

环境内分泌干扰物雌激素的微生物降解研究进展

李宁健, 张庆华, 张曙琳, 韩阎琰, 安雪姣*

江西农业大学生物科学与工程学院, 江西 南昌 330045

李宁健, 张庆华, 张曙琳, 韩阎琰, 安雪姣. 环境内分泌干扰物雌激素的微生物降解研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(4): 1591-1606.

LI Ningjian, ZHANG Qinghua, ZHANG Shulin, HAN Yanyan, AN Xuejiao. Microbial degradation of estrogens in environmental endocrine disruptors[J]. Microbiology China, 2023, 50(4): 1591-1606.

摘要: 雌激素是一类重要的环境内分泌干扰物。微生物降解是一种去除环境雌激素与进行环境修复的最绿色、环保、经济的方法。本文从分析雌激素的主要来源和危害、归纳国内外已报道的雌激素降解菌、总结雌激素降解的相关基因和组学研究进展、阐述雌激素的降解通路和降解机制这 4 个方面, 概括阐述了环境雌激素的微生物降解作用, 并对未来雌激素降解研究的主要内容与方向提出展望。

关键词: 环境雌激素; 微生物降解; 降解酶; 降解途径; 降解机制

Microbial degradation of estrogens in environmental endocrine disruptors

LI Ningjian, ZHANG Qinghua, ZHANG Shulin, HAN Yanyan, AN Xuejiao *

College of Bioscience and Bioengineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China

Abstract: Estrogen is an important class of environmental endocrine disruptors. Microbial degradation is considered as one of the most greenest, environmentally friendly, and economical methods to remove estrogens and remediate polluted environment. This paper analyzed the main sources and hazards of estrogens, reviewed the reported estrogen-degrading microorganisms, summarized the progress of genetic and genomics related to estrogen degradation, and described the estrogen degradation pathways and mechanisms. Finally, the microbial degradation of

资助项目: 国家自然科学基金青年基金(42007220); 江西省主要学科学术和技术带头人培养计划(20212BCJ23010); 江西省教育厅科技项目(J90182)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42007220), the Jiangxi Provincial Academic and Technical Leader Training Program (20212BCJ23010), and the Jiangxi Provincial Education Department Science and Technology Project (J90182).

*Corresponding author. E-mail: axj_net@163.com

Received: 2022-09-07; Accepted: 2022-12-01; Published online: 2022-12-26

environmental estrogens was summarized, and future research directions of estrogen degradation was prospected.

Keywords: environmental estrogens; microorganism degradation; degrading enzymes; degradation pathway; degradation mechanism

环境内分泌干扰物是指由自然产生或人类生产生活释放到周围环境中、可影响生物和人体正常激素功能及内分泌系统的化学物质,是21世纪备受关注的一类新型环境污染物的^[1]。雌激素是最主要的环境内分泌干扰物之一,具有致癌、致畸和致突变作用,广泛存在于养殖场排泄物、农药及废水处理厂中并可渗入土壤及地下水,对人体健康产生极大危害^[2]。雌激素分为甾体雌激素和非甾体雌激素,按来源均包括天然和合成类雌激素,前者主要存在于脊椎动物和昆虫中,由肾上腺皮质、睾丸、卵巢和胎盘产生,包括雌酮(estrone, E1)、17 β -雌二醇(17- β -estradiol, E2)和雌三醇(esrtiol, E3);后者包括17 α -雌二醇(17 α -estradiol, EE2)和己烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)^[3],在医疗和畜牧业上用于控制生育、异常性分化、动物发情及相关疾病的治疗^[4]。目前,研究人员已在不同环境中检测到雌激素的存在及污染情况,包括污水处理厂、人工湿地、土壤、河流、地下水和含水层沉积物、海水和海洋沉积物等^[5]。极低浓度雌激素就会影响生物发育,引发女性癌症,降低男性精子质量,导致儿童早熟,因此世界卫生组织已将雌激素列为一类致癌物和重要环境污染物。2003年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)建议,饮用水中雌激素和雌激素衍生物的浓度应低于1.0 ng/L^[4]。环境雌激素污染正逐渐成为一个严重的全球性公害。所以,亟须探寻高效安全环保的环境雌激素污染治理与修复方法。

目前已有的雌激素处理方法包括物理吸附

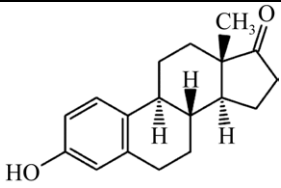
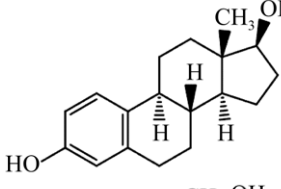
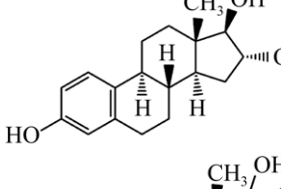
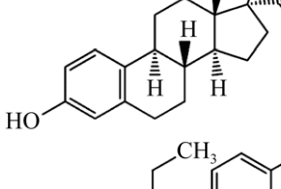
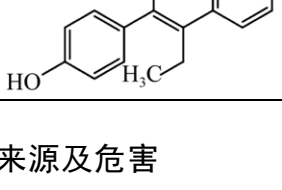
法、化学氧化法和生物降解法,但物理化学处理方法操作复杂、成本高昂并需要特定的处理装置。相比而言,微生物处理技术以能耗低、经济高效、无二次污染的特点受到研究者的广泛重视^[6]。尽管已有许多雌激素降解菌的报道,但目前关于雌激素微生物降解机制的详细研究仍很匮乏。截至目前,雌激素生物降解的研究主要集中在高效降解菌的筛选鉴定及降解特性研究,其完整代谢通路、分子降解机制及代谢调控机制等尚未完全解析。为了后续高效利用微生物降解菌并通过代谢工程改造雌激素降解菌,加快其在雌激素污染环境中的生物修复进程,需对现有雌激素降解菌株的种类和降解特性、相关的降解酶与代谢通路及可能的降解机制进行剖析与阐述。本文将对雌激素中的5种典型物质E1、E2、E3、EE2、DES的微生物降解研究方面进行介绍和总结。

1 环境雌激素

1.1 雌激素的基本性质和结构

雌激素作为典型的环境内分泌干扰物,其结构复杂,具有易残留、难降解、易积累及“三致”效应。E1、E2、E3、EE2和DES是一类脂溶性芳香族化合物,它们具有类似的苯环、酚基团等结构。E1、E2、E3和EE2含有相同的“6-6-6-5”四环碳骨架结构,由于C16、C17上部分基团不同,其稳定性略有不同^[3]。DES具有碳碳双键,结构上与上述雌激素差别较大。这些雌激素结构稳定、难降解、脂溶性强,几乎不溶于水。表1为几种雌激素的具体理化性质^[7-10]。

表 1 雌激素理化性质^[7-10]
Table 1 Physicochemical property of estrogen^[7-10]

Name	Molecular formula	Chemical structure	Formula weight (g/mol)	Water solubility (mg/L)	lg <i>K</i> _{ow}	Melting point (°C)	H-bond capacity
E1	C ₁₈ H ₂₂ O ₂		270.37	0.8–12.4	3.42	258–260	Strong OH donors and acceptors, weak π acceptor
E2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂		272.38	5.4–13.3	3.94	175–180	Strong OH donors and acceptors, weak π acceptor
E3	C ₁₈ H ₂₄ O ₃		288.38	3.2–13.3	2.81	280–282	Strong OH donors and acceptors, weak π acceptor
EE2	C ₂₀ H ₂₄ O ₂		296.37	4.8	4.15	180–186	Strong OH donors and acceptors, weak π acceptor
DES	C ₁₈ H ₂₀ O ₂		268.35	12.0	5.07	170–172	Strong OH donors and acceptors, weak π acceptor

1.2 雌激素的来源及危害

环境雌激素主要来源于人类和动物的排泄物、制药、乳制品、家禽和肉类工业^[4]。Adeel等^[7]研究发现，环境中 58%的 E2、96%的 EE2 和 69%的 E3 来源于畜牧业粪便及尿液。由于全球工业化的发展，工业废水中的雌激素释放大为增加，导致环境中的雌激素含量进一步提高，对动物和人类健康十分有害。欧洲和美洲一些国家如意大利和美国，环境中检测到 E1 的浓度最高分别达到 10 ng/L 和 12.9 ng/L，E2 最高浓度分别达到 14.7 ng/L 和 8.8 ng/L，大洋洲 E1 的含量最高可达 20.9 ng/L；日本废水处理厂进水口和出水口中 E1 最高含量分别达到

326 ng/L 和 17 ng/L；中国长江河口检测到雌激素含量达 3.92–20.61 ng/L，而且合成雌激素的水平高于天然雌激素^[10]。中国地下水中 E3 和 EE2 的浓度在 0.03–0.09 ng/L，饮用水中含有微量的 E1 (0–9.9 ng/L)、E2 (0–0.1 ng/L)和 EE2 (0–0.3 ng/L)^[11]。若人们长期接触雌激素会导致女性阴道癌、子宫内膜癌、乳腺癌；导致胎儿早产、影响胎儿性别分化和生长发育，还会导致胎儿脑瘫痪、失明和其他神经缺陷；易导致雄性后代睾丸异常、睾丸发育不全、生殖器畸形、精子总数减少和活性降低减少等问题，增加后代患生殖道癌症的风险^[4,10]。因此，环境雌激素的处理迫在眉睫。

2 环境雌激素降解菌

随着环境雌激素污染问题日益突出,越来越多的科研工作者投入到雌激素生物降解的研究中。目前筛选获得的环境雌激素降解菌株主要是细菌,这些细菌多是从堆肥、废水处理厂的活性

污泥、工厂废水中分离,主要包括鞘氨醇单胞菌属、假单胞菌属和亚硝化单胞菌属等,部分真菌及藻类也被发现可以降解雌激素。目前,国内外已经报道的雌激素降解菌如表 2 所示。基于表 2 可以看出不同菌株的降解底物、降解效果、降解时间等性质有所差异,各具一定的特点。

表 2 已分离获得的雌激素降解菌

Table 2 Isolated estrogen-degrading bacteria

Class	Organism	Estrogen	Concentration	Degradation rate	References
Bacterium	<i>Sphingomonas</i> sp. CYH	E1, E2	500 mg/L	100%	[10]
	Microbial strain BH2-1	E1	—	89.5% (6 d)	[11]
	<i>Serratia nematodiphila</i> DH-S01	E1	—	93.47% (96 h)	[12]
	<i>Spirulina</i> sp. CPCC-695	E1	—	53.7%–94.5%	[13]
	<i>Novosphingobium</i> sp.	E1, E2, E3	1.75 µg/L	80.43%–100%	[14]
	<i>Nannochloris</i> sp.	E1, E2, EE2	—	29%–60%	[15]
	<i>Acinetobacter</i> sp.	E1, E2, E3, EE2	500 µg/L	—	[10]
	<i>Rhodococcus</i> sp.	E1, E2	200 mg/L	90% (120 h)	[3]
	<i>Fusarium</i> sp. KY123915	E2	—	92.5%	[16]
	<i>Bjerkandera adusta</i>	E2	—	88%	[10]
	<i>Gordonia</i> sp.	E2	—	100% (48 h)	[17]
	<i>Deinococcus actinosclerus</i> SJTR1	E2	10 mg/L	90% (5 d)	[18]
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> SJTH1	E2	—	90%	[18]
	<i>Pseudomonas putida</i>	E2, E3	—	90%	[19]
	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	E2	—	97%	[20]
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ZL1	E2	3.3 mg/L	100% (16 h)	[21]
	<i>Nitrosomonas europaea</i>	EE2	1 mg/L	—	[22]
	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	EE2	—	—	[19]
	<i>Serratia</i> sp.	DES	—	68.3% (7 d)	[23]
	<i>Serratia</i> sp. AXJ-M	DES	120 mg/L	76.89% (7 d)	[24]
	<i>Serratia</i> sp.	DES	—	90.0%–96.7%	[25]
	<i>Pseudomonas</i> sp. J51	DES	—	80%	[26]
	<i>Bacillus subtilis</i> JF	DES	25–200 mg/L	—	[27]
	<i>Pycnoporus</i> sp.	E2	—	80%	[28]
	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	EE2	—	96.5%	[29]
Fungi	<i>Phanerochaete sordida</i>	E1E2	—	98% (5 d)	[20]
	<i>Myceliophthora thermophila</i>	E1, E2, EE2	—	60%–95%	[30]
	<i>Aspergillus</i> sp. M-4	DES	100 mg/L	93% (9 d)	[31]
	<i>Aspergillus niger</i> YAT	DES	20 mg/L	—	[32]
	<i>Agaricus bisporus</i>	EE2	—	100%	[33]
	<i>Lentinula edodes</i>	EE2	—	80%–100%	[34]
	<i>Pleurotus ostreatus</i> HK 35	E1, E2, E3, EE2	—	90%	[34]
	<i>Phoma</i> sp.	EE2	—	—	[35]
	<i>Ankistrodesmus braunii</i>	EE2	—	40%	[10]
Algae	<i>Selenastrum capricornutum</i>	EE2	—	92%	[10]
	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	E2, DES	1.5 mg/L	54.1%–74.6% (96 h)	[36]
	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	E1	—	85%	[37]
	<i>Chlorella vulgaris</i>	E1, EE2	—	52%	[38]
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	E1	—	91%	[38]
	<i>Microcystis novacekii</i>	EE2	—	—	[39]

—: Not mentioned in the literature.

细菌、真菌和藻类可以在大多数环境下生长代谢, 可以适应低温、高温、碱性、酸性等恶劣环境, 具有耐高浓度污染物的特性, 并且环保、安全、成本低、效益高, 但也存在某些不足, 比如易流失、菌种资源匮乏、易受不良胁迫等^[10]。Wang 等^[40]通过固定 *Desmodesmus* sp. WR1 降解 E2, 发现降解率可达 85%–99%。凌婉婷等^[25]选用海藻酸钠和 CaCl_2 为包埋剂和交联剂制备凝胶小球对降解 DES 的 *Serratia* sp. S 进行了固定化研究, 发现利用该固定化菌株在降解含初始浓度为 40.01、37.90 和 33.52 $\mu\text{g/L}$ DES 的污水时, DES 去除率分别为 90.0%、96.0%和 96.7%, 明显高于游离菌株 (61%)。Wang 等^[41]用 *H. pluvialis*、*S. capricornutum*、*S. quadricauda* 和 *C. vulgaris* 混培降解 E2, E2 降解率可达 100%。Pauwels 等^[42]利用 *Phyllobacterium myrsinacearum* BP1 降解 E1、E2 和 E3, 发现 E1、E2 和 E3 同时存在的条件下可协同降解 EE2, 这为在复杂环境下同时高效处理多种雌激素提供了可能。Liu 等^[36]利用淡水海藻 *Raphidocelis subcapitata* 去除和生物降解 E2 和 DES, 培养 96 h 后, 0.1、0.5、1.5 mg/L 的 E2 和 DES 的去除率分别达到 82.0%、80.4%、74.6%和 89.9%、73.4%、54.1%。藻类常被作为鱼菜共生系统中的一员, 对环境变化具有耐受性, 并且可以在好氧或厌氧条件下使 E2 的 D 环脱氢形成 E1, 从

而为进一步生物降解雌激素提供宽松的条件; 微生物自由附着在藻类表面, 可作为藻类共生菌分解有机质提供藻类光合作用所需要的 CO_2 , 从而提高污染物降解效果^[43]。因此, 藻菌联合处理可减缓雌激素生物降解的压力, 具有良好的前景。此外, 探索微生物降解污染物时的最适 pH、温度、溶氧、无机盐浓度、菌体浓度和外加碳氮源都会增强降解效果^[41]。可见, 微生物降解污染物过程中, 高效降解菌的开发、菌株固定化及细菌共培养技术的应用、新型藻-菌系统的开发、最优环境的探索都可有效增强微生物处理效果。

3 雌激素降解菌组学研究进展

利用组学手段研究污染物降解菌, 可以更深层次地了解菌株的降解能力及其环境适应性, 从而为实际应用降解菌提供一定的理论支撑。目前, 关于雌激素降解菌的组学探索仍处于起步阶段, 仅有部分降解菌完成了全基因组测序, 包括克雷伯杆菌属 (*Klebsiella*)、从毛单胞菌属 (*Comamonas*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*) 和红球菌属 (*Rhodococcus*) 等。其中, 基因组最大的为 *Rhodococcus* sp. RHA1, 达 9 702 737 bp; 最小的是 *Acinetobacter* sp. A.D-01, 仅为 3 132 860 bp; 大多数雌激素降解菌株全基因组大小为 5 Mb 左右, 其编码基因个数为 2 982–8 939 个, GC 含量在 41.61%–70.42%, 如表 3 所示。

表 3 部分雌激素降解菌基因组特征

Table 3 Genomic characteristics of estrogen-degrading bacteria

Name	Gene length (bp)	Total genes	GC content (%)	Total number of Chr and Pla	References
<i>Rhodococcus</i> sp. RHA1	9 702 737	9 145	67.00	Chr (1), Pla (3)	[4]
<i>Klebsiella</i> sp. K5-3	5 978 730	6 047	55.94	Chr (1), Pla (1)	[44]
<i>Comamonas testosteroni</i> JLU460ET	5 497 097	8 939	61.37	Chr (1)	[45]
<i>Serratia nematodiphila</i> DH-S01	5 256 558	4 874	59.53	Chr (1)	[46]
<i>Rhodococcus</i> sp. DSSKP-R-001	≈5.4 Mb	5 180	68.72	Chr (1), Pla (2)	[47]
<i>Acinetobacter</i> sp. A.D-01	3 132 860	2 982	41.61	Chr (1)	[48]
<i>Burkholderia</i> sp. CQ001	7 660 596	8 758	66.90	Chr (1)	[49]
<i>Rhodococcus</i> sp. P14	5 669 990	5 501	70.42	Chr (1)	[10]
<i>Sphingomonas</i> sp. KC8	4 074 265	3 950	63.70	Chr (1)	[50]
<i>Novosphingobium</i> sp. Chol11	3 660 000	3 532	62.44	Chr (2), Pla (2)	[51]

Chr: Chromosomes; Pla: Plasmids.

此外,有报道利用多组学连用技术对雌激素降解菌进一步研究。Lee 等^[52]利用基因组和蛋白质组学分析技术获知 *Stenotrophomonas maltophilia* ZL1 代谢 E2 的过程中芳香族氨基酸转氨酶上调: *S. maltophilia* ZL1 可以将 E2 转化为 E1, 蛋白质组学数据分析表明, *S. maltophilia* ZL1 可进一步使 E1 开环并转化为酪氨酸从而进行蛋白质合成, 并且该酪氨酸的存在会引起反馈抑制影响 E2 和 E1 的生物降解。Chen 等^[53]通过中间代谢产物检测、基因组分析及转录组分析等技术对参与各种反应的酶进行研究, 推测 *Sphingomonas* sp. KC8 降解 E2 的完整途径, 该途径是一种有氧雌激素分解代谢途径, 具有 3 个雌激素分解代谢基因簇, 分别负责 3 β /17 β -羟基类固醇脱氢酶、雌酮 4-羟化酶和 4-羟基雌酮-4,5-双加氧酶的表达, 这些酶直接参与雌激素 A 环的间分裂。Yoneda 等^[54]利用转录组学方法对多代培养的 *Rhodococcus opacus* PD630 进行比较转录组学分析, 发现降解基因表达上调, 并且使用有毒化合物作为单一碳源加速了单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)的积累, 进一步导致了靶向突变。目前雌激素降解菌的组学研究仍在起步阶段, 随着科技的发展, 多种生物技术为研究关键基因、代谢途径、降解机制及微生物间分子互作机制提供基础, 科学合理的多组学技术联合可增强对降解微生物的认知, 促进微生物在环境污染生物修复的进一步释放与应用。

4 雌激素降解酶研究进展

雌激素微生物降解是一个复杂的生理过程, 需要一系列的催化反应。雌激素降解酶主要参加的反应包括羟基化、异构化、氧化、酰基化和水解, 催化这些反应的酶主要包括脱氢

酶、细胞色素 P450、裂环二氧酶、羟化酶、单氧酶、异构酶、水解酶和脱甲基酶等, 其中起关键作用的酶是脱氢酶、羟化酶和双加氧酶^[55], 具体见表 4。

脱氢酶被认为是 *Mycobacteria* sp.、*Nocardia* sp.和 *Rhodococcus* sp.中负责雌激素分解代谢的主要或唯一酶, 其中 17 β -羟基类固醇脱氢酶(HSD)和 3-类固醇- Δ 1-脱氢酶(KSTD)的研究最为广泛^[56]。HSD 在 *Rhodococcus* sp. P14 降解 E2 过程中被诱导表达, 是第一个在细菌中发现的具有各种类固醇底物脱氢能力的短链脱氢酶^[10]。KSTD 分别由 *KSTD1* 和 *KSTD2* 编码, 通过催化 A 环上的羟基发生脱氢反应, 完成对雌激素的氧化还原^[57]。据报道, *C. testosteron* 中 KSTD 还表达 3 α -羟基类固醇脱氢酶/羰基还原酶活性, 可进一步降低雌激素活性^[3,14]。3-酮类固醇 9 α -羟化酶(KSH)是雌激素微生物有氧降解途径的关键酶, 主要由加氧酶(KshA)和黄素依赖性递质还原酶(KshB)组成, 参与甾体结构 C9 位的 α -羟基化。研究发现, KSH 与 KstD 共同作用生成 9 α -羟基雄-1,4-二烯-3,17-二酮, 其中 KSH 负责裂解 C9 和 C10 位的碳键或单独裂解 AD 环, 产生 9 α -羟基雄-4 烯-3,17-二酮^[10]。细胞色素(cytochrome, CYP)P450 是一类富含血红素和硫醇的蛋白质, 广泛分布于生物体内, 在雌激素的降解中参与电子传递的作用, 主要分为 4 类: 第 1 类含 FAD 还原酶和铁硫蛋白; 第 2 类含有 FAD 和 FMN; 第 3 类不需要任何电子供体; 第 4 类可以直接从酶中获得 NAD(P)H^[58]。环切割双加氧酶(HSA)启动芳香族化合物转化为二元醇中间化合物, 裂解这些二醇中间化合物的 A 环/B 环; 同时也可作用于一些常见的中间产物, 如原儿茶酸、儿茶酚、戊二酸、氢醌、丙酰-CoA、乙酰 CoA、酪氨酸等^[57]。

通过 iTRAQ 分析 *Pseudomonas putida* SJTE-1 降解 E2 过程中功能蛋白的表达^[57], 结果发现, 各种与应激反应、能量代谢、运输、趋化性、细胞运动和碳代谢相关蛋白质的变化, 特别

是与碳代谢相关蛋白质的高表达会导致核苷酸代谢途径与碳水化合物途径被激活。此外, 已经观察到电子传递蛋白、受体蛋白、信号蛋白及调节蛋白等都参与了雌激素的代谢^[57,59]。

表 4 雌激素降解酶研究

Table 4 The studies of estrogen degrading enzymes

Categories	Structure	Abbreviation	Enzyme	Encoding gene	Degradation substrates	Strains	References
Dehydrogenase	Most consist of 250–300 amino acid residues, most contain at least two structural domains, the first bound to the coenzyme and the second to the substrate	HSD	3 β /17 β -hydroxysteroid-dehydrogenase	<i>hsd4A</i>	E2, E1, testosterone	<i>Mycobacterium</i> sp., <i>Nocardia</i> sp., <i>Rhodococcus</i> sp. P14	[55-56]
		HSD	3 α -hydroxysteroid-dehydrogenase	<i>hsd/hsd4H</i>	Acting on the CH-OH group of donors	<i>Mycobacterium</i> sp., <i>Nocardia</i> sp., <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.	[53]
		KSTD	3-oxosteroid 1-dehydrogenase	<i>kstD</i>	Synergy with KSH, acting on the CH-CH group of donors	<i>Rhodococcus erythropolis</i> SQ1, <i>Comamonas testosteroni</i>	[57]
Hydroxylase	—	KSH	3-ketosteroid 9 α -monooxygenase	<i>kshA</i> , <i>kshB</i>	Cutting the C-C double bond at C9 and C10, the core pathway for aerobic degradation	<i>Selenastrum capricornutum</i> , <i>Scenedesmus quadricauda</i> , <i>Ankistrodesmus braunii</i> , <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Mycobacterium</i> sp. <i>Comamonas testosteroni</i> TA441	[10]
	Less similarity in primary structure, all highly conserved in spatial structure, high similarity	CYP	Cytochrome P450	<i>cyp450</i>	Catalytic hydroxylation of aromatic and aliphatic groups	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Nocardia</i> sp., <i>Streptomyces griseus</i>	[58]
Dioxygenase	—	HAS	4,5-dioxygenase	<i>hsaAB</i>	Cutting of the A/B ring of estradiol intermediates	<i>Sphingomonas</i> sp. KC8	[4]
		HAS	2,3-dihydroxybiphenyl 1,2-dioxygenase	<i>hsaC</i>	—	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	[57]

—: Represents it is not reported in the literature.

5 雌激素的生物降解途径

5.1 E1 生物降解途径

E1 相较其他雌激素较易降解, E1 降解菌多为单菌, 目前 E1 的生物降解率为 19%–94%。大多数报道显示, 微生物可以将 E2、E3 和 EE2 转化为 E1, 再通过其他途径进一步代谢^[10-15]。因此, 深入了解 E1 的代谢途径, 有利于开展对其他雌激素的整体研究。根据 E1 微生物代谢的不同中间产物, 推测 E1 降解途径主要有 A 环羟基化、C 环脱饱和、D 环脱氧和 D 环内酯化(图 1)^[11]。以 *Haematococcus pluvialis* 为例^[8], E1 降解过程中, A 环羟基化生成 4-OH-E1、2-OH-E1; C 环脱饱和生成 8,9-脱氢 E1; D 环脱氧生成 E0; D 环内酯化生成雌性内酯。另外, Pratush^[10]发现一种新的 E1 降解菌, 在其代谢过程中发现了两种新的中间代谢产物, 即 3-hydroxy-

androsta-5,7,9(11)-trien-17-one 和 androsta-1,4,6-triene-3,17-dione, 但目前还未被证实。

5.2 E2 生物降解途径

E2 是活性最高、生理效能最强、分布最广的雌激素, 深入研究 E2 的降解机制有利于提高生物降解在环境中的应用。E2 降解菌种资源丰富, 降解率达 76%–92%^[16-21]。目前, E2 降解机制研究多集中于有氧分解过程。E2 的微生物降解途径较多, 按第一步不同可分为: 羟基化、脱氢化、酮化、脱水和糖基化途径(图 2)。

(1) E2 在 17 β -羟类固醇脱氢酶的作用下, D 环 C17 位脱氢形成 E1, 然后 C15、C16 位羟基化生成内酯, 内酯再进一步降解^[55]。*Scenedesmus quadricauda* 降解 E2 通过脱氢和羟基化将 E2 转化为 E1 和 4-OH-E2^[60]。(2) E2 经 *Rhodococcus* sp. 或 *Sphingomonas* sp. 降解, A 环羟基化反应可生

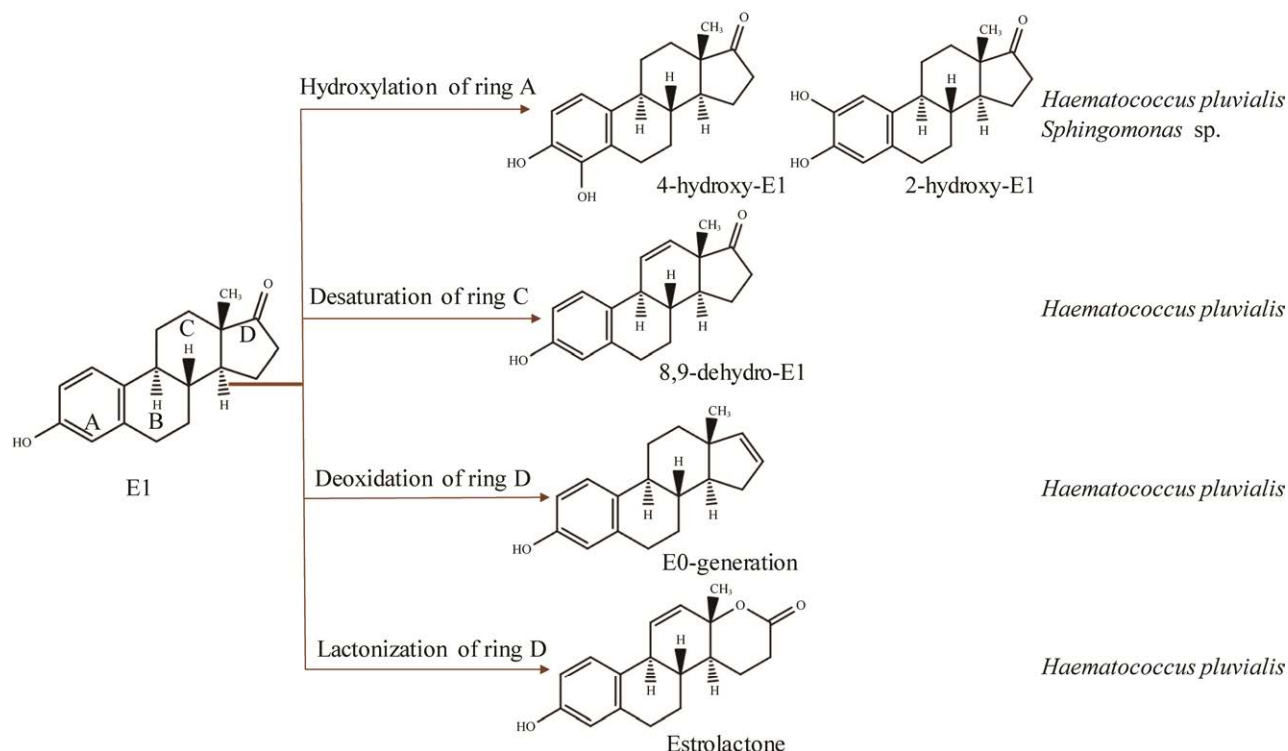


图 1 E1 微生物降解途径

Figure 1 Degradation pathway of E1 by microorganisms.

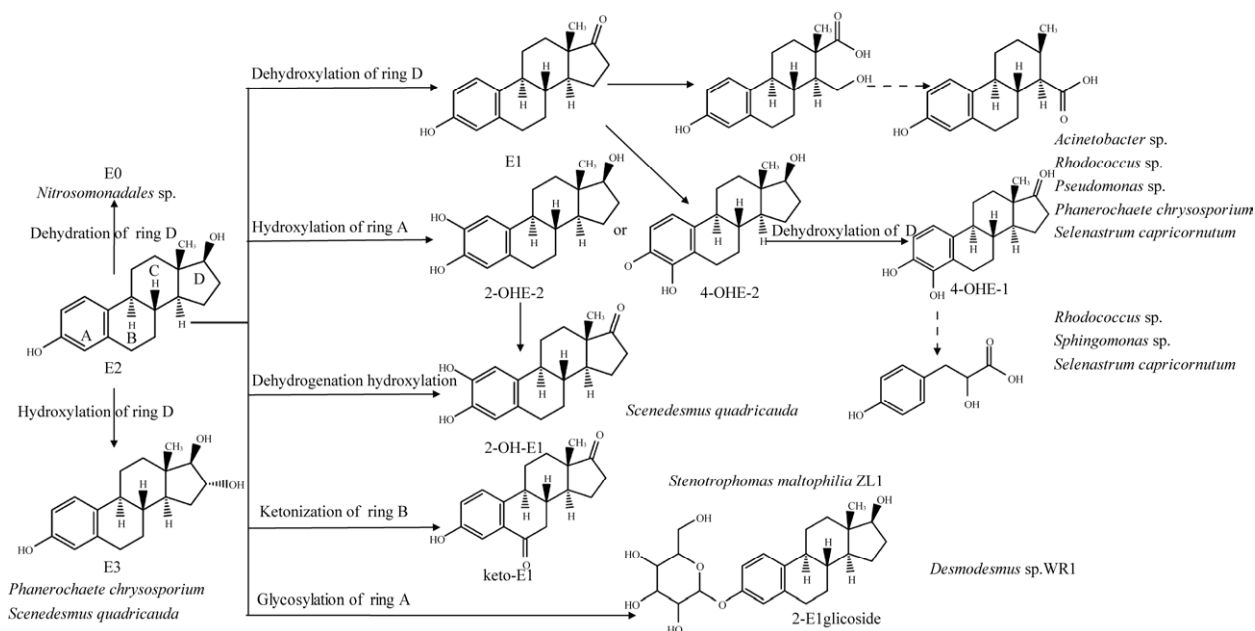


图 2 E2 微生物降解途径

Figure 2 Degradation pathway of E2 by microorganisms.

成 2-OH-E2 和 4-OH-E2, 4-OH-E2 的 D 环 C14 位脱氢形成 4-OH-E1, 然后逐步裂解^[3-4]。*Sclerotinia capricornutum* 降解 E2 过程中, 2-OH-E2 也可以进一步降解为 2-OH-E1^[61]。(3) Li^[21]利用 *Stenotrophomas maltophilia* ZL1 对 E2 通过 B 环酮化转化为 keto-E1。另外, E2 也可以先降解为 E1, 再降解为 keto-E1^[8]。(4) *Nitrosomonadales* sp. 处理 E2 过程中, D 环 C16 和 C17 位脱水形成双键生成 E0^[4], 随后被降解。(5) 利用 *Desmodium* sp. WR1 处理 E2, E2 的 A 环通过糖基化形成 2-E1 glucoside^[40]。(6)

Phanerochaete chrysosporium 和 *Scenedesmus quadricauda* 降解 E2 过程中, E2 的 D 环羟基化可形成 E3, 随后 E3 可进一步降解^[8,60]。

5.3 E3 生物降解途径

E3 大多作为底物与 E1、E2 进行共基质代谢, 降解率约为 90%^[19]。目前关于 E3 的降解菌资源较多, 但对 E3 降解菌的单独研究较少。E3 主要通过 17β-HSDx 作用使 D 环脱氢(或羟化)形成 16-羟基雌酮, 该代谢途径在 *Agromyces* sp. 和 *Rhodococcus* sp. 中被发现(图 3)^[4,10]。进一步探究 E3 的降解机制可为雌激素共代谢提供理论基础。

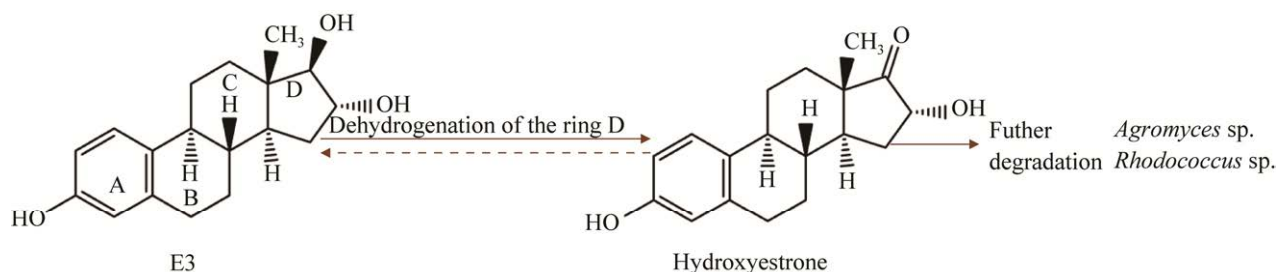


图 3 E3 微生物降解途径

Figure 3 Degradation pathway of E3 by microorganisms.

5.4 EE2 生物降解途径

EE2 结构稳定,是一种较难降解的合成类雌激素,在环境中分布较广。关于 EE2 微生物降解的研究较多,EE2 降解率为 83%–87%,是甾体雌激素中整体降解率最低的^[34]。EE2 代谢途径比较复杂,按细菌、真菌和微藻和第一步不同分为以下几个途径(图 4)。

(1) 细菌降解研究主要集中于 *Sphingomonas* sp.、*Nitrosomonas europaea* 和 *Pseudomonas* sp.^[62]。*Sphingomonas* sp.降解 EE2 过程中 D 环 C9 位酮化形成 E1(a1),然后 A 环开环进一步代谢^[50]; *Nitrosomonas* sp.代谢 EE2 主要通过 A 环裂解,具体代谢过程尚未明晰(a2)^[22]; *Nitrosomonas europaea* 代谢 EE2 是由 D 环 C17

位羧基化^[22]。另外,其他细菌也可以将 EE2 转化为 4-OH-EE2(a3)^[4]。

(2) 真菌降解 EE2 的典型降解途径主要有 3 种,漆酶和锰过氧化物酶是真菌代谢 EE2 的主要酶^[10,61]。*Pleurotus ostreatus* 降解 EE2 产生的代谢产物包括 6-AH-EE2 和 2-AH-EE2,推测其是由 EE2 的 B 环和 C 环的羟基化生成的(b1)^[34]。微藻处理 EE2 也可以生成类似降解产物^[8]。*Pleurotus ostreatus* 处理 EE2 生成脱氢酶, B 环经脱氢作用转化为 6,7-didehydro EE2,也可以使 EE2 的 C 环脱氢变为 9,11-didehydro EE2 (b2, b3)^[34]。*Aspergillus* sp.降解 EE2 D 环糖基化转化为 E2(b4)^[10]。

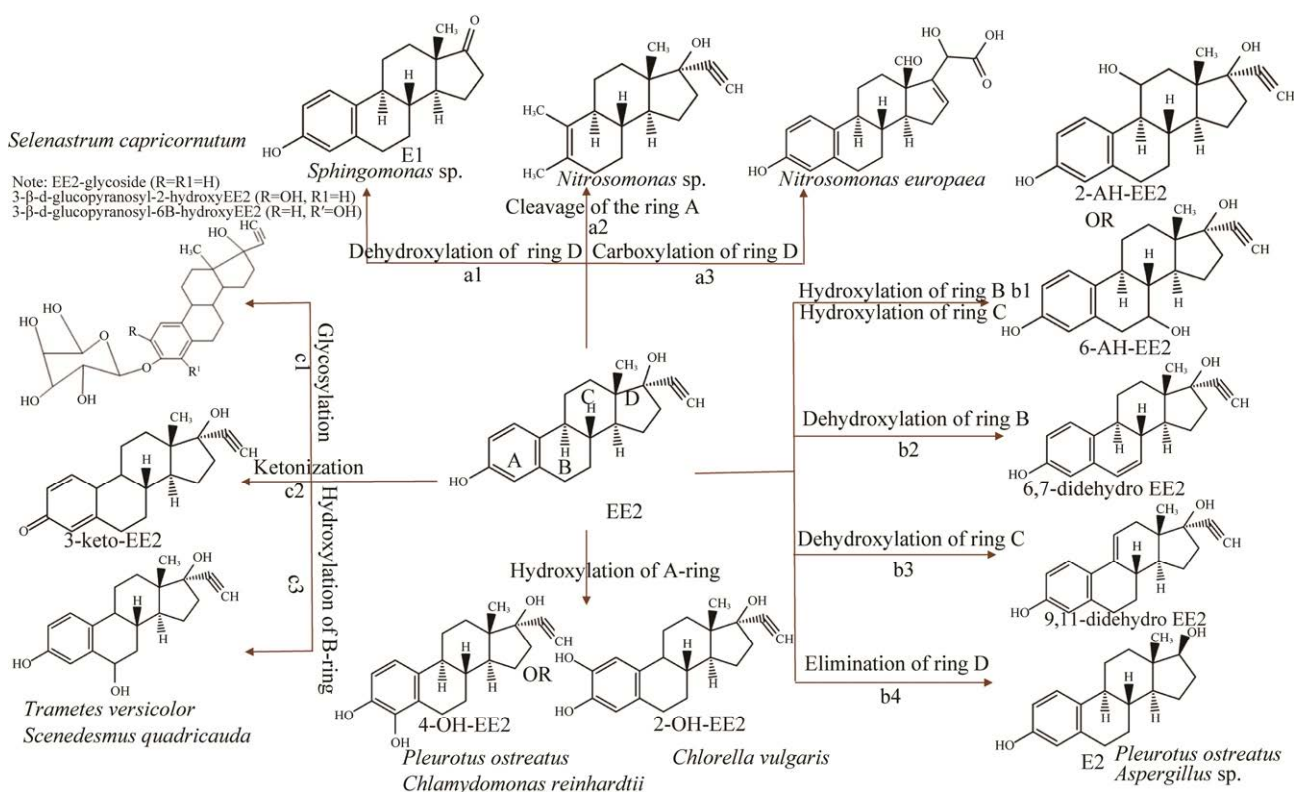


图 4 EE2 微生物降解途径

Figure 4 Degradation pathways of EE2 by microorganisms.

(3) 藻类降解 EE2 的途径更为多样, 主要有 3 种可能的代谢方式, 分别为糖基化、酮化和羟基化途径(c1、c2、c3)^[4,10,41]。此外, *Chlorella vulgaris*、*Pleurotus ostreatus* 和 *Chlamydomonas reinhardtii* 可将 EE2 A 环羟基化转化为 4-OH-EE2 和 2-OH-EE2^[4,8,10]。有研究发现利用复合菌群 (*Candidatus*、*Nitrososphaera*、*Hyphomicrobium*、*Bacteroides*、*Methyloversatili*、*Nitrospira*、*Methylothera*、*Treponema*、*Escherichia*)降解 EE2 可生成 E1, 但其具体互机制需进一步探索^[8]。

5.5 DES 生物降解途径

DES 结构特异性较强, 鲜有作为研究对象。

目前对 DES 的研究主要是降解菌的筛选及降解特性分析, DES 微生物代谢途径的研究仅见于 *Pseudomonas* sp.和 *Bacillus subtilis* (图 5)。Zhang 等^[26]分析检测并鉴定了 *Pseudomonas* sp.降解 DES 过程中的关键酶, 分别为异柠檬酸裂解酶和醌蛋白醇脱氢酶; 在该过程中, DES 被降解为 DES-4-半醌, 并通过环裂解或聚合进一步代谢。Deng 等^[27]鉴定出 *Bacillus subtilis* JF 降解 DES 过程中的两种代谢物 DESQ 和 DES-4-半醌, 两者均可被 *Bacillus subtilis* JF 完全降解。另外, 有文献报道, 一些酶类, 如漆酶和过氧化物酶, 可催化降解 DES^[63], 但其具体机制还需探索。

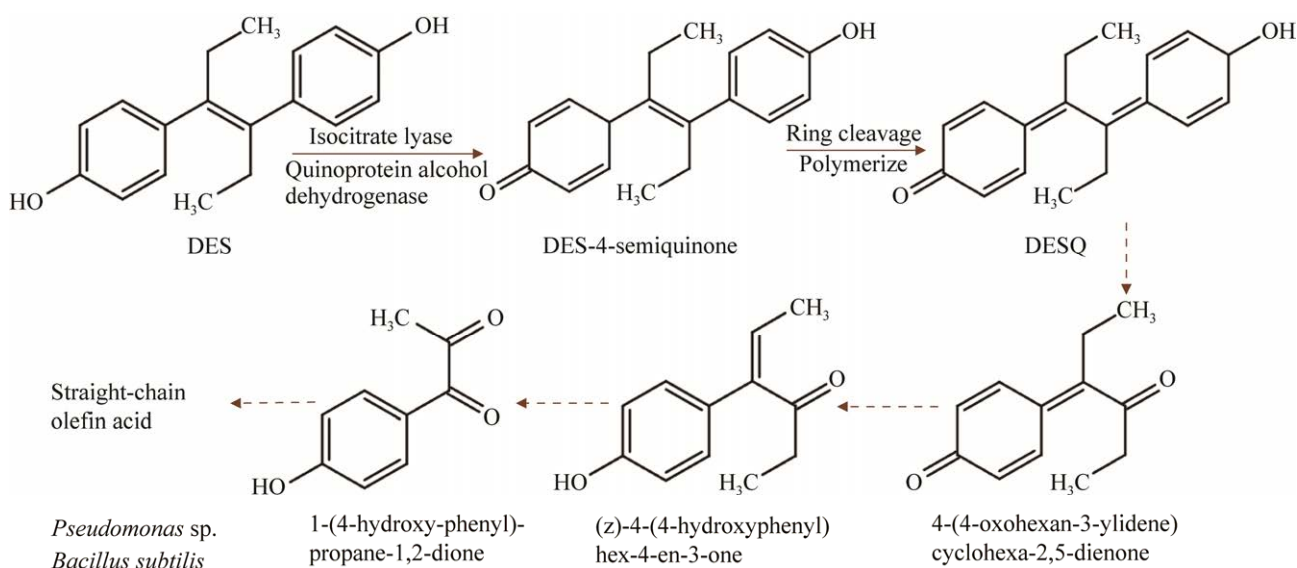


图 5 DES 微生物降解途径

Figure 5 Degradation pathway of diethylstilbestrol DES by microorganisms.

6 结论与展望

随着工业的快速发展, 雌激素污染愈发严重。微生物处理法相较物理化学方法, 具有低成本、高效率、无二次污染等优点, 展现出良好的应用优势和前景。但目前关于微生物生物降解雌

激素的研究大多集中于高效降解菌的筛选鉴定和降解特性研究, 对雌激素的微生物降解通路及分子机制研究仍停留在基础阶段。高效雌激素降解菌的筛选、雌激素降解复合菌群优势环境的探索、新型高效技术的开发及雌激素降解机制的研究是降解环境雌激素的关键性工作。

对于这些问题, 本文提出展望。

(1) 开发安全高效的雌激素降解资源

目前雌激素高效降解菌种资源较匮乏。由于环境中污染物成分复杂, 单菌降解过程易受外界环境干扰和胁迫, 难以工业化应用, 相较而言, 复合菌群更具环境抗逆性、底物广谱性和工业化应用前景。但值得注意的是, 这些菌株或菌群应安全无害, 防止其破坏生物群落结构。此外, 可开发协同代谢多种底物的高效降解微生物, 为工业上雌激素和其他污染物的共同处理提供可能。最后, 采用藻-菌联用体系可以减缓代谢压力, 提高雌激素降解效率。

(2) 探索雌激素微生物降解机制

E1、E2 广泛分布于亚洲、欧洲、美洲及大洋洲等地, 在环境中被频繁检测到, 对当地生态及人体健康都产生了极大的危害。E1 作为多种雌激素生物降解的中间代谢物, 其生物降解方面的深入研究有益于促进雌激素的环境污染生物修复。E2 是生理效应最强的天然雌激素, 是环境雌激素中最主要的污染来源, E2 的有效去除可最大限度地缓解其带来的生态环境污染与破坏。另外, 环境中合成雌激素的流入一定程度地破坏了生态平衡, 导致野生动物生育力下降。作为合成雌激素中的一员, DES 因其结构特异性, 在相关降解菌及其生物降解方面研究甚少。因此, 环境雌激素 E1、E2 和 DES 应作为微生物降解的优先研究对象。目前对雌激素微生物降解机制的研究仍在起步阶段, 需要进一步探索。通过 HPLC 等技术手段分析其中间代谢物并推测其代谢途径; 联合基因组学、转录组学、蛋白组学和代谢组学等进行多组学分析, 可揭示微生物在响应雌激素胁迫下的分子表达模式的变化过程, 构建多层级的互作网络, 阐释不同层面分子作用网络; 确定并验证关键功能基因及其蛋白, 探究关键功能基因/蛋白间的互作关系, 结合雌

激素代谢物毒性分析及表型变化可全面精准解析微生物高效降解雌激素的作用机制; 通过基因工程等技术构建工程菌, 从而促进雌激素的降解。

(3) 开发新型处理技术

开发高效、廉价、耐用的固定化载体及微生物反应器工艺, 有利于提高微生物的抗逆性, 促进对污染物的降解。单一方法的处理往往能耗过高, 多技术联用更适用于工业化, 如物理-化学-生物方法协同处理、酶-微生物联合处理等技术更具前景。

(4) 多角度处理雌激素

严格使用激素类药物, 并集中处理含雌激素的动物粪便等, 实现从源头上进行控制。同时对含有雌激素的土壤、水流及时进行生物修复。

REFERENCES

- [1] CASEY FXM, SELBIE D, HAKK H, RICHARDS KG. Leaching of free and conjugate natural estrogens in soil monoliths[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2019, 230(2): 49.
- [2] YEHIA AM, ARAFA RM, ABBAS SS, AMER SM. Chromatographic separation of synthetic estrogen and progesterone in presence of natural congeners: application to saliva and pharmaceutical samples[J]. *Chromatographia*, 2021, 84(1): 1-11.
- [3] 彭万里, 梁如冰. 环境雌激素的微生物代谢[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(9): 2223-2230.
PENG WL, LIANG RB. The microbial degradation of environmental estrogens[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(9): 2223-2230 (in Chinese).
- [4] 田克俭, 孟繁星, 霍洪亮. 环境雌激素的微生物降解[J]. *微生物学报*, 2019, 59(3): 442-453.
TIAN K, MENG FX, HUO HL. Microbial degradation of environmental estrogens[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(3): 442-453 (in Chinese).
- [5] SIMON E, SCHIFFERLI A, BUCHER TB, OLBRICH D, WERNER I, VERMEIRSEN ELM. Solid-phase extraction of estrogens and herbicides from environmental waters for bioassay analysis—effects of

- sample volume on recoveries[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411(10): 2057-2069.
- [6] WANG L, CHEN Y. High-performance, synergistically catalytic luminescent nanozyme for the degradation and detection of endocrine-disrupting chemical diethylstilbestrol[J]. Materials Today Chemistry, 2022, 24: 100784.
- [7] ADEEL M. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review[J]. Environment International, 2017, 99: 107-119.
- [8] RATNASARI A, SYAFI UDDIN A, KUEH ABH, SUHARTONO S, HADIBARATA T. Opportunities and challenges for sustainable bioremediation of natural and synthetic estrogens as emerging water contaminants using bacteria, fungi, and algae[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2021, 232(6): 1-23.
- [9] SOUZA MB, SANTOS JS, PONTES MS, NUNES LR, OLIVEIRA IP, LOPEZ AYME AJ, SANTIAGO EF, GRILLO R, FIORUCCI AR, ARRUDA GJ. CeO₂ nanostructured electrochemical sensor for the simultaneous recognition of diethylstilbestrol and 17 β -estradiol hormones[J]. The Science of the Total Environment, 2022, 805: 150348.
- [10] PRATUSH A, YE XY, YANG Q, KAN J, PENG T, WANG H, HUANG TW, XIONG GM, HU Z. Biotransformation strategies for steroid estrogen and androgen pollution[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(6): 2385-2409.
- [11] PRATUSH A, YANG Q, PENG T, HUANG TW, HU Z. Identification of non-accumulating intermediate compounds during estrone (E1) metabolism by a newly isolated microbial strain BH2-1 from mangrove sediments of the South China Sea[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(5): 5097-5107.
- [12] ZHAO XY, WANG YJ, XU X, TIAN KJ, ZHOU DW, MENG FX, ZHANG HY, HUO HL. Genomics analysis of the steroid estrogen-degrading bacterium *Serratia nematodiphila* DH-S01[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2020, 34(1): 430-440.
- [13] SAMI N, FATMA T. Studies on estrone biodegradation potential of cyanobacterial species[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 17: 576-582.
- [14] LIU J, LI SY, LI X, GAO YZ, LING WT. Removal of estrone, 17 β -estradiol, and estriol from sewage and cow dung by immobilized *Novosphingobium* sp. ARI-1[J]. Environmental Technology, 2018, 39(19): 2423-2433.
- [15] BAI XL, ACHARYA K. Removal of seven endocrine disrupting chemicals (EDCs) from municipal wastewater effluents by a freshwater green alga[J]. Environmental Pollution, 2019, 247: 534-540.
- [16] 吴蔓莉, 祝长成, 祁燕云, 时艺馨, 徐会宁, 杨瑾如. 1 株镰刀菌属 KY123915 的分离及其对 17 β -雌二醇的降解特性[J]. 环境科学, 2018, 39(10): 4802-4808.
- [16] WU ML, ZHU CC, QI YY, SHI YX, XU HN, YANG JR. Isolation, identification and degradation characteristics of a 17 β -estradiol degrading strain *Fusarium* sp. KY123915[J]. Journal of Environmental Sciences, 2018, 39(10): 4802-4808 (in Chinese).
- [17] LIU N, SHI YE, LI JL, ZHU ML, ZHANG TD. Isolation and characterization of a new highly effective 17 β -estradiol-degrading *Gordonia* sp. strain R9[J]. 3 Biotech, 2020, 10(4): 174.
- [18] XIONG WL, PENG WL, LIANG RB. Identification and genome analysis of *Deinococcus actinoscleris* SJTR1, a novel 17 β -estradiol degradation bacterium[J]. 3 Biotech, 2018, 8(10): 433.
- [19] WANG PP, ZHENG DN, LIANG RB. Isolation and characterization of an estrogen-degrading *Pseudomonas putida* strain SJTE-1[J]. 3 Biotech, 2019, 9(2): 61.
- [20] WANG YJ, ZHAO XY, TIAN KJ, MENG FX, ZHOU DW, XU X, ZHANG HY, HUO HL. Identification and genome analysis of a novel 17 β -estradiol degradation bacterium, *Lysinibacillus sphaericus* DH-B01[J]. 3 Biotech, 2020, 10(4): 166.
- [21] LI ZT, NANDAKUMAR R, MADAYIPUTHIYA N, LI X. Proteomic analysis of 17 β -estradiol degradation by *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(11): 5947-5955.
- [22] SKOTNICKA-PITAK J, KHUNJAR WO, LOVE NG, AGA DS. Characterization of metabolites formed during the biotransformation of 17 α -ethinylestradiol by *Nitrosomonas europaea* in batch and continuous flow bioreactors[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(10): 3549-3555.
- [23] 徐冉芳. 己烯雌酚降解菌株 S 的分离筛选及其固定化[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2014.
- [23] XU RF. Isolation and immobilization of diethylstilbestrol-degrading bacteria strain S[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2014 (in Chinese).

- [24] 安卫娟, 钟敏, 张庆华, 邹金琦, 柯淑芬, 罗咏琪, 钟春燕, 安雪姣. 响应面分析法优化沙雷氏菌(*Serratia* sp.) AXJ-M 对己烯雌酚的降解[J]. 微生物学通报, 2021, 48(11): 4006-4018.
- AN WJ, ZHONG M, ZHANG QH, ZOU JQ, KE SF, LUO YQ, ZHONG CY, AN XJ. Degradation of diethylstilbestrol by *Serratia* sp. AXJ-M was optimized by response surface methodology[J]. Microbiology China, 2021, 48(11): 4006-4018 (in Chinese).
- [25] 凌婉婷, 徐冉芳, 刘娟, 孙敏霞, 李舜尧, 朱雪竹, 高彦征. 己烯雌酚降解菌固定化条件优化及其降解性能[J]. 中国环境科学, 2016, 36(5): 1514-1519.
- LING WT, XU RF, LIU J, SUN MX, LI SY, ZHU XZ, GAO YZ. Immobilization and degradation performance of diethylstilbestrol-degrading bacteria *S. (Serratia* sp.)[J]. China Environmental Science, 2016, 36(5): 1514-1519 (in Chinese).
- [26] ZHANG WW, NIU ZL, LIAO CY, CHEN LX. Isolation and characterization of *Pseudomonas* sp. strain capable of degrading diethylstilbestrol[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(9): 4095-4104.
- [27] DENG WQ, ZHAO Y, HU KD, CHEN SJ, HE L, AO XL, ZOU LK, HU XJ, YANG Y, LIU SL. Isolation and characterization of a novel diethylstilbestrol-degrading *Bacillus subtilis* JF and biochemical degradation metabolite analysis[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2538.
- [28] LIU J, LUO Q, HUANG Q. Removal of 17 β -estradiol from poultry litter via solid-state cultivation of ligninolytic fungi[J]. Journal of Cleaner Production, 2016, 139(15): 1400-1407.
- [29] GOLVEIA JCS, SANTIAGO MF, SALES PTF, SARTORATTO A, PONEZI AN, THOMAZ DV, de SOUZA GIL E, BARA MTF. Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) residue and its potential application in the bioremediation of 17-A-ethinylestradiol as a *Pycnoporus sanguineus* laccase inducer[J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2018, 48(6): 541-548.
- [30] LLORET L. Degradation of estrogens by laccase from *Myceliophthora thermophila* in fed-batch and enzymatic membrane reactors[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 213/214: 175-183.
- [31] 胡凯弟, 邓维琴, 陈树平, 柴先杜, 刘爱平, 卓文杰, 刘书亮. 米曲霉 *Aspergillus oryzae* M-4 降解己烯雌酚的特性研究[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 169-172.
- HU KD, DENG WQ, CHEN SP, CHAI XD, LIU AP, ZHUO WJ, LIU SL. Degradation characteristics of diethylstilbestrol by *Aspergillus oryzae* M-4[J]. Food Science, 2016, 37(17): 169-172 (in Chinese).
- [32] 刘书亮, 邓维琴, 文涛, 何利, 韩新锋, 周康, 刘韞滔. 一株有效降解己烯雌酚的枯草芽孢杆菌: CN104774798A[P]. 2015-07-15.
- LIU SL, DENG WQ, WEN T, HAN XF, HE L, ZHOU K, LIU YT. *Bacillus subtilis* capable of effectively degrading diethylstilbestrol: CN104774798A[P]. 2015-07-15 (in Chinese).
- [33] de JESUS MENK J, DO NASCIMENTO AIS, LEITE FG, de OLIVEIRA RA, JOZALA AF, de OLIVEIRA JM Jr, CHAUD MV, GROTTO D. Biosorption of pharmaceutical products by mushroom stem waste[J]. Chemosphere, 2019, 237: 124515.
- [34] KŘESINOVÁ Z, LINHARTOVÁ L, FILIPOVÁ A, EZECHIÁŠ M, MAŠÍN P, CAJTHAML T. Biodegradation of endocrine disruptors in urban wastewater using *Pleurotus ostreatus* bioreactor[J]. New Biotechnology, 2018, 43: 53-61.
- [35] HOFMANN U, SCHLOSSER D. Biochemical and physicochemical processes contributing to the removal of endocrine-disrupting chemicals and pharmaceuticals by the aquatic ascomycete *Phoma* sp. UHH 5-1-03[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(5): 2381-2399.
- [36] LIU WJ, CHEN Q, HE N, SUN KF, SUN D, WU XQ, DUAN SS. Removal and biodegradation of 17 β -estradiol and diethylstilbestrol by the freshwater microalgae *Raphidocelis subcapitata*[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(3): 452.
- [37] ZHANG YL, HABTESELASSIE MY, RESURRECCION EP, MANTRIPRAGADA V, PENG SS, BAUER S, COLOSI LM. Evaluating removal of steroid estrogens by a model *Alga* as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2014, 2(11): 2544-2553.
- [38] RUKSRITHONG C, PHATTARAPATTAMAWONG S. Removals of estrone and 17 β -estradiol by microalgae cultivation: kinetics and removal mechanisms[J]. Environmental Technology, 2019, 40(2): 163-170.

- [39] FIORAVANTE IA, ALBERGARIA B, TEODORO TS, STARLING MAGALHÃES SM, BARBOSA F, AUGUSTI R. Removal of 17 α -ethinylestradiol from a sterile WC medium by the cyanobacteria *Microcystis novacekii*[J]. Journal of Environmental Monitoring: JEM, 2012, 14(9): 2362-2366.
- [40] WANG R, LI F, RUAN WF, TAI YP, CAI HB, YANG Y. Removal and degradation pathway analysis of 17 β -estradiol from raw domestic wastewater using immobilised functional microalgae under repeated loading[J]. Biochemical Engineering Journal, 2020, 161: 107700.
- [41] WANG YW, SUN Q, LI Y, WANG H, WU K, YU CP. Biotransformation of estrone, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol by four species of microalgae[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 180: 723-732.
- [42] PAUWELS B, WILLE K, NOPPE H, BRABANDER H, de WIELE TV, VERSTRAETE W, BOON N. 17 α -ethinylestradiol cometabolism by bacteria degrading estrone, 17 β -estradiol and estriol[J]. Biodegradation, 2008, 19(5): 683-693.
- [43] KOZLOVA TA, HARDY BP, LEVIN DB. Effect of fish steroids 17 β -estradiol and 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one on growth, accumulation of pigments, and fatty acid profiles in the microalgae *Scenedesmus quadricauda* (CPCC-158)[J]. Renewable Energy, 2020, 148: 798-806.
- [44] 孙婷婷. 类固醇激素降解菌筛选及其相关基因的研究[D]. 长春: 长春理工大学硕士学位论文, 2019.
- SUN TT. Screening of steroid-degrading bacteria and study of related genes[D]. Changchun: Master's Thesis of Changchun University of Science and Technology, 2019 (in Chinese).
- [45] LIU N, SHI YE, LI JL, ZHU ML, ZHANG TD. Identification and genome analysis of *Comamonas testosteroni* strain JLU460ET, a novel steroid-degrading bacterium[J]. 3 Biotech, 2021, 11(9): 404.
- [46] 赵雪莹. 沙雷氏菌(DH-S01)类固醇雌激素降解基因组初步研究[D]. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 2020.
- ZHAO XY. Preliminary study on the genome of steroid estrogen degradation in *Serratia* (DH-S01)[D]. Changchun: Master's Thesis of Northeast Normal University, 2020 (in Chinese).
- [47] 赵洪岩. 雌二醇高效降解菌 *Rhodococcus*.DSSKP-R-001 基因组初步研究[D]. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 2018.
- ZHAO HY. Preliminary study on the genome of *Rhodococcus*. DSSKP-R-001-a highly efficient strain of estradiol[D]. Changchun: Master's Thesis of Northeast Normal University, 2018 (in Chinese).
- [48] 邱晴. 不动杆菌(A.D-01)降解相关基因及转录组研究[D]. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 2019.
- QIU Q. *Acinetobacter* (A.D-01) degradation related genes transcriptome study[D]. Changchun: Master's Thesis of Northeast Normal University, 2019 (in Chinese).
- [49] 斯丹. 高效降解地塞米松的伯克霍尔德菌 CQ001 的功能基因组学分析[D]. 重庆: 重庆医科大学硕士学位论文, 2017.
- SI D. Functional genomics analysis of dexamethasone-degrading bacterium *Burkholderia* sp. CQ001[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing Medical University, 2017 (in Chinese).
- [50] HU AY, HE JB, CHU KH, YU CP. Genome sequence of the 17 β -estradiol-utilizing bacterium *Sphingomonas* strain KC8[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(16): 4266-4267.
- [51] YÜCEL O, WIBBERG D, PHILIPP B, KALINOWSKI J. Genome sequence of the bile salt-degrading bacterium *Novosphingobium* sp. strain Chol11, a model organism for bacterial steroid catabolism[J]. Genome Announcements, 2018, 6(1): e01372-e01317.
- [52] LEE YC, WANG LM, XUE YH, GE NC, YANG XM, CHEN GH. Natural estrogens in the surface water of Shenzhen and the sewage discharge of Hong Kong[J]. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 2006, 12(2): 301-312.
- [53] CHEN YL, YU CP, LEE TH, GOH KS, CHU KH, WANG PH, ISMAIL W, SHIH CJ, CHIANG YR. Biochemical mechanisms and catabolic enzymes involved in bacterial estrogen degradation pathways[J]. Cell Chemical Biology, 2017, 24(6): 712-724.e7.
- [54] YONEDA A, HENSON WR, GOLDNER NK, PARK KJ, FORSBERG KJ, KIM SJ, PESESKY MW, FOSTON M, DANTAS G, MOON TS. Comparative transcriptomics elucidates adaptive phenol tolerance and utilization in lipid-accumulating *Rhodococcus opacus* PD630[J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(5): 2240-2254.
- [55] YE XY, WANG H, KAN J, LI J, HUANG TW, XIONG

- GM, Hu Z. A novel 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in *Rhodococcus* sp. P14 for transforming 17 β -estradiol to estrone[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2017, 276: 105-112.
- [56] YE XY, PENG T, FENG JR, YANG Q, PRATUSH A, XIONG GM, HUANG TW, HU Z. A novel dehydrogenase 17 β -HSDx from *Rhodococcus* sp. P14 with potential application in bioremediation of steroids contaminated environment[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 362: 170-177.
- [57] YAO K, XU LQ, WANG FQ, WEI DZ. Characterization and engineering of 3-ketosteroid- Δ 1-dehydrogenase and 3-ketosteroid-9 α -hydroxylase in *Mycobacterium neoaurum* ATCC 25795 to produce 9 α -hydroxy-4-androstene-3,17-dione through the catabolism of sterols[J]. *Metabolic Engineering*, 2014, 24: 181-191.
- [58] MAKINO T, KATSUYAMA Y, OTOMATSU T, MISAWA N, OHNISHI Y. Regio- and stereospecific hydroxylation of various steroids at the 16 α position of the D ring by the *Streptomyces griseus* cytochrome P450 CYP154C3[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(4): 1371-1379.
- [59] DU Z, CHEN YG, LI X. Quantitative proteomic analyses of the microbial degradation of estrone under various background nitrogen and carbon conditions[J]. *Water Research*, 2017, 123: 361-368.
- [60] WANG P, WONG YS, TAM NFY. Green microalgae in removal and biotransformation of estradiol and ethinylestradiol[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2017, 29(1): 263-273.
- [61] HOM-DIAZ A, LLORCA M, RODRÍGUEZ-MOZAZ S, VICENT T, BARCELÓ D, BLÁNQUEZ P. Microalgae cultivation on wastewater digestate: β -estradiol and 17 α -ethynylestradiol degradation and transformation products identification[J]. *Journal of Environmental Management*, 2015, 155: 106-113.
- [62] MA WF, SUN JJ, LI YY, LUN XX, SHAN D, NIE C, LIU MM. 17 α -Ethinylestradiol biodegradation in different river-based groundwater recharge modes with reclaimed water and degradation-associated community structure of bacteria and archaea[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 64: 51-61.
- [63] 刘红艳, 谢世伟, 唐琳, 张文强, 张国琴, 朱义年, 单杨. 基于计算模拟与响应面分析漆酶对己烯雌酚的降解作用[J]. *环境科学学报*, 2020, 40(4): 1174-1184.
- LIU HY, XIE SW, TANG L, ZHANG WQ, ZHANG GQ, ZHU YN, SHAN Y. Degradation of diethylstilbestrol by laccase based on computational simulation and response surface analysis[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(4): 1174-1184 (in Chinese).