

文章编号:1001-6880(2015)6-1112-07

麦角硫因的合成与降解代谢

刘 琦¹, 张维亚^{1,2}, 姜文侠^{1*}

¹中国科学院天津工业生物技术研究所 天津市工业生物系统与过程工程重点实验室 中国科学院系统微生物工程重点实验室,天津 300308; ²天津科技大学生物工程学院,天津 300457

摘要:麦角硫因是一种稀有的天然手性氨基酸类强抗氧化剂,尽管只在部分蕈菌、链霉菌、分枝杆菌等微生物中合成,但可被植物和动物吸收与积累,广泛分布于哺乳动物的细胞和组织中。麦角硫因具有独特的生物学功能和药理活性,是一种在医药、食品、保健品和化妆品等行业极具应用前景的细胞生理保护剂。本文综述了麦角硫因的生物合成与降解代谢,以期利用代谢调控提高麦角硫因的生物合成水平,深入挖掘麦角硫因的生理功能及应用。

关键词:麦角硫因;前体;生物合成途径;降解代谢

中图分类号:Q815; Q819

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.06.031

Biosynthesis and Catabolism of L-Ergothioneine

LIU Qi¹, ZHANG Wei-ya^{1,2}, JIANG Wen-xia^{1*}

¹Tianjin Key Laboratory for Industrial Biological Systems and Bioprocessing Engineering Key Laboratory of Systems Microbial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China; ²College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China

Abstract: L-ergothioneine (EGT) is a naturally occurring chiral amino-acid antioxidant which biosynthesized by some mushrooms, streptomycete, mycobacteria, etc. EGT can be absorbed and assimilated by plants and animals, and distributed in most animal cells and tissues. Because of its particularly biological functions and pharmacological activities, EGT is widely used in pharmaceuticals, food, health products and cosmetics industries as a physiological cytoprotector. This paper reviewed the biosynthesis and degradation of EGT, so as to improve the production levels of EGT by metabolic modulation, and dig further physiological functions and applications of EGT.

Key words: L-ergothioneine; precursor; biosynthetic pathway; degradation

麦角硫因(L-Ergothioneine, EGT)是天然的2-硫代咪唑氨基酸,溶解状态下存在硫醇和硫酮两种结构的互变异构体,由于硫羰基的稳定性高于巯基^[1],故在生理pH条件下主要以硫酮的形式存在。EGT的标准氧化还原电势为-0.06 V,其它硫醇的电势一般在-0.2~ -0.32 V之间^[2],因此,EGT在生理

环境下比其它抗氧化剂更加稳定,不易自发氧化。图1是EGT几种异构体的化学结构^[3]。

EGT是次生代谢产物,蕈菌是目前发现的最有潜力的生物合成制备EGT的菌种,但关于EGT生物合成与降解代谢的研究报导较少,至今EGT在大型真菌中的合成代谢途径尚不清楚。由于近年来EGT的应用与合成重新受到重视,本文主要介绍EGT的代谢研究进展,以期指导EGT的高强度发酵合成研究及产品的应用开发。

1 EGT在微生物中的生物合成

1.1 麦角菌中EGT的生物合成

最初Tanret^[4]在麦角菌(*Claviceps purpurea*)的菌核中发现EGT。Heath等^[5]研究麦角菌中EGT的生物合成时发现,EGT主要分布于分生孢子而非菌核中,并且,EGT与生物碱的生物合成过程相互独

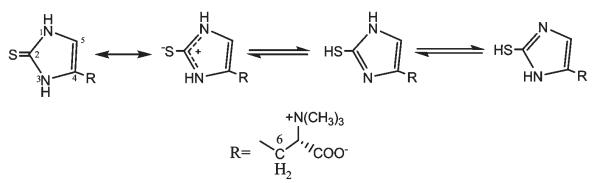


图1 麦角硫因的互变异构体结构

Fig. 1 Tautomeric structures of ergothioneine

收稿日期:2014-07-31 接受日期:2014-11-06

基金项目:天津市青年自然科学基金(13JCQNJC10100);天津市科技支撑计划重点项目(10ZCKFSY06300)

*通讯作者 Tel:86-22-84861941;E-mail:jiang_wx@tib.cas.cn

立。

Heath 和 Wildy^[6]在以[2-¹⁴C]醋酸盐为碳源的化学合成培养基中培养麦角菌,10 d 后收集菌体,对分离得到的 EGT、组氨酸、谷氨酸及其它氨基酸进行了体外实验,结果发现:EGT 经碱处理降解为三甲胺和巯基咪唑丙烯酸,然后进一步降解巯基咪唑丙烯酸,先经钠汞齐还原,再利用 H₂O₂ 氧化生成咪唑丙酸,咪唑环经苯甲酰氯裂解,依次酯化及水解,再经亚铬酸铜脱羧,最终检测到 EGT 咪唑环上的肽碳、5 碳链、羧基和甲基具有放射性同位素。采用与上述相同的实验方法降解分离得到的组氨酸,生成带有放射性的肽碳、5 碳链和羧基,证明 EGT 降解产物和组氨酸降解产物的放射性分布极相似,说明麦角菌中 EGT 和组氨酸的生物合成途径可能一致,由此推测 EGT 由组氨酸或组氨酸的结构类似物合成。在含有[2(环)-¹⁴C]组氨酸和[α-¹⁴C]组氨酸的培养基中培养麦角菌,分离得到的 EGT 经检测具有放射性,证明组氨酸分子中的咪唑环完全参与了 EGT 的生物合成,验证了组氨酸是合成 EGT 的前体^[7]。

研究同时发现分离得到的谷氨酸盐的放射性也很高,推测醋酸盐经三羧酸循环形成谷氨酸盐,但 EGT 和组氨酸侧链中的碳原子放射性均较低,说明其侧链并非来自谷氨酸盐。进一步实验发现,[2(环)-¹⁴C]组胺不能将咪唑环提供给 EGT 和组氨酸,表明组胺不是合成 EGT 的前体。利用相同的方法验证了一些含组胺或带侧链的咪唑衍生物也并非合成 EGT 的前体^[8]。

Heath 等^[8]利用含有[³⁵S]蛋氨酸的培养基培养麦角菌,分离得到具有放射性的 EGT,证明蛋氨酸参与了 EGT 的生物合成。

综上得知组氨酸和蛋氨酸是麦角菌中合成 EGT 的前体,谷氨酸盐、组胺及一些含组胺或带侧链的咪唑衍生物并未参与 EGT 的生物合成。

1.2 粗糙链孢霉中 EGT 的生物合成

Melville 等^[9,10]发现粗糙链孢霉(*Neurospora Crassa*)能够合成 EGT,并利用同位素示踪法研究了 EGT 生物合成的前体及其生物合成途径。

1.2.1 EGT 分子中咪唑环的来源

Melville^[10]将粗糙链孢霉置于含有[2-¹⁴C]组氨酸的培养基中培养 24 h,利用氧化铝柱层析分离^[11],对流出组分进行放射性检测^[12],结果表明:具有放射性的峰与 EGT 的出峰时间及峰形均一致,

碱处理此组分后生成带有微量放射性的三甲胺和具有明显放射性的巯基咪唑丙烯酸,证明了流出组分是 EGT,组氨酸是合成 EGT 的前体^[9]。

此外,发现如果培养基中含有高浓度的[¹⁴C]组氨酸,则巯基咪唑丙烯酸与组氨酸的比放射性一致,说明内源组氨酸合成 EGT 的途径完全被外源的[¹⁴C]组氨酸所抑制。同时,在组氨酸合成 EGT 的过程中,咪唑环被完整地保留下来,这是因为如果咪唑环在 C-2 原子处发生裂解,则必将丢失部分被标记的碳原子。

1.2.2 EGT 分子中侧链的来源

Melville 推测 EGT 合成可能的中间体还包括咪唑丙烯酸、咪唑丙酮酸及其含硫衍生物,它们可能取代了组氨酸分子中的 α-氨基氮原子。为验证此推测,Melville^[13]将含有¹⁵N 标记的组氨酸([¹⁵N]组氨酸的来源:将粗糙链孢霉置于以[¹⁵N]铵盐为唯一氮源的培养基中,培养结束后,酸解菌体蛋白分离得到 [¹⁵N]组氨酸)作为前体培养粗糙链孢霉,分离得到的 EGT 被降解成巯基咪唑丙烯酸和三甲胺,通过分析组氨酸、EGT 及其降解产物,发现¹⁵N 在巯基咪唑丙烯酸分子中的咪唑环和三甲胺分子中的 α-氮原子间的分布高度一致,证明整个组氨酸分子,包括侧链中的氮原子均参与了 EGT 的生物合成^[9]。

1.2.3 EGT 分子中甲基的来源

将粗糙链孢霉置于含有[¹⁴C]蛋氨酸的培养基中培养,合成的 EGT 具有高度放射性,降解得到的甲基也具有放射性^[10]。利用[¹⁴C]甲酸盐和[¹⁴C]甲醛作为前体,合成的 EGT 并非在甲基处产生放射性,而是部分巯基咪唑丙烯酸带有了放射性,说明 EGT 分子中的甲基可能通过转甲基作用合成,要验证此推测,需要含放射性氢原子标记的甲基供体作实验材料。

Melville 等^[13]利用同时含有¹⁴C 和氘(D)标记的蛋氨酸进行实验,含有双标记的蛋氨酸合成 EGT 后被降解成三甲胺,比较含有¹⁴C 的三甲胺与[¹⁴C]蛋氨酸,发现两者均含有大量的氘。由于蛋氨酸甲基中氢和碳原子的个数比为 3:1,甲酸盐分子中氢和碳原子的比为 1:1,甲醛分子中的氢和碳原子之比为 2:1。将蛋氨酸甲基中 D:¹⁴C 的比值设为 1,假设蛋氨酸中的甲基碳原子经甲酸盐或甲醛介导转移至 EGT:如果是通过甲酸盐介导,则 EGT 甲基中 D:¹⁴C 的比值不会超过 1/3,若是经甲醛介导,比值则不会超过 2/3,而实验结果显示 D:¹⁴C 的比值超过

了2/3,说明蛋氨酸至少转移了一个完整的甲基至EGT。由于实验对放射性同位素进行了高度稀释,未得到其它两个甲基的确切来源。

为验证EGT分子中三个甲基的来源,将蛋氨酸缺陷型突变株置于含有双标记蛋氨酸的培养基中培养,合成的EGT经降解得到的三甲胺含有大量的¹⁴C和氘,同时,三甲胺分子中D:¹⁴C的比值与蛋氨酸分子中D:¹⁴C的比值基本一致。如上所述,若EGT分子中的甲基来自于蛋氨酸经由甲酸盐或甲醛介导生成,则降解得到的三甲胺分子中D:¹⁴C的比值会小于蛋氨酸分子中D:¹⁴C的比值,而实验结果发现三甲胺和蛋氨酸分子中的D:¹⁴C比值基本一致,由此说明了EGT分子中的三个甲基均经蛋氨酸转甲基作用合成。

1.2.4 EGT分子中硫原子的来源

Melville等^[10]在含有放射性标记的硫酸盐培养基中添加大量不具放射性的含硫化合物,如胱氨酸、半胱氨酸、蛋氨酸、硫代硫酸盐、胆碱硫酸盐、硫代乙酰胺和硫氰酸盐,进行了巯基供给的竞争性验证实验。结果表明硫代硫酸盐和含硫氨基酸是合成EGT有效的巯基供体,其中胱氨酸优于蛋氨酸,半胱氨酸则是最佳的巯基供体,硫代硫酸盐要首先转化为半胱氨酸,再参与EGT的合成。这个反应也在构巢曲霉(*Asp. nidulans*)中得到了验证^[14]。

1.2.5 EGT分子的生物合成顺序

Melville^[9]推测EGT的生物合成顺序有两种:(1)组氨酸经半胱氨酸巯基化合成巯基组氨酸(thiolhistidine),再经蛋氨酸转甲基作用生成EGT;(2)组氨酸经蛋氨酸转甲基作用生成组氨酸甜菜碱(hercynine),再经半胱氨酸巯基化合成EGT。

为此,将粗糙链孢霉置于含有[2-¹⁴C]巯基组氨酸的培养基中培养,合成的EGT具有极微量的放射性^[10]。由于菌体的抽提物具有大量的放射性,表明巯基组氨酸能够穿透细胞膜,由此证明了巯基组氨酸不是合成EGT的中间体。

Melville^[9]将粗糙链孢霉分别置于添加了外源[2-¹⁴C]组氨酸,以及[2-¹⁴C]组氨酸和组氨酸甜菜碱组合物的培养基中培养,研究产物中EGT的含量及总放射性的变化。经氧化铝柱层析分离,[2-¹⁴C]组氨酸实验组出现了两个放射性峰,第二个峰的峰面积大于第一个峰,EGT的出峰时间与第二个峰一致。添加[2-¹⁴C]组氨酸与组氨酸甜菜碱组合物的实验组中,同样出现两个放射性峰,但第一个峰的峰

面积远大于第二个峰,EGT的出峰时间仍与第二个峰一致,其中第二个峰的峰面积与[2-¹⁴C]组氨酸实验组中第二个峰的峰面积相近。实验证明了EGT的保留时间长于[2-¹⁴C]组氨酸的保留时间,同时外源添加的组氨酸甜菜碱几乎完全抑制了内源组氨酸合成EGT的过程,说明组氨酸甜菜碱是EGT合成的直接中间体,即EGT的生物合成顺序为组氨酸先经蛋氨酸转甲基作用生成组氨酸甜菜碱,再与半胱氨酸发生巯基化合成EGT。

当硫源缺乏时,粗糙链孢霉细胞内仅含有组氨酸甜菜碱,硫源充足时,细胞内迅速合成EGT,同时组氨酸甜菜碱的含量不断下降,亦证明了组氨酸甜菜碱是合成EGT的中间体。

1.2.6 催化EGT合成的酶的推測

Ishikawa等^[15,16]使用粗糙链孢霉的无细胞抽提液证明了EGT由组氨酸、半胱氨酸和蛋氨酸合成,其中组氨酸甜菜碱和组氨酸甜菜碱-半胱氨酸硫氧化物(hercynylcysteine sulfoxide)是合成EGT的中间体,推測S-腺苷蛋氨酸依赖性甲基转移酶[S-adenosyl methionine (SAM)-dependent methyltransferases],Fe²⁺依赖性氧化酶[iron (II)-dependent oxidase]和5-磷酸吡哆醛依赖性β-裂合酶[pyridoxal 5-phosphate (PLP)-dependent-lyase]很可能在EGT的合成途径中起到了催化的作用,但并未对这几种酶进行研究与验证。

1.3 分枝杆菌中EGT的生物合成

1.3.1 分枝杆菌科中EGT生物合成的前体

Genghof等^[17]研究了100余种分枝杆菌科(Mycobacteriaceae)中EGT及组氨酸甜菜碱的生物合成过程,结果同Melville的研究结果一致。在分别添加[³⁵S]硫酸盐和[2-¹⁴C]组氨酸的培养基中培养分枝杆菌,分离得到EGT和组氨酸甜菜碱,由于EGT和组氨酸甜菜碱的保留时间差异很小,采用两根氧化铝层析柱串联分离两种物质,并单独分析每根色谱柱的流出组分,得到组分的放射性和甜菜碱峰随时间的变化曲线。由于甜菜碱是EGT和组氨酸甜菜碱分子中的特殊基团,对甜菜碱的检测可以间接反映EGT和组氨酸甜菜碱的动态变化过程。

[³⁵S]硫酸盐实验组样品经第一根色谱柱分离,出现一个具有放射性的甜菜碱峰,再经第二根色谱柱分离,出现两个甜菜碱峰,但只有第二个色谱峰具有放射性,说明第一个色谱峰是组氨酸甜菜碱,第二个色谱峰是EGT,EGT保留时间长于组氨酸甜菜碱

的保留时间,放射性来源于 $[^{35}\text{S}]$ 硫酸盐。

$[2\text{-}^{14}\text{C}]$ 组氨酸实验组样品经第一根色谱柱分离后,同样出现一个具有放射性的甜菜碱峰,再经第二根色谱柱分离,出现具有两个放射性的甜菜碱峰,表明 $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ 组氨酸参与了组氨酸甜菜碱和 EGT 的生物合成过程,上述两个色谱峰分别为组氨酸甜菜碱和 EGT。

实验证明了 EGT 和组氨酸甜菜碱在分枝杆菌中的合成路径一致,组氨酸分子中的咪唑环完整地参与了 EGT 和组氨酸甜菜碱的生物合成,组氨酸甜菜碱再经巯基化合成 EGT。因此,组氨酸甜菜碱是分枝杆菌(*Mycobacteria*)合成 EGT 的直接前体。

1.3.2 分枝杆菌 EGT 生物合成途径中关键酶的推测

Ishikawa^[15,16] 推测 SAM 依赖性甲基转移酶、 Fe^{2+} 依赖性氧化酶和 PLP 依赖性 β -裂合酶可能对 EGT 的生物合成起到了催化作用。为探寻控制 EGT 合成的相关基因,Seebeck^[18] 利用上述几种酶进行体外催化实验,模拟分枝杆菌中 EGT 的生物合成途径。由于 Fe^{2+} 依赖性酶 [iron (II)-dependent enzymes] 难以从序列中被单独识别,同时 PLP 结合蛋白(PLP-binding proteins)的功能尚不明确^[19],研究人员首先从甲基转移酶(methyltransferases)入手分析。编码分枝杆菌甲基转移酶的一组基因紧邻 PLP 结合蛋白,形成含有 5 个基因的基因簇,推测这个基因簇很可能与 EGT 的合成相关,Seebeck 将这 5 个基因命名为 *egtA*、*egtB*、*egtC*、*egtD* 和 *egtE*,并进行了实验验证,图 2 是对分枝杆菌 EGT 生物合成途径的推测^[18]。

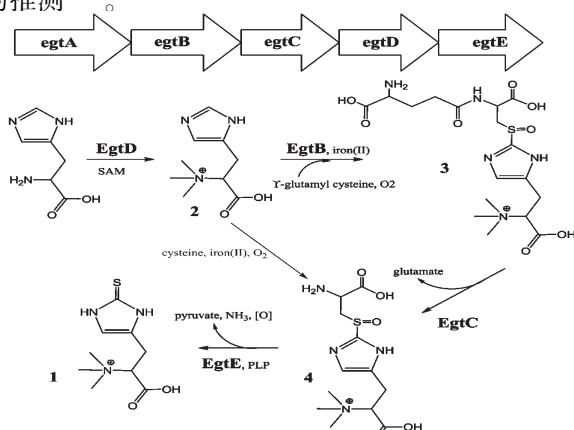


图 2 分枝杆菌中麦角硫因生物合成途径的推测

Fig. 2 Possible biosynthetic pathway of mycobacterial ergotoneine

为验证 EgtD 是否为组氨酸甲基转移酶,从包皮垢分支杆菌(*Mycobacterium smegmatis*)中克隆出其相关基因,并在 *E. coli* 中重组表达。纯化后,采用蛋白原氨基酸(proteinogenic amino acids)作为底物分析了 EgtD 的甲基化活性,同时利用 SAM 和 S-腺苷高半胱氨酸核苷酶(S-adenosylhomocysteine nucleosidase)进行了对比分析。反应过程中,产物 2-组氨酸甜菜碱是电喷雾质谱唯一检测到的甲基化产物,并利用酶与紫外偶联检测技术验证了组氨酸和 α -N, N-二甲基组氨酸(R-N,N-dimethylhistidine)是 EgtD 的最适底物^[20]。

此外,对 *egtA*、*egtB*、*egtC* 和 *egtE* 四个基因编码的产物进行了验证。*EgtA*、*EgtC* 和 *EgtE* 的序列分别类似于 γ -谷氨酰半胱氨酸裂合酶(γ -glutamyl cysteine ligase)、II型谷氨酰胺转氨酶(class-II glutamine amidotransamidase)和 PLP 结合蛋白^[21],*EgtB* 具有与甲酰甘氨酸合成酶(formylglycine-generating enzymes, FGEs)相同的 DUF323 结构域^[22],并且 *EgtB* 和 *EgtC* 的真菌同系物作为融合蛋白被编码,表明这两个蛋白形成了一个功能单元。

为验证 *EgtB* 是否具有硫氧化酶的活性,利用 γ -谷氨酰半胱氨酸(γ -glutamylcysteine)作为巯基供体与产物 2 进行反应,HPLC 分析显示 250 nm 处产物的分子量与产物 3 相同,其结构经 1H、COSY 和 HSQC NMR 光谱得到验证,证明了 *EgtB* 具有硫氧化酶的活性。同时发现只有 Fe^{2+} 存在时 *EgtB* 才表现出活性^[15]。进一步研究发现产物 2 是优先的巯基受体,组氨酸与 *EgtB* 的亲和力则较弱^[15,16]。为推测产物 2 能否直接与半胱氨酸反应生成产物 4,利用半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸(*N*-acetylcysteine)和谷胱甘肽替代 γ -谷氨酰半胱氨酸与 *EgtB* 进行反应,结果均未生成产物 4,证明产物 3 是分枝杆菌 EGT 生物合成途径的重要中间体。

对于产物 3 发生谷氨酰胺键的水解以及由产物 4 生成 EGT 的反应,推测分别由 *EgtC* 和 *EgtE* 催化。实际上,由重组 *EgtB* 和 *EgtC* 催化产物 2 形成产物 4 的过程,即证明 *EgtC* 具有谷氨酰氨基转移酶(glutamine amidotransferase)的活性。由于重组 *EgtE* 失败,实验由 β -裂合酶替代 *EgtE* 催化产物 4 与丙酮酸盐反应生成了 EGT^[18]。

Seebeck 研究推测了 *EgtA*、*EgtB*、*EgtC*、*EgtD* 和 *EgtE* 在 EGT 生物合成途径中所起到的作用,其中最重要的两个反应是由组氨酸特异性甲基转移酶

(histidine-specific methyltransferase) EgtD 催化组氨酸发生的甲基化反应,以及由 Fe^{2+} 依赖性酶 EgtB 催化产物 2 发生的氧化硫化反应。不同微生物中含有这组酶暗示了 EGT 是放线菌目、蓝细菌、盘菌亚门、担子菌门、拟杆菌门和 α -、 β -、 γ -、 δ -变形菌门的共同产物。由于高等真核生物缺乏这簇基因,Seebek 认为阐明 EGT 的生物合成途径有可能为抗菌治疗提供一个新的靶点^[18]。

1.4 其它微生物中 EGT 的生物合成

Genghof^[23] 研究了包括链霉菌在内的一些真菌及放线菌中 EGT 与组氨酸甜菜碱的生物合成,所考察的菌株均能合成 EGT,而且除黑曲霉之外均能合成组氨酸甜菜碱。EGT 的含量在 1.7 ~ 46.6 mg/100 g DW 之间,多数菌株中组氨酸甜菜碱的含量低于 EGT 的含量,少数菌株中组氨酸甜菜碱的含量较 EGT 高。在外源硫原子耗尽时,组氨酸甜菜碱的含量升高,EGT 的含量随之下降,由此推测组氨酸甜菜碱是合成 EGT 的前体。

2 麦角硫因的降解代谢

2.1 微生物中 EGT 的降解代谢

本文 1.2 叙述了组氨酸甜菜碱是 EGT 生物合成的直接前体,但它是否为 EGT 的降解产物? Neufeld 等^[24] 研究发现 EGT 分子中的硫原子可被来自稻瘟病菌 (*Piricularia oryzae*) 和云芝 (*Polyporus versicolor*) 中的硫氧化酶氧化,氧化产物并不知晓,但如果这个氧化反应与 EGT 的化学反应类似,则产物应该是组氨酸甜菜碱。Yanasugondha 等^[25] 研究了粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) 中 EGT 的降解代谢,EGT 被降解成三甲胺和巯基咪唑丙烯酸。

2.2 EGT 在哺乳动物体内的代谢与分布

药物代谢动力学分析表明,向老鼠静脉注射 EGT 后,EGT 迅速地由血液流向组织,主要流入肝脏和肾脏,即使肝、肾被切除也不会改变流向^[9]。Wolf 等^[26] 将含有 α -¹⁴C 的 EGT 注入老鼠体内,研究其代谢产物及分布,结果表明 6 h 内 EGT 发生分解,仅有 0.14% 的 EGT 生成 CO_2 ,而相同条件下注入等量的 [α -¹⁴C] 组氨酸,发现 4 h 内即会有 12% 的 [α -¹⁴C] 组氨酸生成 CO_2 。此外,约 6 h 后肝脏中 2% ~ 6% 的 EGT 转化为合成蛋白质所需的氨基酸,而肝脏中非蛋白成分的放射能则非常高,约为 EGT 注射剂量的 17% ~ 31%,因此肝脏是 EGT 代谢的主要场所,EGT 在代谢过程中首先聚集于肝脏,随后

降解成组氨酸甜菜碱,再进一步发生分解。由此推测 EGT 的主要代谢反应是首先脱去巯基,Heath^[27] 证实了此推测,他在研究含³⁵S 的 EGT 在老鼠体内的降解过程中发现,尿液中 35% 的³⁵S 以硫酸盐的形式存在。

经受长期禁食的老鼠,其组织中仍含有 EGT, Kawano 等^[28] 证实了 EGT 在老鼠体内的半衰期大概为一个月。Potter 等^[29] 对老鼠进行了限制 EGT 供给量的实验,证实老鼠的尿液和粪便中均不含 EGT,并且每天还会进行适量地吸收与积累。一只 225 g 的老鼠每天可积累 20 μg EGT, 相对仅消耗 2 μg , 累积率达 90%。据此计算,对于一个 150 英镑的成年人,每天积累约 6 mg 的 EGT。Paul 等^[30] 证实了关于 EGT 的低代谢率和高积累率部分是由肾脏对 EGT 的强吸收所造成。

Heath^[27] 研究了老鼠、兔子、狗和猫体内的 EGT 代谢分布,发现 EGT 主要分布于肝脏、红细胞和肾脏等组织。表 1 是 EGT 在四种动物组织中的分布^[9]。

表 1 麦角硫因在几种动物组织中的分布

Table 1 Concentrations of ergothioneine in different animal tissues

组织 Tissue	老鼠 Rat	兔子 Rabbit	狗 Dog	猫 Cat
肝脏 Liver	13.3	0.3	0.9	2.7
红细胞 RBC	10.4	10	6.6	2.9
肾脏 Kidney	4.3	0.3	1.6	3.1
心脏 Heart	1.5	2.7	8.9	0.0
肺 Lungs	1.5	0.3	0.6	0.8
脾 Spleen	1.1	1.0	1.1	-
睾丸 Testes	0.0	0.1	0.0	0.0
肌肉组织 Muscle	0.7	-	-	-
肠 Intestine	0.6	-	-	-
胃 Stomach	0.4	-	-	-
血浆 Plasma	0.0	-	-	-

注:单位是 mg/100 g 新鲜组织。

Note: values expressed as mg/100 g fresh tissue.

数据显示,EGT 在不同的动物或同一动物的不同组织中分布显著不同,说明组织的功能与对 EGT 的需求相关。

3 结语

综上所述,组氨酸是麦角菌、粗糙链孢霉和分支杆菌等微生物中合成 EGT 的前体。在粗糙链孢霉

和分支杆菌中,组氨酸先经甲基化作用生成组氨酸甜菜碱,再由组氨酸甜菜碱合成 EGT,其中在 EGT 的合成过程中甲基转移酶和 Fe^{2+} 依赖性氧化酶起到了重要的催化作用。蛋氨酸参与了麦角菌和粗糙链孢霉中 EGT 的生物合成。半胱氨酸等含硫氨基酸和硫代硫酸盐等含硫化化合物作为巯基供体参与了粗糙链孢霉中 EGT 的合成。在粪产碱菌中 EGT 降解生成三甲胺和巯基咪唑丙烯酸。在哺乳动物体内,EGT 首先脱去巯基生成组氨酸甜菜碱,再进一步降解。

鉴于 EGT 独特的生理活性和应用价值,EGT 具有广阔的市场前景,随着研究的深入,可能开发 EGT 在一些特殊领域中的应用。由于食用蕈菌菌丝体中 EGT 的含量较高,利用新型工业发酵技术易实现大规模可控生产,是 EGT 商业化绿色生产的主导方向。蕈菌中 EGT 生物合成途径的研究,将为 EGT 的代谢调控及高强度生物合成研究提供理论依据。

本文作者利用食用蕈菌菌丝体液体发酵制备 EGT,通过添加外源氨基酸等营养因子大幅度地提高了 EGT 的代谢积累量,摇瓶发酵水平超过 190 mg/L。相信随着生产成本的下降,EGT 必将适应更广阔的应用需求。

参考文献

- 1 Liu Q (刘琦), et al. Physicochemical properties and biological functions of L-ergothioneine. Yichang:Proceedings of Forum on Industrial Development for Amino Acids and Organic Acids (氨基酸、有机酸产业发展论坛论文集), 2012;234-242.
- 2 Cheah IK, Halliwell B. Ergothioneine: antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochim Biophys Acta, Mol Basis Dis*, 2012, 1822;784-793.
- 3 Hand CE, et al. Ab initio studies of the properties of intracellular thiols ergothioneine and ovothiol. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15;1357-1360.
- 4 Tanret C. The new base drawn from rye ergot, ergothioneine. *Compt Rend*, 1909, 149;222-224.
- 5 Heath H, Wildy J. Biosynthesis of ergothioneine and histidine by *Claviceps purpurea*. 1. Incorporation of [2^{-14}C] acetate. *Biochem J*, 1956, 64;612-620.
- 6 Heath H, Wildy J. Biosynthesis of ergothioneine by *Claviceps purpurea*. 1. Incorporation of [2^{-14}C] acetate. *Biochem J*, 1956, 6;1-2.
- 7 Heath H, Wildy J. Biosynthesis of ergothioneine by *Claviceps purpurea*. 3. Incorporation of labelled histidine. *Biochem J*, 1958, 68;407-410.
- 8 Heath H, Wildy J. Biosynthesis of ergothioneine by *Claviceps purpurea*. 2. Incorporation of labelled [^{35}S] methionine and the non-utilization of [$2(\text{Ring})^{-14}\text{C}$] histamine. *Biochem J*, 1957, 65;220-222.
- 9 Melville DB. Ergothioneine. *Vitam Horm*, 1959, 17;155-204.
- 10 Melville DB, et al. The biosynthesis of ergothioneine. *J Biol Chem*, 1957, 224;871-877.
- 11 Melville DB, et al. Tissue ergothioneine. *J Biol Chem*, 1954, 206;221-228.
- 12 Melville DB, Lubschez R. A method for the determination of ergothioneine in blood. *J Biol Chem*, 1953, 200;275-285.
- 13 Melville DB, et al. Transmethylation in the biosynthesis of ergothioneine. *J Biol Chem*, 1959, 234;1195-1198.
- 14 Shepherd CJ. Pathways of cysteine synthesis in *Aspergillus nidulans*. *J Gen Microbiol*, 1956, 15;29-38.
- 15 Ishikawa Y, et al. Participation of an intermediate sulfoxide in enzymatic thiolation of imidazole ring of hercynine to form ergothioneine. *J Biol Chem*, 1974, 249;4420-4427.
- 16 Ishikawa Y, Melville DB. Enzymatic α -N-methylation of histidine. *J Biol Chem*, 1970, 245;5967-5977.
- 17 Genghof DS, Damme OV. Biosynthesis of ergothioneine and hercynine by mycobacteria. *J Bacteriol*, 1964, 87;852-862.
- 18 Seebeck FP. *In vitro* reconstitution of mycobacterial ergothioneine biosynthesis. *J Am Chem Soc*, 2010, 132;6632-6633.
- 19 Eliot AC, Kirsch JF. Pyridoxal phosphate enzymes: mechanistic, structural, and evolutionary considerations. *Ann Rev Biochem*, 2004, 73;383-415.
- 20 Dorgan KM, et al. An enzyme-coupled continuous spectrophotometric assay for S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Anal Biochem*, 2006, 350;249-255.
- 21 Harth G, et al. All four *Mycobacterium tuberculosis* glnA genes encode glutamine synthetase activities but only GlnA1 is abundantly expressed and essential for bacterial homeostasis. *Mol Microbiol*, 2005, 58;1157-1172.
- 22 Dierks T, et al. Molecular basis for multiple sulfatase deficiency and mechanism for formylglycine generation of the human formylglycine-generating enzyme. *Cell*, 2005, 121;541-552.
- 23 Genghof DS. Biosynthesis of ergothioneine and hercynine by Fungi and Actinomycetales. *J Bacteriol*, 1970, 103;475-478.
- 24 Neufeld HA, et al. Thioxoxidase, a new sulfhydryl-oxidizing enzyme from *Piricularia oryzae* and *Polyporus versicolor*. *J Biol Chem*, 1958, 232;1093-1099.