

郝宇琼,任贵兴. 麦类作物功能活性多肽 Lunasin 研究进展[J]. 山西农业科学, 2025, 53(2): 18-25.

HAO Y Q, REN G X. Research progress of functional bioactive peptide Lunasin in triticeae crop[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(2): 18-25.

doi:10.3969/j.issn.1002-2481.2025.02.04

麦类作物功能活性多肽 Lunasin 研究进展

郝宇琼,任贵兴

(中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081)

摘要: Lunasin 是一种最初从大豆中分离得到的小分子生物活性肽,其序列上包含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸细胞黏着模体(RGD)、 α -螺旋结构以及 C 端的 9 个天冬氨酸残基(Poly-D),因其特殊的序列结构而发挥多种生物学功能。目前,Lunasin 多肽的生产合成主要包括从天然原料中分离提取、根据氨基酸序列进行固相合成和利用生物体自身表达系统合成生产 3 种方式。Lunasin 多肽虽然具有很好的应用潜力,但是在天然原料如小麦等作物中含量较低且提取成本较高。因此,解析 Lunasin 多肽天然合成的分子机制并提高其生产效率变得尤为重要。文章结合目前研究进展,总结归纳了 Lunasin 及其结构类似多肽在小麦、大麦以及燕麦等麦类作物中的含量,列举了现阶段 Lunasin 多肽的提取、分离、纯化和质谱鉴定技术;结合其序列结构特点详细总结了 Lunasin 多肽的生理功能,包括抗氧化、抗炎、抗癌、降胆固醇、抗肥胖等;最后归纳总结了生物合成 Lunasin 多肽的方法,如大肠杆菌底盘细胞原核表达和酵母底盘细胞真核表达等,并对小麦 Lunasin 多肽合成的分子机制、相关 QTL 位点的鉴定等研究方向进行了展望。

关键词: Lunasin;生物活性;分离纯化;生产合成;基因工程;遗传基础

中图分类号:S512.1 文献标识码:A 文章编号:1002-2481(2025)02-0018-08

Research Progress of Functional Bioactive Peptide Lunasin in Triticeae Crop

HAO Yuqiong, REN Guixing

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Lunasin, a small molecule bioactive peptide, was initially isolated from soybean. Lunasin peptide exhibited multiple activities based on its specially structure, which consists of arginine-glycine-aspartate cell adhesion motif(RGD), α -helix structure, and nine C-terminal aspartate residues(Poly-D). At present, lunasin production mainly includes three approaches of isolation from natural raw materials, solid-phase synthesis according to amino acid sequence, and biosynthesis via organism's expression system. Although Lunasin has great application potential, its content in natural materials such as wheat is low, resulting into high cost in extraction. It is particularly important to explore the molecular mechanism of Lunasin synthesis, and to improve the production efficiency. In this review, integrating recent research progresses, the contents of Lunasin and its structurally similar peptides in the triticeae crops such as wheat, barley, and oat were summarized. Furthermore, the technology of Lunasin extraction, separation, purification, and identification by mass spectrometry were listed. Besides, the physiological functions of Lunasin including antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, cholesterol-lowering, and anti-obesity were summarized in detail based on its specific structure characteristics. Finally, the methods of Lunasin biosynthesis were summarized such as prokaryotic expression in *Escherichia coli* chassis and eukaryotic expression in yeast chassis. And the research direction including the molecular mechanism associated with Lunasin synthesis in wheat and the identification of QTL sites were prospected.

Keywords: Lunasin; biological activity; separation and purification; production and synthesis; genetic engineering; genetic basis

收稿日期:2025-01-17

基金项目:山西省基础研究计划自由探索类面上基金(202303021221098);山西农业大学高层次人才启动项目(2023BQ110)

作者简介:郝宇琼,助理研究员,博士,主要从事小麦分子育种研究,E-mail:haoyuqiong334@163.com

通信作者:任贵兴,研究员,博士生导师,主要从事杂粮作物种质资源营养成分鉴定、活性评价及开发利用研究,E-mail:renguixing@caas.cn

麦类作物主要包括小麦、大麦、燕麦、黑麦等,它们是全球重要的粮食作物。其中,小麦作为主粮作物,种植范围遍及全国,在全国粮食总产值中占比仅次于水稻和玉米。在众多的麦类作物中,小麦蛋白质含量丰富,约占小麦总质量的 13%。小麦是人类在日常生活中摄取蛋白质的主要来源之一。近年来,集中于蛋白质消化、吸收及其代谢规律的研究不断深入,蛋白质营养研究已从大分子蛋白进入小分子多肽营养研究的新阶段。

与大分子蛋白质相比,小分子多肽具有人工合成成本低、消化吸收利用率高、低毒性等多种优点,是生物学界、医学界以及药物学界研究开发的热点。小分子多肽来源广泛、种类多样、生物活性较强,其生理生化特性如抗菌、抗肿瘤、抗氧化、免疫调节等越来越被大家熟知。目前,小分子多肽的来源主要包括从天然生物体中提取、体外蛋白质的消化酶解、人工合成等。植物具有非特异的天然免疫体系,因而,目前对植物抗菌肽的研究较多,例如从苏铁属凤尾松中分离获得的 9 肽 Cr-ACPI 可直接结合 DNA,破坏核小体结构,抑制肿瘤细胞的增殖^[1]。目前,功能活性小分子多肽的研究主要集中于大豆上。已有研究发现,从大豆中分离鉴定到的功能多肽具有多种活性如胰安肽可以通过增加胰岛素受体和蛋白激酶 B 的磷酸化,改善小鼠的胰岛素敏感性,发挥降血糖的功效;大豆多肽中有一种大豆水解蛋白(SPH)可加强对大肠杆菌的抗菌活性,被应用于婴儿配方奶粉中;此外,多项研究结果表明,大豆多肽中富含的生物活性小肽具有抗癌、降糖、降脂、抗菌、抗氧化及抗炎等功效^[2-3]。目前,对于小麦中小分子多肽的研究和开发还比较少。小麦小分子多肽主要的获取途径是将小麦籽粒中提取的蛋白质利用多种蛋白水解酶进行特定的酶解,然后经过特定的分离技术分离纯化获得。小麦中的面筋蛋白(冷冻干燥后为淡黄色的谷朊粉)具有多种特性包括黏性、弹性、延伸性、成膜性等,是一种营养丰富的植物蛋白产品,经酶解后可以获得具有功能活性的小分子多肽。此外,麦麸也是小麦小分子多肽的重要来源,麦麸含有丰富的蛋白质,麦麸酶解后的麦麸多肽含有多种氨基酸,其中,包括 7 种必需氨基酸,具有抗氧化和提高免疫力的功能。小麦小分子多肽具有多种生物活性功能,主要包括抗氧化活性、抗菌活性、神经调节活性、酶调节及抑制活性、免

疫调节活性等^[4]。

随着人们对多肽药物的深入研究,化学合成和生物合成小分子肽也成为研究热点。化学合成是以氨基酸为原料,在肽链合成过程中随机加入非天然氨基酸,同时进行一定的化学修饰,从而获得具有特殊功能的小分子多肽。生物合成是利用 DNA 重组技术,通过重组 DNA 产生的工程菌来高效合成生物活性多肽。小分子多肽在营养保健和疾病治疗方面具有不可替代的重要作用,目前,国内外已成功开发并上市了多种以抗氧化、抗衰老为主的小分子多肽保健品以及以抗肿瘤、抗炎为主的小肽类药物。目前,市场上销售的麦粒胺就是来源于小麦的谷氨酰胺,用来改善免疫系统及运动后的能量补充,是一种特殊营养补充剂。Lunasin 是一种小分子生物活性肽,因其特殊的序列结构而发挥多种功能,包括抗氧化、抗炎、抗癌、减肥、降脂等多种功能活性。已有研究表明,Lunasin 多肽及其结构类似物存在于小麦、黑麦以及燕麦等麦类作物中。本文就其结构、生物活性、分离纯化工艺、生产合成等方面进行了综述。

1 Lunasin 序列结构特点

蛋白质是生物体的重要组成部分,其序列结构与功能性质具有相适应性和统一性,特定的序列结构是行使生物功能的重要基础。Lunasin 多肽含有精氨酸(Arg)-甘氨酸(Gly)-天冬氨酸(Asp)细胞黏着模体(RGD)和 α -螺旋区域;模体可与细胞外基质相连,有利于 Lunasin 进行黏附并内化至细胞内。Lunasin 多肽的抗癌活性与 RGD 模体密切相关(图 1),RGD 是细胞外基质蛋白结构中常见的功能序列,可以竞争性结合整合素受体,阻止肿瘤细胞与细胞外基质黏附,阻止相关通路过度活化,降低肿瘤细胞的侵袭性,激活 Caspase 酶介导细胞凋亡,进而参与调控肿瘤细胞的生长、分化与凋亡;整合素是由 α 和 β 亚基以非共价键相结合形成的跨膜异二聚体糖蛋白,介导肿瘤细胞与细胞外基质相应配体结合,进而调控下游基因表达^[5]。已有研究发现,黑色素瘤细胞可通过细胞黏着模体内吞 RGD 多肽,激活一系列 Caspase 酶,通过 Caspase 依赖的凋亡途径诱导细胞凋亡^[6]。

Lunasin 多肽的 α -螺旋区域与组蛋白中保守的染色质结合区域高度同源,可与组蛋白 H3/H4 识别,以保证 Lunasin 进入细胞核,识别核染色质。

在其羧基末端,含有9个连续的天冬氨酸残基,此序列结构与 Lunasin 多肽抑制有丝分裂有关。当 Lunasin 功能肽键合到靶细胞的核染色质时,使得着丝粒不能正常形成,微管无法附着于着丝粒着丝点,有丝分裂中断,细胞死亡^[7]。此外,Lunasin 与靶细胞染色质结合可抑制染色质上组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化。已有研究发现,根据溶液条件的不同,Lunasin 多肽可以以还原态或氧化状态存在,并具有分子内二硫键。数据分析表明,Lunasin 多肽属于一类本质上无序的蛋白,但当其与组蛋白 H3 和 H4 相结合时,序列结构趋于稳定^[8]。

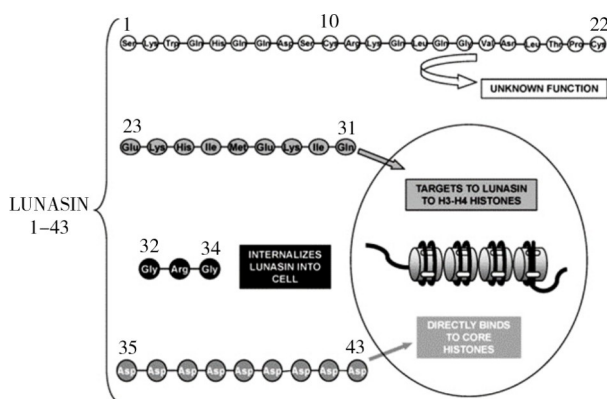


图1 Lunasin多肽的一级结构序列及功能示意

Fig.1 Schematic diagram of primary structure and function of Lunasin peptide

2 麦类作物中 Lunasin 多肽含量

Lunasin 多肽首次是从大豆中分离纯化而来^[9]。随后,研究人员对麦类作物中的 Lunasin 多肽也进行了鉴定,其结果如表 1 所示。

表 1 麦类作物 Lunasin 的含量

Tab.1 Lunasin content in triticeae crops

作物	Crop	Lunasin 含量/(mg/g)	Lunasin content
小麦	Wheat	0.2~0.3	
燕麦	Oat	0.195	
大麦	Barley	0.01~0.02	

JEONG 等^[10]在小麦中鉴定出 Lunasin 多肽,其含量为 0.2~0.3 mg/g,并发现其核心结构域可以抑制组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化,发挥抗癌活性。NAKURTE 等^[11]发现,燕麦中 Lunasin 多肽的含量为 (0.197±0.010) mg/g;同时,JEONG 等^[12]证明,Lunasin 也存在于大麦中,并且发现其对癌细胞具

有抑制活性。然而,也有研究指出,谷物中并不存在天然的 Lunasin 多肽,而是可能含有某些与 Lunasin 序列结构类似的功能多肽^[13-15],这种功能多肽因其序列结构的特殊性而发挥功能,对于麦类作物中 Lunasin 多肽及其结构类似功能多肽的研究具有重要意义。

3 Lunasin 多肽功能活性

Lunasin 多肽具有抗氧化、抗高血压、抗炎、抗癌、降胆固醇、抗肥胖、免疫调节等多种功能活性^[7,16-17]。Lunasin 多肽的氨基酸序列包括 C 端的 9 个天冬氨酸 (Poly-D)、Arg-Gly-Asp 细胞黏附基序以及一个螺旋延伸残基 Glu23-Ile30,其中,Arg-Gly-Asp 基序负责细胞黏附和内化,多聚天冬氨酸序列是通过离子相互作用与低乙酰化染色质共定位并抑制组蛋白 H3 乙酰化的主要活性序列,同时螺旋区和末端的 22 个残基有助于与组蛋白 H4 去乙酰化的 N 端结合^[7,17]。

Lunasin 多肽的抗炎和抗氧化作用是通过抑制活性氧的产生和 NF- κ B 途径促炎因子的释放而起作用^[18]。DIA 等^[19]研究发现,Lunasin 多肽在脂多糖 LPS 刺激的巨噬细胞免疫反应中具有抗氧化和抗炎功能。Lunasin 多肽可抑制 ROS 产生,清除 DPPH、ABTS⁺、氧自由基等。在炎症反应中,Lunasin 可在不影响细胞正常生长增殖的基础上,抑制 NO 和促炎因子 (TNF- α 、MCP1、IL-1、IL-6) 的释放,从而减轻炎症反应^[20]。DE MEJIA 等^[18]研究表明,Lunasin 主要通过抑制 NF- κ B 通路来抑制炎症的发生。炎症和氧化应激是肿瘤形成过程中的重要因素,炎症反应与肿瘤发生存在一些共同的信号分子;活性氧 ROS 被报道参与炎症反应和肿瘤形成,ROS 是一种促炎因子,可造成细胞 DNA 的损伤,引起肿瘤发生。

Lunasin 的抗癌生物活性是由 RGD 序列以及 Poly-D 决定的。含有 RGD 细胞黏附模体的蛋白可与受体整联蛋白相互识别,调控细胞的迁移、生长、分化和凋亡^[21]。因此,研究人员猜测 Lunasin 多肽可通过 Arg-Gly-Asp 与整合素结合而黏附细胞,进而对细胞的迁移、生长、分化及凋亡进行调控。组蛋白乙酰化水平与细胞有丝分裂能否正常进行密切相关,组蛋白呈现高乙酰化或低乙酰化水平时,染色质着丝粒复合体形成受阻,微管无法捕捉到着丝粒,致使有丝分裂中断,基因正常转录

和表达受到影响,染色质发生改变,进而诱导肿瘤发生。已有研究发现,Lunasin多肽可抑制小鼠皮肤乳头状瘤的形成,却不会影响正常细胞系的生长与增殖,其生长形态也完全不受影响^[22]。JEONG等^[10]喂食大鼠富含Lunasin多肽的小麦蛋白提取物,在大鼠肝脏中测量生物利用度,并且利用非放射性组蛋白乙酰转移酶法测定核心组蛋白乙酰化的抑制作用;研究表明,从不同发育阶段小麦种子中分离的Lunasin以剂量依赖的方式抑制核心组蛋白H3和H4的乙酰化,而且从喂养富含Lunasin的小鼠的大鼠肝脏中提取的Lunasin也抑制了组蛋白乙酰化,证实了该多肽的完整性和生物活性。此外,化学及病毒性的致癌基因*ras*和*E1A*可导致哺乳动物体内正常细胞向癌细胞转化;而Lunasin多肽可阻断细胞转化^[17]。在人的结肠癌细胞中,Lunasin可激活线粒体通路,诱导核簇连蛋白表达,

进而促进癌细胞凋亡^[23]。HAO等^[24-25]综合应用转录组和蛋白质组测序技术全面分析了Lunasin处理前后人乳腺癌细胞内基因、蛋白表达调控网络,结果发现,经Lunasin多肽处理后,乳腺癌细胞内DNA复制和溶酶体通路被显著抑制,细胞凋亡通路显著激活。进一步推测Lunasin多肽不仅可通过抑制DNA复制阻止细胞有丝分裂,还可以激活细胞自噬,触发溶酶体介导的细胞凋亡(图2)。当化学致癌物或病毒性致癌基因作用于细胞时,Lunasin多肽可通过抑制组蛋白H3和H4的乙酰化,改变染色质状态进而抑制肿瘤细胞的形成^[22]。组蛋白乙酰化程度与细胞周期调控密切相关,细胞处于稳态时,核心组蛋白呈现去乙酰化状态;当组蛋白乙酰化时,核小体结构松弛,细胞容易被转染因子转染;Lunasin可与去乙酰化组蛋白相结合,抑制其乙酰化,使得细胞周期停滞,癌症发生率降低。

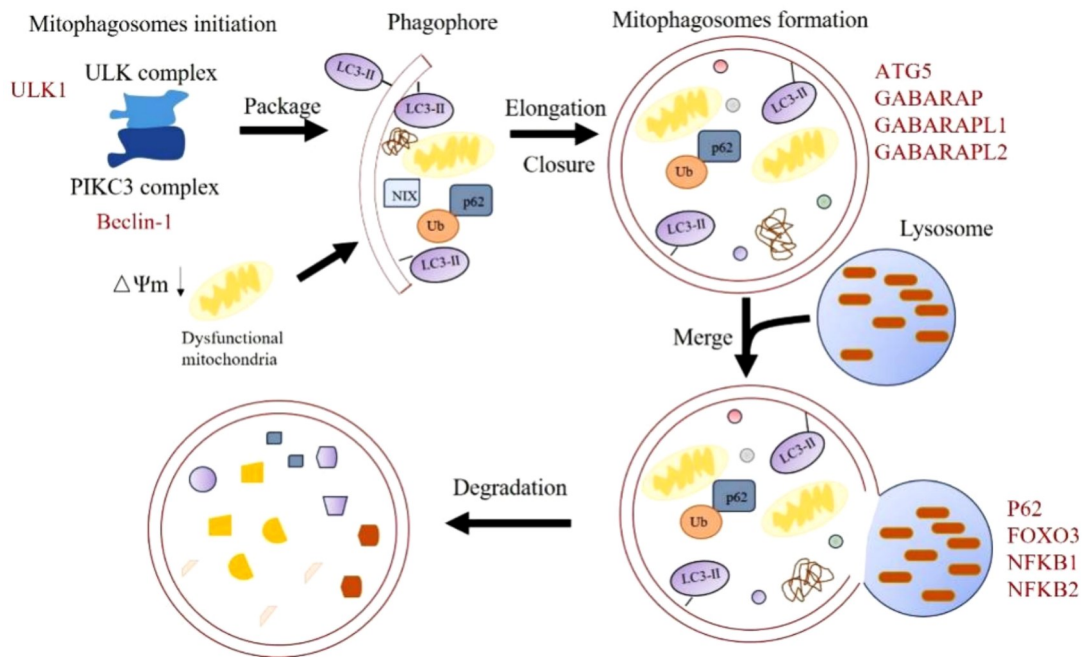


图2 Lunasin可能激活线粒体自噬, 诱发溶酶体介导的细胞凋亡

Fig.2 Lunasin may activate mitophagy, inducing the lysosome-mediated apoptosis

近年来,不合理的膳食习惯和生活方式致使肥胖发生率逐年上升。已有研究发现,肥胖对机体而言不仅仅意味着脂肪的堆积,同时也是一些慢性代谢疾病如高血压、高血脂、胰岛素抵抗和非酒精性脂肪肝的主要诱因^[26]。膳食干预和生活方式的改善可有效预防肥胖和慢性代谢疾病的发生。已有研究发现,Lunasin多肽可作用于肝脏细胞并结合到其核小体上,抑制组蛋白乙酰化,阻断

HMG-CoA还原酶的转录,减少胆固醇的合成,降低血清中胆固醇的含量;它还可激活LDL受体及其激活因子SP1的转录,促进细胞摄取血液中的LDL,从而降低血液中LDL水平^[10,22,27]。GALVEZ等^[28]关于Lunasin-富集提取物(LSE,Lunasin含量达20%以上)的研究表明,每天给予肥胖LDL-受体缺陷型猪250mg或500mg的LSE,可显著降低其血清LDL-C水平并提高血清瘦素水平。研究

Lunasin 多肽减肥作用及其内在减肥机制,将会为肥胖症的预防和治疗提供重要新思路。

4 Lunasin 多肽的提取鉴定

目前,Lunasin 多肽的常用提取剂主要有磷酸盐缓冲液和去离子水。分离纯化主要采用层析和反向高效液相色谱结合法或离子交换层析与免疫亲和层析结合法。Lunasin 多肽的鉴定方法有高效液相色谱-电喷雾串联质谱联用(LC-ESI-MS/MS)、高效液相色谱和 MALDI-TOF-MS 联用、酶联免疫(ELISA)、免疫印迹(Western Blot)等多种技术手段。由图 3 可知,利用高效液相色谱质谱联用技术鉴定 Lunasin 多肽,一级质谱分析可检测到多个母离子信号,质核比(m/z)分别为 838.54[M+6H]⁶⁺

和 1 006.45[M+5H]⁵⁺,离子信号表现出多电荷状态。JEONG 等^[29]利用 CM-纤维素、DEAE-纤维素层析和 RP-HPLC 相结合的方法分离纯化获得了具有多聚天冬氨酸的大豆多肽,并从 3 kg 大豆中分离得到 10 mg Lunasin 多肽。JEONG 等^[10]利用离子交换层析及免疫亲和层析的方法从小麦中分离纯化获得了 Lunasin 多肽,并采用 Western blot 和液相色谱-电喷雾质谱法(LC-ESI-MS)对小麦中的 Lunasin 进行了鉴定。REN 等^[30]利用快速流琼脂糖色谱法和 DEAE 离子交换色谱相结合的方法从藜麦中首次分离得到了 Lunasin 多肽,并利用高效液相色谱质谱检测获得藜麦种子中 Lunasin 多肽的含量(4.89×10^{-3} g/kg)。NAKURTE 等^[11]利用 LC-ESI-MS/MS 技术首次检测出燕麦中含有 Lunasin 多肽。

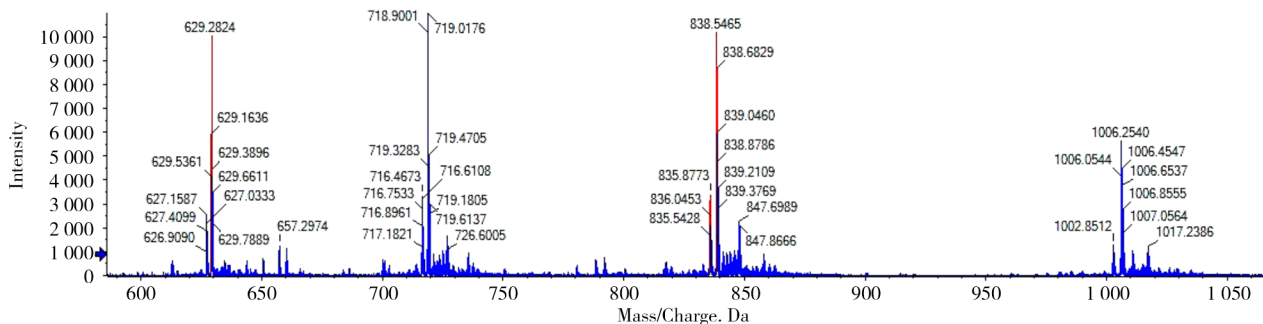


图 3 Lunasin 多肽的质谱鉴定

Fig.3 Identification of Lunasin by mass spectrometry

5 Lunasin 多肽的生产制备

5.1 Lunasin 多肽的天然提取与固相合成

Lunasin 的制备方法主要有从天然原料中分离提取、化学合成、生物合成等。JEONG 等^[12]对大麦粉末进行浸提、离心、透析等预处理,利用阴离子交换柱和免疫亲和层析提取法获得了 Lunasin 多肽,但其产率、纯度都较低。CAVAZOS 等^[31]将商业化脱脂大豆粉重悬离心后,再经 DEAE 柱,最后超滤脱盐获得纯度大于 90% 的 Lunasin 多肽。天然的 Lunasin 分离提取纯化步骤较繁琐,劳动强度较大。Lunasin 多肽的化学合成可根据 Lunasin 的氨基酸序列进行固相合成。固相合成是重复添加氨基酸的过程,合成顺序一般是从 C 端向 N 端逐个添加^[32],但化学合成成本昂贵,无法满足后续体内外实验的研究需要。

5.2 Lunasin 多肽生物合成

生物合成,即利用生物体自身表达系统合成

所需要的产物。随着分子生物学与基因工程的发展,DNA 重组技术越来越受到科研工作者的青睐。DNA 重组技术是指将需要的靶基因或目的基因与合适的载体进行连接形成重组子,并将该重组子转入受体细胞的基因组中,获得转基因生物。目的基因利用受体生物的遗传表达系统在重组生物中表达出预期的生物产物^[33]。现有的外源蛋白表达系统包括大肠杆菌表达系统、酵母细胞表达系统、动植物表达系统等。

5.3 Lunasin 多肽生物合成底盘的筛选与应用

大肠杆菌是最早用于基因工程的微生物。大肠杆菌原核表达背景清楚、操作简单易行、周期短、繁殖快、产量高,一直在生物技术领域扮演着关键角色^[34-35]。载体是表达系统中的重要组成部分,近年来被广泛应用的大肠杆菌表达载体主要包括 PGE、PQE 以及 PET 系列,创造了极大的科研价值和经济效益^[36]。此外,大肠杆菌表达系统也被广泛用于生产 Lunasin 多肽。LIU 等^[37]利用大肠杆菌的

麦全球种质资源并加以利用,大规模大批量的鉴定和分析 Lunasin 多肽,评估地域分布、水分条件、土壤湿度、光照条件、基因型等对 Lunasin 含量的影响,筛选高含量的小麦种质资源至关重要;探究小麦种质类型及其主要农业性状与 Lunasin 多肽及其结构类似小分子多肽生物合成的相关性;结合基因芯片检测技术,利用遗传学、基因组学、分子生物学、生物信息学等技术方法,多层次多方位探究小麦 Lunasin 合成的影响因素,挖掘相关的 QTL 位点,对于深入研究 Lunasin 多肽的合成机制具有重要意义。厘清小麦 Lunasin 多肽含量的遗传特点,解析其遗传基础,对于培育高 Lunasin 含量的小麦品种、强化小麦营养具有重要意义。

参考文献:

- [1] MANDAL S M, MIGLIOLO L, DAS S, et al. Identification and characterization of a bactericidal and proapoptotic peptide from *Cycas revoluta* seeds with DNA binding properties[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2012, 113(1): 184-193.
- [2] LU J L, ZENG Y, HOU W R, et al. The soybean peptide aglycin regulates glucose homeostasis in type 2 diabetic mice via IR/IRS1 pathway[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2012, 23(11): 1449-1457.
- [3] 赖春燕, 芮馨, 霍维月, 等. 大豆多肽生物活性研究进展[J]. *现代食品*, 2021(19): 28-34.
LAI C Y, RUI X, HUO W Y, et al. Research progress on biological activity of soybean peptides[J]. *Modern Food*, 2021(19): 28-34.
- [4] 孙含, 赵晓燕. 小麦蛋白肽的研究及应用进展[J]. *粮油食品科技*, 2018, 26(2): 6.
SUN H, ZHAO X Y. Research progress on wheat protein peptides[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2018, 26(2): 6.
- [5] MATSUKI K, SASHO T, NAKAGAWA K, et al. RGD peptide-induced cell death of chondrocytes and synovial cells[J]. *Journal of Orthopaedic Science*, 2008, 13(6): 524-532.
- [6] 时春风. 人工合成基因重组肽 rLj-RGD4 对小鼠黑色素瘤 B16 细胞的抑制作用[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2016.
SHI C F. Inhibitory effect of synthetic recombinant peptide rLj-RGD4 on mouse melanoma B16 cells[D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2016.
- [7] HERNÁNDEZ-LEDESMA B, HSIEH C C, DE LUMEN B O. Lunasin, a novel seed peptide for cancer prevention[J]. *Peptides*, 2009, 30(2): 426-430.
- [8] ALEKSIS R, JAUDZEMS K, MUCENIECE R, et al. Lunasin is a redox sensitive intrinsically disordered peptide with two transiently populated α -helical regions[J]. *Peptides*, 2016, 85: 56-62.
- [9] WANG W Y, DIA V P, VASCONEZ M, et al. Analysis of soybean protein-derived peptides and the effect of cultivar, environmental conditions, and processing on lunasin concentration in soybean and soy products[J]. *Journal of AOAC International*, 2008, 91(4): 936-946.
- [10] 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.
- [11] NAKURTE I, KIRHNERE I, NAMNIECE J, et al. Detection of the lunasin peptide in oats (*Avena sativa* L.)[J]. *Journal of Cereal Science*, 2013, 57(3): 319-324.
- [12] JEONG H J, LAM Y, DE LUMEN B O. Barley lunasin suppresses ras-induced colony formation and inhibits core histone acetylation in mammalian cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(21): 5903-5908.
- [13] ALASWAD A A, KRISHNAN H B. Immunological investigation for the presence of lunasin, a chemopreventive soybean peptide, in the seeds of diverse plants[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(14): 2901-2909.
- [14] DINELLI G, BREGOLA V, BOSI S, et al. Lunasin in wheat: a chemical and molecular study on its presence or absence[J]. *Food Chemistry*, 2014, 151: 520-525.
- [15] MITCHELL R A C, LOVEGROVE A, SHEWRY P R. Lunasin in cereal seeds: what is the origin?[J]. *Journal of Cereal Science*, 2013, 57(3): 267-269.
- [16] DE LUMEN B O. Lunasin: a cancer-preventive soy peptide[J]. *Nutrition Reviews*, 2005, 63(1): 16-21.
- [17] GALVEZ A F, CHEN N, MACASIEB J, et al. Chemopreventive property of a soybean peptide (lunasin) that binds to deacetylated histones and inhibits acetylation[J]. *Cancer Research*, 2001, 61(20): 7473-7478.
- [18] DE MEJIA E G, DIA V P. Lunasin and lunasin-like peptides inhibit inflammation through suppression of NF- κ B pathway in the macrophage[J]. *Peptides*, 2009, 30(12): 2388-2398.
- [19] DIA V P, WANG W, OH V L, et al. Isolation, purification and characterisation of lunasin from defatted soybean flour and *in vitro* evaluation of its anti-inflammatory activity[J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(1): 108-115.
- [20] REN G X, HAO Y Q, ZHU Y Y, et al. Expression of bioactive lunasin peptide in transgenic rice grains for the application in functional food[J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2373.
- [21] 俞玉萍. 含 RGD 序列多肽靶向结合整合素 $\alpha v \beta_3$ 的分子基础研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
YU Y P. Molecular basis study on targeted binding of RGD-containing peptides to integrin $\alpha v \beta_3$ [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- [22] JEONG H J, JEONG J B, KIM D S, et al. Inhibition of core histone acetylation by the cancer preventive peptide lunasin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(3): 632-637.
- [23] DIA V P, DE MEJIA E G. Lunasin promotes apoptosis in human colon cancer cells by mitochondrial pathway activation and induction of nuclear clusterin expression[J]. *Cancer Letters*, 2010, 295(1): 44-53.
- [24] HAO Y Q, GUO H M, HONG Y C, et al. Lunasin peptide promotes lysosome-mitochondrial mediated apoptosis and mitotic termination in MDA-MB-231 cells[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2022, 11(6): 1598-1606.
- [25] HAO Y Q, WU B B, LI M R, et al. Functional exploration of lunasin peptide in transgenic maize (*Zea mays* L.) and its role

- in controlling mitophagy in MDA-MB-231 cells[J]. Food Bio-science, 2024, 58:103726.
- [26] OGDEN C L, YANOVSKI S Z, CARROLL M D, et al. The epidemiology of obesity[J]. Gastroenterology, 2007, 132(6): 2087-2102.
- [27] MOON C, HAN J R, PARK H J, et al. Synthetic RGDS peptide attenuates lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation by inhibiting integrin signaled MAP kinase pathways[J]. Respiratory Research, 2009, 10(1): 18.
- [28] GALVEZ A F. Identification of lunasin as the active component in soy protein responsible for reducing LDL cholesterol and risk of cardiovascular disease[J]. Journal of the American Heart Association, 2012, 126(21): A10693.
- [29] JEONG H J, PARK J H, LAM Y, et al. Characterization of lunasin isolated from soybean[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(27): 7901-7906.
- [30] REN G X, ZHU Y Y, SHI Z X, et al. Detection of lunasin in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and the *in vitro* evaluation of its antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(12): 4110-4116.
- [31] CAVAZOS A, MORALES E, DIA V P, et al. Analysis of lunasin in commercial and pilot plant produced soybean products and an improved method of lunasin purification[J]. Journal of Food Science, 2012, 77(5): C539-C545.
- [32] 张开平, 苏仕林, 刘燕丽, 等. 生物活性肽功能及制备方法的研究进展[J]. 农产品加工, 2015(6): 61-64.
ZHANG K P, SU S L, LIU Y L, et al. Research progress on function and preparation of bioactive peptides[J]. Farm Products Processing, 2015(6): 61-64.
- [33] 张亚旭. DNA 重组技术的研究综述[J]. 生物技术进展, 2012, 2(1): 57-63.
ZHANG Y X. Research summary on DNA recombination technology[J]. Current Biotechnology, 2012, 2(1): 57-63.
- [34] 戎晶晶, 刁振宇, 周国华. 大肠杆菌表达系统的研究进展[J]. 药物生物技术, 2005, 12(6): 416-420.
RONG J J, DIAO Z Y, ZHOU G H. Research progress on *E. coli* expression system[J]. Pharmaceutical Biotechnology, 2005, 12(6): 416-420.
- [35] 吕林芬, 庞胜美, 李保良, 等. 仔猪产肠毒素大肠杆菌疫苗的研究进展[J]. 河南农业科学, 2023, 52(5): 1-8.
LÜ L F, PANG S M, LI B L, et al. Research progress of enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine for piglets[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2023, 52(5): 1-8.
- [36] 祁浩, 刘新利. 大肠杆菌表达系统和酵母表达系统的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(17): 4-6, 52.
QI H, LIU X L. Research progress of expression systems of *Escherichia coli* and yeast[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2016, 44(17): 4-6, 52.
- [37] LIU C F, PAN T M. Recombinant expression of bioactive peptide lunasin in *Escherichia coli*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 88(1): 177-186.
- [38] 盖文丽. 大豆生物活性肽功能研究-Lunasin 原核表达纯化及活性鉴定[D]. 武汉: 华中科技大学, 2010.
GAI W L. Study on the function of soybean bioactive peptides-prokaryotic expression, purification and activity identification of-lunasin[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2010.
- [39] NUC P, NUC K. Recombinant protein production in *Escherichia coli*[J]. Postepy Biochemii, 2006, 52(4): 448-456.
- [40] SAHDEV S, KHATTAR S K, SAINI K S. Production of active eukaryotic proteins through bacterial expression systems: a review of the existing biotechnology strategies[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2008, 307(1/2): 249-264.
- [41] THAKUR R, SHANKAR J. Strategies for gene expression in prokaryotic and eukaryotic system[M]//Metabolic engineering for bioactive compounds. Singapore: Springer, 2017: 223-247.
- [42] 董清华, 沈元月. 酵母表达系统研究进展与展望[J]. 北京农学院学报, 2008, 23(2): 72-75.
DONG Q H, SHEN Y Y. Research progress and prospects on yeast expression systems[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2008, 23(2): 72-75.
- [43] 张伍魁, 范清林, 宋礼华. 毕赤酵母表达系统在外源基因表达中的研究进展及应用[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(1): 87-91.
ZHANG W K, FAN Q L, SONG L H. The advances and application in the expression of heterologous gene in *Pichia pastoris*[J]. China Biotechnology, 2006, 26(1): 87-91.
- [44] GREGG D, SADDLER J. Bioconversion of lignocellulosic residue to ethanol: process flowsheet development[J]. Biomass and Bioenergy, 1995, 9(1/5): 287-302.
- [45] ANNADANA S, SCHIPPER B, BEEKWILDER J, et al. Cloning, functional expression in *Pichia pastoris*, and purification of potato cystatin and multicystatin[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2003, 95(2): 118-123.
- [46] KAWAI R E, YOSHIDA M, TANI T, et al. Production and characterization of recombinant *Phanerochaete chrysosporium* beta-glucosidase in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003, 67(1): 1-7.
- [47] 任贵兴, 朱莹莹, 顿宝庆, 等. 重组 Lunasin 多肽在毕赤酵母中的诱导表达、纯化以及活性鉴定方法: CN105647960A [P], 2016-03-28.
Ren G X, Zhu Y Y, Dun B Q, et al. Method for induced expression, purification and activity identification of recombinant lunasin peptide in *Pichia pastoris*: CN105647960A [P], 2016-03-28.
- [48] RAHMANSU, KHANMO, ULLAHR, et al. *Agrobacterium*-mediated transformation for the development of transgenic crops; present and future prospects[J]. Molecular Biotechnology, 2024, 66(8): 1836-1852.
- [49] WANG M. Pollen tube pathway-mediated cotton transformation[M]//Transgenic Cotton. New York: Humana Press, 2019: 67-73.
- [50] WANG S X, ZHANG C, ZHANG L, et al. The relative immunogenicity of DNA vaccines delivered by the intramuscular needle injection, electroporation and gene Gun methods[J]. Vaccine, 2008, 26(17): 2100-2110.
- [51] FAN X, QIN P Y, HAO Y Q, et al. Overexpression of soybean-derived lunasin in wheat and assessment of its anti-proliferative activity in colorectal cancer HT-29 cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(24): 9594.