

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2026.01.010

富铬酵母促 GLP-1 分泌的活性肽筛选与鉴定

方紫瑜, 罗建平, 陈紫荆, 李强明

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like peptide-1, GLP-1)是一种主要由肠内分泌 L-细胞分泌的具有降血糖作用的内源激素。为了从富铬酵母蛋白中筛选和鉴定出促 GLP-1 分泌的活性肽,文章以促 GLP-1 分泌活性为指导,对富铬酵母蛋白进行模拟胃肠液消化降解,采用超滤和凝胶渗透色谱法对抗消化活性肽进行分离纯化,并采用液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)鉴定活性肽的氨基酸序列;基于筛选出的活性肽氨基酸序列,采用固相合成法人工合成活性肽,用 ELISA 试剂盒测定活性肽促 NCI-H716 细胞和小鼠空肠分泌 GLP-1 的能力,用 Ca^{2+} 试剂盒测定活性肽对胞内 Ca^{2+} 水平的影响。结果显示:富铬酵母蛋白酶解物具有促 GLP-1 分泌的肽序列,经分离纯化和结构鉴定筛选得到一条促 GLP-1 高效分泌的八肽(P-II),其氨基酸序列为 PSIVGRPR,分子量为 881.04 Da;细胞和小鼠空肠原位给药实验证明 P-II 可以显著促进肠内分泌 L-细胞分泌 GLP-1,该作用可能与其促进胞内 Ca^{2+} 水平升高有关。研究表明,富铬酵母蛋白含有促 GLP-1 分泌的活性肽,为富铬酵母在糖尿病防治中的应用开发提供了理论依据。

关键词:富铬酵母;活性肽;胰高血糖素样肽-1(GLP-1);降血糖;结构鉴定

中图分类号:Q516

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2026)01-0067-07

Screening and identification of active peptides promoting GLP-1 secretion from chromium-enriched yeast

FANG Ziyu, LUO Jianping, CHEN Zijing, LI Qiangming

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) is an endogenous hormone which is mainly secreted by intestinal endocrine L-cells and has the effect of lowering blood glucose. To screen and identify active peptides promoting GLP-1 secretion from chromium-enriched yeast proteins, the chromium-enriched yeast proteins were digested with simulated gastric and intestinal fluid. Under the guidance of promoting GLP-1 secretion activity, the anti-digestive active peptides were isolated and purified by ultrafiltration and gel chromatography, and their amino acid sequences were identified by liquid chromatograph-mass spectrometer (LC-MS). On this basis, active peptides were artificially synthesized by solid phase method. GLP-1 content in NCI-H716 cells and mouse ileum was determined by ELISA, and intracellular Ca^{2+} content was determined by Ca^{2+} kit. The results showed that the protein hydrolysates of chromium-enriched yeast contained peptide sequences that promoted GLP-1 secretion. An octapeptide, P-II, was obtained by isolation, purification, and structural identification. The amino acid sequence of P-II was PSIVGRPR and its molecular weight was 881.04 Da. *In situ* administration of cells and mouse jejunum showed that P-II could significantly promote the secretion of GLP-1 from intestinal endocrine L-cells, which might be related to the increase of intracellular Ca^{2+} level. These studies indicate that chromium-enriched yeast proteins contain active peptides that promote GLP-1 secretion, which provides theoretical basis for the application and development of chromium-enriched yeast in the prevention and treatment of diabetes.

Key words: chromium-enriched yeast; active peptide; glucagon-like peptide-1 (GLP-1); hypoglycemic action; structural identification

收稿日期:2024-02-28;修回日期:2024-04-03

基金项目:安徽省科技重大专项资助项目(18030801112)

作者简介:方紫瑜(1999—),女,安徽宣城人,合肥工业大学硕士生;

罗建平(1966—),男,安徽合肥人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者, E-mail: jianpingluo@hfut.edu.cn.

0 引言

糖尿病是一种以高血糖为主要特征的由遗传和环境因素共同决定的慢性代谢性疾病。长期高血糖会造成机体多系统的损伤和功能障碍,并发展出相关的并发症^[1]。临床上常用的降血糖药物(如二甲双胍^[2]、磺脲类^[3]等)具有有限的长期有效性和副作用,因此探索天然、安全、有效的防治糖尿病新药物备受关注。胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like peptide-1, GLP-1)是一种主要由肠内分泌 L-细胞分泌的具有降血糖作用的激素^[4],可使葡萄糖依赖性刺激胰岛细胞分泌胰岛素来降低餐后血糖水平,且无低血糖风险^[5]。目前,基于 GLP-1 开发的降血糖药物主要有抑制 GLP-1 降解的二肽基肽酶-4(DPP-IV)抑制剂^[6]和结构与 GLP-1 类似的 GLP-1 受体激动剂(GLP-1RAs)^[7],但这 2 类降血糖药物同样具有副作用,可引起呕吐、恶心或胰腺功能受损^[4]。鉴于糖尿病人的肠内分泌 L-细胞仍具有分泌 GLP-1 的能力,寻找能够促肠内分泌 L-细胞高效分泌 GLP-1,提高机体内源 GLP-1 水平且毒副作用小的天然促泌剂将为糖尿病的防治提供一种新思路。

富铬酵母具有良好的降血糖功效^[8-10],口服富铬酵母可以有效增加己糖激酶和苹果酸脱氢酶的活性,改善糖代谢^[11],调控糖耐量水平升高^[12],从而使血糖水平降低,并且可以通过调节微血管循环改善患糖尿病机体的状态^[13]。近年来,食源性活性肽的生物学作用受到广泛认同,一些活性肽已显示出有效的降血糖作用^[14]。基于富铬酵母富含蛋白且口服后具有降血糖作用的特性,本文推测富铬酵母蛋白可能含有促 GLP-1 分泌的活性肽,其在口服后经胃肠消化酶降解而释放并发挥降血糖作用。

本研究以促肠内分泌 L-细胞分泌 GLP-1 活性为指导,从富铬酵母蛋白人工模拟消化液酶解物中分离、鉴定促 GLP-1 高效分泌的抗消化活性肽,并在细胞和动物水平上对活性肽进行促 GLP-1 分泌能力的验证分析,以期富铬酵母在防治糖尿病食品和药物中的应用开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料和动物

富铬酵母购于安徽省华信生物药业股份公

司;NCI-716 细胞购于中国科学院细胞库;SPF 级昆明鼠购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号:SCXK(湘)2019-0004。

1.2 试剂和仪器设备

GLP-1(7-36)试剂盒购于默克化学试剂公司;DMEM 高糖培养基购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司;胃蛋白酶、二甲基亚砜(DMSO)均购于 Sigma(上海)贸易有限公司;胰酶购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;苯甲基磺酰氟(PMSF)购于碧云天生物技术有限公司;Matrigel 基质胶购于康宁公司生科学(吴江)有限公司;多粘菌素 B(PMB)、Ca²⁺ 试剂盒均购于北京索莱宝科技有限公司。

所用仪器设备有:TU-1901 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);Z216MK 高速离心机(HERMLE 公司);WH-2 涡旋振荡器(上海仪器仪表有限公司);AL104 分析天平(美国梅特勒托利公司);HciVAP Advantage 旋转蒸发仪(德国 Hcidolph 公司);ZQ-2000 液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)(美国沃特世公司);EasyNano1200 高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC)(美国赛默飞世尔科技有限公司);UFC9100096 超滤管(默克生命科学)。

1.3 富铬酵母蛋白的制备

将洗净烘干的富铬酵母粉末与 1 mol/L 的 NaOH 溶液以料液比 50 : 1 混合,室温搅拌 2 h 后,离心收集上清液,用 5 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值至 3.0,静置、离心,收集蛋白沉淀,经纯水洗涤、冷冻干燥,得富铬酵母蛋白。

1.4 富铬酵母蛋白酶解物的制备

取富铬酵母蛋白粉 3 g 加入到 60 mL 模拟胃液(将一定量的胃蛋白酶加入到水中,使胃蛋白酶的活力为 2 000 U/mL,用 1 mol/L 的 HCl 调节 pH 值至 2.0)中,37 °C、160 r/min 的转速下消化 2 h,用 1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8 失活胃蛋白酶后,加入胰酶,使胰酶活力为 100 U/mL,形成模拟肠液,继续于 37 °C、160 r/min 的转速下消化 2 h,95 °C 加热 5 min 使胰酶失活,离心取上清,经冷冻干燥得富铬酵母蛋白酶解物。

1.5 酶解物促 GLP-1 分泌活性的测定

取对数生长期的 NCI-H716 细胞,用 DMEM 高糖培养基(含 10% 血清)调整密度至 1×10^6 个/mL,于预铺有 Matrigel 胶的 96 孔培养板

上,每孔加入 100 μL 细胞悬液,培养 48 h 后,分别加入不同质量浓度的富铬酵母蛋白酶解物,刺激 2 h,收集上清液,加入 PMSF 至终质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$,4 $^{\circ}\text{C}$ 下 1 000g 离心 15 min,按试剂盒说明书测定 GLP-1 浓度。

1.6 促 GLP-1 分泌活性肽的制备与鉴定

1.6.1 酶解物促 GLP-1 分泌活性的测定

取截留分子量为 3 kDa 的超滤管,加入酶解物,4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000g 条件下离心 40 min,分别收集分子量小于 3 kDa 和大于 3 kDa 的酶解物,冷冻干燥,用 1.5 节方法测定其促 GLP-1 分泌活性。

1.6.2 分子量小于 3 kDa 酶解物的精制

将小于 3 kDa 酶解物上样于 G-25 葡聚糖凝胶色谱柱,用去离子水洗脱,经紫外分光光度计在 214 nm 处检测,收集多肽部分,冷冻干燥并按 1.5 节方法检测其促 GLP-1 分泌效果。

1.6.3 促 GLP-1 分泌活性肽的筛选与结构鉴定

采用 Nano-LC-ESI-MS/MS 对分子量小于 3 kDa 酶解物中多肽的氨基酸序列进行鉴定。色谱柱为 C-18;流动相 A 为 0.1% 甲酸-水溶液,流动相 B 为 0.1% 甲酸-乙腈溶液;洗脱方式为梯度洗脱;流速为 300 nL/min;检测模式为负离子模式。

利用 PEAKS Studio 软件联合“Uniprot-酵母”数据库,通过 Denovo 模块对多肽的氨基酸序列进行分析。使用在线网站 Innovagen 分析肽的疏水性、Peptide Ranker 预测肽的生物学活性、ToxinPred 检测肽的毒性、Expasy 分析肽的稳定性、BIOPEP 数据库判断肽的新颖性^[15-16]。

1.7 活性肽的人工合成

本实验委托南京肽谷生物科技有限公司,采用固相合成法合成目标活性肽,并采用 HPLC 和 MS 对合成的活性肽进行结构鉴定,MS 检测模式为正离子模式。

1.8 活性肽促 GLP-1 分泌活性的细胞验证

1.8.1 活性测定

使用 MTT 法检测细胞活性^[17]。为排除脂多糖(LPS)污染,将活性肽(400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)用终质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PMB 预处理 1 h,按 1.5 节方法测定活性肽促 GLP-1 分泌的活性。

1.8.2 Ca^{2+} 质量浓度测定

NCI-H716 细胞培养 48 h 后,加入质量浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的活性肽孵育 2 h,弃掉上清,使用 PBS 清洗 2 次,刮下细胞后超声破碎,根据试剂盒说明测定胞内 Ca^{2+} 质量浓度。

1.9 活性肽促 GLP-1 分泌活性的动物验证

将小鼠禁食过夜后,使用水合氯醛麻醉,将空肠部分用细线结扎,活性肽直接给药小鼠空肠,空白组注射等量 D-Hanks 溶液,在给药 0、15、30 min 时肝门静脉插管收集血浆,用试剂盒测定血浆中 GLP-1 水平。

1.10 数据处理分析

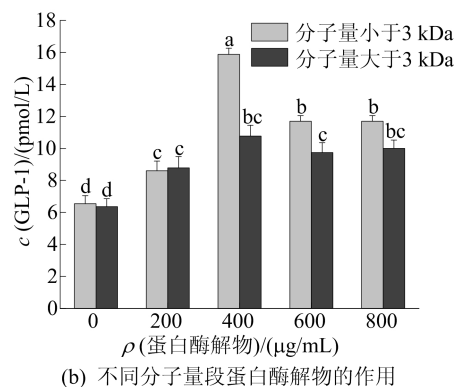
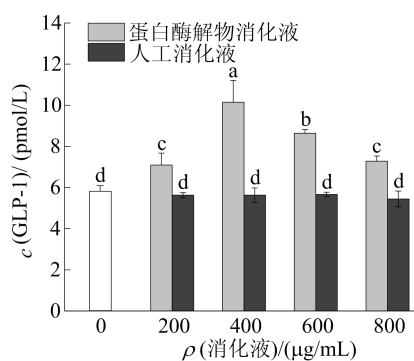
数据处理采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,以平均值 \pm 标准差表示。使用 ANOVA 分析显著性差异, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义; * 表示与空白对照组相比, $P < 0.01$;字母 a、b、c、d 表示样品间差异显著($P < 0.05$)。用 Origin 2024 绘图。

2 结果与分析

2.1 富铬酵母蛋白酶解物对 GLP-1 分泌的影响

富铬酵母蛋白酶解物是由人工模拟胃肠液消化获得,为排除人工消化液的影响,将人工消化液与含有蛋白酶解物的消化液作对比,设置其质量浓度分别为 0、200、400、600、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$,考察富铬酵母蛋白酶解物对 NCI-H716 细胞分泌 GLP-1 活性的影响,结果如图 1 所示。

由图 1a 可知,人工消化液对细胞分泌 GLP-1 没有促进作用,每组之间没有显著差异,而蛋白酶解物不同质量浓度组的 GLP-1 水平均显著高于人工消化液组。



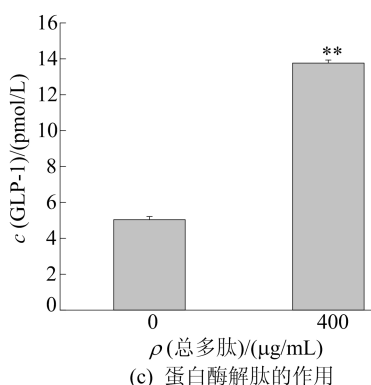


图 1 富铬酵母蛋白酶解物对 GLP-1 活性的影响

从图 1a 可以看出,蛋白酶解物消化液 $\rho = 400 \mu\text{g/mL}$ 时 GLP-1 分泌水平最高,比相应质量浓度的人工消化液高 80.28%,说明富铬酵母蛋白酶解物可以促进 NCI-H716 细胞分泌 GLP-1。鉴于富铬酵母蛋白酶解物来源于胃肠消化酶的模拟降解,可以推测出富铬酵母蛋白酶解物的促 GLP-1 分泌活性应是来自经过胃肠消化酶降解产生的抗消化活性肽。

进一步将酶解物经超滤管分离成分子量小于 3 kDa 和大于 3 kDa 的肽段,并在相同的质量浓度梯度下测定它们促 GLP-1 分泌的能力。从图 1b 可以看出:当酶解物分子量小于 3 kDa 时, GLP-1 分泌情况与总酶解物相同,在质量浓度为 $400 \mu\text{g/mL}$ 时促 GLP-1 分泌效果最佳;相较于空

白对照组 ($\rho = 0 \mu\text{g/mL}$),分子量大于 3 kDa 的酶解物也表现出促 GLP-1 分泌的作用,最佳促分泌质量浓度为 $400 \mu\text{g/mL}$,但其促分泌效果显著低于分子量小于 3 kDa 的酶解物。

为了排除酶解物中盐类等成分的干扰,采用 G-25 对分子量小于 3 kDa 的酶解物进行纯化,收集多肽部分,评价其促 GLP-1 分泌的作用,如图 1c 所示,可以看出,与空白对照组 (ρ (总多肽) = $0 \mu\text{g/mL}$) 相比,当总多肽质量浓度为 $400 \mu\text{g/mL}$ 时,收集的多肽部分仍然具有显著的促 GLP-1 分泌的能力,且比对照组高出 63.36%,说明小于 3 kDa 的酶解物中存在促 GLP-1 高效分泌的活性肽。

2.2 促 GLP-1 分泌活性肽的筛选与结构鉴定

为了从分子量小于 3 kDa 的酶解物中筛选出活性肽,确定其氨基酸序列,实验使用 LC-MS 在负离子模式下对 G-25 纯化的多肽部位进行检测。经 Nano-LC-ESI-MS/MS 以及搜索软件 PEAKS 联合“Uniprot-酵母”数据库测序和分析,共检测到 22 条符合酵母蛋白序列的不同肽段,见表 1 所列。

因为肽的疏水性越高,所以其合成难度越大,进而直接影响后续的结构和活性验证,肽段的疏水性是筛选的重要指标,通常以小于 0.5 为阈值^[18]。在此条件下对肽进行疏水性分析,其中疏水性小于 0.5 的肽共有 15 条,结果见表 1 所列。

表 1 富铬酵母蛋白抗消化肽及其疏水性分析

序列	疏水性	序列	疏水性
AGAGAGPGAGESG	0.077	SYELPDGQVITIGNER	0.375
PSIVGRPR	0.250	ELLDDSPVTPGETRPA	0.375
DSYVGDEAQS	0.273	IIAPPER	0.429
YFNDSQR	0.286	LSQLVKIEK	0.444
HEQLEQGVPGDNVG	0.286	VETGVKIPGM	0.500
ELSGIPPAPR	0.300	IVLNHPGDDDDQISAG	0.545
DDSPVTPGETRPA	0.308	GVTTTEVKSVEM	0.545
GFPGGAPPAPEAEGPTVE	0.333	YLDPEAA	0.571
HEQLEQGVPGDNVGFNV	0.353	FVYSLDYA	0.625
LDDSPVTPGETRPA	0.357	HHTFYNEL	0.750
FELSGIPPAPR	0.364	IILILLFLIWR	0.909

Peptide Ranker 可预测肽的生物学活性,其预测值越接近 1 则表明肽具有生物活性的可能越大^[18]。实验以预测值大于 0.5 为标准,由 Peptide Ranker 筛选出 3 条符合要求的肽段分别为 FELSGIPPAPR、GFPGGAPPAPEAEGPTVE、PSIVGRPR。稳定性是活性肽的重要指标,一般

认为稳定性指数小于 40 的肽较为稳定。经 expasy 的稳定性分析,上述 3 条肽中只有 PSIVGRPR 的稳定性指数 (26.25) 小于 40,且经 ToxinPred 评价显示无毒性,因此筛选出由 PSIVGRPR 组成的八肽(命名为 P-II)可能是富铬酵母蛋白中促 GLP-1 高效分泌的活性肽,其理论分子量为

881.04 Da, BIOPEP 数据库检索证明该肽的新颖性。该八肽的质谱鉴定结果如图 2 所示。

基于 P-II 的氨基酸序列对其进行固相合成, 并进行 HPLC 和质谱分析, 结果如图 3、图 4 所示。

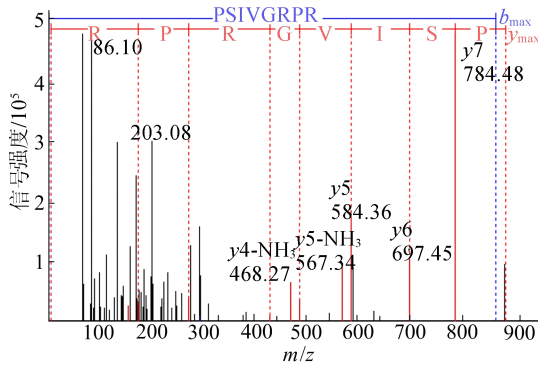


图 2 活性肽 PSIVGRPR 的质谱鉴定

HPLC 分析结果表明合成的 P-II 纯度大于 98%, 正离子模式下质谱鉴定结果显示, 人工合成的 P-II 的分子离子峰为 882.07, 与理论分子量 (881.04 Da) 相符, 从而证明了筛选自富铬酵母蛋白酶解物的促 GLP-1 高效分泌的活性肽 P-II 确为 PSIVGRPR。

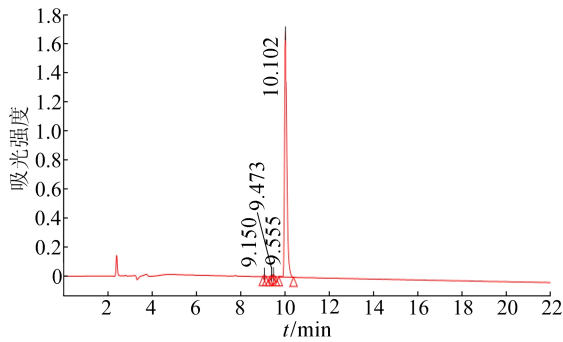


图 3 人工合成的 P-II 的反相 HPLC 谱图

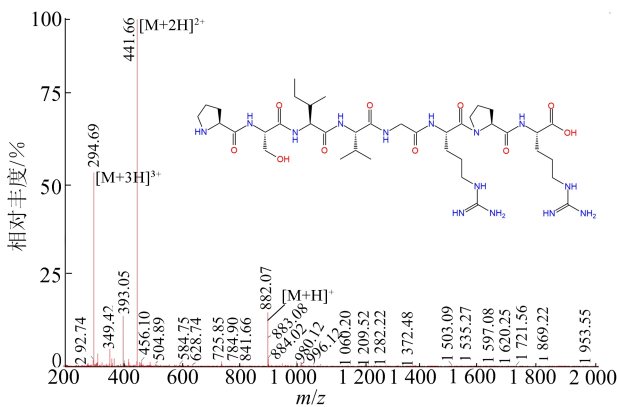
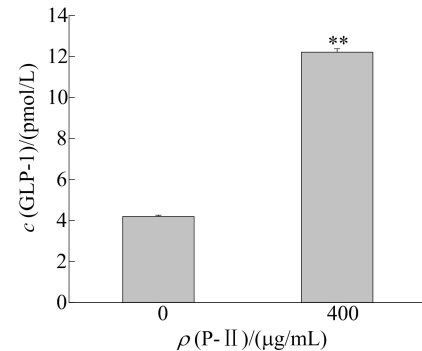


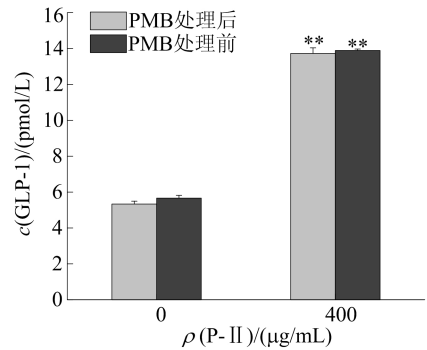
图 4 人工合成的 P-II 质谱图

2.3 P-II 促 GLP-1 分泌的活性鉴定结果

借助人工合成的活性肽, 在细胞和动物水平上对 P-II 的促 GLP-1 高效分泌的能力进行验证, 结果如图 5 所示。



(a) 合成肽促 GLP-1 分泌检测



(b) PMB 干预对 P-II 促 GLP-1 分泌的影响

图 5 合成肽对 GLP-1 分泌的影响

由图 5a 可知, 人工合成的 P-II 对 NCI-H716 细胞生长无毒性, 当 P-II 质量浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 其促 GLP-1 分泌的水平是对照组的 2.9 倍, 证明活性肽 P-II 对细胞分泌 GLP-1 有显著的促进效果。

为排除实验过程中 LPS 污染对 GLP-1 的影响, 采用 PMB 对 P-II 进行预处理以消除 LPS 的影响。从图 5b 可以看出, 经 PMB 处理后, P-II 仍保留显著促进细胞分泌 GLP-1 的能力, 说明促 GLP-1 分泌中发挥作用的是活性肽 P-II, 与 LPS 污染无关。

Ca^{2+} 信号在 GLP-1 的合成与分泌中发挥着重要作用, 有研究表明, 在高蛋白食品中, 蛋白质促进 GLP-1 的分泌与提高胞内 Ca^{2+} 质量浓度密切相关^[19]。活性肽对 GLP-1 分泌相关信号分子 Ca^{2+} 质量浓度的影响如图 6 所示。从图 6 可以看出, P-II 质量浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时可显著刺激 NCI-H716 细胞的胞内 Ca^{2+} 质量浓度增加, 表明胞内 Ca^{2+} 质量浓度可能影响 P-II 促 GLP-1 高效分泌的活性。

小鼠空肠给药实验结果如图 7 所示。从图 7 可以看出, P-II 可在 30 min 内快速提升血浆中 GLP-1 浓度, 当质量比为 10 mg/kg、作用时间为 30 min 时, 血浆 GLP-1 的浓度作用时间为 0 min 的 1.4 倍。该结果进一步证明了在动物水平上 P-II 促 GLP-1 高效分泌的能力。

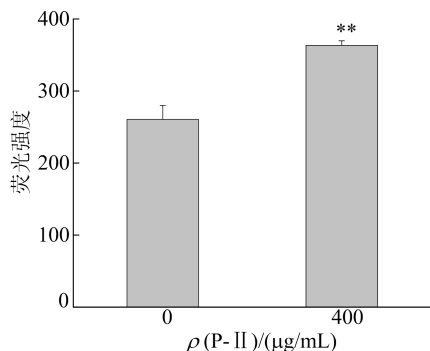


图 6 P-II 对 GLP-1 分泌相关信号分子 Ca^{2+} 质量浓度的影响

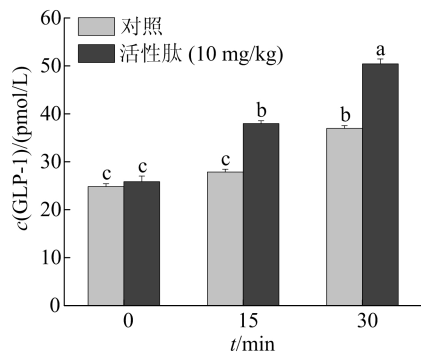


图 7 P-II 对动物空肠分泌 GLP-1 作用的影响

3 结 论

有关降血糖活性肽的研究, 以往多是对 α -葡萄糖苷酶^[20]和 DPP-IV 活性抑制肽的分离与鉴定^[21], 涉及促 GLP-1 分泌的研究主要集中在蛋白质的降解产物方面, 对促 GLP-1 分泌活性肽的结构和活性鉴定方面的研究很少^[22]。文献^[23]从牛血红蛋白中分离出 2 个五肽和 1 个六肽, 并在细胞水平上证明其具有促 GLP-1 分泌的活性。

本研究以富铬酵母蛋白为原料, 经模拟胃肠消化液酶解、分离和促 GLP-1 分泌活性评价, 筛选并鉴定出一条由 Pro-Ser-Ile-Val-Gly-Arg-Pro-Arg 组成的抗消化的活性八肽 P-II, 其不仅在结构上不同于来自牛血红蛋白的活性五肽和六肽^[23], 具有新颖性, 而且在细胞及动物水平均被证明具有促 GLP-1 高效分泌的能力。

结果表明, 富铬酵母蛋白具有开发 GLP-1 高效促分泌剂的潜能, 因此为富铬酵母在糖尿病防治

中的应用提供了新思路。尽管本研究发现 P-II 的促 GLP-1 高效分泌活性与胞内 Ca^{2+} 水平升高有关, 但其促 GLP-1 高效分泌的信号机制有待于进一步的研究。

[参 考 文 献]

- [1] SUN Y X, TAO Q, WU X Q, et al. The utility of exosomes in diagnosis and therapy of diabetes mellitus and associated complications[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, 12: 756581.
- [2] NATH M, BHATTACHARJEE K, CHOUDHURY Y. Pleiotropic effects of anti-diabetic drugs: a comprehensive review[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 884: 173349.
- [3] ZHANG X L, ZHAO Y, CHEN S B, et al. Anti-diabetic drugs and sarcopenia: emerging links, mechanistic insights, and clinical implications[J]. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2021, 12(6): 1368-1379.
- [4] MÜLLER T D, FINAN B, BLOOM S R, et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1)[J]. *Molecular Metabolism*, 2019, 30: 72130.
- [5] REED J, BAIN S, KANAMARLAPUDI V. Recent advances in understanding the role of glucagon-like peptide1 [J]. *F1000 Research*, 2020, 9: 225-239.
- [6] 周映红, 黄文龙, 张惠斌, 等. GLP-1 受体激动剂及 DPP-IV 抑制剂的研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2008, 39(5): 385-391.
- [7] 朱翊, 封宇飞. GLP-1 受体激动剂索马鲁肽的药理与临床评价[J]. *临床药物治疗杂志*, 2018, 16(3): 21-27.
- [8] 丁文军, 钱琴芳, 丰伟悦, 等. 富铬酵母降低糖尿病大鼠血糖的生物效应评价[J]. *营养学报*, 2002, 24(3): 278-281.
- [9] 张敏, 李明, 费丰荣, 等. 口服富铬啤酒酵母对链脲佐霉素诱导糖尿病大鼠的生物效应[J]. *中国科学院研究生院学报*, 2007, 24(2): 223-228.
- [10] 于雷雷, 周兴婷, 翟齐啸, 等. 益生菌复配富铬酵母缓解 2 型糖尿病的效果评价[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(3): 53-62.
- [11] 王战勇, 张洪雷, 张晶. 啤酒废酵母制备的富铬酵母对糖尿病小鼠糖代谢的影响[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(32): 19983-19984.
- [12] OFFENBACHER E G, PI-SUNYER F X. Beneficial effect of chromium-rich yeast on glucose tolerance and blood lipids in elderly subjects[J]. *Diabetes*, 1980, 29(11): 919-925.
- [13] 李军, 杨梅, 张宏馨, 等. 富铬酵母对实验性糖尿病大鼠肠系膜微循环的影响[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(6): 1406-1407.
- [14] 赵婉宏, 郑喜群, 刘晓兰, 等. 玉米降血糖活性肽结构分析及对糖尿病斑马鱼糖脂代谢的影响[J]. *中国粮油学报*, 2023, 38(3): 115-123.
- [15] SUDHEER G, PALLAVI K, KUMARDEEP C, et al. In silico approach for predicting toxicity of peptides and proteins[J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(9): 73957-73964.

(下转第 79 页)

- tors to unravel the WRKY-DNA (W-Box) complex interaction in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). A computational approach[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:819.
- [3] SINGH D, DEBNATH P, ROOHI, et al. Expression of the tomato WRKY gene, *SlWRKY23*, alters root sensitivity to ethylene, auxin and JA and affects aerial architecture in transgenic Arabidopsis[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2020, 26(6):1187-1199.
- [4] GUAN K X, YANG Z M, ZHAN M Q, et al. Two sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L.) WRKY transcription factors promote aluminum tolerance via the reduction in callose deposition[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(12):10288.
- [5] HUANG S X, GAO Y F, LIU J K, et al. Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum*[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2012, 287(6):495-513.
- [6] HUSSAIN A, NOMAN A, KHAN I M, et al. Molecular regulation of pepper innate immunity and stress tolerance: an overview of WRKY TFs[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 135(C):103610.
- [7] WANG X L, YAN Y, LI Y Z, et al. *GhWRKY40*, a multiple stress-responsive cotton WRKY gene, plays an important role in the wounding response and enhances susceptibility to *Ralstonia solanacearum* infection in transgenic *Nicotiana Benthamiana* [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(4):e93577.
- [8] SHI W N, LIU D D, HAO L L, et al. *GhWRKY39*, a member of the WRKY transcription factor family in cotton, has a positive role in disease resistance and salt stress tolerance[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2014, 118(1):17-32.
- [9] LIU G, ZHANG D Y, ZHAO T T, et al. Genome-wide analysis of the WRKY gene family unveil evolutionary history and expression characteristics in tomato and its wild relatives[J]. *Frontiers in Genetics*, 2022, 13:962975.
- [10] BAI Y L, SUNARTI S, KISSOUDIS C, et al. The role of tomato WRKY genes in plant responses to combined abiotic and biotic stresses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9:801.
- [11] LIN C, YANG Y, LIU C, et al. Characterization of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum* reveals colinearity and their expression patterns under cold treatment[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 464(3):962-968.
- [12] BHATTARAI K K, XIE Q G, MANTRILIN S, et al. Tomato susceptibility to root-knot nematodes requires an intact jasmonic acid signaling pathway[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2008, 21(9):1205-1214.
- [13] IJAZ S, HAQ I U, RAZZAQ H A. Mutation introduced in *DDTFR10/A* gene of ethylene response element-binding protein (EREBP) family through CRISPR/Cas9 genome editing confers increased Fusarium wilt tolerance in tomato [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2023, 29(1):1-10.
- [14] D'AMBROSIO C, STIGLIANI A L, GIORIO G. CRISPR/Cas9 editing of carotenoid genes in tomato[J]. *Transgenic Research*, 2018, 27(4):367-378.
- [15] 曹慧颖, 夏润玺, 吕淑霞, 等. 提高农杆菌介导番茄遗传转化效率的研究[J]. *北方园艺*, 2008(1):178-180.
- [16] 蒋萌, 付尚谭, 王晓峰. CRISPR/Cas9 基因组编辑技术在番茄中的应用现状及展望[J]. *西北植物学报*, 2022, 42(2):348-360.
- [17] LI P, LI X W, JIANG M. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of WRKY3 and WRKY4 function decreases salt and Me-JA stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Molecular Biology Reports*, 2021, 48(8):5821-5832.
- [18] 黄幸, 丁峰, 彭宏祥, 等. 植物 WRKY 转录因子家族研究进展[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(12):129-143.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 72 页)

- [16] 张恒慧, 张志军, 陈士国, 等. 紫苏粕蛋白抗氧化活性肽的制备、分离纯化及序列鉴定[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(9):347-355.
- [17] XIE S Z, YANG G, JIANG X M, et al. *Polygonatum cyrtonema* Hua polysaccharide promotes GLP-1 secretion from enteroendocrine L-cells through sweet taste receptor-mediated cAMP signaling[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(25):6864-6872.
- [18] 田文慧, 孙丽平, 张翠, 等. 白啤中二肽基肽酶-IV抑制肽的虚拟筛选及活性分析[J]. *食品科学*, 2022, 43(10):81-87.
- [19] TOLHURST G, ZHENG Y, PARKER H E, et al. Glutamine triggers and potentiates glucagon-like peptide-1 secretion by raising cytosolic Ca²⁺ and cAMP[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(2):405-413.
- [20] 黄晶晶, 周迎芹, 程秀峰, 等. 食源性血糖调节活性肽的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(21):431-441.
- [21] 赵嘉妮, 陈宏, 翁凌, 等. 食源性 DPP-IV 抑制肽降血糖作用机制研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(23):447-454.
- [22] MIGUÍNS-GÓMEZ A, CASANOVA-MARTÍ A, BLAY M T, et al. Glucagon-like peptide-1 regulation by food proteins and protein hydrolysates[J]. *Nutrition Research Reviews*, 2021, 34(2):259-275.
- [23] CARON J, CUDENNEC B, DOMENGER D, et al. Simulated GI digestion of dietary protein: release of new bioactive peptides involved in gut hormone secretion[J]. *Food Research International*, 2016, 89(1):382-390.

(责任编辑 闫杏丽)