

竹笋多肽的发酵制备及其降血糖活性研究

杨渊¹ 荀航¹ 汤锋^{1*}

(1.国际竹藤中心 国家林业和草原局/北京市共建竹藤科学与技术重点实验室 北京 100020)

摘要:【目的】二肽基肽酶-IV(DPP-IV)是一个重要的 II 型糖尿病治疗靶点,寻找安全、高效的 DPP-IV 酶天然抑制剂已成为近年来的研究热点。植物源生物活性肽具有抗氧化、降血糖、降血压、抑菌等多种生理活性,一般不具毒性、易被人体吸收,在慢性病防治领域具有广泛应用前景。竹笋中含有丰富的蛋白质,氨基酸种类齐全,是优质的生物活性肽的潜在来源。本研究旨在通过微生物发酵法制备竹笋源活性多肽,鉴定肽段结构,评价降血糖活性,并阐明其活性作用机制,为竹笋的高值化利用提供研究基础。【方法】本研究使用课题组前期分离纯化得到的一株高地芽胞杆菌(*Bacillus altitudinis*) ICBR-C01 对毛竹竹笋匀浆进行发酵;采用离心超滤法回收低分子量(<3 kDa)肽,进一步采用柱色谱分离纯化;通过质谱鉴定发酵液中肽的氨基酸序列信息。应用 Peptide Ranker、BIOPEP-UWM 等数据库和 UniDL4BioPep 等基于机器学习的生物信息学工具对竹笋多肽进行生物活性预测。对可能具有抑制 DPP-IV 活性的多肽进行固相合成;测定竹笋多肽的抑制 DPP-IV 活性;利用分子对接模拟揭示竹笋降血糖肽与靶标蛋白的互作方式。【结果】利用高地芽胞杆菌(*Bacillus altitudinis*) ICBR-C01 发酵竹笋匀浆,发酵时间 12 h、料液比 100 g/L、接菌量 8%,上清液经超滤后可回收低分子量肽得率为 0.169 mg/g RM。对比发酵前后鉴定得到的肽段序列,发酵后新生成了 30 条肽段,由 7~18 个氨基酸组成,分子量范围为 500~1700 Da。活性预测结果显示其中 5 条肽可能具有 DPP-IV 抑制活性。体外酶抑制测定结果表明,GFAGDDAPR、GLAGPPGS 的抑制 DPP-IV 活性的 IC₅₀ 值分别为 541.7933 μ M、367.2438 μ M。这两条肽段与 DPP-IV 蛋白(PDB ID: 5J3J)分子对接结果显示其可以与 DPP-IV 蛋白形成稳定结合。GFAGDDAPR 能够深入 DPP-IV 活性口袋内部,与 Tyr752、Trp563、Gly741 和 Tyr48 残基各形成一个氢键,与 Arg560 残基形成两个氢键,且可以与蛋白关键催化活性区域 S1 亚基中氧阴离子孔的 Tyr547 残基形成 π - π 键;GLAGPPGS 同样能够深入 DPP-IV 活性口袋内部,与 Asn562、Val558、Pro510、Lys512 和 Met509 残基各形成一个氢键。从而形成紧密结合,发挥抑制作用。【结论】利用高地芽胞杆菌(*Bacillus altitudinis*) ICBR-C01 发酵能够对竹笋蛋白进行高效转化,制备系列具有 DPP-IV 抑制活性的多肽。本研究为竹笋精深加工制备竹笋降血糖功能肽,进而在功能性食品及药物领域实现高值化应用提供理论依据;同时为新型 DPP-IV 抑制肽的研究提供参考。

关键词: 竹笋; 发酵; 活性多肽; DPP-IV 抑制