



谷胱甘肽的制备及其应用

作者:江洁单立峰

期号:2007年第15期

还原型谷胱甘肽(reduced glutathione,简称GSH)是一种具有重要生理功能的活性三肽,它由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成。谷胱甘肽在体内以两种形态存在,即还原型谷胱甘肽和氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione,简称GSSG)。通常人们所指的谷胱甘肽是还原型谷胱甘肽。还原型谷胱甘肽很容易被氧化,两分子谷胱甘肽的活泼巯基氧化脱氢后以二硫键相连得到的二聚体,即是氧化型谷胱甘肽。其中只有还原型谷胱甘肽才具有生理活性,而生物体内的氧化型谷胱甘肽需经还原后才能发挥生理功能。

自1888年,法国科学家Rey-pahlade首先在酵母抽提物中发现谷胱甘肽以来,科学家一直在努力研究它在各种生物体内的含量及其相应的生理作用,并逐渐发现它在医药、食品、饲料及其它行业的重要用途。本文阐述了谷胱甘肽的结构组成、生理功能、制备方法及其在临床医药、食品工业和在动物生产等领域中的应用。为谷胱甘肽的进一步研究、生产和广泛的应用提供依据和参考。

1 谷胱甘肽的结构和理化性质

谷胱甘肽是谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸经肽键缩合而成,化学名为γ-L-谷氨酰-L-半胱氨酰-甘氨酸,其结构如图1所示。

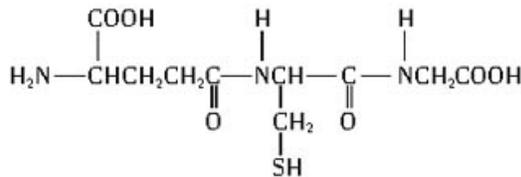


图1 谷胱甘肽的化学结构

谷胱甘肽是一种白色晶体,相对分子质量为307.33,熔点是192~195 °C(分解),等电点为5.93。比旋光度 $[\alpha]_{\text{D}20}$ 为+17.60°(C=0.05, H₂O),易溶于水、稀醇、液氨和二甲基甲酰胺,不溶于乙醚和丙酮。谷胱甘肽固体较为稳定,而水溶液在空气中易被氧化,谷胱甘肽在高水分活度下不易保存,只有将水分活度控制在0.3以下才能长期稳定保存。

2 谷胱甘肽的生理功能

谷胱甘肽是细胞内存在最丰富的小分子硫醇类化合物,其分子中含有一个特异的γ-肽键,由谷氨酸的γ-羧基与半胱氨酸的α-氨基缩合而成,并且半胱氨酸侧链基团上连有一个活泼羟基,是谷胱甘肽许多重要生理功能的结构基础。谷胱甘肽广泛分布于机体中,是细胞内非蛋白硫基团的主要组成部分,在生物体内具有多种重要的生理功能。

2.1 参与细胞内的氧化还原反应

谷胱甘肽参与细胞内的氧化还原反应,是某些酶的辅酶,并对一些巯基酶有激活作用。由于谷胱甘肽还原酶的存在,在正常情况下,谷胱甘肽在生物体内存在的主要形态为还原型谷胱甘肽,它能够提供还原硫基使含巯基酶和蛋白硫基稳定,是保护酶和其它蛋白硫基的抗氧化基。

2.2 参与胞内代谢循环

谷胱甘肽参与胞内代谢循环(如γ-谷氨酰循环),它在跨膜转运氨基酸上起着重要作用。

2.3 维持细胞还原状态

谷胱甘肽能把脱氢抗坏血酸还原成维生素C,维持细胞还原状态。

2.4 参与DNA的合成、修复及蛋白质的合成

由于谷胱甘肽参与核糖核苷酸到脱氧核糖核苷酸的变化及一系列硫醇和二硫代物间的变化,它在DNA的合成、修复及蛋白质的合成上都起重要作用;谷胱甘肽作为某些酶(如谷胱甘肽过氧化酶和谷胱甘肽-S-转移酶)的特有底物,它在细胞对外界毒物的解毒作用和硫基过氧化物、自由基和亲电试剂的清除中起着重要作用,保护细胞抵御在正常及紫外线照射下形成的活性氧及衍生物的氧化损害。因此,谷胱甘肽是细胞抗损伤及代谢调节的关键物质之一。

3 谷胱甘肽的应用

3.1 谷胱甘肽在临床上的应用

谷胱甘肽在临床上有广泛的作用,对细胞有保护作用,可防止红细胞溶血,从而减少高铁血红蛋白的损失;抑制脂肪肝的形成,改善中毒性肝炎和感染性肝炎的症状;对丙烯腈、氟化物、一氧化碳、有机溶剂、重金属等中毒具有解毒作用;对缺氧血症的不适、恶心、呕吐、痒痒等症状以及由于肝脏疾病引起的其它症状具有缓解作用;维持乙酰胆碱,胆碱脂酶的平衡,起到抗过敏作用;对放射性治疗、放射性药物、肿瘤药物引起的白血球减少以及由于放射性治疗或药物引起的骨髓组织发炎等能起到保护作用;可以抑制进行性白内障及控制角膜和视网膜炎疾病的发展;可以防止皮肤色素沉积,改善皮肤光泽;最近发现谷胱甘肽具有抗艾滋病病毒的功效。

3.2 谷胱甘肽在食品工业中的应用

谷胱甘肽现在已广泛应用于食品加工的各个领域,在调味食品中,谷胱甘肽与L-谷氨酸钠、核酸等腥味物质或它们的混合物共存时,具有很强的肉类风味;将谷胱甘肽用于肉食类、鱼类和海鲜类食品中可抑制核酸分解、强化食品风味、延长保鲜期;在奶制品中添加谷胱甘肽可强化风味、提高奶酪质量,防止酪蛋白的褐变;将谷胱甘肽加入酸奶和婴儿食品中相当于维生素C起稳定作用;由于谷胱甘肽具有氧化还原性,因此将谷胱甘肽加入制品中,在起到还原作用的同时还能强化氨基酸;利用谷胱甘肽能够防止色素沉积的作用,在水果罐头中加入谷胱甘肽可防止水果的褐变;将它制成不同类型的功能性食品,如将其添加到饮料、嗜好品(糖果)、乳制品、面类制品和发酵食品中作为保健和营养强化剂,还可用于孕妇、哺乳幼儿、病人的口服保健品,在日本,谷胱甘肽被认为是21世纪最有希望的保健食品之一。

3.3 谷胱甘肽在动物生产中的应用

谷胱甘肽在饲料工业应用尚较少,仅有少量报道:GSH用于提高牛冷冻精液的活力和受胎率;添加蛋氨酸维持血浆中的GSH水平可增强雏鸡抗球虫感染能力,解除黄曲霉毒素B1对雏鸡的毒性;解除水产动物因一些毒素引起的中毒症。GSH具有清除自由基和解毒,促进氨基酸转运,保护胃肠黏膜,提高免疫力,参与蛋白质合成与降解,调节基因的复制、转录,调节细胞生长等多种生物学功能。因而,GSH在动物生产中具有良好的应用前景。

4 谷胱甘肽的制备

相关文章

- 禽胰多肽研究进展
- 乳铁蛋白肽的研究现状及进展...
- 垂体腺苷酸环化酶激活多肽(...)
- 双酶复合水解谷朊粉制备小肽...
- 酪蛋白磷酸肽(CPPs)对肉仔...
- 改进Tricine-SDS-PAGE法分析...
- 小肽转运蛋白(PepT1)的活性...
- 小肽饲料营养价值及评价方法...
- 禽胰多肽对肉鸡增重及内分泌...
- 二肽PEPT1吸收方式通过b0,+...

合作伙伴



谷胱甘肽的制造方法主要有溶剂萃取法、化学合成法、生物发酵法和酶法。早期谷胱甘肽生产大多采用溶剂萃取法和化学合成法，目前主要以生物发酵法(尤其是酵母发酵法)生产制取。化学合成法和酵母发酵法生产谷胱甘肽现已工业化，酶法生产正在广泛研究，还没有工业化生产。

4.1 萃取法

萃取法主要以富含GSH的动、植物组织和酵母为原料，通过添加适当的溶剂或结合淀粉酶、蛋白酶处理，再分离精制而成。植物种子胚芽，动、植物组织，酵母都可作为原料进行提取，但以酵母作原料居多。

萃取法生产谷胱甘肽中所用的酵母一般都未经选育和遗传特性上的改造，谷胱甘肽含量很低，仅为0.5%~1.0%(干重)，加上生产步骤繁杂，使得该法总收率很低，若用作药品或试剂，还需离子交换、凝胶过滤等步骤进一步分离纯化。萃取法生产谷胱甘肽已被化学合成法和生物发酵法所替代。

4.2 化学合成法

自还原型谷胱甘肽被发现和阐明化学结构以后，就有学者致力于其化学合成的研究，化学合成法制备谷胱甘肽所使用的主要原料有谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸。目前谷胱甘肽的化学合成法生产工艺较成熟，但它存在成本高、反应步骤多、反应时间长、操作复杂等缺点，并且产生的消旋体需要光学拆分，分离十分困难，造成产品纯度不同，以及存在着环境污染问题。

4.3 酶法

酶法合成谷胱甘肽是以L-谷氨酸、L-半胱氨酸及甘氨酸为底物，需要两个合成酶分步完成，第一步是在谷氨酸的 γ -羧基与半胱氨酸的氨基形成肽键，此反应由 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(GSH I)催化；第二步反应是在 γ -谷氨酰半胱氨酸的半胱氨酸端的羧基与甘氨酸的氨基之间形成肽键，由此得到谷胱甘肽，此反应由谷胱甘肽合成酶(GSH II)催化。这两步反应都需要添加三磷酸腺苷(ATP)即提供能量才可合成谷胱甘肽。其反应过程如图2所示。

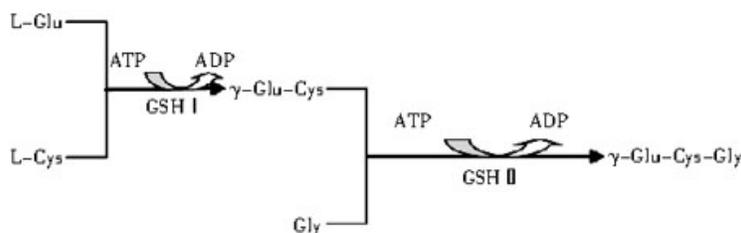


图2 酶法合成谷胱甘肽反应过程

酶法生产谷胱甘肽一般采用把细胞或酶固定化，实现细胞或酶的不断反复利用。酶法制备谷胱甘肽所需的谷胱甘肽合成酶大多取自酵母菌和大肠杆菌等菌体，包括谷胱甘肽合成酶I和谷胱甘肽合成酶II两种。首先用饱和度为80%的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀，得到的酶液用缓冲液透析，经处理后所得含酶渗析液就可用作生产谷胱甘肽，将酶液加入含L-谷氨酸、L-半胱氨酸及甘氨酸和无机盐的溶液中，加入不同的物质就可获得GSH。由于前体氨基酸生物合成GSH的两步酶促反应都需要消耗ATP，每合成1 mol的谷胱甘肽需要消耗2 mol的ATP，因此，ATP的提供或循环再生是固定化酶生产GSH的关键，在谷胱甘肽合成过程中需要一个提供ATP或再生ATP的有效系统。李寅通过重组*Escherichia coli*和*Saccharomyces cerevisiae*进行种间耦合ATP再生系统，反应进行6 h时GSH浓度可达4.4 g/l，实现了GSH的高产量合成。

4.4 发酵法

由于生物发酵生产谷胱甘肽与早期萃取法、化学合成法及酶法相比具有明显的优越性，如反应条件温和、反应步骤简单、成本低、转化效率高、生产速率快等，是今后生产谷胱甘肽的主要趋势，因此越来越受到科学家们的重视。生物发酵法生产谷胱甘肽的工艺经过学者们的努力不断得到改进，已成为当今生产谷胱甘肽的主要方法，也是最具潜力的方法。

谷胱甘肽是一种胞内产物，因此提高谷胱甘肽产量的方法可以从以下几个方面实现：①提高生产菌体的生物量，当谷胱甘肽在生产菌体中的含量不变时，提高生产菌体生物量的同时也会增大谷胱甘肽的总产量；②提高谷胱甘肽在生产菌体中的含量，即当生产菌体的生物量不变时，提高谷胱甘肽在生产菌体中的含量也会增大谷胱甘肽的总产量；③既提高生产菌体的生物量，又提高谷胱甘肽在生产菌体中的含量。根据以上几个方面，发酵法生产谷胱甘肽的研究工作主要包括高产菌株选育(或利用基因工程技术构建)、培养基组成的最佳化、发酵工艺条件的优化及控制等。日本很早就开始对发酵法生产GSH进行研究，其中利用酵母发酵的方法已被日本成功地用于GSH的工业化生产。协和公司利用发酵法生产的GSH在1985年就取得了中国卫生部的原料药进口许可，基本垄断了中国市场。国内对发酵法生产GSH也进行了大量研究。但在GSH工业化生产过程中产品的产量和成本上还存在一些问题，还不能完全满足市场的需求。

5 结语

目前，国内GSH主要依靠进口。国内市场几乎全部被日本协和集团垄断，导致国内谷胱甘肽的价格居高不下(作为原料药的价格在250~300美元/kg)，也使该产品推广应用受到很大的限制。我国每年花费约4 200万美元进口谷胱甘肽。实现GSH的国产化，改变我国谷胱甘肽原料药依赖进口的局面，同时为GSH作为食品添加剂得到大规模应用奠定基础。实现发酵法生产GSH的产业化，不仅能填补我国在这一领域的空白，对我国医药工业、临床医学和食品工业均具有重大的社会效益和经济效益。

(参考文献24篇，刊略，需者可函索)

(编辑：刘敏跃，lm-y@tom.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置

