

# 生物活性肽：小分子助力大健康产业

◎本报记者 梁乐 朱彤

近日，新疆农业大学副教授马生军研究团队从多年生草本植物多花黄精中提取出生物活性肽，并初步证实了其存在抗氧化潜力。相关研究论文在线发表于《微量化学》杂志。

在我国传统天然产物的生物活性成分中，生物活性肽是一类对人体健康有益的小分子氨基酸片段，由生物体内或体外酶解蛋白质产生。近年来，生物活性肽逐渐成为大健康产业发展不可或缺的原料，被广泛应用于保健食品、功能食品等领域。

## 生物活性肽被包裹“加密”

肽是两个或两个以上以肽键相连的氨基酸化合物，是介于氨基酸和蛋白质的中间物质。它不仅是蛋白质的功能和结构片段，也是蛋白质的活性基因部分。肽通常被称为氨基酸链，分子量段在50—5000。其中分子量段在50—2000之间的肽称为小分子活性多肽，也被统称为生物活性肽。

我国传统天然产物的小分子生物活性成分，如糖苷类、黄酮类、生物碱类等已被广泛研究，并应用于药品和保健品行业。然而，在生物活性成分中，生物活性肽却是一座尚未被充分挖掘的天然宝库。

新疆农业大学硕士研究生张岩岩介绍，根据来源的不同，生物活性肽可分为外源性生物活性肽和内源性生物活性肽。外源性生物活性肽是指人体以外的生物活性肽，即存在于天然动植物和微生物体内的天然生物活性肽，以及动植物蛋白质经降解后产生的生物活性肽。内源性生物活性肽是指通过人体内酶水解产生并存在于人体内的生物活性肽，如人体内的胰岛素和肾上腺皮质激素等激素类肽、内啡肽和脑啡肽等神经肽。

根据生物活性肽对机体作用的不同，其功能可大致划分为抗氧化肽、降血压肽、抗炎肽、抗癌肽、降血糖肽、降血脂肽、抗菌肽、抗疲劳肽、免疫调节肽、肌肉合成和性能增强肽以及抗菌肽，这些生物活性肽对维持和恢复机体健康起到了重要作用。

虽然自然界中蕴含着功能丰富的生物活性肽，但它们往往被包裹“加密”在蛋白质的复杂空间结构中而无法发挥作用。通过酶促反应，将大分子蛋白质分解，才可以开启这座被“加密”的宝库。

## 开启宝库有两把“钥匙”

马生军认为，从植物资源中获取生物活性肽将成为一种发展趋势。因为与动物资源相比，植物资源更为丰富，具有高度可再生且成本更低的优势。

目前开启生物活性肽宝库的方法主要分为两种——酶解法和溶剂提取法。酶解法是最常用的方法，其原理是通过蛋白酶对天然动植物和微生物进行分解，将生物活性肽从母体蛋白中释放出来。溶剂提取法则是基于极性相似溶解性原理，提取天然动植物和微生物中存在的生物活性肽。

由于中草药植物中生物活性肽含量较低，提取高纯度



新疆农业大学副教授马生军研究团队从多年生草本植物多花黄精中提取出生物活性肽，并初步证实了其存在抗氧化潜力。图为多花黄精。

的生物活性肽存在一定困难，因此溶剂提取法并不适用于从植物中制备生物活性肽。

在制备出生物活性肽后，还要对其进行分离，以获得纯度更高的生物活性肽。目前普遍采用的分离方法包括膜分离法、凝胶过滤色谱法、离子交换色谱法和反向高效液相色谱法等。在制备和分离出生物活性肽后，还需对特定氨基酸序列进行鉴定和表征，以进一步证实其功能性。

马生军介绍，目前质谱分析是最常用且最有效的生物活性肽鉴定方法。其基本原理是通过测定生物活性肽分子的质荷比来确定生物活性肽的质量和序列，常用的方法包括基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱和电喷雾质谱等。

## 在多领域应用前景广阔

马生军认为，生物活性肽的应用范围广泛，最主要的应用领域为功能性食品、膳食补充剂、药物以及保健品。由于生物活性肽具有多种生物活性，因此可作为功能性成分添加到食品和饮料中。

“我们也可以将其用于药物和保健品，治疗或预防各种疾病。此外，生物活性肽也可以作为活性成分添加到化妆品和护肤品中，发挥抗氧化、抗皱和保湿等作用。”马生军说，生物活性肽还可以用作食品防腐剂，防止微生物污染，延长食品保质期。

马生军告诉记者，着眼未来广阔的应用前景，生物活性肽研究可进行多个方向的探索，包括优化制备技术以提高生物活性肽制备的速度和准确性，建立基于肽段的高分辨率多维分离系统等。此外，还需要不断改进和扩充中草

药植物蛋白质数据库，推广序列标记的肽段鉴定方法，并深入研究生物活性肽的功能机制。

“未来随着对生物活性肽结构与其活性关系的持续研究，通过化学合成直接生产具有多种功能的生物活性肽将不再困难。”马生军说。

## 链接

### 多花黄精的抗氧化“密码”

近期，新疆农业大学硕士研究生张岩岩在新疆农业大学副教授马生军和湖南医药学院药学院教授蔡伟的共同指导下，完成了多花黄精的生物活性肽鉴定和功能分析。

多花黄精是一种药食同源的多年生草本植物，具有治疗呼吸疾病、调节免疫功能等功效。张岩岩介绍，他们采用数据库搜索和从头测序法相结合的策略，从多花黄精中共鉴定出2571条生物活性肽和2122条粗蛋白肽。通过比较粗蛋白肽与生物活性肽整体物理性质差异，并预测其抗氧化潜力，该研究为进一步优化制备抗氧化肽提供了理论支撑。

“通过多年的持续研究，我们发现中草药植物中蕴含着丰富的生物活性肽。”马生军说，目前已经选定了新疆广泛种植的甘草和枸杞为研究对象，以生物活性肽为切入点，进一步挖掘中草药植物的功能价值，助力生物活性肽产品研发。

工处理系统本身的 CRISPR 阵列，并生成成熟的向导 RNA。

“我们开发的新型 DNA 成像系统 CRISPR<sub>delight</sub> 正是利用了这一特点，通过表达一条能编码多条向导 RNA 的转录本（即 CRISPR 阵列）来进行成像，而非单独转录每条向导 RNA。”杨良中介绍，这样既实现了对靶点 DNA 信号的富集放大，又避免了系统复杂度增加。而且这一条转录本不仅可以编码靶向同一 DNA 位点的向导 RNA，也可以同时编码靶向不同位点的向导 RNA，实现多位点多色成像。因此，新系统更加简便高效，容易通过增加向导 RNA 的数目提高成像质量，大大降低了活细胞中非重复序列 DNA 成像的门槛。

与此同时，团队利用新系统揭示了基因位点在细胞核内的定位与其运动能力和转录活性的相关性，还实现了对 4 种活细胞内卫星 DNA 的多位点多色成像。

由于新系统具有简便易操作等特点，杨良中认为，该系统未来有望应用于需要进行活细胞 DNA 成像的实验室，为活细胞中基因组 DNA 转录活性、DNA 在细胞核内的定位和动态变化特征之间的关联性，以及等位基因之间表达调控的异质性等研究提供助力，还能进一步帮助研究人员了解三维基因组在细胞核内高度组织化的分子机制及其功能意义等。

非重复 DNA 序列成像和多位点多色成像是活细胞 DNA 成像长期面临的两大难题。如今，新系统的出现基本解决了非重复 DNA 序列成像的问题，但在活细胞 DNA 多位点多色成像方面，新系统仍有改进空间。“尽管我们通过在系统中引入 RNA 适配体实现了多个重复 DNA 序列的多位点多色成像，但是 RNA 适配体的引入在一定程度上影响了系统对 CRISPR 阵列的加工能力。”杨良中说，要实现多个非重复 DNA 序列的标记追踪，未来还需进一步对 CRISPR<sub>delight</sub> 进行优化。

# 新工具破解活细胞非重复 DNA 序列成像难题

◎本报记者 沈唯

研究论文在线发表于《自然·方法》杂志。

## 已有工具存在明显局限

活细胞 DNA 成像是指利用成像手段，对活细胞内的 DNA 序列进行标记和观察。活细胞 DNA 成像常用于检测基因组 DNA 在细胞核内的定位分布和动态变化特征，帮助人们了解这些特征与基因表达调控之间的关系，加深人们对基因组层面对细胞生命活动的认识。在医疗领域，活细胞 DNA 成像可以用来检测细胞内基因组 DNA 的拷贝数，有助于 21-三体综合征等染色体异常相关疾病的诊断。

日前，中国科学院分子细胞科学卓越创新中心研究员陈玲玲团队开发了一种活细胞 DNA 成像新工具。团队筛选并优化了现有的基因编辑系统 CRISPR-dCas12a，并基于此构建了新型 DNA 成像系统 CRISPR<sub>delight</sub>。这一新工具可用于活细胞内非重复 DNA 序列成像，为研究活细胞中 DNA 位点的空间位置和动力学特征提供了更加简单便利的手段。相关

随着能够特异性靶向任意核酸序列的基因编辑系统 CRISPR-Cas 被开发出来，基于该系统的活细胞 DNA 成像工具也在不断迭代更新。

“当前，活细胞 DNA 成像工具的种类已经十分丰富。”论文第一作者、中国科学院分子细胞科学卓越创新中心博士杨良中介绍，其中大部分工具都是从 CRISPR/dCas9-EGFP (EGFP 是一种荧光蛋白) 系统衍生而来。这些已有的活细胞 DNA 成像工具分别从向导 RNA 的骨架结构和表达质粒构建方式等方面，对原始系统进行优化升级。

例如上海科技大学研究员马涵慧开发了 DNA 成像系统 CRISPR<sub>Rainbow</sub> 和 CRISPR-Sirius，用于在活细胞中观察基因组的三维结构，并示踪它们的动态变化。前者创造性地在向导 RNA 骨架结构中引入了 RNA 适配体，用于标记 DNA 序列，并通过改变 RNA 适配体的类别，实现了不同 DNA

靶点的多色成像。后者则在此基础上进一步做了优化，通过增加 RNA 适配体的数目来提高成像质量。北京大学教授陈匡时团队开发的两种 DNA 成像系统，则通过引入分子信标和荧光共振能量转移成像方法来提高 DNA 成像信噪比，以提升成像清晰度。

“目前较为成熟的系统已经实现了活细胞内绝大部分重复 DNA 序列成像和多位点成像，甚至在一定程度上实现了非重复 DNA 序列成像，但它们都存在明显的局限性。”杨良中举例说，比如一些系统，通过改进向导 RNA 表达质粒的构建方式，将多条向导 RNA 表达元件放到同一个质粒上，从而减少需要向细胞内递送质粒的数目，增强成像效果。但将多个表达元件构建到一个质粒的方法步骤繁多、操作复杂，并不利于推广使用。还有一些系统，通过将 DNA 的标记信号放大，实现一条向导 RNA 对目标的序列的标记和成像。但仅利用一条向导 RNA 可能会存在标记脱靶的问题。

总而言之，在基于 CRISPR/dCas9-EGFP 的活细胞 DNA 成像工具中，利用一条向导 RNA 标记 DNA 往往信号太弱或容易脱靶，要实现特异性非重复 DNA 序列成像或多色成像，需要表达多条向导 RNA，通过多个靶点 DNA 信号的富集作用，才能实现目的非重复序列成像。而如果让每个表达元件只表达一条向导 RNA，就会增加向导 RNA 表达元件的数量，提高成像的复杂度，降低成像效率。“如何高效率、高质量实现非重复 DNA 序列成像，一直是活细胞 DNA 成像领域的一大挑战。”杨良中说。

## 新型系统更加简便高效

与基于 CRISPR/dCas9-EGFP 的活细胞 DNA 成像工具不同，此次团队开发的新工具是基于基因编辑系统 CRISPR-dCas12a。这两种系统都可以特异性靶向 DNA，但 CRISPR-dCas12a 还能够加



活细胞 DNA 成像是利用成像手段，对活细胞内的 DNA 序列进行标记和观察。

## 研究进展

### 科研人员成功分离培养新型产甲烷古菌

科技日报讯（记者马爱平）8月5日，记者获悉，农业农村部沼气科学研究所厌氧微生物创新团队联合荷兰瓦赫宁根大学等多家科研单位，发现并分离培养了一种新型产甲烷古菌——佛斯特拉门古菌。相关研究成果日前在线发表于《自然》杂志。

产甲烷古菌是迄今人们所知的最严格厌氧的、能形成甲烷的化能自养或化能异养的古菌群，在地球生命起源进化、全球气候变化和碳素循环中起着重要作用。

论文通讯作者、农业农村部沼气科学研究所厌氧微生物创新团队首席科学家陈磊告诉记者，传统观点认为，产甲烷古菌隶属古菌域广古菌门。近年来，科学家通过高通量测序的宏基因组学研究，提出自然界中广泛分布着非广古菌门的产甲烷古菌，并推测这些新型产甲烷古菌具有发酵生长、硫酸化等非甲烷代谢潜能。但这些产甲烷古菌一直没有纯培养物，科学家无法进一步研究它们的碳代谢功能。

该研究历时 7 年，采用自主研发的鸡尾酒分离法，首次分离获得佛斯特拉门古菌纯培养物——石油碳嗜甲烷菌 LWZ-6。通过碳 13 同位素标记、模拟培养、膜脂分析等方法，研究人员证实了佛斯特拉门古菌具有氢依赖代谢甲基物质产甲烷的生理功能，但不具有发酵生长能力。

“这代表着佛斯特拉门古菌是严格的产甲烷古菌。但是，其发酵功能与此前基因组推测的并不一致。事实上，我们发现，根据基因组可以推测菌株具有很多功能，但只有最终分离获得培养物才能验证其真正的生理功能。因此，分离培养对于确认产甲烷古菌的生理功能至关重要。”陈磊说。

农业农村部沼气科学研究所所长孟海波认为，该研究发现的新型产甲烷古菌，是我国在厌氧古菌资源领域的重大发现和突破，将为研究全球碳循环机理和低碳技术研发提供新型生物资源。

### 定量合成生物学有了新范式

科技日报讯（记者罗云鹏 通讯员朱诗颖）8月5日，记者从中国科学院深圳先进技术研究院（以下简称“深圳先进院”）获悉，该院研究员刘陈立与中国科学院院士、中国科学院分子植物科学卓越创新中心研究员赵国屏提出定量合成生物学新范式。相关研究论文近日发表在《自然综述·生物工程》杂志上。

定量合成生物学新范式强调建立可定量预测生物系统的数理模型或 AI 模型，以推动合成生物学从反复试错迈向精准预测，提高生物系统理性设计能力，加速生物制造与生物经济发展。

所谓理性设计，即基于“预测”的设计。论文第一作者、深圳先进院副研究员罗楠介绍，当把生物分子、基因、线路组合为合成生物系统时，如能对系统行为进行精确预测，便可预知如何构建系统以获得预期功能，从而避免反复试错。

对此，我国科学家总结出定量合成生物学三种理性设计范式：基于原理的设计、“自下而上”的设计和人工智能辅助的设计。

“这三种设计范式都强调与定量分析方法的紧密结合，利用数理逻辑与定量关系对生物系统作出定量预测，为合成生物系统的理性设计提供依据。”罗楠介绍。

“合成生物学产业虽然展现出巨大发展潜力，但整体发展还处在早期阶段。提升理性设计能力是当务之急，也是国际共识。”罗楠说。

刘陈立认为，发展定量合成生物学将推动合成生物学从定性、描述性、局部性的研究，向定量、理论化和系统化变革，从而使合成生物学成为推动基础生物学的重要力量。

### 小菜蛾抗药性分子机制揭示

科技日报讯（记者马爱平）8月5日，记者从中国农业科学院获悉，该院蔬菜花卉研究所研究员张友军团队首次发现一个中肠转录调控环协助小菜蛾对 Bt 生物杀虫剂产生高抗性的分子机制。相关研究成果日前发表在《科学数据》杂志上。

在农业生产中，农民通常使用杀虫剂来防治害虫。但是，大量使用杀虫剂也会带来一个新问题：害虫会不断进化出杀虫剂抗药性。这似乎是一场无止境的赛跑：人类不断研发新的杀虫剂，害虫不断进化出新的杀虫剂抗药性。

张友军告诉记者，全球性重大农业害虫小菜蛾每年造成的全球经济损失高达 40 亿—50 亿美元。更重要的是，小菜蛾对几乎所有的杀虫剂均产生了抗药性。

研究人员发现，小菜蛾体内的蜕皮激素(20E)含量升高是它对杀虫剂产生抗药性的一个关键因素。当小菜蛾对 Bt 生物杀虫剂产生抗药性后，它们体内的 20E 含量会显著升高，从而抵抗 Bt 生物杀虫剂的毒杀作用。

但是，为什么小菜蛾体内的 20E 含量会升高？论文共同通讯作者、中国农业科学院蔬菜花卉研究所研究员郭兆将解释，小菜蛾中肠的转录调控环在其中发挥了重要作用。

“通常来说，害虫在进化出抗药性以后，会付出一定的生存代价。比如，死亡率升高、生长发育停滞、后代数量减少等。这些代价就像是害虫产生抗药性被开的“罚单”。然而，令人惊讶的是，小菜蛾在进化出 Bt 生物杀虫剂高抗性后，却并没有被开“罚单”，依然活得自由自在。”郭兆将说。

那么，小菜蛾是如何做到这一点的？科研人员发现，当小菜蛾体内的 20E 含量过度升高时，它们会通过负反馈调节通路来抑制转录调控环的表达量，从而降低 20E 的含量。这一过程在小菜蛾的中肠中形成了一个转录调控环路，使得 20E 的含量能够适度升高，从而维持了小菜蛾体内 20E 的内稳态。这样一来，小菜蛾在形成对 Bt 生物杀虫剂的抗性的同时，成功避免了付出与抗药性进化相关的代价。

“这个发现不仅揭示了小菜蛾对 Bt 生物杀虫剂产生抗药性的分子机制，也为农业生产提供了新思路。未来，我们可以通过改变中肠转录调控环中的任意一个环节，来抑制害虫的生长发育和抗药性进化，从而更有效地防治害虫，保护农作物免受侵害。”张友军说。