

SHI WU DAN BAI YUAN
HENG WU HUO XING TAI

—— JI CHU YU YING YONG

食物蛋白源 生物活性肽

—— 基础与应用

黎观红 晏向华 编著



化学工业出版社
生物·医药出版分社

食物蛋白源 生物活性肽

——基础与应用

张永成 王明华 编著



科学出版社

本书着重阐述了来自食物蛋白的各类生物活性肽的特殊生理调节功能及其作用机制,主要包括:降血压肽(血管紧张素Ⅰ转化酶抑制肽)、免疫调节肽、阿片肽、抗菌肽、抗氧化肽、抗血栓肽、酪蛋白磷酸肽等。同时,还介绍了机体肽转运系统和生物活性肽制备、分离、纯化和鉴定等方面的基础知识。

本书可作为高等院校食品科学、生物技术、营养学等相关专业师生及相关行业科研人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

食物蛋白源生物活性肽——基础与应用/黎观红,晏
向华编著. —北京:化学工业出版社, 2010. 2
ISBN 978-7-122-07534-5

I. 食… II. ①黎…②晏… III. 肽-研究 IV. Q516

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 001863 号

责任编辑:邵桂林 史 懿

装帧设计:关 飞

责任校对:郑 捷

出版发行:化学工业出版社 生物·医药出版分社

(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷:北京永鑫印刷有限责任公司

装 订:三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 14¼ 字数 354 千字 2010 年 4 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 68.00 元

版权所有 违者必究

前 言

现代营养学研究发现：人类摄食蛋白质经消化道的酶作用后，大多是以小肽形式消化吸收的，以游离氨基酸形式吸收的比例很小，进一步的试验又揭示了小肽的吸收比游离氨基酸的吸收更为迅速。肽营养作用的另一新认识是蛋白质在酶解过程中可以产生一些具有特殊生理调节功能的生物活性肽。这些生物活性肽在调节胃肠道运动、调节免疫系统、抗高血压、抗菌、抗血栓、抗病毒、抗癌、清除自由基和促进矿物元素吸收等方面发挥着重要作用。这些生物活性肽本身以非活性状态存在于蛋白质氨基酸序列之中，当用适当的蛋白酶进行体外水解或在胃肠道消化过程中，这些活性肽就可释放出来。食物蛋白源生物活性肽的研究是现代营养科学研究的热点，近年来受到广泛重视。近年来，已经有很多具有生理活性的多肽通过食物蛋白消化而释放和辨认出来。这些生物活性肽能以完整的形式被吸收进入血液循环。食物蛋白源生物活性肽的发现，突破了食物蛋白仅限于提供氨基酸和能量的旧概念，展示了食物蛋白潜在的信息功能或者说蛋白质的第三功能，改变了过去对蛋白质营养功能的单纯评价，提示在评价蛋白质的生物学价值时必须考虑到蛋白质的结构及其在消化道中可能释放出生物活性肽的组成和种类。

在蛋白质活性作用的研究中，对乳中蛋白的研究最为深入。自从 1979 年 Brantl 等首次报道从喂食了牛乳酪蛋白酶解物的豚鼠的小肠中发现了具有类吗啡活性的短肽，酪蛋白源的生物活性肽方面的研究进展迅速，其生理功能越来越引起人们的重视，并日趋成为乳品领域研究的焦点。到目前为止，已经从乳蛋白中发现了几十种具有重要生理功能的生物活性肽，这些肽类，具有非常重要和广泛的生物学功能和调节机能。乳蛋白源的生物活性肽主要包括抗菌肽、阿片肽、阿片拮抗肽、免疫活性肽、抗高血压肽、抗血栓肽、酪蛋白磷酸肽、苦味肽和 DNA 合成促进肽等。类鸦片肽同样存在于其他蛋白质中，如面筋、麦胶蛋白、玉米蛋白、大麦胶蛋白、大豆 α -蛋白中。随着研究的不断深入，新的食物蛋白源生物活性肽不断被发现，其功能和机理研究也日趋深入。利用食物中的蛋白质，提取各种各样具有不同功能的活性多肽，作为食品的营养添加剂，改造传统食品，开发新的健康食品，是当前国际食品界最热门的研究课题和极具发展前景的功能因子。活性肽作为一种高科技产品已广泛应用于各类食品，在日本、美国和西欧，含有多肽的健康食品层出不穷，有多肽饮料、多肽儿童午餐、多肽老人套餐、多肽运动食品，促钙吸收食品，降血压食品等。目前，国内市场上有关生物活性肽的功能食品或保健食品也不断出现，正在形成具有广阔前景的新产业。

然而，目前国内还未见比较系统阐述食物蛋白源生物活性肽的有关专著。为此，作者查阅了大量国内外相关文献资料，尤其是国外有关这方面的最新科学进展，综合国内外大量有关生物活性肽的最新研究成果，并结合自己多年来在生物活性肽方面的一些研究工作，编著

了本书。本书着重从基础和应用方面阐述来自食物蛋白的各类生物活性肽，主要包括：降血压肽（血管紧张素Ⅰ转化酶抑制肽）、阿片肽、抗氧化肽、抗菌肽、免疫调节肽、抗血栓肽、酪蛋白磷酸肽、降胆固醇肽等。同时，本书还介绍了机体肽转运系统和生物活性肽分离、纯化和鉴定等方面的基础知识。希望本书能为我国进一步深入开展食物蛋白源生物活性肽理论和应用的研究起到抛砖引玉的作用。本书可作为从事食品科学、生物技术、营养学、功能食品的师生及相关科研人员的参考书。

本书在写作过程中得到了江西农业大学动物科技学院瞿明仁教授、江南大学食品学院乐国伟教授和施用晖教授的热情指导和帮助。本著作的写作和出版还得到了国家自然科学基金（No. 30800791，No. 30700580）和江西农业大学“未来之星”培养计划项目（No. 20090206）的资助。在此一并致以诚挚的谢意！同时，对化学工业出版社为本书的尽早出版所付出的辛勤劳动表示衷心感谢！

在本书的撰写过程中我们力求准确，但由于专业发展迅速和涉及的学科领域较广，作者专业水平有限以及时间仓促，书中难免存在不妥之处，恳请同行专家和读者批评、指正。

黎观红，晏向华
江西农业大学/华中农业大学
2009年10月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 肽营养理论	1
一、传统的蛋白质-氨基酸营养理论	1
二、小肽的吸收机制与特点	6
三、肽的营养生理活性	9
第二节 生物活性肽制备方法	12
一、酶水解	12
二、微生物发酵	14
三、其他方法	15
第三节 食物蛋白源生物活性肽在功能食品和药品中的研究与应用展望	15
参考文献	16
第二章 降血压肽	18
第一节 血管紧张素转化酶与高血压	18
一、血管紧张素转化酶	18
二、ACE 对血压的调节作用	19
三、ACE 抑制剂	20
第二节 食物蛋白源血管紧张素转化酶抑制肽	20
一、ACE 抑制肽的来源	20
二、ACE 抑制肽的分类	29
三、ACE 抑制肽的结构与其活性关系	30
四、ACE 抑制肽的生理和药理效应及其作用机制	31
五、ACE 抑制肽的制备	33
六、ACE 抑制肽的应用前景	37
参考文献	37
第三章 免疫调节肽	40
第一节 免疫学基础	40
一、免疫器官	40
二、免疫细胞	43
三、免疫分子	49

四、免疫应答	60
第二节 食物蛋白源免疫调节肽	63
一、免疫调节肽的来源及其活性	63
二、免疫调节肽的生理功能	76
三、免疫调节肽在食品中的应用	78
参考文献	78
第四章 阿片肽及阿片拮抗肽	81
第一节 内源性阿片肽及阿片受体	81
一、内源性阿片肽的分类、结构与分布	81
二、阿片受体的类型、结构与分布	84
三、阿片肽和阿片受体结合后产生的生物学效应	86
第二节 食物蛋白源阿片肽	89
一、食物蛋白源阿片肽的来源及结构	89
二、食物蛋白源阿片肽的生理功能及作用机制	95
三、食物蛋白源阿片肽的活性检测方法及制备	99
四、食物蛋白源阿片肽的应用	101
第三节 食物蛋白源阿片拮抗肽	102
一、乳蛋白来源的阿片拮抗肽	102
二、血红蛋白来源的阿片拮抗肽	103
三、大米蛋白来源的阿片拮抗肽	103
参考文献	104
第五章 抗菌肽	106
第一节 抗菌肽概述	106
一、抗菌肽的分类	106
二、抗菌肽的结构特点及理化特性	108
三、抗菌肽的生物学活性	108
四、抗菌肽的抗菌机制	112
五、抗菌肽的开发应用前景	115
第二节 食物蛋白源抗菌肽及其应用	115
一、乳清蛋白来源的抗菌肽	115
二、酪蛋白来源的抗菌肽	125
三、蛋清蛋白来源的抗菌肽	128
四、血红蛋白来源的抗菌肽	131
五、食物蛋白源抗菌肽的体内试验	131
参考文献	131

第六章 抗氧化肽	134
第一节 自由基概论	134
一、自由基的产生	134
二、自由基的危害	137
三、自由基的清除	139
四、自由基与疾病	141
第二节 食物蛋白源抗氧化肽	144
一、抗氧化剂的抗氧化活性检测方法	144
二、抗氧化肽的来源及其特性	149
三、抗氧化肽的生理活性及其作用机制	156
四、食物蛋白源抗氧化肽的制备	157
五、抗氧化肽的应用	158
参考文献	159
第七章 降血脂肽	161
第一节 概述	161
一、血浆脂蛋白的分类、组成与功能	161
二、高血脂与心血管疾病	163
第二节 食物蛋白源降血脂肽	165
一、动物蛋白来源的降血脂肽及其作用	166
二、植物蛋白来源的降血脂肽及其作用	167
参考文献	169
第八章 抗血栓肽	171
第一节 血栓形成的机制	171
一、血栓形成的条件和机理	171
二、血栓形成的过程及血栓的形态	172
三、抗血栓药	173
第二节 食物蛋白源抗血栓肽	174
一、动物蛋白来源的抗血栓肽及其作用	174
二、植物蛋白来源的抗血栓肽及其作用	177
参考文献	178
第九章 矿物元素结合肽	179
第一节 酪蛋白磷酸肽	179
一、酪蛋白磷酸肽的来源及其结构特点	179

二、酪蛋白磷酸肽的生理功能	180
三、酪蛋白磷酸肽的制备	183
四、酪蛋白磷酸肽的应用	184
第二节 金属结合肽	185
一、金属结合蛋白(肽)的结构特点和作用机理	185
二、金属结合蛋白(肽)在微生物中的展示或表达	186
三、食物蛋白源金属结合肽	186
参考文献	186
第十章 高 <i>F</i> 值寡肽	188
第一节 高 <i>F</i> 值寡肽的生理和药理功能	188
一、辅助治疗肝性脑病	188
二、改善病人的蛋白质营养状况	188
三、抗疲劳作用	189
四、治疗苯丙酮尿症	189
五、其他功能	189
第二节 高 <i>F</i> 值寡肽的制备	189
一、原料选择与预处理	190
二、酶解	190
三、去除芳香族氨基酸	190
四、食物蛋白源高 <i>F</i> 值寡肽	190
第三节 高 <i>F</i> 值寡肽的应用	191
参考文献	192
第十一章 其他食物蛋白源生物活性肽	193
第一节 抗肥胖肽	193
第二节 组织蛋白酶 B 抑制肽	194
第三节 抗肿瘤活性肽	195
第四节 酪蛋白糖巨肽	195
第五节 苦味肽	196
第六节 酸味肽	197
参考文献	197
第十二章 食物蛋白中潜在生物活性肽的预测	199
第一节 食物蛋白质中存在生物活性肽的生物学基础	199
第二节 预测食物蛋白源生物活性肽的可行性	200

一、活性肽序列	200
二、蛋白质序列	201
三、蛋白酶信息数据库	202
第三节 生物活性数据库及食物蛋白源活性肽的预测	202
参考文献	204
第十三章 生物活性肽的分离纯化与鉴定方法	205
第一节 分离纯化方法	205
一、膜分离技术	205
二、离子交换色谱	207
三、疏水相互作用色谱	207
四、凝胶过滤色谱	207
五、亲和色谱	207
六、反相高效液相色谱	207
七、毛细管电泳	208
八、产品纯度检验	208
九、多肽分离工程的系统应用	208
第二节 鉴定方法	208
一、质谱分析	208
二、核磁共振	210
三、其他	210
第三节 食物蛋白源生物活性肽的制备、分离纯化和鉴定实例	210
一、利用大米蛋白制备 ACE 抑制肽	210
二、大米蛋白酶解物中 ACE 抑制肽的分离纯化与鉴定	213
参考文献	216

蛋白质是动物和人类的主要营养物质之一，过去人们一直认为机体对蛋白质是以氨基酸形式吸收的，现在蛋白质营养的研究已经进入一个新的阶段——肽（peptide）营养阶段。肽作为机体内蛋白质降解的中间产物，一方面，能够被肽水解酶进一步降解为游离氨基酸（free amino acid, FAA）被肠道吸收后合成机体蛋白质，另一方面，肽能够以二肽或三肽整体形式被机体吸收，发挥着更为重要的生理功能。肽营养理论逐渐被人们所接受，肽营养的研究已成为国内外营养学家的研究热点之一，更多的研究者致力于肽的吸收特点、吸收机制，肽的营养与生理作用，影响肽释放、吸收和利用的因素。肽营养作用的另一新认识是蛋白质在酶解过程中可以产生一些具有特殊生理调节功能的生物活性肽。这些生物活性肽本身以非活性状态存在于蛋白质氨基酸序列之中，当用适当的蛋白酶进行体外水解时或在胃肠道消化过程中以及食品加工过程中，它们就被释放出来并发挥生理调节作用。食物蛋白源生物活性肽是现代营养学及食品学研究的热点和极具发展前景的功能因子，近年来受到广泛重视。目前已从各种食物蛋白的不同酶解产物中分离鉴定出阿片肽、血管紧张素转化酶抑制肽（降压肽）、免疫调节肽、抗菌肽、抗氧化肽、抗血栓肽、矿物元素吸收促进肽、降胆固醇肽等。在这些活性肽中有许多活性肽的组成氨基酸并不一定是必需氨基酸，这就为人类更为充分利用蛋白质资源（尤其是那些原本被认为生物价不高的蛋白质资源），生产能更好满足人类保健需要的基料，提供了新的机遇。

第一节 肽营养理论

一、传统的蛋白质-氨基酸营养理论

（一）蛋白质的基本功能

蛋白质作为细胞组分几乎在所有的生物过程中发挥着关键性作用。部分蛋白质是结构性蛋白，在细胞内起支架作用（例如：胶原蛋白、肌动蛋白、肌球蛋白），一些蛋白在生化反应（酶类）、物质转运（血红蛋白）、免疫应答过程中起作用。蛋白质按照特定的比例，不停地降解和合成。蛋白质主要由 20 种氨基酸组成。蛋白质就是氨基酸结合在一起经过卷曲、盘绕和折叠形成三维结构，氨基酸残基之间靠二硫键（disulfide bond）连接，氨基酸的三维结构决定着蛋白质的功能。

（二）蛋白质的种类

蛋白质的来源很广泛，一般说来可以分为动物性蛋白、植物性蛋白和单细胞蛋白。

动物蛋白质可以分为两类：纤维蛋白和球蛋白。纤维蛋白只存在于保护性组织和支持性组织，比如：头发主要包含角蛋白（keratin）；结缔组织主要是胶原蛋白（collagen）；血凝块主要是纤维蛋白单体（fibrin）；肌肉中主要是肌球蛋白。球蛋白主要存在于组织液中，比如：牛奶中的酪蛋白原（caseinogen）、蛋清中的白蛋白（albumin）、血液中的白蛋白和球蛋白（globulins）都是重要的营养性球状蛋白质。

植物蛋白质一般不好分类。但总的来说，具有代表性是谷蛋白（glutelin）和醇溶蛋白（prolamine）。谷蛋白包括小麦中的麦谷蛋白（glutenin）和水稻中的米谷蛋白（orzynenin）。而典型的醇溶蛋白包括小麦中的麦胶蛋白（gliadin）和玉米中的玉米醇溶蛋白（zein）。

单细胞蛋白（single-cell protein, SCP）可利用包括农业副产品、纤维水解物、家禽垫料、牛粪和石油工业产物在内的不同培养基进行生产，在这些培养基中添加碳、氮、糖、矿物质和维生素等发酵刺激剂，有利于微生物的生长和合成高质量的 SCP。在一些阿拉伯国家，SCP 也被用以解决常规蛋白质资源不足和价格昂贵的问题。据估计，现阿拉伯国家 SCP 的年生产量约为 17 万吨，其中大部分是利用石油源培养基生产的。

（三）蛋白质的代谢

蛋白质代谢主要指生物体内蛋白质的合成和分解过程，它在细胞代谢中占有重要地位。蛋白质的合成即遗传信息在细胞中的表达，包括合成的模板（mRNA）、氨基酸运载体（tRNA）、合成的场所（核蛋白体）以及多种酶和辅助因子参加的复杂过程和蛋白质多肽链合成后的化学修饰。蛋白质的分解一般指蛋白质在蛋白酶和肽酶作用下水解成游离氨基酸和小肽。人体内蛋白质的种类很多，性质、功能各异，但都是由 20 种氨基酸按不同比例组合而成的，并在体内不断进行代谢与更新。被食入的蛋白质在体内经过消化分解成氨基酸，吸收后在体内主要用于重新按一定比例组合成人体蛋白质，同时新的蛋白质又在不断代谢与分解，时刻处于动态平衡中。因此，食物蛋白质的质和量、各种氨基酸的比例，关系到人体蛋白质合成的量，尤其是青少年的生长发育、孕产妇的优生优育、老年人的健康长寿，都与膳食中蛋白质的量有着密切的关系。在人体内蛋白质的代谢是以氨基酸为中心进行的。内环境中的氨基酸的来源主要有 3 条：一是消化吸收；二是通过转氨基作用从糖类转变而来；三是体内蛋白质分解。内环境中的氨基酸的代谢去向主要也有 3 个：一是合成新的蛋白质；二是通过转氨基作用转变成其他的氨基酸；三是经脱氨基作用分解。在蛋白质代谢过程中，氨基酸经脱氨基作用形成的含 N 部分是 NH_3 ， NH_3 对人体是有毒的，但在肝脏中通过肝脏的解毒作用转变成尿素，尿素基本对人体无害，再通过循环系统运至肾脏，以尿液的形式排出体外，或运至皮肤的汗腺以汗液的形式排出体外。

（四）蛋白质的基本单位——氨基酸

1. 氨基酸分类

根据不同的分类方法可将氨基酸分为不同的类别。

根据氨基酸 R 基团是否带有电荷分为中性氨基酸、碱性氨基酸和酸性氨基酸。对于中性氨基酸，R 基团有极性，但不解离或者极弱地解离，它们的 R 基团有亲水性，主要有甘氨酸（glycine, Gly）、脯氨酸（proline, Pro），特别是那些具有长支链的氨基酸。对于碱性氨基酸，R 基团有极性，且解离，在中性溶液中显碱性，亲水性强，主要有赖氨酸（lysine, Lys）、组氨酸（histidine, His）和精氨酸（arginine, Arg）。对于酸性氨基酸，R

基团有极性，且解离，在中性溶液中显酸性，亲水性强。主要包括谷氨酸（glutamic, Glu）和天冬氨酸（aspartic acids, Asp）。

营养学上将氨基酸分为必需氨基酸和非必需氨基酸两类。必需氨基酸（essential amino acid, EAA）指的是人体自身不能合成或合成速度不能满足人体需要，必须从食物中摄取的氨基酸。对成人来说，这类氨基酸有 8 种，包括赖氨酸、蛋氨酸（methionine, Met）、亮氨酸（leucine, Leu）、异亮氨酸（isoleucine, Ile）、苏氨酸（threonine, Thr）、缬氨酸（valine, Val）、色氨酸（tryptophane, Try）和苯丙氨酸（phenylalanine, Phe）。对婴儿来说，组氨酸也是必需氨基酸。非必需氨基酸（non-essential amino acid, NEAA）并不是说人体不需要这些氨基酸，而是说人体可以自身合成或由其他氨基酸转化而得到，不一定非从食物直接摄取不可。这类氨基酸包括谷氨酸、丙氨酸（alanine, Ala）、精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸（cysteine, Cys）、脯氨酸、丝氨酸（serine, Ser）和酪氨酸（tyrosine, Tyr）等。有些非必需氨基酸如胱氨酸和酪氨酸如果供给充裕还可以节省必需氨基酸中蛋氨酸和苯丙氨酸的需要量。人体合成精氨酸、组氨酸的能力不足以满足自身的需要，需要从食物中摄取一部分，人们称之为半必需氨基酸（semi-dispensable amino acid）。半胱氨酸和酪氨酸在体内能分别由蛋氨酸和苯丙氨酸合成，如果膳食中能够直接提供两种氨基酸，则人体对蛋氨酸和苯丙氨酸的需要减少 30% 和 50%，所以半胱氨酸和酪氨酸称为条件必需氨基酸或半必需氨基酸。

2. 氨基酸吸收机制

研究发现，氨基酸经由载体介导的方式转运，对于 Gly 和大部分 L 型氨基酸来说，载体是有活性的。成年人小肠转运氨基酸需要的能量来自机体氧化代谢，当氨基酸在小肠吸收细胞黏膜外浆膜积聚到一定浓度时，氨基酸的主动转运就会发生。根据 Schultz 和 Curran (1970) 的假说， Na^+ 和氨基酸的转运是配对的，可能是键合到同一个转运体上， Na^+ 经由动物体常见的释放系统泵出细胞，维持细胞内较低的 Na^+ 浓度，而所需的能量直接来自机体代谢。在小鼠的研究中发现，对于中性氨基酸来说，小鼠小肠上有两个转运体，一个是蛋氨酸转运体主要转运 Met、Leu、Gly 和 Pro，比较能够转运长链氨基酸，特别是 α -氨基酸和 L 型异构体；另一个是肌氨酸转运体，能够转运 Gly 和 Pro，比较能够转运短链氨基酸，对氨基酸的立体结构没有特异性，能够转运非 α 位的氨基。碱性氨基酸转运相对较慢，可能是由于黏膜细胞浆膜极释放速率较慢引起的，而且 Lys 的转运并非完全具有 Na^+ 依赖性。另有研究表明，酸性氨基酸的转运是由载体介导的逆着浓度梯度的主动转运，研究发现，转运载体具有饱和性，转运过程具有 Na^+ 依赖性，而且它们彼此之间会竞争转运体（Schultz 等，1970）。虽然不同带电荷的氨基酸有各自的转运载体，但是转运过程中各氨基酸之间有的相互促进，有的存在对转运体的竞争。通过人体小肠灌注 18 种等物质的量的氨基酸研究发现，各种氨基酸吸收比例各不相同，吸收速度最快的是 Met、Leu、Ile 和 Val；而 Gly 吸收相对较慢；Lys 的转运会受到 Arg 的抑制；混合氨基酸中 Arg 的吸收速度较单独转运 Arg 要快，可能由于转运过程中受到其他氨基酸的促进作用；两种二羧酸吸收最慢（Adibi 等，1967）。

3. 氨基酸的代谢及其功能

氨基酸是机体蛋白质生物合成的底物，现分别介绍几类具有代表性的氨基酸家族的代谢。

精氨酸家族（arginine family of AA, AFAA）成员有谷氨酰胺（Gln）、Glu、Pro、

Asp、天冬酰胺 (asparagine, Asn)、鸟氨酸 (ornithine)、瓜氨酸 (citrulline) 和 Arg, 在大多数哺乳动物体内代谢过程中可以相互转化 (图 1.1), 除了鸟氨酸和瓜氨酸, 其他成员都是蛋白质合成的底物, 这些氨基酸在植物蛋白 (大豆粉)、动物组织蛋白 (鱼粉) 内含量丰富。

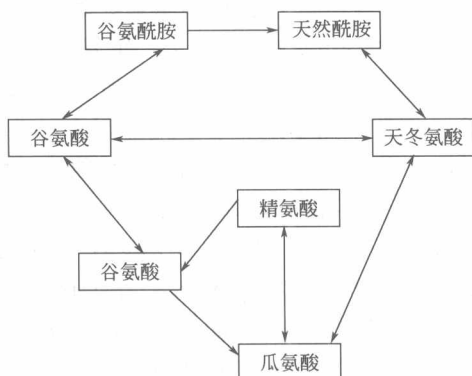


图 1.1 断奶仔猪 AFAA 成员间的相互转化

如图 1.1, 瓜氨酸向 Arg 转化必须要有 Asn 的参与, 线粒体产生的鸟氨酸在小肠内很容易转变为瓜氨酸, 然而, 膳食中提供的鸟氨酸由于小肠内代谢的区室化作用, 很难用于合成 Arg (Wu 等, 2007)。当然, 日粮中高剂量的 Arg、鸟氨酸会使局部 NO 产生增加, 对胃肠道造成损伤 (Grimble, 2007)。

芳香族氨基酸 (aromatic amino acids) 主要有 Phe 和 Tyr, 它们一小部分用于合成儿茶酚胺和促甲状腺激素, 膳食来源的大部分都用于蛋白质的合成。而且 Phe 在肝脏和肾脏能够转化为 Tyr, 反之则不能 (Tessari 等, 1999)。因此, 膳食中芳香族氨基酸的需要可以 Phe 的最大需要量表示。哺乳动物肝脏体外实验表明, 过量外源性酪氨酸的存在, 能抑制 Phe 的羟基化反应, 使其在肝脏内直接被氧化 (Shiman 和 Gray, 1998)。

含硫氨基酸 (sulfur-containing AA, SAAs) 是指结构中都含硫的 4 种氨基酸, Met、Cys、高半胱氨酸 (homocysteine, Hcy)、牛磺酸 (taurine, Tau), 但只有前两种能够参与蛋白质的合成, Met 是真核生物蛋白质合成的底物, N-甲酰基蛋氨酸 (N-formylmethionine) 是原核生物蛋白质合成的底物, Met 在这些 protein 内作为疏水核心; Cys 能够形成二硫键, 在维持蛋白质结构和折叠途径方面起着重要作用。日粮中的 Cys 作为谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 合成的前体物质, 在维持小肠上皮细胞抗氧化功能过程中发挥重要作用。此外, Cys 和 GSH 还可以通过调节氧化还原状态来调整小肠上皮细胞的增殖分化 (Shoveller 等, 2005)。Met 在消化道内转甲基作用 (transmethylation), 而不发生再次甲基化作用 (remethylation), 能够导致循环中 Hcy 的净释放增加 (图 1.2)。另外在婴儿研究中发现, 肠外营养能够导致血浆中 Cys 和胱氨酸含量降低, 这说明在婴幼儿非肠道给养的情况下, Cys 是条件性必需氨基酸 (Zlotkin 等, 1981)。同样有体外实验表明, 细胞培养基过程 Cys 缺乏, 将会抑制 GSH 的浓度和细胞增殖, 培养基中添加 Cys 时, 这两者则会增加 (Noda 等, 2002)。此外, 研究发现, SAAs 是所有氨基酸中最能调节脂类代谢的氨基酸, 现已证明 SAAs 能够增加对高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL)-胆固醇的影响, 而降低减少对极低密度脂蛋白 (verylow-density lipoprotein, VLDL)-胆固醇的影响, 这些数据说明, SAAs 在对抗动脉粥样硬化疾病和代谢综合征等方面起到一些有益的功能 (Oda,

2006)。

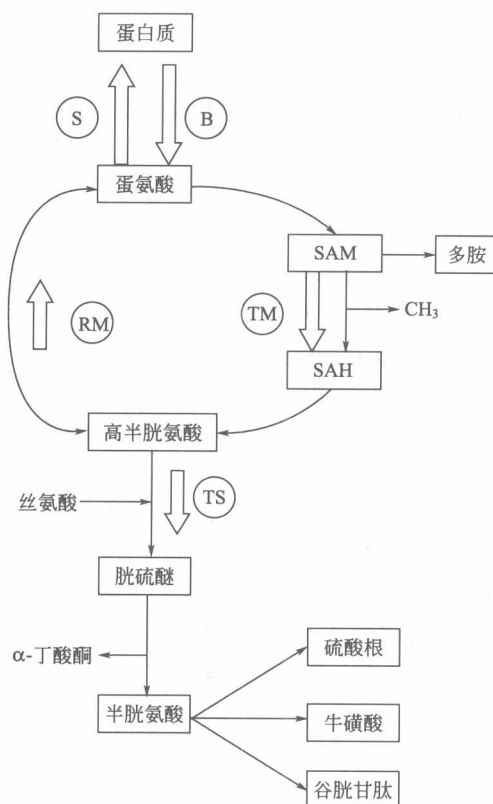


图 1.2 Met 经由转甲基作用、转硫作用、再次甲基化作用、蛋白质合成、降解代谢动力 (Shoveller 等, 2005)
SAM—s-腺苷甲硫氨酸 (s-adenosylmethionine); SAH—s-腺苷-l-高半胱氨酸 (s-adenosyl-l-homocysteine)

支链氨基酸 (brached-chain amino acids, BCAAs) 有 Leu、Ile、Val, 它们均是必需氨基酸, 直接或间接参与大脑许多重要的生物化学功能, 包括蛋白质合成、供能、Glu 的区室化作用 (Suryawan 等, 1998)。Ile 供能特别重要, 能够促进蛋白质合成、抑制蛋白质降解、刺激胰岛素释放、促进伤口愈合、减缓因年龄增长导致的肌肉萎缩。过量的 BCAAs 具有毒性, 所以要限制使用量, 不过, 机体功能的发挥, 需要大量的 BCAAs 进行氧化降解, 这就使得 BBAAs 摄入量的安全上线相当高 (Harris 等, 2005)。

(五) 蛋白质、氨基酸营养与免疫

营养物质既是机体生长发育的物质基础, 也是机体免疫系统的物质基础。蛋白质、氨基酸是构成机体免疫系统的基本物质, 与免疫系统的组织发生、器官发育有着极为密切的关系。蛋白质消化率、氨基酸平衡对机体免疫机能的影响, 是考虑蛋白质和氨基酸营养需要时的一个关键性因素。当机体受到抗原刺激后, 一类小淋巴细胞 (依赖胸腺的 T 细胞) 便增殖、分化, 直接参与攻击靶细胞或间接释放一些生物活性因子、迁移抑制因子、发炎因子、转移因子、淋巴毒素促分裂因子等发挥作用, 另一类小淋巴细胞合成抗体 (各类免疫球蛋白, 包括 IgG、IgM、IgA 等), 释放到体液中起作用。由于抗体均为免疫球蛋白, 当机体受

到外抗原刺激后需合成大量抗体，从而增加了对蛋白质和氨基酸的需要（Dalpke 等，2008）。

1. 蛋白质与免疫

先天免疫（innate immunity）是细胞免疫和体液免疫的组成部分，其细胞遍布机体各组织起着防御感染损伤的作用。机体感染时，先天免疫细胞之间通过细胞因子（cytokine）和趋化因子（chemokine）传递免疫应答（immune response）信息。研究表明，热休克蛋白（heat shock proteins, HSPs）可以不经过与伴侣蛋白（chaperone）肽结合，直接刺激先天免疫应答（Basu 等，2000）。这种作用机制尚待研究，但有研究者提出，一些 HSPs 对于感染、癌变引起的应激能够表现出特异性的应答反应（Randow 和 Seed，2001）。另有实验数据表明，某些 HSPs 在先天免疫和获得性免疫过程中发挥重要作用（Srivastava，2002）。某些 HSPs 免疫作用可以概括为：①是细胞内多种肽的伴侣；②作为抗原递呈细胞经受体介导的内吞作用下能够有效内陷；③改变其结合的抗原肽的递呈途径；④通过 NF κ b 信号通路刺激炎症细胞因子、趋化因子等的释放（Robert，2003）。Kelley 等（2007）总述了蛋白质激素 protein hormone、催乳激素（prolactin, PRL）、生长激素（growth hormone, GH）、胰岛素样生长因子（insulin-like growth factor-1, IGF-1）、促甲状腺激素（thyroid-stimulating hormone, TSH）、神经内分泌蛋白激素（neuroendocrine protein hormone）对免疫、免疫过程及对神经内分泌系统的影响。另有实验结果表明，细胞因子抑制素蛋白（suppressor of cytokine signaling, SOCS）在机体遭受感染平衡激活先天免疫过程中发挥重要作用（Dalpke 等，2008）。

2. 氨基酸与免疫

生物化学研究表明 AFAA 在营养代谢和免疫应答过程中起到重要的调控作用（Morris，2006）。虽然没有直接的证据可以证明 SAAs 的过量摄入会对人类的免疫功能带来影响，然而，SAAs 的三大主要产物 GSH、Hcy、Tau 在体内外主要炎症方面的免疫应答过程发挥重要作用，GSH 在抗氧化防御中发挥中枢作用，保护机体在免疫应答时免受氧化损伤，能够促进 T 细胞增殖。研究发现，帕金森病（Parkinson's disease）患者血清中 Hcy 与新蝶呤（neopterin）（TH1 免疫应答的指标）浓度正相关，表明 Hcy 浓度与炎症反应应激相联系（Bianchi 等，2000）。另有实验表明，Tau 作为 Cys 代谢的终产物，具有抗氧化作用，能够促进促炎症细胞因子的释放（Kontby 等，2000）。细胞培养实验发现，BCAA 是淋巴细胞 RNA、DNA、蛋白质合成及其鉴别刺激类型所必需的氨基酸。在老鼠日粮中限制 BCAA 的添加导致免疫功能多方面损伤，增加了对疾病的易感性。静脉注射 BCAA 能提高手术后病人或是败血病患者的免疫力（Calder，2006）。

二、小肽的吸收机制与特点

小肽（small peptides, SP）主要指二肽（dipeptides）和三肽（tripeptides）。传统的蛋白质营养理论认为，食物蛋白质在胃蛋白酶和胰蛋白酶的作用下，水解成游离氨基酸被肠道吸收后进入血液循环。然而，大量事实证明，蛋白质不是仅以游离氨基酸形式吸收，而更多以肽的形式吸收。事实上，由 20 种氨基酸构成的日粮蛋白质，在动物胃肠蛋白酶和结合在肠上皮细胞刷状缘膜上的肽水解酶共同作用下，除了游离的氨基酸外，还有 400 多种二肽和 8000 多种三肽，这些小肽不但所带的电荷和溶解性不同，他们的分子量从 96.2(di-Gly) 到 522.6(tri-Trp) 不等，肠腔内这些产物最后到达肠上皮细胞顶膜被吸收，进入血液循环

(Daniel, 1996)。随着人们对蛋白质消化吸收及其代谢规律研究的深入,有关肠道对蛋白质的吸收也逐渐有了新的认识,蛋白质小肽营养也越来越受到研究者的重视。

(一) 肠道小肽完整吸收假说

早在 1959 年 Newey 和 Smyth 实验发现,许多二肽能被肠黏膜细胞吸收,经过细胞内肽水解酶的作用释放出游离氨基酸,由此,他们提出了二肽能够以完整的形式被肠细胞吸收的假说。伴随胰蛋白酶的发现,更多的研究证明了这个假说。实验发现,肠道对由不同氨基酸组成的寡肽,特别是二肽和三肽的转运速度比转运等量的氨基酸混合物更快。可能的解释就是,这些小肽都是由中性、碱性或是酸性氨基酸组成,当小肽以完整形式被吸收时可能部分或是完全避免了游离氨基酸转运过程中电荷间的相互竞争 (Adibi, 1971)。另有研究发现,患有游离氨基酸吸收障碍的病人,进食同样的蛋白质食物一段时间后,病人与常人的肠道功能并没有显著差异。所以后来的研究者提出了,人和动物肠腔内小肽的转运是不同于游离氨基酸转运的高效的、专门的转运体介导的转运 (Matthews, 1975)。

许多研究者以不同的动物、器官为实验材料,宏观上都间接证明小肽具有独立的转运系统,而分子机理的研究始于小肽的转运具有 pH 依赖的 H^+ 浓度梯度,而不是依赖 Na^+ 浓度的假说的提出。与游离氨基酸吸收相比,肽的吸收途径不同,而且小肽转运系统具有速度快、耗能少、不易饱和等特点 (Rerat, 1995)。

(二) 肠道小肽吸收机制

小肽在胃肠道可以被水解为游离氨基酸,通过氨基酸的转运系统被机体吸收,然而,小肽具有抗胃肠道肽水解酶的特征,能够以完整的形式转运到肠上皮细胞,在胞内肽水解酶的作用下分解后进入体内循环。目前,关于肠道小肽的转运机制主要有以下 3 种形式:①具有 pH 依赖性的氢离子和钠离子不消耗能的转运;②依赖氢离子或钙离子浓度的主动转运过程,需要消耗 ATP;③谷胱甘肽 (GSH) 转运系统,由于谷胱甘肽在生物膜内具有抗氧化的作用,因而,GSH 转运系统可能具有特殊的生理意义,但目前其机制尚不完全清楚。研究较为透彻的是 $PepT1/H^+$ 转运途径,小肽转运过程中 H^+ 向细胞内的电化学质子梯度供能,质子运动的驱动力产生于刷状缘顶端细胞的 H^+ 互转通道的活动。肽以易化扩散的方式摄入细胞,引起细胞内 pH 下降,并活化 Na^+/H^+ 互转通道而喷放出 H^+ ,使细胞内 pH 恢复到原来的水平, Na^+ 则由 Na^+-K^+ 泵进行交换。缺少 H^+ 梯度时,依靠膜外的底物浓度而进行,当存在外高内低的 H^+ 时,则以逆底物浓度的生电共转运 (图 1.3)。

(三) 小肽吸收特点

1. 小肽转运体的结构特点和功能特点

Fei 等 (1994) 克隆表达了兔子小肠上皮的与 H^+ 配对的寡肽转运体,命名为肽转运体 1 (peptides transporter1, $PepT1$),并研究了 $PepT1$ 的结构和功能特征。 $PepT1$ 介导底物和 H^+ 同向转运,能够特异性转运二肽、三肽氨基头孢菌素类抗生素,血管收缩抑制酶转化因子等肽类似物。 $PepT1$ (SLC15A1) 和 $PepT2$ (ALC15A2) 是质子依赖寡肽转运家族的主要成员,介导着二肽、三肽等氮源肽类似物在小肠上皮细胞的吸收及在肾小管的重吸收。 $PepT1$ 最早发现于小肠上皮细胞, $PepT2$ 则发现于肾脏细胞,但其他器官也有分布。 $PepT1$ 与底物亲和力较低但是不饱和度大, $PepT2$ 则相反,与底物亲和力高但易于饱和 (Boehmer 等, 2008)。来自人和许多动物的 $PepT1$ 和 $PepT2$ 的基因已经被克隆成功,人们对其蛋白质