

印 虹,孙桂菊. 小麦肽研究进展[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):7-9.

# 小麦肽研究进展

印 虹,孙桂菊

(东南大学公共卫生学院营养与食品卫生系,江苏南京 210009)

**摘要:**小麦肽是一种来源于小麦蛋白的植物性生物活性肽,其生理活性越来越受到研究者的重视。就小麦肽的发现、制备、鉴定及其生理学功能进行了综述,并介绍了近几年来国内外关于小麦肽研究的进展。

**关键词:**小麦肽;功能性食品;生物活性肽

**中图分类号:** R151 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0007-03

机体胃肠道消化食物中的蛋白质时释放出很多肽类物质,这些肽类物质不仅是氨基酸的供体,而且它还赋予了蛋白质更多的非营养学功能。目前,关于乳源生物活性肽、大豆活性肽报道较多,而关于小麦活性肽的报道较少。本研究总结了近年来国内外关于小麦肽的研究进展,旨在为进一步开发与利用小麦肽提供依据。

## 1 小麦肽结构特点

1964 年,Finlayson 第 1 次报道了小麦醇溶蛋白的水解液中存在小麦肽<sup>[1]</sup>。Gilbert 等从小麦蛋白中得到一组高分子量的亚基,这些亚基与小麦蛋白的弹性作用有关,亚基主要包括 3 个结构域:无重复性的 N 端结构域、无重复性的 C 端结构域、中心结构域(包含重复序列肽)<sup>[2]</sup>。Wright 等利用 X 射线晶体衍射技术也观察到了这些重复序列肽的存在<sup>[3]</sup>。这种肽存在  $\beta$ -转角和聚脯氨酸 II 样的结构,低温时聚脯氨酸 II 样构象占优势,高温时  $\beta$ -转角构象占优势。这种重复序列肽还参与了分子间  $\beta$ -折叠的形成。小麦肽的结构特点是在小麦蛋白中重复出现,并且存在着 2 种构象,这些肽决定着小麦蛋白的结构。

收稿日期:2013-03-30

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金(编号:3225003902);

江苏省普通高校研究生科研创新计划(编号:CXZZ12\_0124)。

作者简介:印 虹(1984—),男,江苏常州人,博士,从事食品毒理与功效研究。E-mail:230119540@seu.edu.cn。

通信作者:孙桂菊,博士,教授,从事食品毒理与功效研究。E-mail:gjsun@seu.edu.cn。

善相关的法律法规建设,为农业科技创新联盟的创建和发展提供良好的法制环境。

## 参考文献:

- [1]王济民,肖红波. 我国粮食八年增产的性质与前景[J]. 农业经济问题,2013(2):22-31.
- [2]毛世平,曹志伟,刘瀛弢,等. 中国农业科研机构科技投入问题研究[J]. 农业经济问题,2013(1):49-56.
- [3]李新男. 创新“产学研结合”组织模式 构建产业技术创新战略联盟[J]. 中国软科学,2007(5):9-12.

## 2 小麦肽的制备

人们利用各种各样的蛋白酶(胰蛋白酶<sup>[4-5]</sup>、中性蛋白酶<sup>[6]</sup>、固定化碱性蛋白酶<sup>[7]</sup>等)对小麦蛋白进行水解,得到小麦肽。研究人员采用胃蛋白酶、胰蛋白酶来水解小麦蛋白,得到水解产物——小麦肽,其成分与机体胃肠道消化得到的肽类成分比较相似<sup>[4-5]</sup>。

## 3 小麦肽的鉴定

Egorov 等利用高效液相色谱和基质辅助激光解析电离化/飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption ionization/time of flight MS, MALDI-TOF-MS)联用,从小麦蛋白水解液中分离和鉴定出 24 种新的抗微生物肽,根据氨基酸序列和半胱氨酸的位置将这 24 种小麦肽分成了 7 个家族,分别是防御素、硫素、脂质转移蛋白类、橡胶蛋白样肽、交错样肽、氨基乙酸肽和麦芽糖结合蛋白-1 家族<sup>[8]</sup>。Sealey-Voyksner 等优化了液质(液相层析-质谱)联用方法,来检测和定量分析各种食物和消费品中的 6 种具有生理学活性的小麦肽<sup>[9]</sup>。这种方法比较灵敏,只要食物中的小麦肽含量在 10 pg/mg 以上均能被检测出来。液质联用法检测和鉴定小麦肽的重复性和稳定性比较好。Morel 等通过制作某些小麦肽的多克隆抗体和单克隆抗体来鉴定小麦肽<sup>[10]</sup>。此方法特异性比较好,但单抗和多抗的制作较为繁琐。

## 4 小麦肽的生理学功能

### 4.1 阿片活性

研究人员根据吗啡、酮唑辛等一组激动药所产生的不同

- [4]钟书华. 技术联盟:类型、效益与成本分析[J]. 科学与科学技术管理,1998(8):25-27.
- [5]陈宝明. 产业技术联盟:性质、作用与政府支持[J]. 中国科技论坛,2007(7):34-37.
- [6]蒋樟生,胡珑瑛,田也壮. 基于知识转移价值的产业技术创新联盟稳定性研究[J]. 科学学研究,2008(增刊):506-511.
- [7]张 晓,盛建新. 我国产业技术创新战略联盟的组建机制[J]. 科技进步与对策,2009(10):52-54.
- [8]万宝瑞. 实现农业科技创新的关键要抓好五大转变[J]. 农业经济问题,2012(10):4-7.

生物活性,分别命名 $\mu$ 、 $\kappa$ 、 $\sigma$ 原型,由此发现了 $\mu$ 、 $\kappa$ 、 $\sigma$ 3种阿片受体。 $\delta$ 型受体是研究人员等在研究内源性阿片肽和内啡肽的效应时发现的<sup>[11]</sup>。目前人们对 $\mu$ 、 $\kappa$ 、 $\delta$ 型阿片受体的认识已经比较清楚,其基因编码已经被人们克隆,这3种受体被称为“经典阿片受体”<sup>[12]</sup>。Huebner等发现小麦蛋白的酶解产物中有阿片活性肽,他们用氘标记了这些具有阿片活性的小麦肽,试验结果显示,这些肽可以通过血脑屏障进入大鼠大脑,与脑中阿片受体结合,具有阿片活性<sup>[13]</sup>。Shin-ichi等从酶解的小麦蛋白中分离出4种阿片样肽,它们的结构分别是 Gly-Tyr-Tyr-Pro-Thr、Gly-Tyr-Tyr-Pro、Tyr-Gly-Gly-Trp-Leu、Tyr-Gly-Gly-Trp,五肽 Gly-Tyr-Tyr-Pro-Thr 与阿片受体 $\delta$ 可以特异性结合,N端的 Gly 增加了五肽的这种结合活性<sup>[14]</sup>。五肽 Tyr-Gly-Gly-Trp-Leu 显示了很多潜在的生物学活性,推测其活性和肽链中的 Trp 和 Leu 有很大关系。研究人员从小麦蛋白酶解产物中得到了第5个阿片样肽,其氨基酸序列为 Tyr-Pro-Ile-Ser-Leu,并将其命名为 gluten exorhin C,它的结构与以往报道的任何内源性和外源性的阿片样肽都不同。Tyr-Pro-X-Ser-Leu 的结构与活性关系密切,如果 X 是芳香族氨基酸或疏水性氨基酸,那么这个肽就具有阿片活性<sup>[15]</sup>。孔祥珍等采用小鼠热板法和醋酸扭体法对由不同蛋白酶(碱性蛋白酶、胰蛋白酶、胃酶、胰酶、中性蛋白酶和复合蛋白酶)水解制备的小麦面筋蛋白短肽的镇痛活性进行了体内试验<sup>[16]</sup>。在小鼠热板法试验中,其痛阈提高率分别为 77.78%、81.22%、79.78%;在小鼠醋酸扭体试验中,其扭体抑制率分别为 38.25%、57.82%、52.43%。结果表明,由碱性蛋白酶、胃酶、复合酶(胃酶和胰酶)水解制备的3种面筋蛋白短肽(AWGH、PWGH 和 PP-WGH)具有较好的镇痛作用。

#### 4.2 抑制血管紧张素转化酶(ACE)活性

ACE 是肾素-血管紧张素系统中的关键酶,其生理作用是把血管紧张素原转化成血管紧张素,血管紧张素与其受体结合,能导致血管收缩、血压升高。抑制 ACE 的活性,可以减少血管紧张素的产生,具有降血压的作用<sup>[17-18]</sup>。抑制 ACE 活性已经成为降压药的靶点。Motoi 等利用酸性蛋白酶水解小麦蛋白得到了可以抑制 ACE 活性的小麦肽,这个肽的氨基酸残基序列是 Ile-Ala-Pro<sup>[19]</sup>。Ma 等对脱脂的小麦胚芽蛋白(defatted wheat germ protein, DWGP)进行水解,也得到了能抑制 ACE 活性的水解产物小麦肽,超声波可以加速 DWGP 的水解<sup>[20]</sup>。Matsui 等给自发性高血压大鼠静脉注射小麦肽,发现动脉压显著下降,当小麦肽剂量达到 50 mg/kg 时,降低效果最好<sup>[21]</sup>。进一步试验发现,一个三肽的小麦肽发挥了主要的降血压作用,序列是 Ile-Val-Tyr,在食物中添加这个小肽,可能会有较好的降血压功效。Nogata 等给自发性高血压大鼠灌胃小麦肽 2 h 后发现,大鼠的收缩压显著下降,10 mg/kg 剂量组降压效果持续了 6 h,50、200 mg/kg 剂量组降压效果持续了 8 h。在自发性高血压大鼠饮水中添加 0.02% 小麦肽,10 d 后大鼠收缩压显著下降;添加 0.1% 小麦肽 5 d 后,大鼠收缩压显著下降,说明小麦肽有降血压功能<sup>[22]</sup>。

#### 4.3 抑癌活性

Calzuola 等从小麦胚芽染色质中分离到一些小分子量的肽(分子量为 600~1 000 Da),发现这些肽能明显地抑制海拉

癌细胞的生长,而且这种抑制作用存在剂量依赖性关系<sup>[23]</sup>。小麦蛋白水解产物中还含有月苧辛成分,这是一种包含 43 个氨基酸的长肽,这种长肽具有很好的抑癌作用,该肽的作用机制与其能抑制核组蛋白乙酰化酶活力有关<sup>[24]</sup>。

#### 4.4 凝集与抗凝集活性

有学者发现,小麦醇溶蛋白的水解产物可以使 K562 细胞发生凝集反应,而小麦醇溶蛋白本身却没有这种作用,分离纯化水解产物后,鉴定发现有 2 个肽参与了凝集反应,其序列分别是 Leu-Gly-Gln-Gln-Gln-Pro-Phe-Pro-Pro-Gln-Gln-Pro-Tyr 和 Pro-Gln-Pro-Gln-Pro-Phe-Pro-Ser-Gln-Gln-Pro-Tyr,敲除前者羧基端 6 个氨基酸或者后者氨基端 5 个氨基酸,它们仍然能发挥其凝集活性。2 年后,de Vincenzi 等又从硬粒小麦醇溶蛋白水解产物中得到 1 个 1157.5 Da 的肽,它可以阻止 K562 细胞的凝集反应<sup>[25-26]</sup>,其氨基酸序列为 Gln-Gln-Pro-Gln-Asp-Ala-Val-Gln-Pro-Phe<sup>[27-28]</sup>。

#### 4.5 抗氧化活性

陈英等观察了不同剂量小麦胚活性肽对衰老模型小鼠抗氧化的影响,利用腹腔注射 600 mg/(kg·d) D-半乳糖建立衰老模型,灌胃不同剂量的小麦胚活性肽,45 d 后测定组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)含量。结果表明,小麦胚活性肽能显著提高血清中 T-AOC、GSH-Px、SOD 活力以及心脏组织中 SOD 和 T-AOC 活力,也能显著提高脑和肝脏组织中 GSH-Px 活力和脑中 T-AOC 活力,同时能显著降低血清和各组织中的 MDA 含量,说明小麦胚活性肽有较强的体内抗氧化活性<sup>[29]</sup>。

#### 4.6 免疫调节

代卉等用环磷酸腺苷诱导免疫抑制的小鼠模型,观察小麦蛋白活性肽对免疫抑制小鼠免疫功能和抗氧化功能的影响。结果显示,环磷酸腺苷处理可以显著降低小鼠血清中抗 SRBC 抗体[溶血素 HC<sub>50</sub>(50)]水平和腹腔巨噬细胞的吞噬能力,同时伴随着肝脏超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活力、总抗氧化能力含量的降低和 MDA 含量的提高。小鼠灌胃小麦肽后可以恢复 HC<sub>50</sub>(50)和脾细胞增殖,显著提高抗体生成细胞含量和腹腔巨噬细胞吞噬能力。另外,小麦肽还增强了小鼠血清清除 DPPH 和·OH 的能力。小麦肽可以调节应激状态引起的机体抗氧化体系紊乱及免疫功能降低,这可能与小麦肽可以缓冲自由基生成、激活腹腔巨噬细胞和脾淋巴细胞活性有关<sup>[30]</sup>。

#### 4.7 抑制凋亡

Giovannini 等发现,人结肠腺癌细胞系 Caco-2 暴露小麦醇溶蛋白的水解产物 48 h 后出现凋亡,用 1157.5 Da 的小麦肽来干预的话,却能完全地抑制 Caco-2 细胞的凋亡<sup>[31]</sup>。Roberto 等发现,小麦醇溶蛋白的水解产物对细胞系 Caco-2 的细胞毒性作用是通过增加胞内脂质过氧化物的产生,减少谷胱甘肽的合成从而引起细胞内的氧化还原反应失衡,最终使得 Caco-2 凋亡<sup>[32]</sup>。

## 5 结论

目前,小麦肽的制备与鉴定技术已经相对成熟,但是分子

水平机制的探讨还较少。国外有关小麦肽的体内试验几乎是空白的,国内关于小麦肽体内试验的报道也停留在现象观察阶段,缺乏深入研究。应当深入小麦肽体内试验,揭示其对机体的作用机制。

#### 参考文献:

- [1] Finlayson A J. Compositions of some peptides produced by enzymic hydrolysis of wheat gliadin[J]. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 1964, 42(8): 1133.
- [2] Gilbert S M, Wellner N, Belton P S, et al. Expression and characterisation of a highly repetitive peptide derived from a wheat seed storage protein[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2000, 1479(1/2): 135 – 146.
- [3] Wright C S, Gavilans F, Peterson D L. Primary structure of wheat – germ – agglutinin isolectin. 2 peptides order deduced from X – ray structure[J]. Biochemistry, 1984, 23(2): 280 – 287.
- [4] Bong K, Kyung A. Effects of trypsin – hydrolyzed wheat gluten peptide on wheat flour dough[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88: 2445 – 2450.
- [5] Matsuo H, Morimoto K, Akaki T, et al. Exercise and aspirin increase levels of circulating gliadin peptides in patients with wheat – dependent exercise – induced anaphylaxis [J]. Clinical and Experimental Allergy, 2005, 35(4): 461 – 466.
- [6] 刘立芳, 徐怀德, 王青林. 中性蛋白酶酶解谷朊粉制备抗氧化多肽研究[J]. 西北农业学报, 2008, 17(6): 281 – 285.
- [7] 吴 定, 刘长鹏, 路桂红, 等. 固定化碱性蛋白酶制备麦胚降血压肽研究[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 255 – 258.
- [8] Egorov T A, Odintsova T I, Pukhalsky V A, et al. Diversity of wheat anti – microbial peptides[J]. Peptides, 2005, 26(11): 2064 – 2073.
- [9] Sealey – Voyksner J A, Khosla C, Voyksner R D, et al. Novel aspects of quantitation of immunogenic wheat gluten peptides by liquid chromatography – mass spectrometry/mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(25): 4167 – 4183.
- [10] Morel M H, Holder F. Characterisation of polyclonal and monoclonal anti – peptide antibodies specific for some low Mr subunits of wheat glutenin and their use in the detection of allelic variants at Glu – 3 loci[J]. Journal of Cereal Science, 1995, 22: 225 – 235.
- [11] Waterfield A A, Hughes J. Endogenous opioid peptides – multiple – multiple agonists and receptors [J]. Nature, 1977, 267(5611): 495 – 499.
- [12] Evans C J, Keith D E, Morrison H, et al. Cloning of a delta opioid receptor by functional expression [J]. Science, 1992, 258(5090): 1952 – 1955.
- [13] Huebner F R, Lieberman K W, Rubino R P, et al. Demonstration of high opioid – like activity in isolated peptides from wheat gluten hydrolysates[J]. Peptides, 1984, 5(6): 1139 – 1147.
- [14] Shinichi F, Masaaki Y. Opioid peptides derived from wheat gluten: their isolation and characterization [J]. FEBS Letters, 1992, 296(1): 107 – 111.
- [15] Shinichi F, Masaaki Y. Gluten exorphin C: a novel opioid peptide derived from wheat gluten [J]. FEBS Letters, 1993, 316(1): 17 – 19.
- [16] 孔祥珍, 周惠明, 钱海峰. 小麦面筋蛋白短肽的镇痛作用研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(2): 26 – 29.
- [17] Macmahon S, Chapman N. Effects of ACE inhibitors, Calcium antagonists, and other blood – pressure – lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials [J]. Lancet, 2000, 356(9246): 1955 – 1964.
- [18] Gansevoort R T, Dezeuw D, Dejong P E. The antiproteinuric effect of ACE – inhibition mediated by interference in the rennin – angiotensin system[J]. Kidney International, 1994, 45(3): 861 – 867.
- [19] Motoi H, Kodama T. Isolation and characterization of angiotensin I – converting enzyme inhibitory peptides from wheat gliadin hydrolysate [J]. Nahrung – food, 2003, 47(5): 354 – 358.
- [20] Ma H, Zhao W. The use of ultrasound for enzymatic preparation of ACE – inhibitory peptides from wheat germ protein [J]. Food Chemistry, 2010, 119: 336 – 342.
- [21] Matsui T, Li CH, Tanaka T, et al. Depressor effect of wheat germ hydrolysate and its novel angiotensin I – converting enzyme inhibitory peptide, Ile – Val – Tyr, and the metabolism in rat and human plasma[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2000, 23(4): 427 – 431.
- [22] Nogata Y, Nagamine T, Sekiya K. Antihypertensive effect of angiotensin I – Converting enzyme inhibitory peptides derived from wheat bran in spontaneously hypertensive rats[J]. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology – nippon Shokuhin Kagaku Kaishi, 2011, 58(2): 67 – 70.
- [23] Calzuola I, Giavarini F, Sassi P, et al. Short acidic peptides isolated from wheat sprout chromatin and involved in the control of cell proliferation. Characterization by infrared spectroscopy and mass spectrometry[J]. Peptides, 2005, 26(11): 2074 – 2085.
- [24] Jeong H J, Jeong J B, Kim D S, et al. The Cancer preventive peptide lunasin from wheat inhibits core histone acetylation [J]. Cancer Letters, 2007, 255(1): 42 – 48.
- [25] de Vincenzi M, Dessi M R, Giovannini C, et al. Agglutinating activity of wheat gliadin peptide fractions in coeliac disease [J]. Toxicology, 1995, 96(1): 29 – 35.
- [26] de Angelis I, Iannuccelli R. Protective effects of mannan in Caco – 2/TC7 cells treated with wheat – derived peptides [J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 62(4): 338 – 343.
- [27] Massimo D V, Giovanni G, Vittorio S. A small peptide from durum wheat gliadin prevents cell agglutination induced by prolamin – peptides toxic in coeliac disease [J]. Toxicology, 1997, 120: 207 – 213.
- [28] de Vincenzi M, Stamatii A, Luchetti R, et al. Structural specificities and significance for coeliac disease of wheat gliadin peptides able to agglutinate or to prevent agglutination of K562(S) cells [J]. Toxicology, 1998, 127(1 – 3): 97 – 106.
- [29] 陈 英, 朱科学, 彭 伟, 等. 小麦胚活性肽对 D – 半乳糖衰老模型小鼠抗氧化作用研究 [J]. 食品科学, 2010, 31(19): 325 – 328.
- [30] 代 卉, 乐国伟, 孙 进, 等. 小麦肽对受环磷酰胺免疫抑制小鼠的免疫调节及抗氧化功能 [J]. 生物工程学报, 2009, 25(4): 549 – 553.
- [31] Giovannini C, Sanchez M, Straface E, et al. Induction of apoptosis in Caco – 2 cells by wheat gliadin peptides [J]. Toxicology, 2000, 145(1): 63 – 71.
- [32] Roberto R, Elena M, Massimo D V. *In vitro* cytotoxic effect of wheat gliadin – derived peptides on the Caco – 2 intestinal cell line is associated with intracellular oxidative imbalance: implications for coeliac disease [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1999, 1453: 152 – 160.