

· 综述 ·

雨生红球藻和虾青素的研究

高桂玲, 成家杨, 马 炯*

(北京大学深圳研究生院, 环境与能源院, 广东 深圳 518055)

摘要: 介绍了虾青素的生产方法及生物活性的最新研究进展情况。对目前工业化采用的生产方法及技术特点进行了具体的阐述和对比总结, 如从水产品的废弃物、雨生红球藻和红发夫酵母中提取, 而雨生红球藻是自然界中天然虾青素含量最高的生物来源; 介绍了虾青素的诸多生物活性及应用概况, 如抗氧化、抗炎抗感染、抗肿瘤、抗疲劳、预防骨质疏松的作用等。随着对虾青素药理毒理活性的进一步研究, 虾青素不仅用作珍贵水产动物养殖的饵料添加剂, 在食品、药品、化妆品和高级营养保健品等领域也将得到广泛的应用, 具有巨大的市场潜力。对利用雨生红球藻生产天然虾青素的机制、现状进行总结及展望, 对进一步研究雨生红球藻具有深远的意义。

关键词: 雨生红球藻; 虾青素; 应用; 综述

中图分类号: Q 949.9; S 963.73

文献标志码: A

虾青素是一种重要的类胡萝卜素, 不仅具有抗氧化性, 而且生物学功能显著, 具有广泛的应用价值, 不仅可以用作水产养殖的饲料添加剂和人类食品添加剂, 在药品、化妆品和营养保健品等领域也具有很大的应用潜力。雨生红球藻 (*Haematococcus pluvialis*) 是天然虾青素含量最高的生物, 在特定条件下, 雨生红球藻可以积累占其干重 1%~3% 以上的虾青素, 且所含虾青素的结构与养殖对象所需一致, 被公认为天然虾青素的最好生物来源^[1], 利用雨生红球藻生产虾青素已成为国内外虾青素研究的热点。

1 虾青素

1.1 虾青素及其应用

虾青素 (astaxanthin), 学名为 3,3'-二羟基-4,4'-二酮基-胡萝卜素, 是一种非维生素 a 原的类胡萝卜素, 属于酮式类胡萝卜素, 晶体为褐红色。虾青素分子有很长的共轭双键 (图 1)^[2-3] 等, 有羟基和在共轭双键链末端的不饱和酮, 其中

羟基和酮基构成羟基酮, 这一结构特点使其具有较活泼的电子效应, 能提供电子或吸引自由基的未配对电子, 极易起抗氧化作用。研究表明, 虾青素是具有抗氧化活性的类胡萝卜素, 与胡萝卜素及维生素 E 等相比, 虾青素具有更强的生物活性, 是属于人体安全的物质^[4]。虾青素的抗氧化活性比 β -胡萝卜素高约 10 倍, 比维生素 E 高约 500 倍, 虾青素已被认为是“超级维生素 E”^[5]。目前国际市场的价格为每千克 2 500 美元, 全球每年有 2 亿美元以上的市场容量^[6], 虾青素在很多方面具有独特的作用与用途, 能够阻止脂质过氧化, 保护机体免受伤害, 预防癌症发生^[7], 还能促进人体免疫球蛋白的产生, 具有很高的免疫调节活性, 对紫外线引起的皮肤癌有很好的治疗效果, 对由糖尿病引起的眼病也有较好的防治作用, 在功能食品和医药方面有广泛的应用前景。虾青素进入动物体后可以不经修饰或生化转化而直接贮存于组织中, 使一些水生动物的皮肤和肌肉出现健康而鲜艳的颜色, 因此虾青素是鱼类饲料中

收稿日期: 2013-08-19

修回日期: 2013-10-13

资助项目: 中国博士后科学基金 (2012M520106); 中国博士后特别资助 (2013T60025)

通信作者: 马 炯, E-mail: jiongmg@gmail.com

的首选色素,虾青素还可以促进生长繁殖及家禽的产蛋率。总之,虾青素具有巨大的市场潜力^[8]。

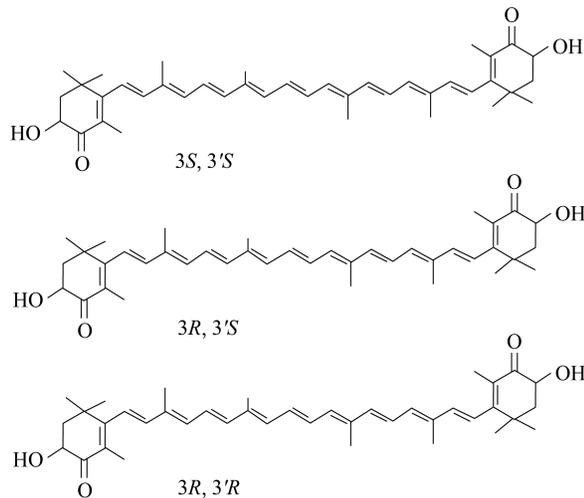


图 1 虾青素的 3 种结构^[2-3]

Fig.1 Structures of astaxanthin^[2-3]

1.2 生产方式

虾青素分子有 4 个旋光异构体,即 3S,3S'; 3R,3R'; 3R,3S' 和 3S,3R' 4 种结构形态。在天然的虾青素源和水生动物中都以 3S,3S'; 3R,3R' 存在,而人工合成的虾青素是以 3R,3S' 形态存在的。对映体之间除生理效能有强弱和与其他旋光性物质反应时表现不同的速度外具有相同的物质性质,而非对映体之间的物质性质却非常不同,所以人工合成的虾青素的功能与天然虾青素的功能具有很大差异^[9]。虾青素的生产方法主要有天然提取和化学合成等。

天然提取 天然的虾青素常存在于某些动物、藻类及微生物体内,特别是虾、蟹、鱼和鸟类的羽毛(表 1),使用安全并具有环境友好性,有广阔的发展前景。其生产可分为从动物及其副产品中提取,或从藻类中提取和采用酵母培养生产。

表 1 天然虾青素的来源

Tab.1 Sources of natural astaxanthin

来源 sources	优点 advantage	缺点 disadvantage
甲壳纲水产品废弃物 crustacean seafood waste		产量低、纯度差,成本高,尚未形成生产规模 Low productivity, purity, high cost. Has not yet formed the scale of production
真菌 fungus	红发夫酵母也被认为是较适宜的虾青素来源 <i>Phaffia rhodozyma</i> is also a fitting source	技术要求高,生产工艺复杂,天然的红发夫酵母中虾青素平均含量低 High technical requirements, Complex production process, the content of astaxanthin is low
藻类 algae	雨生红球藻是所有已知的虾青素合成生物体中积累量最高的物种 <i>Haematococcus pluvialis</i> accumulation of astaxanthin is the highest	培养耗时长,虾青素存在于厚壁孢子中的提取率低、产率低、连续性差,不利于大规模培养 Long culture period, extraction ratio is low, productivity is low, Continuity is poor, unsuited to mass culture
废弃物 waste		纯度不高;生产成本低 Low purity, high cost
细菌 bacteria		生物量小,色素含量低量;生长速度慢 Small biomass, pigment content is low, low growth rate

通过以上各种生产来源的比较发现,雨生红球藻细胞内天然虾青素的含量相对较高,2010年,根据《中华人民共和国食品安全法》和《新资源食品管理办法》规定,批准雨生红球藻作为新资源食品,开发雨生红球藻培养生产虾青素技术具有巨大的商业及经济价值^[10]。

化学合成及其他方法 目前,由于生物来源的虾青素含量还不够高,化学合成的虾青素仍

具有一定的竞争优势,但合成比较困难,而且大多为顺式结构,美国 FDA(食品和药品管理局)仅批准反式结构的虾青素用作水产养殖的添加剂。因此,人工合成的反式虾青素价格昂贵(现国际市场价约 2 000 美元/kg)^[11],在生产过程中可能被其他有害物质污染,产品中含有非天然的异构体。F. Hoffmann-LaRoche 公司于 20 世纪 80 年代末以(S)-3-乙酰基-4-氧代-β-紫罗酮为原料化学合

成了反式虾青素,商品名为“carophyllpin”,虾青素的含量为5%~10%,是目前市场上鲑鱼饲料的主要来源。德国的BASF公司以3-甲基-5-(2,6,6-三甲基-3-氧-羟基-1-环己烯基)-2,4-戊二烯三芳基磷酸盐和2,7-二甲基-2,4,6-三十八烯二醛反应合成96%至97%的全反式虾青素^[12]。除天然提取、化学合成等2种生产虾青素的方法外,还可利用细菌、原生动、农作物体内的 β -胡萝卜素作为前体物质,通过转基因技术将合成虾青素的酶转入相应农作物中合成虾青素。但目前,这种生产虾青素的方法仅仅处于实验研究中^[13]。

2 雨生红球藻

雨生红球藻是天然虾青素含量最高的生物,在特定条件下,雨生红球藻可以积累占其干重1%以上的虾青素,且所含虾青素的结构与养殖对象所需虾青素结构一致,被公认为天然虾青素最好的生物来源^[14]。红球藻是一种很有开发前途的微藻,成为继螺旋藻、盐藻之后的另一种高经济价值的微藻^[15]。

雨生红球藻在分类学上属于绿藻门,绿藻纲,团藻目,红球藻科,红球藻属。细胞由广卵形到广椭圆形,宽19~51 μm ,长28~63 μm ,自养生活,用单细胞的孢子或合子进行生殖^[10]。尽管雨生红球藻是单细胞生物,但是其生活史却很复杂。通常公认其生活史中存在游动和不动二个阶段。正常条件下,游动细胞生长发育,以有丝分裂的方式无性生殖,多产生并释放2或4个或8个子细胞(或孢子),不管几个都能观察到鞭毛的存在,并能自由游动,属于游动孢子。雨生红球藻暴露在高光强及缺氮的胁迫环境后游动细胞转变成不动细胞,细胞形态呈圆形,无鞭毛,不会游动(图2)。不动细胞时间可持续数月,在此期间,细胞仍可缓慢增殖个体,并逐渐增大体积。多数细胞除具增厚的新壁外,不再保留原有的细胞壁和周质空间,细胞内含物也由绿褐色转变为深桔红色^[16-17]。

2.1 质体球滴结构

在大多数植物中,类胡萝卜素类物质积累于叶绿体或者有色的质体球滴(plastoglobules)结构中^[18-23]。植物中类胡萝卜素代谢和储存的重要场所是质体球滴结构,它除了含有脂质及次生代谢产物外,还含有许多蛋白质和次生代谢产物

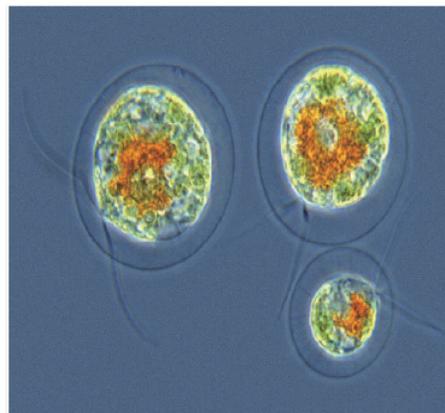


图2 雨生红球藻细胞

Fig. 2 Cells of *H. pluvialis*

合成相关的酶^[24],其中油脂蛋白和油体钙蛋白这两种表面蛋白是植物油滴结构的主要成分,油脂蛋白至今未在微藻中发现^[25],油体钙蛋白与细胞质膜的合成有关^[26-27],广泛分布在高等植物细胞。质体球滴结构具有储存作用,并参与相关物质的代谢过程^[28]。在植物的代谢以及抗逆过程中有重要的作用,并作为质体中很多不同代谢的载体^[29]。在雨生红球藻含虾青素的球滴中发现了一个特异的蛋白 HOGP (haematococcus oil globule protein) (图3)而没有发现质体球滴结构^[30]。这个蛋白基因的转录水平与雨生红球藻在胁迫条件下积累虾青素的量成正比^[31],它的合成可能是环境胁迫的一种响应^[32-33],通过观察发现在眼点区域和叶绿体中都有一排大小均一的嗜饿球滴结构(图3)。通过与其他高等植物及藻类比较,在雨生红球藻叶绿体中发现的大小均一的嗜饿球滴结构即是质体球滴结构,而雨生红球藻虾青素的合成和积累分别存在于质体和胞质中,质体球滴中的 HPGP 蛋白和胞质中的虾青素球滴的 HOGP 蛋白分别是两个不同阶段的主要结构蛋白,在虾青素合成过程的过膜阶段存在着功能的对接。

通过对 HOGP 的分离及分析发现,虾青素是分布在球滴内的唯一色素,三酯酰甘油(triacylglycerols)是主要的油脂(占总脂肪酸的90%以上),在球滴中有7条蛋白质条带,他们可能是与球滴的合成有关。一些单细胞微藻的油脂球滴富含油脂,一些油脂甚至占细胞干重的60%,油脂的富集与细胞生长有关^[34-36],但是微藻油脂球滴中蛋白质的组成及作用还未见报道。

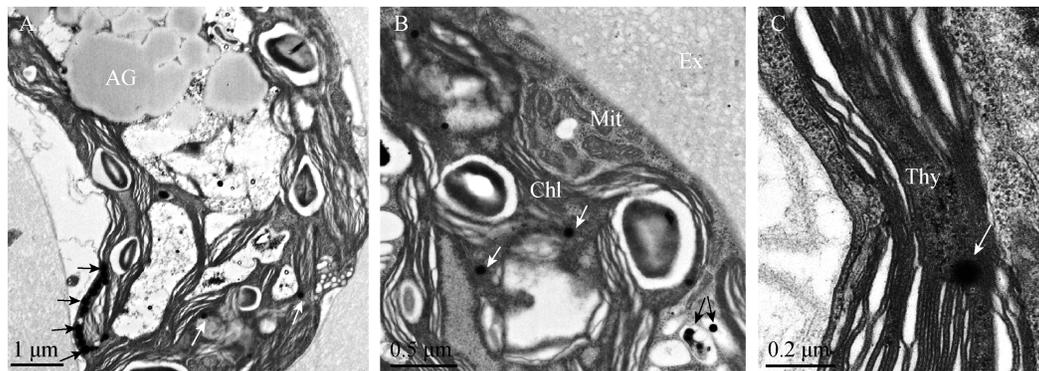


图3 经过48 h光照胁迫后的雨生红球藻透射电镜图片

白色箭头所示为 plastoglobules 结构;黑色箭头所示为胞质中类似 Plastoglobules 结构的嗜锇球滴;A 图中无尾箭头所示为嗜锇眼点;Mit. 线粒体;Chl. 叶绿体;Thy. 类囊体;AG. 虾青素球滴

Fig. 3 Transmission electron microscopy of *H. pluvialis* after 48 hours light stress

White arrows shows the plastoglobules structure; Black arrow shows eosinophilic osmium ball drops similar to plastoglobules structures in cytoplasm; In figure A, one arrow shows the eosinophilic osmium eyespots; Mit. Indicates mitochondria; Chl. Indicates chloroplast; Thy. Indicates Thylakoid; AG. indicates the ball drops of astaxanthin

对于雨生红球藻而言,虾青素的积累与油脂的富集有关^[36],油脂的积累又依赖于脂肪酸的合成^[36],在氮胁迫下,虾青素和脂肪酸分别占细胞干重的4%和40%^[37],与其他微生物一样,雨生红球藻质体球蛋白与细胞质膜的合成有关。雨生红球藻是研究油脂球体合成的惟一生物,因为只有雨生红球藻细胞中油脂和色素是在同一区域合成。通过对质体球蛋白的分离与分析,进而研究其起源及作用将是下一步研究的方向,另一方面由于雨生红球藻质体球蛋白富含脂肪酸,也为生物柴油的制备提供了生物源,有待进一步研究。

2.3 雨生红球藻中虾青素可能合成途径

虾青素是一种次生类胡萝卜素,在微生物细胞内的合成步骤较多且较复杂,最初对类胡萝卜素合成途径的研究是从细菌和海洋细菌开始的。近年来,通过使用特异性抑制剂,已经阐明了红球藻中虾青素的生物合成途径,并克隆了途径中的关键酶基因。虾青素的合成基本上可将其分为两个阶段,第一阶段是合成 β -胡萝卜素,第二阶段是 β -胡萝卜素经氧化(酮基化)和羟基化形成虾青素^[38]。

第一阶段即 β -胡萝卜素的合成过程,1993年Rohmer等^[39]用C-13-NMR标记实验发现在细菌细胞中异戊烯焦磷酸(IDP)可以由3-磷酸甘油醛和丙酮酸两种前体物质合成,Schwender等^[40]和Lichtenthaler^[41]又分别发现绿藻和植物细胞也是通过非甲羟戊酸途径合成IDP,即以丙酮酸为起始物,经过与3-磷酸甘油醛(GAP)反应而合成

IDP。所有的类胡萝卜素均通过类异戊二烯化合物或萜类化合物途径合成。IDP是该途径的前体物质,IDP在IDP异构酶作用下生成DMAPP(二甲基丙烯基二磷酸),然后再与3个IDP缩合依次生成GDP(牻牛儿基二磷酸)、FDP(法尼基二磷酸)、GGPP(牻牛儿基牻牛儿基二磷酸)。2个GGPP在PSY(八氢番茄红素合成酶)作用下形成第一个无色的类胡萝卜素——八氢番茄红素。八氢番茄红素经过连续的脱氢反应,共轭双键延长,直至形成链孢红素、番茄红素。番茄红素在不同环化酶的作用下分别生成 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素。

第二阶段由 β -胡萝卜素合成虾青素的过程。即从 β -胡萝卜素氧化(酮基化)开始,经过海胆酮、鸡油菌黄质,4,4'-二酮基-3-羟基- β -胡萝卜素等中间物质合成虾青素。

3 雨生红球藻生产虾青素的产业化现状

由于雨生红球藻特殊的生物学性质,其生长繁殖和虾青素的积累明显分为两个截然不同的生理阶段,因此,如何提高营养细胞的生长密度,又如何促使不动细胞快速、大量积累虾青素,是提高虾青素生产效率、降低成本的技术关键,这已成为目前国际上应用研究的热点。细胞生物量和虾青素积累量与培养基、培养条件以及藻种(品系)有关^[42-43]。雨生红球藻营养生长的适宜条件与虾青素积累所需条件不同,在某些方面甚至相

反^[44]。虾青素的大量积累总是发生在不适于生物量积累的营养或环境胁迫条件下,虾青素积累与生物量积累之间的矛盾是限制利用雨生红球藻生产虾青素的根本问题。目前,国内外利用雨生红球藻生产天然虾青素的研究趋势是两步培养法,即第一阶段优化培养条件,获得较高的藻细胞生物量,第二阶段进行诱导调控,使游动细胞转化为不动细胞,从而大量合成虾青素。

国内雨生红球藻的培养技术尚处于实验室研究阶段,主要集中在高产藻株筛选、高密度培养条件优化和诱导调控手段多样化等方面。诱变育种就是方法之一,即利用紫外线和 EMS 诱变高产藻株。Sun 等^[45]用 EMS 成功诱变 2 株快速生长的藻株。然后将其中一株用紫外线处理后,发现其总生物量、单细胞虾青素产量和虾青素总产量分别增加 68%、28% 和 120%; Peng 等^[46]也证明利用紫外线和 EMS 诱变是一种筛选高产藻株的有效方法; Chumpolkulwong 等^[47]分别以 UV 和 EMS 为诱变剂,以 β 羟- β 甲基-戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂(细胞内固醇类物质合成过程中的限速酶) compactin 为筛选剂,获得 M-b, M-15 两个突变株,结果发现突变株不仅积累虾青素量是出发株的 1.4 ~ 2.0 倍,其 HMGR 酶活性也比出发株显著增高,说明可以从调节类异戊二烯合成水平上控制虾青素的合成。

目前,由于生长缓慢,自养周期长,易被其他杂藻和微生物污染,且生长需要光照,生产场所在一定程度上受到限制,并且藻类破壁释放虾青素困难,红球藻细胞的培养仍然不很理想,难以建立可控的稳定的培养系统,不能达到高密度培养,成为限制工程规模放大和开发该生物资源的瓶颈。我们综合考虑了影响雨生红球藻生长及虾青素积累的因素如温度、光照、氮源等并进行了单因素试验,初步结果显示,22 °C 较低浓度(0.5 g/L)的硝酸氮以及低光照(1 000 lx)较适宜该藻营养生长,氮氮容易造成对藻体的毒害而抑制早体正常生长,而低浓度(0.01 g/L)硝酸氮高温(30 °C)高光照(3 000 lx)较适宜虾青素的积累。未来将通过正交试验综合考虑各因素共同对雨生红球藻生长及虾青素积累的影响,并进行自养培养、异养培养、混合营养生长对比来寻求雨生红球藻高密度生长的最佳营养生长方式,及自养胁迫和异养胁迫对比来寻求雨生红球藻积累虾青素的最佳胁迫方式,打

破生产瓶颈,为虾青素的开发提供技术依据。

4 结论及展望

虾青素是一种重要的次生类胡萝卜素,它广泛存在于生物界,特别是鱼、虾、蟹等水生生物之中。由于虾青素重要的生理功能及经济价值,近年来受到国内外的广泛研究,雨生红球藻是目前首选的天然虾青素合成物,雨生红球藻在多种不适宜生长的外界环境条件下都会在细胞核周围的细胞质基质中加速积累次生类胡萝卜素,其中 80% 以上为虾青素及其酯类。雨生红球藻中虾青素的积累量可高达细胞干质量的 4%。

随着人们对雨生红球藻虾青素积累条件、生理生化过程、酶学基础和基因表达水平等认识的逐步清晰,以及基因工程手段的逐步成熟,对雨生红球藻的研究重点应该放在以下 4 点:

(1) 调控优化生活史。在探索基础生物学特性的基础上,综合考虑影响雨生红球藻生长的各个因素,优化其生长条件并充分利用该藻两阶段生活史的特性,实现两级串养方式,在高密度培养的基础上大量积累虾青素。

(2) 动力学研究。现在的研究大都偏重环境因子影响方面,应加大细胞生长和虾青素积累的动力学研究,为接种及采收提供基础。

(3) 防治污染。雨生红球藻对环境变化非常敏感,指数生长期短,在营养生长期内抵抗细菌和原生动物的污染能力很差,因此应该在优化藻种的基础上寻求减少污染的技术措施。

(4) 虾青素的高效提取。由于雨生红球藻壁厚且存在胶质,给虾青素的提取带来不便,而且目前虾青素的提取方法众多,但是提取效率不高,所以寻求简便高效的提取方法是实现雨生红球藻规模化生产必须解决的问题。

相信随着人们对雨生红球藻虾青素积累条件、生理生化过程、酶学基础以及基因表达水平等认识的逐步清晰以及基因工程手段的逐步成熟,打破雨生红球藻高密度生长瓶颈,实现规模化为期不远。

参考文献:

- [1] Sandesh K B, Vidhyavathi R, Sarada R, et al. Enhancement of carotenoids by mutation and stress induced carotenogenic genes in *Haematococcus pluvialis* mutants[J]. Bioresource Technology, 2008,

<http://www.scxuebao.cn>

- 99(18):8667-8673.
- [2] Dufosse L. Microbial production of food grade pigments [J]. *Food Biotechnology*, 2006, 44(3): 313-321.
- [3] Martin J F, Gudina E, Barredo J L. Conversion of bcarotene into astaxanthin: Two separate enzymes or a bifunctional hydroxylase-ketolase protein [J]. *Microbial Cell Factories*, 2008, 7: 3. doi: 10.1186/1475-2859-7-3.
- [4] Leigh S, Leigh M L S, van Hoogevest P. Crystal forms of astaxanthin; US[P]. 2009.
- [5] Lorenz R T, Cysewski G R. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin [J]. *Trends in Biotechnology*, 2000, 18(4): 160-167.
- [6] Lee P C, Schmidt D C. Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, 60(1-2): 1-11.
- [7] Fan R X. Properties and development of astaxanthin [J]. *Sea-Lake Salt and Chemical Industry*, 2000, 6(29): 17-20. [范荣新. 虾青素的性质与开发. 盐湖盐与化工, 2000, 6(29): 17-20.]
- [8] Wang D. Research progress of natural pigment astaxanthin [J]. *China Chemical Trade*, 2012, 3: 122. [王丹. 天然色素虾青素的研究进展. 中国化工贸易, 2012, 3: 122.]
- [9] Fan R X. Properties and development of astaxanthin [J]. *Sea-Lake Salt and Chemical Industry*, 2000, 6(29): 17-20. [范荣新. 虾青素的性质与开发. 盐湖盐与化工, 2000, 29(6): 17-19.]
- [10] Zhang R Q, Guan B, Kong Q, *et al.* Study on astaxanthin accumulation by heterotrophic transformation in *Haematococcus pluvialis* [J]. *Journal of Zhejiang University: Agriculture & Life Sciences*, 2011, 37(6): 624-630. [张睿钦, 管斌, 孔青, 等. 雨生红球藻异养转化产虾青素的条件研究. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2011, 37(6): 624-630.]
- [11] Bon J A, Leathers T D, Jayaswal R K. Isolation of astaxanthin overproducing mutants of *Phaffia rhodozyma* [J]. *Biotechnology Letters*, 1997, 19(2): 109-112.
- [12] Wu C J. Extraction and purification of natural astaxanthin [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2003. [吴彩娟. 天然虾青素提取和纯化工艺研究. 杭州: 浙江大学材料与化学学院, 2003.]
- [13] Zhang M X, Zhao J G. Research progress at home and abroad of astaxanthin [J]. *Cereal & Feed Industry*, 2002(1): 26-28. [张明祥, 赵建国. 国外虾青素的研究进展. 粮食与饲料, 2002(1): 26-28.]
- [14] Qiu C E. Effect of 6-BA on Two Isoenzymes from *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes* Mycelia [J]. *Journal of Microbiology*, 2002, 22(4): 28-30. [邱昌恩. 6-BA 对平菇和香菇菌丝体两种同工酶的影响. 微生物学杂志, 2002, 22(4): 89-92.]
- [15] Lee Y K, Ding S Y. Cell cycle and accumulation of astaxanthin in *Haematococcus Lacusiris* [J]. *Journal of Phycology*, 1994, 30(3): 445-449.
- [16] Zhuang H R, Lu H S. Ultrastructural study on the process of astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* Flotow under stress condition [J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2000, 19(2): 137-142. [庄惠如, 卢海声. 雨生红球藻 (*Haematococcus pluvialis*) 在胁迫条件下累积虾青素过程的超微结构研究. 电子显微学报, 2000, 19(2): 137-142.]
- [17] Liu J G, Ying M Y. Studies of cell cycle in *Haematococcus pluvialis* [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2000, 31(2): 145-149. [刘建国, 殷明焱. 雨生红球藻的细胞周期初探. 海洋与湖沼, 2000, 31(2): 145-149.]
- [18] Deruère J, Romer S, D, Harlingue A, *et al.* Fibril assembly and carotenoid over accumulation in chromoplasts: a model for supramolecular lipoprotein structures [J]. *Plant Cell*, 1994, 6: (1) 119-133
- [19] Katz A, Jiménez C, Pick U. Isolation and characterization of a protein associated with carotene globules in the alga *Dunaliella bardawil* [J]. *Plant Physiology*, 1995, 108(4): 1657-1664
- [20] Vishnevetsky M, Ovadis M, Itzhaki H, *et al.* Molecular cloning of a carotenoid-associated protein from *Cucumis sativus* corollas: homologous genes involved in carotenoid sequestration in chromoplasts [J]. *Plant Journal*, 1996, 10(6): 1111-1118.
- [21] Pozueta R J, Rafia F, Houlne G, *et al.* A ubiquitous plant housekeeping gene, PAP, encodes a major protein component of bell pepper chromoplasts [J]. *Plant Physiology*, 1997, 115(3): 1185-1194
- [22] Emanuelsson O, Nielsen H, Heijne G. ChloroP, a neural network-based method for predicting chloroplast transit peptides and their cleavage sites [J]. *Protein Science*, 1999, 8(5): 978-984.
- [23] Kessler F, Schnell D, Blobel G. Identification of proteins associated with plastoglobules isolated from

- pea (*Pisum sativum* L.) chloroplasts [J]. *Planta*, 1999, 208: 107 – 113.
- [24] Laizet Y, Pontier D, Mache R, *et al.* Subfamily organization and phylogenetic origin of genes encoding plastid lipid-associated proteins of the fibrillin type [J]. *Journal of Genome Science and Technology*, 2004, 3(1): 17 – 26.
- [25] Frandsen G I, Mundy J, Tzen J T C. Oil bodies and their associated proteins, oleosin and caleosin [J]. *Physiol Plantarum*, 2001, 112(3): 301 – 307.
- [26] Frandsen G, Muller-Uri F, Nielsen M, *et al.* Novel plant Ca^{2+} -binding protein expressed in response to abscisic acid and osmotic stress [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271: 343 – 348.
- [27] Naested H, Frandsen G, Jauh G, *et al.* Caleosins: Ca_2^+ -binding proteins associated with lipid bodies [J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 44: 463 – 476.
- [28] Ytterberg A J, Peltier J B, van Wijk K J. Protein profiling of plastoglobules in chloroplasts and chromoplasts. A surprising site for differential accumulation of metabolic enzymes [J]. *Plant Physiology*, 2006, 140(3): 984 – 997.
- [29] Br  h  lin C, Kessler F, van Wijk K J. Plastoglobules: versatile protein particles in plastids [J]. *Trends in Plant Science*, 2007, 12(6): 260 – 266.
- [30] Santos M F, Mesquita J F. Ultrastructural study of *Haematococcus lacustris* (Girod) Rostafinski (Volvocales). 1. Some aspects of carotenogenesis [J]. *Cytologia*, 1984, 49: 215 – 228.
- [31] Peled E, Leu S, Zarka A, *et al.* Isolation of a novel oil globule protein from the green alga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) [J]. *Lipids*, 2011, 46(9): 851 – 861.
- [32] Murphy D. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms [J]. *Progress in Lipid Research*, 2000, 40: 325 – 438.
- [33] Zhekisheva M, Zarka A, Khozin-Goldberg I, *et al.* Inhibition of astaxanthin synthesis under high irradiance does not abolish triacylglycerol accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) [J]. *Journal of Phycology*, 2005, 41(4): 819 – 826.
- [34] Chisti Y. Biodiesel from microalgae [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25(3): 294 – 3061.
- [35] Rodolfi L, Chini Z G, Bassi N, *et al.* Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 102(1): 100 – 112.
- [36] Schoefs B, Rmiki N E, Rachadi J, *et al.* Astaxanthin accumulation in *Haematococcus* requires a cytochrome P450 hydroxylase and an active synthesis of fatty acids [J]. *FEBS Lett*, 2001, 500(3): 125 – 128.
- [37] Zhekisheva M, Boussiba S, Khozin-Goldberg I, *et al.* Accumulation of oleic acid in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) under nitrogen starvation or high light is correlated with that of astaxanthin esters [J]. *Journal of Phycology*, 2002, 38: 325 – 331.
- [38] Norihiko M, Hiroshi S. Metabolic engineering for the production of carotenoids in noncarotenogenic bacteria and yeasts [J]. *Journal of Biotechnology*, 1998, 59(3): 169 – 181.
- [39] Rohmer M, Knani M, Simonin P, *et al.* Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for the early steps leading to isopentenyl diphosphate [J]. *Biochemical Journal*, 1993, 295: 517 – 524.
- [40] Schwender J, Seemann M, Lichtenthaler H K, *et al.* Biosynthesis of isoprenoids (carotenoids, sterols, prenyl side chains of chlorophylls and plastoquinone) via a novel pyruvate/glycerol dehydro-3-phosphate nonmevalonate pathway in the green alga *Scenedesmus obliquus* [J]. *Biochemical Journal*, 1996, 316: 73 – 80.
- [41] Lichtenthaler H K. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1999, 50: 47 – 65.
- [42] Borowitzka M A, Huisman J M, Osborn A. Culture of the astaxanthin-producing green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1991, 3: 295 – 304.
- [43] Huang X M, Lin S Z. The growth of *H. pluvialis* and accumulation of astaxanthin [J]. *Journal of Guangxi Normal University: Natural Science*, 1998, 16(1): 102 – 105. [黄信民, 林淑注. 雨水血球藻的生长及虾青素的积累. 广西师范大学学报: 自然科学版, 1998, 16(1): 102 – 105.]
- [44] Boussiba S, Voshak S. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. *Plant Cell Physiology*, 1991, 32(7): 1077 – 1082.
- [45] Sun Y H, Liu J G, Zahng X L, *et al.* Strain H2-419-4 of *Haematococcus pluvialis* induced by ethyl ethanestdphonate and ultraviolet radiation [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2008, 26(2): 152 – 156.

- [46] Peng J, Xiang W Z, Tang Q M, *et al.* Comparative analysis of astaxanthin and its esters in the mutant E1 of *Haematococcus pluvialis* and other green algae by HPLC with a C30 column[J]. Science in China Series C: Life Sciences, 2008, 51(12): 1108 - 1115.
- [47] Chumpolkulwong N, Kakizono T, Handa T, *et al.* Isolation and characterization of compactin resistant mutants of an astaxanthin synthesizing green alga *Haematococcus pluvialis*[J]. Biotechnology Letters, 1997, 19(3): 299 - 302.

Research review of *Haematococcus pluvialis* and astaxathin

GAO Guiling, CHENG Jiayang, MA Jiong*

(Shenzhen Graduate School, Beijing University, Shenzhen 518055, China)

Abstract: This article describes astaxanthin production methods and the latest research progress of the biological activity. It summarizes the current industry processing and techniques, such as the extraction from aquatic byproducts, *pluvialis* algae and *Phaffia* yeast. *Haematococcus pluvialis* is the most ideal biogenetic derivation because of the highest natural astaxanthin. Astaxanthin biological activity and applications, such as anti-oxidation, anti-inflammatory, anti-infective, anti-tumor, anti-fatigue, prevention of osteoporosis were also introduced. Pharmacology and toxicology study shows that astaxanthin not only can be used as the bait additives in aquatic farming, but also has a wide application in food, drugs, cosmetics, and high value nutritional health products, so it has great market potential. Finally, the article made summary and outlook of using *H. pluvialis* to produce astaxathin, which has great meanings for the further study of *H. pluvialis*.

Key words: *Haematococcus pluvialis*; astaxanthin; application; review

Corresponding author: MA Jiong. E-mail: jiong@gmail.com



第四届华东地区水产动物营养与饲料科技论坛 第二轮通知

“第四届华东地区水产动物营养与饲料科技论坛”将于2014年3月28-30日在上海奉贤区南郊宾馆举行,本届论坛由中国水产学会水产动物营养与饲料专业委员会、华东师范大学生命科学学院主办和承办。论坛面向水产营养与饲料行业,特别是广大水产饲料和水产养殖企业,以营养与饲料的应用基础和应用研究新成果、水产饲料新型实用技术为主要交流内容。届时将邀请国内著名专家学者和有代表性的企业就水产动物营养与饲料行业的关键问题和热点问题作专题报告。现诚邀各界人士与会,共谋水产动物营养研究和饲料发展大计。

会议注册截止时间为2014年3月29日上午,注册费为人民币1000元/人,在校研究生500元/人。根据与酒店的协议,酒店的客房只预留给通过报名回执在3月10日之前预订房间的代表!

若需要获得报名回执或了解会议详情,可以登录论坛网站:<http://laneh.ecnu.edu.cn>,或发送邮件至:nutrition@bio.ecnu.edu.cn。联系人:李二超(021-54345354,13524171297);禹娜(13661932955);张美玲(13916955491)。

<http://www.scxuebao.cn>