

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 21620101152430

UDC \_\_\_\_\_

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

IPP 异构酶基因遗传转化对雨生红球藻

虾青素含量影响的研究

Study on the effects of genetic transformation of isopentenyl  
diphosphate isomerase gene on the astaxanthin content of

*Haematococcus pluvialis*

王 娜

指导教师姓名: 林祥志 研究员, 邵宗泽 研究员

专业名称: 细胞生物学

论文提交日期: 2013 年 4 月

论文答辩时间: 2013 年 5 月

学位授予日期: 2013 年 6 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2013 年 4 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- ( ) 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年   月   日解密，解密后适用上述授权。  
( √ ) 2. 不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人（签名）：

年   月   日

## 摘要

虾青素是一种抗氧化活性极强的类胡萝卜素，具有广泛的应用价值。雨生红球藻是自然界虾青素含量最高的生物，能在逆境胁迫条件下大量合成并积累虾青素，其虾青素积累量可高达细胞干重的 4%。但生物量提高与虾青素积累的矛盾限制了虾青素的规模化生产，因此通过基因工程手段改造雨生红球藻的生物学特性，提高其生长速度和虾青素含量具有重要意义。

本研究克隆了虾青素合成过程中的关键酶——IPP 异构酶基因，利用建立的农杆菌侵染转化体系和基因枪法将 *ipiHp1* 基因导入雨生红球藻细胞内，分析过表达 IPP 异构酶基因的雨生红球藻株生物量及虾青素含量的变化。主要研究成果如下：

1. 建立了农杆菌介导的雨生红球藻遗传转化的筛选体系，将外源荧光蛋白 *egfp* 基因转入雨生红球藻体内并成功表达。检测了转化子的生物量和虾青素含量，结果表明与野生型雨生红球藻无显著性差异，证明该方法可用于后续的雨生红球藻基因工程改造。
2. 利用 RT-PCR 技术克隆了 *ipiHp1* 基因，利用农杆菌介导法将双元载体 pCAMBIA3300 -*egfp*- *ipiHp1* 转入雨生红球藻体内，鉴定表明 *ipiHp1* 基因已整合到转化子的基因组 DNA 中，同时检测了转化株虾青素含量的变化，检测发现转化株 A3 的虾青素含量与野生型有显著差异( $P<0.05$ )，平均值达到 16.49mg/g，比野生型提高了 5.16%，为构建高产虾青素的基因工程藻株奠定了基础。
3. 构建了基因枪转化载体 pBlueScript SK II - *bar* - *egfp* - *ipiHp1*，利用基因枪转化法转入雨生红球藻细胞内，荧光观察及 PCR 验证发现目的基因已插入到转化子的基因组 DNA 中，检测了转化子虾青素含量的变化，统计学分析表明转化株虾青素含量与野生型无显著性差异( $P>0.05$ )。

本研究构建的表达载体和建立的农杆菌转化体系为雨生红球藻的转基因研究奠定了基础，具有重要应用价值。

**关键词：**雨生红球藻；*ipiHp1* 基因；遗传转化

## Abstract

Astaxanthin, a kind of red ketocarotenoid, has extensive application value because of its strong antioxidant ability. It is generally accepted that *Haematococcus pluvialis* can accumulate the highest levels (up to 4% dry weight) of astaxanthin under environmental stress among the natural creatures. But the large-scale production of astaxanthin is limited by the contradiction between biomass increase and astaxanthin accumulation. It is of great significance to increase growth and astaxanthin content of *Haematococcus pluvialis* by genetic engineering strategy.

In this study, a key enzyme in the process of astaxanthin synthesis, isopentenyl pyrophosphate isomerase gene was cloned and introduced to the cell of *H. pluvialis* by *Agrobacterium tumefaciens* –mediated transformation and particle bombardment transformation. The variation in biomass and astaxanthin content of *H. pluvialis* that overexpression of *ipiHp1* has analyzed. The main results are shown as follows:

1. We have developed a novel transformation approach of *H. pluvialis* using the *Agrobacterium tumefaciens* binary vector system. Recombinant plasmid pCAMBIA3300 -*egfp* containing the *egfp* gene was introduced into *H. pluvialis* and expressed successfully. More importantly, the majority of the transformants displayed similar biomass and astaxanthin content comparing with the wild type strain. Our results suggested that genetically engineered *H. pluvialis* could be explored by this system.

2. The isopentenyl diphosphate isomerase gene fragment was amplified by RT-PCR. The binary expression vector pCAMBIA3300 -*egfp*- *ipiHp1* containing the *egfp* expression box and *ipiHp1* expression box was constructed and introduced into *H. pluvialis* by *A. tumefaciens* –mediated transformation. PCR identification showed that *ipiHp1* gene has been integrated into genomic DNA of *H. pluvialis*. Astaxanthin content detection found that the transformant strain A3 had significant difference comparing with the wild type strain ( $P < 0.05$ ). The average reached to 16.49 mg/g, compared to wild type increased by 5%. The work has laid a foundation for constructing *H. pluvialis* strains of high yield of astaxanthin.

3. The expression vector pBlueScript SK II -*bar* - *egfp* - *ipiHp1* was constructed and introduced into *H. pluvialis* by particle bombardment transformation. Fluorescence assay and PCR identification showed that the exogenous gene *egfp* and target gene *ipiHp1* has been integrated into genomic DNA of *H. pluvialis*. We detected the variation of biomass and astaxanthin content. The statistical analysis indicates that there was no significant difference ( $P > 0.05$ ) between transformants and wild-type strains in the variation of astaxanthin content.

The constructed expression vector and the established transformation method by *Agrobacterium tumefaciens* in this study will play an important role in the transgenic research of *Haematococcus pluvialis*.

**Key Words:** *Haematococcus pluvialis*; *ipiHp1* gene; genetic transformation

## 目 录

摘 要.....	I
----------	---

Abstract.....	II
---------------	----

第一章 绪 论 .....	1
---------------	---

1.1 虾青素的生理功能及应用 .....	1
-----------------------	---

1.1.1 虾青素简介 .....	1
1.1.2 虾青素的生理功能 .....	3
1.1.3 虾青素的应用 .....	5

1.2 虾青素的来源及研究状况.....	6
----------------------	---

1.2.1 化学合成虾青素 .....	6
1.2.2 从甲壳类动物加工的废弃物中提取虾青素 .....	7
1.2.3 利用酵母生产虾青素 .....	7
1.2.4 利用微藻生产虾青素 .....	7

1.3 雨生红球藻的生物学特征及虾青素积累机制 .....	8
-------------------------------	---

1.3.1 雨生红球藻的生物学特征 .....	8
1.3.2 雨生红球藻的虾青素合成途径 .....	9
1.3.3 雨生红球藻的虾青素积累机制 .....	10
1.3.4 影响雨生红球藻积累虾青素的因素 .....	11
1.3.5 利用雨生红球藻生产虾青素的局限性 .....	13

1.4 雨生红球藻的遗传转化研究进展.....	13
-------------------------	----

1.4.1 真核微藻遗传转化研究进展 .....	13
1.4.2 雨生红球藻虾青素合成酶相关基因研究进展 .....	16
1.4.3 雨生红球藻遗传转化研究进展 .....	17

1.5 研究内容及其意义.....	18
-------------------	----

第二章 根癌农杆菌介导的雨生红球藻遗传转化体系的建立 .....	20
----------------------------------	----

2.1 实验材料.....	20
---------------	----

2.1.1 雨生红球藻培养 .....	20
2.1.2 菌株, 克隆载体, 工具酶 .....	21
2.1.3 引物序列与合成 .....	21
2.1.4 主要试剂 .....	22

2.1.5 主要仪器设备 .....	22
<b>2.2 实验方法.....</b>	<b>22</b>
2.2.1 雨生红球藻抗生素敏感性检测 .....	22
2.2.2 根癌农杆菌介导法筛选体系的建立 .....	23
2.2.3 报告基因 <i>egfp</i> 与 <i>eyfp</i> 的克隆及表达模块的构建 .....	23
2.2.4 双元载体 pCAMBIA3300 - <i>egfp/eyfp</i> 的构建 .....	25
2.2.5 根癌农杆菌转化 .....	25
2.2.6 根癌农杆菌介导法的转化程序 .....	26
2.2.7 阳性转化子的鉴定 .....	27
2.2.8 阳性转化子的生物量及虾青素含量的检测 .....	28
<b>2.3 结果与分析.....</b>	<b>29</b>
2.3.1 雨生红球藻抗生素敏感性检测及筛选试剂的确定 .....	29
2.3.2 根癌农杆菌介导法筛选体系的建立与评价 .....	30
2.3.3 报告基因 <i>egfp</i> 与 <i>eyfp</i> 的克隆及表达模块的构建 .....	31
2.3.4 双元载体 pCAMBIA3300 - <i>egfp/eyfp</i> 的构建 .....	33
2.3.5 根癌农杆菌介导的雨生红球藻转化结果 .....	34
2.3.6 阳性转化子的鉴定 .....	35
2.3.7 阳性转化子生物量及虾青素含量的检测 .....	36
<b>2.4 本章小结.....</b>	<b>39</b>
<b>第三章 根癌农杆菌介导的 IPP 异构酶的遗传转化.....</b>	<b>40</b>
<b>3.1 材料与方法 .....</b>	<b>40</b>
3.1.1 克隆载体及引物序列 .....	40
3.1.2 雨生红球藻 IPP 异构酶基因( <i>ipiHp1</i> )的克隆 .....	41
3.1.3 IPP 异构酶基因表达模块的构建 .....	44
3.1.4 重组质粒 pCAMBIA3300 - <i>egfp-ipiHp1</i> 的 LIC 法构建及转化.....	45
3.1.5 阳性转化子的鉴定 .....	48
3.1.6 阳性转化子生物量及虾青素含量的检测 .....	48
<b>3.2 结果与分析 .....</b>	<b>48</b>
3.2.1 雨生红球藻 IPP 异构酶基因( <i>ipi</i> )的克隆及序列测定 .....	48
3.2.2 重组质粒 pCAMBIA3300 - <i>egfp-ipi</i> 的构建及转化 .....	50
3.2.3 阳性转化子的鉴定 .....	51
3.2.4 阳性转化子生物量及虾青素含量的检测 .....	52
<b>3.3 本章小结 .....</b>	<b>55</b>
<b>第四章 雨生红球藻 IPP 异构酶的基因枪转化 .....</b>	<b>56</b>
<b>4.1 材料与方法 .....</b>	<b>56</b>

4.1.1 克隆载体及引物序列 .....	56
4.1.2 选择标记基因 <i>bar</i> 表达模块的克隆 .....	57
4.1.3 重组质粒 pBlueScript SK II - <i>bar</i> - <i>egfp</i> - <i>ipiHp1</i> 的构建 .....	57
4.1.4 基因枪法转化程序 .....	60
4.1.5 阳性转化子的鉴定 .....	61
4.1.6 阳性转化子虾青素含量的检测 .....	61
<b>4.2 结果与分析 .....</b>	<b>61</b>
4.2.1 选择标记基因 <i>bar</i> 表达模块的克隆及序列测定 .....	61
4.2.2 重组质粒 pBlueScript SK II - <i>bar</i> - <i>egfp</i> - <i>ipiHp1</i> 的构建 .....	62
4.2.3 基因枪法转化雨生红球藻结果 .....	63
4.2.4 阳性转化子的鉴定 .....	64
4.2.5 阳性转化子生物量及虾青素含量的检测 .....	65
<b>4.3 本章小结 .....</b>	<b>68</b>
<b>第五章 展望 .....</b>	<b>69</b>
<b>参考文献： .....</b>	<b>70</b>
<b>致 谢.....</b>	<b>78</b>

## Table of Contents

**Abstract in Chinese.....** **I**

**Abstract in English .....** **II**

**1.Introduction.....** **1**

**1.1 Function and Application of astaxanthin.....** **1**

- 1.1.1 Astaxanthin introduction ..... 1
- 1.1.2 Physiological function of astaxanthin ..... 3
- 1.1.3 Utilization of astaxanthin ..... 5

**1.2 Resource of astaxanthin.....** **6**

- 1.2.1 Astaxanthin from chemical synthesis ..... 6
- 1.2.2 Astaxanthin from natural extraction..... 7
- 1.2.3 Astaxanthin from yeast fermentation ..... 7
- 1.2.4 Astaxanthin from algae ..... 7

**1.3 Characteristic of *Haematococcus pluvialis* and mechanism of astaxanthin accumulation .....** **8**

- 1.3.1 Characteristic of *Haematococcus pluvialis* ..... 8
- 1.3.2 Synthesis of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* ..... 9
- 1.3.3 Mechanism of astaxanthin accumulation ..... 10
- 1.3.4 Factor affecting astaxanthin accumulation ..... 11
- 1.3.5 Limitations of astaxanthin synthesis from *H.pluvialis* ..... 13

**1.4 Research progress on genetic transformation of *H.pluvialis* .....** **13**

- 1.4.1 Research progress on genetic transformation of eukaryotic algae ..... 13
- 1.4.2 Research progress on related gene of astaxanthin synthesis ..... 16
- 1.4.3 Research progress on genetic transformation of *H.pluvialis* ..... 17

**1.5 Purpose and content of study .....** **18**

**2. Establishment of *Agrobacterium tumefaciens*–mediated transformation System *H.pluvialis* .....** **20**

**2.1 Materials .....** **20**

- 2.1.1 Cultivation of *H.pluvialis* ..... 20

---

2.1.2 Strain, cloning vector and enzyme .....	21
2.1.3 Primer sequence and synthesis .....	21
2.1.4 Main reagents .....	22
2.1.5 Main experiment equipments .....	22
<b>2.2 Methods.....</b>	<b>22</b>
2.2.1 Antibiotic sensitivity assay of <i>H.pluvialis</i> .....	22
2.2.2 Establishment of screening system in transformation .....	23
2.2.3 Construction of <i>egfp/eyfp</i> expression box .....	23
2.2.4 Construction of binary vector pCAMBIA3300 – <i>egfp/eyfp</i> .....	25
2.2.5 Vector introduced into <i>A.tumefaciens</i> .....	25
2.2.6 Program of <i>A.tumefaciens</i> –mediated transformation .....	26
2.2.7 Identification of positive transformants .....	27
2.2.8 Biomass and astaxanthin content detection of transformants .....	28
<b>2.3 Results and discussion .....</b>	<b>29</b>
2.3.1 Antibiotic sensitivity assay of <i>H.pluvialis</i> .....	29
2.3.2 Establishment of screening system in transformation .....	30
2.3.3 Construction of <i>egfp/eyfp</i> expression box .....	31
2.3.4 Construction of binary vector pCAMBIA3300 – <i>egfp/eyfp</i> .....	33
2.3.5 Results of <i>A.tumefaciens</i> –mediated transformation.....	34
2.3.6 Identification of positive transformants .....	35
2.3.7 Biomass and astaxanthin content detection of transformants .....	36
<b>2.4 Summary.....</b>	<b>39</b>
<b>3. <i>A.tumefaciens</i> –mediated transformation of <i>ipiHp1</i> .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1 Materials and Methods.....</b>	<b>40</b>
3.1.1 Cloning vector and primer sequence .....	40
3.1.2 Cloning of <i>ipiHp1</i> gene of <i>H.pluvialis</i> .....	41
3.1.3 Construction of <i>ipiHp1</i> expression box.....	44
3.1.4 Construction and transformation of pCAMBIA3300– <i>egfp –ipiHp1</i> .....	45
3.1.5 Identification of positive transformants .....	48
3.1.6 Biomass and astaxanthin content detection of transformants .....	48
<b>3.2 Results and discussion .....</b>	<b>48</b>
3.2.1 Cloning and sequencing of <i>ipiHp1</i> gene of <i>H.pluvialis</i> .....	48
3.2.2 Construction and transformation of pCAMBIA3300– <i>egfp –ipiHp1</i> .....	50
3.2.3 Identification of positive transformants .....	51
3.2.4 Biomass and astaxanthin content detection of transformants .....	52
<b>3.3 Summary.....</b>	<b>55</b>

<b>4. Particle bombardment transformation of <i>ipiHp1</i> .....</b>	<b>56</b>
<b>    4.1 Materials and methods .....</b>	<b>56</b>
4.1.1 Cloning vector and primer sequence .....	56
4.1.2 Cloning of <i>bar</i> expression box .....	57
4.1.3 Construction of pBlueScript SK II - <i>bar – egfp – ipiHp1</i> .....	57
4.1.4 Program of particle bombardment transformation .....	60
4.1.5 Identification of positive transformants .....	61
4.1.6 Biomass and astaxanthin content detection of transformants .....	61
<b>    4.2 Results and discussion .....</b>	<b>61</b>
4.2.1 Cloning and sequencing of <i>bar</i> expression box .....	61
4.2.2 Construction of pBlueScript SK II - <i>bar – egfp – ipiHp1</i> .....	62
4.2.3 Results of particle bombardment transformation .....	63
4.2.4 Identification of positive transformants .....	64
4.2.5 Biomass and astaxanthin content detection of transformants .....	65
<b>    4.3 Summary.....</b>	<b>68</b>
<b>5. Prospect.....</b>	<b>69</b>
<b>Reference: .....</b>	<b>70</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>78</b>

# 第一章 绪论

## 1.1 虾青素的生理功能及应用

### 1.1.1 虾青素简介

虾青素(astaxanthin)又名虾红素、虾黄素、龙虾壳色素，是一种脂溶性红色类胡萝卜素，属于萜烯类不饱和化合物，化学名称为3, 3'-二羟基-4, 4'-二酮基- $\beta$ ,  $\beta'$ -胡萝卜素，分子式为C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub>，相对分子质量为596.86，其化学结构由四个异戊二烯单位以共轭双键形式连接而成，在两端各有一个异戊二烯单位组成的六元环结构。如图1.1所示：

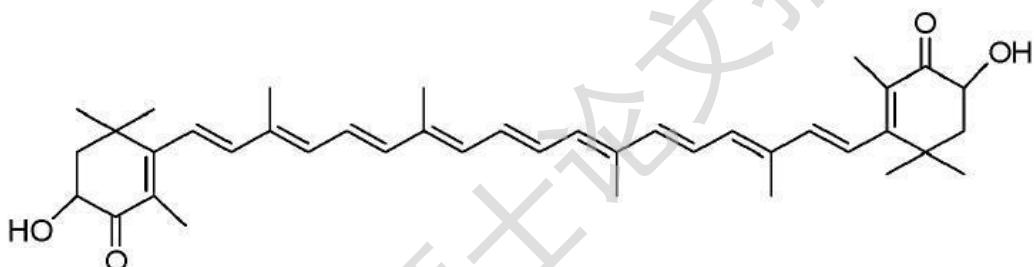


图 1.1 虾青素的化学结构式

Fig 1.1 Structure of astaxanthin

由于与C-C双键结合的原子可以有不同的排列方式，共轭多烯链中的每个双键都可以为顺式(cis, Z结构)或反式(trans, E结构)构型，但由于顺式构型在热力学上不稳定，在自然界中，反式构型的虾青素占绝对优势<sup>[1]</sup>。

虾青素分子末端环状结构各有一个羟基，与两个羟基分别连接的两个碳原子(C-3和C-3')为手性碳原子，以这两个手性碳原子为对称中心，可形成3种不同的构型，即3R, 3'R、3S, 3'S、3R, 3'S三种旋光异构体(图1.2)。其中3R, 3'R、3S, 3'S互为对映体且具有旋光性，3R, 3'S不具有旋光性。化学合成的虾青素均为游离虾青素，且为三种光学异构体的混合物<sup>[2]</sup>，各结构体的质量比为：n(3S, 3'S): n(3R, 3'S): n(3R, 3'R)=1: 2: 1<sup>[3]</sup>。在生物体内，通常会选择性积累同一种光学异构体，故天然虾青素均以3R, 3'R或3S, 3'S形式存在<sup>[4]</sup>。藻源虾青素如雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)生物合成的虾青素结构为3S, 3'S异构体，而酵母菌源虾青素如红法夫酵母(*Phaffia rhodozyma*)

等合成的虾青素为 3R, 3'R 异构体<sup>[5]</sup>。

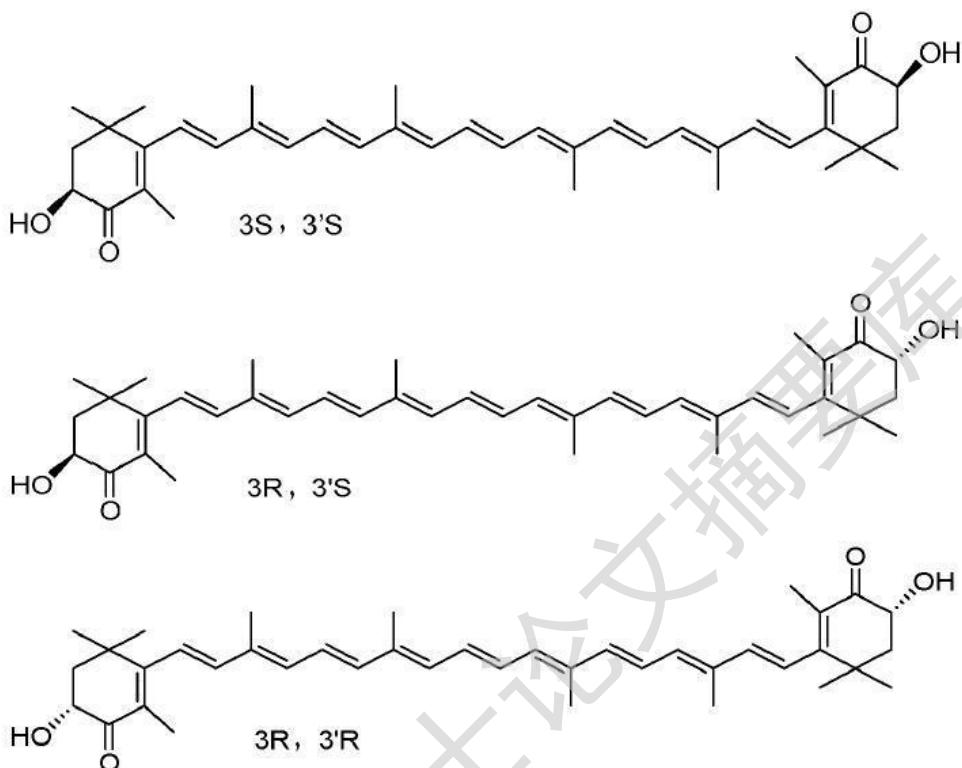


图 1.2 虾青素的立体异构体

**Fig 1.2 Spatial structure of astaxanthin isomers**

虾青素是一种酮式类胡萝卜素，属于番茄红素的衍生物，与常见类胡萝卜素如  $\beta$ -胡萝卜素，叶黄素，角黄素化学结构相似，在代谢与生理功能方面具有很多类胡萝卜素的共同特征。但虾青素由于其末端环上的羰基和羟基使得它具有极高的抗氧化活性<sup>[6]</sup>和酯化作用，研究表明，虾青素比  $\beta$ -胡萝卜素具有更强的抗氧化能力<sup>[7]</sup>。相比其他类胡萝卜素，虾青素极性也更强。游离虾青素非常不稳定，对氧化作用极其敏感，因此在生物体内虾青素通常与蛋白质结合形成结合蛋白，呈现出青、蓝色(例如虾蟹壳)，蛋白质变性后呈现橙红色。虾青素两端的羟基也可与脂肪酸反应形成虾青素单酯或虾青素双酯，以提高分子的稳定性。研究发现，虾青素酯比游离虾青素更稳定，更有利其在组织中沉积<sup>[8]</sup>。例如在雨生红球藻细胞中，虾青素主要是以虾青素单酯的形式存在<sup>[9]</sup>。

动物自身通常无法合成虾青素，只能通过食物链积累由藻类等合成的虾青素。某些甲壳类动物如虾可以将食物中其它的类胡萝卜素转化为虾青素，但这种转化能力非常微弱。哺乳动物不能合成虾青素，也不能将摄取的虾青素转化

成维生素 A，因此在哺乳动物体内，虾青素属于非维生素 A 原的类胡萝卜素<sup>[10]</sup>。

虾青素纯品是粉红色针状结晶体，具有光泽，熔点 216℃，不溶于水，易溶于吡啶，二硫化碳，苯等有机溶剂，微溶于丙酮，氯仿，异丙醇等大部分有机溶剂。由于虾青素的结构体系中含有长链不饱和双键，因此虾青素单质性质非常不稳定，对紫外光、热、氧、酶敏感，易于异构化和降解<sup>[11]</sup>。

### 1.1.2 虾青素的生理功能

虾青素独特的分子结构使其具有超强的抗氧化能力。虾青素的抗氧化作用比其它类型的类胡萝卜素更强<sup>[12]</sup>，是迄今为止人类发现自然界中最强的抗氧化剂。因此，虾青素不仅具有一般类胡萝卜素的作用，而且由于其特有的结构赋予的超强抗氧化特性，使其生理功能更为突出。下面从几个方面加以讨论：

#### (1) 虾青素的抗氧化能力

正常的生物体代谢反应中会产生氧自由基(如过氧化氢)和活性氧(如单线态氧)。氧自由基会攻击细胞膜上的不饱和脂肪酸，引起脂质过氧化，破坏细胞膜。研究发现，自由基积累会导致生物体内自由基和抗氧化剂的失衡，造成机体过氧化损伤，是心血管疾病，风湿性关节炎和多种癌症等的重要原因<sup>[13, 14]</sup>。此外，活性氧会导致氨基酸氧化、蛋白质降解和 DNA 损伤等多种细胞伤害<sup>[15]</sup>。

虾青素的长链共轭双键及其末端的不饱和羟基和酮基结构具有比较活泼的电子效应，能向自由基提供电子或吸引自由基的未配对电子，易与自由基反应而清除自由基。Miki 将含亚铁离子的血红蛋白作为自由基产生者，亚油酸为接受者，用硫代巴比妥酸法检测了虾青素，叶黄素，金枪鱼黄质等类胡萝卜素及其衍生物和维生素 E 清除自由基的半数效应剂量 ED<sub>50</sub>，研究发现羟基和酮基的数目与清除自由基的作用密切相关，虾青素清除氧自由基的能力最强<sup>[8]</sup>。同时，虾青素是单线态氧的淬灭剂。Lee 等把叶黄素、玉米黄质、番茄红素、异玉米黄素和虾青素(双键数分别为 10, 11, 11, 11 和 13)5 种类胡萝卜素及其衍生物在豆油光氧化作用中淬灭活性氧的作用进行比较，发现此作用随共轭双键的增多而增强，并以虾青素的作用为最强<sup>[15]</sup>。越来越多的研究结果表明，虾青素拥有极强的抗氧化特性，其抗氧化能力比 β - 胡萝卜素高 10 倍以上，比维生素 E 高 550 倍(图 1.3)，被称为“超级维生素 E”<sup>[16]</sup>。

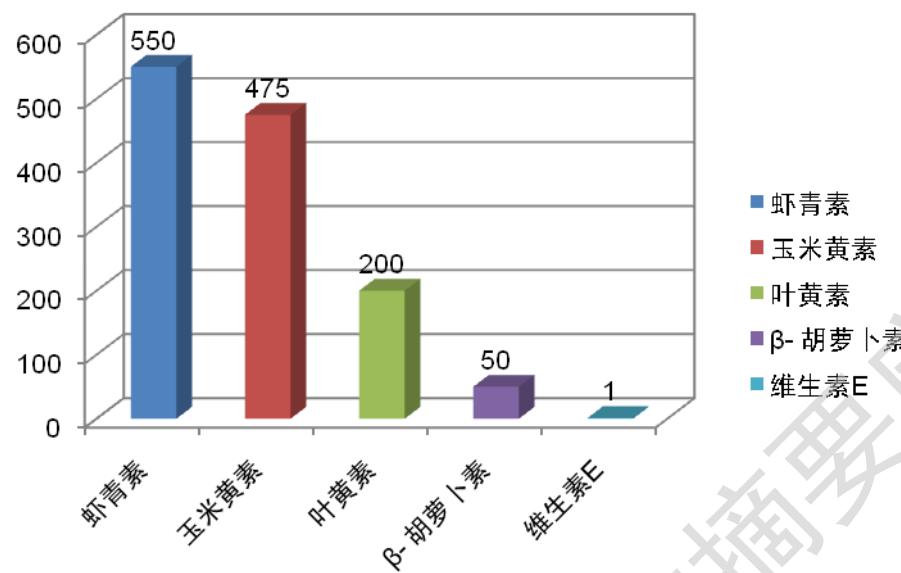


图 1.3 常见类胡萝卜素抗氧化能力比较

**Fig 1.3 antioxidant capacity comparison of carotenoids**

此外，虾青素的强抗氧化性还表现在可以解除光诱导产生的氧化胁迫，在保护组织免受紫外线的氧化损伤等方面起着重要作用。Connor 等分析了虾青素、叶黄素、 $\beta$  - 胡萝卜素等在保护小鼠肾纤维细胞免受 UVA 诱导产生的氧化胁迫方面的能力，发现虾青素(10 nmol/L)、 $\beta$  - 胡萝卜素(1 mmol/L)和叶黄素(1 mmol/L)均可保护机体减少氧化胁迫，而虾青素的效果最佳<sup>[17]</sup>。虾青素可以作为光保护剂用于延缓皮肤的衰老，虾青素可以在哺乳动物的视网膜中沉积，对改善视网膜功能，保护眼睛十分有效。

### (2) 增强机体免疫力

虾青素能显著增强机体的免疫系统功能，提高机体的免疫力。许多研究表明，虾青素能促进淋巴结抗体产生，特别是对于体内与 T 细胞相关抗原的抗体产生有明显的促进作用。小鼠实验表明，虾青素能显著促进胸腺依赖抗原(TD- Ag)刺激时抗体的产生，分泌 IgM 和 IgG 的细胞数增加，此效应对于恢复老龄动物的体液免疫有很大帮助，而  $\beta$  - 胡萝卜素和叶黄素的这一效应却比较弱<sup>[18]</sup>。在抗原入侵初期，虾青素可以增强特异性体液免疫反应，且效果优于  $\beta$  - 胡萝卜素等物质<sup>[19]</sup>。此外，虾青素还能增强小鼠释放白细胞介素- I $\alpha$  和肿瘤坏死因子  $\alpha$ ，其作用比  $\beta$  - 胡萝卜素和角黄质显著。

### (3) 预防心血管疾病和预防癌症

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文全文数据库