

# 麦胚无细胞蛋白合成系统表达人成纤维细胞生长因子 21 蛋白的研究

李正哲, 李 力, 李杏君, 宋 鑫, 郑学玲\*

(河南工业大学粮油食品学院, 郑州 450000)

**摘要: 目的** 通过构建麦胚无细胞蛋白合成系统(wheat germ cell-free protein synthesis system, WGCF)体外表达人成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21)。**方法** 构建 FGF21 克隆载体, 对 *FGF21* 基因进行克隆, 提取 DNA 后通过聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩大底物浓度并体外转录成 mRNA。制备麦胚抽提物溶液, 加入反应底物、能源物质和相关酶系构建 WGCF。以 mRNA 为模板利用 WGCF 体外合成 FGF21 重组蛋白, 利用酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)对纯化后的 FGF21 重组蛋白进行检验, 并计算 WGCF 合成 FGF21 重组蛋白的产量。**结果** 成功利用构建的 WGCF 表达了 FGF21 蛋白, 最终合成产量为 12.49 ng/mL。从基因层面到体外表达 FGF21 重组蛋白仅需 2~3 d。**结论** 以麦胚抽提物为核心的 WGCF 可以正确合成具有复杂结构的真核蛋白, 为小麦制粉副产物麦胚的深层次开发利用提供有效手段和研究方向。

**关键词:** 小麦胚芽; 无细胞蛋白合成; 人成纤维细胞生长因子 21; 蛋白质纯化

## Expression of human fibroblast growth factor 21 protein in wheat germ cell-free protein synthesis system

LI Zheng-Zhe, LI Li, LI Xing-Jun, SONG Xin, ZHENG Xue-Ling\*

(College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a wheat germ cell-free protein synthesis system (WGCF) and express human fibroblast growth factor 21 (FGF21) *in vitro*. **Methods** FGF21 cloning vector was constructed to clone the *FGF21* gene. After DNA was extracted, the substrate concentration was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and the gene was transcribed into mRNA *in vitro*. The wheat germ extract solution was prepared, and WGCF was constructed by adding reaction substrates, energy substances, and related enzymes. FGF21 recombinant protein was synthesized by WGCF using mRNA as a template *in vitro*. The purified FGF21 protein was detected by ELISA kit, and the yield of FGF21 recombinant protein synthesized by WGCF was calculated. **Results** FGF21 protein was successfully expressed in the constructed WGCF, and the final yield was 12.49 ng/mL. It only took 2-3 days from gene level to the expression of FGF21 recombinant protein *in vitro*. **Conclusion** WGCF can correctly synthesize

基金项目: 国家自然科学基金项目(U1704118、21375049)、河南工业大学自科创新基金项目(2020ZKCJ16)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (U1704118, 21375049), and Henan University of Technology Self Innovation Fund (2020ZKCJ16)

\*通信作者: 郑学玲, 教授, 主要研究方向为谷物化学与品质。E-mail: xuelingzheng@haut.edu.cn

\*Corresponding author: ZHENG Xue-Ling, Professor, College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450000, China. E-mail: xuelingzheng@haut.edu.cn

eukaryotic protein with complex structure, which provides an effective means and research direction for further development and utilization of wheat germ, a by-product of wheat milling.

**KEY WORDS:** wheat germ; cell-free protein synthesis; human fibroblast growth factor 21; protein purification

## 0 引言

我国是小麦生产大国, 麦胚作为小麦加工过程中一项非常重要的副产物, 其年产出量高, 具有很高的开发利用价值<sup>[1]</sup>。完整的小麦籽粒中麦胚约占总体积的 1.1%~3.9%, 由于麦胚中油脂含量较高易发生氧化酸败, 以及麦胚中的多酚氧化酶易与酚类物质反应等原因, 目前麦胚的利用还相对有限<sup>[2]</sup>。工业生产过程中的麦胚作为小麦粉加工副产物, 其开发利用方式主要有 3 种: 用于动物饲料的原料; 用于小麦胚芽油的提取; 作为营养改善剂添加到休闲食品中<sup>[3]</sup>。这对于麦胚中富含的各种生物活性物质无疑是一种巨大的浪费。小麦胚芽作为小麦籽粒中生命活动最旺盛的部分<sup>[4]</sup>, 包含蛋白质合成所必需的各种要素, 包括蛋白质合成场所、蛋白因子以及相关酶系等<sup>[5]</sup>。在蛋白质组学研究迅速发展的时代, 以小麦胚芽为原料的无细胞蛋白合成系统在结构蛋白、毒性蛋白和功能蛋白的体外表达方面具有一定的优势, 在基因组研究和生物制药等领域有着重要的应用潜力<sup>[6]</sup>。因此, 研究以麦胚抽提物为生物反应器的麦胚无细胞蛋白合成系统, 可以为小麦胚芽的深层次开发利用提供重要依据。

无细胞蛋白合成系统是以外源 DNA 或者 mRNA 为模板, 在体系内补充底物和能源物质, 在细胞抽提物提供的细胞器以及多种酶的组合作用下体外表达蛋白质的系统<sup>[7-9]</sup>。其中细胞抽提物可以来自不同的细胞, 主要包括大肠杆菌细胞、小麦胚芽细胞、兔网织红细胞、酵母细胞和昆虫细胞等<sup>[10]</sup>。与传统的细胞体内的蛋白表达系统相比, 无细胞蛋白合成系统具有表达与修饰易调控、可以表达对细胞有毒害的蛋白、不受细胞生长代谢影响等特点。其中麦胚无细胞蛋白合成系统(wheat germ cell-free protein synthesis system, WGCF)在无细胞蛋白合成系统的优势基础上更适用于真核基因的表达, 能够高效生产复杂的真核蛋白并正确折叠<sup>[11]</sup>。近些年来研究人员们分别从氨基酸运载能力<sup>[12]</sup>、预防模板和产物降解<sup>[13]</sup>、改善 ATP 再生能力<sup>[14]</sup>等方面对麦胚无细胞蛋白合成系统进行了一系列的优化, 目前针对部分蛋白质的 24 h 合成产量已经达到 1 mg/mL 的水平<sup>[15]</sup>。

人成纤维细胞生长因子 21(fibroblast growth factor 21, FGF21)是 2000 年由 NISHIMURA 等<sup>[16]</sup>发现的, 人源 FGF21 具有 209 个氨基酸, 与小鼠 FGF21 具有 75% 的同源性<sup>[17]</sup>。研究表明 FGF21 主要由肝脏分泌, 骨骼肌、胰腺、胸腺、心肌细胞中亦有表达<sup>[18]</sup>。FGF21 在脂肪细胞内能激

活葡萄糖代谢, 并且糖代谢过程不依赖胰岛素, 有望成为治疗糖尿病的新辅助药物<sup>[19]</sup>。另外, FGF21 在心血管疾病的发生过程中起着重要的调节作用, 是预测心血管疾病风险的新型生物学标志物<sup>[20]</sup>。FGF21 蛋白的实验室制备主要采用大肠杆菌表达载体诱导表达法, 但此方法面临着表达过程中易形成包涵体、重组蛋白复性困难、重组蛋白纯化操作烦琐、整体实验周期较长等问题。

综上所述, 本研究拟采用麦胚抽提物为生物反应器的 WGCF 合成具有正确结构与蛋白活性的 FGF21 重组蛋白, 为研究 FGF21 蛋白提供一种便利高效的实验室合成方法, 为小麦加工副产物麦胚的高值化生物利用提供了数据基础, 为麦胚无细胞蛋白合成系统工业化应用提供了理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

重组质粒 pET28a-FGF21(武汉森灵生物科技有限公司); DH5 $\alpha$  感受态大肠杆菌细胞(上海瑞楚生物科技有限公司); 引物(北京六合华大基因科技有限公司); 用于制备麦胚提取物的小麦(济麦 44, 河南农科院种业有限公司); AxyPrep<sup>TM</sup> Plasmid Miniprep Kit(美国 Axygen 公司); RiboMAX<sup>TM</sup> Large Scale RNA Production System-T7(美国麦迪逊市 Promega 公司); His 标签蛋白纯化镍离子螯合型试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); 人源 FGF21 酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒(赫澎(上海)生物科技有限公司); 4-羟乙基哌嗪乙磺酸 {2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl] ethanesulfonic acid, HEPES}、ATP、GTP、二硫苏糖醇、亚精胺、磷酸肌酸、肌酸激酶、RNA 酶抑制剂、蛋白酶抑制剂(合肥博美生物科技有限责任公司); L-氨基酸标准品(北京索莱宝科技有限公司)。

主要仪器有: D2012plus 台式超速离心机(大龙兴创实验仪器北京有限公司); JS-2012 凝胶成像分析仪(上海培清科技有限公司); UV752N 紫外可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司); A200PCR 扩增仪(杭州朗基科学仪器有限公司); Multiskan FC 酶标仪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司]; JY92-IIDN 超声波细胞粉碎机(输出功率 200 W, 宁波新芝生物科技股份有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 FGF21 基因的克隆

将 pET28a-FGF21 重组质粒转入 DH5 $\alpha$  感受态大肠杆

菌中, 构建成 *FGF21* 基因克隆载体<sup>[21-22]</sup>。*FGF21* 重组质粒若成功转入感受态大肠杆菌中会使大肠杆菌呈现卡那霉素抗性, 将菌液接种至卡那霉素 Luria-Bertani(LB)抗性平板上, 过夜培养后挑取单菌落接种至含卡那霉素的 LB 液态培养基中, 以 37 °C 180 r/min 培养至  $OD_{600\text{ nm}}=1.0$ 。使用 AxyPrep™ Plasmid Miniprep Kit 提取质粒, 提取步骤参照使用说明。

采用紫外分光光度计法对提取到的质粒 DNA 进行纯度和浓度检测, 分别测量 DNA 溶液于 260 nm 和 280 nm 的吸光度值进行比较计算。随后对提取到的质粒 DNA 以 BglII 单酶切获得线性 DNA, 通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检验 DNA 长度是否符合预期。

### 1.2.2 mRNA 的体外转录

为了提高转录得到的 mRNA 浓度, 对提取获得的质粒 DNA 进行 PCR 扩增以增加 DNA 模板浓度<sup>[22]</sup>。设计了一对引物, 使得聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)产物的线性 DNA 包含了 T7 启动子, *FGF21* 基因片段, T7 终止子。

正向引物: 5'-CACCATACCCACGCCGAAAC-3'

反向引物: 5'-CGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGC-3'

PCR 扩增采用 50  $\mu\text{L}$  反应体系, 将 25  $\mu\text{L}$  Premix Taq™、5  $\mu\text{L}$  质粒 DNA 溶液、2  $\mu\text{L}$  正向引物、2  $\mu\text{L}$  反向引物、16  $\mu\text{L}$  无菌水于灭菌 200  $\mu\text{L}$  PCR 管中混合均匀后, 按照先 94 °C 预变性 5 min; 然后以 94 °C 变性 1 min, 59 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1.5 min 循环 35 次; 最后以 72 °C 延伸 10 min 的程序完成 PCR 扩增。PCR 扩增产物同样采用琼脂糖凝胶电泳检测其长度是否符合预期。

使用 RiboMAX™ Large Scale RNA Production System-T7 以 PCR 产物为模板参照说明步骤进行 mRNA 的体外转录, 转录产物利用 DNA 酶消化 DNA 模板以确保 mRNA 纯度。

### 1.2.3 麦胚抽提液的制备

麦胚抽提液的制备是 WGCF 中最重要的步骤, 麦胚抽提液中包含 WGCF 中合成蛋白质的核糖体、起始因子、延长因子、释放因子和成熟的 tRNA<sup>[23]</sup>。首先是小麦的预处理, 将小麦平铺至玻璃平皿底部, 加水没过小麦表面后用保鲜膜封住平皿, 避光室温浸泡 18~24 h, 待胚芽处于萌动期时取出小麦籽粒用纱布擦干, 用手术刀小心剥下小麦胚芽, 注意不要连同胚乳一起切下。收集 10 g 小麦胚芽置于纱布中, 用流动的水洗去残余胚乳。将小麦胚芽用吸水纸吸干表面水分, 置于研磨皿中, 加入液氮后冷冻研磨成粉末。向麦胚粉末中加入抽提缓冲液<sup>[14]</sup>(40 mmol/L HEPES-KOH、100 mmol/L 乙酸钾、5 mmol/L 乙酸镁、2 mmol/L 氯化钙、4 mmol/L 二硫苏糖醇)摇晃混匀后, 用 40% 功率的超声以每工作 1 s 暂停 1 s 的程序处理 5 min。然后 4 °C 5000 g 离心 30 min, 取上清液至新的离心管中再以 4 °C 15000 g 离心 1 h。取上清液分装, -20 °C 冻存备用。

### 1.2.4 WGCF 的构建与 FGF21 蛋白的表达

5 $\times$ 翻译缓冲液<sup>[24]</sup>: 150 mmol/L HEPES、500 mmol/L 乙酸钾、13.5 mmol/L 乙酸镁、12.5 mmol/L 二硫苏糖醇、6 mmol/L ATP、1.25 mmol/L GTP、80 mmol/L 磷酸肌酸、2 mmol/L 亚精胺和 0.25% 叠氮钠。

反应底物混合液: 1 mL 1 $\times$ 翻译缓冲液中加入 37.5  $\mu\text{L}$  8 mol/L 的 20 种氨基酸混合溶液。

构建完成的 WGCF 反应体系如表 1 所示。

表 1 WGCF 反应体系成分表  
Table 1 WGCF system contents

组分名称	含量/ $\mu\text{L}$
麦胚抽提物	30
mRNA 模板	20
反应底物混合液	747
肌酸激酶	1
RNA 酶抑制剂	1
蛋白酶抑制剂	1

总计 800  $\mu\text{L}$  的反应体系, 合成 FGF21 蛋白时以 37 °C 孵育 24 h。

### 1.2.5 FGF21 重组蛋白的 ELISA 分析

进行 ELISA 分析前先使用 His 标签蛋白纯化试剂盒对 WGCF 表达的重组蛋白进行纯化, 然后使用人源 FGF21 ELISA 检测试剂盒对过柱纯化后的重组蛋白进行分析<sup>[25]</sup>。人源 FGF21 ELISA 检测试剂盒采用了双抗体一步夹心法酶联免疫吸附实验, 参照使用说明先以标准品浓度为横坐标(X), 对应的 OD 值为纵坐标(Y)绘制标准品线性回归曲线, 然后对纯化后得到的蛋白质溶液进行测定分析, 并计算 WGCF 合成重组蛋白的产量。

## 2 结果与分析

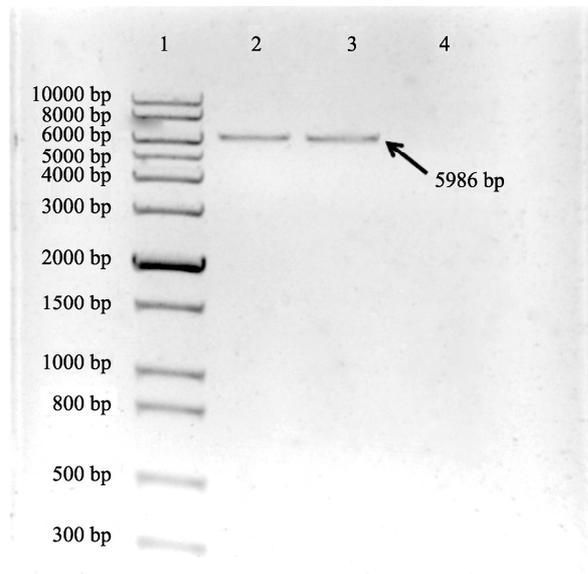
### 2.1 FGF21 基因克隆结果

构建的 pET28a-FGF21 重组质粒包含 T7 启动子-终止子体系、6 $\times$ HisTag 以及目的基因 *FGF21* 片段。质粒全长为 5986 bp。成功转入的大肠杆菌感受态细胞经过卡那霉素抗性筛选后增殖培养, 提取质粒 DNA 可以获得大量的包含 *FGF21* 基因片段的重组质粒, 从而达到 *FGF21* 基因克隆的目的。

提取得到的质粒 DNA 经过紫外分光光度计测定后得到  $OD_{260\text{ nm}}=0.743$ 、 $OD_{280\text{ nm}}=0.397$ 。经过计算  $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}\approx 1.87$  (1.7~2.0)表明提取的质粒纯度良好。提取到的质粒 DNA 浓度= $OD_{260\text{ nm}}\times$ 稀释倍数 $\times 50\text{ }\mu\text{g/mL}=37.15\text{ }\mu\text{g/mL}$ , 表明提取的质粒浓度较高。

经过单酶切处理成线性的 DNA 样品琼脂糖凝胶电泳

结果如图 1 所示, 对比泳道 1 中的 DNA Marker, 泳道 2~3 中提取到的质粒 DNA 样品长度约 6000 bp, 符合重组质粒大小, 证明 FGF21 基因已经于载体中克隆成功。



注: 泳道 1 为 DNA Marker; 泳道 2~3 为 DNA 样品; 泳道 4 为阴性对照。

图 1 FGF21 基因克隆结果

Fig.1 Result of FGF21 gene cloning

## 2.2 mRNA 体外转录

通过引物的设计, PCR 扩增后得到的线性 DNA 模板长度应为 1361 bp。对扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳分析如图 2, 扩增产物长度约为 1400 bp, 符合设计预期。并且条带亮度较高, 证明扩增产物 DNA 浓度较高。

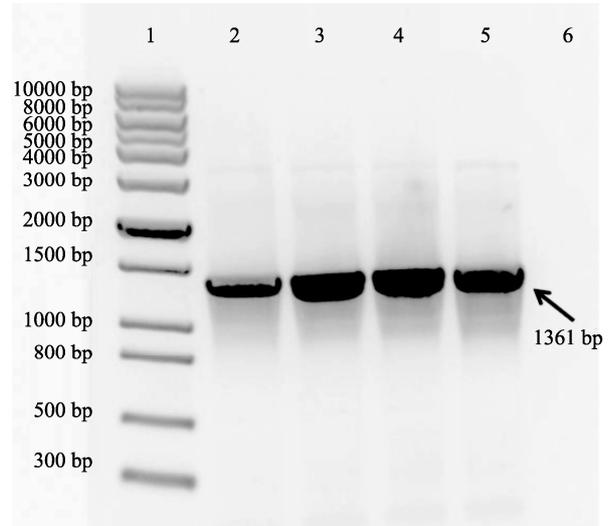
利用试剂盒体外转录得到的 mRNA 样品, 经过 DNA 酶去除模板后, 与作为转录模板的 PCR 扩增产物同时进行琼脂糖凝胶电泳分析如图 3 所示, 泳道 2~4 显示 mRNA 样品浓度较高, 且无 DNA 模板残留, 符合作为后续蛋白质体外翻译模板的要求。

## 2.3 FGF21 重组蛋白的 ELISA 分析结果

根据人源 FGF21 ELISA 检测试剂盒的使用说明对经过纯化的 FGF21 重组蛋白进行分析, 首先以标准品浓度为横坐标(X), 对应的 OD 值为纵坐标(Y)绘制标准品线性回归曲线, 得到回归方程  $Y=0.0065X+0.0616$ , 其  $r^2=0.9727 > 0.95$  可以使用。

双抗体一步夹心酶联免疫吸附实验利用 FGF21 抗体与辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的检测抗体共同作用, 可以与 WGCF 体外合成且能够成功折叠并且结构正确的 FGF21 重组蛋白发生特异性反应。经验证, WGCF 合成产物可以与 FGF21 抗体结合, 说明 WGCF 合成的 FGF21 重组蛋白具有正确的构象。

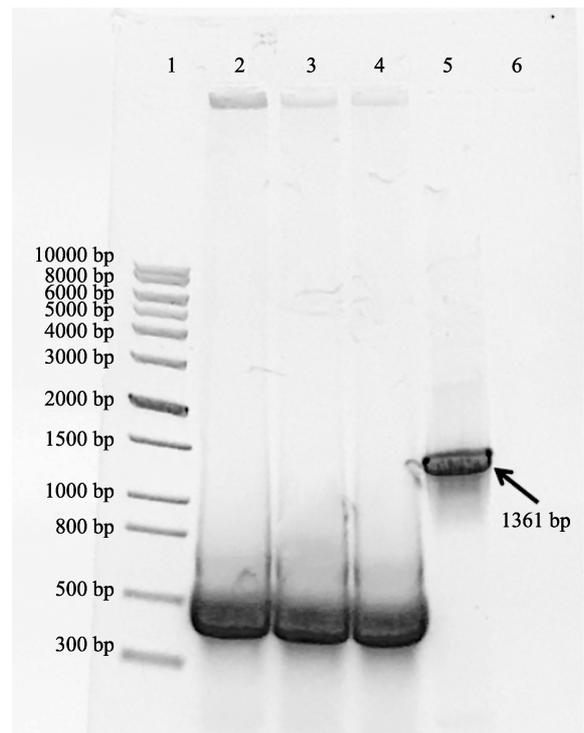
纯化后的 FGF21 重组蛋白稀释 50 倍后经过 ELISA 试剂盒的测定, 在 450 nm 吸光度值  $Y=1.686$ , 代入线性回归方程后经计算得, WGCF 合成的 FGF21 重组蛋白浓度约为 12.49 ng/mL。



注: 泳道 1 为 DNA Marker; 泳道 2~5 为 PCR 产物样品; 泳道 6 为阴性对照。

图 2 PCR 扩增结果

Fig.2 Result of PCR amplification



注: 泳道 1 为 DNA Marker; 泳道 2~4 为消化 DNA 后的 mRNA 样品; 泳道 5 为 PCR 产物 DNA 样品; 泳道 6 为阴性对照。

图 3 mRNA 模板制备的验证

Fig.3 Verification of mRNA template preparation

### 3 结论与讨论

本研究以 pET28a-FGF21 重组质粒为 DNA 模板, 通过体外转录的方式获得 mRNA 模板, 以制备的小麦胚芽抽提液为基础构建 WGCF, 首次成功地表达出了具有正确构象的人源 FGF21 重组蛋白, 最终 24 h 合成产量为 12.49 ng/mL, 从 FGF21 基因到 FGF21 重组蛋白的表达整体过程为 2~3 d, 与传统重组蛋白表达方法相比缩短了实验周期, 由于 WGCF 中几乎不含麦胚内源性 mRNA, 因此 WGCF 对外源 mRNA 依赖性极强, 几乎不会生产杂蛋白, 利于重组蛋白表达后的纯化操作。本研究为 FGF21 蛋白相关的基因组学和蛋白质组学研究提供了一种较为便利的蛋白质合成方法, 同时还详细介绍了 WGCF 中麦胚抽提物的制备方法, 为小麦制粉加工副产物麦胚作为生物反应器应用的可行性提供了一定的验证, 为小麦制粉加工副产物的深层次运用提供了理论依据和数据基础。

研究过程中发现, 实验室制备麦胚抽提液人工成本较高, 可能无法适应工业化生产与应用, 后续研究中可能会对小麦胚芽的提取手段进行优化或对工业制粉副产物麦胚直接用于制备麦胚抽提液的可行性进行探究。与此同时尽管首次运用 WGCF 合成了 FGF21 重组蛋白, 但是产量水平较低, 在将来的研究中可以从麦胚抽提液制备以及 mRNA 模板在体系中的续存情况等角度对麦胚无细胞蛋白合成系统进行优化, 以获得更高的合成蛋白产量。

#### 参考文献

- [1] 王晓曦, 詹静, 马森. 小麦胚在面制品应用中的研究与前景[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2017, 38(5): 113-117.  
WANG XX, ZHAN J, MA S. Recent applications and prospects of wheat germ in the flour products [J]. J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed), 2017, 38(5): 113-117.
- [2] 黄继红, 陈文静, 廖爱美, 等. 麦胚活性成分研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(1): 114-123.  
HUANG JH, CHEN WJ, LIAO AM, et al. Review on active components of wheat-embryo [J]. J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed), 2021, 42(1): 114-123.
- [3] 胡莉丽. 麦胚清蛋白的酶法水解及其产物的抗氧化性研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.  
HU LL. Proteolysis of wheat germ albumin and antioxidant activity of the hydrolysate [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017.
- [4] 王丽娜, 王步军. 小麦代谢组学技术及其研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 830-836.  
WANG LN, WANG BJ. Wheat metabolomics technology and its research progress [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(4): 830-836.
- [5] 高伟, 卜宁, 卢元. 无细胞体系非天然蛋白质合成研究进展[J]. 生物工程学报, 2018, 34(9): 1371-1385.  
GAO W, BU N, LU Y. Recent advances in cell-free unnatural protein synthesis [J]. Chin J Biotechnol, 2018, 34(9): 1371-1385.
- [6] 赵振瑶. 无细胞蛋白表达系统新进展及在生物制药工程中的应用[J]. 轻工科技, 2019, 35(8): 46-47.  
ZHAO ZY. New development of cell-free protein expression system and its application in biopharmaceutical engineering [J]. Light Ind Sci Technol, 2019, 35(8): 46-47.
- [7] 谢典佑. 无细胞蛋白表达体系在生物制药工程中的应用[J]. 中国医药科学, 2017, 7(1): 45-47, 100.  
XIE DY. Application of non-cellular protein expression system in biological pharmaceutical engineering [J]. Chin Med Pharm, 2017, 7(1): 45-47, 100.
- [8] KATZEN F, CHANG G, KUDLICKI W. The past, present and future of cell-free protein synthesis [J]. Trends Biotechnol, 2005, 23(3): 150-156.
- [9] 洪励上, 苏志宁. 无细胞蛋白表达系统研究进展[J]. 科技经济市场, 2009, (6): 14-15.  
HONG LS, SU ZN. Research progress of cell-free protein expression system [J]. Sci Technol Econy Market, 2009, (6): 14-15.
- [10] 张鹏, 林骏, 卢元. 无细胞蛋白质合成的研究进展[J]. 生物加工过程, 2018, 16(1): 59-66.  
ZHANG P, LIN J, LU Y. Advances in cell-free protein synthesis [J]. Chin J Bioproc Eng, 2018, 16(1): 59-66.
- [11] 刘永祥, 陈思远, 张逸婧, 等. 麦胚无细胞蛋白合成系统研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(17): 379-383.  
LIU YX, CHEN SY, ZHANG YJ, et al. Research progress of wheat germ cell-free protein synthesis system [J]. Sci Tech Food Ind, 2015, 36(17): 379-383.
- [12] SHEN XC, YAO S, FUKANO H, et al. Ribosomal RNA supplementation highly reinforced cell-free translation activity of wheat germ [J]. J Biosci Bioeng, 2000, 89(1): 68-72.
- [13] SEKI E, MATSUDA N, KIGAWA T. Multiple inhibitory factor removal from an *Escherichia coli* cell extract improves cell-free protein synthesis [J]. J Biosci Bioeng, 2009, 108(1): 30-35.
- [14] WANG Y, XU W, KOU X, et al. Establishment and optimization of a wheat germ cell-free protein synthesis system and its application in venom kallikrein [J]. Protein Expres Purif, 2012, 84(2): 173-180.
- [15] MADIN K, SAWASAKI T, OGASAWARA T, et al. A highly efficient and robust cell-free protein synthesis system prepared from wheat embryos: Plants apparently contain a suicide system directed at ribosomes [J]. P Natl A Sci India B, 2000, 97(2): 559-564.
- [16] NISHIMURA T, NAKATAKE Y, KONISHI M, et al. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver [J]. BBA-Gene Struct Expres, 2000, 1492(1): 203-206.
- [17] LEE S, CHOI J, MOHANTY J, et al. Structures of  $\beta$ -klotho reveal a 'zip code'-like mechanism for endocrine FGF signaling [J]. Nature, 2018, 553(7689). DOI: 10.1038/nature25010
- [18] 付坤, 柳景华. 成纤维细胞生长因子 21: 从生理作用到临床研究[J]. 中国循环杂志, 2014, 29(4): 309-311.  
FU K, LIU JH. Fibroblast growth factor 21: from physiological function to clinical research [J]. Chin Circ J, 2014, 29(4): 309-311.
- [19] 王静, 白秀平. 成纤维细胞生长因子 21 与糖脂代谢的研究进展[J]. 中国医药, 2021, 16(3): 470-472.  
WANG J, BAI XP. Research progress of fibroblast growth factor 21 in glucose and lipid metabolism [J]. Chin Med, 2021, 16(3): 470-472.
- [20] 马文丽, 夏芳芳, 戴红艳. 成纤维生长因子 21 在心力衰竭中的研究进展[J]. 生命的化学, 2020, 40(12): 2243-2247.  
MA WL, XIA FF, DAI HY. Research progress of fibroblast growth factor

- 21 in heart failure [J]. *Chem Life*, 2020, 40(12): 2243–2247.
- [21] 肖世峰, 许娜, 姚林芳, 等. 蓖麻毒素 A 链在麦胚无细胞系统中的表达 [J]. *中国兽医学报*, 2015, 35(11): 1804–1808.  
XIAO SF, XU N, YAO LF, *et al.* Expression RTA by wheat germ cell-free system [J]. *Chin J Vet Sci*, 2015, 35(11): 1804–1808.
- [22] 杨芹, 陈海琴, 陈思, 等. 高山被孢霉  $\omega$ -3 脂肪酸脱饱和酶基因在麦胚无细胞蛋白质合成系统中的表达 [J]. *生物技术进展*, 2016, 6(5): 346–351, 381.  
YANG Q, CHEN HQ, CHEN S, *et al.* Expression of the  $\omega$ -3 fatty acid desaturase from *Mortierella alpina* in wheat germ cell-free protein expression system [J]. *Curr Biotechnol*, 2016, 6(5): 346–351, 381.
- [23] 王雪, 权春善, 王建华, 等. 不同细胞破碎方法对无细胞蛋白表达系统细胞抽提物活性的影响 [J]. *中国生物工程杂志*, 2011, 31(1): 46–50.  
WANG X, QUAN CS, WANG JH, *et al.* Effects of different cell fragmentation methods on the activity of cell extracts from cell-free protein expression system [J]. *China Biotechnol*, 2011, 31(1): 46–50.
- [24] 王云鹏. 江浙蝮蛇毒激肽释放酶在麦胚无细胞蛋白合成系统中的表达和优化 [D]. 天津: 天津大学, 2012.  
WANG YP. Expression and optimization of kallikrein from *Agkistrodon halys Pallas* snake venom using a wheat germ cell-free protein synthesis system [D]. Tianjin: Tianjin University, 2012.
- [25] 赵凯, 贾彦博, 王啸, 等. 小麦球蛋白单克隆和多克隆抗体制备及建立酶联免疫吸附法快速检测技术 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(10): 4154–4158.  
ZHAO K, JIA YB, WANG X, *et al.* Study on monoclonal antibody and polyclonal antibody preparation and establishment of ELISA detection method of wheat globulin [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(10): 4154–4158.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

## 作者简介



李正哲, 硕士研究生, 主要研究方向为食品科学与工程。

E-mail: lee1205@stu.haut.edu.cn



郑学玲, 教授, 主要研究方向为谷物化学与品质。

E-mail: xuelingzheng@haut.edu.cn