

李佳颖,胡利华,周海连,等. 植物果胶甲酯酶与果胶甲酯酶抑制子研究进展[J]. 江苏农业科学,2021,49(8):49–56.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.08.008

植物果胶甲酯酶与果胶甲酯酶抑制子研究进展

李佳颖¹, 胡利华², 周海连³, 魏晓双³, 王艳婷¹, 王令强^{2,3}

(1. 华中农业大学植物科学技术学院/生物质与生物能源研究中心, 湖北武汉 430070;

2. 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西南宁 530004;

3. 广西大学农学院/广西甘蔗生物学重点实验室, 广西南宁 530004)

摘要:果胶是植物细胞壁的主要组分,存在于胞间层与中间层,影响细胞的流变性与黏附性能。果胶的甲酯化程度影响果胶形态,对稳定细胞壁性质以及植物生长发育过程具有重要作用。果胶甲酯酶(PME)是果胶去甲酯化修饰的关键酶类,果胶甲酯酶抑制子(PMEI)可特异地结合 PME,调节其活性,共同决定果胶的去甲酯化。本文综述了 PME 与 PMEI 的结构及生化作用机制、相关基因家族和表达模式,并进一步对二者介导的果胶去甲酯化过程对细胞壁的影响及其与花粉管发育、根器官形成等植物生长发育过程和逆境响应关系的最新研究进展做了介绍,并进行了展望。

关键词:果胶;果胶甲酯酶;果胶甲酯酶抑制子;细胞壁;逆境响应

中图分类号:S188⁺.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)08-0049-07

果胶是由半乳糖醛酸(*D*-galacturonic acids, *D*-Gal-A)以 α -1,4-糖苷键连接形成的酸性杂多糖^[1],它可以改变细胞的流变性与黏附性能,对植物组织形态、器官建成、果实发育以及激素和逆境响应等具有重要作用^[2]。在工业中果胶也可作为食品添加剂、化妆品原料等被广泛用于食品、医疗保健化学化工行业。

根据侧链基团不同,果胶主要分为同聚半乳糖醛酸聚糖(HG)、鼠李 I 型半乳糖醛酸聚糖(RG-I)和鼠李 II 型半乳糖醛酸聚糖(RG-II)。HG 是由半乳糖醛酸共价连接的线性长链, RG-I 是由 α -1,2-*L*-鼠李糖与 α -1,4-*D*-半乳糖醛酸结合的聚合体, RG-II 的复杂多糖组成则包括 *D*-半乳糖、*L*-半乳糖、*L*-鼠李糖和 *D*-木糖等至少 12 种单糖,并通过硼酯键形成二聚体^[3]。

除了单糖组成的差异外,果胶还受到各种修饰。在高尔基体合成的果胶高度甲酯化,通常在 HG 的 C-6 位高度甲酯化, O-2、O-3 位部分乙酰化^[1,4]。果胶的甲酯度可达 70%,乙酰化程度为

40%~85%,不同组织器官间存在差异。高尔基体合成的高甲酯化的果胶经分泌小泡运输至细胞壁后,被果胶酶修饰,其中包括果胶甲酯酶(pectin methylesterases, PME)^[3,5]。PME 属于碳水化合物酯酶 CE8 家族,是果胶发生水解反应的第 1 个关键酶,目前发现和研究较多^[6]。PME 的活性可特异地被果胶甲酯酶抑制子(pectin methylesterases inhibitor, PMEI)调控。二者对于果胶的性质、维持细胞形态及中间层的稳定具有重要作用^[7-8]。本研究综述 PME、PMEI 的结构和作用机制及其在植物生长发育中的作用。

1 PME 和 PMEI 蛋白的结构与生化作用机制

1.1 PME 和 PMEI 的序列和结构

根据 N 端有无 PRO 结构域(PF04043), PME 可分为 Group I 和 Group II 2 类。Group I (type II) 无 PRO, 分子量 27~45 ku。Group II (type I) 有 1~3 个 PRO, 分子量 52~105 ku^[2]。对来自微生物和植物的 127 个 PME 氨基酸序列比对后发现, PME 有 5 个特征序列片段(GxYxE、QAVAl、QDTL、DFIFG 和 LGRPW)^[9]。

PME 蛋白的三维结构在细菌中首次被解析,此后在植物中也被阐明(图 1)^[10-11]。番茄的 PME 为右旋 β -螺旋蛋白,呈三股螺旋,其 N 端主要由一个 α -螺旋与第 1 个 β -折叠后的 β -转角构成, C 端由 4 个 α -螺旋从与 β -折叠侧面平行的 β -转角

收稿日期:2020-07-27

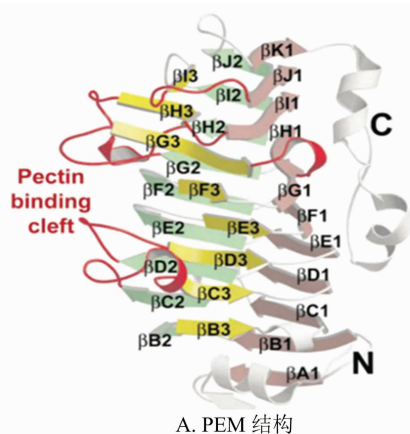
基金项目:国家自然科学基金(编号:31771775)。

作者简介:李佳颖(1993—),女,河南开封人,博士研究生,主要从事果胶甲酯化修饰对细胞壁结构影响研究。E-mail:jiayingli@webmail.hzau.edu.cn。

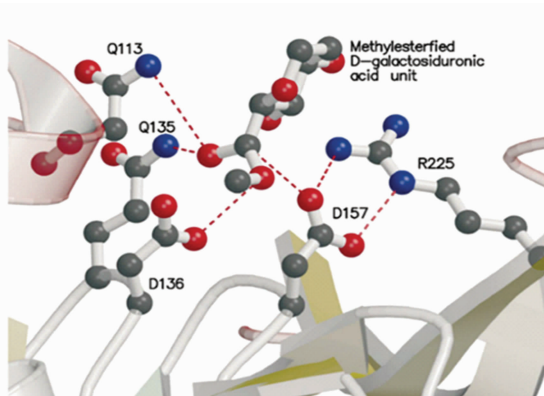
通信作者:王令强,博士,教授,主要从事植物细胞壁合成调控机理研究。E-mail:lqwang@gxu.edu.cn。

处伸出,内部芳香族氨基酸残基形成较长的裂缝区域,为 PME 活性结合区域^[12]。活性结合区域内的保守残基预测为 Phe80、Tyr135、Phe156、Tyr218、Trp223 和 Trp248,在植物中具保守性,在菊欧文式菌(*Erwinia chrysanthemi*) 中 Tyr135、Phe156、Trp223

仍具保守性^[11-12]。Dorokhov 等也证明了天冬氨酸残基(Asp136、Asp157)与谷氨酰胺残基(Gln113、Gln135)在 PME 活性位点中的作用^[13]。从三维(3D)模型看,植物的 PME 间活性位点残基和序列相似度高,与细菌的 PME 有差异^[2]。



A. PME 结构



B. 活性位变

图1 PME 结构与活性位点

按蛋白的基序分类,PMEI 属于隐马尔科夫模型 PF04043。type I 型 PME 中的 PRO 结构域与 PMEI 蛋白的序列具有相似性^[7]。PMEI 中保守性最强的为 4 个半胱氨酸残基位点,两两结合形成二硫键。猕猴桃 PMEI 的三维结构中,4 个 α 螺旋($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、和 $\alpha 4$)反向平行排列形成螺旋束,5 个半胱氨酸残基中前 4 个即 Cys74、Cys114、Cys9 和 Cys18 两两形成二硫键。其中,第 1 个二硫键与螺旋束内部的疏水作用对蛋白结构和稳定性起到支撑作用,第 2 个二硫键连接 αa 与 αb , αa 、 αb 与 αc 分别是构成 N 末端的 3 个短而弯曲的螺旋,与 $\alpha 1$ 、 $\alpha 4$ 构成的平面平行并延伸至外侧,N 末端所构成的区域对 PMEI 蛋白结构的稳定性具有重要作用^[14]。与 PMEI 均具有保守的半胱氨酸残基不同的是,PME 除了部分植物外,真菌和细菌中均未发现有保守性半胱氨酸残基^[9]。

1.2 PME 和底物的作用机制

PME 的去甲脂化催化过程:PME 中 Asp225 与 Asp157 二者以氢键结合,亲核攻击羧甲基酯键,与 Phe160 距离较近的 Asp136 充当质子供体,2 个谷氨酰胺可以稳定带有负电荷的中间体,从而释放甲醇,后 Asp136 与 H_2O 中的质子结合,致使催化底物与 Asp157 间氢键裂解,活性位点得以恢复(图 1)^[11]。PME 与底物形成多聚嵌合结构,有 3 种作用方式:(1)多链机制(multiple-chain mechanism)。在多条 HG 链上,PME 催化底物去甲酯化后与底物

解离,每次只有 1 个甲酯化的残基被攻击。(2)单链机制(single-chain mechanism)。在单条 HG 链上,PME 将甲酯化的基团连续去甲酯化。(3)多重攻击机制(multiple-attack mechanism)。PME 对底物中多个甲酯化基团去甲酯化^[15]。

PMEs 的活性受温度、pH 值等植物所处内外环境影响^[16-17]。Denès 等在苹果中发现,在 pH 值 = 7.0 时,PME 的作用机制为单链多重攻击机制,在 pH 值 = 4.5 时,则为多链多重攻击机制^[18]。Bonnin 等用荧光标记对 PME 的扩散进行追踪发现,纤维素存在的凝胶结构中 PME 的扩散更加明显,且扩散能力受到 PME 活性调控^[19]。

type I 型 PME 中的 PRO 也和 PME 活性调节有关。PRO 与 PMEI 蛋白序列相似,可作为分子内抑制子抑制 PME 活性,避免 PME 分泌至细胞壁前过早发挥去甲酯化作用;另外 PRO 还与 PME 在细胞壁上的锚定有关。研究表明,表达 type I 型 PME 基因后,在生长发育前期可检测到酸性 PRO 结构域蛋白的活性,抑制 PME 活性防止果胶过早去甲酯化。而将 PRO 表达抑制后,PME 活性积累增加,果胶的去甲酯化时期提前。再将 PRO 超表达后可恢复由于超表达 PME 引起的花粉管长度的改变^[20-21]。

1.3 PMEI 对 PME 的作用机制

PMEI 主要结合 PME 的活性区域,与 PME 以 1:1 形成非共价可逆复合体(图 2)^[12]。PMEI 与

PME 中和底物结合有关残基位点形成接触面,使底物无法进入 PME 活性区域。PME 保守残基位点 Phe80、Tyr135 和 Trp223 与底物间的相互作用同时受到阻碍。复合体的结合区域可形成较多氢键,提高其稳定性。

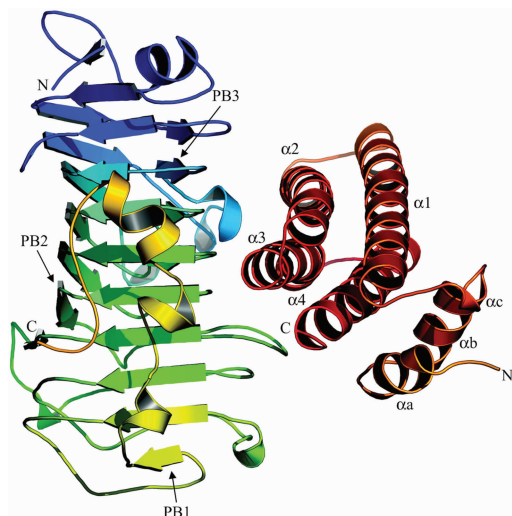


图2 PME 与 PME1 复合体结构

PMEI 和 PME 复合物的稳定性受 pH 值影响。酸性条件下的解离常数低于中性条件下的 10 倍。当处于接近生理 pH 值环境时, PMEI 与 PME 间的亲和力最高。有趣的是, 植物的 PMEI 对于真菌的 PME 抑制效果却不大。猕猴桃 PMEI 蛋白对植物 PME 活性有抑制作用, 但对细菌和真菌的 PME 无抑制作用^[7, 22-24]。原因包括: 一是细菌 PME 的活性区域裂缝较深, PMEI 无法深入覆盖其活性区域; 二是植物中的 PME 序列保守性较强, 而真菌中无类似的保守性位点^[25-26]。

PMEs 的活性受 PMEI 调控已有较多的分子生物学研究。在拟南芥种皮黏液释放机制中, 类枯草杆菌蛋白酶 (subtilisin-like Ser protease, SBT) 激活 PMEI 活性从而抑制 PME 活性^[27]。转录因子 LEUNIG - HOMOLOG/MUCILAGE MODIFIED1 (LUH/MUM1)、SEEDSTICK (STK) 与 MYB52 分别通过调控 PME16、SBT1.7 和 PME114 的表达而调控 PME 活性, 影响种皮黏液释放^[28-30]。SBT3.5 和 PME17 表达模式一致, SBT3.5 可靶向结合 type I 型 PME 的 2 个碱性基序位点, 对 PME 加工进而将其释放到胞质中^[27]。

PMEI 可同时多个 PME 产生抑制作用, 具体互作模式仍需深入研究。水稻的 PME112 和 PME18 与小麦的 TaPMEI 对于外源性的 PME 活性都有抑

制作用^[31]; 棉花中的 GhPMEI3 对 GhPME13 和 GhPME2 均有抑制作用^[32]。拟南芥的 AtPMEI4 与 AtPME19 和猕猴桃的 PME1 可对柑橘和番茄的 PME 表现出活性抑制。植物的 PMEI 对植物 PME 有抑制作用, 但对真菌 PME 无影响^[28, 33-34]。

2 PME 和 PME1 基因家族和表达模式

植物中 PME 是一类较大基因家族, 在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、水稻 (*Oryza sativa*)、亚麻 (*Linum usitatissimum*)、杨树 (*Populus trichocarpa*)、番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、梨 (*Pyrus bretschneideri*) 中已发现 66、43、105、89、79、81 个家族成员^[35-37]。PMEI 基因家族成员众多, 目前在拟南芥、高粱 (*Sorghum bicolor*)、亚麻、短柄草 (*Brachypodium distachyon*)、甘蓝 (*Brassica oleracea*) 和芸薹属物种白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 中鉴定的 PMEI 成员分别有 79、54、55、95、38、95、100 个^[38-39]。

PME 和 PMEI 家族成员具有特异表达模式, 倾向于在幼嫩组织中表达。拟南芥的 66 个 PME 成员中, 85% 在花蕾发育期有表达, 表明 PME 可能参与花粉发育及花粉管伸长。PMEI 基因与 PME 类似, 在花粉中的表达最高, 在花药中表达数量最多^[21]。部分 PMEI 基因存在组织特异表达, 且大多在花、花药和幼根等幼嫩组织中表达。芥菜 (*Capsella rubella*) 与拟南芥等中的 PMEI 转录本数的比例相对较高, 而与禾本科植物较低^[35]。亚麻中有 77.4% 的 PME 在花蕾中有表达, 在成熟组织中分别有 19 个 PME 及 24 个 PMEI 表达。在水稻中也发现部分 PMEI 基因的组织表达特异性, 如 *OsPMEI28* 和 *OsPMEI49* 分别在幼根和花中特异表达^[33]。PME 和 PMEI 存在互作表达模式, 在亚麻早期纤维发育中 PMEI 表达数量最少, 活性最弱, 自次生细胞壁合成开始至停止沉积期间 PMEI 的活性较高, 调控 PME 活性^[35]。

逆境可诱导 PME 与 PMEI 的表达。在茉莉酸甲酯 (MeJA)、水杨酸 (SA)、脱落酸 (ABA)、过氧化物、干旱、乙烯和冷害等胁迫下, PME 与 PMEI 的表达均变化^[32]。Chen 等研究发现, AtPMEI13 与 CbPMEI13 受低温诱导, 而受盐胁迫和 ABA 处理抑制^[40]。在水稻 43 个 PME 基因中, 有 27 个在细胞伸长期如营养生长期以及幼茎中有较高表达, 且对逆境胁迫有不同表达响应^[36]。水稻中不同的 PMEI

成员对逆境的响应在转录水平上存在调控差异^[33]。

此外,研究发现,过氧化物酶与 PMEI 有类似的表达模式。Paynel 等研究发现,镉诱导下细胞壁中果胶糖醛酸的共价交联增加且过氧化物酶活性和 PME 均有所增加^[41]。在拟南芥中发现的 PRX36 与 PME16 均定位于细胞壁结构域,且存在共表达。最近,利用免疫荧光共振能量转移-荧光寿命成像,确定拟南芥中 PME16 和与其有共表达关系的过氧化物酶 PRX36 存在互作,PMEI 介导的去甲酯化果胶平台在 PRX36 锚定细胞壁结构过程中具有重要作用^[42]。这些与其他酶之间的互作表明 PME 与 PMEI 在植物生长发育过程中发挥作用的复杂性,其中关系值得进一步研究。

3 PME 和 PMEI 对植物生长发育的影响

大量研究表明,PME 和 PMEI 介导的果胶去甲酯化修饰对植物的生长发育有重要影响。果胶的去甲酯化与细胞壁硬度密切相关,去甲酯化的 HG 产生带负电的羧基基团可结合阳离子(如与 Ca^{2+} 螯合)形成“蛋箱结构”,或固定 Al^{3+} 。细胞快速扩张时需要高甲酯化的果胶,当停止生长后在 PME 作用下,低甲酯化的果胶排列在细胞外壁使细胞壁硬度改变^[35,43]。PME 和 PMEI 的调控和互作,介导的果胶甲酯度改变,对植物细胞壁性质有重要影响,在植物种子萌发与花粉管发育、根部发育过程以及逆境响应中均扮演了重要角色(图 3)^[44]。

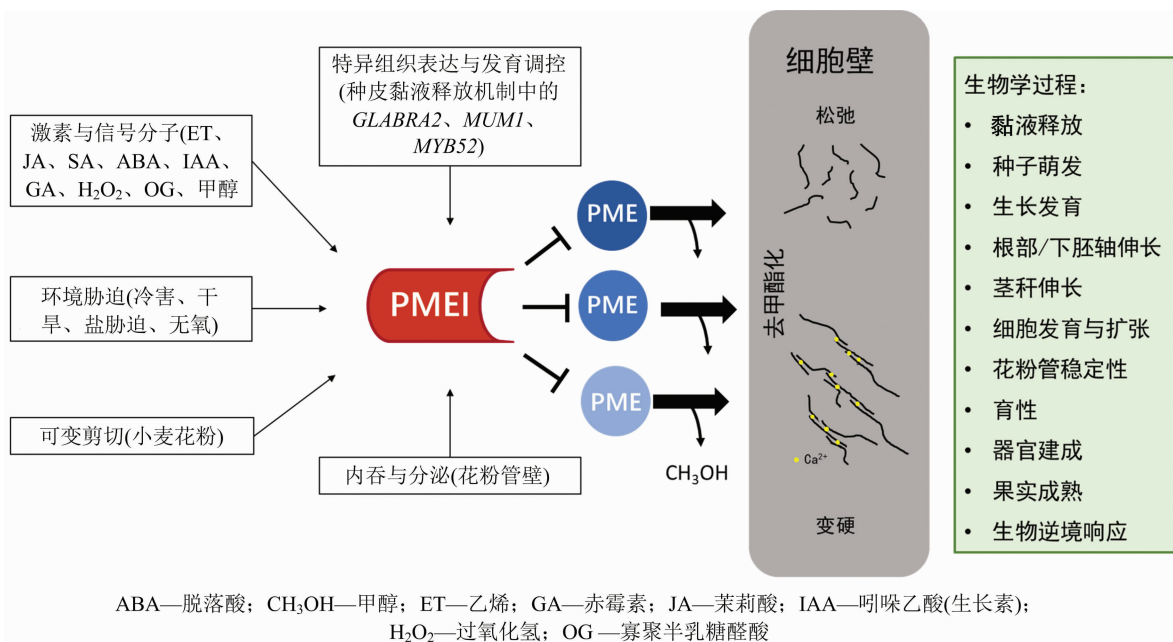


图3 PME 与 PMEI 对植物生物学过程的影响调控

3.1 PME 与 PMEI 影响种子萌发与花粉管发育

植物花粉管细胞壁主要由胼胝质和纤维素组成,顶端花粉管壁的组成则几乎完全是呈片层状的单层果胶。在花粉管中,果胶的去甲酯化使细胞壁变硬,在分生组织及叶片中,去甲酯化的果胶分布较多影响细胞壁延展性^[45-47]。

PME 与 PMEI 对花粉管发育有重要影响。Bosch 等研究发现,在施加外源 PME 之后,烟草的发芽率与花粉管生长显著降低,生长速度与 PME 浓度成反比^[21]。Zhang 等将甘蓝 *BoPMEII* 异源反义表达后发现,拟南芥花粉管伸长受到抑制,且部分表现为雄性不育和结实率下降。体外试验表明, *AtPMEI2* 在花粉管顶端特异表达抑制 PME 活性,且

抑制 *AtPMEI* 活性,从而调节花粉管外壁稳定性^[48]。在拟南芥的基因表达分析中,大量 PME 和 PMEI 特异地在花器官中表达,这与其功能是相一致的。

黏液释放是拟南芥种子在萌发过程中的重要过程,与去甲酯化的果胶有较大关联。PME58 是首个被确定对种皮黏液释放有直接影响的 PME 基因。利用 Ca^{2+} 螯合剂乙二胺四乙酸(EDTA)处理拟南芥种子,发现种皮周围黏液释放层扩大^[49]。PME16 是控制种皮黏液释放的关键基因,拟南芥 PME16 突变体中黏液释放的初生壁与次生壁的交联处变薄,使得种子在吸涨萌发后更易于将种皮黏液异常释放^[42]。

3.2 PME 和 PMEI 影响根部和果实发育

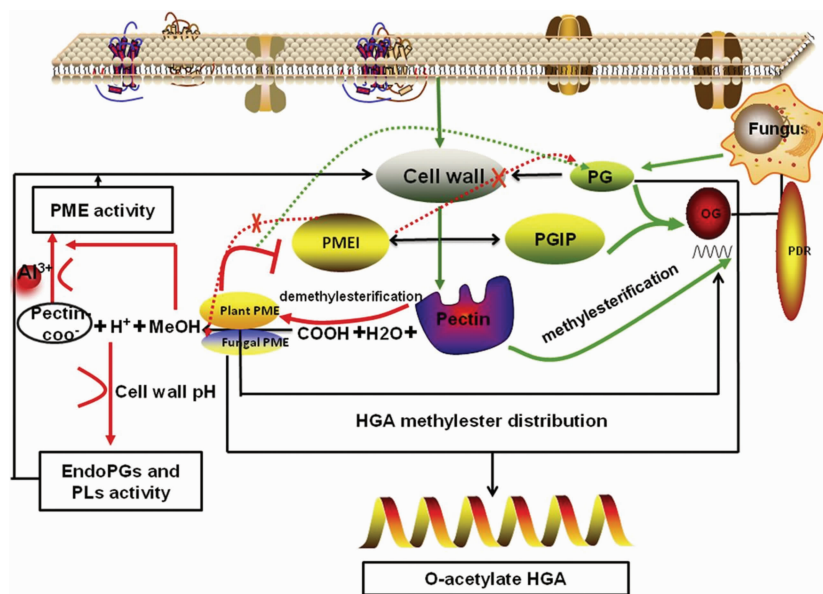
PME 与 PMEI 介导的果胶去甲酯化影响细胞壁

结构,对果实发育、软化、成熟过程均有影响。苹果果实成熟过程中,乙烯和低温可显著提高 PME 活性,加速果实软化。在番茄果实中,PME 酶活性的降低对果实的果胶代谢产生影响,改变植物果实中可溶性糖和可溶性固形物含量^[50]。此外,木质部中高度甲酯化的果胶为蔗糖转运提供运输通道,从而影响光合产物积累与碳源分配^[51]。草莓转录组数据表明,*FvPME38* 和 *FvPME39* 均在成熟期高度表达,且受到 ABA 调控,且二者的超表达植株与 RNAi 植株果实发育均受到影响^[52]。果胶去甲酯化会影响根部发育,拟南芥中 *AtPME3* 参与不定根的形成,突变体的根部对 Zn^{2+} 表现出敏感性。同时,萌发提前、根毛减少、种子黏液释放异常,且部分受体激酶以及 GA 相关基因表达下降,说明 *AtPME3* 参与调

控了植物生长发育的多个过程^[53]。研究发现,在缺磷时,梗稻日本晴中 PME 活性升高,难溶态磷释放增加,根尖中果胶去甲酯化程度与难溶态磷的活化程度趋势一致^[54-55]。

3.3 PME 和 PME1 影响植物逆境响应

PME 介导的去甲酯化过程中释放的甲醇可作为信号分子引起植物对逆境的响应。产生的质子引起胞内 pH 值的改变为细胞壁提供酸性环境,从而改变果胶降解酶如多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase, PG) 的活性。当植物遭受病原体攻击时,PGs 作用 HG 的裂解产物寡聚半乳糖醛酸 (oligogalacturonide, OGA) 可作为信号分子诱发植物防御机制 (图 4)^[56]。



Cell Wall—细胞壁; demethylesterification—去甲酯化; EndoPGs—内源多聚半乳糖醛酸酶; Fungus—病原菌; methylesterification—甲酯化; O-acetylate HGA—O-乙酰化半乳糖醛酸; PG—多聚半乳糖醛酸酶, PL—果胶裂解酶; PGIP—多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白; OG—寡聚半乳糖醛酸; PDR—抗病性

图4 PME 与 PME1 参与植物病原菌免疫反应模式

在水稻中超表达 *OsPME14*, 植株根的生长受到抑制, 表现出对铝胁迫的敏感性^[57]。将水稻中 PME 活性降低后发现, 细胞壁中铝含量降低^[58]。Liu 等研究发现, 在 *GhPME13* 的基因沉默植株中, *GhPME2*、*GhPME31* 与 *VdPG1* 的活性有所升高, 抗病性减弱; 而异源超表达植株下胚轴根毛增多, 伸长区细胞形态改变, 抗病性增强^[32]。类似地, 在 *AtPME12* 与 *AtPME13* 超表达植株中根长显著增加, 半乳糖醛酸总含量未变, 但甲酯化水平提高约 16%, 对灰霉的抗性增强。反之, *AtPME110*、*AtPME111*、*AtPME112* 的突变体植株均表现灰霉病抗

性降低^[48]。将杨树 *PtoPME35* 在拟南芥异源超表达后, 在甘露醇胁迫处理下可控制叶片气孔开合, 进而调控植物抗逆性^[59]。

4 展望

果胶影响细胞间的黏附性、流变性, 其合成与修饰途径影响着植物根部发育、花粉管萌发、器官建成以及逆境响应。由果胶甲酯酶与果胶甲酯酶抑制子所介导的果胶去甲酯化修饰影响植物生长发育的多个过程, 在种子萌发、花器官建成、根部与果实发育、逆境与胁迫响应及细胞壁结构中发挥重

要作用。但在植物中,PME 与 PME1 均为多基因编码家族蛋白,在发挥作用过程中的冗余现象目前仍需进一步探讨。另外,果胶的本身性质受到 PME 和 PME1 作用而改变,但越来越多的研究表明,果胶的改变造成整个细胞壁的性质和结构变化,而这一点在以前并没有得到足够的认识^[60-61]。由于去甲酯化的果胶与其他多种物质存在交联,如果胶与细胞壁大分子纤维素间的交联主要与果胶的甲酯度有关。而 PME 与 PME1 是否参与这些交联从而改变细胞壁结构影响植物生长发育值得研究。此外,PME1 可同时对多个 PME 产生活性抑制作用,对于 PME 的抑制作用是否皆为广谱性的抑制,其间的关联机制分析可为未来的研究提供方向。

参考文献:

- [1] Atmodjo M A, Hao Z, Mohnen D. Evolving views of pectin biosynthesis[J]. Annual Review of Plant Biology, 2013, 64: 747 - 779.
- [2] Pelloux J, Rusterucci C, Mellerowicz E J. New insights into pectin methylesterase structure and function[J]. Trends in Plant Science, 2007, 12: 267 - 277
- [3] Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2008, 11(3): 266 - 277.
- [4] Harholt J, Suttangkakul A, Scheller H V. Biosynthesis of pectin[J]. Plant Physiology, 2010, 153(2): 384 - 395.
- [5] Wolf S, Mouille G, Pelloux J. Homogalacturonan methyl - esterification and plant development[J]. Molecular Plant, 2009, 2(5): 851 - 860.
- [6] Jolie R P, Duvetter T, van Loey A M, et al. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review[J]. Carbohydrate Research, 2010, 345(18): 2583 - 2595.
- [7] Giovane A, Servillo L, Balestrieri C, et al. Pectin methylesterase inhibitor[J]. Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics, 2004, 1696(2): 245 - 252.
- [8] Lionetti V, Cervone F, Bellincampi D. Methyl esterification of pectin plays a role during plant - pathogen interactions and affects plant resistance to diseases[J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(16): 1623 - 1630.
- [9] Marković O, Janeček Š. Pectin methylesterases: sequence - structural features and phylogenetic relationships[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(13): 2281 - 2295.
- [10] Kohli P, Kalia M, Gupta R. Pectin methylesterases: a review[J]. Journal of Bioprocessing & Biotechniques, 2015, 5(5): 1.
- [11] Johansson K, El - Ahmad M, Friemann R, et al. Crystal structure of plant pectin methylesterase[J]. FEBS Letters, 2002, 514(2/3): 243 - 249.
- [12] di Matteo A, Giovane A, Raiola A, et al. Structural basis for the interaction between pectin methylesterase and a specific inhibitor

- protein[J]. The Plant Cell, 2005, 17(3): 849 - 858.
- [13] Dorokhov Y L, Skurat E V, Frolova O Y, et al. Role of the leader sequence in tobacco pectin methylesterase secretion[J]. FEBS Letters, 2006, 580(13): 3329 - 3334.
- [14] Hothorn M, Wolf S, Aloy P, et al. Structural insights into the target specificity of plant invertase and pectin methylesterase inhibitory proteins[J]. The Plant Cell, 2004, 16(12): 3437 - 3447.
- [15] Grasdalén H, Andersen A K, Larsen B. NMR spectroscopy studies of the action pattern of tomato pectinesterase: generation of block structure in pectin by a multiple - attack mechanism[J]. Carbohydrate Research, 1996, 289: 105 - 114.
- [16] Cameron R G, Luzio G A, Goodner K, et al. Demethylation of a model homogalacturonan with a salt - independent pectin methylesterase from citrus: I. Effect of pH on demethylated block size, block number and enzyme mode of action[J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71(2): 287 - 299.
- [17] Duvetter T, Fraeye I, Sila D N, et al. Mode of de - esterification of alkaline and acidic pectin methyl esterases at different pH conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(20): 7825 - 7831.
- [18] Denès J M, Baron A, Renard C M G C, et al. Different action patterns for apple pectin methylesterase at pH 7.0 and 4.5[J]. Carbohydrate Research, 2000, 327(4): 385 - 393.
- [19] Bonnin E, Alvarado C, Crépeau M J, et al. Mobility of pectin methylesterase in pectin/cellulose gels is enhanced by the presence of cellulose and by its catalytic capacity[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 1 - 10.
- [20] Micheli F. Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(9): 414 - 419.
- [21] Bosch M, Cheung A Y, Hepler P K. Pectin methylesterase, a regulator of pollen tube growth[J]. Plant Physiology, 2005, 138(3): 1334 - 1346.
- [22] Giovane A, Balestrieri C, Quagliuolo L, et al. A glycoprotein inhibitor of pectin methylesterase in Kiwi fruit: purification by affinity chromatography and evidence of a ripening - related precursor[J]. European Journal of Biochemistry, 1995, 233(3): 926 - 929.
- [23] Jiang C M, Li C P, Chang J C, et al. Characterization of pectinesterase inhibitor in jelly fig (*Ficus awkeotsang* Makino) achenes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17): 4890 - 4894.
- [24] Dedeurwaerder S, Menu - Bouaouiche L, Mareck A, et al. Activity of an atypical Arabidopsis thaliana pectin methylesterase[J]. Planta, 2009, 229(2): 311 - 321.
- [25] 梅晓宏, 陈燕卉, 高红岩, 等. 果胶甲酯酶抑制剂的进展[J]. 食品科技, 2008, 33(6): 64 - 68
- [26] D'Avino R, Camardella L, Christensen T M I E, et al. Tomato pectin methylesterase: modeling, fluorescence, and inhibitor interaction studies - comparison with the bacterial (*Erwinia chrysanthemi*) enzyme[J]. Proteins (Structure, Function, and Bioinformatics),

- 2003,53(4):830–839.
- [27] S  n  chal F, Graff L, Surcouf O, et al. Arabidopsis PECTIN METHYLESTERASE17 is co-expressed with and processed by SBT3. 5, a subtilisin-like serine protease[J]. Annals of Botany, 2014,114(6):1161–1175.
 - [28] S  n  chal F, Marek A, Marcelo P, et al. Arabidopsis PME17 activity can be controlled by pectin methylesterase inhibitor4 [J]. Plant Signaling & Behavior, 2015,10(2):e983351.
 - [29] Turbant A, Fournet F, Lequart M, et al. PME58 plays a role in pectin distribution during seed coat mucilage extrusion through homogalacturonan modification [J]. Journal of Experimental Botany, 2016,67(8):2177–2190.
 - [30] Shi D, Ren A, Tang X F, et al. MYB52 negatively regulates pectin demethylesterification in seed coat mucilage[J]. Plant Physiology, 2018,176(4):2737–2749.
 - [31] Hong M J, Kim D Y, Lee T G, et al. Functional characterization of pectin methylesterase inhibitor (PMEI) in wheat [J]. Genes & Genetic Systems, 2010,85(2):97–106.
 - [32] Liu N N, Sun Y, Pei Y K, et al. A pectin methylesterase inhibitor enhances resistance to *Verticillium* wilt[J]. Plant Physiology, 2018, 176(3):2202–2220.
 - [33] Nguyen H P, Jeong H Y, Kim H, et al. Molecular and biochemical characterization of rice pectin methylesterase inhibitors (*OsPMEIs*) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016,101:105–112.
 - [34] Hocq L, Pelloux J, Lefebvre V. Connecting homogalacturonan-type pectin remodeling to acid growth[J]. Trends in Plant Science, 2017,22(1):20–29.
 - [35] Pinz  n-Latorre D, Deyholos M K. Characterization and transcript profiling of the pectin methylesterase (PME) and pectin methylesterase inhibitor (PMEI) gene families in flax (*Linum usitatissimum*) [J]. BMC Genomics, 2013,14(1):742.
 - [36] Jeong H Y, Nguyen H P, Lee C. Genome-wide identification and expression analysis of rice pectin methylesterases; implication of functional roles of pectin modification in rice physiology [J]. Journal of Plant Physiology, 2015,183:23–29.
 - [37] Tang C, Zhu X X, Qiao X, et al. Characterization of the pectin methyl-esterase gene family and its function in controlling pollen tube growth in pear (*Pyrus bretschneideri*) [J]. Genomics, 2020, 112(3):2467–2477.
 - [38] Ren A, Ahmed R I, Chen H, et al. Genome-wide identification, characterization and expression patterns of the pectin methylesterase inhibitor genes in *Sorghum bicolor* [J]. Genes, 2019,10(10):755.
 - [39] Liu T, Yu H, Xiong X, et al. Genome-wide identification and characterization of pectin methylesterase inhibitor genes in *Brassica oleracea* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018,19 (11):3338.
 - [40] Chen J, Chen X H, Zhang Q F, et al. A cold-induced pectin methyl-esterase inhibitor gene contributes negatively to freezing tolerance but positively to salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. Journal of Plant Physiology, 2018,222:67–78.
 - [41] Paynel F, Schaumann A, Arkoun M, et al. Temporal regulation of cell-wall pectin methylesterase and peroxidase isoforms in cadmium-treated flax hypocotyl[J]. Annals of Botany, 2009,104 (7):1363–1372.
 - [42] Francoz E, Ranocha P, Le Ru A, et al. Pectin demethylesterification generates platforms that anchor peroxidases to remodel plant cell wall domains[J]. Developmental Cell, 2019,48(2):261–276.
 - [43] Carpin S, Cr  vecoeur M, de Meyer M, et al. Identification of a Ca^{2+} -pectate binding site on an apoplastic peroxidase [J]. The Plant Cell, 2001,13(3):511–520.
 - [44] Wormit A, Usadel B. The multifaceted role of pectin methylesterase inhibitors (PMEIs) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018,19(10):2878.
 - [45] Palin R, Geitmann A. The role of pectin in plant morphogenesis [J]. Biosystems, 2012,109(3):397–402.
 - [46] Hongo S, Sato K, Yokoyama R, et al. Demethylesterification of the primary wall by PECTIN METHYLESTERASE35 provides mechanical support to the *Arabidopsis* stem[J]. The Plant Cell, 2012,24(6):2624–2634.
 - [47] Qi J, Wu B B, Feng S L, et al. Mechanical regulation of organ asymmetry in leaves[J]. Nature Plants, 2017,3(9):724–733.
 - [48] Lionetti V, Fabri E, de Caroli M, et al. Three pectin methylesterase inhibitors protect cell wall integrity for *Arabidopsis* immunity to *Botrytis* [J]. Plant Physiology, 2017,173(3):1844–1863.
 - [49] Turbant A, Fournet F, Lequart M, et al. PME58 plays a role in pectin distribution during seed coat mucilage extrusion through homogalacturonan modification [J]. Journal of Experimental Botany, 2016,67(8):2177–2190.
 - [50] Tieman D M, Harriman R W, Ramamohan G, et al. An antisense pectin methylesterase gene alters pectin chemistry and soluble solids in tomato fruit[J]. The Plant Cell, 1992,4(6):667–679.
 - [51] Xu Y H, Sechet J, Wu Y B, et al. Rice sucrose partitioning mediated by a putative pectin methyltransferase and homogalacturonan methylesterification[J]. Plant Physiology, 2017, 174(3):1595–1608.
 - [52] Xue C, Guan S C, Chen J Q, et al. Genome wide identification and functional characterization of strawberry pectin methylesterases related to fruit softening[J]. BMC Plant Biology, 2020,20(1):1–17.
 - [53] Gu  nin S, Hardouin J, Paynel F, et al. AtPME3, a ubiquitous cell wall pectin methylesterase of *Arabidopsis thaliana*, alters the metabolism of cruciferin seed storage proteins during post-germinative growth of seedlings [J]. Journal of Experimental Botany, 2017,68(5):1083–1095.
 - [54] 赵旭升, 朱晓芳, 吴 启, 等. 水稻根系果胶去甲酯化促进细胞壁磷再利用的机制探究[J]. 土壤学报, 2018,55(5):1190–1198.
 - [55] Zhu X F, Wang Z W, Wan J X, et al. Pectin enhances rice (*Oryza sativa*) root phosphorus remobilization[J]. Journal of Experimental Botany, 2015,66(3):1017–1024.
 - [56] Duan W K, Huang Z N, Song X M, et al. Comprehensive analysis of the polygalacturonase and pectin methylesterase genes in *Brassica rapa* shed light on their different evolutionary patterns[J]. Scientific

韩吉平,江 宁,诸永志,等.天然虾青素的制备和功能研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(8):56-60.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.08.009

天然虾青素的制备和功能研究进展

韩吉平^{1,2},江 宁¹,诸永志¹,孙英杰^{1,2},李大婧¹,张钟元¹,李 莹¹,刘小莉¹,
柏宗春³,余 刚³,吴海虹¹,刘春泉¹

(1.江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014; 2.江苏大学食品与生物工程学院,江苏镇江 212013;
3.江苏省农业科学院农业设施与装备研究所,江苏南京 210014)

摘要:虾青素属于类胡萝卜素家族的重要成员,是一种天然抗氧化剂,具有良好的清除自由基和屏蔽紫外光的能力。综述了天然虾青素的制备方法,并对不同制备方法的优缺点进行比较与总结。近年研究发现,虾青素具有广泛的生物学效应,本文对天然虾青素在药用和营养方面的潜在应用进行了综述。

关键词:虾青素;制备;功能

中图分类号: TS254.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)08-0056-05

虾青素(astaxanthin)是一种脂溶性色素^[1],呈橙红色,广泛存在于虾、蟹等甲壳类动物体内,同时也是一种类胡萝卜素的含氧衍生物^[2]。一般特殊的结构容易产生特殊的生物功能。大量研究表明,虾青素具有许多生理活性,如有效清除体内自由基、抗衰老^[3]、抗肿瘤^[4]、预防心脑血管疾病^[5]、心血管疾病^[6]、保护肝脏^[7]、抗糖尿病^[8]等。此外,虾青素是一类能穿透血脑、血视网膜屏障的类胡萝卜素,对改善中枢神经系统和脑功能有积极作用^[9]。

1 天然虾青素的制备方法

1.1 有机溶剂萃取法

大量研究表明,丙酮对虾青素的提取效果较

好,这是因为其含有与虾青素高度相似的羰基。相较于甲醇、乙醇、乙腈等有机溶剂,丙酮提取的虾青素回收率最高^[10]。此外,Sachindra 等研究发现,与较单一的有机溶剂相比,混合溶剂(异丙醇:己烷体积比=1:1)对虾青素的提取率更高^[11]。然而,丙酮等有机溶剂具有沸点低、易挥发、中等毒性等特点,在食品加工中可能存在食品安全隐患。

1.2 微波辅助萃取法

微波辅助萃取技术是在传统有机溶剂萃取基础上发展起来的一种新型萃取技术。研究表明,利用微波辅助萃取技术从雨生红球藻中提取虾青素是一种经济有效的方法。微波能通过微藻生物质传递,增加细胞内动能,引起液体颗粒振动。随后细胞温度的升高和细胞壁压力的增加导致细胞分裂。此外,微波辅助过程通过打破萃取溶剂分子间的化学键,促进溶解离子通过细胞基质孔隙,达到缩短提取时间的作用^[12]。微波辅助技术不仅可以提高虾青素的萃取效率,而且可以提高提取率。

收稿日期:2020-07-21

基金项目:江苏现代农业产业技术体系项目(编号:JATS[2019]415)。

作者简介:韩吉平(1997—),女,湖北武汉人,硕士研究生,研究方向为生鲜食品保鲜与加工。E-mail:hanjp1997@163.com。

通信作者:江 宁,博士,副研究员,研究方向为生鲜食品保鲜与加工。E-mail:jaas_jiangning@163.com。

Reports,2016,6:25107.

[57] Yang X Y,Zeng Z H,Yan J Y,et al. Association of specific pectin methylsterases with Al³⁺-induced root elongation inhibition in rice [J]. Physiologia Plantarum,2013,148(4):502-511.

[58] Zhu C Q,Cao X C,Bai Z G,et al. Putrescine alleviates aluminum toxicity in rice (*Oryza sativa*) by reducing cell wall Al contents in an ethylene-dependent manner[J]. Physiologia Plantarum,2019,167(4):471-487.

[59] Yang W,Ruan M,Xiang M,et al. Overexpression of a pectin methylsterase gene PtoPME35 from *Populus tomentosa* influences

stomatal function and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,2020,523(2):416-422.

[60] Chung D,Pattathil S,Biswal A K,et al. Deletion of a gene cluster encoding pectin degrading enzymes in *Caldicellulosiruptor bescii* reveals an important role for pectin in plant biomass recalcitrance [J]. Biotechnology for Biofuels,2014,7(1):147.

[61] Biswal A K,Atmodjo M A,Li M,et al. Sugar release and growth of biofuel crops are improved by downregulation of pectin biosynthesis [J]. Nature Biotechnology,2018,36(3):249-257.