



# 海带配子体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 的基因克隆与功能鉴定研究

林培翀<sup>1</sup> 毕燕会<sup>2</sup>

1. 上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海 201306
2. 上海海洋大学水产种质资源开发利用教育部重点实验室, 上海 201306



## 研究背景

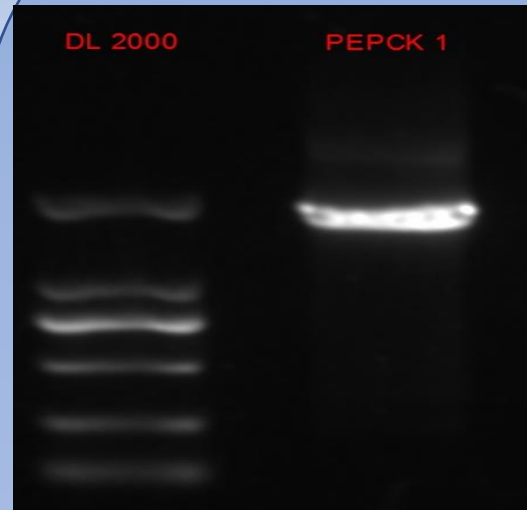
海洋中约90%的溶解无机碳以碳酸氢根离子 ( $\text{HCO}_3^-$ ) 的形式存在, 其余的以碳酸盐离子 ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) 和溶解的二氧化碳的形式存在。由于 $\text{CO}_2$ 在海水中的扩散速率较低, 大多数藻类直接吸收 $\text{HCO}_3^-$ , 而不是 $\text{CO}_2$ 。这就意味着, 藻类当中可能存在着与C4途径类似的有效的无机碳固定途径。

C4和CAM植物在进化过程中形成了特异的光合作用  $\text{CO}_2$  浓缩机制, 以提高核酮糖1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)周围的 $\text{CO}_2$ 浓度, 增强Rubisco的羧化活性, 降低其氧化活性。进而提高植物的光合作用能力。藻类也可能存在类似途径, 而磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)在其中发挥重要作用。

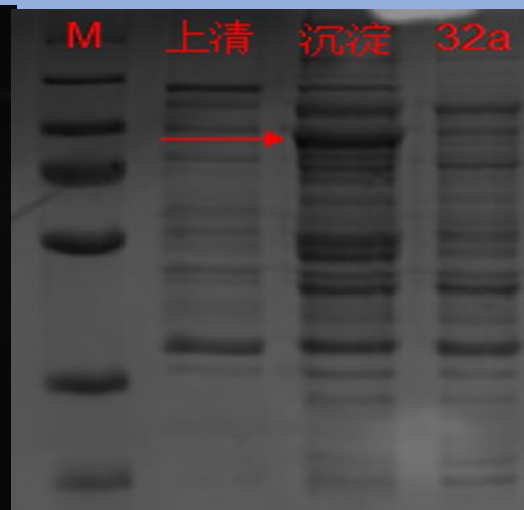
## 结论

现有的研究也证实PEPCK是海洋藻类中获取并高效利用无机碳的过程中的一种关键酶, 主要负责碳同化。尽管PEPCK及PEPC的生化机制已在植物中广泛研究, 但在大多数海洋藻类的研究仅描述了光合作用和非光合作用羧化过程的体内和体外能力, 但其调节过程和表达尚不明确。其定位与酶活性及调节过程, 仍有待研究。海带中PEPCK的免疫特性及亚细胞定位已经有了初步的预测, 但是还是需要进一步描述藻类碳代谢中PEPCK的功能和定位。而且大型海藻在碳代谢, 在降低全球 $\text{CO}_2$ 浓度方面起主要作用,

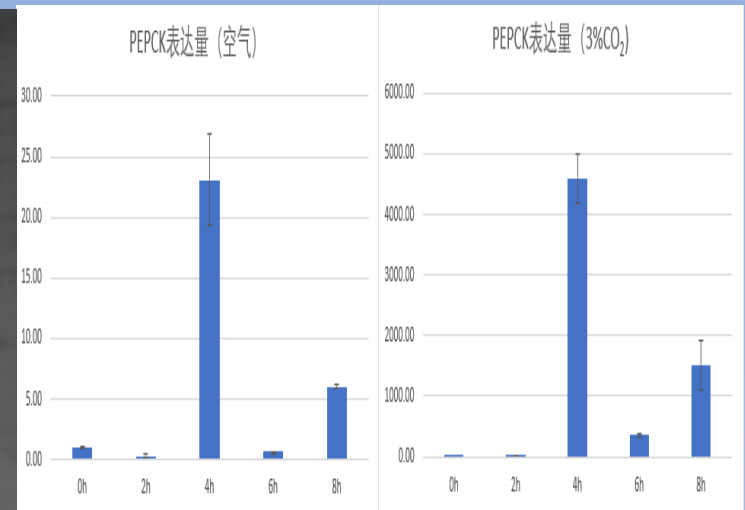
## 实验结果



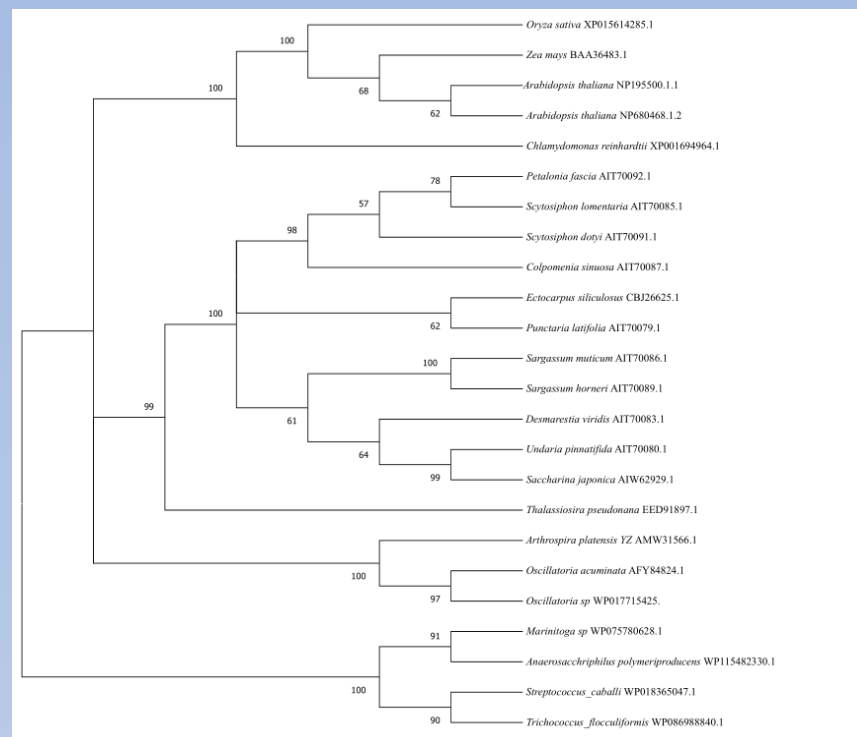
PEPCK目的基因



PEPCK目的蛋白



不同 $\text{CO}_2$ 浓度PEPCK基因表达



PEPCK系统进化树

1. 本文从海带配子体中克隆出PEPCK基因, 全长共1734bp, 编码577个氨基酸。
2. 通过构建原核表达载体pET32a-PEPCK, 并将其转化至大肠杆菌BL21, 经诱导表达可获得相对分子质量为63kDa的重组蛋白。
3. 由海带PEPCK氨基酸序列的构建的NJ系统发育树, 植物当中PEPCK与藻类PEPCK属于不同分支, 而在海洋藻类中, 硅藻、红藻和褐藻形成不同的分簇。
4. 利用实时荧光定量PCR(qPCR)方法分析海带PEPCK基因在不同 $\text{CO}_2$ 浓度下的表达差异, 发现在高 $\text{CO}_2$ 浓度下, PEPCK基因高表达。