

食用菌麦角硫因的研究进展

杨林雷^{1,2,3,4}, 沈真辉^{1,2,3,4}, 罗祥英^{1,2,3,4}, 李荣平¹, 李荣春^{1,2,3,4*}

- 1 云南菌视界生物科技有限公司 云南省级(珍稀食用菌)企业工程技术中心 昆明市级(食用菌)企业工程技术中心, 云南 昆明 650200
- 2 云南省张劲松专家工作站, 云南 昆明 650200
- 3 云南(昆明)张劲松药用真菌专家工作站, 云南 昆明 650200
- 4 云南农业大学食用菌研究所, 云南 昆明 650201

杨林雷, 沈真辉, 罗祥英, 李荣平, 李荣春. 食用菌麦角硫因的研究进展[J]. 生物工程学报, 2025, 41(2): 574-587.
YANG Linlei, SHEN Zhenhui, LUO Xiangying, LI Rongping, LI Rongchun. Recent progress in ergothioneine of edible fungi[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(2): 574-587.

摘要: 麦角硫因是具有较强抗氧化和抗炎作用的天然抗氧化剂, 已在食品、化妆品、药品等领域广泛应用, 食用菌(含野生和栽培)是最大宗的能够天然合成麦角硫因的生物。本文综述了近年来食用菌中麦角硫因的含量、生理功能、提取检测、合成基因及途径、通过菌丝体发酵和工程菌构建生产麦角硫因等方面的研究进展, 为食用菌麦角硫因的研究和开发提供了参考。

关键词: 食用菌; 麦角硫因; 提取检测; 合成基因; 工程菌株

Recent progress in ergothioneine of edible fungi

YANG Linlei^{1,2,3,4}, SHEN Zhenhui^{1,2,3,4}, LUO Xiangying^{1,2,3,4}, LI Rongping¹, LI Rongchun^{1,2,3,4*}

- 1 Kunming (Edible Fungi) Enterprise Technology Center, Yunnan (Rare Edible Fungi) Enterprise Technology Center, Yunnan Junshijie Biotechnology Co. Ltd., Kunming 650200, Yunnan, China
- 2 Zhang Jinsong Expert Workstation of Yunnan Province, Kunming 650200, Yunnan, China
- 3 Zhang Jinsong Medicinal Fungi Expert Workstation of Yunnan (Kunming), Kunming 650200, Yunnan, China
- 4 Institute of Edible Fungi, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China

Abstract: Ergothioneine is a natural antioxidant known for its potent anti-inflammatory and antioxidative properties. It has been applied in various sectors such as food, cosmetics, and pharmaceuticals. Edible fungi, both wild and cultivated, stand as the primary natural sources capable of synthesizing ergothioneine. This paper reviews the research progress in the content,

资助项目: 云南省张劲松专家工作站(202305AF150084); 云南(昆明)张劲松药用真菌专家工作站(YSZJGZZ-2022043)
This work was supported by the Zhang Jinsong Expert Workstation of Yunnan Province (202305AF150084) and the Zhang Jinsong Medicinal Fungi Expert Workstation of Yunnan (Kunming)(YSZJGZZ-2022043).

*Corresponding author. E-mail: rongchunli@126.com

Received: 2024-06-17; Accepted: 2024-08-27; Published online: 2024-08-27

physiological functions, extraction and detection methods, synthetic genes and pathways, mycelium fermentation, and engineering strain construction for ergothioneine production. The aim is to provide a comprehensive reference for advancing the research and industrial development related to ergothioneine in edible fungi.

Keywords: edible fungi; ergothioneine; extraction and detection; synthetic genes; engineering strains

麦角硫因(ergothioneine, EGT), 学名为 2-巯基-组氨酸-三甲基内盐($C_9H_{16}N_3O_2S$), 是一种由组氨酸衍生的稀有化合物, 其性质稳定, 不易发生自身氧化。结构式如图 1 所示, 一般以同分异构体硫酮(左, thione)和硫醇(右, thiol)的形式存在。麦角硫因纯品为无色无味的白色结晶, 极易溶于水, 摩尔质量为 229.3。自 1909 年 Tanret^[1]从麦角菌的菌核中分离并解析出麦角硫因的分子结构至今仅 100 多年, 研究人员对这一独特化合物的认知便已十分深入, 麦角硫因的理化性质、生物学功能、天然合成的生物类群以及麦角硫因在食品、化妆品、医疗、保健品等领域的应用都有较多研究^[2-8], 麦角硫因已充分展现出其巨大的应用价值。

近年来, 欧盟、美国、加拿大、日本相继发布了麦角硫因在食品、药品、化妆品等领域的使用许可和标准, 中国同样将其列入了化妆品的原料清单。2024 年 5 月 17 日, 国家卫生健康委受理了麦角硫因的新食品原料申请, 目前正在审批之中^[9]。雅诗兰黛、倩碧和伊丽莎白雅顿等国际大品牌先后推出的含麦角硫因的化妆品, 以及 Super Smart 和 Real Mushrooms

的“麦角硫因膳食补充剂”系列产品, 让麦角硫因成为“网红化合物”, 受到投资者的重视。据 QYResearch 的分析报告显示^[10], 北美和欧洲是全球最大的麦角硫因的消费市场和生产地区, 消费量占全球 80%以上; 2022 年核心厂商 Barnet Products 和 Tetrahedreon 的产品占市场份额的 82%以上。近期, 我国生物化工企业例如川宁生物、华茂药业、仅三生物、华睿生物等纷纷开始进行麦角硫因的研发和生产。随着研究人员对麦角硫因的不断探索, 麦角硫抗氧化、保护神经细胞、抗衰老、美容养颜等生理功能被不断解析, 麦角硫因的需求量也随之快速增长。

已有研究表明^[2], 人体自身不能合成麦角硫因, 只能从食物中摄取。已知能够天然合成麦角硫因的生物仅有放线菌、蓝藻、甲基菌和一些非酵母真菌^[11], 而在这些生物类群中, 只有大型食用真菌(食用菌)能形成大宗食材供人类食用, 食用菌是能天然合成麦角硫因且麦角硫因含量较高的生物类群, 因此食用菌(含野生和人工栽培)是获取麦角硫因的重要食材^[2,7,12], 同时麦角硫因还被称作是食用菌中的“长寿维生素”^[13]。

为了更好地开发和利用食用菌中的麦角硫因, 本文对食用菌麦角硫因多方面的研究进展进行了综述, 以为食用菌麦角硫因的研究提供参考。

1 食用菌中麦角硫因的含量

全球已知的食用菌种类约有 2 000 多种,

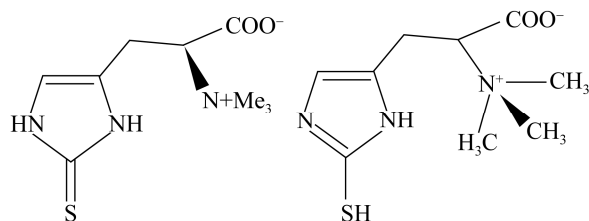


图 1 麦角硫因结构式

Figure 1 Chemical structure of ergothioneine.

但是关于检测子实体中麦角硫因含量的研究还较少,图2为对已有报道进行的汇总分析^[11,14-26]。在18种人工栽培食用菌和8种野生食用菌中,研究发现不同的食用菌子实体中均能检测到麦角硫因,但是含量差别较大,并且针对同一物种的不同研究得出的含量也存在较大差异;报道的几种食用菌中,麦角硫因含量最高的是美味牛肝菌(*Boletus edulis*)^[11,15,18,21,24];而人工栽培菌则以榆黄蘑(*Pleurotus citrinopileatus*)^[19]的含量较高。

食用菌的菌丝体也含有丰富的麦角硫因,约有20种食用菌的菌丝体麦角硫因的含量已被测定^[14,22,27-29]。栽培食用菌后的废菌包中的基质是麦角硫因的优质原料,而我国拥有庞大的食用菌栽培产业,如果有相关的转化工艺,那么废菌包无疑是巨大的麦角硫因原料库。

总之,目前对不同种类食用菌中的麦角硫因的研究较为不足,许多常见食用菌中麦角硫因含量仍是未知的,与之相关的很多科学问题也需要进一步研究。针对同一种食用菌中麦角

硫因含量的研究,不同文献报道有所差异。如研究较多的香菇(*Lentinula edodes*),麦角硫因含量在0.35–1.32 mg/g (dry weight, DW)之间^[17-18,24-26];关于平菇(*Pleurotus ostreatus*)中麦角硫因含量的论文也报道了不同的数据^[11,16-17,22,25]。这可能是不同研究的取材方式、提取方法、纯化手段、检测技术等方面差异所导致的,因此亟需一个统一的测试标准来获取更加真实可靠的数据,以便更科学地认识和使用麦角硫因。2021年我国农业农村部针对食用菌中麦角硫因的检测方法,专门发布了行业标准NY/T 3872-2021《食用菌中L-麦角硫因的测定:超高效液相色谱法》,为相关研究提供了统一规范。

此外,我国拥有庞大的食用菌栽培产业,所产生的废菌包数量巨大,其中所蕴含的麦角硫因总量不容忽视,因此如何低成本提取尤为关键,这也是目前相关产业发展的技术瓶颈之一,而现有的研究中相关报道还较少^[30]。

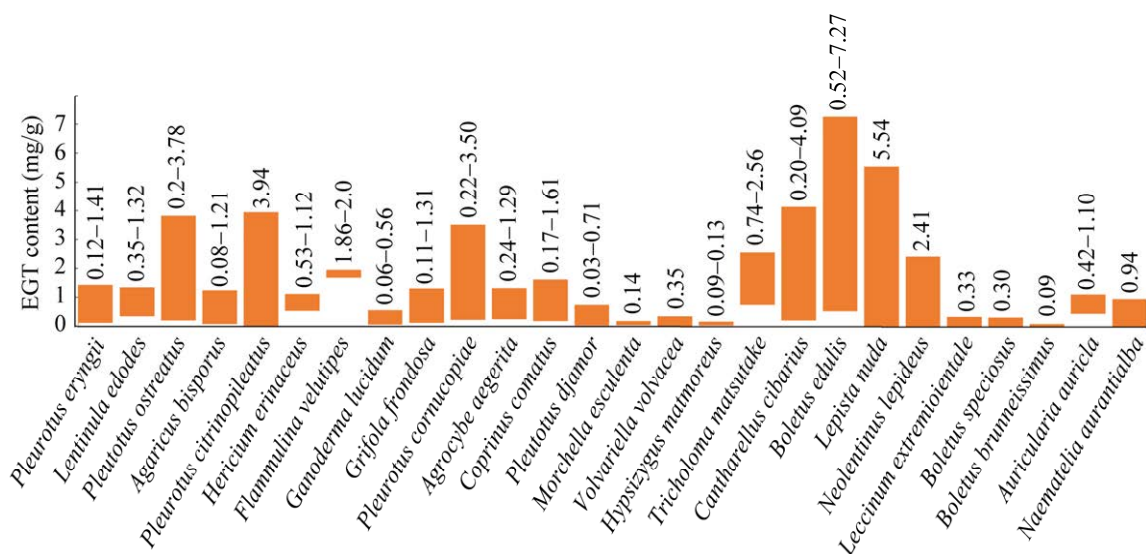


图2 不同食用菌子实体中麦角硫因的含量^[11,14-26]

Figure 2 Contents of EGT in the fruiting-bodies of different edible fungi^[11,14-26].

2 食用菌麦角硫因生理功能的研究

大量关于麦角硫因的研究已经证实其具有抗氧化、抗炎、提高免疫以及抑制UVB (ultraviolet radiation b)损伤角质形成细胞从而保护皮肤等多种生理活性^[31-35]。但专门针对食用菌麦角硫因生理功能的研究仍局限于金针菇(*Flammulina velutipes*)和双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)等少数几种食用菌。

2.1 金针菇

金针菇麦角硫因提取液无论在体内或体外均有清除自由基和抗氧化的功能^[36-39]。Bao等^[40]的研究表明富含麦角硫因的金针菇提取液可以抑制金枪鱼(*Thunnini*)脂质和肌红蛋白的自氧化反应,维持其色泽的新鲜程度。Encarnacion等^[41-42]将日本雪蟹(*Chionoecetes japonicus*)和日本对虾(*Marsupenaeus japonicus*)浸泡在富含麦角硫因的金针菇提取物中,发现其酚氧化酶活性和原酚氧化酶基因的表达水平均降低,从而有效控制了冷藏期间雪蟹和对虾的黑变现象。

同时,金针菇提取液在虾^[43]、猪肉糜^[44]、黄尾鲷(*Seriolalandi*)的抗氧化、保鲜以及延长货架期、提升感官品质等方面都有显著效果。Nguyen等^[45]发现喂食金针菇提取液后的牛肌肉中麦角硫因的含量显著提高,相应肉制品的货架期也明显延长。Bao等^[46]将金针菇培养基提取液添加到黄尾鲷的饲料中后,其肉制品的褐变现象得到抑制,表明提取液成分与脂肪酸的氧化作用相关。Misiti等^[47]研究表明麦角硫因能够保护生物体内的各种器官免受脂类氧化的不利影响。

2.2 双孢蘑菇

双孢蘑菇是世界上消费量最大的食用菌,对其麦角硫因的功能研究也相对较多。

Weigand-heller等^[48]研究发现,双孢蘑菇麦角硫因可以抑制餐后甘油三酯的反应,从而减少心血管疾病的发生。富含麦角硫因的蘑菇膳食可有效预防高脂膳食所致的小鼠动脉粥样硬化^[49]。进食富含麦角硫因的蘑菇2周后可显著改善小鼠的抑郁症状^[50]。Calvo等^[51]对37名每日定量摄入含麦角硫因的双孢蘑菇的志愿者进行统计研究,测量了血清中麦角硫因的含量和氧化应激标志物的水平,证明增加食物中富含麦角硫因的食用菌的摄入量有利于缓解2型糖尿病症状。D'Onofrio等^[52]首次发现,麦角硫因能够通过调控SIRT1和SIRT6信号通路延缓高血糖诱导的内皮细胞功能障碍,并证实麦角硫因可以通过降低人体可诱发糖尿病化合物及其前体的表达水平,以及减轻糖尿病并发症症状这2条不同路径,最终实现对糖尿病的有效干预。

双孢蘑菇麦角硫因在食品保鲜方面也表现出较高的潜力。Pahila等^[53]研究表明,富含麦角硫因的蘑菇提取物能够显著延缓虾青素的氧化降解,并抑制脂质过氧化氢的形成和多不饱和脂肪酸的降解,从而有效控制脂质体系统中脂质氧化的进程。此外,Qian等^[54]发现12 mmol/L的麦角硫因可以延缓双孢蘑菇的采后褐变,证明麦角硫因通过提高抗氧化成分、抑制酶促氧化和减轻膜脂过氧化作用来抑制双孢蘑菇的褐变和衰老,保持其色泽与品质。

2.3 糙皮侧耳(平菇)

Abidin等^[55]发现富含麦角硫因的灰平菇(*Pleurotus pulmonarius*)粗提取物可预防由过氧化氢诱发的人主动脉内皮细胞毒性损伤,有效降低共轭二烯和硫代巴比妥酸反应物质的形成,从而抑制人体内低密度脂蛋白的氧化反应。Pang等^[56]发现从平菇中提取的浓度为3.823 mg/mL的麦角硫因对自由基的清除能力和维生素C基本一致;随后研究麦角硫因对葡聚糖硫酸钠诱导

的大鼠溃疡性结肠炎的调控作用时发现,灌胃 40 mg/kg 的麦角硫因可增加大鼠的体重,同时下调促炎因子的表达,显著抑制结肠长度缩短并缓解结肠病理损伤。

2.4 猴头菇

Roda 等^[8]证明富含麦角硫因的猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 提取物可以增加小鼠体内谷氨酸受体的表达,防止小鼠衰老过程中的记忆衰退和认知能力的下降,减缓神经退行性疾病的进展。由于猴头菇的麦角硫因具有延缓衰老的潜力,饮食中增加麦角硫因的摄入对人体健康大有裨益,因此它也被称作是一种“长寿维生素”^[57]。

2.5 杏鲍菇

李亚欢^[58]发现杏鲍菇 (*Pleurotus eryngii*) 麦角硫因提取物在体外对羟基自由基的清除能力要显著高于谷胱甘肽,且效率极高,几乎可在瞬间与羟基自由基发生反应。王艳等^[59]证实杏鲍菇麦角硫因提取物对贮藏的鱼肉中蛋白质氧化及酸败腐变的减缓效果优于人工合成食品抗氧化剂特丁基对苯二酚。

2.6 榆黄蘑

榆黄蘑麦角硫因是抗抑郁作用的主要成分,连续 2 周分别给小鼠喂食化学合成的麦角硫因和从榆黄蘑中提取的麦角硫因,小鼠血浆和大脑中麦角硫因的浓度增加,两者均可显著减少强迫游泳实验(forced swimming test, FST)和悬尾实验(tail suspension test, TST)中小鼠的“不动状态”时间^[50]。

3 食用菌麦角硫因的提取、纯化和检测方法

3.1 食用菌麦角硫因的提取

麦角硫因的提取方法主要有回流提取^[30,60]、酶解提取^[61]、超声微波联合^[62]等,不同方法在制备成本、时间、能耗、纯度以及提取率等方

面各有优劣。

回流提取法有良好的制备效率,相关的制备工艺简便,该方法不仅能够有效降低提取液中毒性组分的扩散风险,同时还能阻止有效溶剂的流失,但实际应用时需要考虑耗时问题。薛天凯等^[30]以蒸馏水为溶剂,100 °C 回流提取出糙皮侧耳下脚料中的麦角硫因,并通过正交法优化后得到最佳提取条件,提取率可达 87.45%。张翠等^[16]用去离子水加热回流提取的方法获得滤液,并以此作为测试液分析了 10 种食用菌中麦角硫因的含量。

与之相比,超声提取法在制备效率、制备时间和条件以及适用范围等方面都有更明显的优势,不仅可用于大规模工业生产,也能防止对环境和产品的污染。殷朝敏等^[22]用乙醇溶解样品干粉,并结合超声处理的方法提取麦角硫因,成功获得 12 份侧耳属样品的测试液。鄂恒超等^[25]以 70% 甲醇水溶液和超声处理的方法获得了含麦角硫因的滤液。张怡馨^[63]用乙醇为溶剂,440 W 条件下超声 5 min,从金针菇粉中提取出 2.35 mg/g (DW) 的麦角硫因,同时比较了 4 种不同提取方法的得率,表明溶剂二次提取法最佳,溶剂提取法次之,最后的微波超声联合提取法略优于超声提取法。

微波提取法能使麦角硫因快速转化为溶剂状态,从而达到提升提取效率的效果,一般与超声提取法联用,其操作工艺简便、应用范围较广。莫宇丽等^[64]以乙醇为溶剂,并结合使用超声微波联合法,将微波和超声功率分别控制在 500 W、450 W,65 °C 处理 5 min 后,从杏鲍菇中提取出(3.79±0.02) mg/g (DW) 的麦角硫因。

酶解提取法是以酶辅助处理的方式,造成样品细胞壁的破裂,从而使胞内物质大量释放,最终达到提高提取物产率的目的。相较于其他制备方法,酶解法可以实现高效制备麦角硫因,

并且产量较高,但该方法存在实验要求苛刻和工艺成本较高的问题。Cremades 等^[62]用 2.0 g/L 的柠檬酸水溶液将葡聚糖酶、几丁质酶和纤维素酶混合处理样品,再用蛋白酶进行水解,离心后获得麦角硫因提取液,其提取率可以达到 85.31%。

3.2 食用菌麦角硫因的纯化方法

食用菌麦角硫因提取液的纯化方法有多种,如离子交换柱色谱法、大孔吸附树脂色谱法、葡聚糖凝胶层析法、膜分离法、分子印迹法和制备型高效液相色谱法等。不同方法在纯化原理、成本和纯化效果等方面存在差异,如膜分离法成本低且方便,但所纯化的提取物中麦角硫因含量仅有 10%–50%;而制备型高效液相色谱法的特点则是产物纯度高,纯化产物中麦角硫因含量可高达 96.6%–99.0%。

柱层析法作为最常规的纯化技术,原理是利用流动相与固定相发生相对运动时,混合物组分间的吸附力的强弱差异,从而实现分离化合物的目的。该方法具备纯化工艺简便、回收效果显著、分离纯度高等优势,但也存在耗时和成本高的问题。Tepwong 等^[28]利用 70%乙醇提取菌丝体中的麦角硫因,经 Amber-lite IR120B 离子交换柱(4.6 cm×30 cm)层析和二氧化硅柱(2.6 cm×33 cm)层析进行纯化并最终获得了所需的产物。

大孔吸附树脂法是以特定吸附剂有选择地吸附样品中的有效成分,再以洗脱剂除去无效成分的一种纯化方法。大孔吸附树脂的选择性高、生物相容性好,适用于天然产物活性成分的提取和分离。陆国胜等^[60]以水为溶剂提取麦角硫因,并用 HPD-100 大孔吸附树脂进行吸附纯化,喷雾干燥后获得麦角硫因含量为 59.1%的粉末。刘成航^[65]以水为溶剂回流提取蜜环菌(*Armillaria mellea*)下脚料中的麦角硫因,依次用大孔树脂 HP-20、聚酰胺树脂、ODS 中低压

柱、Sephadex LH-20 柱对提取物进行纯化,纯化效果较好。张怡馨^[63]用乙醇浸提金针菇子实体的麦角硫因,并分别用 5 种型号的大孔树脂对其进行吸附纯化,证实大孔树脂吸附法具有成本低、洗脱速度快以及对设备要求低等优点。

葡聚糖凝胶是利用不同网孔的凝胶颗粒分离出有分子量差异的物质。通过调节葡聚糖和交联剂的比例控制网孔的大小,从而实现分离麦角硫因与多糖、蛋白质等相对分子质量较大的物质的效果。该纯化方法具有较高的回收效率,可重复使用,可进行大规模制备,在生物分离和纯化领域应用广泛。张怡馨^[63]用乙醇提取金针菇子实体中的麦角硫因,并使用 Sephadex-10 凝胶柱进行纯化,获得的麦角硫因回收率高达 95.311%,且纯度达到 55.01%。

膜过滤也是一种常用的纯化方法。Cremades 等^[62]提取双孢蘑菇子实体的麦角硫因时,使用截留分子量为 5 kDa 的超滤膜进行分离纯化;姜文侠等^[66]以 70 °C 水搅拌浸提糙皮侧耳菌丝体中的麦角硫因,并用截留分子量为 4–6 kDa 的中空纤维超滤膜去除提取液中的杂质;李健等^[67]发明了一种适用于生物发酵合成过程中制备麦角硫因的陶瓷膜过滤系统;殷朝敏^[22]和张翠等^[16]都用 0.45 μm 孔径的微孔滤膜实现了麦角硫因提取液的过滤纯化;鄂恒超等^[25]用 0.22 μm 的微孔滤膜对食用菌样品进行过滤后获得纯化液,并将其用于测定麦角硫因的含量。

分子印迹技术是利用功能单体与模板分子之间能够产生特异性识别和结合的特点,并通过洗脱达到物质分离的效果。该方法具有良好的化学稳定性,且其特异性识别效率高,但实际应用中发现模板分子不易于洗脱,方法还需进一步优化。赵蕊丽^[68]用分子印迹固相萃取技术纯化刺芹侧耳子实体中的麦角硫因,结果表明,分子印迹固相萃取后浓缩液中麦角硫因的

含量是非印迹固相萃取粗品的 3.07 倍, 因此认为分子印迹法在麦角硫因的纯化中具有独特优势。

制备型高效液相色谱是将混合物样品分批通过包含固定相吸收层的制备柱管, 从而分离、纯化出一种或多种目标化合物, 是现代药物研发中主要的纯化方法。制备型高效液相色谱具备进样量大、流速高、纯化产物的纯度和回收率高的特点, 其分离效果显著优于其他传统分离方法, 但实验成本较高。姜文侠等^[66]利用高效液相色谱法(检测波长 254 nm)对使用平菇菌丝体制备的麦角硫因超滤液进行了色谱纯化。Dubost 等^[39]利用液相色谱质谱联用法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)对 4 种蘑菇子实体中的麦角硫因进行了定性和定量分析。Nguyen 等^[45]以 2,2'-二硫二吡啶(2,2'-dithiodipyridine)为衍生试剂, 结合色谱分析, 建立了一种适用于松口磨等 8 种蘑菇子实体中麦角硫因分析纯化的方法。

3.3 食用菌麦角硫因的检测方法

目前麦角硫因的检测方法有分光光度法^[69]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[50,70,71]、液相色谱质谱联用法(HPLC-MS)^[30]、高效毛细管电泳法^[72]和薄层色谱法^[73]等。其中, 分光光度法操作简便, 测量时波长的可调范围广, 选择性强, 但其测量效果一般, 结果容易受样品本身和杂质等干扰; 高效液相色谱法具备检测效率高、检测速度快、灵敏度高和适用性广泛, 以及操作简便和可自动化等优势, 在一定程度上缩短了分析的周期, 但高成本也是该方法的主要问题; 高效液相色谱-质谱联用法具有特异性好、灵敏度高的优势, 可实现高性能分析和信息获取, 但存在对实验条件要求较高, 技术复杂且价格高昂等问题; 高效毛细管电泳法的分离效率高、分析速度快、所需样品量少, 适用于复

杂样品或珍贵样品的分析, 但重复性较差, 对实验样品的纯度、实验的操作和条件要求较高; 薄层色谱法的操作简便、成本低廉、易于观察, 适用于初步检测和快速筛查, 但其分析范围小、效率低且灵敏度不足, 不适用于复杂样品的分析。

麦角硫因具有水溶性, 因此高效液相色谱法是目前最常见的检测手段。2021 年, 国家农业农村部发布的行业标准 NY/T3872—2021《食用菌中 L-麦角硫因的测定——超高效液相色谱法》, 将超高效液相色谱法作为测定食用菌麦角硫因含量的行业标准。目前, 大多数研究均是采用此种检测方法, 如张翠等^[16]对 10 种常见蘑菇麦角硫因含量的分析; 赵艳敏等^[71]对 9 种常见药用蘑菇麦角硫因含量的分析; Tepwong 等^[28]和 Kalaras 等^[18]也将该方法用于测定麦角硫因的含量。

4 食用菌麦角硫因的生物合成基因及途径

2010 年 Seebeck^[74]首次解析了原核生物耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*)编码合成麦角硫因的 5 个酶的基因簇, 并在体外重构了麦角硫因的合成途径。在 Melville 等^[75]和 Ishikawa 等^[76-77]工作的基础上, 2012 年 Bello 等^[78]首次鉴定了粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)中麦角硫因合成的关键基因 *NCU04343* (被命名为 *NcEgt-1*)。2014 年 Hu 等^[79]解析出粗糙脉孢菌中 *egtE* 的同源基因 *NCU11365* (被命名为 *egt2*), 它编码的蛋白是磷酸吡哆醛(pyridoxal phosphate, PLP) 结合型 C-S 裂解酶(PLP-mediated C-S lyase), 能够催化组氨酸三甲基内盐基半胱氨酸亚砷(Cys-HER)转化为麦角硫因。至此, 第一种真菌(粗糙脉孢菌)麦角硫因的生物合成途径得到解析(图 3A)。

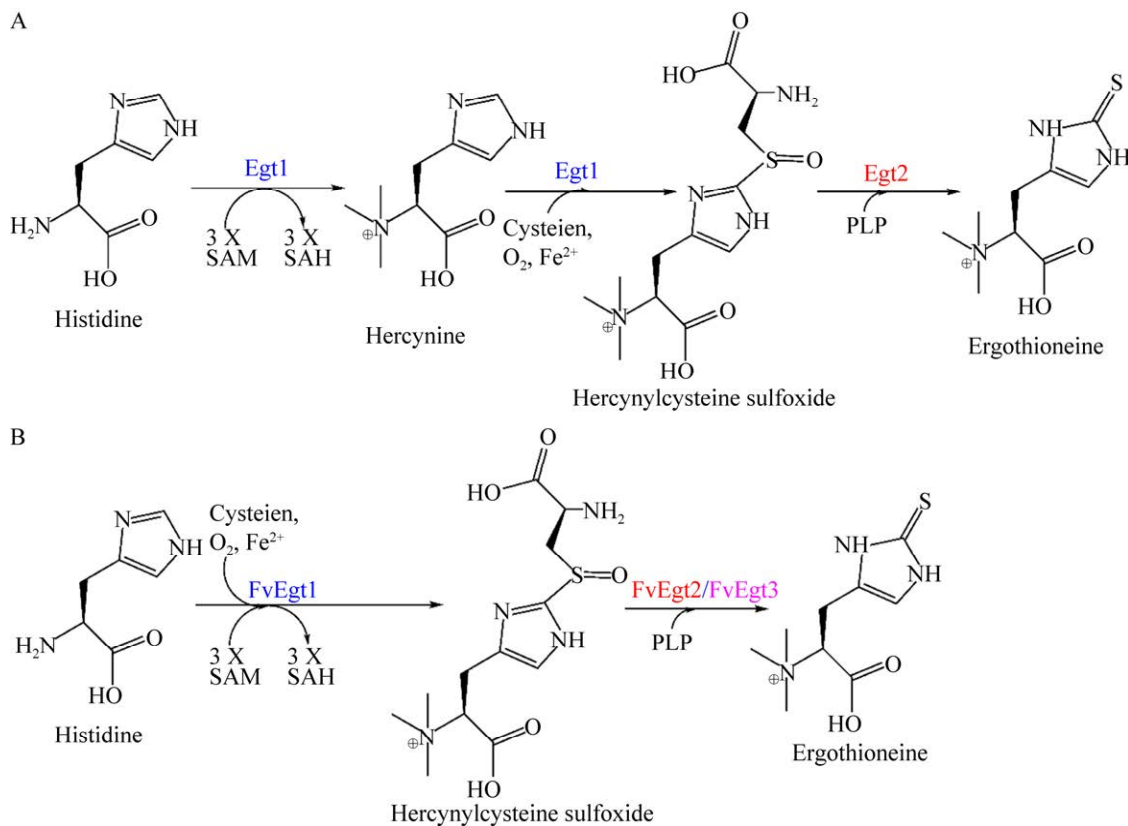


图3 大型真菌麦角硫因的生物合成途径 A: 粗糙脉孢菌、胶红酵母、裂殖酵母、灰霉菌、蛹虫草、侧耳、灰树花、金耳及毛韧革菌中麦角硫因的生物合成途径。B: 金针菇中麦角硫因的生物合成途径。SAM、SAH和PLP分别表示S-腺苷甲硫氨酸、S-腺苷同型半胱氨酸和磷酸吡哆醛。“X”指倍数。

Figure 3 Biosynthetic pathway of ergothioneine in macrofungi. A: Biosynthetic pathway of ergothioneine in *Neurospora crassa*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Botrytis cinerea*, *Cordyceps militaris*, *Pleurotus ostreatus*, *Grifflola frondosa*, *Naematelia aurantialba*, and *Stereum hirsutum*. B: The biosynthetic pathway of ergothioneine in *Flammulina velutipes*. SAM, SAH, and PLP refers to S-adenosylmethionine, S-adenosylhomocysteine, cysteine, and pyridoxal phosphate respectively. “X” refers to multiples.

食用菌是麦角硫因最主要的天然合成生物，已有很多关于食用菌麦角硫因的合成基因及其途径的研究报道。Yang等^[80]发现金针菇麦角硫因的生物合成需要3种酶FvEgt1、FvEgt2和FvEgt3的参与，并重构了金针菇麦角硫因的生物合成途径(图3B)。Yu等^[81]解析了灰树花(*Grifflola frondosa*)麦角硫因的合成相关酶基因，并在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中成功表达了*G. frondosa*的麦角硫因

合成酶GfEgt1和GfEgt2，通过发酵工艺优化培养168h后，麦角硫因的产量达到20.61mg/L。随后，该团队在*S. cerevisiae*中成功表达了侧耳属平菇、杏鲍菇和白灵菇(*Pleurotus nebrodensis*)的麦角硫因合成酶PoEgt1、PeEgt1和PtEgt1，产量在2.5mg/L左右^[82]。尽管天然生物体内的麦角硫因产量很低，但上述以酿酒酵母为工程菌株的研究证实，GfEgt1、PoEgt1、PeEgt1和PtEgt1等均具备合成麦角硫因的生物

活性,只需从大型真菌中克隆1个或2个关键合成酶基因便可在 *S. cerevisiae* 中成功合成麦角硫因,这为高效、经济地合成麦角硫因提供了新的研究思路。

研究人员解析了蛹虫草(*Cordyceps militaris*)中麦角硫因的关键合成酶,并对其相关基因进行修饰后构建出一条新的麦角硫因合成途径,成功将麦角硫因的产量提高到 2.5 g/kg (DW)^[83]。新代谢途径的开发提高了 *C. militaris* 中麦角硫因产量,表明可以考虑将食用菌作为麦角硫因合成的底盘生物,但要实现对食用菌体内麦角硫因合成酶基因的修饰和调控,并将其改造为麦角硫因的高产菌株仍需大量研究。

金耳子实体是由金耳菌(*Naematelia aurantialba*)和毛韧革菌(*Stereum hirsutum*)共生形成的大型食用真菌,本团队近期致力于解析金耳菌和毛韧革菌中麦角硫因的合成基因及其相关通路,发现两者的麦角硫因合成途径均由 *egt1* 和 *egt2* 所控制,且2个真菌共生的金耳子实体中麦角硫因的合成效率明显高于单个真菌^[14]。

相较于原核细菌,关于食用菌麦角硫因合成机制的研究起步较晚,但食用菌等大型真菌的物种优势在于其具有更简短的麦角硫因生物合成途径,更利于工程菌株的构建,特别是以酿酒酵母作为工程菌株时只需表达 *egt1* 基因便能直接合成麦角硫因,操作简便且省时省力。相关研究人员可聚焦于克隆鉴定出更多高效的 *egt1* 同源基因来构建酵母工程菌株,实现麦角硫因的高效生物合成^[84]。

5 利用食用菌基因创建工程菌株生产麦角硫因

麦角硫因工程菌株的构建常以大肠杆菌(*Escherichia coli*)和酵母为载体,在其中分别表达原核生物和真核生物对应的麦角硫因关键合

成酶基因。研究表明将食用菌的关键酶基因如 *egt1* 转入酿酒酵母表达就能够合成麦角硫因,同时通过对食用菌进行基因修饰也是获得麦角硫因高产菌株的可行策略之一。因此,构建麦角硫因生物合成的工程菌株时,可以通过将麦角硫因的关键合成酶基因及其合成途径相关基因导入工程菌株,以提高其产量。

2022年潘涛等^[82]分别以来自平菇、杏鲍菇和白灵菇的麦角硫因合成酶基因 *egt1* 构建出酵母表达载体,并以酿酒酵母 EC1118 作为受体菌株,证明了该基因具有单基因合成麦角硫因的活性。陈佳敏^[85]筛选出平菇麦角硫因的合成基因 *Poegt2*,构建了大肠杆菌工程菌株,并进行了发酵比较研究。Yu 等^[81]将灰树花的 *Gfegt1* 和 *Gfegt2* 基因在酿酒酵母中重组表达,将该菌株进行深层发酵成功合成了麦角硫因。杨雪琴^[86]首次鉴定出金针菇麦角硫因的合成酶基因,将 *Fvegt1* 在大肠杆菌 BL21(DE3)中表达后获得了重组酶 FvEGT1,将 *Fvegt2* 和 *Fvegt3* 在大肠杆菌 BL21(DE3)中异源表达,发现重组酶 FvEGT2 和 FvEGT3 能共同催化 Cys-HER 形成麦角硫因。此外,通过基因改良修饰也是获得高产菌株的有效路径。Chen 等^[83]在蛹虫草中的研究证实,对麦角硫因的关键合成酶基因进行修饰调控,可以构建出新的合成通路,并提高麦角硫因的产量。

6 食用菌液体发酵制备麦角硫因

多种食用菌菌丝能够通过发酵合成麦角硫因,包括金针菇^[40],香菇^[28]、平菇^[87-88]、双孢蘑菇^[89]、金顶侧耳^[90]、杏鲍菇^[91]、紫黑灵芝(*Ganoderma neo-japonicum*)^[92]、美味牛肝菌^[18]等。比较不同研究的结果发现,不同食用菌菌丝体发酵生产麦角硫因的能力存在差异,其中榆黄蘑的合成能力最强,这与其子实体中麦角

硫因含量较高是相匹配的。此外,报道称香菇菌丝体发酵 15 d 时菌丝体中麦角硫因的产量可达 3.45 mg/g (DW)^[28];金顶侧耳菌丝体发酵 16 d 时菌丝体中麦角硫因的含量达 12.99 mg/g (DW)^[90];紫黑灵芝菌丝体发酵 10 d 时菌丝体中麦角硫因的含量达到 1.86 mg/g (DW)^[92];杏鲍菇菌丝体发酵 20 d 后菌丝体中麦角硫因的含量达到 5.76–5.84 mg/g (DW)^[91];杏鲍菇深层发酵 7 d 麦角硫因的产量达到 20.5 g/L^[93];灵芝发酵 10 d 可获得 4.1 mg/L 的麦角硫因^[94]。由此可见,通过食用菌菌丝发酵的方式来制备一定量的麦角硫因是可行的,只需控制菌丝培养阶段培养基中的成分为可食性原料,即可保证用于制备麦角硫因的菌丝原材料的安全性,从而能够将其应用于食品开发。此外,在发酵物全组分利用方面麦角硫因同样具备优势,可以考虑将其与人造肉、调味品等配合使用,或将其浓缩后直接用于化妆品的开发等。

总之,食用菌类的大型真菌作为天然合成麦角硫因的主要生物类群,其简短的合成途径所具有的生物学意义及其产业开发价值不可估量,但其相关产业的发展状况均滞后于其他活性物质,因此亟需更多科研人员继续深入研究,同时也期待依托麦角硫因特有的生物学优势开发出更多相关产业,使食用菌中的特级抗氧化剂麦角硫因为人类的健康发挥更大的作用。

REFERENCES

- [1] TANRET C. Sur une base nouvelle retirée du seigle ergote, l'ergothioneine[J]. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 1909, 149: 222-224 (in French).
- [2] LAM-SIDUN D, PETERS KM, BORRADAILE NM. Mushroom-derived medicine? Preclinical studies suggest potential benefits of ergothioneine for cardiometabolic health[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(6): 3246.
- [3] SALAMA SA, ABD-ALLAH GM, MOHAMADIN AM, ELSHAFFEY MM, GAD HS. Ergothioneine mitigates cisplatin-evoked nephrotoxicity via targeting Nrf2, NF-κB, and apoptotic signaling and inhibiting γ-glutamyl transpeptidase[J]. Life Sciences, 2021, 278: 119572.
- [4] TSAY GJ, LIN SY, LI CY, MAU JL, TSAI SY. Comparison of single and combined use of ergothioneine, ferulic acid, and glutathione as antioxidants for the prevention of ultraviolet B radiation-induced photoaging damage in human skin fibroblasts[J]. Processes, 2021, 9(7): 1204.
- [5] SAMUEL P, TSAPEKOS M, de PEDRO N, LIU AG, CASEY LIPPMEIER J, CHEN S. Ergothioneine mitigates telomere shortening under oxidative stress conditions[J]. Journal of Dietary Supplements, 2022, 19(2): 212-225.
- [6] CHEAH IK, TANG RMY, WANG XY, SACHAPHIBULKIJ K, CHONG SY, LIM LHK, WANG JW, HALLIWELL B. Protection against doxorubicin-induced cardiotoxicity by ergothioneine[J]. Antioxidants, 2023, 12(2): 320.
- [7] RAUF A, JOSHI PB, AHMAD Z, HEMEG HA, OLATUNDE A, NAZ S, HAFEEZ N, SIMAL-GANDARA J. Edible mushrooms as potential functional foods in amelioration of hypertension[J]. Phytotherapy Research, 2023, 37(6): 2644-2660.
- [8] RODA E, de LUCA F, RATTO D, PRIORI EC, SAVINO E, BOTTONE MG, ROSSI P. Cognitive healthy aging in mice: boosting memory by an ergothioneine-rich *Hericium erinaceus* primordium extract[J]. Biology, 2023, 12(2): 196.
- [9] 2024年05月17日新食品原料受理情况公告[EB/OL]. [2024-06-17]. https://zwfw.nhc.gov.cn/kzx/slgs/xspylsp/202405/t20240518_2761.html.
- [10] 2023-2029 全球与中国麦角硫因市场现状及未来发展趋势[EB/OL]. [2024-06-17]. <https://www.qyresearch.com.cn/reports/2140036/ergothioneine>.
- [11] MARTINEZ-MEDINA GA, CHÁVEZ-GONZÁLEZ ML, VERMA DK, PRADO-BARRAGÁN LA, MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ JL, FLORES-GALLEGOS AC, THAKUR M, SRIVASTAV PP, AGUILAR CN. Bio-functional components in mushrooms, a health opportunity: Ergothioneine and huitlacoche as recent trends[J]. Journal of Functional Foods, 2021, 77: 104326.
- [12] 周波. 麦角硫因的营养学研究概述[J]. 沈阳医学院学报, 2021, 23(3): 193-197.
- [13] 荣爽. 麦角硫因, 食用菌类中的“长寿维生素”[J]. 中国食品, 2024(1): 132-133.
- [14] 沈真辉, 曹瑶, 杨林雷, 罗祥英, 子灵山, 陆青青, 李荣春. 金耳和毛韧革菌麦角硫因生物合成基因的克隆及生物信息学分析[J]. 生物技术通报, 2024(7): 259-272.
- [15] SHEN ZH, CAO Y, YANG LL, LUO XY, ZI LS, LU QQ, LI RC. Cloning and bioinformatics analysis of the ergothioneine biosynthesis genes in *Naematelia aurantialba* and *Stereum hirsutum*[J]. Biotechnology Bulletin, 2024(7): 259-272 (in Chinese).
- [15] EY J, SCHÖMIG E, TAUBERT D. Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine[J]. Journal of

- Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(16): 6466-6474.
- [16] 张翠, 赵艳敏, 白淑芳, 刘岱琳. HPLC 法测定不同品种蘑菇中麦角硫因的含量[J]. 食品工业科技, 2013, 34(23): 307-310.
ZHANG C, ZHAO YM, BAI SF, LIU DL. HPLC determination of ergothioneine in mushrooms of different species[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(23): 307-310 (in Chinese).
- [17] WOLDEGIORGIS AZ, ABATE D, HAKI GD, ZIEGLER GR. Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia[J]. Food Chemistry, 2014, 157: 30-36.
- [18] KALARAS MD, RICHIE JP, CALCAGNOTTO A, BEELMAN RB. Mushrooms: a rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione[J]. Food Chemistry, 2017, 233: 429-433.
- [19] PAHILA J, KANEDA H, NAGASAKA R, KOYAMA T, OHSHIMA T. Effects of ergothioneine-rich mushroom extracts on lipid oxidation and discoloration in salmon muscle stored at low temperatures[J]. Food Chemistry, 2017, 233: 273-281.
- [20] HALLIWELL B, CHEAH IK, TANG RMY. Ergothioneine: a diet-derived antioxidant with therapeutic potential[J]. FEBS Letters, 2018, 592(20): 3357-3366.
- [21] 万安露. 五种牛肝菌中麦角硫因对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2019.
WAN AL. Protective effect of ergothioneine in five kinds of boletus on liver injury induced by carbon tetrachloride in mice[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2019 (in Chinese).
- [22] 殷朝敏, 范秀芝, 刘纯友, 史德芳, 高虹. 12 株侧耳属食用菌菌丝中主要营养成分分析[J]. 核农学报, 2019, 33(1): 96-102.
YIN CM, FAN XZ, LIU CY, SHI DF, GAO H. Analysis of main nutrient components in mycelia of 12 *Pleurotus* mushroom[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2019, 33(1): 96-102 (in Chinese).
- [23] KRAKOWSKA A, ZIĘBA P, WŁODARCZYK A, KAŁA K, SUŁKOWSKA-ZIAJA K, BERNAS E, SEKARA A, OSTACHOWICZ B, MUSZYŃSKA B. Selected edible medicinal mushrooms from *Pleurotus* genus as an answer for human civilization diseases[J]. Food Chemistry, 2020, 327: 127084.
- [24] HAN YW, TANG XY, ZHANG YT, HU XC, REN LJ. The current status of biotechnological production and the application of a novel antioxidant ergothioneine[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2021, 41(4): 580-593.
- [25] 鄂恒超, 冯路路, 赵晓燕, 李晓贝, 赵志勇, 何香伟, 张艳梅. 超高效液相色谱法测定食用菌中 L-麦角硫因及质谱确证[J]. 分析试验室, 2022, 41(5): 529-534.
E HC, FENG LL, ZHAO XY, LI XB, ZHAO ZY, HE XW, ZHANG YM. Determination of L-ergothioneine in edible fungi by ultra performance liquid chromatography and confirmation by mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2022, 41(5): 529-534 (in Chinese).
- [26] 李娜, 吕爽, 董建国, 李红波, 张颖, 徐丹, 吴跃, 莫海珍. 常见食用菌营养成分及风味物质分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(18): 441-448.
LI N, LÜ S, DONG JG, LI HB, ZHANG Y, XU D, WU Y, MO HZ. Analysis of nutritional components and volatile flavor compounds in common edible fungi[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(18): 441-448 (in Chinese).
- [27] CHEN S, HO KJ, HSIEH YJ, WANG LT, MAU JL. Contents of lovastatin, γ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia[J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 47(2): 274-278.
- [28] TEPWONG P, GIRI A, SASAKI F, FUKUI R, OHSHIMA T. Mycobial enhancement of ergothioneine by submerged cultivation of edible mushroom mycelia and its application as an antioxidative compound[J]. Food Chemistry, 2012, 131(1): 247-258.
- [29] 许晟, 刘琦, 姜文侠, 王妍, 周子振. 高效液相色谱分析真菌液态发酵产物中的麦角硫因[J]. 食品工业科技, 2018, 39(18): 238-243.
XU S, LIU Q, JIANG WX, WANG Y, ZHOU ZZ. Determination of ergothioneine content in liquid fermentation broth of fungi by HPLC[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(18): 238-243 (in Chinese).
- [30] 薛天凯, 赵艳敏, 林纪伟, 刘岱琳, 刘成航. 正交设计优化平菇下脚料中麦角硫因的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(3): 40-45.
XUE TK, ZHAO YM, LIN JW, LIU DL, LIU CH. Optimization of the extraction technique of ergothioneine from mushroom scraps by orthogonal method[J]. Food Research and Development, 2017, 38(3): 40-45 (in Chinese).
- [31] PAUL BD, SNYDER SH. The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant[J]. Cell Death and Differentiation, 2010, 17(7): 1134-1140.
- [32] 李轶群, 周念波. 麦角硫因的生物学功能及其应用[J]. 食品工程, 2010(3): 26-28.
LI YQ, ZHOU NB. Ergothioneine biological function and major applications[J]. Food Engineering, 2010(3): 26-28 (in Chinese).
- [33] VALACHOVA K, SVIK K, BIRO C, COLLINS MN, JURCIK R, ONDRUSKA L, SOLTES L. Impact of ergothioneine, hereynine, and histidine on oxidative degradation of hyaluronan and wound healing[J]. Polymers, 2020, 13(1): 95.
- [34] KO HJ, KIM J, AHN M, KIM JH, LEE GS, SHIN T. Ergothioneine alleviates senescence of fibroblasts induced by UVB damage of keratinocytes via activation of the Nrf2/HO-1 pathway and HSP70 in keratinocytes[J]. Experimental Cell Research, 2021, 400(1): 112516.
- [35] 何鑫怡, 周子艺, 陈媛媛, 赵吉春, 李富华, 明建. 麦角硫因生物活性及其在食品工业中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(10): 285-292.
HE XY, ZHOU ZY, CHEN YY, ZHAO JC, LI FH, MING J. Bioactivity of ergothioneine and its application in food industry: a review[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(10): 285-292 (in Chinese).
- [36] FU HY, SHIEH DE, HO CT. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms[J]. Journal of Food Lipids, 2002, 9(1): 35-43.
- [37] JANG JH, ARUOMA OI, JEN LS, CHUNG HY, SURH YJ. Ergothioneine rescues PC12 cells from

- beta-amyloid-induced apoptotic death[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2004, 36(3): 288-299.
- [38] PUTTARAJU NG, VENKATESHAI AH SU, DHARMESH SM, URS SMN, SOMASUNDARAM R. Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(26): 9764-9772.
- [39] DUBOST NJ, OU BX, BEELMAN RB. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity[J]. *Food Chemistry*, 2007, 105(2): 727-735.
- [40] BAO HND, OCHIAI Y, OHSHIMA T. Antioxidative activities of hydrophilic extracts prepared from the fruiting body and spent culture medium of *Flammulina velutipes*[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(15): 6248-6255.
- [41] ENCARNACION AB, FAGUTAO F, HIRAYAMA J, TERAYAMA M, HIRONO I, OHSHIMA T. Edible mushroom (*Flammulina velutipes*) extract inhibits melanosis in kuruma shrimp (*Marsupenaeus Japonicus*)[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(1): C52-C58.
- [42] ENCARNACION AB, FAGUTAO F, SHOZEN KI, HIRONO I, OHSHIMA T. Biochemical intervention of ergothioneine-rich edible mushroom (*Flammulina velutipes*) extract inhibits melanosis in crab (*Chionoecetes japonicus*)[J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(4): 1594-1599.
- [43] ADACHI K, HIRATA T, NISHIOKA T, SAKAGUCHI M. Hemocyte components in crustaceans convert hemocyanin into a phenoloxidase-like enzyme[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 134(1): 135-141.
- [44] 陶冶, 肖珊, 蔡嘉铭, 王际辉, 刘冰南, 王亮. 富含麦角硫因的金针菇提取物对冷冻猪肉糜品质的影响[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(9): 306-312.
TAO Y, XIAO S, CAI JM, WANG JH, LIU BN, WANG L. Effect of *Flammulina velutipes* extract rich in ergothioneine on the quality of frozen pork patties[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(9): 306-312 (in Chinese).
- [45] NGUYEN TH, GIRI A, OHSHIMA T. A rapid HPLC post-column reaction analysis for the quantification of ergothioneine in edible mushrooms and in animals fed a diet supplemented with extracts from the processing waste of cultivated mushrooms[J]. *Food Chemistry*, 2012, 133(2): 585-591.
- [46] BAO HND, SHINOMIYA Y, IKEDA H, OHSHIMA T. Preventing discoloration and lipid oxidation in dark muscle of yellowtail by feeding an extract prepared from mushroom (*Flammulina velutipes*) cultured medium[J]. *Aquaculture*, 2009, 295(3/4): 243-249.
- [47] MISITI F, CASTAGNOLA M, ZUPPI C, GIARDINA B, MESSANA I. Role of ergothioneine on S-nitrosoglutathione catabolism[J]. *The Biochemical Journal*, 2001, 356(Pt 3): 799-804.
- [48] WEIGAND-HELLER AJ, KRIS-ETHERTON PM, BEELMAN RB. The bioavailability of ergothioneine from mushrooms (*Agaricus bisporus*) and the acute effects on antioxidant capacity and biomarkers of inflammation[J]. *Preventive Medicine*, 2012, 54: S75-S78.
- [49] KIM SH, THOMAS MJ, WU DY, CARMAN CV, ORDOVÁS JM, MEYDANI M. Edible mushrooms reduce atherosclerosis in *ldlr*^{-/-} mice fed a high-fat diet[J]. *The Journal of Nutrition*, 2019, 149(8): 1377-1384.
- [50] NAKAMICHI N, NAKAYAMA K, ISHIMOTO T, MASUO Y, WAKAYAMA T, SEKIGUCHI H, SUTOH K, USUMI K, ISEKI S, KATO Y. Food-derived hydrophilic antioxidant ergothioneine is distributed to the brain and exerts antidepressant effect in mice[J]. *Brain and Behavior*, 2016, 6(6): e00477.
- [51] CALVO MS, MEHROTRA A, BEELMAN RB, NADKARNI G, WANG LZ, CAI WJ, GOH BC, KALARAS MD, URIBARRI J. A retrospective study in adults with metabolic syndrome: diabetic risk factor response to daily consumption of *Agaricus bisporus* (white button mushrooms)[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2016, 71(3): 245-251.
- [52] D'ONOFRIO N, SERVILLO L, GIOVANE A, CASALE R, VITIELLO M, MARFELLA R, PAOLISSO G, BALESTRIERI ML. Ergothioneine oxidation in the protection against high-glucose induced endothelial senescence: Involvement of SIRT1 and SIRT6[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2016, 96: 211-222.
- [53] PAHILA J, ISHIKAWA Y, OHSHIMA T. Effects of ergothioneine-rich mushroom extract on the oxidative stability of astaxanthin in liposomes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(12): 3491-3501.
- [54] QIAN XC, HOU Q, LIU JN, HUANG QH, JIN ZL, ZHOU QL, JIANG TJ, ZHENG XL. Inhibition of browning and shelf life extension of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by ergothioneine treatment[J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 288: 110385.
- [55] ABIDIN MHZ, ABDULLAH N, ABIDIN NZ. Protective effect of antioxidant extracts from grey oyster mushroom, *Pleurotus pulmonarius* (Agaricomycetes), against human low-density lipoprotein oxidation and aortic endothelial cell damage[J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2016, 18(2): 109-121.
- [56] PANG L, WANG T, LIAO Q, CHENG YF, WANG D, LI JJ, FU CM, ZHANG C, ZHANG JM. Protective role of ergothioneine isolated from *Pleurotus ostreatus* against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in rat model[J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(1): 415-426.
- [57] RODA E, RATO D, de LUCA F, DESIDERIO A, RAMIERI M, GOPPA L, SAVINO E, BOTTONE MG, LOCATELLI CA, ROSSI P. Searching for a longevity food, we bump into *Hericium erinaceus* primordium rich in ergothioneine: the longevity vitamin improves locomotor performances during aging[J]. *Nutrients*, 2022, 14(6): 1177.
- [58] 李亚欢. 杏鲍菇中麦角硫因的提取纯化和抗氧化活性研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
LI YH. Study on extraction, purification and antioxidant activity of ergothioneine from *Pleurotus eryngii*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [59] 王艳, 李亚欢, 莫宇丽, 胡晶晶, 张怡馨, 王杰. 杏鲍菇麦角硫因的体外抗氧化力及环境因素对其稳定

- 性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(14): 47-56.
WANG Y, LI YH, MO YL, HU JJ, ZHANG YX, WANG J. Antioxidant activity of ergothioneine from king oyster mushrooms and effects of environment on its stability[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(14): 47-56 (in Chinese).
- [60] 陆国胜, 杨浩, 陈安平. 一种利用蘑菇下脚料制备天然麦角硫因的方法: CN106831597B[P]. 2017-03-06.
LU GS, YANG H, CHEN AP. A method for the preparation of natural ergothioneine using mushroom offcuts: CN106831597B[P]. 2017-03-06 (in Chinese).
- [61] 周念波, 李轶群, 殷勤红. 氧化铝柱层析从双孢菇柄中提取麦角硫因[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(27): 14842-14843.
ZHOU NB, LI YQ, YIN QH. Separation of ergothioneine from mushroom handle of *Agaricus bisporus* by alumina column chromatography[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(27): 14842-14843 (in Chinese).
- [62] CREMADES O, DIAZ-HERRERO MM, CARBONERO-AGUILAR P, GUTIERREZ-GIL JF, FONTIVEROS E, BAUTISTA J. White button mushroom ergothioneine aqueous extracts obtained by the application of enzymes and membrane technology[J]. Food Bioscience, 2015, 10: 42-47.
- [63] 张怡馨. 金针菇中麦角硫因的提取、纯化及包埋研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2017.
ZHANG YX. Study on extraction, purification and embedding of ergothioneine in *Flammulina velutipes*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [64] 莫宇丽, 李亚欢, 王艳, 胡晶晶, 张怡馨, 王杰. 响应面法优化超声微波联合提取杏鲍菇中麦角硫因工艺[J]. 食品工业科技, 2020, 41(1): 143-149.
MO YL, LI YH, WANG Y, HU JJ, ZHANG YX, WANG J. Optimization of ultrasonic combined microwave-assisted extraction of ergothioneine in *Pleurotus eryngii* by response surface methodology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(1): 143-149 (in Chinese).
- [65] 刘成航, 刘岱琳, 赵艳敏, 李长惠. 一种制备麦角硫因的方法: CN201611159974.X[P]. 2019-07-16.
LIU CH, LIU DL, XHAO YM, LI CH. A method for preparing ergothioneine: CN201611159974.X[P]. 2019-07-16 (in Chinese).
- [66] 姜文侠, 刘琦, 王洪宇, 李运华, 刘伟, 梅保良, 张维亚. 麦角硫因的提取及纯化方法: CN104774182A8[P]. 2018-01-09.
JIANG WX, LIU Q, WANG HY, LI YH, LIU W, MEI BL, ZHANG WY. Extraction and purification method of ergothioneine: CN104774182A8[P]. 2018-01-09 (in Chinese).
- [67] 李健, 周子振, 张进城, 原晋波, 石刚. 一种生物发酵合成制备麦角硫因用陶瓷膜过滤系统: CN209243040U[P]. 2019-08-13.
LI J, ZHOU ZZ, ZHANG JC, YUAN JB, SHI G. A ceramic membrane filtration system for preparing ergothioneine by biological fermentation synthesis: CN209243040U[P]. 2019-08-13 (in Chinese).
- [68] 赵蕊丽. 用分子印迹技术从杏鲍菇中分离纯化麦角硫因[D]. 天津: 南开大学, 2013.
ZHAO RL. Separation and purification of the ergothioneine from the *Pleurotus eryngii* with the molecular imprinted technology[D]. Tianjing: Nankai University, 2013 (in Chinese).
- [69] CARLSSON J, KIERSTAN MP, BROCKLEHURST K. A convenient spectrophotometric assay for the determination of L-ergothioneine in blood[J]. The Biochemical Journal, 1974, 139(1): 237-242.
- [70] LIU Q, ZHANG WY, WANG HY, LI YH, LIU W, WANG QJ, LIU DZ, CHEN N, JIANG WX. Validation of a HILIC method for the analysis of ergothioneine in fermentation broth[J]. Journal of Chromatographic Science, 2016, 54(6): 934-938.
- [71] 赵艳敏, 雷智东, 刘成航, 刘岱琳. 高效液相色谱法测定多种真菌中麦角硫因含量[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(2): 117-119.
ZHAO YM, LEI ZD, LIU CH, LIU DL. Determination of ergothioneine in multiple species of fungi by HPLC[J]. Food Research and Development, 2016, 37(2): 117-119 (in Chinese).
- [72] SOTGIA S, PISANU E, PINTUS G, ERRE GL, PINNA GA, DEIANA L, CARRU C, ZINELLU A. Plasma L-ergothioneine measurement by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis after a pre-column derivatization with 5-iodoacetamidofluorescein (5-IAF) and fluorescence detection[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e70374.
- [73] KANEKO I, TAKEUCHI Y, YAMAOKA Y, TANAKA Y, FUKUDA T, FUKUMORI Y, MAYUMI T, HAMA T. Quantitative determination of ergothioneine in plasma and tissues by TLC-densitometry[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1980, 28(10): 3093-3097.
- [74] SEEBECK FP. *In vitro* reconstitution of mycobacterial ergothioneine biosynthesis[J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 132(19): 6632-6633.
- [75] MELVILLE DB, LUDWIG ML, INAMINE E, RACHELE JR. Transmethylation in the biosynthesis of ergothioneine[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1959, 234(5): 1195-1198.
- [76] ISHIKAWA Y, MELVILLE DB. The enzymatic alpha-N-methylation of histidine[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1970, 245(22): 5967-5973.
- [77] ISHIKAWA Y, ISRAEL SE, MELVILLE DB. Participation of an intermediate sulfoxide in the enzymatic thiolation of the imidazole ring of hercynine to form ergothioneine[J]. Journal of Biological Chemistry, 1974, 249(14): 4420-4427.
- [78] BELLO MH, BARRERA-PEREZ V, MORIN D, EPSTEIN L. The *Neurospora crassa* mutant NcΔEgt-1 identifies an ergothioneine biosynthetic gene and demonstrates that ergothioneine enhances conidial survival and protects against peroxide toxicity during conidial germination[J]. Fungal Genetics and Biology, 2012, 49(2): 160-172.
- [79] HU W, SONG H, HER AS, BAK DW, NAOWAROJNA N, ELLIOTT SJ, QIN L, CHEN XP, LIU PH. Bioinformatic and biochemical characterizations of C-S bond formation and cleavage enzymes in the fungus *Neurospora crassa* ergothioneine biosynthetic pathway[J]. Organic Letters, 2014, 16(20): 5382-5385.
- [80] YANG XQ, LIN SX, LIN JD, WANG YY, LIN JF, GUO LQ. The biosynthetic pathway of ergothioneine in culinary-medicinal winter mushroom, *Flammulina velutipes* (Agaricomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2020, 22(2): 171-181.

- [81] YU YH, PAN HY, GUO LQ, LIN JF, LIAO HL, LI HY. Successful biosynthesis of natural antioxidant ergothioneine in *Saccharomyces cerevisiae* required only two genes from *Grifola frondosa*[J]. Microbial Cell Factories, 2020, 19(1): 164.
- [82] 潘涛, 林金德, 余颖豪, 郭丽琼, 林俊芳. 酿酒酵母表达侧耳源单基因生物合成麦角硫因[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 214-219.
PAN T, LIN JD, YU YH, GUO LQ, LIN JF. Expression in *Saccharomyces cerevisiae* of single ergothioneine synthase genes from *Pleurotus*[J]. Food Science, 2022, 43(10): 214-219 (in Chinese).
- [83] CHEN BX, XUE LN, WEI T, YE ZW, LI XH, GUO LQ, LIN JF. Enhancement of ergothioneine production by discovering and regulating its metabolic pathway in *Cordyceps militaris*[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 169.
- [84] 刘琦, 毛雨丰, 廖小平, 罗家豪, 马红武, 姜文侠. 麦角硫因生物合成研究的新进展[J]. 生物工程学报, 2022, 38(4): 1408-1420.
LIU Q, MAO YF, LIAO XP, LUO JH, MA HW, JIANG WX. Recent progress in ergothioneine biosynthesis: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(4): 1408-1420 (in Chinese).
- [85] 陈佳敏. 大肠杆菌麦角硫因合成体系的构建与优化[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
CHEN JM. Construction and optimization of ergothioneine synthesis system for *Escherichia coli*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023 (in Chinese).
- [86] 杨雪琴. 金针菇麦角硫因生物合成基因与 G 蛋白偶联受体基因的功能研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
YANG XQ. Study on the function of ergothioneine biosynthesis gene and G protein coupled receptor gene in *Flammulina velutipes*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [87] 梅保良, 刘琦, 姜文侠, 张维亚, 杨萍. 营养因子强化麦角硫因生物合成的研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(15): 108-112.
MEI BL, LIU Q, JIANG WX, ZHANG WY, YANG P. Study on the biosynthesis of L-ergothioneine by enhancement of nutritional factors[J]. Food Research and Development, 2015, 36(15): 108-112 (in Chinese).
- [88] WEIYA Z, QI L, TAO Z, MEI BL, CHEN N, JIA WX. Aqueous extraction of ergothioneine from mycelia of *pleurotusostreatus* and ergothioneine accumulation regularity during submerged fermentation[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 5: 1-8.
- [89] DUBOST NJ, BEELMAN RB, ROYSE DJ. Influence of selected cultural factors and postharvest storage on ergothioneine content of common button mushroom *Agaricus bisporus* (J.Lge) imbach (agaricomycetidae)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2007, 9(2): 163-176.
- [90] LIN SY, CHIEN SC, WANG SY, MAU JL. Submerged cultivation of *Mycelium* with high ergothioneine content from the culinary-medicinal golden oyster mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* (higher basidiomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2015, 17(8): 749-761.
- [91] LIANG CH, HUANG LY, HO KJ, LIN SY, MAU JL. Submerged cultivation of mycelium with high ergothioneine content from the culinary-medicinal king oyster mushroom *Pleurotus eryngii* (higher Basidiomycetes) and its composition[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2013, 15(2): 153-164.
- [92] LEE WY, PARK EJ, AHN JK. Supplementation of methionine enhanced the ergothioneine accumulation in the *Ganoderma neo-japonicum* mycelia[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2009, 158(1): 213-221.
- [93] 汤葆莎, 吴俐, 翁敏劼, 赖谱富, 李怡彬. 杏鲍菇 528 深层发酵生物合成麦角硫因的培养基优化[J]. 福建农业学报, 2021, 36(6): 728-734.
TANG BS, WU L, WENG MJ, LAI PF, LI YB. Optimization of medium for biosynthesis of ergothioneine by submerged fermentation of *Pleurotus eryngii* 528[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2021, 36(6): 728-734 (in Chinese).
- [94] 黄颖敏. 灵芝麦角硫因高产发酵体系建立及其降尿酸作用研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
HUANG YM. Establishment of ergothioneine high-yield fermentation system of *Ganoderma lucidum* and its uric acid reduction effect[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020 (in Chinese).