

关于蓝藻 CO₂ 浓缩机制运转影响的模拟分析*

付翔¹ 韩博平^{1,2}

(¹暨南大学水生生物研究所 广州 510632)

(²中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

摘要 通过数学模型模拟的方法,分析了蓝藻 CO₂ 浓缩机制(简称 CCM)对光强变化的响应规律.CCM 运转时的关键步骤——无机碳(简称 Ci)转运所需的能量来自于光系统,其活动强度与光强密切相关。以此为基础,本文建立了具外部 Ci 浓度和光强两个变量的数学模型。计算表明:(1) 光合速率和浓缩效率随着光强的增加而增加;(2) Ci 泵的特征光能利用率的变化对 CCM 的行为有显著的影响。

关键词 CO₂ 浓缩机制(CCM),模型,光强

蓝藻 CO₂ 浓缩机制(CO₂ concentrating mechanism, 简称 CCM)是某些水生植物为保证其光合作用的碳源供应所形成的提高细胞内 CO₂ 浓度的生理机制^[1]。要正确地估计大气 CO₂ 浓度上升等对海洋初级生产力的影响,必须考虑到 CCM 在其中的功能和作用^[2],因此,CCM 及相关课题近年来倍受关注。蓝藻是典型的 CCM 生物,其 CCM 机理得到了详尽的研究,并在最近 10 a 中取得了显著进展^[3,4]。1987 年 Reinhold 等提出的羧化体模型,十分成功地从原理上阐明了蓝藻 CCM 的基本过程^[5]。此模型由 3 个假设组成:

(1) 位于细胞膜上的 Ci 泵(包括 CO₂ 泵和 HCO₃⁻ 泵),将细胞外的 CO₂ 和 HCO₃⁻ 主动转运到细胞内。无论 Ci 泵以何种形式的 Ci 为底物,释放到细胞内的是 HCO₃⁻。(2) Ci 在细胞内的主要存在形式是 HCO₃⁻,细胞质内无碳酐酶(Carbonic anhydrase, 简称 CA),HCO₃⁻ 与 CO₂ 处于不平衡状态,因为 HCO₃⁻ 是离子,细胞膜对它的通透性比 CO₂ 低得多,从而降低 Ci 的泄漏。(3) CA 和 Rubisc 全部位于羧化体内,在 CA 的催化作用下,HCO₃⁻ 和 CO₂ 在羧化体内进行快速转换,由高浓度的 HCO₃⁻ 在 Rubisc 的活性位点附近生成高浓度的 CO₂ 而使其固定反应以较快的速度进行(参见图 1)。

实验证据表明,用于 Ci 主动运输所消耗的能量是由光系统提供的,光系统的活动对于 Ci 转运必不可少^[6]。因此,Ci 泵的转运能力将受能量供应状况的影响而与光照强度密切相关^[7],进而整个 CCM

过程的运转效率也与光强相关。对光强变化的反应规律是 CCM 的重要性质之一,这方面的信息对于研究 CCM 的供能机理具有十分重要的意义。然而,目前这一领域的工作却仍然十分缺乏,这与相关实验技术仍然难以达到要求有关。本文在 Reinhold 的 CCM 模型基础上引入了光强变量,试图通过模型模拟的方法,初步探讨光强变化对蓝藻 CCM 的影响。

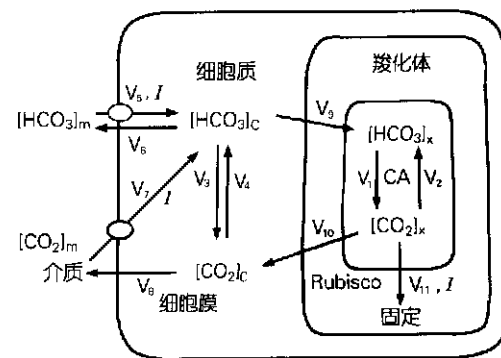


图 1 蓝藻 CCM 羧化体模型的物流和分室

物流在图中以箭头表示,其中的光相关过程以较粗的箭头表示。下标 m, c, x 分别代表介质(medium),细胞质(cytoplasm)及羧化体(carboxysome)。羧化体在图中只示出一个。

Fig. 1 Fluxes and compartments in the cyanobacterial CCM model

* 中国科学院百人计划资助项目。

收稿日期:2001-08-09;修回日期:2001-10-10

1 模型

1.1 模型假设

模型包含两个分室(图 1):细胞质和羧化体。形态学上的数据基于多变鱼腥藻(*Anabaena variabilis*)。为计算方便,假定细胞为球形,细胞半径 r_c 为 $1.77 \mu\text{m}$,由此计算得细胞膜的面积 A 为 $39.3 \mu\text{m}^2$,细胞体积 V 为 $23.2 \mu\text{m}^3$ 。假定羧化体有六个并位于细胞中心,羧化体的结构为:CA 位于羧化体的中心区域(其半径 $r_1 = 0.01 \mu\text{m}$),催化形成高浓度的 CO_2 ;而 Rubisc 形成外层,在 CO_2 向羧化体外扩散的过程中将其固定并形成较高的 CO_2 渗透阻力,羧化体半径 $r_2 = 0.2 \mu\text{m}$ 。 CO_2 及 HCO_3^- 在各个分室中为均匀分布。设细胞内 pH 为 7.6,而细胞外 pH 为 8.0。

模型中涉及的物流过程包括:

(1)在细胞膜上, HCO_3^- 和 CO_2 的主动转运(v_5, v_7); HCO_3^- 和 CO_2 的自由扩散(v_6, v_8)。

(2)在细胞质内, CO_2 与 HCO_3^- 之间的非催化自发转化(v_3, v_4)。

(3)在羧化体内, HCO_3^- 由细胞质扩散进入羧化体(v_9); CO_2 由羧化体扩散进入细胞质(v_{10}); CO_2 与 HCO_3^- 在 CA 催化下的相互转化(v_1, v_2)以及 CO_2 的固定(v_{11})。

Ci 泵的转运能力可以其最大转运速率为指标,假定 Ci 泵的最大转运速率与光强之间满足一定的函数关系,从而在模型中引入了光强变量。

1.2 模型的公式化

HCO_3^- 的转运可用米氏方程描述:

$$v_5 = \frac{V_{\text{ba}}[\text{HCO}_3^-]_{\text{m}}}{[\text{HCO}_3^-]_{\text{m}} + K_{\text{b}}} \quad (1)$$

其中 K_{b} 为 HCO_3^- 泵的米氏常数($80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), V_{ba} 为一定光强下 HCO_3^- 泵的实际最大转运速率。假定 V_{ba} 与光强之间满足下述函数关系:

$$V_{\text{ba}} = \frac{a_{\text{b}}I}{(1 + a_{\text{b}}^2 I^2 / V_{\text{c}}^2)^{1/2}} \quad (2)$$

其中 V_{c} 为 HCO_3^- 泵的潜在最大转运速率($1.6 \times 10^{-11} \mu\text{mol} \cdot \text{C} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), I 为光强, a_{b} 为一参数,其大小反映了 HCO_3^- 泵间接利用光能的能力,称之为特征光能利用率(由于目前尚未见有关蓝藻此值的报道,此处其取值与 Chen 等在黑藻 C_4 途径的模型中所用的值相同($0.09 \mu\text{mol} \cdot \mu\text{mol}$

q^{-1} , q 为光子)。可以看出,随着光强的增大, V_{ba} 逐渐趋近于 V_{c} 。

CO_2 在转运过程中,同时被转化为 HCO_3^- ,同样用米氏方程描述此过程:

$$v_7 = \frac{V_{\text{ca}}[\text{CO}_2]_{\text{m}}}{[\text{CO}_2]_{\text{m}} + K_{\text{c}}} \quad (3)$$

式中 K_{c} 为 CO_2 泵的米氏常数($0.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), V_{ca} 为一定光强下 CO_2 泵的实际最大转运速率,它与光强的关系为:

$$V_{\text{ca}} = \frac{a_{\text{c}}I}{(1 + a_{\text{c}}^2 I^2 / V_{\text{c}}^2)^{1/2}} \quad (4)$$

其中 a_{c} 为 CO_2 泵的特征光能利用率(也取 $0.09 \mu\text{mol} \cdot \mu\text{mol} \cdot \text{q}^{-1}$), V_{c} 为 CO_2 泵的潜在最大转运速率($2.8 \times 10^{-11} \mu\text{mol} \cdot \text{C} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)。

HCO_3^- 与 CO_2 在细胞膜上的沿浓度梯度的被动扩散过程可用扩散定律来描述:

$$v_6 = P_{\text{H}}A([\text{HCO}_3^-]_{\text{c}} - [\text{HCO}_3^-]_{\text{m}}) \quad (5)$$

$$v_8 = P_{\text{C}}A([\text{CO}_2]_{\text{c}} - [\text{CO}_2]_{\text{m}}) \quad (6)$$

其中 P_{H} 和 P_{C} 分别为细胞膜对 HCO_3^- 及 CO_2 的渗透系数(其值分别为 $0.3 \times 10^{-2} \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 及 $3.5 \times 10^3 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), A 为细胞膜的表面积。

细胞质中的 CO_2 和 HCO_3^- 之间会自发地相互转换:

$$v_3 = k_1 V[\text{HCO}_3^-]_{\text{c}} \quad (7)$$

$$v_4 = k_2 V[\text{CO}_2]_{\text{c}} \quad (8)$$

其中 k_1 为 HCO_3^- 的脱水速率而 k_2 为 CO_2 的水合速率(胞内 pH 值为 7.6 时,其值分别为 $2.63 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 及 $37.2 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$)。 V 为细胞体积。

HCO_3^- 扩散进入羧化体中心的 CA 区域需经过 Rubisc 层,这个过程可用球体中的三维扩散方程来表示:

$$v_9 = N \frac{4\pi D_{\text{RH}} r_1 r_2 ([\text{HCO}_3^-]_{\text{c}} - [\text{HCO}_3^-]_{\text{a}})}{r_2 - r_1} \quad (9)$$

其中 N 为一个细胞中的羧化体个数(假定为 6), D_{RH} 为 HCO_3^- 在 Rubisc 层中的扩散系数($2.1 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), r_1 和 r_2 分别为 CA 区域及羧化体的半径。

CO_2 从羧化体扩散到细胞质中的过程也可用这个方程表示:

$$v_{10} = N \frac{4\pi D_{\text{RC}} r_1 r_2 ([\text{CO}_2]_{\text{a}} - [\text{CO}_2]_{\text{c}})}{r_2 - r_1} \quad (10)$$

D_{RC} 为 CO_2 在 Rubisc 中的扩散系数(取值为 $23.5 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)。

在羧化体内部由 CA 催化的 HCO_3^- 和 CO_2 之间的相互转化可用下式来描述:

$$v_1 = \frac{V_{bc}K_{cc}[\text{HCO}_3^-]_x}{K_{bc}K_{cc} + K_{cc}[\text{HCO}_3^-]_x + K_{bc}[\text{CO}_2]_x} \quad (11)$$

$$v_2 = \frac{V_{cc}K_{bc}[\text{CO}_2]_x}{K_{bc}K_{cc} + K_{cc}[\text{HCO}_3^-]_x + K_{bc}[\text{CO}_2]_x} \quad (12)$$

其中 V_{bc} 和 V_{cc} 分别为 pH 7.6 时, CA 催化的 HCO_3^- 脱水及 CO_2 水合反应的最大速率 (V_{cc} 取为 $8 \times 10^{-10} \mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $V_{bc} = 1.18 V_{cc}$)。 K_{bc} 和 K_{cc} 则分别为 CA 对 HCO_3^- 和 CO_2 的半饱和常数(其值分别取 30 $133 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 1 $800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

CO_2 的固定在不同的光照条件下由不同的反应步骤限制。在光线充足时,羧化酶催化的羧化反应是限速步骤,而在光线不足时,提供还原力和能量的光反应速率将成为限速步骤。由于 CCM 的存在,蓝藻的光呼吸作用很小,在此忽略 O_2 的影响。因此有:

$$v_{11} = \min(v_f, v_g) \quad (13)$$

min 表示取二者中的小者。 v_f 及 v_g 分别代表一定光照条件下 CO_2 羧化反应和光反应的速率:

$$v_f = \frac{V_p[\text{CO}_2]_x}{[\text{CO}_2]_x + K_f} \quad (14)$$

V_p 为单个细胞的最大羧化反应速率 ($8 \times 10^{-12} \mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), K_f 为 Rubisc 对 CO_2 的半饱和常数 ($250 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

光反应速率决定于光合电子传导速率:

$$v_g = \frac{aI}{(1 + a^2 I^2 / J_m^2)^{1/2}} \quad (15)$$

式中 a 为量子效率 ($0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), J_m 为电子传导的潜在最大速率 (取 $8 \times 10^{-12} \mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)。

至此,整个系统可由 HCO_3^- 和 CO_2 在各个分室的浓度变化的微分方程组来表示:

$$d[\text{CO}_2]_x/dt = (v_1 - v_2 - v_{10} - v_{11})/V_x$$

$$d[\text{HCO}_3^-]_x/dt = (v_2 + v_9 - v_1)/V_x$$

$$d[\text{CO}_2]_c/dt = (v_3 + v_{10} - v_4 - v_8)/V_c$$

$$d[\text{HCO}_3^-]_c/dt = (v_4 + v_5 + v_7 - v_3 - v_6 - v_9)/V_c$$

此处 V_x 和 V_c 分别代表羧化体和细胞质体积。

2 结果与讨论

作者用 Turbo C 编制程序,模拟了上述系统在

各种 Ci 条件 ($[\text{Ci}]_m = 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 8.0 时, $[\text{CO}_2]_m = 2.3\% [\text{Ci}]_m$) 下对光强变化 ($0 \sim 15 \times 10^{-4} \text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 的反应,所给出的结果均为稳态解。

2.1 生理反应

图 2, 3, 4 为模型预测的某些生理量 (Ci 通量, 浓缩效率和光合速率) 随光强的变化。

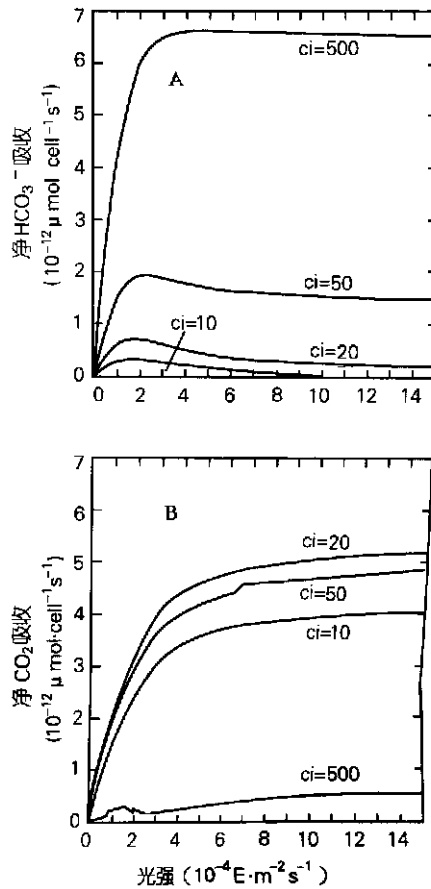


图 2 净 Ci 吸收 (HCO_3^- (A), CO_2 (B)) 随光强的变化
Fig. 2 Variations of net Ci uptake (HCO_3^- (A), CO_2 (B)) following the change of light intensity

HCO_3^- 和 CO_2 的净吸收通量随光强的变化曲线明显不同。各种 Ci 浓度下,净 HCO_3^- 吸收在光强约为 $2 \times 10^{-4} \text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时达到最大值,之后随光强的增加而减小(图 2A)。而净 CO_2 吸收则随光强的增加一直呈上升的趋势(图 2B)。造成这种现象的原因是 HCO_3^- 转运比 CO_2 转运在较小的光强下趋于饱和。

细胞内外 C_i 浓度之比可看作 CCM 的浓缩效率。当光强增加时, 浓缩效率增高, 而当外部 C_i 浓度增加时, 浓缩效率降低(图 3)。

光合速率在较低光强时对光敏感, 同时亦非常迅速地达到饱和(图 4)。

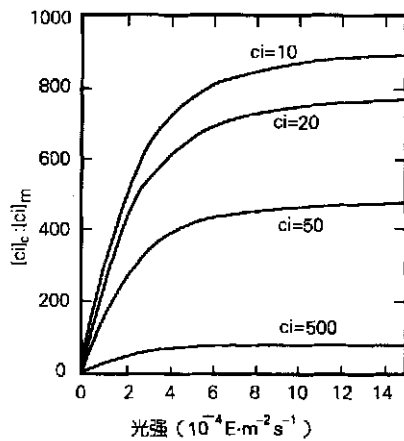


图 3 浓缩效率(细胞内外 C_i 浓度比)随光强的变化
Fig. 3 Variations of the concentrating efficiency (the ratio between the internal and external C_i concentrations) following the change of light intensity

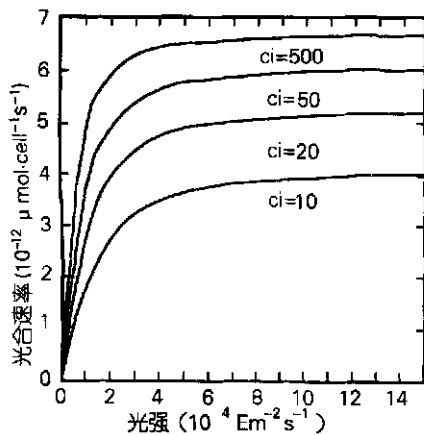


图 4 光合速率随光强的变化
Fig. 4 Variations of the photosynthesis rate following the change of light intensity

2.2 特征光能利用率的灵敏度检验

转运系统通过光系统间接地利用光能, 其利用光能的能力可用特征光能利用率 a_b 和 a_c 为指标。由方程(2)和方程(4)可以看出, 在一定的光强下, 特

征光能利用率越高, 则实际最大转运速率 (V_{ib} 或 V_{ic}) 就越接近潜在最大转运速率 (V_i 或 V_c), 也就意味着得到了更多的能量供应。

由于缺乏实验数据, 在模型中使用的 a_b 和 a_c 值都是估计值, 与 Chen 等在黑藻 (*Hydrilla*) C_4 途径的模型中所用的值相同。虽然蓝藻与其属于不同的生物类群, 但作者认为在此值上它们应当在同一个数量级。 a_b 和 a_c 的取值在一定范围内变化对光合速率的影响见图 5。可以看出, 系统对此值的变化反应相当灵敏, 特别是在中等强度的光强时 ($2 \times 10^{-4} \sim 6 \times 10^{-4} E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) 影响尤为显著。图 5 的背景 C_i 浓度为 $10 \mu mol \cdot L^{-1}$, 其他 C_i 浓度下所得的结果与此图相似。

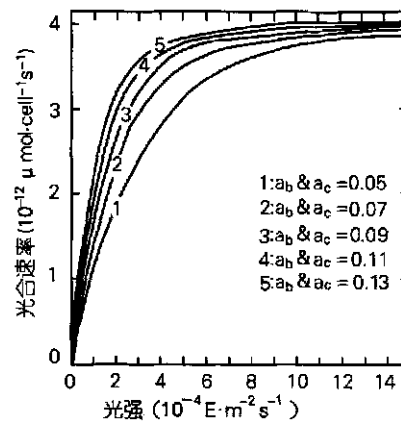


图 5 a_b 和 a_c 值的变化对光合速率的影响
Fig. 5 The impacts of the variations of the value of a_b and a_c

2.3 能量在 C_i 泵间的分配

在此前的模拟中, a_b 和 a_c 取值相等(都为 $0.09 \mu mol C \cdot \mu mol q^{-1}$), 这意味着默认 HCO_3^- 泵和 CO_2 泵有相同的光能利用效率, 然而实际上它们很可能是不同的。作者将 a_b 和 a_c 设为相异值并重新运行了模型, 以检验其对系统行为的影响。 a_b 和 a_c 相异时, 可能有两种情况: (1) a_b 大于 a_c , 为了观察到更明显的效果, 此处取较极端的情况, 设 a_b 为 a_c 的 5 倍, a_b 取 $0.15 \mu mol C \cdot \mu mol q^{-1}$, a_c 取 $0.03 \mu mol C \cdot \mu mol q^{-1}$; (2) a_b 小于 a_c , a_b 取 $0.03 \mu mol C \cdot \mu mol q^{-1}$, a_c 取 $0.15 \mu mol C \cdot \mu mol q^{-1}$ 。模拟的背景 C_i 浓度为 $10 \mu mol \cdot L^{-1}$ 和 $500 \mu mol \cdot L^{-1}$ 。 $10 \mu mol \cdot L^{-1}$ 是蓝藻细胞光合作用的表观半饱和 C_i 浓度, $500 \mu mol \cdot L^{-1}$ 是大气

CO₂ 与水体达成平衡时的 C_i 浓度 (pH 8.0)。

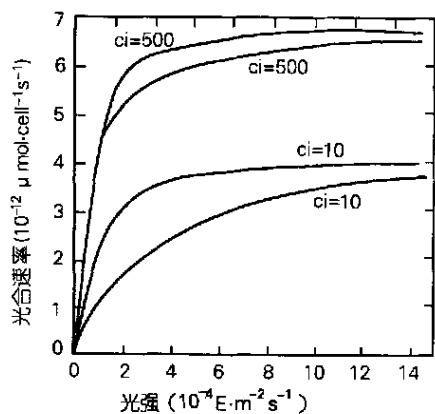


图 6 a_b 和 a_c 值相异时光合速率的变化
实线: $a_b > a_c$; 虚线: $a_b < a_c$

Fig. 6 Variations of the photosynthesis rate when a_b is in different with a_c

由此引起的光合速率的变化见图 6。可见, 当 CO₂ 泵的特征光能利用率高于 HCO₃⁻ 泵时 (第 2 种情况, a_c 大于 a_b), 细胞有更高的光合速率。对方程 (2) 和 (4) 进行分析可以看出, 将更多的能量分配给有较高的潜在最大反应速率的 CO₂ 泵 (即提高 a_c), 将比分配给 HCO₃⁻ 泵 (提高 a_b) 能获得更大的实际转运速率。因此 CO₂ 泵具有较高的光能利用率似乎是更合理的。在光成为限制因子的情况下, 这也可能是蓝藻更为有效地利用光的方式。同样, 如果 HCO₃⁻ 泵有较高的潜在最大反应速率, 则提高 a_b 会得到更高的光合速率, 这一点通过计算可以证实。

当 a_b 和 a_c 取相异值时, 各种 C_i 通量的变化则较为复杂。图 7 显示了各种 a_b, a_c 组合的情况下净 HCO₃⁻ 及 CO₂ 的吸收随光强的变化。外界 C_i 浓度为 500 μmol·L⁻¹ 时, 若 $a_b > a_c$, 则 HCO₃⁻ 的吸收随光强的增加先增加而后减少; 若 $a_b < a_c$, 则一直增加; 若 $a_b = a_c$, 则表现为增加到一定程度后很快趋于饱和 (图 7A)。CO₂ 吸收对不同的 a_b, a_c 组合甚至表现出完全相反的吸收曲线 (图 7B)。当外部 C_i 浓度为 10 μmol·L⁻¹ 时, HCO₃⁻ 吸收的通量虽然不大, 但对不同的 a_b, a_c 组合也表现出相反的吸收曲线 (图 7C); CO₂ 的吸收则表现为持续的增长, 虽然各种 a_b, a_c 组合下增长的幅度并不相同 (图 7D)。

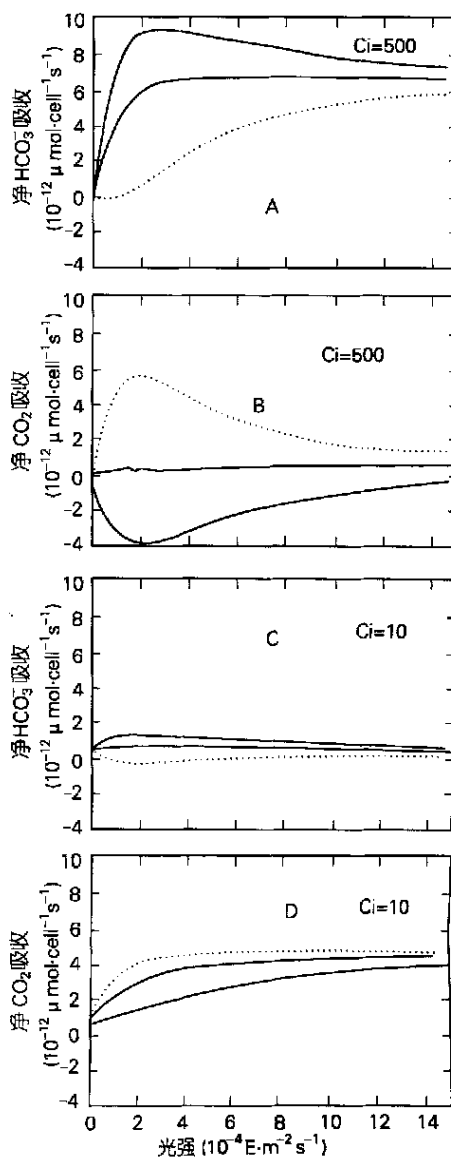


图 7 各种 a_b, a_c 值组合下 C_i 通量随光强的变化

实线 ($a_b > a_c$), 虚线 ($a_b = a_c$), 点线 ($a_b < a_c$)。净 HCO₃⁻ 吸收 (A, C), 净 CO₂ 吸收 (B, D)。背景 C_i 浓度分别为 500 μmol·L⁻¹ (A, B) 和 10 μmol·L⁻¹ (C, D)。

Fig. 7 Variations of the net HCO₃⁻ and CO₂ uptake following the change of light intensity under various a_b and a_c combinations

从这些模拟结果给出的信息, 不难发现, 不同的 a_b, a_c 组合将导致 CCM 的 C_i 吸收模式 (HCO₃⁻ 吸收和 CO₂ 吸收之间的比例) 发生很大的变化; 反

之,由不同的吸收曲线的组合,可以推断 a_b 和 a_c 之间的相对大小。以此为理论依据,可以设计实验,测出蓝藻细胞各种 C_i 吸收随光强的变化,再与上述模拟结果进行比较,就能够定性,甚至定量地得到 a_b 和 a_c 的大小,从而为探索蓝藻细胞在 C_i 转运中能量分配的方式提供了一种可能的途径。这对于研究 CCM 的供能机理具有十分重要的意义。当然,在这之前,准确地测定藻细胞 C_i 转运的各种参数,如各种 C_i 泵的 K_m 和 V_{max} ,是十分必要的。

3 小结

C_i 泵的供能机理是目前 CCM 研究中的热点问题之一。在目前测量技术难以满足实验要求的情况下,通过模型模拟的方法,分析 CCM 对光强变化的可能的反应规律,可以为将来的实验提供理论依据,对实验设计亦有一定的指导意义。本文所得的结果

尚有待实验证实。

参考文献

- 1 Kaplan A., Reinhold L.. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1999, 50: 539~570
- 2 Hein M., Sand-Jensen K.. *Nature*, 1997, 388: 526~527
- 3 Kaplan A. *et al.*. *Can. J. Bot.*, 1998, 76: 917~924
- 4 Price G.D. *et al.*. *Can. J. Bot.*, 1998, 76: 973~1002
- 5 Reinhold L. *et al.*. Organic carbon fluxes and photosynthesis in cyanobacteria - a quantitative model. In: Biggins J. (Ed.), *Progress in Photosynthesis Research*, 1987, 4: 289~296
- 6 Li Q., Calvin D.T.. *Plant Physiol.*, 1998, 116: 1125~1132
- 7 Tchernov D. *et al.*. *Can. J. Bot.*, 1998, 76: 949~953

EFFECT OF LIGHT ON THE CYANOBACTERIAL CO_2 CONCENTRATING MECHANISM

FU Xiang¹ HAN Bo-ping^{1,2}

(¹Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou, 510632)

(²Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Received: Aug. 9, 2001

Key Words: CO_2 concentrating mechanism (CCM), Model, Light intensity

Abstract

As the key process in CCM, inorganic carbon (C_i) transport, is energized by light, its activity is in close relation to light intensity. A mathematical model including both the variable of external C_i concentration and that of light intensity is developed to find how the cyanobacterial CO_2 concentrating mechanism (CCM) responds to the change of light intensity. The result shows: (1) photosynthetic rate and concentrating efficiency will rise with increasing light intensity; (2) variations of the characteristic light utilization efficiency of the C_i pumps can markedly change the response mode of CCM to light intensity.

(本文编辑:张培新)