的吸收光谱延长到750 nm, 提高其在远红外光下的光合效率。这些研究为解析Chl *f*在PSII和PSI中的结合方式及对光合系统的改造和提高光合效率奠定了基础(Tros等2020)。

5.2 叶绿素合成的转录调控

叶绿素合成在转录水平上的调控保证了在复杂的环境条件下四吡咯代谢通路的稳定运行(Brzezowski等2015)。光信号在叶绿素合成调控中发挥重要作用, 光依赖的原叶绿素酸酯氧化还原酶(*protochlorophyllide oxidoreductase*, *POR*)基因的表达调节是叶绿素合成途径和植物光形态建成的关键因素, 包括HY5、DELLA、GLK和PIF1在内的多种转录因子都受到光信号诱导进而调控*POR*基因的表达; 另外, 光信号通过调控组蛋白乙酰化和甲基化修饰进而影响叶绿素合成(Yuan等2017)。植物激素同样调控叶绿素合成相关基因的表达。拟南芥种子萌发过程中乙烯通过激活*PORA*和*PORB*的表达来促进原叶绿素酸酯的代谢, 这一过程由转录因子EIN3/EIL1所介导(Zhong等2014)。

最近的研究表明多种转录因子及相关蛋白在调控叶绿素生物合成中的关键作用, HY5、PIFs、EIN3、DELLA是响应光信号以及激素信号的关键转录因子, GOLDEN2-LIKE转录因子则直接调控四吡咯合成相关基因的表达(Liu等2017)。转录因子FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL3和REVEILLE1等可能直接调控叶绿素合成特定基因的表达, 而GATA转录因子则间接调控相关基因的表达(Kobayashi和Masuda 2016)。TCP4是控制花瓣颜色的关键蛋白, 通过直接结合*PORB*、*DVR*和*SOCI*基因的启动子抑制叶绿素的合成(Zheng等2022a)。染色质重塑蛋白BRM通过与PIF1的互作来影响*PORC*的启动子活性进而负调控叶绿素合成(Zhang等2017a)。叶绿素合成多样的转录调控途径对于维持叶绿素合成的稳定及关键基因时空表达和植物组织中的特异性具有重要意义。

5.3 叶绿素合成的转录后调控

在转录后水平调控叶绿素合成途径相关酶的稳定性、活性及其空间分布能够保证植物的正常

生长发育和快速响应环境变化。Wang等(2022a)认为, 叶绿素合成途径的转录后水平调控主要通过谷氨酰-tRNA还原酶(*glutamyl-tRNA reductase*, GluTR)、镁螯合酶(MgCh)和光依赖的POR等关键蛋白的调节来实现(Wang等2022a)。

5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)合成是四吡咯合成过程中的限速步骤, GluTR是5-ALA合成的关键酶, 其活性、稳定性及其在叶绿体中的分布对于四吡咯的生物合成十分重要(Schmied等2018)。Hou等(2019)认为, FLUORESCENT (FLU)作为GluTR的重要调节因子, 反馈抑制其活性并调控其在叶绿体膜上的分布(Hou等2019)。拟南芥中FLU与POR和CHL27形成复合物, 在原叶绿素酸酯(Pchl_{ide})的调节下与GluTR互作, 从而调控叶绿素合成(Hou等2021)。Richter等(2019)认为GluTR结合蛋白GBP调控GluTR的稳定性, GBP与血红素结合会削弱GBP与GluTR的互作, 从而使GluTR更容易被Clp蛋白酶降解(Richter等2019)。此外, 叶绿体信号识别颗粒cpSRP43与GluTR互作, 调控GluTR的稳定性(Wang等2018a)。

叶绿素合成的关键酶MgCh是由CHLH、CHLI以及CHLD组成的多亚基复合物, 对其活性或稳定性的调控有利于叶绿素分支的正常进行(Zhang等2021b)。Richter等(2016)发现, 高等植物中GUN4蛋白在黑暗中被磷酸化, 降低其对MgCh的激活作用, 而藻类GUN4缺乏该磷酸化位点(Richter等2016)。Zhang等(2021b)证实莱茵衣藻中GUN4蛋白与胆色素结合, 促进MgCh的活性并维持催化亚基CHLH1的稳定性, 从而调控叶绿素合成; 拟南芥中BCM蛋白与GUN4互作, 促进MgCh活性并调节叶绿素代谢(Wang等2020)。此外, cpSRP43调控CHLH和GUN4蛋白稳定性, 从而调控MgCh活性和稳定性(Ji等2021)。

POR将原叶绿素酸酯转化为叶绿素酸酯, POR与FLU、CHL27和GluTR形成复合物调控ALA合成(Kauss等2012; Hou等2021), POR还与YCF54、LIL3以及伴侣蛋白CPP1互作, 调节POR的稳定性(Lee等2013; Kong等2016; Hey等2017)。对POR蛋白的调节有助于叶绿素合成途径的稳定进行, 防止光毒性产物原叶绿素酸酯的积累。Yuan等(2022)

发现叶绿体定位的MORF2和MORF9具有分子伴侣活性,与四吡咯合成途径的多个酶和调控因子相互作用,对POR的正常积累不可或缺(Yuan等2022)。

在光合系统中,捕光叶绿素结合蛋白(LHCPs)的组装与叶绿素的生物合成相协调(Wang和Grimm 2021a)。伴侣蛋白cpSRP43不仅介导LHCPs靶向类囊体膜,也参与四吡咯生物合成,维持多种四吡咯合成蛋白如GluTR、CHLH和GUN4的丰度和稳定性(Ji等2021)。Wang和Grimm (2021a)认为cpSRP43对四吡咯合成关键蛋白和LHCPs的质量控制,植物协调叶绿素合成和LHCPs的转运,以确保适量的LHCPs组装到类囊体膜上并发挥功能。

5.4 类胡萝卜素的合成及调控

类胡萝卜素是一类重要的光合色素,近年来,科学家在类胡萝卜素的合成与调控领域取得了重要研究进展(Sandmann 2021; Sun等2022a)。Beltrán等(2015)发现胡萝卜素异构酶(Z-ISO)可以独立催化15-15'碳碳双键的异构化反应,证明Z-ISO结合的血红素通过氧化还原转换参与异构化反应。八氢番茄红素合成酶(phytoene synthase, PSY)等参与类胡萝卜素合成的多个基因的转录过程受到光照和温度的影响,这一调控通过光敏素信号通路中互相拮抗的PIF1和HY5实现(Stanley和Yuan 2019; Quian-Ulloa和Stange 2021)。García-Cerdán等(2020)在莱茵衣藻中鉴定到一个同时影响叶绿体发育与类胡萝卜素积累的蛋白CPSFL1,推测CPSFL1可能参与调控八氢番茄红素的合成或类胡萝卜素的转运。

高等植物在缺失类胡萝卜素的情况下无法存活,目前只能在混合营养生长的藻类中获得完全缺失类胡萝卜素的突变体。Xu等(2020b)在烟草中的研究证明,持续产生虾青素的植株可以在完全缺失类胡萝卜素的情况下正常进行光合作用和非光化学淬灭。虾青素是一种酮式类胡萝卜素,该结果表明合成类胡萝卜素是藻类和植物等放氧型光合生物得以生存的关键因素之一。

5.5 四吡咯分子反向信号

近些年来,人们对四吡咯分子发挥叶绿体反向信号的功能做了深入的研究(Richter等2023)。Woodson等(2011)认为拟南芥亚铁螯合酶FC1产生的

血红素作为反向信号调控叶绿体发育过程中光合作用相关核基因的表达。Shimizu等(2019)发现血红素与GUN1结合,认为GUN1降解与血红素释放协同调控叶绿体信号转导。Shimizu等(2020)鉴定到拟南芥和红藻中多个血红素结合蛋白,包括定位于细胞核的转录因子,认为血红素可能调控核基因的表达与RNA代谢等过程。

血红素代谢产物胆色素的功能也得到相关研究。Duanmu等(2013)发现胆色素在衣藻由黑暗异养到光照自养转变中作为叶绿体反向信号调控活性氧代谢相关基因的表达。Wittkopp等(2017)认为,胆色素受体chlorochrome被蓝光激活,在转录后水平调控PSI相关蛋白的积累。胆色素与镁离子螯合酶激活蛋白GUN4互作显著增强叶绿素的合成,胆色素可能与单线态氧进一步结合,提出GUN4-胆色素-活性氧协同发挥叶绿体反向信号功能的假说(Hu等2021; Zhang等2021b)。

叶绿素降解途径的多种代谢物从叶绿体转运到细胞质和液泡,其作为反向信号的功能也受到关注(Kuai等2018)。Aubry等(2020)认为脱镁叶绿酸 α 感受叶绿体功能状态,通过茉莉酸途径调控黑暗胁迫诱导拟南芥叶片衰老条件下叶绿素降解相关基因的表达。

6 光保护与环境适应

光是光合作用所必须的,然而过多的光会损害光合机构,甚至造成细胞死亡。植物拥有多种光保护机制以应对过多光能的伤害,比如改变叶片形态或相对位置、叶绿体运动到弱光侧、加强活性氧清除、非光化学淬灭和PSII修复等途径。此外,光合作用对于高温和干旱等逆境应答也发挥了十分重要的作用。近年来在非光化学淬灭、PSII修复、光保护基因调控以及光合作用环境适应等方面取得了较大进展。

6.1 非光化学淬灭

为了减轻过量光能造成的伤害,植物和光合微生物演化出了一套重要的光保护机制将PSII捕光天线吸收的过剩光能耗散为热能。根据叶绿素荧光动力学,植物发挥光保护作用的热耗散以荧光淬灭的形式被测量,被称为非光化学淬灭(NPQ)。

它受到类囊体膜质子梯度、叶黄素循环、LHCSR或PsbS等多种调节因子共同调控。根据植物NPQ诱导和动力学特征, 认为NPQ至少存在5种组分: 能量依赖的淬灭(qE)、依赖玉米黄素淬灭(qZ)、光抑制淬灭(qI)、状态转换淬灭(qT)和持续性的天线淬灭(qH) (Lu等2022)。除此之外, 有研究还报道叶绿体运动也会引起蓝光依赖的淬灭(qM) (Cazzaniga等2013)。然而, 最近的研究认为叶绿体运动对光条件下的植物高光保护几乎不发挥作用, 因此还需要重新评估qM是否确实是NPQ的一个组分 (Wilson和Ruban 2020)。

植物的qE是一种非常有效而且快速可逆的光保护机制, 能够在数分钟之内弛豫, 最多可以耗散75%植物吸收的光能。通常认为陆生植物qE的形成需要3个重要因素, 分别是类囊体膜质子梯度(ΔpH)、PsbS和玉米黄质(Brooks等2013)。PsbS对于qE发挥了核心作用, 能够被高光强引起的囊腔酸化激活, 从而介导吸收的光能以热能形式耗散(Li等2000)。近年来研究发现, PSII的捕光天线LHCII和核心都存在qE发生位点, 其中捕光天线LHCII是发生qE的主要位点, 约占qE总量的60%, 但目前仍然不清楚PSII核心里哪些蛋白和辅因子参与了qE (Nicol等2019)。理论上PSII天线与核心发生的qE都受到PsbS的动态调节。然而, 目前仅研究了PsbS与LHCII的动态结合机制, 当仅有 ΔpH 存在时, PsbS主要与LHCII三体中Lhcb1、Lhcb2和Lhcb3结合; 当 ΔpH 和玉米黄质都存在时, PsbS与非主要天线Lhcb4、Lhcb5和Lhcb6的结合比例会上升(Sacharz等2017)。菠菜PsbS晶体结构显示, PsbS由4段结构紧密的跨膜螺旋组成, 在类囊体膜中以二聚体形式存在, PsbS位于囊腔侧的loop能够感受高光强引起的囊腔酸化, 在PsbS二聚体界面处结合了一个叶绿素a, 表明PsbS在体内直接参与能量传递, 介导qE的形成 (Fan等2015)。

qZ、qI、qT和qH缓慢可逆或者是持续型弛豫较慢的NPQ机制。其中qZ依赖玉米黄质, 但不依赖 ΔpH ; qI主要与PSII反应中心D1蛋白失活有关, 能够通过新合成D1周转而恢复; qT是指捕光天线LHCII通过状态转换机制动态地结合到PSI和PSII, 从而重新分配天线吸收的光能(Lu等2022)。对比

早期发现的qZ、qI和qT, qH是一种新发现的持续型NPQ机制(Brooks等2013)。qH对于植物光保护也十分重要, 但是qH的发生不依赖于 ΔpH , 表明qH的发生机制是独立于PsbS的诱导的qE。研究发现, 位于类囊体膜囊腔侧的质体脂质运载蛋白LCNP是qH发生所必需的, 当qH发生之后位于类囊体膜基质片层的ROQH1能够缓慢地弛豫qH, 但是LCNP和ROQH1参与qH的分子机制仍然不清楚, 有待进一步研究 (Amstutz等2020; Malnoë等2018)。而位于类囊体膜上的淬灭抑制蛋白SOQ1能够通过直接或间接修饰LCNP来负调控qH的发生(Brooks等2013)。李梅和Malnoë研究组解析了SOQ1的三维结构, 发现SOQ1除了拥有基质侧的HAD结构与囊腔侧Trx-like结构域和NHL结构域, 还有一个囊腔侧的CTD结构域。SOQ1囊腔侧3个结构域感受囊腔中氧化还原变化, 并把还原力传递给下游靶蛋白, 从而负调控qH (Yu等2022)。

6.2 光保护基因的激活机制

当植物暴露在强光环境中, 陆生植物中PsbS作为效应器控制着qE发生, 而绿藻中的qE被PsbS和LHCSR共同控制。我们把编码这两种光保护蛋白的基因称为光保护基因或qE基因。为了适应环境中多变的光照条件, 除了在叶绿体中的qE激活和弛豫机制, qE基因的表达也受到光照的严格调控(Lu等2022)。这种多层次的调控机制有助于平衡植物光能的高效利用与光合机构的保护。近年来在qE基因表达的信号转导调节方面取得了较大进展。

当绿藻暴露在高光环境中, 蓝光受体PHOT感知蓝光, 通过它的激酶结构域启动信号级联反应诱导qE基因表达。在黑暗条件下, DET1、DDB1与CULLIN 4 (CUL4)一起形成E3泛素连接酶复合物(CUL4-DDB1^{DET1})来充当中心介质, 直接泛素化并降解下游转录因子, 从而抑制qE基因表达。在高光条件下, PHOT产生的信号抑制CUL4-DDB1^{DET1}的活性来促进下游转录因子的积累, 从而开启qE基因的表达。另外, 叶绿体光合作用产生的信号和其他未知的高光信号也能够抑制DET1活性, 防止下游转录因子被降解, 从而正调控qE基因的表达 (Aihara等2019)。

在绿藻中, 紫外光受体UVR8感知阳光中的紫外辐射, 抑制下游E3泛素连接酶(SPA1-COP1)活性, 从而防止CONSTANS (CO)转录因子降解, CO激活*qE*基因表达。当没有紫外时, SPA1-COP1泛素连接酶的活性恢复, 降解下游CO, 最终负调控*qE*基因表达 (Gabilly等2019; Tokutsu等2019)。

在维管植物中, *qE*基因表达调控的相关研究较少。在水稻中的研究发现, OsbZIP72和OsMYBS2在*OsPsbSI*的转录调节中起拮抗作用。在高光环境下, 脱落酸水平升高, SnRK2型蛋白激酶被激活, 进一步诱导OsbZIP72表达, 随后与*OsPsbSI*启动子中的顺式调控元件“GACAGGTG”结合并激活*OsPsbSI*的表达; 同时, 高光条件下GF14 (14-3-3蛋白)表达增加, 与细胞质中的OsMYBS2相互作用并增加了其滞留在细胞质中的可能性, 降低了细胞核中OsMYBS2的含量, 减轻了对核内*OsPsbSI*表达的抑制。在弱光条件下, 细胞质中较低的GF14表达有利于OsMYBS2进入到细胞核, 并且随着叶片中脱落酸含量的降低, SAPK1和OsbZIP72的活性降低, 两者共同导致*OsPsbSI*表达降低(Fu等2021)。

6.3 PSII的损伤修复

PSII在吸收光能同时会不可避免地造成自己的损伤。为了光合作用的可持续进行, PSII会发生快速的损伤修复, 主要是通过新合成的D1蛋白替换PSII反应中心中光损伤的D1蛋白, 期间会发生PSII-LHCII超级复合体的解离与PSII的再组装(Lu 2016)。植物主要在叶绿体基因翻译和翻译后水平调控该过程。近期, 国外科学家发现PSII修复与D1蛋白翻译是一个高度偶联的过程。光损伤的PSII可以作为一个信号来源, 驱动HCF244/OHP1/OHP2复合体去开启D1蛋白的从头合成过程, 最终使D1蛋白从头合成与PSII修复同步进行(Chotewutmontri和Barkan 2020)。此外, 在蓝藻中发现, 高光还会诱导叶绿体翻译延伸因子EF-Tu表达, 从而增强叶绿体基因的合成效率最终加强PSII修复速率(Jimbo等2019)。

在翻译后水平上的PSII损伤修复是一个十分复杂的过程, 需要许多蛋白与辅因子协同完成。我国科学家发现了一个陆生植物特有的PSII修复因子HHL1, 它与PSII核心天线CP43和CP47相互作用,

并与修复因子LQY1协同高光下PSII的修复与再组装(Jin等2014; Lu等2011)。此外, MPH1是另一个近年来新发现的PSII修复因子, 它参与PSII单体复合体的解离, 同时促进形成有功能的PSII超级复合体(Liu和Last 2017)。我国科学家首次鉴定到了人们长期以来寻找的参与PSII中光损伤D1降解的叶绿素降解酶。研究发现, 叶绿素酶CLH1在PSII修复循环中, 与PSII单体和CP43缺失的PSII相互作用, 催化叶绿素的脱植基反应, 释放结合在D1上的叶绿素, 并协助金属蛋白酶FtsH降解光损伤的D1 (Tian等2021)。近年来在绿藻中发现, 红素氧还蛋白RBD1与细胞色素b559协同参与保护PSII损伤修复中间体, 从而调控PSII组装和修复(Garcia-Cerdan等2019)。Psb27是一个十分重要的PSII修复因子, 参与了高光、低温或快速变光等胁迫条件下PSII高效组装与修复, 然而Psb27参与PSII组装与修复的工作机制却长期没有得到解决。我国科学家解析了嗜热蓝藻Psb27-PSII中间复合体的三维结构, 发现Psb27通过与CP43结合到中间复合体上, 结合的Psb27与锰簇稳定蛋白PsbO发生竞争作用, 从而阻止了PsbO和PsbU与PSII复合体在水裂解催化中心锰簇组装前过早地结合(Huang等2021a)。

6.4 光合作用与环境适应

光合作用是对环境变化最敏感的生理过程之一。为了在复杂多变的环境中保持高效的光合作用, 植物也演化出了一系列复杂的机制去平衡光合作用与逆境抗性(Zhang等2020b)。近年, 作物中第一个水稻温度感受器TT3.1被报道。高温条件下, 水稻叶绿体定位蛋白TT3.2会诱导叶绿体损伤。当受到高温胁迫时, TT3.1从细胞膜移运到多囊泡, 并招募未进入叶绿体的TT3.2前体蛋白到多囊泡并被降解, 从而减轻高温胁迫下TT3.2对叶绿体的损伤。而敲除TT3.2或过表达TT3.1均能够保护叶绿体免受高温损伤, 并增强高温胁迫下叶绿体中光系统稳定性(Zhang等2022b)。我国科学家发现, 叶绿体合成的维生素E能够通过SAL1-PAP叶绿体逆行信号通路, 调节细胞核内RNA外切酶XRN2的活性, 从而调节miRNA的生成, 最终影响植物热胁迫响应(Fang等2018)。此外, 我国科学家发现, 高温条件下, 叶绿体被膜蛋白FtsH11降解ATP合酶组装因

子BFA3, 从而下调叶绿体ATP合酶含量, 减少类囊体膜中质子外流以维持 ΔpH , 最终保持高温下光合作用活性(Yue等2022)。

叶绿体在植物抗旱响应中也发挥了十分重要的作用。保卫细胞中, 叶绿体蛋白THF1和HCF106共同调节PSII活性, 介导活性氧积累, 最终负调控植物对干旱的耐受能力(Wang等2016)。叶绿体蛋白PPD5与调节气孔开度的激酶OST1/SnRK2.6相互作用, 并以依赖于OST1的方式负调控植物干旱应答(Hong等2020)。

7 光合作用与农业

7.1 改良冠层光合效率是提高产量的可行途径

光合作用是作物产量形成的基础。对于 C_3 和 C_4 作物, 光能利用效率最大值在4.6%和6.0% (Zhu等2008), 而当前主要作物光能利用效率一般仅有理论最大值的30%左右, 提高光能利用效率是提高作物产量的重要途径(Zhu等2010)。

要有效利用提高光能利用效率以提高产量, 其关键是提高冠层光合效率(Zhu等2012)。我国科学家先前对于光合作用与产量关系的研究中存在的冲突缘起于研究的是叶片或者更小尺度, 而不是冠层尺度。冠层光合效率与作物生物量及产量存在明显的正相关(Song等2022)。冠层光合作用是地上部分所有光合器官的光合效率的总和, 其不仅受叶片光合特性的影响, 而且受到冠层内部光、温、 CO_2 等微环境的影响(Zhu等2012)。过去10年来, 利用光合作用系统生物学研究, 建立了多尺度光合系统模型, 尤其是建立了冠层光合模型(Song等2013, 2017; Xiao等2017a), 实现了对改变叶片光系统或光合代谢的特定蛋白及冠层结构参数对于冠层光合效率的定量预测(Song等2017)。利用模型, 可以解析特定品种间或者处理间的冠层光合差异的决定因子(Chang等2019b)、设计特定植物的最佳栽种方式(Wang等2015)及设计光合系统改造的最佳策略(Song等2017, 2016a)。在大田适用的冠层光合速率的测量系统目前已经发展成熟, 可以实现对大田作物冠层光合的连续、不间断、实时检测。该策略目前已经被用于解析主要作物如水稻、小麦等的冠层光合控制因素及理想株型设计

(Song等2022; Chang等2022)。

7.2 改良光合效率的主要研究进展

过去10年来, 植物高光效改良研究取得重要进展。这得益于光合作用系统生物学的发展, 即建立光合作用系统模型, 进而利用敏感性分析及优化算法, 鉴定可以提高光能利用效率的关键位点, 进而开展转基因验证。利用该途径鉴定出了一系列提高光能利用效率的新途径, 并为光合作用基础研究提供了重大推动力(Long等2015; Ort等2015)。

7.2.1 Rubisco优化及活化

Rubisco动力学参数的优化是不增加蛋白但是提高光合效率的有效途径(Zhu等2004a)。自然界Rubisco的结构及动力学参数自然变异大, 鉴定其中优异氨基酸位点可以为未来基因编辑提供靶点(Orr和Alcântara 2016)。近年来, 利用自然界Rubisco的自然变异, 创造杂合RubisCO的结果表明, 这可能是优化动力学参数的一条可行路径。在杂交稻中表达高粱Rubisco小亚基替代水稻Rubisco小亚基可以提高其催化数(Matsumura等2020)。在玉米中过表达Rubisco组装因子RAF1可以提高叶片Rubisco含量, 提高玉米光合速率及生物量(Salles-Smith等2018); 在烟草中, 过量表达*Halothobacillus neapolitanus*的Rubisco大亚基及小亚基, 使得催化活力增加了2倍(Chen等2022)。RAF1在羧酶体中可以辅助Rubisco组装(Huang等2020), 并协助完成羧酶体组装(Chen等2022)。Rubisco活化酶的抗热性, 有利于维持在高温环境下的Rubisco活性及光合效率(Kurek等2007)。Rubisco催化 CO_2 固定需要 Mg^{2+} 协助, 增加叶绿体被膜上的 Mg^{2+} 编码转运蛋白的*OsMGT3*的表达, 提高叶绿体内 Mg^{2+} 含量, 有利于提高光合Rubisco活性及光合 CO_2 固定(Li等2020)。

7.2.2 增加RuBP合成速度

在卡尔文-本森循环中, 除了Rubisco可以限制 CO_2 固定速度外, 提高卡尔文-本森循环中限制1,5-二磷酸核酮糖(RuBP)合成速率的景天庚酮糖-1,7-二磷酸酯酶(SBPase)也可以有效提高光能利用效率(Simkin等2017a, 2015; Zhu等2007)。要实现RuBP再生最大化, 不能仅仅靠增加卡尔文-本森循环中的酶含量, 还需要平衡分配卡尔文-本森循环中反

应的蛋白含量,使得卡尔文-本森循环中的代谢流呈现均衡分布,提高光合效率(Zhao等2020a)。同时提高植物来源的SBPase和来源于红藻的细胞色素 c_6 则进一步提高了叶片光合及生物量(López-Calcano等2020)。

7.2.3 改良光呼吸通路

在当前的 CO_2 浓度下,光呼吸可以使光合效率降低30% (Zhu等2008)。建立光呼吸支路可以降低光呼吸释放的 CO_2 ,并减少铵根重固定需要的ATP消耗,进而提高光能利用效率(Xin等2015)。在烟草中,构建乙醇酸酯代谢途径可提高光合速率及生物量(South等2019);在水稻中,过表达乙醇酸氧化酶、草酸氧化酶及过氧化氢酶以构建光呼吸支路,实现了光合、生物量及产量的增加;尤其在早稻中,这条通路的效果更加明显(Shen等2019a)。即便不引入光呼吸支路,仅仅过表达光呼吸通路中的甘氨酸脱羧酶的H亚基,在拟南芥中也实现了对光合及生物量的提高,暗示该蛋白对卡尔文-本森循环的酶有负反馈(Timm等2012)。

7.2.4 改良光反应效率

通过改造光合光反应,也可以有效提高光能利用效率。提高光合电子传递链中细胞色素 b_6f 中的Rieske铁硫蛋白表达,可以提高 C_3 模式植物拟南芥及 C_4 模式植物狐尾草的叶片光合(Ermakova等2019; Simkin等2017b)。在拟南芥及水稻中,过表达miR-NA408可以增加叶绿体中铜离子含量,增加质体蓝素含量,增加光合 CO_2 固定(Pan等2018a)。在光反应中,D1蛋白由于半衰期仅仅有12 h左右(Edelman和Mattoo 2006),因此,D1蛋白含量是光合效率的限制因子。在 C_3 植物中,在核基因中表达D1蛋白进而转运到叶绿体中,可以提高植物在逆境(比如热胁迫)下的光合速率(Chen等2020a)。

7.2.5 优化光保护机制

由于冠层中光线具有波动性,优化光能的热耗散的形成及淬灭速度成为提高光能利用效率的重要途径(Long等2015; Zhu等2004b)。目前,通过同时过量表达紫黄质脱环氧化酶、玉米黄质环氧化酶及PsbS蛋白,在烟草、大豆中加快了NPQ的形成及淬灭,并提高光合和生物量(De Souza等2022; Kromdijk等2016),而在土豆、拟南芥中尽管NPQ的

动态已经实现,但没有实现对光合效率及生物量的改良(Lehretz等2022; Garcia-Molina和Leister 2020)。

7.2.6 C_3 作物的 C_4 改造

将 C_3 作物改造成为 C_4 作物也是提高光能、水分及氮素利用效率的重要途径。 C_4 高光效需要两类细胞中的物质及能量代谢高度协调(Stitt和Zhu 2014);尤其需要PEPCK与NADP-苹果酸酶或NAD-苹果酸酶协作,从而实现在动态光环境下的光合高效(Wang等2014a)。同时,要维持 C_4 高光效,需要维管束鞘细胞维持高度氧化状态,而叶肉细胞中则维持高浓度3-磷酸甘油酸含量(Zhao等2022a)。在水稻中,目前已经将 C_4 代谢相关的酶过量表达,但是没有实现 C_4 代谢流(Ermakova等2021)。

鉴于 C_4 光合进化于 C_3 光合,阐明 C_4 进化历程进而重现 C_4 也是 C_4 改造的重要策略。通过比较转录组及转基因验证方法,研究发现Golden 2-like可以激活维管束鞘细胞,从而使得 C_3 叶片呈现 C_3 - C_4 中间体的细胞学特征(Wang等2017b)。一系列控制叶脉密度的转录因子目前也被克隆出来(Lo等2022),但目前尚没有鉴定出可以实现对叶脉密度稳定增加的调控因子。针对 C_4 光合酶的调控机制研究在过去10年得到极大发展。尤其是借力于系统生物学研究方法,在转录调控机制、表观遗传机制方面都鉴定出大量的潜在调控通路及调控因子(Burgess等2016; Dai等2022)。

7.2.7 提高叶肉导度

提高 CO_2 从大气扩散到Rubisco周边的速率,即提高叶肉导度,是提高光合效率而不损失水分利用效率的重要策略(Gago等2020)。细胞壁与叶绿体被膜的阻力大小是决定叶肉导度大小的关键因子(Tholen和Zhu 2011)。由于叶绿素基质中的 HCO_3^- 含量比细胞质高近5倍,降低叶绿体被膜对 HCO_3^- 的透性有利于提高叶肉导度;增加叶绿体中的碳酸酐酶活性也有利于提高叶肉导度(Tholen和Zhu 2011)。在叶肉细胞中,线粒体在叶绿体内侧而非外侧分布可以增加 CO_2 固定,提高叶肉导度(Xiao和Zhu 2017);研究表明,这种细胞结构在水稻叶片中广泛存在,对水稻叶片光合高光效有重要贡献(Sage和Sage 2009)。叶片结构变异巨大;改变叶片内部的细胞大小、排列方式、空隙大小也是改变叶肉导

度进而提高叶片光合的重要策略(Xiao等2022; Tholen等2012; Giuliani等2013)。改变水孔蛋白、碳酸酐酶等都直接影响叶肉导度(Huang等2021b)。

7.2.8 优化气孔导度

气孔形态、分布及其开度的动态变化影响叶片光能及水分利用效率(Wang等2022b; Lawson和Blatt 2014)。利用光遗传学方法, 过量表达一个光控 K^+ 通道蛋白(BLINK1), 加快气孔开关速度, 大幅度提高了在闪光下的生物量及水分利用效率(Papanatsiou等2019)。在水稻中过量表达一个液泡膜 Na^+-H^+ 反向转运蛋白, 提高气孔开关速度, 提高了水稻抗旱性(Qu等2020b)。在气孔质膜上过表达 $H^+-ATPase$ 加速光诱导的气孔开放速度, 提高光合效率(Wang等2014b), 提高营养吸收及水稻产量(Zhang等2021a)。在 C_4 进化中, STOMAGEN表达量的降低使得 C_4 植物气孔密度降低, 提高了水分利用效率, 在 C_4 进化中起到重要作用(Zhao等2022a)。

7.2.9 鉴定控制光合效率的关键调控因子

作物中叶片光合效率存在巨大自然变异(Qu等2017; Driever等2014), 克隆并利用与光合相关的QTL也是提高光能利用效率的重要途径。利用这种思路, 在水稻(Teng等2004; Sun等2019a; Gu等2012)、向日葵(Hervé等2001)、大豆(Li等2016; Yang等2022)、小麦(Xu等2017)中都进行了光合效率相关参数的QTL克隆; 但是其基因鉴定研究进展较慢。在利用遗传学方法研究水稻氮高效时, *GRF4*基因被发现可以同时促进氮素吸收、同化和转运, 并促进光合作用、糖类物质代谢及转运, 进而提高产量(Li等2018b)。利用系统生物学或者网络生物学方法鉴定控制光合作用的关键因子, 进而利用转基因方法验证也可以用于筛选调控光合效率的关键因子。利用此方法, 研究发现转录因子EmBP1可以结合多个光合关键基因, 提高其表达量并提高光合效率(Perveen等2020; Yu等2014)。基于玉米幼叶分段转录组数据, 结合低氮响应、光诱导等性状, 研究发现OsDREB1C可以激活光合基因表达, 提高水稻生物量及产量(Wei等2022)。这些都表明, 利用正向及反向遗传方法是未来大规模鉴定控制光合效率关键因子的重要途径。

7.2.10 降低呼吸速率

近年来, 研究发现降低光合同化物的呼吸消耗也是增加生物量的重要途径(Joshi等2023)。降低蛋白降解及蛋白合成的能量消耗, 可以降低呼吸速率(Joshi等2023); 改变生物质的组分, 也是改变呼吸速率的重要因素(Bender等2022)。针对夜间呼吸速率的全基因组关联分析研究表明, LRK1是控制水稻夜间呼吸速率的重要调控因子(Qu等2020a)。

7.2.11 优化株型并提高冠层光合效率

在绿色革命中, 赤霉素响应调控因子突变导致半矮秆株型是作物产量得以提升的关键(Peng等1999); 进一步挖掘新的优化株型的优异基因对于未来作物高产高光效育种至关重要。研究发现, 在水稻中, *IPA*、*NAL1*等基因一方面控制水稻株型, 同时也是杂种优势关键基因(Huang等2016b; Wang和Li 2008; Wang等2017a), 是重要育种靶点。在玉米中, *UPA1*和*UPA2*基因则控制直立叶型(Tian等2019), 有利于提高种植密度进而提高冠层光合效率, 也是冠层光合改良的重要靶点。

7.3 利用光合表型组平台及基因组变异, 挖掘控制光合效率的优异遗传变异, 支撑作物高光效改良

随着基因编辑技术在越来越多的国家得到许可用于改造作物, 加快有重要育种应用价值的基因挖掘成为当前作物学研究的焦点, 鉴定控制光能利用效率的关键遗传变异(或称分子模块)也成为当前高光效研究的重要方向。一方面我们需要系统研究有利于提高光合效率的基因的序列变异, 鉴定出相关基因的优异变异。比如, 鉴于过量表达SBPase可以提高光合效率, 可以通过分析SBPase的启动子区域以鉴定控制其表达量的顺式作用元件。其次, 可以针对光合效率关键参数进行全基因组关联分析, 鉴定控制光合效率的全新基因; 光合效率受环境因子影响巨大, 因此, 大规模系统地开展光合效率控制基因的挖掘非常依赖于田间光合的快速、高效、准确测量。为此, 需要发展适于田间测量光合效率相关参数的作物光合表型组平台(Theeuwens等2022)。作物高光效改良将极大地受益于系统模型、光合表型及基因组信息的有机结

合, 从而实现对特定作物、特定环境下的光能利用效率的理性设计及优化改造(Chang等2019a)。

8 光合作用与合成生物学

合成生物学是在工程学思想指导下, 整合系统生物学、基因工程、机械工程、信息论、物理学、纳米技术及计算机等技术, 通过重新设计已有天然系统或创造新的生物部件、装置, 建立标准化的元件库, 实现自上而下的“改造生命”——赋予活细胞新的功能, 甚至自下而上的“创造生命”——构建人工细胞(Schwille 2011)。自20世纪60年代这一概念提出以来, 随着DNA合成及组装、基因编辑(CRISPR/Cas)、生物信息学、定向进化等相关技术的日趋成熟, 合成生物学为农业、能源、制造业及医学等领域的进步带来巨大推动力。2020年9月22日, 国家主席习近平在第七十五届联合国大会上宣布, 中国力争2030年前CO₂排放力达到峰值, 努力争取2060年前实现碳中和目标。每年经由光合作用约有2 580亿吨CO₂被固定为有机物, 而合成生物学的快速发展则赋予了光合作用效率提升、CO₂转化和利用的无限可能。

8.1 模式光合底盘

集胞藻属和聚球藻属是代表性的原核蓝细菌底盘, 具有生长速度相对较快、易于基因操作等特点。其中集胞藻6803 (*Synechocystis* sp. PCC 6803) 和聚球藻7942 (*Synechococcus elongatus* PCC 7942) 分别在1996年(Kaneko等1996)及2007年(Sugita等2007)已经完成基因组测序, 随着遗传操作工具的日益丰富, 成为科学研究的主要底盘。近年来, 新型底盘不断涌现, 其快速生长、耐受高温高光等胁迫的特性为合成生物学提供了更多选择。其中, 聚球藻2973 (*Synechococcus elongatus* UTEX 2973)最短倍增时间可达1.5 h, 可耐受42°C高温及1 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光, 半连续培养可以获得23.4 g (DCW)·L⁻¹的生物量积累 (Ungerer等2018)。此外, Jaiswal等(2018, 2020)发现了2株较为相近的蓝细菌-聚球藻 11801 (*Synechococcus elongatus* PCC 11801) 及11802。二者均可耐受1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光且最短倍增时间在2~3 h。有趣的是, 聚球藻11801可在空气CO₂浓度下快速生长。2022年, 海洋聚球藻

11901 (*Synechococcus* sp. PCC 11901)被鉴定并表征, 其最短加倍时间为2.1 h, 可耐高温(43°C)、高光[600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$]及高盐(Włodarczyk等2020)。更重要的是, 聚球藻11901干重积累可达到32.6 g (DCW)·L⁻¹, 是迄今为止蓝细菌的最高记录。

相比原核底盘, 真核光合生物较难进行遗传操作, 合成生物学主要围绕若干模式底盘开展。其中, 莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)作为单细胞绿藻, 倍增时间为6~8 h, 在乙酸异养情况下最高干重可达40~80 g·L⁻¹。由于相对易于培养和基因操作操纵, 可以光自养生长及利用有机碳进行异养, 是真核微藻用于合成生物学的代表性底盘。植物由于生长周期较长, 遗传操作难度较大, 合成生物学研究主要在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)中开展。

8.2 光合生物改造关键技术

遗传操作工具是合成生物学实现人工操作的媒介。表达载体、启动子、核糖体结合位点序列、核糖开关、CRISPR/Cas系统、小RNA调控工具和基因组尺度建模策略、人工智能等, 近10年在若干光合底盘中逐步被建立、完善, 成功应用于基因转移、表达、控制和功能解析、代谢模拟及重建等。载体、启动子及核糖开关等是遗传改造的基础, 其类别在过去10年中日益完善(Sun等2018)。其中值得一提的是, Zhou等(2014)在集胞藻6803中鉴定到了一个超强启动子Pcpc560, 该启动子驱动的基因表达的蛋白量可占总可溶蛋白的15% (Zhou等2014), 该启动子被各研究团队广泛用于表达异源基因(Chen等2016; Gao等2016; Liu等2019), 推动了蓝细菌中代谢工程的工作。此外, 在快速生长的聚球藻2973被鉴定后, Li等(2018a)在其中建立了完整的基因操作和调控系统, 为推动其进一步研究奠定了基础。对于真核微藻及植物等较难进行遗传操作的光合底盘而言, 基因编辑组技术的开发和应用使得在其中开展合成生物学工作成为可能。Ferenczi等(2017)借助CpfI及单链DNA在莱茵衣藻中实现了基因编辑, 效率约为10%。同时, 植物基因编辑技术的开发显著促进了植物底盘的改造(Hu和Gao 2023; Jin等2022; Zong等2022)。

相比单个或少数几个基因的操作或控制, 转

座子技术及基因组编辑技术使得构建基因组尺度的突变体库成为可能,从而推动光合底盘中系统生物学的研究。Li等(2019)利用随机插入的方式将携带有特定序列的DNA片段插入到莱茵衣藻的基因组中,结合多种自动化技术和高通量测序技术建立了覆盖率约83%的编码蛋白质的核基因的莱茵衣藻突变体库,通过筛选发现了光合作用所需的300多个候选基因,该突变体库为各研究团队研究细胞水平的植物代谢、胁迫反应、表观遗传等多个过程提供了支撑。Yao等(2020)建立了集胞藻6803基因组尺度的可诱导的CRISPRi基因抑制(CRISPR interference)文库,鉴定了与节律、乳酸耐受等生理过程、胁迫响应的多个关键基因。除实验技术外,基于计算机模拟的通量平衡分析(Flux balance analysis, FBA)或 ^{13}C 代谢通量分析同样提供了基因组尺度的代谢网络模型,从而为光合底盘的代谢重构提供预测。例如, Broddrick等(2016)首先利用转座子突变技术分析了聚球藻7942中的全部必需基因,随后建立了基因组尺度的代谢模型,发现了包括截断的三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA cycle)通路等在内的独特的代谢特征,并为后续代谢设计打下了基础。同年, Gao等(2016)人将 ^{13}C 代谢通量分析与合成生物学结合,分析合成异戊二烯的集胞藻6803工程菌代谢特点并获得了优化策略。由于植物发育时间尺度和生长环境的原因,代谢网络相对较为复杂,基因组尺度的模型相对较少(Mintz-Oron等2012),科研人员因此集中于叶片光合作用、 CO_2 固定、氮代谢等重要过程的模型构建。近期, Xiao等(2023)通过构建水稻叶片光合的机理模型eLeaf,解析了高 CO_2 下生长的水稻光合速率变化背后的结构改变的贡献,代表了光合作用系统生物学研究的重要进展。

8.3 光合作用驱动的 CO_2 转化

由于光合底盘能够高效率的捕捉太阳能并固定 CO_2 的特性,应用合成生物学技术开发其作为“光驱动的自养型细胞工厂”生产生物燃料和化学品的研究引起广泛的关注。随着我国“双碳”目标的提出,基于光合作用的 CO_2 生物转化研究愈发火热。2009年,美国研究团队在聚球藻7942中实现了 CO_2 到异丁醇和异丁醇的转化(Atsumi等2009),引领

了 CO_2 转化为生物燃料和化学品这一研究方向,随后各种转化技术及产品如雨后春笋般出现。迄今为止,已有近百种燃料和化学品包括乙醇、正丁醇、乙烯、3-羟基丁酸、虾青素及肌醇等的生物合成途径得以在多个光合底盘如聚球藻7942及2973、集胞藻6803等中构建表达(Jaiswal等2022; Luan和Lu 2018; Tan等2022),实现了从 CO_2 到这些产品的绿色生物制造,为社会的可持续发展提供了新的思路。Gao等(2012)在集胞藻6803中系统优化了乙醇的合成途径,实现了 $5.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的产量,该产量至今仍是文献报道最高产量。Shota Atsumi团队长期致力于光合底盘中2,3-丁二醇的合成(Oliver等2013); 2017年,该团队全面解析了聚球藻7942有机、无机碳代谢规律及调控机制,实现了混碳培养下 $12.6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的2,3-丁二醇产量(Kanno等2017)。除液体产品外,光合底盘还可用于气体产品的合成。Xiong等(2015)证实了集胞藻6803工程菌中三羧酸循环可用于乙烯的高效合成,产物可占到固碳总量的10%。光合底盘同样被用于营养品的绿色制造。Diao等(2020)用集胞藻6803作为底盘在10 d内获得了 $29.6\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)的虾青素产率,该产率甚至高于大肠杆菌[$15\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)]和酿酒酵母[$13.8\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)],为目前报道最高。近期, Sun等(2023)以快速生长的聚球藻2973为底盘,开发了基于产物感应驱动的自动调控系统,实现生长与生产的分离,大幅提升了肌醇产量。随着研究深入, CO_2 转化不再局限于单一光合底盘,多菌共培养体系体现出更大优势。近期, Li等(2023a)以可合成并分泌蔗糖的聚球藻7942作为碳固定模块,需钠弧菌(*Vibrio natriegens*)利用蔗糖进行生长同时将其高效的转化为多种化学品,为 CO_2 转化提供了新思路。

8.4 合成生物学在植物中的应用

植物将光能转化为生物量的效率仅为约1%左右,其光合作用效率还有很大的提升空间。此外,农作物抗逆能力、产量、营养成分等均关乎我们的粮食安全及人身健康。植物合成生物学作为一个新兴领域(Liu和Stewart 2015; Wurtzel等2019),近年来在传统作物改良、创新产品功能等方面发挥着越来越重要的作用。提高植物的光合效率是实现作物高产的有效手段。Lin等(2014)通过将烟草

内源的编码核酮糖1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Ru-bisco)基因敲除并替换为聚球藻7942的相关基因,转基因烟草的光合效率及生长速度得到大幅度改善,生物量明显提高。Li等(2022c)通过基因组编辑技术将与白粉病抗性相关的基因引入到优质小麦品种中,为开发具有强大和持久抗病性的高产作物品种提供了新的思路。作为主粮之一的大米,进一步丰富其营养成分未来有利于促进健康。早在2005年, Paine等(2005)通过将胡萝卜素转化酶系统转入到大米胚乳后获得富含胡萝卜素和维生素A的“黄金大米”。受该工作启发, Zhu等(2018)通过合成生物学技术将4种外源基因转入水稻胚乳中,使其能够从头生物合成虾青素,为植物合成生物学和作物产品改良提供了范例,随着相关法律政策的完善或可有朝一日丰富人们的膳食选择。

8.5 光合系统的人工设计与异源重构

异养微生物如大肠杆菌、酿酒酵母、谷氨酸棒杆菌等,可利用有机碳源进行快速生长和分裂,并可大量合成外源化学品,因此成为工业发酵的首选。即便如此,如若能够减少有机碳源的使用,将进一步减少成本提升效益。因此,在异养微生物中构建人工光合、固碳系统使其具备固定及转化CO₂的能力在近几年成为研究热点。Chen等(2018a)将12个外源基因转入大肠杆菌中,实现了内源卟啉IX到叶绿素a的转化,该工作证实了异源合成叶绿素所需的最低基因组合,并为异养模式生物的光合作用工程打下基础。即便如此,完整的光合系统涉及众多基因及复杂的蛋白复合物,短时间内难以在异养微生物中完整重构;相比之下,碳固定主要依赖卡尔文循环,围绕异养微生物碳固定近几年已有多个研究工作取得了突破性进展。Antonovsky等(2016)通过理性的代谢重组、Rubisco相关基因表达和实验室相结合,率先在大肠杆菌中实现了CO₂到葡萄糖的合成,推动了该领域后续不断深入的研究工作。羧酶体是原核光合微生物中碳固定的场所,通过碳浓缩机制提升CO₂的局部浓度从而抑制Rubisco的加氧酶活性,因此在异养微生物中构建有功能的羧酶体有可能进一步提升固碳效率。对此, Bonacci等(2012)在大肠杆菌中首次组装出了与原生宿主相似的具有二十面体结构特征

的羧酶体复合物,虽不具备碳浓缩功能但为理解这些复杂的蛋白质复合物和自组装分子结构的合成生物工程奠定了基础。Flamholz等(2020)进一步优化了大肠杆菌中的羧酶体相关基因组合,通过表达20个相关基因实现了工程菌可在空气CO₂浓度下的存活,间接证实其羧酶体有可能已具备碳浓缩功能,为未来构建可自养的异养微生物迈出了重要一步。

9 光合产氢与人工光合作用

9.1 光合产氢

光合产氢是发生在光合微生物体内将光生电子和质子转化为氢气的光化学过程,是具有长远潜力的绿氢生产技术之一。目前研究者已在多种光合细菌、蓝藻以及绿藻中鉴定和验证了不同的产氢途径,其共同特征是胞内含可直接催化质子还原反应的酶(Monga等2023),其中光合细菌产氢主要采用固氮酶产氢,虽然也有氢酶和可逆氢酶表达并参与氢代谢;蓝藻则采用氢酶,部分蓝藻可以生成异形胞,进而通过固氮酶产氢;绿藻则主要采用氢酶途径。

光合细菌产氢主要以光发酵形式进行,细胞通过3个阶段实现光能到氢能的转化。第一阶段,光合细菌通过捕光蛋白(light-harvester, LH)和反应中心(reaction center, RC)吸收转化太阳能,裂解电子供体H₂S、乙酸盐等小分子物质产生激发态的光生电子。电子在光合电子传递链中逐步运输,最终由铁氧还蛋白(ferredoxin, Fd)及细胞色素(cytochrome, Cyt)分子传递给ATP合酶产生ATP,完成光合磷酸化过程。第二阶段,光合细菌以小分子有机酸,例如乳酸、丙酸、琥珀酸、乙酸和丁酸等为底物,经TCA循环分解反应产生游离氢质子。第三阶段,胞内的固氮酶接受Fd运送的电子,在ATP提供能量下还原游离氢质子,最终产生氢气。这是光合细菌中主导的光合产氢途径,它以乙酸等为物质来源,借助光合磷酸化提供能量,由固氮酶产生氢气(Takeuchi和Numata 2019)。

同样,借助光合磷酸化和固氮酶产氢的还有固氮蓝藻。作为产氧光合生物,蓝藻光能产氢途径不可避免受到氧气抑制。一部分蓝藻通过分化形

成异形胞的方式为光产氢代谢提供相对厌氧的保护环境,如鱼腥藻属(*Anabaena*) (Giri等2022)。另一些蓝藻借助昼夜节律将光反应的产氧过程与固氮酶产氢代谢隔离开,例如蓝杆藻属(*Cyanothece*) (Bandyopadhyay等2010)。与光合细菌类似,异形胞蓝藻产氢以固氮酶产氢代谢为主,但底物来源是蓝藻淀粉(glycogen),由与其相邻的营养细胞通过光合作用积累并传输。蓝藻固氮产氢的能量来源是围绕PSI的光合磷酸化过程,这为固氮酶还原 N_2 和氢质子提供了大量ATP。此外,非固氮蓝藻产氢是通过氢化酶完成,叫做双向氢酶,属于[Ni-Fe]系列的氢化酶。该酶对氧气耐受度高于固氮酶以及绿藻中铁氢化酶,但产氢活性较低,因此并未成为蓝藻活体细胞产氢主要途径(Tamagnini等2002; Kosourov等2021)。

与光合细菌和蓝藻不同,绿藻主要通过[Fe-Fe]氢化酶完成氢质子还原反应产氢。[Fe-Fe]氢化酶最大的优点在于它产氢速率高,在体外适宜条件下,可达约 10^4 个 $H_2 \cdot s^{-1}$,比[Ni-Fe]氢化酶高出近一个数量级(Redding等2022)。但[Fe-Fe]氢化酶对氧气极为敏感,0.2%的氧气就能降低其一半的活性。因此,如何降低细胞内的氧气含量是获得高光效产氢的关键。正常情况下,绿藻的光合产氧速率是呼吸耗氧速率的4~7倍,培养体系中细胞内的氧气相对较高。美国Melis等(2000)人在莱茵衣藻中通过缺硫培养,显著抑制PSII的损伤修复,从而有效降低细胞光合放氧活性,细胞借助呼吸作用逐渐达到低氧环境,最终氢酶得以表达并催化产氢。绿藻氢化酶在细胞内面临的另一个挑战是来自其他电子流对电子的争夺。来自光合电子传递链的电子更多被铁氧还蛋白-NADP⁺还原酶(ferredoxin-NADP⁺ reductase, FNR)接收,用于生产推动暗反应所需的NADPH。绿藻中的铁氢化酶与FNR具有共同的电子供体PetF蛋白,通过遗传改造,使PetF与FNR的亲合力显著降低,大量电子转而流向氢化酶,产氢量提高了5倍(Rumpel等2014)。近年来,学者们还发现了循环光合电子传递链的抑制也能显著提高绿藻的光合产氢能力。例如Hippler研究组发现PGR5和PGRL1的缺失突变体产氢能力比野生型高出5~10倍(Steinbeck等2015)。同时,我国科

学家筛选的PGR5缺失突变体*hpm91*的产氢能力获得了突破性的提升,在10 L规模的小试中,培养物产氢量高达8 000 mL,为目前国内外报道的最高水平,显著提升了绿藻光合产氢的应用开发潜力(Chen等2019)。这表明,对光合电子传递链进行优化和改造对于获得高光效生物产氢十分关键,也是未来研究的主流方向。综上,光合产氢是重要的光能代谢过程,随着研究者对该途径的深入探索,其光能转化的分子机制逐渐清晰,这不仅能够丰富光合作用电子传递调控理论,而且为光合产氢的规模化生产提供支撑。

9.2 人工光合作用

自然界光合生物的总体光能利用效率处于较低水平、同时其生长具有昼夜-季节的周期性,对培养环境要求苛刻,以上限制因素催生了人类对更加高效、持久和稳定的人工光合体系的研发需求。人工光合作用是人类效仿自然界光合作用,通过光催化材料在太阳光驱动下将水和CO₂转化为碳水化合物并释放氧气的过程。人工光合作用研究在过去几年已经取得了显著的突破,一方面得益于对天然光合作用运行机理理解的加深,另一方面得益于材料技术、光催化理论的完善。在低碳环保的时代背景下,目前人工光合作用是碳中和前沿技术开发的热点,相关研究更加广泛。

人工光合作用包含两个核心反应,分别是光驱动的水裂解反应和CO₂还原反应,依次对应天然光合作用中的光反应和暗反应。光裂解水制氢并生成氧气这一反应非常具有挑战性,一方面是因为它所需势垒较高,另一方面该反应属于多电子参与过程。在天然光合系统中,光裂解水是由光系统II (PSII)完成。PSII受激发后,形成较强的氧化还原电势,进而氧化水并生成氧气,同时提供电子和质子。PSII的光量子效率可以高达90%,显著高于现有的人造光解水体系。鉴于PSII的优点,中国科学院大连化学物理研究所李灿研究组通过采用基于PSII和人工无机光催化剂制氢体系在国际上率先实现了太阳光驱动的全分解水反应(Wang等2018b)。该体系通过两步法成功分解水分子,形成终端还原产物H₂,但并没有进一步偶联固碳反应。利用微流体技术将该研究组早期开发的CETCH碳

循环固定系统与菠菜叶绿体类囊体膜封装在一个微小的“人造叶绿体”内,实现了光能驱动高效裂解水和固定CO₂的功能(Miller等2020),引起了广泛关注。

虽然基于人工光催化材料的光解水体系不如PSII酶高效,但由于后者具有易受损和高度不稳定的特点,因此开发更优的无机光催化体系相关研究一直在持续。采用无机光催化体系提供电子,然后利用天然的固碳系统进行固碳这一组合方式被成功应用到了人工光合作用体系:2016年,科学家利用人工合成半导体硫化镉纳米粒子作为光催化剂将非自养细菌改造成光合细菌,并利用后者特有的Wood-Ljungdahl固碳途径合成乙酸。但在这篇开创性的工作中,美中不足的是研究人员并未使用水分子作为最初的电子供体,而是采用半胱氨酸(Sakimoto等2016)。值得一提的是,该研究组在结合光化学模块和固碳细菌的基础之上又进一步结合固氮菌,前者产生的乙酸被固氮菌吸收,成功实现固氮并生产高附加值产物-生物聚酯(Cestellos-Blanco等2022)。沿着这一路线,哈佛大学的Nocera研究组成功采用了水作为电子供体(Liu等2016),利用钴磷催化剂作为电化学阴极输出电子(电催化),结合-氢细菌-生物固碳体系实现大约10%的最高光能转化率,优于天然光合作用效率。

如上所述,真正意义上的人工光合作用,即全人工光裂解水和固碳体系,已有报道比较少,国外科学家近期发表了综述文章讨论了以水作为电子供体还原CO₂的相关工作(Yoshino等2022),其中重点介绍了单粒子光催化剂以及Z-scheme光催化体系,前者效率极低,后续发展会逐步受限;而效仿自然界光合作用原理的Z-scheme光催化体系则具有很多优点:包括面向全光谱增大光吸收截面,空间上将氧化反应和还原反应分开以及产物的分离等等,无论是光催化剂组合还是在应用设计上均存在较大的发展空间。目前,全人工光合体系能够生产的化学还原产物还比较单一,比如C1产物CO、甲醇以及甲酸等,而含有2个或2个以上碳的C2+的碳氢乃至碳水化合物的纯化学合成还极具挑战。

总之,自然界的光合体系在进化过程中受到环境条件、生命周期以及基因调控等多方面限制,

进化往往是非常保守的,而人工光合作用体系的建立,随着光催化理论,材料科学以及纳米科学的发展,有望获得超越自然,更加高效、稳定和产物多元化的太阳能利用方案。

10 结语

光合作用是植物学和生命科学研究永恒的重要科学问题,也是实现人工光合作用模拟的基础。多学科交叉融合和新技术的涌现无疑可以加速光合作用研究,提升我国光合作用领域研究的原始创新能力,基础理论上有助于阐明光合作用的国际前沿科学问题,应用实践上又可以帮助解决人类面临的日益严峻的粮食、能源、环境等问题。国家层面持续稳定的支持必将使我国的光合作用研究再续辉煌!

参考文献(References)

- Aihara Y, Fujimura-Kamada K, Yamasaki T, et al (2019). Algal photoprotection is regulated by the E3 ligase CUL4-DDB1 (DET1). *Nat Plants*, 5: 34–40
- Airs RL, Temperton B, Sambles C, et al (2014). Chlorophyll f and chlorophyll d are produced in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis fritschii* when cultured under natural light and near-infrared radiation. *FEBS Lett*, 588: 3770–3777
- Akita F, Nagao R, Kato K, et al (2020). Structure of a cyanobacterial photosystem I surrounded by octadecameric IsiA antenna proteins. *Commun Biol*, 3: 232
- Alvarez CE, Bovdilo A, Höppner A, et al (2019). Molecular adaptations of NADP-malic enzyme for its function in C4 photosynthesis in grasses. *Nat Plants*, 5: 755–765
- Amstutz CL, Fristedt R, Schultink A, et al (2020). An atypical short-chain dehydrogenase-reductase functions in the relaxation of photoprotective qH in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 6: 154–166
- Amunts A, Toporik H, Borovikova A, et al (2010). Structure determination and improved model of plant photosystem I. *J Biol Chem*, 285: 3478–3486
- Antonovsky N, Gleizer S, Noor E, et al (2016). Sugar synthesis from CO₂ in *Escherichia coli*. *Cell*, 166: 115–125
- Arp TB, Kistner-Morris J, Aji V, et al (2020). Quieting a noisy antenna reproduces photosynthetic light-harvesting spectra. *Science*, 368: 1490–1495
- Arrivault S, Obata T, Szczówka M, et al (2017). Metabolite pools and carbon flow during C4 photosynthesis in maize: ¹³CO₂ labeling kinetics and cell type fractionation. *J Exp Bot*, 68: 283–298

- Atsumi S, Higashide W, Liao JC (2009). Direct photosynthetic recycling of carbon dioxide to isobutyraldehyde. *Nat Biotechnol*, 27: 1177–1180
- Aubry S, Fankhauser N, Ovinnikov S, et al (2020). Pheophorbide a may regulate jasmonate signaling during dark-induced senescence. *Plant Physiol*, 182: 776–791
- Bandyopadhyay A, Stöckel J, Min HT, et al (2010). High rates of photobiological H₂ production by a cyanobacterium under aerobic conditions. *Nat Commun*, 1: 139
- Bédard J, Trösch R, Wu F, et al (2017). Suppressors of the chloroplast protein import mutant TIC40 reveal a genetic link between protein import and thylakoid biogenesis. *Plant Cell*, 29: 1726–1747
- Beltrán J, Kloss B, Hosler JP, et al (2015). Control of carotenoid biosynthesis through a heme-based *cis-trans* isomerase. *Nat Chem Biol*, 11: 598–605
- Bender ML, Zhu XG, Falkowski P, et al (2022). On the rate of phytoplankton respiration in the light. *Plant Physiol*, 190: 267–279
- Bloom AJ (2015). Photorespiration and nitrate assimilation: a major intersection between plant carbon and nitrogen. *Photosynth Res*, 123: 117–128
- Bloom AJ, Burger M, Salvador J, et al (2010). Carbon dioxide enrichment inhibits nitrate assimilation in wheat and *Arabidopsis*. *Science*, 328: 899–903
- Bonacci W, Teng PK, Afonso B, et al (2012). Modularity of a carbon-fixing protein organelle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 478–483
- Borghi GL, Arrivault S, Günther M, et al (2022). Metabolic profiles in C₃, C₃-C₄ intermediate, C₄-like, and C₄ species in the genus *Flaveria*. *J Exp Bot*, 73: 1581–1601
- Bovdilova A, Alexandre BM, Höppner A, et al (2019). Post-translational modification of the NADP-malic enzyme involved in C₄ photosynthesis modulates the enzymatic activity during the day. *Plant Cell*, 31: 2525–2539
- Britt RD, Marchiori DA (2019). Photosystem II, poised for O₂ formation. *Science*, 366 (6463): 305–306
- Broddrick, JT, Rubin, BE, Welkie, DG, et al (2016). Unique attributes of cyanobacterial metabolism revealed by improved genome-scale metabolic modeling and essential gene analysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113: E8344–E8353
- Brooks MD, Sylak-Glassman EJ, Fleming GR, et al (2013). A thioredoxin-like/ β -propeller protein maintains the efficiency of light harvesting in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: E2733–E2740
- Brzezowski P, Richter AS, Grimm B (2015). Regulation and function of tetrapyrrole biosynthesis in plants and algae. *Biochim Biophys Acta*, 1847: 968–985
- Burgess SJ, Granero-Moya I, Grangé-Guermente MJ, et al (2016). Ancestral light and chloroplast regulation form the foundations for C₄ gene expression. *Nat Plants*, 2: 16161
- Cao P, Cao DF, Si L, et al (2020). Structural basis for energy and electron transfer of the photosystem I-IsiA-flavodoxin supercomplex. *Nat Plants*, 6: 167–176
- Carmody M, Crisp PA, d'Alessandro S, et al (2016). Uncoupling high light responses from singlet oxygen retrograde signaling and spatial-temporal systemic acquired acclimation. *Plant Physiol*, 171: 1734–1749
- Caspy I, Neumann E, Fadeeva M, et al (2022). Cryo-EM photosystem I structure reveals adaptation mechanisms to extreme high light in *Chlorella ohadii*. *Nat Plants*, 7: 1314–1322
- Cazzaniga S, Dall'Osto L, Kong SG, et al (2013). Interaction between avoidance of photon absorption, excess energy dissipation and zeaxanthin synthesis against photooxidative stress in *Arabidopsis*. *Plant J*, 76: 568–579
- Cazzonelli CI, Hou X, Alagoz Y, et al (2020). A *cis*-carotene derived apocarotenoid regulates etioplast and chloroplast development. *Elife*, 9: e45310
- Cestellos-Blanco S, Chan RR, Shen YX, et al (2022). Photosynthetic biohybrid coculture for tandem and tunable CO₂ and N₂ fixation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 119: e2122364119
- Chang TG, Chang S, Song QF, et al (2019a). Systems models, phenomics and genomics: three pillars for developing high-yielding photosynthetically efficient crops. In *Silico Plants*, 1: doi: 10.1093/insilicoplants/diy003
- Chang TG, Shi Z, Zhao H, et al (2022). 3dCAP-Wheat: an open source comprehensive computational framework precisely quantifies wheat foliar, nonfoliar, and canopy photosynthesis. *Plant Phenomics*, 2022: 9758148
- Chang TG, Zhao H, Wang N, et al (2019b). A three-dimensional canopy photosynthesis model in rice with a complete description of the canopy architecture, leaf physiology, and mechanical properties. *J Exp Bot*, 70: 2479–2490
- Chen GE, Canniffe DP, Barnett SFH, et al (2018a). Complete enzyme set for chlorophyll biosynthesis in *Escherichia coli*. *Sci Adv*, 4: eaaq1407
- Chen JH, Chen ST, He NY, et al (2020a). Nuclear-encoded synthesis of the D1 subunit of photosystem II increases photosynthetic efficiency and crop yield. *Nat Plants*, 6: 570–580
- Chen JH, Wu HJ, Xu CH, et al (2020b). Architecture of the photosynthetic complex from a green sulfur bacterium. *Science*, 370: eabb6350
- Chen M, Liu P, Zhang J, et al (2019). Photochemical characteristics of *Chlamydomonas* mutant *hpm91* lacking proton gradient regulation 5 (PGR5) during sustained H₂ photoproduction under sulfur deprivation. *Int Hydrogen Energy*, 60: 31790–31799
- Chen M, Perez-Boerema A, Zhang LX, et al (2020c). Distinct structural modulation of photosystem I and lipid environment stabilizes its tetrameric assembly. *Nat Plants*, 6: 314–320
- Chen M, Schliep M, Willows RD, et al (2010). A red-shifted

- chlorophyll. *Science*, 329: 1318–1319
- Chen T, Fang Y, Jiang Q, et al (2022). Incorporation of functional Rubisco activases into engineered carboxysomes to enhance carbon fixation. *ACS Synth Biol*, 11: 154–161
- Chen T, Riaz S, Davey P, et al (2023). Producing fast and active Rubisco in tobacco to enhance photosynthesis. *Plant Cell*, 35: 795–807
- Chen X, Schreiber K, Appel J, et al (2016). The Entner-Doudoroff pathway is an overlooked glycolytic route in cyanobacteria and plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113: 5441–5446
- Chen YB, Lu TC, Wang HX et al (2014). Posttranslational modification of maize chloroplast pyruvate orthophosphate dikinase reveals the precise regulatory mechanism of its enzymatic activity. *Plant Physiol*, 165: 534–549
- Chen YL, Chen LJ, Chu CC, et al (2018b). TIC236 links the outer and inner membrane translocons of the chloroplast. *Nature*, 564: 125–129
- Cheng L, Wang W, Yao Y, et al (2021). Mitochondrial RNase H1 activity regulates R-loop homeostasis to maintain genome integrity and enable early embryogenesis in *Arabidopsis*. *PLOS Biol*, 19: e3001357
- Chotewutmontri P, Barkan A (2020). Light-induced psbA translation in plants is triggered by photosystem II damage via an assembly-linked autoregulatory circuit. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 21775–21784
- Chotewutmontri P, Williams-Carrier R, Barkan A (2020). Exploring the link between photosystem II assembly and translation of the chloroplast *psbA* mRNA. *Plants (Basel)*, 9: 152
- Croce R, van Amerongen H, (2020). Light harvesting in oxygenic photosynthesis: structural biology meets spectroscopy. *Science*, 369: eaay2058
- Cui X, Wang Y, Wu J, et al (2019). The RNA editing factor DUA1 is crucial to chloroplast development at low temperature in rice. *New Phytol*, 221 (2): 834–849
- Dai X, Tu X, Du B, et al (2022). Chromatin and regulatory differentiation between bundle sheath and mesophyll cells in maize. *Plant J*, 109: 675–692
- de Luna-Valdez LA, Villaseñor-Salmerón CI, Cordoba E, et al (2019). Functional analysis of the Chloroplast GrpE (CGE) proteins from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem*, 139: 293–306
- De Souza AP, Burgess SJ, Doran L, et al (2022). Soybean photosynthesis and crop yield are improved by accelerating recovery from photoprotection. *Science*, 377: 851–854
- Deisenhofer J, Epp O, Miki K, et al (1985). Structure of the protein subunits in the photosynthetic reaction centre of *Rhodospseudomonas viridis* at 3 Å resolution. *Nature*, 318: 618–624
- Demmig-Adams B, Garab G, Adams III, et al (2014). Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in Plants, Algae and Cyanobacteria. New York, Springer
- DeTar RA, Barahimipour R, Manavski N, et al (2021). Loss of inner-envelope K^+/H^+ exchangers impairs plastid rRNA maturation and gene expression. *Plant Cell*, 33: 2479–2505
- Diao J, Song X, Zhang L, et al (2020). Tailoring cyanobacteria as a new platform for highly efficient synthesis of astaxanthin. *Metab Eng*, 61: 275–287
- Dickinson PJ, Kumar M, Martinho C, et al (2018). Chloroplast signaling gates thermotolerance in *Arabidopsis*. *Cell Rep*, 22: 1657–1665
- Ding S, Zhang Y, Hu Z, et al (2019). mTERF5 acts as a transcriptional pausing factor to positively regulate transcription of chloroplast psbEFLJ. *Mol Plant*, 12: 1259–1277
- Domínguez-Martín MA, Sauer PV, Kirst H, et al (2022). Structures of a phycobilisome in light-harvesting and photoprotected states. *Nature*, 609: 835–845
- Douchi D, Qu Y, Longoni P, et al (2016). A nucleus-encoded chloroplast phosphoprotein governs expression of the photosystem I subunit PsaC in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell*, 28: 1182–1199
- Driever SM, Lawson T, Andralojc PJ, et al (2014). Natural variation in photosynthetic capacity, growth, and yield in 64 field-grown wheat genotypes. *J Exp Bot*, 65: 4959–4973
- Du ZY, Luckner BF, Zienkiewicz K, et al (2018). Galactoglycerolipid lipase PGD1 is involved in thylakoid membrane remodeling in response to adverse environmental conditions in *Chlamydomonas*. *Plant Cell*, 30: 447–465
- Duanmu D, Casero D, Dent RM, et al (2013). Retrograde bilin signaling enables *Chlamydomonas* greening and phototrophic survival. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 3621–3626
- Dwyer ME, Hangarter RP (2021). Light-dependent phosphorylation of THRUMIN1 regulates its association with actin filaments and 14-3-3 proteins. *Plant Physiol*, 187: 1445–1461
- Edelman M, Mattoo A, (2006). The D1 protein: past and future perspectives. In: Demmig-Adams B, Adams III WW, Mattoo AK (eds). Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation, and Environment. The Netherlands, Springer, 23–38
- Eisa A, Malenica K, Schwenkert S, et al (2019). High light acclimation induces chloroplast precursor phosphorylation and reduces import efficiency. *Plants (Basel)*, 9: 24
- Eisenhut M, Hoecker N, Schmidt SB, et al (2018). The plastid Envelope CHLOROPLAST MANGANESE TRANSPORTER1 is essential for manganese homeostasis in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 11: 955–969
- Ermakova M, Arrivault S, Giuliani R, et al (2021). Installation of C_4 photosynthetic pathway enzymes in rice using a single construct. *Plant Biotechnol J*, 19: 575–588
- Ermakova M, Lopez-Calcano PE, Raines C, et al (2019). Overexpression of the Rieske FeS protein of the Cytochrome *b₆f* complex increases C_4 photosynthesis in *Setaria viridis*. *Commun Biol*, 2: 314

- Fan MR, Li M, Liu ZF, et al (2015). Crystal structures of the PsbS protein essential for photoprotection in plants. *Nat Struct Mol Biol*, 22: 729–735
- Fan YZ, Asao S, Furbank RT et al (2022). The crucial roles of mitochondria in supporting C₄ photosynthesis. *New Phytol*, 233: 1083–1096
- Fang J, Li B, Chen LJ, et al (2022). TIC236 gain-of-function mutations unveil the link between plastid division and plastid protein import. *Proc Natl Acad Sci USA*, 119: e2123353119
- Fang X, Zhao G, Zhang S, et al (2018). Chloroplast-to-nucleus signaling regulates microRNA biogenesis in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 48: 371–382
- Feng J, Fan P, Jiang P, et al (2014). Chloroplast-targeted Hsp90 plays essential roles in plastid development and embryogenesis in *Arabidopsis* possibly linking with VIPP1. *Physiol Plant*, 150: 292–307
- Ferenczi A, Pyott DE, Xipnitou A, et al (2017). Efficient targeted DNA editing and replacement in *Chlamydomonas reinhardtii* using Cpf1 ribonucleoproteins and single-stranded DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: 13567–13572
- Flamholz AI, Dugan E, Blikstad C, et al (2020). Functional reconstitution of a bacterial CO₂ concentrating mechanism in *Escherichia coli*. *eLife*, 9: e59882
- Fu X, Liu C, Li Y, et al (2021). The coordination of OsZIP72 and OsMYBS2 with reverse roles regulates the transcription of *OsPsbSI* in rice. *New Phytol*, 229: 370–387
- Fujii S, Nagata N, Masuda T, et al (2019). Galactolipids are essential for internal membrane transformation during etioplast-to-chloroplast differentiation. *Plant Cell Physiol*, 60: 1224–1238
- Furbank RT (2016). Walking the C₄ pathway: past, present, and future. *J Exp Bot*, 67: 4057–4066
- Gabilly ST, Baker CR, Wakao S, et al (2019). Regulation of photoprotection gene expression in *Chlamydomonas* by a putative E3 ubiquitin ligase complex and a homolog of CONSTANS. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116: 17556–17562
- Gago J, Daloso DM, Carriqui M, et al (2020). Mesophyll conductance: the leaf corridors for photosynthesis. *Biochem Soc Trans*, 48: 429–439
- Gao LL, Hong ZH, Wang Y, et al (2023a). Chloroplast proteostasis: a story of birth, life, and death. *Plant Commun*, 4: 100424
- Gao X, Gao F, Liu D, et al (2016). Engineering the methylerythritol phosphate pathway in cyanobacteria for photosynthetic isoprene production from CO₂. *Energy Environ Sci*, 9: 1400–1411
- Gao Z, Zhao H, Li Z, et al (2012). Photosynthetic production of ethanol from carbon dioxide in genetically engineered cyanobacteria. *Energy Environ Sci*, 5: 9857–9865
- Gao ZF, Yang X, Mei YC, et al (2023b). A dynamic phosphoproteomic analysis provides insight into the C4 plant maize (*Zea mays* L.) response to natural diurnal changes. *Plant J*, 113: 291–307
- García-Cerdán JG, Furst AL, McDonald KL, et al (2019). A thylakoid membrane-bound and redox-active rubredoxin (RBD1) functions in *de novo* assembly and repair of photosystem II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116: 16631–16640
- García-Cerdán JG, Schmid EM, Takeuchi T, et al (2020). Chloroplast Sec14-like 1 (CPSFL1) is essential for normal chloroplast development and affects carotenoid accumulation in *Chlamydomonas*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 12452–12463
- García-Molina A, Leister D (2020). Accelerated relaxation of photoprotection impairs biomass accumulation in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 6: 9–12
- Giri DD, Dwivedi H, Alsukaibi AKD, et al (2022). Sustainable production of algae-bacteria granular consortia based biological hydrogen: new insights. *Bioresour Technol*, 352: 127036
- Gisriel CJ, Cardona T, Bryant DA, et al (2022). Molecular evolution of far-red light-acclimated photosystem II. *Microorganisms*, 10: 1270
- Giuliani R, Koteyeva N, Voznesenskaya E, et al (2013). Coordination of leaf photosynthesis, transpiration, and structural traits in rice and wild relatives (genus *Oryza*). *Plant Physiol*, 162: 1632–1651
- Gu J, Yin X, Struik PC, et al (2012). Using chromosome introgression lines to map quantitative trait loci for photosynthesis parameters in rice (*Oryza sativa* L.) leaves under drought and well-watered field conditions. *J Exp Bot*, 63: 455–469
- Gururani MA, Venkatesh J, Tran LS (2015) Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Mol Plant*, 8: 1304–1320
- Hamaguchi T, Kawakami K, Shinzawa-Itoh K, et al (2021). Structure of the far-red light utilizing photosystem I of *Acaryochloris marina*. *Nat Commun*, 12: 2333
- Hao L, Jia T, Jiao Q, et al (2022). Research progress in J-proteins in the chloroplast. *Genes (Basel)* 13: 1469
- Heidrich J, Junglas B, Grytsyk N, et al (2018). Mg²⁺ binding triggers rearrangement of the IM30 ring structure, resulting in augmented exposure of hydrophobic surfaces competent for membrane binding. *J Biol Chem*, 293: 8230–8241
- Hendron RW, Kelly S (2020). Subdivision of light signaling networks contributes to partitioning of C₄ photosynthesis. *Plant Physiol*, 182: 1297–1309
- Hennig R, Heidrich J, Saur M, et al (2015). IM30 triggers membrane fusion in cyanobacteria and chloroplasts. *Nat Commun*, 6: 7018
- Hernández-Verdeja T, Vuorijoki L, Jin X, et al (2022). GENOMES UNCOUPLED1 plays a key role during the de-etiolation process in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 235: 188–203
- Hertle AP, García-Cerdán JG, Armbruster U, et al (2020). A

- Sec14 domain protein is required for photoautotrophic growth and chloroplast vesicle formation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117 (16): 9101–9111
- Hervé D, Fabre F, Berrios EF, et al (2001). QTL analysis of photosynthesis and water status traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under greenhouse conditions. *J Exp Bot*, 52: 1857–1864
- Hey D, Rothbart M, Herbst J, et al (2017). LIL3, a light-harvesting complex protein, links terpenoid and tetrapyrrole biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 174: 1037–1050
- Hill R, Bendall F (1960). Function of the two cytochrome components in chloroplasts: a working hypothesis. *Nature*, 186: 136–137
- Hong Y, Wang Z, Liu X, et al (2020). Two chloroplast proteins negatively regulate plant drought resistance through separate pathways. *Plant Physiol*, 182: 1007–1021
- Hou Z, Pang X, Hedtke B, et al (2021). *In vivo* functional analysis of the structural domains of FLUORESCENT (FLU). *Plant J*, 107: 360–376
- Hou Z, Yang Y, Hedtke B, et al (2019). Fluorescence in blue light (FLU) is involved in inactivation and localization of glutamyl-tRNA reductase during light exposure. *Plant J*, 97: 517–529
- Hristou A, Gerlach I, Stolle DS, et al (2019). Ribosome-associated chloroplast SRP54 enables efficient cotranslational membrane insertion of key photosynthetic proteins. *Plant Cell*, 31: 2734–2750
- Hu JC, Gao CX (2023). CRISPR-edited plants by grafting. *Nat Biotechnol*, doi: 10.1038/s41587-022-01516-7
- Hu JH, Chang JW, Xu T, et al (2021). Structural basis of bilin binding by the chlorophyll biosynthesis regulator GUN4. *Protein Sci*, 30: 2083–2091
- Huang F, Kong WW, Sun YQ, et al (2020). Rubisco accumulation factor 1 (Raf1) plays essential roles in mediating Rubisco assembly and carboxysome biogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 17418–17428
- Huang GQ, Xiao YN, Pi X, et al (2021a). Structural insights into a dimeric Psb27-photosystem II complex from a cyanobacterium *Thermosynechococcus vulcanus*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118: e2018053118
- Huang PK, Chan PT, Su PH, et al (2016a). Chloroplast Hsp93 directly binds to transit peptides at an early stage of the preprotein import process. *Plant Physiol*, 170: 857–866
- Huang X, Wang Z, Huang J, et al (2021b). Mesophyll conductance variability of rice aquaporin knockout lines at different growth stages and growing environments. *Plant J*, 107: 1503–1512
- Huang X, Yang S, Gong J, et al (2016b). Genomic architecture of heterosis for yield traits in rice. *Nature*, 537: 629–633
- Inoue H, Li M, Schnell DJ (2013). An essential role for chloroplast heat shock protein 90 (Hsp90C) in protein import into chloroplasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 3173–3178
- Islam S, Bhor SA, Tanaka K, et al (2020). Impaired expression of chloroplast HSP90C chaperone activates plant defense responses with a possible link to a disease-symptom-like phenotype. *Int J Mol Sci*, 21: 4202
- Izumi M, Ishida H, Nakamura S, et al (2017). Entire photodamaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. *Plant Cell*, 29: 377–394
- Jaiswal D, Sahasrabudhe D, Wangkar PP (2022). Cyanobacteria as cell factories: the roles of host and pathway engineering and translational research. *Curr Opin Biotechnol*, 73: 314–322
- Jaiswal D, Sengupta A, Sengupta S, et al (2020). A novel cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 11802 has distinct genomic and metabolomic characteristics compared to its neighbor PCC 11801. *Sci Rep*, 10: 191
- Jaiswal D, Sengupta A, Sohoni S, et al (2018). Genome features and biochemical characteristics of a robust, fast growing and naturally transformable cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 11801 isolated from India. *Sci Rep*, 8: 16632
- Jarvis P, López-Juez E (2013). Biogenesis and homeostasis of chloroplasts and other plastids. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 14: 787–802
- Jeong J, Moon B, Hwang I, et al (2022). GREEN FLUORESCENT PROTEIN variants with enhanced folding are more efficiently imported into chloroplasts. *Plant Physiol*, 190: 238–249
- Ji S, Siegel A, Shan SO, et al (2021). Chloroplast SRP43 autonomously protects chlorophyll biosynthesis proteins against heat shock. *Nat Plants*, 7: 1420–1432
- Jiang J, Chai X, Manavski N, et al (2019). An RNA chaperone-like protein plays critical roles in chloroplast mRNA stability and translation in *Arabidopsis* and maize. *Plant Cell*, 31: 1308–1327
- Jimbo H, Izuhara T, Hihara Y, et al (2019). Light-inducible expression of translation factor EF-Tu during acclimation to strong light enhances the repair of photosystem II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116: 21268–2127
- Jin H, Liu B, Luo L, et al (2014). HYPERSENSITIVE TO HIGH LIGHT1 interacts with LOW QUANTUM YIELD OF PHOTOSYSTEM III and functions in protection of photosystem II from photodamage in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 1213–1229
- Jin S, Lin Q, Gao Q, et al (2022). Optimized prime editing in monocot plants using PlantPegDesigner and engineered plant prime editors (ePPEs). *Nat Protoc*, 18: 831–853
- Jin Z, Wan L, Zhang Y, et al (2022). Structure of a TOC-TIC supercomplex spanning two chloroplast envelope membranes. *Cell*, 185: 4788–4800.e13
- Johnson GN (2011). Physiology of PSI cyclic electron transport in higher plants. *Biochim Biophys Acta*, 1807: 384–389
- Jordan P, Fromme P, Witt HT, et al (2001). Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution

- tion. *Nature*, 411: 909–917
- Joshi J, Amthor JS, McCarty DR, et al (2023). Why cutting respiratory CO₂ loss from crops is possible, practicable, and prudent. *Modern Agric*, 1: 1–11
- Kaneko T, Sato S, Kotani H, et al (1996). Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res*, 3: 109–136
- Kanno M, Carroll AL, Atsumi S (2017). Global metabolic rewiring for improved CO₂ fixation and chemical production in cyanobacteria. *Nat Commun*, 8: 14724
- Kato K, Nagao R, Jiang TY, et al (2019). Structure of a cyanobacterial photosystem I tetramer revealed by cryo-electron microscopy. *Nat Commun*, 10: 4929
- Kato K, Shinoda T, Nagao R, et al (2020). Structural basis for the adaptation and function of chlorophyll f in photosystem I. *Nat Commun*, 11: 238
- Kauss D, Bischof S, Steiner S, et al (2012). FLU, a negative feedback regulator of tetrapyrrole biosynthesis, is physically linked to the final steps of the Mg⁺⁺-branch of this pathway. *FEBS Lett*, 586: 211–216
- Kawakami K, Hamaguchi T, Hirose Y, et al (2022). Core and rod structures of a thermophilic cyanobacterial light-harvesting phycobilisome. *Nat Commun*, 13: 3389
- Kern J, Chatterjee R, Young ID, et al (2018). Structures of the intermediates of Kok's photosynthetic water oxidation clock. *Nature*, 563: 421–425
- Kessler F (2012). Plant science. Chloroplast delivery by UPS. *Science*, 338: 622–623
- Kikuchi S, Bedard J, Hirano M, et al (2013). Uncovering the protein translocon at the chloroplast inner envelope membrane. *Science*, 339: 571–574
- Kiss É, Knoppová J, Aznar GP, et al (2019). A photosynthesis-specific rubredoxin-like protein is required for efficient association of the D1 and D2 proteins during the initial steps of photosystem II assembly. *Plant Cell*, 31: 2241–2258
- Klasek L, Inoue K, Theg SM (2020). Chloroplast chaperonin-mediated targeting of a thylakoid membrane protein. *Plant Cell*, 32: 3884–3901
- Kobayashi K, Masuda T (2016). Transcriptional regulation of tetrapyrrole biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci*, 7: 1811
- Kong W, Yu X, Chen H, et al (2016). The catalytic subunit of magnesium-protoporphyrin IX monomethyl ester cyclase forms a chloroplast complex to regulate chlorophyll biosynthesis in rice. *Plant Mol Biol*, 92: 177–191
- Koskela MM, Brunje A, Ivanauskaite A, et al (2018). Chloroplast acetyltransferase NSI is required for state transitions in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 30: 1695–1709
- Kosourov S, Böhm M, Senger M, et al (2021). Photosynthetic hydrogen production: novel protocols, promising engineering approaches and application of semi-synthetic hydrogenases. *Physiol Plantarum*, 173: 555–567
- Kovács-Bogdán E, Benz JP, Soll J, et al (2011). Tic20 forms a channel independent of Tic110 in chloroplasts. *BMC Plant Biol*, 11: 133
- Kozaki A, Takeba G (1996). Photorespiration protects C3 plants from photooxidation. *Nature*, 384: 557–560
- Kromdijk J, Glowacka K, Leonelli L, et al (2016). Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. *Science*, 354: 857
- Kuai B, Chen J, Hörtensteiner S (2018). The biochemistry and molecular biology of chlorophyll breakdown. *J Exp Bot*, 69: 751–767
- Kurek I, Chang TK, Bertain SM, et al (2007). Enhanced thermostability of *Arabidopsis* Rubisco activase improves photosynthesis and growth rates under moderate heat stress. *Plant Cell*, 19: 3230–3241
- Labuz J, Sztatelman O, Jagiello-Flasinska D, et al (2021). Phototropin interactions with SUMO proteins. *Plant Cell Physiol*, 62: 693–707
- Lawson T, Blatt MR (2014). Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. *Plant Physiol*, 164: 1556–1570
- Lee DW, Hwang I (2021). Understanding the evolution of endosymbiotic organelles based on the targeting sequences of organellar proteins. *New Phytol*, 230: 924–930
- Lee JY, Lee HS, Song JY, et al (2013). Cell growth defect factor1/chaperone-like protein of POR1 plays a role in stabilization of light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase in *Nicotiana benthamiana* and *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 3944–3960
- Lehretz GG, Schneider A, Leister D, et al (2022). High non-photochemical quenching of VPZ transgenic potato plants limits CO₂ assimilation under high light conditions and reduces tuber yield under fluctuating light. *J Integr Plant Biol*, 64: 1821–1832
- Li C, Wang R, Wang J, et al (2023a). A highly compatible phototrophic community for carbon-negative biosynthesis. *Angew Chem Int Ed Engl*, 62: e202215013
- Li H, Yang Y, Zhang H, et al (2016). A genetic relationship between phosphorus efficiency and photosynthetic traits in soybean as revealed by QTL analysis using a high density genetic map. *Front Plant Sci*, 7: 924
- Li J, Yokosho K, Liu S, et al (2020). Diel magnesium fluctuations in chloroplasts contribute to photosynthesis in rice. *Nat Plants*, 6: 848–859
- Li J, Yuan J, Li Y, et al (2022a). The CDC48 complex mediates ubiquitin-dependent degradation of intra-chloroplast proteins in plants. *Cell Rep*, 39: 110664
- Li L, Duncan O, Ganguly DR, et al (2022b). Enzymes degraded under high light maintain proteostasis by transcriptional regulation in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 119: e2121362119
- Li N, Wong WS, Feng L, et al (2023b). The thylakoid mem-

- brane protein NTA1 is an assembly factor of the cytochrome *b₆f* complex essential for chloroplast development in *Arabidopsis*. *Plant Commun*, 4: 100509
- Li S, Lin D, Zhang Y, et al (2022c). Genome-edited powdery mildew resistance in wheat without growth penalties. *Nature*, 602: 455–460
- Li S, Sun T, Xu C, et al (2018a). Development and optimization of genetic toolboxes for a fast-growing cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973. *Metab Eng*, 48: 163–174
- Li S, Tian Y, Wu K, et al (2018b). Modulating plant growth-metabolism coordination for sustainable agriculture. *Nature*, 560: 595–600
- Li X, Patena W, Fauser F, et al (2019). A genome-wide algal mutant library and functional screen identifies genes required for eukaryotic photosynthesis. *Nat Genet*, 51: 627–635
- Li XP, Björkman O, Shih C, et al (2000). A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. *Nature*, 403: 391–395
- Li Y, Du Y, Huai J, et al (2022d). The RNA helicase UAP56 and the E3 ubiquitin ligase COP1 coordinately regulate alternative splicing to repress photomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 34: 4191–4212
- Li Y, Liu H, Ma T, et al (2022e). Arabidopsis EXECUTER1 interacts with WRKY transcription factors to mediate plastid-to-nucleus singlet oxygen signaling. *Plant Cell*, 35: 827–851
- Liang Z, Yeung WT, Ma J, et al (2022). Electron tomography of prolamellar bodies and their transformation into grana thylakoids in cryofixed *Arabidopsis* cotyledons. *Plant Cell*, 34: 3830–3843
- Lin MT, Occhialini A, Andralojc PJ, et al (2014). A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. *Nature*, 513: 547–550
- Ling Q, Broad W, Trosch R, et al (2019). Ubiquitin-dependent chloroplast-associated protein degradation in plants. *Science*, 363: eaav4467
- Ling Q, Huang W, Baldwin A, et al (2012). Chloroplast biogenesis is regulated by direct action of the ubiquitin-proteasome system. *Science*, 338: 655–659
- Ling Q, Jarvis P (2015). Regulation of chloroplast protein import by the ubiquitin E3 ligase SP1 is important for stress tolerance in plants. *Curr Biol*, 25: 2527–2534
- Ling QH, Sadali NM, Soufi Z, et al (2021). The chloroplast associated protein degradation pathway controls chromoplast development and fruit ripening in tomato. *Nat Plants*, 7: 655–666
- Liu C, Colon BC, Ziesack M, et al (2016). Water splitting-bio-synthetic system with CO₂ reduction efficiencies exceeding photosynthesis. *Science*, 352: 1210–1213
- Liu H, Li A, Rochaix JD, et al (2023). Architecture of chloroplast TOC-TIC translocon supercomplex. *Nature*, 615: 349–357
- Liu H, Ren D, Jiang L, et al (2020). A natural variation in PLEIOTROPIC DEVELOPMENTAL DEFECTS uncovers a crucial role for chloroplast tRNA modification in translation and plant development. *Plant Cell*, 32: 2345–2366
- Liu J, Last RL (2017). A chloroplast thylakoid lumen protein is required for proper photosynthetic acclimation of plants under fluctuating light environments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: E8110–E8117
- Liu W, Stewart CN (2015). Plant synthetic biology. *Trends Plant Sci*, 20: 309–317
- Liu X, Li Y, Zhong S (2017). Interplay between light and plant hormones in the control of Arabidopsis seedling chlorophyll biosynthesis. *Front Plant Sci*, 8: 1433
- Liu X, Miao R, Lindberg P, et al (2019). Modular engineering for efficient photosynthetic biosynthesis of 1-butanol from CO₂ in cyanobacteria. *Energy Environ Sci*, 12: 2765–2777
- Liu X, Xu Z, Yang Y, et al (2021a). Plastid caseinolytic protease OsClpR1 regulates chloroplast development and chloroplast RNA editing in rice. *Rice (N Y)*, 14: 45
- Liu XJ, Sun J, Huang Y, et al (2021b). Osj10gBTF3-mediated import of chloroplast protein is essential for pollen development in rice. *Front Plant Sci*, 12: 713544
- Liu ZF, Yan HC, Wang KB, et al (2004). Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72 Å resolution. *Nature*, 428: 287–292
- Llorente B, Torres-Montilla S, Morelli L, et al (2020). Synthetic conversion of leaf chloroplasts into carotenoid-rich plastids reveals mechanistic basis of natural chromoplast development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 21796–21803
- Lo SF, Chatterjee J, Biswal AK, et al (2022). Closer vein spacing by ectopic expression of nucleotide-binding and leucine-rich repeat proteins in rice leaves. *Plant Cell Rep*, 41: 319–335
- Long SP, Marshall AM, Zhu XG (2015). Engineering crop photosynthesis and yield potential to meet global food demand of 2050. *Cell*, 161: 56–66
- López-Calcano PE, Brown KL, Simkin AJ, et al (2020). Stimulating photosynthetic processes increases productivity and water-use efficiency in the field. *Nat Plants*, 6: 1054–1063
- Loudya N, Maffei DPF, Bédard J, et al (2022). Mutations in the chloroplast inner envelope protein TIC100 impair and repair chloroplast protein import and impact retrograde signaling. *Plant Cell*, 34: 3028–3046
- Lu D, Zhang Y, Zhang A, et al (2022). Non-photochemical quenching: from light perception to photoprotective gene expression. *Int J Mol Sci*, 23: 687
- Lu Y (2016). Identification and roles of photosystem II assembly, stability, and repair factors in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 7: 168
- Lu Y, Hall DA, Last RL (2011). A small zinc finger thylakoid protein plays a role in maintenance of photosystem II in

- Arabidopsis thaliana*. Plant Cell, 23: 1861–1875
- Luan G, Lu X (2018). Tailoring cyanobacterial cell factory for improved industrial properties. Biotechnol Adv, 36: 430–442
- Ma JF, You X, Sun S, et al (2020). Structural basis of energy transfer in *Porphyridium purpureum* phycobilisome. Nature, 579: 146–151
- Ma L, Yang Y, Wang Y, et al (2022). SIRBP1 promotes translational efficiency via SleIF4A2 to maintain chloroplast function in tomato. Plant Cell, 34: 2747–2764
- Maai E, Shimada S, Yamada M, et al (2011). The avoidance and aggregative movements of mesophyll chloroplasts in C_4 monocots in response to blue light and abscisic acid. J Exp Bot, 62: 3213–3221
- Majeran W, Friso G, Ponnala L, et al (2010). Structural and metabolic transitions of C_4 leaf development and differentiation defined by microscopy and quantitative proteomics in maize. Plant Cell, 22: 3509–3542
- Malinova I, Zupok A, Massouh A, et al (2021). Correction of frameshift mutations in the *atpB* gene by translational recoding in chloroplasts of *Oenothera* and tobacco. Plant Cell, 33: 1682–1705
- Mallmann J, Heckmann D, Bräutigam A, et al (2014). The role of photorespiration during the evolution of C_4 photosynthesis in the genus *Flaveria*. ELife, 3: e02478
- Malnoë A, Schultink A, Shahrasbi S, et al (2018). The plastid lipocalin LCNP is required for sustained photoprotective energy dissipation in *Arabidopsis*. Plant Cell, 30: 196–208
- Malone LA, Qian P, Mayneord GE, et al (2019). Cryo-EM structure of the spinach cytochrome b_6f complex at 3.6 Å resolution. Nature, 575: 535–539
- Mao J, Chi W, Ouyang M, et al (2015). PAB is an assembly chaperone that functions downstream of chaperonin 60 in the assembly of chloroplast ATP synthase coupling factor 1. Proc Natl Acad Sci USA, 112: 4152–4157
- Mascoli V, Bhatti AF, Bersanini L, et al (2022). The antenna of far-red absorbing cyanobacteria increases both absorption and quantum efficiency of photosystem II. Nat Commun, 13: 3562
- Matsumura H, Shiomi K, Yamamoto A, et al (2020). Hybrid Rubisco with complete replacement of rice Rubisco small subunits by sorghum counterparts confers C_4 plant-like high catalytic activity. Mol Plant, 13: 1570–1581
- Melis A, Zhang LP, Forestier M, et al (2000). Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiol, 122: 127–136
- Méteignier LV, Ghandour R, Zimmerman A, et al (2021). mTERF9 protein promotes chloroplast ribosomal assembly and translation by establishing ribonucleoprotein interactions *in vivo*. Nucleic Acids Res, 49: 1114–1132
- Mielke K, Wagner R, Mishra LS, et al (2021). Abundance of metalloprotease FtsH12 modulates chloroplast development in *Arabidopsis thaliana*. J Exp Bot, 72: 3455–3473
- Miller TE, Beneyton T, Schwander T, et al (2020). Light-powered CO_2 fixation in a chloroplast mimic with natural and synthetic parts. Science, 368: 649–654
- Mintz-Oron S, Meir S, Malitsky S, et al (2012). Reconstruction of *Arabidopsis* metabolic network models accounting for subcellular compartmentalization and tissue-specificity. Proc Natl Acad Sci USA, 109: 339–344
- Monga D, Shetti NP, Basu S, et al (2023). Recent advances in various processes for clean and sustainable hydrogen production. Nano-Struct Nano-Obj, 33: 100948
- Moulin SL (2022). The big guy keeps the gate: the largest chloroplast-encoded protein, Orf2971, serves for translocation and quality control of chloroplast-imported proteins. Plant Cell, 34: 3164–3165
- Munekage YN (2016). Light harvesting and chloroplast electron transport in NADP-malic enzyme type C_4 plants. Curr Opin Plant Biol, 31: 9–15
- Myers SS, Zanobetti A, Kloog I, et al (2014). Increasing CO_2 threatens human nutrition. Nature, 510: 139–142
- Nagao R, Kato K, Ifuku K, et al (2020). Structural basis for assembly and function of a diatom photosystem I-light-harvesting supercomplex. Nat Commun, 11: 2481
- Nagao R, Kato K, Suzuki T, et al (2019). Structural basis for energy harvesting and dissipation in a diatom PSII-FCPII supercomplex. Nat Plants, 5: 890–901
- Nellaepalli S, Ozawa SI, Kuroda H, et al (2018). The photosystem I assembly apparatus consisting of Ycf3-Y3IP1 and Ycf4 modules. Nat Commun, 9: 2439
- Neusius D, Kleinknecht L, Teh JT, et al (2022). Lysine acetylation regulates moonlighting activity of the E2 subunit of the chloroplast pyruvate dehydrogenase complex in *Chlamydomonas*. Plant J, 111: 1780–1800
- Nickelsen J, Rengstl B (2013). Photosystem II assembly: from cyanobacteria to plants. Annu Rev Plant Biol, 64: 609–635
- Nicol L, Nawrocki WJ, Croce R (2019). Disentangling the sites of non-photochemical quenching in vascular plants. Nat Plants, 5: 1177–1183
- Niwa S, Yu LJ, Takeda K, et al (2014). Structure of the LH1-RC complex from *Thermochromatium tepidum* at 3.0 Å. Nature, 508: 228–232
- Nixon PJ, Michoux F, Yu J, et al (2010). Recent advances in understanding the assembly and repair of photosystem II. Ann Bot, 106: 1–16
- Oliver JW, Machado IM, Yoneda H, et al (2013). Cyanobacterial conversion of carbon dioxide to 2,3-butanediol. Proc Natl Acad Sci USA, 110: 1249–1254
- Orr DJ, Alcântara A (2016). Surveying Rubisco diversity and temperature response to improve crop photosynthetic efficiency. Plant Physiol, 172: 707–717
- Ort DR, Merchant SS, Alric J, et al (2015). Redesigning photosynthesis to sustainably meet global food and bioenergy demand. Proc Natl Acad Sci USA, 112: 8529–8536

- Ouyang M, Li X, Zhang J, et al (2020). Liquid-liquid phase transition drives intra-chloroplast cargo sorting. *Cell*, 180 (6): 1144–1159.e20
- Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, et al (2005). Improving the nutritional value of golden rice through increased pro-vitamin a content. *Nat Biotechnol*, 23: 482–487
- Pan J, Huang D, Guo Z, et al (2018a). Overexpression of microRNA408 enhances photosynthesis, growth, and seed yield in diverse plants. *J Integr Plant Biol*, 60: 323–340
- Pan X, Cao D, Xie F, et al (2020). Structural basis for electron transport mechanism of complex I-like photosynthetic NAD(P)H dehydrogenase. *Nat Commun*, 11: 610
- Pan XW, Ma J, Su XD, et al (2018b). Structure of the maize photosystem I supercomplex with light-harvesting complexes I and II. *Science*, 360: 1109
- Papanatsiou M, Petersen J, Henderson L, et al (2019). Optogenetic manipulation of stomatal kinetics improves carbon assimilation, water use, and growth. *Science*, 363: 1456–1459
- Parcerisa IL, Rosano GL, Ceccarelli EA (2020). Biochemical characterization of ClpB3, a chloroplastic disaggregase from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 104: 451–465
- Pascual-Aznar G, Konert G, Beckova M, et al (2021). Psb35 protein stabilizes the CP47 assembly module and associated high-light inducible proteins during the biogenesis of photosystem ii in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. *Plant Cell Physiol*, 62: 178–190
- Peng J, Richards DE, Hartley NM, et al (1999). ‘Green revolution’ genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 400: 256–261
- Perez-Boerema A, Klaiman D, Caspy I, et al (2020). Structure of a minimal photosystem I from the green alga *Dunaliella salina*. *Nat Plants*, 6 (3): 321–327
- Perveen S, Qu M, Chen F, et al (2020). Overexpression of maize transcription factor mEmBP-1 increases photosynthesis, biomass, and yield in rice. *J Exp Bot*, 71: 4944–4957
- Pi X, Zhao SH, Wang WD, et al (2019). The pigment-protein network of a diatom photosystem II-light-harvesting antenna supercomplex. *Science*, 365: eaax4406
- Pinto H, Powell JR, Sharwood RE et al (2016). Variations in nitrogen use efficiency reflect the biochemical subtype while variations in water use efficiency reflect the evolutionary lineage of C_4 grasses at inter-glacial CO_2 . *Plant Cell Environ*, 39: 514–526
- Pushkar Y, Yano J, Sauer K, et al (2008). Structural changes in the Mn_4Ca cluster and the mechanism of photosynthetic water splitting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 1879–84
- Qian P, Siebert CA, Wang P, et al (2018). Cryo-EM structure of the *Blastochloris viridis* LH1-RC complex at 2.9 Å. *Nature*, 556: 203–208
- Qin XC, Pi X, Wang WD, et al (2019). Structure of a green algal photosystem I in complex with a large number of light-harvesting complex I subunits. *Nat Plants*, 5: 263–272
- Qin XC, Suga M, Kuang TY, et al (2015). Structural basis for energy transfer pathways in the plant PSI-LHCI supercomplex. *Science*, 348: 989
- Qu M, Essemine J, Li M, et al (2020a). Genome wide association study unravels LRK1 as a dark respiration regulator in rice (*Oryza sativa* L.). *Int J Mol Sci*, 21: 4930
- Qu M, Essemine J, Xu J, et al (2020b). Alterations in stomatal response to fluctuating light increase biomass and yield of rice under drought conditions. *Plant J*, 104: 1334–1347
- Qu M, Zheng G, Hamdani S, et al (2017). Leaf photosynthetic parameters related to biomass accumulation in a global rice diversity survey. *Plant Physiol*, 175: 248–258
- Quian-Ulloa R, Stange C (2021). Carotenoid biosynthesis and plastid development in plants: the role of light. *Int J Mol Sci*, 22: 1184
- Rachmilevitch S, Cousins AB, Bloom AJ (2004). Nitrate assimilation in plant shoots depends on photorespiration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 11506–11510
- Ramundo S, Asakura Y, Salome PA, et al (2020). Coexpressed subunits of dual genetic origin define a conserved super complex mediating essential protein import into chloroplasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 32739–32749
- Rantala M, Ivanauskaite A, Laihonon L, et al (2022). Chloroplast acetyltransferase GNAT2 is involved in the organization and dynamics of thylakoid structure. *Plant Cell Physiol*, 63: 1205–1214
- Redding KE, Appel J, Boehm M, et al (2022). Advances and challenges in photosynthetic hydrogen production. *Trends Biotechnol*, 11: 1313–1325
- Richter AS, Banse C, Grimm B (2019). The GluTR-binding protein is the heme-binding factor for feedback control of glutamyl-tRNA reductase. *Elife*, 8: e46300
- Richter AS, Hochheuser C, Fufezan C, et al (2016). Phosphorylation of GENOMES UNCOUPLED 4 alters stimulation of Mg chelatase activity in angiosperms. *Plant Physiol*, 172: 1578–1595
- Richter AS, Nägele T, Grimm B, et al (2023). Retrograde signaling in plants: a critical review focusing on the GUN pathway and beyond. *Plant Commun*, 4: 100511
- Rumpel S, Siebel J, Farès C, et al (2014). Enhancing hydrogen production of microalgae by redirecting electrons from photosystem I to hydrogenase. *Energy Environ Sci*, 7: 3296–3301
- Sacharz J, Giovagnetti V, Ungerer P, et al (2017). The xanthophyll cycle affects reversible interactions between PsbS and light-harvesting complex II to control non-photochemical quenching. *Nat Plants*, 3: 16225
- Sage RF (2017). A portrait of the C_4 photosynthetic family on the 50th anniversary of its discovery: species number, evolutionary lineages, and Hall of Fame. *J Exp Bot*, 68: 4039–4056
- Sage RF, Christin PA, Edwards EJ (2011). The C_4 plant lineages of planet Earth. *J Exp Bot*, 62: 3155–3169

- Sage TL, Busch FA, Johnson DC, et al (2013). Initial events during the evolution of C₄ photosynthesis in C₃ species of flaveria. *Plant Physiol*, 163: 1266–1276
- Sage TL, Sage RF (2009). The functional anatomy of rice leaves: implications for refixation of photorespiratory CO₂ and efforts to engineer c₄ photosynthesis into rice. *Plant Cell Physiol*, 50: 756–772
- Sakimoto KK, Wong AB, Yang P (2016). Self-photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar-to-chemical production. *Science*, 351: 74–77
- Salesse-Smith CE, Sharwood RE, Busch FA, et al (2018). Overexpression of Rubisco subunits with RAF1 increases Rubisco content in maize. *Nat Plants*, 4: 802–810
- Sandmann G (2021). Diversity and origin of carotenoid biosynthesis: its history of coevolution towards plant photosynthesis. *New Phytol*, 232: 479–493
- Sandoval-Ibáñez O, Rolo D, Ghandour R, et al (2022). De-etiolation-induced protein 1 (DEIP1) mediates assembly of the cytochrome *b₆f* complex in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 13: 4045
- Sandoval-Ibáñez O, Sharma A, Bykowski M, et al (2021). Curvature thylakoid 1 proteins modulate prolamellar body morphology and promote organized thylakoid biogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118: e2113934118
- Schlüter U, Weber APM (2020). Regulation and evolution of C₄ photosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 71: 183–215
- Schmied J, Hou Z, Hedtke B, et al (2018). Controlled partitioning of glutamyl-tRNA reductase in stroma- and membrane-associated fractions affects the synthesis of 5-aminolevulinic acid. *Plant Cell Physiol*, 59: 2204–2213
- Schneider A, Steinberger I, Herdean A, et al (2016). The evolutionarily conserved protein PHOTOSYNTHESIS AFFECTED MUTANT71 is required for efficient manganese uptake at the thylakoid membrane in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 28: 892–910
- Schnell DJ (2019). The TOC GTPase receptors: regulators of the fidelity, specificity and substrate profiles of the general protein import machinery of chloroplasts. *Protein J*, 38: 343–350
- Schulze S, Westhoff P, Gowik U (2016). Glycine decarboxylase in C₃, C₄ and C₃-C₄ intermediate species. *Curr Opin Plant Biol*, 31: 29–35
- Schuster M, Gao Y, Schottler MA, et al (2020). Limited responsiveness of chloroplast gene expression during acclimation to high light in tobacco. *Plant Physiol*, 182: 424–435
- Schwille P (2011). Bottom-up synthetic biology: engineering in a tinkerer's world. *Science*, 333: 1252–1254.
- Shen BR, Wang LM, Lin XL et al (2019a). Engineering a new chloroplastic photorespiratory bypass to increase photosynthetic efficiency and productivity in rice. *Mol Plant*, 12: 199–214
- Shen JR (2015). The structure of photosystem II and the mechanism of water oxidation in photosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 66: 23–48
- Shen LL, Huang ZH, Chang SH, et al (2019b). Structure of a C2S2M2N2-type PSII-LHCII supercomplex from the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116: 21246–21255
- Shen LL, Tang KL, Wang WD, et al (2022). Architecture of the chloroplast PSI-NDH supercomplex in *Hordeum vulgare*. *Nature*, 601: 649–654
- Sheng X, Watanabe A, Li A, et al (2019). Structural insight into light harvesting for photosystem II in green algae. *Nat Plants*, 5: 1320–1330
- Shimizu T, Kacprzak SM, Mochizuki N, et al (2019). The retrograde signaling protein GUN1 regulates tetrapyrrole biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116: 24900–24906
- Shimizu T, Yasuda R, Mukai Y, et al (2020). Proteomic analysis of haem-binding protein from *Arabidopsis thaliana* and *Cyanidioschyzon merolae*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 375: 20190488
- Simkin AJ, Lopez-Calcagno PE, Davey PA, et al (2017a). Simultaneous stimulation of sedoheptulose 1,7-bisphosphatase, fructose 1,6-bisphosphate aldolase and the photorespiratory glycine decarboxylase-H protein increases CO₂ assimilation, vegetative biomass and seed yield in *Arabidopsis*. *Plant Biotechnol J*, 15: 805–816
- Simkin AJ, McAusland L, Headland LR, et al (2015). Multi-gene manipulation of photosynthetic carbon assimilation increases CO₂ fixation and biomass yield in tobacco. *J Exp Bot*, 66: 4075–4090
- Simkin AJ, McAusland L, Lawson T, et al (2017b). Overexpression of the RieskeFeS protein increases electron transport rates and biomass yield. *Plant Physiol*, 175: 134–145
- Slattery RA, Grennan AK, Sivaguru M, et al (2016). Light sheet microscopy reveals more gradual light attenuation in light-green versus dark-green soybean leaves. *J Exp Bot*, 67: 4697–4709
- Sonawane BV, Sharwood RE, Whitney S, et al (2018). 3Shade compromises the photosynthetic efficiency of NADP-ME less than that of PEP-CK and NAD-ME C₄ grasses. *J Exp Bot*, 69: 3053–3068
- Song Q, Van Rie J, Den Boer B, et al (2022). Diurnal and seasonal variations of photosynthetic energy conversion efficiency of field grown wheat. *Front Plant Sci*, 13: 817654
- Song QF, Chu C, Parry M, et al (2016a). Genetics based dynamic systems model of canopy photosynthesis: the key to improved light and resource use efficiencies for crops. *Food Energy Secur*, 5: 18–25
- Song QF, Wang Y, Qu M, et al (2017). The impact of modifying photosystem antenna size on canopy photosynthetic efficiency. *Plant Cell Environ*, 40: 2946–2957
- Song QF, Xiao H, Xiao X, et al (2016b). A new canopy photo-

- synthesis and transpiration measurement system (CAPTS) for canopy gas exchange research. *Agr Forest Meteorol*, 217: 101–107
- Song QF, Zhang G, Zhu XG (2013). Optimal crop canopy architecture to maximise canopy photosynthetic CO₂ uptake under elevated CO₂ - a theoretical study using a mechanistic model of canopy photosynthesis. *Functional Plant Biol*, 40: 108–124
- South PF, Cavanagh AP, Liu HW (2019). Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field. *Science*, 363: eaat9077
- Stanley L, Yuan YW (2019). Transcriptional regulation of carotenoid biosynthesis in plants: so many regulators, so little consensus. *Front Plant Sci*, 10: 1017
- Steinbeck J, Nikolova D, Weingarten R, et al (2015). Deletion of Proton Gradient Regulation 5 (PGR5) and PGR5-Like 1 (PGRL1) proteins promote sustainable light-driven hydrogen production in *Chlamydomonas reinhardtii* due to increased PSII activity under sulfur deprivation. *Front Plant Sci*, 6: 892
- Stitt M, Zhu XG (2014). The large pools of metabolites involved in intercellular metabolite shuttles in C₄ photosynthesis provide enormous flexibility and robustness in a fluctuating light environment. *Plant Cell Environ*, 37: 1985–1988
- Su XD, Cao DF, Pan XW, et al (2022). Supramolecular assembly of chloroplast NADH dehydrogenase-like complex with photosystem I from *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant*, 15: 454–467
- Su XD, Ma J, Pan XW, et al (2019). Antenna arrangement and energy transfer pathways of a green algal photosystem-I-LHCI supercomplex. *Nat Plants*, 5: 273–281
- Su XD, Ma J, Wei XP, et al (2017). Structure and assembly mechanism of plant C₂S₂M₂-type PSII-LHCII supercomplex. *Science*, 357: 815–820
- Suga M, Akita F, Hirata K, et al (2015). Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. *Nature*, 517: 99–103
- Suga M, Akita F, Sugahara M, et al (2017). Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII caught by XFEL. *Nature*, 543: 131–135
- Suga M, Akita F, Yamashita K, et al (2019a). An oxyl/oxo mechanism for oxygen-oxygen coupling in PSII revealed by an x-ray free-electron laser. *Science*, 366: 334–338
- Suga M, Ozawa SI, Yoshida-Motomura K, et al (2019b). Structure of the green algal photosystem I supercomplex with a decameric light-harvesting complex I. *Nat Plants*, 5: 626–636
- Sugita C, Ogata K, Shikata M, et al (2007). Complete nucleotide sequence of the freshwater unicellular cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 6301 chromosome: gene content and organization. *Photosynth Res*, 93: 55–67
- Sun J, Xie D, Zhang E, et al (2019a). QTL mapping of photosynthetic-related traits in rice under salt and alkali stresses. *Euphytica*, 215: 147
- Sun T, Li S, Song X, et al (2018). Toolboxes for cyanobacteria: recent advances and future direction. *Biotechnol Adv*, 36: 1293–1307
- Sun T, Li Z, Li S, et al (2023). Exploring and validating key factors limiting cyanobacteria-based CO₂ bioconversion: Case study to maximize myo-inositol biosynthesis. *Chem Eng J*, 452: 139158
- Sun T, Rao S, Zhou X, et al (2022a). Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. *Mol Hort*, 2: 3
- Sun T, Zhou F, Huang XQ, et al (2019b). ORANGE represses chloroplast biogenesis in etiolated *Arabidopsis* cotyledons via interaction with TCP14. *Plant Cell*, 31 (12): 2996–3014
- Sun Y, Yao Z, Ye Y, et al (2022b). Ubiquitin-based pathway acts inside chloroplasts to regulate photosynthesis. *Sci Adv*, 8: eabq7352
- Takeuchi MH, Numata K (2019). Marine purple photosynthetic bacteria as sustainable microbial production hosts. *Frontiers Bioeng Biotechnol*, 10: 3389
- Takusagawa M, Kobayashi Y, Fukao Y, et al (2021). HBD1 protein with a tandem repeat of two HMG-box domains is a DNA clip to organize chloroplast nucleoids in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118: e2021053118
- Tamagnini P, Axelsson R, Lindberg P, et al (2002). Hydrogenases and hydrogen metabolism of cyanobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1: 1–20
- Tan C, Xu P, Tao F (2022). Carbon-negative synthetic biology: challenges and emerging trends of cyanobacterial technology. *Trends Biotechnol*, 40: 1488–1502
- Teng S, Qian Q, Zeng D, et al (2004). QTL analysis of leaf photosynthetic rate and related physiological traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 135: 1–7
- Theeuwes TPJM, Logie LL, Harbinson J, et al (2022). Genetics as a key to improving crop photosynthesis. *J Exp Bot*, 73: 3122–3137
- Tholen D, Boom C, Zhu XG (2012). Opinion: Prospects for improving photosynthesis by altering leaf anatomy. *Plant Sci*, 197: 92–101
- Tholen D, Zhu XG (2011). The mechanistic basis of internal conductance: a theoretical analysis of mesophyll cell photosynthesis and CO₂ diffusion. *Plant Physiol*, 156: 90–105
- Thurotte A, Seidel T, Jilly R, et al (2020). DnaK3 is involved in biogenesis and/or maintenance of thylakoid membrane protein complexes in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Life (Basel)* 10: 55
- Tian J, Wang C, Xia J, et al (2019). Teosinte ligule allele narrows plant architecture and enhances high-density maize yields. *Science*, 365: 658–664
- Tian YN, Zhong RH, Wei JB, et al (2021). *Arabidopsis* CHLOROPHYLLASE 1 protects young leaves from long-term

- photodamage by facilitating FtsH-mediated D1 degradation in photosystem II repair. *Mol Plant*, 14: 1149–1167
- Tieu Ngoc LN, Jung Park S, Thi Huong T, et al (2021). N4-methylcytidine ribosomal RNA methylation in chloroplasts is crucial for chloroplast function, development, and abscisic acid response in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 63: 570–582
- Timm S, Florian A, Arrivault S, et al (2012). Glycine decarboxylase controls photosynthesis and plant growth. *FEBS Lett*, 586: 3692–3697
- Tokutsu R, Fujimura-Kamada K, Matsuo T, et al (2019). The CONSTANS flowering complex controls the protective response of photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas*. *Nat Commun*, 10: 4099
- Toporik H, Li J, Williams D, et al (2019). The structure of the stress-induced photosystem I-IsiA antenna supercomplex. *Nat Struct Mol Biol*, 26: 443–449
- Trinugroho JP, Bečková M, Shao S, et al (2020). Chlorophyll f synthesis by a super-rogue photosystem II complex. *Nat Plants*, 6: 238–244
- Tros M, Bersanini L, Shen G, et al (2020). Harvesting far-red light: Functional integration of chlorophyll f into Photosystem I complexes of *Synechococcus* sp. PCC 7002. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, 1861: 148206
- Umena Y, Kawakami K, Shen JR, et al (2011). Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature*, 473: 55–60
- Ungerer J, Lin PC, Chen HY, et al (2018). Adjustments to photosystem stoichiometry and electron transfer proteins are key to the remarkably fast growth of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973. *mBio*, 9: e02327-17
- Viola S, Roseby W, Santabarbara S, et al (2022). Impact of energy limitations on function and resilience in long-wavelength photosystem II. *Elife*, 11: e79890
- Wang J, Yu H, Xiong G, et al (2017a). Tissue-specific ubiquitination by IPA1 INTERACTING PROTEIN 1 modulates IPA1 protein levels to regulate plant architecture in rice. *Plant Cell*, 29: 697–707
- Wang P, Grimm B (2021a). Connecting chlorophyll metabolism with accumulation of the photosynthetic apparatus. *Trends Plant Sci*, 26: 484–495
- Wang P, Ji S, Grimm B (2022a). Post-translational regulation of metabolic checkpoints in plant tetrapyrrole biosynthesis. *J Exp Bot*, 73: 4624–4636
- Wang P, Khoshravesh R, Karki S, et al (2017b). Re-creation of a key step in the evolutionary switch from C₃ to C₄ leaf anatomy. *Curr Biol*, 27: 3278–3287.e3276
- Wang P, Liang FC, Wittmann D, et al (2018a). Chloroplast SRP43 acts as a chaperone for glutamyl-tRNA reductase, the rate-limiting enzyme in tetrapyrrole biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115: E3588–E3596
- Wang P, Richter AS, Kleeberg JRW, et al (2020). Post-translational coordination of chlorophyll biosynthesis and breakdown by BCMs maintains chlorophyll homeostasis during leaf development. *Nat Commun*, 11: 1254
- Wang W, Li K, Yang Z, et al (2021b). RNase H1C collaborates with ssDNA binding proteins WHY1/3 and recombinase RecA1 to fulfill the DNA damage repair in *Arabidopsis* chloroplasts. *Nucleic Acids Res*, 49: 6771–6787
- Wang W, Yu LJ, Xu CZ, et al (2019). Structural basis for blue-green light harvesting and energy dissipation in diatoms. *Science*, 363: eaav0365
- Wang Y, Song Q, Jaiswal D, et al (2015). Development of a three-dimensional ray-tracing model of sugarcane canopy photosynthesis and its application in assessing impacts of different row spacings. *Bioenergy Res*, 10: 626–634
- Wang Y, Bräutigam A, Weber APM, et al (2014a). Three distinct biochemical subtypes of C₄ photosynthesis? A modelling analysis. *J Exp Bot*, 65: 3567–3578
- Wang Y, Li J (2008). Molecular basis of plant architecture. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 253–279
- Wang Y, Noguchi K, Ono N, et al (2014b). Overexpression of plasma membrane H⁺-ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 533
- Wang Y, Wang Y, Tang Y, et al (2022b). Stomata conductance as a goalkeeper for increased photosynthetic efficiency. *Curr Opin Plant Biol*, 70: 102310
- Wang Z, Li C, Domen K (2018b). Recent developments in heterogeneous photocatalysts for solar-driven overall water splitting. *Chem Soc Rev*, 48: 2109–2125
- Wang Z, Wang F, Hong Y, et al (2016). Two chloroplast proteins suppress drought resistance by affecting ROS production in guard cells. *Plant Physiol*, 172: 2491–2503
- Watson SJ, Li N, Ye Y, et al (2021). Crosstalk between the chloroplast protein import and SUMO systems revealed through genetic and molecular investigation in *Arabidopsis*. *Elife*, 10: e60960
- Wei S, Li X, Lu Z, et al (2022). A transcriptional regulator that boosts grain yields and shortens the growth duration of rice. *Science*, 377: eabi8455
- Wei XP, Su XD, Cao P, et al (2016). Structure of spinach photosystem II-LCHII supercomplex at 3.2 resolution. *Nature*, 534: 69
- Wilson S, Ruban AV (2020). Rethinking the influence of chloroplast movements on non-photochemical quenching and photoprotection. *Plant Physiol*, 183: 1213–1223
- Wittkopp TM, Schmollinger S, Saroussi S, et al (2017). Bilin-dependent photoacclimation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell*, 29: 2711–2726
- Włodarczyk A, Selão TT, Norling B, et al (2020). Newly discovered *Synechococcus* sp. PCC 11901 is a robust cyanobacterial strain for high biomass production. *Commun Biol*, 3: 215
- Woodson JD, Perez-Ruiz JM, Chory J (2011). Heme synthesis by plastid ferrochelatase I regulates nuclear gene expres-

- sion in plants. *Curr Biol*, 21: 897–903
- Wurtzel ET, Vickers CE, Hanson AD, et al (2019). Revolutionizing agriculture with synthetic biology. *Nat Plants*, 5: 1207–1210
- Xiao Y, Chang TG, Song QF, et al (2017). ePlant for quantitative and predictive plant science research in the big data era - Lay the foundation for the future model guided crop breeding, engineering and agronomy. *Quantit Biol*, 5: 260–271
- Xiao Y, Sloan J, Hepworth C, et al (2023). Defining the scope for altering rice leaf anatomy to improve photosynthesis: a modelling approach. *New Phytol*, 237: 441–453
- Xiao Y, Zhu XG (2017b). Components of mesophyll resistance and their environmental responses: a theoretical modelling analysis. *Plant Cell Environ*, 40: 2729–2742
- Xin CP, Tholen D, Devloo V, et al (2015). The benefits of photorespiratory bypasses: how can they work? *Plant Physiol*, 167: 574–585
- Xin Y, Shi Y, Niu T, et al (2018). Cryo-EM structure of the RC-LH core complex from an early branching photosynthetic prokaryote. *Nat Commun*, 9: 1568
- Xing JL, Pan JT, Yi H, et al (2022). The plastid-encoded protein Orf2971 is required for protein translocation and chloroplast quality control. *Plant Cell*, 34: 3383–3399
- Xiong W, Morgan JA, Ungerer J, et al (2015). The plasticity of cyanobacterial metabolism supports direct CO₂ conversion to ethylene. *Nat Plants*, 1: 15053
- Xu CH, Zhu QJ, Chen JH, et al (2021). A unique photosystem I reaction center from a chlorophyll d-containing cyanobacterium *Acaryochloris marina*. *J Integr Plant Biol*, 63: 1740–1752
- Xu CZ, Pi X, Huang YW, et al (2020a). Structural basis for energy transfer in a huge diatom PSI-FCPI supercomplex. *Nat Commun*, 11: 5081
- Xu P, Chukhutsina VU, Nawrocki WJ, et al (2020b). Photosynthesis without β -carotene. *Elife*, 9: e58984
- Xu YF, Li SS, Li LH, et al (2017). QTL mapping for yield and photosynthetic related traits under different water regimes in wheat. *Mol Breeding*, 37: 34
- Yang Y, Wang L, Che Z, et al (2022). Novel target sites for soybean yield enhancement by photosynthesis. *J Plant Physiol*, 268: 153580
- Yang Z, Hou Q, Cheng L, et al (2017). RNase H1 cooperates with DNA gyrases to restrict R-loops and maintain genome integrity in *Arabidopsis* chloroplasts. *Plant Cell*, 29: 2478–2497
- Yao HY, Lu YQ, Yang XL, et al (2023). Arabidopsis Sec14 proteins (SFH5 and SFH7) mediate interorganelle transport of phosphatidic acid and regulate chloroplast development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 120: e2221637120
- Yao L, Shabestary K, Bjork SM, et al (2020). Pooled CRISPRi screening of the cyanobacterium *Synechocystis* sp PCC 6803 for enhanced industrial phenotypes. *Nat Commun*, 11: 1666
- Yoshino S, Takayama T, Yamaguchi Y, et al (2022). CO₂ reduction using water as an electron donor over heterogeneous photocatalysts aiming at artificial photosynthesis. *Acc Chem Res*, 55: 966–977
- Young ID, Ibrahim M, Chatterjee R, et al (2016). Structure of photosystem II and substrate binding at room temperature. *Nature*, 540: 453–457
- Yu G, Hao J, Pan X, et al (2022). Structure of Arabidopsis SOQ1 lumenal region unveils C-terminal domain essential for negative regulation of photoprotective qH. *Nat Plants*, 8: 840–855
- Yu JF, Knoppova J, Michoux F, et al (2018a). Ycf48 involved in the biogenesis of the oxygen-evolving photosystem II complex is a seven-bladed beta-propeller protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115: E7824–E7833
- Yu LJ, Suga M, Wang-Otomo ZY, et al (2018b). Structure of photosynthetic LH1-RC supercomplex at 1.9 Å resolution. *Nature*, 556: 209–213
- Yu X, Zheng G, Shan L, et al (2014). Reconstruction of gene regulatory network related to photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci*, 5: 273
- Yuan J, Ma T, Ji S, et al (2022). Two chloroplast-localized MORF proteins act as chaperones to maintain tetrapyrrole biosynthesis. *New Phytol*, 235: 1868–1883
- Yuan M, Zhao YQ, Zhang ZW, et al (2017). Light regulates transcription of chlorophyll biosynthetic genes during chloroplast biogenesis. *Crit Rev Plant Sci*, 36: 35–54
- Yue X, Ke X, Shi Y, et al (2023). Chloroplast inner envelope protein FtsH11 is involved in the adjustment of assembly of chloroplast ATP synthase under heat stress. *Plant Cell Environ*, 46: 850–864
- Zabret J, Bohn S, Schuller SK, et al (2021). Structural insights into photosystem II assembly. *Nat Plants*, 7: 524–538
- 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 B, Zhang C, Liu C, et al (2018). Inner envelope CHLOROPLAST MANGANESE TRANSPORTER 1 supports manganese homeostasis and phototrophic growth in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 11: 943–954
- Zhang B, Zhang C, Tang R, et al (2022a). Two magnesium transporters in the chloroplast inner envelope essential for thylakoid biogenesis in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 236: 464–478
- Zhang C, Shuai J, Ran Z, et al (2020a). Structural insights into NDH-1 mediated cyclic electron transfer. *Nat Commun*, 11: 888
- Zhang D, Li Y, Zhang X, et al (2017a). The SWI2/SNF2 chromatin-remodeling ATPase BRAHMA regulates chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 10: 155–167
- Zhang F, Tang W, Hedtke B, et al (2014). Tetrapyrrole biosynthetic enzyme protoporphyrinogen IX oxidase 1 is required for plastid RNA editing. *Proc Natl Acad Sci USA*,

- 111 (5): 2023–2028
- Zhang H, Zhou JF, Kan Y, et al (2022b). A genetic module at one locus in rice protects chloroplasts to enhance thermotolerance. *Science*, 376: 1293–1300
- Zhang J, Bai Z, Ouyang M, et al (2021c). The DnaJ proteins DJA6 and DJA5 are essential for chloroplast iron-sulfur cluster biogenesis. *EMBO J*, 40 (13): e106742
- Zhang J, Ma JF, Liu DS, et al (2017b). Structure of phycobilisome from the red alga *Griffithsia pacifica*. *Nature*, 551: 57–63
- Zhang JY, Wu S, Boehlein SK, et al (2019). Maize defective kernel5 is a bacterial TamB homologue required for chloroplast envelope biogenesis. *J Cell Biol*, 218: 2638–2658
- Zhang M, Wang Y, Chen X, et al (2021a). Plasma membrane H⁺-ATPase overexpression increases rice yield via simultaneous enhancement of nutrient uptake and photosynthesis. *Nat Commun*, 12: 735
- Zhang W, Willows RD, Deng R, et al (2021b). Bilin-dependent regulation of chlorophyll biosynthesis by GUN4. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118: e2104443118
- Zhang Y, Zhang A, Li X, et al (2020b). The role of chloroplast gene expression in plant responses to environmental stress. *Int J Mol Sci*, 21: 6082
- Zhang Z, Cui X, Wang Y, et al (2017c). The RNA editing factor WSP1 is essential for chloroplast development in rice. *Mol Plant*, 10 (1): 86–98
- Zhao H, Tang Q, Chang T, et al (2020a). Why an increase in activity of an enzyme in the Calvin–Benson cycle does not always lead to an increased photosynthetic CO₂ uptake rate?—a theoretical analysis. *in silico Plants*, 3: 1–13
- Zhao H, Wang Y, Lyv AM, et al (2022a). Two major metabolic factors for an efficient NADP-malic enzyme type C₄ photosynthesis. *Plant Physiol*, 189: 84–98
- Zhao LS, Huokko T, Wilson S, et al (2020b). Structural variability, coordination and adaptation of a native photosynthetic machinery. *Nat Plants*, 6: 869–882
- Zhao X, Higa T, Nakai M (2022b). TIC12, a 12-kD essential component of the Translocon at the inner envelope membrane of chloroplasts in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 34: 4569–4582
- Zhao X, Huang J, Chory J (2019). GUN1 interacts with MORF2 to regulate plastid RNA editing during retrograde signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116: 10162–10167
- Zhao YY, Lyu MA, Miao F, et al (2022c). The evolution of stomatal traits along the trajectory toward C₄ photosynthesis. *Plant Physiol*, 190: 441–458
- Zheng LQ, Li YB, Li XY, et al (2019). Structural and functional insights into the tetrameric photosystem I from heterocyst-forming cyanobacteria. *Nat Plants*, 5: 1087–1097
- Zheng LQ, Zheng ZG, Li XY, et al (2021). Structural insight into the mechanism of energy transfer in cyanobacterial phycobilisomes. *Nat Commun*, 12: 5497
- Zheng X, Lan J, Yu H, et al (2022a). *Arabidopsis* transcription factor TCP4 represses chlorophyll biosynthesis to prevent petal greening. *Plant Commun*, 3: 100309
- Zheng XT, Wang C, Lin W, et al (2022b). Importation of chloroplast proteins under heat stress is facilitated by their SUMO conjugations. *New Phytol*, 235: 173–187
- Zhong S, Shi H, Xue C, et al (2014). Ethylene-orchestrated circuitry coordinates a seedling's response to soil cover and etiolated growth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 3913–3920
- Zhou J, Zhang H, Meng H, et al (2014). Discovery of a super-strong promoter enables efficient production of heterologous proteins in cyanobacteria. *Sci Rep*, 4: 4500
- Zhu Q, Zeng D, Yu S, et al (2018). From golden rice to aS-TARice: Bioengineering astaxanthin biosynthesis in rice endosperm. *Mol Plant*, 11: 1440–1448
- Zhu T, Li Z, An X, et al (2020). Normal structure and function of endothecium chloroplasts maintained by ZmMs33-Mediated lipid biosynthesis in tapetal cells are critical for anther development in maize. *Mol Plant*, 13: 1624–1643
- Zhu W, Xu L, Yu X, et al (2022). The immunophilin CYCLOPHILIN28 affects PSII-LHCII supercomplex assembly and accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *J Integr Plant Biol*, 64: 915–929
- Zhu XG, Long SP, Ort DR (2008). What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? *Curr Opin Biotechnol*, 19: 153–159
- Zhu XG, Long SP, Ort DR (2010). Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Ann Rev Plant Biol*, 61: 235–261
- Zhu XG, Song QF, Ort DR (2012). Elements of a dynamic systems model of canopy photosynthesis. *Curr Opin Plant Biol*, 15: 237–244
- Zhu XG, Portis Jr. AR, Long SP (2004a). Would transformation of C3 crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis. *Plant Cell Environ*, 27: 155–165
- Zhu XG, de Sturler E, Long SP (2007). Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: aA numerical simulation using an evolutionary algorithm. *Plant Physiol*, 145: 513–526
- Zhu XG, Ort DR, Whitmarsh J, et al (2004b). The slow reversibility of photosystem II thermal energy dissipation on transfer from high to low light may cause large losses in carbon gain by crop canopies. A theoretical analysis. *J Exp Bot*, 55: 1167–1175
- Zong Y, Liu Y, Xue C, et al (2022). An engineered prime editor with enhanced editing efficiency in plants. *Nat Biotechnol*, 40: 1394–1402
- Zou M, Mu Y, Chai X, et al (2020). The critical function of the plastid rRNA methyltransferase, CMAL, in ribosome biogenesis and plant development. *Nucleic Acids Res*, 48: 3195–3210