

· 专题论坛 ·

薯蓣植物块茎特异蛋白Dioscorin的研究进展

刘林娅, 黄亚成, 黄小龙, 黄东益*

海南大学农学院, 海口 570228

摘要 Dioscorin是薯蓣(*Dioscorea* spp.)植物块茎中主要的贮藏蛋白, 具有块茎特异性表达的特点。研究证实它不仅有一般贮藏蛋白的特性, 该特性可能与薯蓣块茎的形成过程密切相关; 而且还有碳酸酐酶、胰蛋白酶抑制剂、抗氧化、抗高血压以及免疫调节的活性, 故薯蓣植物具有开发功能性食品和蛋白质类医药的潜力。该文就近年来对其块茎特异蛋白的结构特征、性质和功能以及在分子生物学水平上的研究进展进行了综述。

关键词 薯蓣, Dioscorin, 贮藏蛋白, 特性, 生物学功能

刘林娅, 黄亚成, 黄小龙, 黄东益 (2016). 薯蓣植物块茎特异蛋白Dioscorin的研究进展. 植物学报 51, 274–280.

薯蓣隶属薯蓣科(Dioscoreaceae)薯蓣属(*Dioscorea*) (含600多个种)单子叶藤本植物, 广泛分布于热带和温带地区(Akanbi et al., 1996)。中国分布有55个种, 海南主要有5个种, 即淮山(*D. opposita*)、参薯(*D. alata*)、毛薯(*D. esculenta*)、刺薯(*D. esculenta*)和白薯蓣(*D. hispida*)。由于其第2子叶在胚胎期没有发育, 又被认为与双子叶植物有密切的关系(Lawton and Lawton, 1967)。薯蓣一般生长在潮湿的热带地区, 生育期较长, 通常为7个月左右, 但营养价值非常高。有研究表明, 薯蓣中淀粉和蛋白质的含量较高, 淀粉、蛋白质和粗纤维含量分别占干重的75%–84%、1%–3%和1.2%–1.8% (Wanasundera and Ravindran, 1994)。除此之外, 薯蓣作为传统的中药材之一, 富含多种维生素、花青素、薯蓣皂苷、胆碱和荷尔蒙等物质, 能够抗癌并抗衰老。在非洲的一些国家薯蓣被用作主粮, 在我国常用作食品、饲料和医药等(周双清等, 2011)。其产量潜力极大, 种植范围较广; 在我国华南大部分地区都可种植。目前, 在云南、浙江、江西和海南等省的种植面积较大(程文杰, 2010)。

Dioscorin作为薯蓣块茎中的一类主要贮藏蛋白, 广泛存在于薯蓣植物的野生种和栽培种中, 且含量丰富, 占块茎可溶性蛋白总量的80%–85%。与一般植物的贮藏蛋白相比, Dioscorin不仅具有高营养性(对

薯蓣的营养品质起决定性作用, 同时能在薯蓣植株的发育过程中提供营养物质), 而且还具有某些酶的活性。Dioscorin蛋白的分子量约为31 kDa, 属于糖蛋白类型, 与马铃薯(*Solanum tuberosum*)中的Patatin蛋白以及甘薯(*Ipomoea batatas*)中的Sporamin蛋白同属于变态根茎器官中的特异贮藏蛋白质(Shewry, 2003)。此外, 如此大量且具有活性的蛋白质通常仅在薯蓣块茎的发生和形成过程中特异性出现并大量积累(未发表资料)。另外, 该蛋白易于分离和纯化, 便于进行分子水平上的操作和研究。因此, 自1983年发现以来, Dioscorin蛋白就受到国内外学者的广泛研究。本文将对薯蓣贮藏蛋白Dioscorin的研究进展做简要综述。

1 Dioscorin蛋白的类型、含量与分布

1983年, Harvey和Boulter首次从*D. rotundata*的块茎中发现了一类贮藏蛋白, 该蛋白占可溶性蛋白的85%; 主要由1个分子量(约31 kDa)的亚基组成, 定位于液泡中。1995年, Conlan等(1995)从*D. cayenensis*中分离得到了块茎的主要贮藏蛋白, 并将此蛋白命名为Dioscorin, 至此关于薯蓣块茎贮藏蛋白的研究才有了进一步发展。迄今为止, 在薯蓣的多个

收稿日期: 2015-04-20; 接受日期: 2015-09-08

基金项目: 海南省重点科技计划(No.ZDXM20110009)、海南省重大科技专项及中央财政支持中西部高校提升综合实力(科研平台和创新团队建设专项)子课题(No.ZDZX2013023)、国家自然科学基金(No.31260346)和海南省自然科学基金(No.311036)

* 通讯作者。 E-mail: hdongyi@126.com

栽培品种的块茎中均发现有该蛋白(Tsai et al., 2013)。Conlan等(1995)和Liao等(2006)的研究证实, Dioscorin蛋白是一类多基因家族编码的蛋白质; 根据基因序列相似性, *Dioscorin* 基因家族可分为 *Dioscorin A* 和 *Dioscorin B* 两个亚基因家族。此两类亚基因家族内的序列相似性为88%–97%, 高于其亚基因家族间的序列相似性(67%–75%)。通常以该基因5'端和3'端非编码区上2–3个位置的1–2 bp的缺失或插入为特征区分亚基因家族(Harvey and Boulter, 1983; Conlan et al., 1998; Tsai et al., 2013)。

Dioscorin A 和 *Dioscorin B* 分别编码两类 Dioscorin 蛋白。通过蛋白纯化和MALDI-TOF-MS技术对 Dioscorin 蛋白进行鉴定, 结果表明 Dioscorin A 类贮藏蛋白分子量为33 kDa, 由255个氨基酸残基组成; 而 Dioscorin B 类分子量为31 kDa, 由246个氨基酸残基组成(Liao et al., 2006)。对两类 Dioscorin 蛋白的氨基酸组成类别及含量进行比较, 发现编码此两类蛋白的氨基酸组成极其相似, 都含有20种主要氨基酸, 且蛋白中的半胱氨酸和甲硫氨酸含量非常低, 约为1.4%和2.0%, 属于氨基酸比较丰富、营养价值较高的蛋白(Conlan et al., 1995)。不过, 氨基酸序列同源性分析显示, 尽管 Dioscorin 蛋白与马铃薯中的 Patatin 蛋白以及甘薯中的 Sporamin 蛋白同属变态根茎器官中的特异贮藏蛋白质(Racuseu et al., 1980; Harvey and Boulter, 1983), 但 Dioscorin 蛋白序列与 Patatin 蛋白或 Sporamin 蛋白序列相比没有相似性, 反而与碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA) 相关(Shewry, 2003)。

薯蓣贮藏蛋白 Dioscorin 属于块茎特异性表达蛋白, 一般仅在薯蓣块茎的发生和形成过程中特异性出现和积累, 在正常生长发育的薯蓣植株的根茎叶中含量极低, 几乎检测不到(Conlan et al., 1995)。不过, 当薯蓣块茎即将发生时, Dioscorin 蛋白开始特异性出现在块茎即将发生的部位, 并在块茎的膨大期出现一个迅速增加的表达趋势; 然后伴随着块茎的发育与长大逐渐积累, 至块茎成熟时为止。成熟块茎休眠期间, Dioscorin 蛋白含量变化极小; 块茎萌发后, Dioscorin 蛋白含量逐渐下降, 直至母薯临近死亡时含量极低(未发表资料)。同时, 使用薯蓣单节茎段离体培养方法, 测定外源茉莉酸(jasmonic acid, JA)诱导薯蓣块茎形成的活性, 发现薯蓣块茎的形成主要受JA控制

(甘立军等, 2001)。

2 Dioscorin蛋白的性质与结构

Dioscorin是定位于液泡的一种分泌蛋白, 其N末端有一个由25个氨基酸残基组成的信号肽。在细胞内的整个合成加工过程中, 信号肽引导着Dioscorin的前体蛋白转移到内质网腔内, 之后经高尔基体运输至液泡, 在液泡内继续进行修饰, 最后形成成熟的Dioscorin。在此过程中, 信号肽对于Dioscorin向液泡的定向运输有着极其重要的作用。

Hou等(1999a)和Xue等(2012a)通过伴刀豆蛋白-过氧化物酶(con-A peroxidase)活性染色实验, 证明了有些薯蓣品种块茎中的Dioscorin蛋白能够被糖基化修饰, 属于糖蛋白, 并且具有N-和O-糖基化位点。这种糖基化修饰过程发生在高尔基体上, Dioscorin的这种修饰很可能有利于其由内质网向高尔基体的运输。然而也发现部分薯蓣品种中的Dioscorin蛋白并不是糖蛋白, 目前还没有实验证据能够解释这一现象, 推测很可能是由于品种间的差异性所致。

Tsai等(2013)从薯蓣块茎的cDNA文库中克隆得到了 *D. japonica*、*D. pseudojaponica* 和 *D. alata* 的 *Dioscorin* 基因; 聚类分析结果显示, 克隆得到的所有 *Dioscorin* 基因聚为2类。随后, 使用双向电泳技术分离得到了薯蓣块茎中成熟的Dioscorin蛋白, 并利用质谱技术对蛋白的氨基酸进行了鉴定。结果表明, 所有的Dioscorin蛋白都含有2个半胱氨酸残基(Cys²⁸-Cys¹⁸⁷), 相对于A类Dioscorin蛋白, B类Dioscorin蛋白则含有3个半胱氨酸残基(Cys²⁸-Cys⁴⁰-Cys¹⁸⁷)。Gaidamashvili (2004)的研究结果证实, 半胱氨酸残基间形成的二硫键与蛋白以单体还是二聚体或多聚体存在密切相关, 且半胱氨酸残基Cys²⁸与Cys¹⁸⁷易形成分子内二硫键, 而半胱氨酸残基Cys⁴⁰与Cys⁴⁰更易形成分子间二硫键, 从而使蛋白单体聚合形成多聚体。由此, 可以推测半胱氨酸间形成的是分子内二硫键还是分子间二硫键可能对于蛋白的正确折叠和生理功能有重要作用。利用MALDI-TOF-MS技术对天然蛋白进行鉴定, 发现各个薯蓣品种中的大部分Dioscorin蛋白均由含1个分子内二硫键(Cys²⁸-Cys¹⁸⁷)的A类Dioscorin组成, 且大都以单体的形式存在, 只有少部分Dioscorin蛋白为二聚体, 由B类Dioscorin通过

形成1个分子间的二硫键(Cys⁴⁰-Cys⁴⁰)组成(Conlan et al., 1995; Gaidamashvili et al., 2004; Tsai et al., 2013)。因此, 链内二硫键的存在与否, 可以用来区分Dioscorin蛋白的类型, 这一分类方法与氨基酸序列聚类结果一致。

为了能从Dioscorin蛋白的结构揭示其具有的相关酶活, 利用圆二色光谱与近红外傅里叶变换拉曼光谱技术分析了蛋白的二级结构。结果表明, Dioscorin A的二级结构主要是 α -螺旋, 而Dioscorin B的二级结构属于反向平行的 β -折叠; Dioscorin A与粗蛋白结构相似, 这表明了Dioscorin A的结构优于Dioscorin B。此外, 还发现该蛋白的主要氨基酸为酪氨酸、色氨酸、甲硫氨酸和半胱氨酸, 但这些氨基酸在两类蛋白中的含量完全不同(Liao et al., 2006)。Dioscorin蛋白二级结构的解析在一定程度上有助于对其相关活性的解释, 但是并不能完整揭示结构与功能之间的关联机制。为此, Xue等(2012b)将Dioscorin蛋白在大肠杆菌DE3细胞中异源表达, 并对纯化的Dioscorin蛋白进行结晶, 希望通过对高分辨率晶体结构的分析, 更好地阐明Dioscorin蛋白具有多重功能活性的具体机制。随后, Xue等(2015)利用氨基酸点突变技术结合蛋白的晶体结构分析, 揭示了Dioscorin蛋白具有碳酸酐酶活性和脱氢抗坏血酸还原酶活性的相关机制。但是对于Dioscorin蛋白其它功能活性的作用机制, 目前还不十分清楚, 因此还需进一步加强Dioscorin蛋白结构和生化特性的研究。

3 Dioscorin具有多种酶活特性

薯蓣植物自古以来在我国就是药食同源的保健食品, 现在发现其还具有开发成功能性食品和蛋白质类医药的潜力。其开发潜力主要体现在它不仅具有块茎一般贮藏蛋白的高营养价值, 而且具有碳酸酐酶、胰蛋白酶抑制剂、抗氧化、抗高血压以及免疫调节等一系列生理和药理活性。这无疑也是近年来国内外学者对Dioscorin蛋白研究的重点。

3.1 碳酸酐酶活性

碳酸酐酶是一种含锌金属酶, 其活性中心有一个催化所必需的锌原子, 它通过催化CO₂的可逆水合反应, 降低CO₂在叶肉细胞中的扩散阻力, 进而促进CO₂向

Rubisco的扩散, 为羧化反应提供底物(赵玉国等, 2009)。CA参与pH调节、离子交换、CO₂转运、呼吸作用、生物合成和光合CO₂固定多种生物学过程, 维持机体内环境稳态(邓秋红等, 2009), 已被认为是一种与光合作用密切相关的重要酶, 是生物体内无机碳浓缩机制的组成部分。

Hewett-Emmett和Tashian (1996)首次指出, Conlan在1995年报道的Dioscorin蛋白序列与碳酸酐酶相关。将Dioscorin A和Dioscorin B的序列与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、人类和小鼠等物种的碳酸酐酶(a-CA)家族基因序列进行比对分析, 发现Dioscorin蛋白与碳酸酐酶的氨基酸序列存在一定的同源性。随后, Hou等(1999a, 2000)分别从*D. batatas*、*D. alata*和*D. pseudojaponica*块茎中纯化了Dioscorin蛋白, 活性测定结果表明均具有碳酸酐酶活性。但Dioscorin的CA活性不像通常的a-CA活性需要锌离子, 推测可能是因为Dioscorin中缺少相应的锌离子结合位点(1个组氨酸残基)(Shewry, 2003)。同样, 利用大肠杆菌重组表达Dioscorin蛋白, 将其纯化后, 进行活性测定, 发现重组的Dioscorin蛋白也具有碳酸酐酶活性。因此, Dioscorin蛋白的碳酸酐酶活性可以作为其序列与碳酸酐酶家族相关的依据, 且碳酸酐酶活性的减少可能是由二硫键与巯基之间的交换造成。

3.2 胰蛋白酶抑制剂活性

胰蛋白酶抑制剂(trypsin inhibitor, TI)是指能与蛋白酶的必需基团发生化学反应, 从而抑制蛋白酶与底物的结合, 使蛋白酶的活力下降甚至丧失的一类物质。目前, 人们认为植物中的胰蛋白酶抑制剂是一种天然的抗虫物质, 其抗虫机制是通过抑制昆虫消化系统中的蛋白酶来抑制蛋白质的降解, 从而导致昆虫消化不良, 影响其生长发育, 甚至死亡(Koiwa, 2000)。例如, 豇豆(*Vigna unguiculata*)胰蛋白酶抑制剂(cowpea trypsin inhibitor)就是由于具有广谱抗虫性而在植物基因工程中得到广泛应用(Boulter et al., 1989)。总之, 作为基因表达的初级产物, 蛋白酶抑制剂在植物保护反应中具有重要作用, 已经成为植物抗虫基因工程较理想的工具。

Hou等(1999a)从6个薯蓣品种中分别分离纯化得到Dioscorin蛋白, 并证明其能够与甘薯胰蛋白酶

抑制剂的抗体发生作用。尽管这两种蛋白在序列上不具相似性,但都属于胰蛋白酶抑制剂。随后,利用胰蛋白酶抑制剂能够抑制胰蛋白酶使其不能作用于底物BAPNA的原理,对其活性进行了测定,发现从不同薯蓣材料中提取的Dioscorin蛋白均具有比较弱的胰蛋白酶抑制剂活性,大约100 µg Dioscorin蛋白可以抑制1.9 µg胰蛋白酶。同时利用大肠杆菌异源表达Dioscorin蛋白后,进行了胰蛋白酶抑制剂的活性测定,检测到该蛋白均具有胰蛋白酶抑制剂活性(Hou et al., 2000; Xue et al., 2012a),但相对于天然的Dioscorin蛋白,其活性较低。尽管Dioscorin蛋白的胰蛋白酶抑制剂活性不高,但是薯蓣块茎中含有如此大量的Dioscorin蛋白,对于块茎的保护无疑具有重要作用。因此,Dioscorin蛋白可以作为一种块茎保护剂来对抗昆虫和病原菌的侵害,同时对调节和控制内源性蛋白酶也具有重要作用(Ryan, 1989; Balestrazzi et al., 2004)。

3.3 抗氧化活性

人体内有多种自由基,尤以氧自由基最多(李胜利等, 2004),它们是需氧生物有氧呼吸的产物。氧具有高度活性,当它转变成具有攻击性的氧自由基时,会造成机体在分子水平、细胞水平及组织器官水平的各种损伤。在环境、年龄和心理压力等因素的作用下,人体会出现自由基产生过多或清除过慢的现象,加速机体的衰老进程并诱发各种疾病(苗明三等, 2002)。为了保护细胞和机体免于活性氧自由基的损伤,越来越多的抗氧化物被发现并应用,如抗氧化物酶、维生素C、维生素E和胡萝卜素等(李建喜等, 2006)。人们适当摄入具有抗氧化活性的物质可以降低体内自由基水平,防止脂质过氧化,帮助机体抵御疾病。

纵观国内外对薯蓣贮藏蛋白Dioscorin活性的研究,发现该蛋白具有多种抗氧化活性,主要体现在具有脱氢抗坏血酸还原酶、单脱氢抗坏血酸还原酶、清除DPPH自由基、清除超氧阴离子自由基和羟自由基活性。Hou等(1999b, 2001)从*D. batatas*中分离了Dioscorin蛋白,通过测定发现其具有脱氢抗坏血酸还原酶、单脱氢抗坏血酸还原酶、清除DPPH自由基和羟自由基活性。周晓薇等(2011)对铁棍山药(*D. opposita*)蛋白质进行了分离纯化,证实其具有清除DPPH自由基、清除超氧阴离子自由基和除羟自由基

活性,这可能与分子量为31 kDa的Dioscorin蛋白相关。与此同时,Xue等(2012a)将Dioscorin蛋白在大肠杆菌中异源表达,分离纯化后,进行抗氧化活性测定。研究结果表明,该重组蛋白具有脱氢抗坏血酸还原酶和单脱氢抗坏血酸还原酶活性,但比自然状态下的Dioscorin蛋白活性低,其活性降低的原因可能与蛋白糖基化的减少相关。以上结果说明该蛋白具有较好的抗氧化活性,可作为潜在的抗氧化剂或抗衰老药物进行研究。为了进一步发现Dioscorin蛋白中具有抗氧化功能的肽段,Han等(2013)利用计算机模拟胃蛋白酶水解Dioscorin蛋白的过程,发现产生了5种含巯基的肽段(巯基化合物),分别命名为肽段1 (KTGG-NGME)、肽段2 (PPCSE)、肽段3 (CDDRVRTPLT)、肽段4 (KTGGY)和肽段5 (PPCTE)。然后人工合成Dioscorin蛋白的多肽,分别测定其相关的抗氧化活性,发现这5个肽段具有羟自由基清除活性、抗低密度脂蛋白过氧化反应、抗AAPH诱发的溶血反应及增强对氧自由基吸收的能力,并对丙酮醛诱导的人脐静脉内皮细胞死亡具有保护作用。同时研究还发现Dioscorin经胃蛋白酶水解,可产生含有色氨酸的二肽Asn-Trp (NW),该二肽也具有较高的抗氧化和抗糖化活性(Han et al., 2014)。这些结果表明,Dioscorin经水解后的巯基肽段具有抗氧化和抗糖化的活性。因此,薯蓣块茎中的Dioscorin蛋白是一种可以改善人体内氧自由基的清除剂,具有开发成保健品的潜能,对人类健康非常有益。

3.4 免疫调节活性和血管紧张素转化酶抑制作用

薯蓣块茎营养丰富,在非洲和亚洲被广泛种植。干的薯蓣块茎片被用作传统的中药,可以增强脾、肾脏、肝脏和胃的功能,并能去痰和抗疲劳,对慢性腹泻及糖尿病也有一定的疗效(Li, 1996)。Liu等(2007)和Lin等(2009)先后证明了不同薯蓣品种的Dioscorin蛋白均具有明显的免疫调节活性。Yang和Lin (2014)利用卵清蛋白(OVA)能诱导小鼠产生过敏反应这一实验模型,分别探究了薯蓣各个品种的Dioscorin蛋白是否具有抑制过敏反应的作用。实验结果表明,A类Dioscorin蛋白能够通过降低小鼠血液中免疫球蛋白E (IgE)和组胺的水平,进而抑制小鼠对IgE引起的过敏反应;并且所有注射了Dioscorin蛋白的小鼠体内IFN-γ和IgG2a的水平也明显提高。同时还发现,尽管

所有供试薯蓣品种中A类Dioscorin蛋白对过敏反应表现出相似的免疫调节活性,但是不同薯蓣品种自然状态下的Dioscorin蛋白的免疫调节结果却有所不同,这很可能与每个品种中Dioscorin蛋白2个亚基所占的百分比相关(Fu et al., 2006; Liu et al., 2009; Hsu et al., 2013)。

此外,食物中的蛋白质对人体起着重要作用,具有提供机体所需氨基酸、构成和修复组织、提供能量、参与体内的物质代谢调节和提高免疫等功能。近年来的研究发现,蛋白质还有第三机能,蛋白质经水解可得到一些具有生物活性的肽,这些肽具有广泛的生理调节功能,如降血压和促进Ca²⁺的吸收等。特别是血管紧张素转化酶抑制肽——降血压肽,已成为生物活性肽研究领域的热点方向之一。Hsu等(2002)和Nagai等(2006)的研究表明,Dioscorin蛋白对血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)具抑制作用,并且Dioscorin蛋白对ACE抑制的活性随着水解时间的增加而增加。因此,抑制ACE活性,对于降血压有积极的作用,寻找更有效的ACE抑制剂现已成为高血压药物研究中的热点课题(辛志宏等, 2003)。Dioscorin蛋白具有降低血压的作用,这使薯蓣成为治疗高血压药物的重要候选药材。

4 展望

薯蓣植物是许多热带国家的重要粮食作物,全世界种植的薯蓣植物超过600种。在中国,薯蓣用于保健食品和中草药历史悠久,故其功能特性和医药潜力备受关注(Akanbi et al., 1996; Omonigho et al., 2000)。薯蓣的这些有益特性主要归因于其块茎中的Dioscorin蛋白(Araghinknam et al., 1996; Hou et al., 1999; Hsu et al., 2002; Liu et al., 2007; Fu et al., 2009)。已有的研究表明,Dioscorin蛋白是薯蓣块茎中最主要的可溶性蛋白,含量丰富,且具有一般贮藏蛋白的高营养价值特性,能够为植物在生长季节提供营养物质;也具有广泛的酶学特性,可以开发成保健品和药物。此外,国内外学者对薯蓣的生化特性和药理活性进行了全面的研究,也取得了一些进展。但是Dioscorin蛋白作为一种在薯蓣块茎中特异表达的贮藏蛋白,如此大量且具活性,也是块茎形成的一种重要生化标志。随着对Dioscorin蛋白了解的不断深入,

该蛋白在薯蓣植物体内的功能也需进一步探究。如Dioscorin基因在薯蓣块茎的萌发、发育和贮藏阶段具有怎样的表达模式? Dioscorin蛋白调控薯蓣块茎形成和发育的分子机制是什么? Dioscorin基因的转录和表达受哪些外界因素的调控? 其调控元件有哪些? 作用机理又怎样? 从生化、分子和细胞水平更深入地研究Dioscorin基因在植物体内的生理功能,从本质上了解该基因的组成、结构以及调控机理,可为更好地开发和利用薯蓣植物及改善其生长状况和提高其品质提供理论依据与技术支持。

参考文献

- 程文杰 (2010). 大薯种质资源遗传多样性分析. 硕士论文. 海口: 海南大学.
- 邓秋红, 甘露, 付春华, 栗茂藤, 余龙江 (2009). 芸薹属中几个物种碳酸酐酶活性的比较. 植物生理学通讯 45, 663–666.
- 甘立军, 曾晓春, 周雯 (2001). 茉莉酸类与植物地下贮藏器官的形成. 植物学通报 18, 546–553.
- 李建喜, 杨志强, 王学智 (2006). 活性氧自由基在动物机体内的生物学作用. 动物医学进展 27(10), 33–36.
- 李胜利 (2004). 营养与膳食. 北京: 人民卫生出版社.
- 苗明三 (2002). 氧自由基、疾病与抗氧化中药. 河南中医学刊 17(4), 1–4.
- 辛志宏, 马海乐, 吴守一 (2003). 食品蛋白质中血管紧张素转化酶抑制肽的研究. 江苏大学学报(自然科学版) 24(4), 17–21.
- 赵玉国, 吴沿友 (2009). 光质对组培苗叶绿素含量和碳酸酐酶活性及生长的影响. 现代农业科学 4, 16–18.
- 周双清, 胡新文, 黄东益, 黄小龙 (2011). 参薯组织培养的初步研究. 中国热带农业 5, 85–87.
- 周晓薇, 王静, 段浩, 顾镍, 刘红彦, 曾晓雄 (2011). 铁棍山药蛋白质的分离纯化及体外抗氧化活性. 食品科学 32(9), 31–35.
- Akanbi CT, Gureje PO, Adeyemi IA (1996). Effect of heat-moisture pre-treatment on physical characteristics of dehydrated yam. *J Food Eng* 28, 45–54.
- Araghinknam M, Chung S, White TN, Eskelson E, Was-ton RR (1996). Antioxidant activity of dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans. *Life Sci* 59, PL147–PL157.
- Balestrazzi A, Gonfalonieri M, Odoardi M, Ressegotti V,

- Allegro G, Tava A, Carbonera D** (2004). A trypsin inhibitor cDNA from a novel source, snail medic (*Medicago scutellata* L.): cloning and functional expression in response to wounding, herbivore, jasmonic and salicylic acid. *Plant Sci* **167**, 337–346.
- Boulter D, Gatehouse AM, Hilder V** (1989). Use of cowpea trypsin inhibitor (CpTI) to protect plants against insect predation. *Biotechnol Adv* **7**, 489–497.
- Conlan RS, Griffiths LA, Napier JA, Shewry PR, Mantell S, Ainsworth C** (1995). Isolation and characterisation of cDNA clones representing the genes encoding the major tuber storage protein (dioscorin) of yam (*Dioscorea cayenensis* Lam.). *Plant Mol Biol* **28**, 369–380.
- Conlan S, Griffiths LA, Turner M, Fido R, Tatham A, Ainsworth C, Shewry P** (1998). Characterisation of the yam tuber storage protein dioscorin. *J Plant Physiol* **153**, 25–31.
- Drazkiewicz M, Skorzynska-Polit E, Krupa Z** (2010). Effect of BSO-supplemented heavy metals on antioxidant enzymes in *Arabidopsis thaliana*. *Ecotoxicol Environ Saf* **73**, 1362–1369.
- Fu LS, Ko YH, Lin KW, Hsu JY, Chu JJ, Chi CS** (2009). Dioscorin protects tight junction protein expression in A549 human airway epithelium cells from dust mite damage. *J Microbiol Immunol Infect* **42**, 457–463.
- Fu SL, Hsu YH, Lee PY, Hou WC, Hung LC, Lin CH** (2006). Dioscorin isolated from *Dioscorea alata* activates TLR4-signaling pathways and induces cytokine expression in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* **339**, 137–144.
- Gaidamashvili M, Ohizumi Y, Iijima S, Takayama T, Ogawa T, Muramoto K** (2004). Characterization of the yam tuber storage proteins from *Dioscorea batatas* exhibiting unique lectin activities. *J Biol Chem* **279**, 26028–26035.
- Han CH, Lin YS, Lin SY, Hou WC** (2014). Antioxidant and antiglycation activities of the synthesised dipeptide, Asn-Trp, derived from computer-aided simulation of yam dioscorin hydrolysis and its analogue, Gln-Trp. *Food Chem* **147**, 195–202.
- Han CH, Liu JC, Fang SU, Hou WC** (2013). Antioxidant activities of synthesised thiol-contained peptides derived from computer-aided pepsin hydrolysis of yam tuber storage protein, dioscorin. *Food Chem* **138**, 923–930.
- Harvey PJ, Boulter D** (1983). Isolation and characterization of the storage protein of yam tubers (*Dioscorea rotundata*). *Phytochemistry* **22**, 1687–1693.
- Heweet-Emmett D, Tashian RE** (1996). Functional diversity, conservation, and convergence in the evolution of the α -, β -, and γ -carbonic anhydrase gene families. *Mol Phylogenet Evol* **5**, 50–77.
- Hou WC, Chen HJ, Lin YH** (1999b). Dioscorin, the major tuber storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne), with dehydroascorbate reductase and monodehydroascorbate reductase activities. *Plant Sci* **149**, 151–156.
- Hou WC, Chen HJ, Lin YH** (2000). Dioscorins from different *Dioscorea* species all exhibit both carbonic anhydrase and trypsin inhibitor activities. *Bot Bull Acad Sinica* **41**, 191–196.
- Hou WC, Lee MH, Chen HJ, Liang WL, Han CH, Liu YW, Lin YH** (2001). Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne). *J Agric Food Chem* **49**, 4956–4960.
- Hou WC, Liu JS, Chen HJ, Chen TE, Chang CF, Lin YH** (1999a). Dioscorin, the major tuber storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne), with carbonic anhydrase and trypsin inhibitor activities. *J Agric Food Chem* **47**, 2168–2172.
- Hsu FL, Lin YH, Lee MH, Lin CL, Hou WC** (2002). Both dioscorin, the tuber storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv. 'Tainong No.1'), and its peptic hydrolysates exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activities. *J Agric Food Chem* **50**, 6109–6113.
- Hsu YJ, Weng CF, Lin KW, Lin KC** (2013). Suppression of allergic reactions in ovalbumin-sensitized mice by yam storage proteins dioscorins. *J Agric Food Chem* **61**, 11460–11467.
- Koiwa H, Shade RE, Zhu-Salzman K, D'Urzo MP, Murdock LL, Bressan RA, Hasegawa PM** (2000). A plant defensive cystatin (soyaeystatin) targets cathepsin L-Like digestive cysteine Proteinases (DvCALs) in the larval midgut of western corn rootworm (*Diabrotica virgifera*). *FEBS Lett* **471**, 67–70.
- Lawton JR, Lawton JRS** (1967). The morphology of the dormant embryo and young seedling of five species of *Dioscorea* from Nigeria. *Proceedings of the Linnean Society of London* **178**, 153–159.
- Li SC** (1596). Pen Tsao Kang Mu (Systematic Pharmacopoeia). China, 1518–1593.
- Liao YH, Tseng CY, Chen W** (2006). Structural characterization of dioscorin, the major tuber protein of yams, by near infrared Raman spectroscopy. *J Phys Conf Ser* **28**, 119–122.
- Lin PL, Lin KW, Weng CF, Lin KC** (2009). Yam storage

- protein dioscorins from *Dioscorea alata* and *Dioscorea japonica* exhibit distinct immunomodulatory activities in mice. *J Agric Food Chem* **57**, 4606–4613.
- Liu YW, Liu JC, Huang CY, Wang CK, Shang HF, Hou WC** (2009). Effects of oral administration of yam tuber storage protein, dioscorin, to BALB/c mice for 21-days on immune responses. *J Agric Food Chem* **57**, 9274–9279.
- Liu YW, Shang HF, Wang CK, Hsu FL, Hou WC** (2007). Immunomodulatory activity of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv. 'Tainong No. 1') tuber. *Food Chem Toxicol* **45**, 2312–2318.
- Nagai T, Nagashima T** (2006). Functional properties of dioscorin, a soluble viscous protein from Japanese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) tuber mucilage tororo. *Z Naturforsch C* **61**, 792–798.
- Omonigho SE, Ikenebomeh MJ** (2000). Effect of temperature treatment on the chemical composition of pounded white yam during storage. *Food Chem* **71**, 215–220.
- Racuseu D, Foote M** (1980). A major soluble glycoprotein of potato tubers. *J Food Biochem* **4**, 43–52.
- Ryan CA** (1989). Proteinase inhibitor gene families: strategies for transformation to improve plant defenses against herbivores. *BioEssays* **10**, 20–24.
- Shewry PR** (2003). Tuber storage proteins. *Ann Bot* **91**, 755–769.
- Tsai WY, Jheng YJ, Chen KH, Lin KW, Ho YP, Yang CC, Lin KC** (2013). Molecular cloning, structural analysis and mass spectrometric identification of native dioscorins of various yam species. *J Sci Food Agric* **93**, 761–770.
- Wanasundera JPD, Ravindran G** (1994). Nutritional assessment of yam (*Dioscorea lata*) tubers. *Plant Foods Hum Nutr* **46**, 33–39.
- Xue YL, Miyakawa T, Nakamura A, Hatano K, Sawano Y, Tanokura M** (2015). Yam tuber storage protein reduces plant oxidants using the coupled reactions as carbonic anhydrase and dehydroascorbate reductase. *Mol Plant* **8**, 1115–1118.
- Xue YL, Miyakawa T, Sawano Y, Tanokura M** (2012a). Cloning of genes and enzymatic characterizations of novel dioscorin isoforms from *Dioscorea japonica*. *Plant Sci* **183**, 14–19.
- Xue YL, Miyakawa T, Sawano Y, Tanokura M** (2012b). Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of dioscorin from *Dioscorea japonica*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* **68**, 193–195.
- Yang CC, Lin KC** (2014). Class A dioscorins of various yam species suppress ovalbumin-induced allergic reactions. *Immunopharmacol Immunotoxicol* **36**, 242–249.

Advances in Study of Dioscorins as Special Proteins in Yam Tuber

Linya Liu, Yacheng Huang, Xiaolong Huang, Dongyi Huang*

College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China

Abstract Dioscorins are the major tuber storage proteins of yam and have the characteristics of tuber specific expression. Dioscorins have the characteristics of general storage proteins but also exhibit biological activities, including carbonic anhydrase, trypsin inhibitor, antioxidant, antihypertensive and immunomodulatory activities. Moreover, may be involved in the formation of the yam tuber, as pharmaceutical proteins. Here we review the recent studies of dioscorin proteins, including their structural features, characterization, function and research progress in molecular biology.

Key words yam, Dioscorin, storage proteins, characterization, biological function

Liu LY, Huang YC, Huang XL, Huang DY (2016). Advances in study of Dioscorins as special proteins in yam tuber. *Chin Bull Bot* **51**, 274–280.

* Author for correspondence. E-mail: hdongyi@126.com