

环境雌激素的微生物代谢

彭万里 梁如冰*

(上海交通大学生命科学技术学院 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240)

摘要: 环境雌激素作为一类重要的新型环境污染物, 可通过干扰生物体的内分泌系统危害生物体健康。微生物降解是去除环境雌激素与进行环境修复的主要手段。本文归纳整理了目前研究较深入的雌激素降解微生物, 类比阐述了其预测的降解通路与降解机制, 并对后续环境雌激素降解研究的主要内容与方向进行了展望。

关键词: 环境雌激素, 微生物降解, 雌激素降解微生物, 降解通路, 降解机制

The microbial degradation of environmental estrogens

PENG Wan-Li LIANG Ru-Bing*

(School of Life Science and Biotechnology, State Key Laboratory of Microbial Metabolism, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: Environmental estrogens, the major components in the new kinds of environment pollutants, threaten the health of human and animals by its effect on the functions of endocrine system. Microbial degradation is considered as the efficient method in the removal of estrogenic chemicals and the remediation of polluted environment. This paper discusses the well-studied estrogen-degrading microorganisms, compares their degradation products and pathways, then summarizes the proposed microbial degradation mechanisms of estrogens, and finally forecasts the potential research interests in the biodegradation of environmental estrogen.

Keywords: Environmental estrogens, Microbial degradation, Estrogen-degrading microorganisms, Degradation pathway, Degradation mechanism

随着社会发展和工业化加剧, 环境内分泌干扰物污染日益严重, 已引起了全球各界的高度重视。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, 可影响人体和动物体内正常激素的功能及内分泌系统的化学物质, 也是 21 世纪最受关注的一类新型环境污染物^[1-3]。

雌激素作为最重要的内分泌干扰物, 具有难降解、环境留存久、累积放大与三致效应强等特点; 环境雌激素污染已被认为是一个严重的全球性公害, 亟需寻找高效安全的环境雌激素污染治理与环境修复方法^[4-7]。

相比于物理与化学治理方法, 生物法被认为

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31570099, 31370152)

*Corresponding author: E-mail: icelike@sjtu.edu.cn

Received: February 28, 2017; **Accepted:** May 18, 2017; **Published online** (www.cnki.net): June 05, 2017
基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31570099, 31370152)

*通讯作者: E-mail: icelike@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2017-02-28; 接受日期: 2017-05-18; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-06-05

是去除环境雌激素和进行环境修复的有效方法。其中,微生物降解利用环境分离的微生物菌株或菌群,能以雌激素类物质作为碳源或营养物质,经过复杂的生理代谢将其转化为低雌激素活性物质,并最终将其完全分解为无害的终产物,消除其环境威胁;具有操作简单、成本低廉且无二次污染等优势,被认为是环境雌激素污染去除的主要和有效手段^[8-9]。

尽管已有一系列进行环境雌激素降解菌株筛选与鉴定的研究工作,目前微生物转化雌激素的完整代谢通路及降解分子机制等尚未完全解析。为了进一步高效利用和后续工程改造现有的雌激素降解菌株,推进环境雌激素修复进程,需对现有雌激素降解菌株的降解性质、可能的代谢通路与降解机制进行分析与阐述。本文将对雌激素作用强、污染最严重的4种典型雌激素:雌酮(Estrone, E1)、雌二醇(Estradiol, E2)、雌三醇(Estriol, E3)和17 α -炔雌醇(17 α -Ethinylestradiol, EE2)的微生物降解菌株与其相应代谢研究进展进行总结和介绍^[10]。

1 雌激素的结构及性质

E1、E2、E3、EE2 是一类结构类似的脂溶性化合物,其中 E1、E2、E3 是天然雌激素,EE2 是人工合成雌激素。它们含有相同的“6-6-6-5”四环碳骨架结构;E3 比 E2 在 C₁₆ 位多了一个羟基,雌激素活性较低;而 EE2 则在 E2 的 C₁₇ 位加入了一个乙炔基,结构更稳定,雌激素效应更强,也更难以被降解^[11-12]。四种雌激素的区别仅在于 D 环上 C₁₆、C₁₇ 位所接官能团的不同(表 1)。

2 环境雌激素降解菌株

目前筛选获得的环境雌激素降解菌株主要是细菌,大多分离于活性污泥、堆肥、农田土壤或工厂废水中,包括了鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* spp.)、红球菌属(*Rhodococcus* spp.)、欧洲亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas europaea*)和假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)等。部分真菌和藻类也被报道具有雌激素降解作用。不同菌株降解雌激素的底物、降解效率、降解周期、转化产物等降解性质有所不同,具有各自的特点(表 2)^[8,13-30]。

表 1 雌激素的结构与性质
Table 1 Structures and characteristics of estrogens

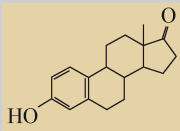
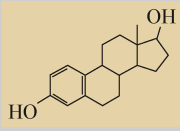
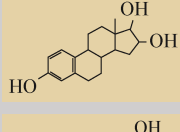
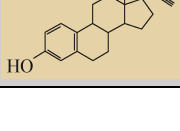
雌激素 Estrogen	缩写 Acronym	全称 Full name	结构式 Chemical structure	化学式 Chemical formula	CAS 编号 CAS number	分子量 Molecular weight	水中溶解度 Solubility in water	E2 活性等当量 E2 Equivalent
雌酮 Estrone	E1	1,3,5(10)-三烯-3-醇-17-酮		C ₁₈ H ₂₂ O ₂	53-16-7	270.37	0.8-12.4	0.10-0.20
雌二醇 Estradiol	E2	3,17 β -1,3,5 雌三烯二醇		C ₁₈ H ₂₄ O ₂	50-28-2	272.38	5.4-13.3	1.00
雌三醇 Estriol	E3	1,3,5(10)-三烯-3B,16A,17B 三醇		C ₁₈ H ₂₄ O ₃	50-27-1	288.38	3.2-13.3	0.02
17 α -炔雌醇 Ethinyl estradiol	EE2	17 α -乙炔-1,3,5-(10)-雌甾三烯-1,17-二醇		C ₂₀ H ₂₄ O ₂	57-63-6	296.41	4.8	2.46

表 2 部分研究较深入的雌激素降解菌^[8,13-30]
Table 2 List of some estrogen-degrading strains deeply studied^[8,13-30]

种类 Class	降解菌株分类 Phylogenetic affiliation	降解底物 Substrates	参考文献 References
细菌 Bacterium	<i>Acinetobacter</i> sp.	与 E1, E2, E3 共代谢 EE2	[8]
	<i>Pseudomonas</i> sp.	与 E1, E2, E3 共代谢 EE2	[8]
	<i>Acinetobacter</i> sp.	降解 E2	[13]
	<i>Nitrosomonas europaea</i>	降解 EE2	[14]
	<i>Nitrosomonas europaea</i>	降解 EE2	[15]
	<i>Nitrosomonas</i> sp.	降解 EE2	[16]
	<i>Pseudomonas citronellolis</i>	降解 EE2	[17]
	<i>Pseudomonas putida</i>	降解 E2	[18]
	<i>Pseudomonas putida</i>	与锰离子共代谢 EE2	[19]
	<i>Rhodococcus</i> sp.	降解 E2, E1	[20]
	<i>Sphingomonas</i> sp.	降解 E2, E1	[20]
	<i>Sphingobacterium</i> sp.	降解 E1, E2, E3, EE2	[21]
真菌 Fungi	<i>Myceliophthora thermophila</i>	降解 E2, E1	[22]
	<i>Myceliophthora</i>	降解 E2	[23]
	<i>Phanerochaete sordida</i>	降解 E2, E1	[24]
	<i>Pleurotus ostreatus</i>	降解 EE2	[25]
	<i>Pleurotus ostreatus</i>	降解 EE2	[25]
	<i>Pleurotus ostreatus</i>	降解 EE2	[26]
	<i>Phoma</i> sp.	漆酶降解 EE2	[27]
藻类 Algae	<i>Ankistrodesmus braunii</i>	降解 EE2	[28]
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	降解 EE2	[28]
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	降解 EE2	[28]
	<i>Chlorella vulgaris</i>	降解 EE2	[29]
	<i>Microcystis novacekii</i>	降解 EE2 为 E1	[30]

3 天然雌激素的微生物代谢机制

天然雌激素中, 雌二醇的生理效能最强, 环境中分布最广, 被认为是最主要的环境雌激素污染物^[31]。深入研究微生物降解转化雌二醇机制有助于推进菌株的实际应用与工程改造。

目前对天然雌激素微生物降解机制的研究多集中于细菌对雌二醇的有氧分解过程。早在 1966 年, Coombre 等提出 E2 的降解首先从 A 环裂解开始^[32]; 但是这一假设在后续研究中并未被观察到。根据不同微生物代谢雌激素的中间产物, 目前推测的细菌代谢雌二醇途径主要有 4 种, 如图 1 所示。

(1) 雌二醇首先在 C₁₇ 位被脱氢形成酮基, 生成

低雌激素活性的 E1; 之后在 C₁₆ 位开环并在 C₁₅、C₁₆ 位发生羟基化生成内酯, 最终将 D 环裂解^[33]。

(2) 因在红球菌和鞘氨醇单胞菌转化 E1 时观察到 4-OH-E2 和 4-OH-E1 的生成, 研究者认为微生物降解 E2 是先从其 C₄ 位的羟基化和 C₁₄ 位的脱氢反应开始, 生成 4-OH-E1 后再进一步分解^[20]。

(3) 雌二醇的降解可从 B 环的 C₇ 或 C₈ 的羟基化开始, 在 C₆ 或 C₇ 位脱氢生成醛基后在 C₁₇ 位脱氢生成酮基, 再进行后续降解^[30]。

(4) 根据亚硝化单胞菌的研究结果, E0 是该菌株转化 E2 的第一步中间产物, 据此推测其雌二醇降解是通过去除其 D 环 C₁₇ 位羟基并在 C₁₆ 和 C₁₇ 间生成双键来启动的^[34]。

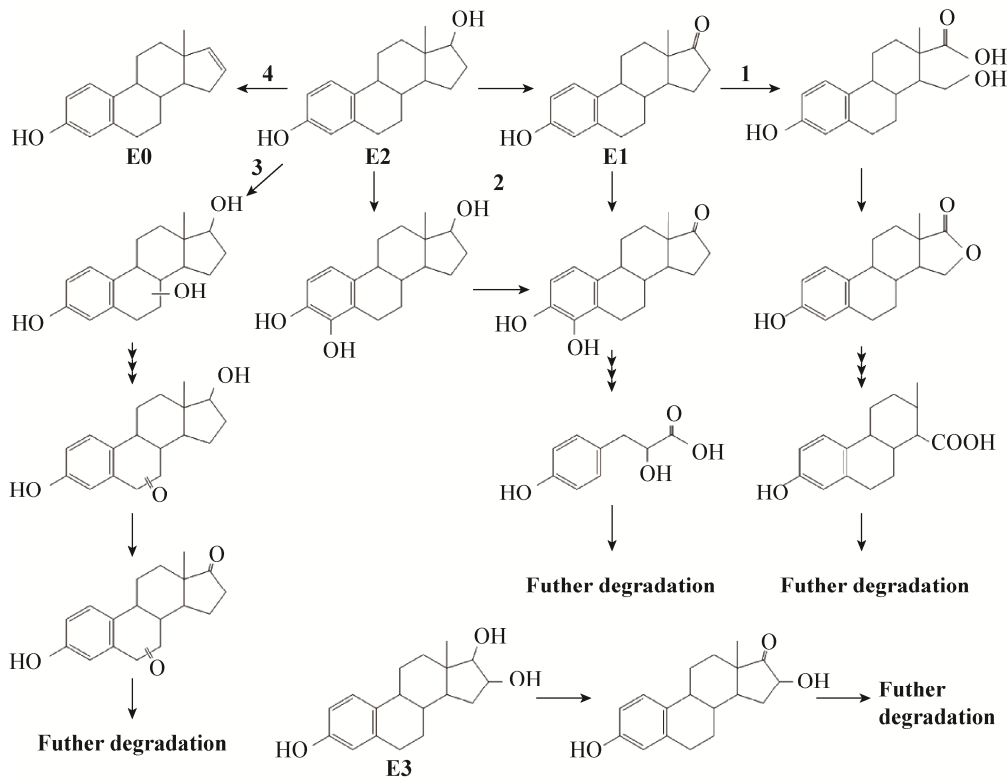


图1 天然雌激素的细菌代谢途径与中间代谢产物^[20,31,33-34]

Figure 1 The proposed catabolic pathways and intermediate metabolites of the bacterial degradation to natural estrogens^[20,31,33-34]

此外,研究者在研究鞘氨醇单胞菌代谢 EE2 时提出 E1 的另一条代谢途径,即 E1 的代谢首先从其 B 环和 A 环的裂解开始(详见 EE2 的降解代谢途径 1)。根据农场污水中雌激素的有氧和厌氧代谢研究,研究者认为 17 α -E2-3-硫酸铵盐很可能是其它雌激素物质的前体,经过氧化和前期解离反应生成 E1 后再进入下一步降解代谢,而且有氧代谢是整个污水处理过程中去除雌激素的主要途径^[35]。另外,尽管雌三醇的雌激素活性较低,但它是最难被降解的天然雌激素,目前认为 E3 分解也是通过其 D 环的 C₁₇ 位脱氢来启动的^[13]。同时研究者也发现,合适浓度的某些可溶有机物可作为雌激素降解菌的最终电子受体,缩短环境中雌二醇的半衰期,实现其氧化与去除^[36]。

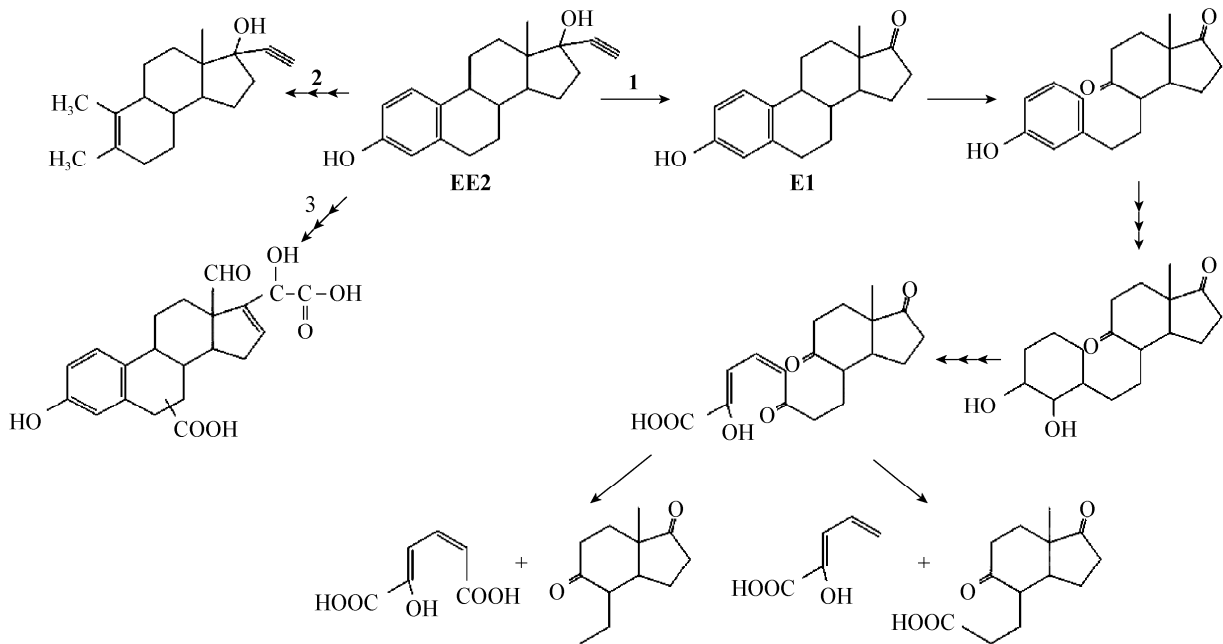
除了细菌可代谢雌二醇,藻类和真菌对天然雌激素也有一定的降解作用。E1 和 E2 可在藻类中进

行相互转化,E1 还可生成 E3 和羟雌甾酮^[29]。锰过氧化物酶和漆酶被认为在白腐真菌降解天然雌激素过程中起重要作用^[24],而漆酶则可通过将 E2 氧化为 E1 或形成 E2 的二聚体和三聚体,实现 E2 的代谢转化^[22-23]。此外,细胞色素 P450 也可能参与了真菌对甾醇类激素的代谢过程^[25]。

4 17 α -炔雌醇的微生物代谢机制

EE2 是在天然雌激素 E2 的 C₁₇ 位引入了一个乙炔基,是避孕药的主要有效成分,其化学性质稳定,生理效应强,环境分布广^[11-12]。相较于天然雌激素,EE2 极难被生物降解,很多天然雌激素降解菌株并不能代谢转化 EE2^[9]。细菌中目前仅发现鞘氨醇单胞菌、欧洲亚硝化单胞菌和假单胞菌可降解 EE2^[14,16-17,21,37-38]。根据其代谢产物推测的代谢途径主要有三条(图 2)。

(1) 通过对鞘氨醇单胞菌代谢雌激素物质的产

图 2 17 α 炔雌醇的细菌代谢途径与中间代谢产物^[14,16,21,37-38]Figure 2 The proposed catabolic pathways and intermediate metabolites of the bacterial degradation to EE2^[14,16,21,37-38]

物分析, 研究者认为其 EE2 代谢是从将 EE2 转化为 E1 开始, 之后在其 B 环 C₉ 和 C₁₀ 位间开环, 并在 C₉ 位引入酮基; 然后 A 环在 C₄ 和 C₅ 位间开环, 并在 C₄ 和 C₅ 位上各引入一个酮基; 最后以两种可能的方式断裂, 再进行下一步代谢^[21]。这一推测的 EE2 代谢过程与已报道的睾丸酮丛毛单胞菌降解类固醇激素的过程相似^[37-38]。

(2) 与鞘氨醇单胞菌不同, 亚硝化单胞菌代谢 EE2 的过程被认为是从其 A 环裂解开始^[16]。

(3) 研究者根据欧洲亚硝化单胞菌代谢 EE2 的产物提出, 其 EE2 的降解首先从 C₁₇ 位乙炔基的降解转化开始, 羧基化在这其中起着重要作用^[14]。

此外, 研究者在对比氨氧化细菌和异养细菌对 EE2 的代谢产物发现, 尽管两者代谢 EE2 的方式不同, 但都生成 4-OH-EE2 和 sulfo-EE2 的中间产物, 且氨氧化细菌催化这一反应的速度是异养细菌的 5 倍; 但是氨氧化细菌无法继续代谢, 其进一步降解是由异养细菌完成的。这暗示着微生物在分解难降解污染物时会采取共同代谢的方式来实现其有效利用^[15]。但是, 抑制硝化作用进而影响氨氧化细

菌活性后, 硝化污泥中 EE2 的代谢速率并没有被显著影响, 这说明氨氧化细菌可能不是 EE2 代谢菌群中的核心菌株^[39]。同时, 共代谢作用在其他 EE2 降解细菌中被观察到。不动杆菌和假单胞菌在降解 E1、E2、E3 时, 可实现 EE2 的共代谢^[8]; 在假单胞菌中还发现了二价锰离子存在时的 EE2 共代谢作用^[19]。

另一方面, 在真菌和藻类中也发现了对 EE2 具有降解作用的菌株, 其中真菌的 EE2 代谢研究较多。根据鉴定的真菌代谢 EE2 产生的 6 种化合物结构分析, 研究者提出了真菌转化 EE2 的 3 种可能方式(图 3A)。漆酶和锰过氧化物酶被认为是真菌代谢 EE2 的主要酶。由于抑制细胞色素 P450 可完全阻断真菌对 EE2 的降解, 推测其参与了 EE2 的转运过程, 从而在 EE2 分解过程中起重要作用^[22]。环氧化物水解酶也可能参与了真菌的 EE2 代谢^[26]; 茎点霉属真菌也被发现具有 EE2 的降解作用^[27]。相比于细菌和真菌, 藻类降解 EE2 的途径更为多样, 研究者分别在羊角月牙藻、四尾栅藻和纤维藻中分离了不同的 EE2 代谢产物, 并据此提出了 3 种可能的代谢方式^[28](图 3B)。

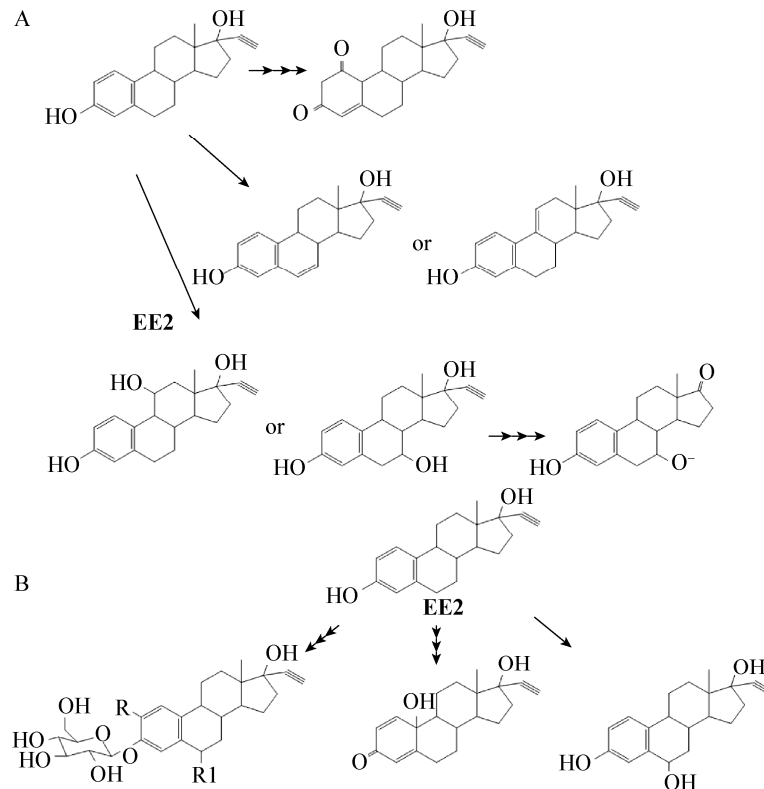


图3 真菌(A)和藻类(B)代谢 17 α 炔雌醇的途径与中间代谢产物^[22,26-28]

Figure 3 The proposed catabolic pathways and intermediate metabolites of fungi (A) and algae (B) degradation to EE2^[22,26-28]

5 微生物降解环境雌激素的研究展望

随着环境雌激素污染的日益加剧,微生物降解作为其主要且有效的去除手段越来越受到关注,深入相关研究必将提升整体环境治理的效果。据此,本文提出以下几点展望:

(1) 解析雌激素降解菌的基因组成与代谢机制。研究者们已对微生物降解睾酮机制的研究较为深入,但对环境雌激素的微生物降解机制仍知之甚少,亟待进一步研究。现有环境雌激素的降解途径主要是根据微生物代谢雌激素的中间物推测获得,其催化相应反应的基因和关键酶并未被解析。由于现阶段大多数雌激素降解菌株的基因组测序尚未完成,其基因组成与遗传进化等性质仍不明确,大大限制了雌激素代谢机制的解析。随着新技术手段不断涌现,应积极运用基因组学、蛋白组学和代谢组学等新技术手段,确定环境雌激素降解菌

中的功能基因和关键酶,解析其代谢通路和降解分子机制。本实验室已完成了两株雌激素降解假单胞菌菌株的全基因组测序,并深入分析了其中一株降解菌的差异蛋白组学,相信可推进相关微生物降解雌激素分子机制的研究和菌株改造的进程^[17-18,40]。

(2) 构建安全可控的环境雌激素高效降解工程菌株。目前已分离到的雌激素降解菌株大多具有独特的代谢功能和高效的降解能力,在环境治理方面具有很高的潜在应用价值,但也应对其可能的生物危害与环境威胁予以重视。一旦这些具有潜在危害的微生物在环境中释放应用并长期定殖后,很可能会导致环境的整体生物群落结构与生物多样性发生改变,引发生物危害。因此,在改进雌激素降解菌株的降解效能时,研究者需构建安全可控的工程菌株,降低其潜在的环境威胁。

(3) 寻找合适的雌激素降解菌株的投放方式。

合适的投放方式可使菌株进行长时间高效降解, 这是菌株实际应用的关键因素。固定化技术是对菌株的实际施用的有益探索, 如利用细胞固定化技术固定雌激素降解菌株, 可实现污水中雌激素的高效去除^[41-42]。可以通过直接将雌激素降解的关键酶进行固定, 也可降低整体环境的雌激素水平^[43], 或者通过雌激素降解酶与其他物质共同作用, 也可实现环境中雌激素的降解^[44]。因此, 找到一种有效的菌株投放方法, 对提高雌激素的去除效果和降低环境风险至关重要。

(4) 寻找和筛选更多的雌激素高效降解菌株。

研究者分离的雌激素降解菌大多来自于活性污泥, 后续研究应尝试在不同环境下进行分离, 例如养殖环境、草场及近海等, 以获得更多雌激素降解菌资源。不同来源的雌激素降解菌株可能具有不同的代谢途径, 这对于全面深入研究和解析微生物代谢环境雌激素的分子机制具有重要意义。

6 结束语

微生物降解是目前最为有效也最具前景的环境雌激素去除方式。虽然现在雌激素降解菌分离和其降解性质上的研究较多, 但是微生物代谢雌激素的降解通路和分子机制仍不明确, 其分子水平上的研究仍显不足。只有全面深入研究解析微生物代谢雌激素的分子机制, 确定其降解基因、关键酶与整体网络, 才能加快相关的理论研究与实际应用; 同时结合适宜的有效投放方式, 最终实现环境雌激素的安全高效微生物降解, 消除环境威胁, 维护人类的健康与生态系统稳定。

参考文献

- [1] Ding XD, Zhu MH. Study on the pollution of environmental hormones[J]. Energy Environmental Protection, 2006, 20(4): 13-15 (in Chinese)
丁小东, 朱明华. 环境激素污染研究[J]. 能源环境保护, 2006, 20(4): 13-15
- [2] Diamanti-Kandarakis E, Palioura E, Kandarakis S, et al. The impact of endocrine disruptors on endocrine targets[J]. Hormone and Metabolic Research, 2010, 42(8): 543-552
- [3] Villemur R, Dos Santos SCC, Ouellette J, et al. Biodegradation of endocrine disruptors in solid-liquid two-phase partitioning systems by enrichment cultures[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(15): 4701-4711
- [4] Santoro N, Worsley R, Miller KK, et al. Role of estrogens and estrogen-like compounds in female sexual function and dysfunction[J]. The Journal of Sexual Medicine, 2016, 13(3): 305-316
- [5] Zhou YQ, Zha JM, Xu YP, et al. Occurrences of six steroid estrogens from different effluents in Beijing, China[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2012, 184(3): 1719-1729
- [6] Adeel M, Song XM, Wang YY, et al. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review[J]. Environment International, 2016, 99: 107-119
- [7] Herreros M, Encinas T, Torres-Rovira L, et al. Exposure to the endocrine disruptor di(2-ethylhexyl)phthalate affects female reproductive features by altering pulsatile LH secretion[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2013, 36(3): 1141-1149
- [8] Pauwels B, Wille K, Noppe H, et al. 17 α -ethinylestradiol cometabolism by bacteria degrading estrone, 17 β -estradiol and estriol[J]. Biodegradation, 2008, 19(5): 683-693
- [9] Yu CP, Deeb R, Chu KH. Microbial degradation of steroidal estrogens[J]. Chemosphere, 2013, 91(9): 1225-1235
- [10] Luine VN. Estradiol and cognitive function: past, present and future[J]. Hormones and Behavior, 2014, 66(4): 602-618
- [11] Thomas MP, Potter BVL. The structural biology of oestrogen metabolism[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2013, 137: 27-49
- [12] Khanal SK, Xie B, Thompson ML, et al. Fate, transport, and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems[J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(21): 6537-6546
- [13] Ke JX, Zhuang WQ, Gin KYH, et al. Characterization of estrogen-degrading bacteria isolated from an artificial sandy aquifer with ultrafiltered secondary effluent as the medium[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 75(5): 1163-1171
- [14] Skotnicka-Pitak J, Khunjar WO, Love NG, et al. 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
- [15] Khunjar WO, Mackintosh SA, Skotnicka-Pitak J, et al. Elucidating the relative roles of ammonia oxidizing and heterotrophic bacteria during the biotransformation of 17 α -ethinylestradiol and trimethoprim[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(8): 3605-3612
- [16] Yi T, Harper WF Jr. The link between nitrification and biotransformation of 17 α -ethinylestradiol[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(12): 4311-4316
- [17] Zheng DN, Wang XL, Wang PP, et al. Genome sequence of *Pseudomonas citronellolis* SJTE-3, an estrogen-and polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium[J]. Genome Announcements, 2016, 4(6): e01373-16
- [18] Liang RB, Liu H, Tao F, et al. Genome sequence of *Pseudomonas putida* strain SJTE-1, a bacterium capable of degrading estrogens and persistent organic pollutants[J]. Journal

- of Bacteriology, 2012, 194(17): 4781-4782
- [19] Sabirova JS, Cloetens LFF, Vanhaecke L, et al. Manganese-oxidizing bacteria mediate the degradation of 17 α -ethinylestradiol[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 1(6): 507-512
- [20] Kurisu F, Ogura M, Saitoh S, et al. Degradation of natural estrogen and identification of the metabolites produced by soil isolates of *Rhodococcus* sp. and *Sphingomonas* sp.[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2010, 109(6): 576-582
- [21] Haiyan R, Ji SL, ud din Ahmad N, et al. Degradation characteristics and metabolic pathway of 17 α -ethinylestradiol by *Sphingobacterium* sp. JCR5[J]. Chemosphere, 2007, 66(2): 340-346
- [22] Lloret L, Eibes G, Feijoo G, et al. 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
- [23] Nicotra S, Intra A, Ottolina G, et al. Laccase-mediated oxidation of the steroid hormone 17 β -estradiol in organic solvents[J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2004, 15(18): 2927-2931
- [24] Tamagawa Y, Yamaki R, Hirai H, et al. Removal of estrogenic activity of natural steroidal hormone estrone by ligninolytic enzymes from white rot fungi[J]. Chemosphere, 2006, 65(1): 97-101
- [25] Křesinová Z, Moeder M, Ezechiáš M, et al. Mechanistic study of 17 α -ethinylestradiol biodegradation by *Pleurotus ostreatus*: tracking of extracellular and intracellular degradation mechanisms[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(24): 13377-13385
- [26] Petráčková D, Halada P, Bezoušková S, et al. A two-dimensional protein map of *Pleurotus ostreatus* microsomes-proteome dynamics[J]. Folia Microbiologica, 2016, 61(1): 63-71
- [27] 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
- [28] Greca DM, Pinto G, Pistillo P, et al. Biotransformation of ethinylestradiol by microalgae[J]. Chemosphere, 2008, 70(11): 2047-2053
- [29] Lai KM, Scrimshaw MD, Lester JN. Biotransformation and bioconcentration of steroid estrogens by *Chlorella vulgaris*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(2): 859-864
- [30] Fioravante IA, Albergaria B, Teodoro TS, et al. Removal of 17 α -ethinylestradiol from a sterile WC medium by the cyanobacteria *Microcystis novacekii*[J]. Journal of Environmental Monitoring, 2012, 14(9): 2362-2366
- [31] Combalbert S, Hernandez-Raquet G. Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(6): 1671-1692
- [32] Coombre R, Tsong YY, Hamilton PB, et al. Mechanisms of steroid oxidation by microorganisms. X. Oxidative cleavage of estrone[J]. Journal of Biological Chemistry, 1966, 241(7): 1587-1595
- [33] Lee HB, Liu D. Degradation of 17 β -estradiol and its metabolites by sewage bacteria [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2002, 134(1): 351-366
- [34] Nakai S, Yamamura A, Tanaka S, et al. Pathway of 17 β -estradiol degradation by *Nitrosomonas europaea* and reduction in 17 β -estradiol-derived estrogenic activity[J]. Environmental Chemistry Letters, 2010, 9(1): 1-6
- [35] Zheng W, Zou YH, Li XL, et al. Fate of estrogen conjugate 17 α -estradiol-3-sulfate in dairy wastewater: comparison of aerobic and anaerobic degradation and metabolite formation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 258-259: 109-115
- [36] Gu LP, Huang B, Xu ZX, et al. Dissolved organic matter as a terminal electron acceptor in the microbial oxidation of steroid estrogen[J]. Environmental Pollution, 2016, 218: 26-33
- [37] Horinouchi M, Hayashi T, Kudo T. Steroid degradation in *Comamonas testosteroni*[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 129(1/2): 4-14
- [38] Sang YY, Xiong GM, Maser E. Identification of a new steroid degrading bacterial strain H5 from the Baltic Sea and isolation of two estradiol inducible genes[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 129(1/2): 22-30
- [39] Zhou XK, Oleszkiewicz J. Biodegradation of oestrogens in nitrifying activated sludge[J]. Environmental Technology, 2010, 31(11): 1263-1269
- [40] Xu J, Zhang L, Hou JL, et al. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of the global response to 17 β -estradiol in estrogen-degradation strain *Pseudomonas putida* SJTE-1[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 41682
- [41] Ma C, Qin D, Sun Q, et al. Removal of environmental estrogens by bacterial cell immobilization technique[J]. Chemosphere, 2016, 144: 607-614
- [42] Ito A, Mensah L, Cartmell E, et al. Removal of steroid estrogens from municipal wastewater in a pilot scale expanded granular sludge blanket reactor and anaerobic membrane bioreactor[J]. Environmental Technology, 2016, 37(3): 415-421
- [43] Taboada-Puig R, Eibes G, Lloret L, et al. Fostering the action of versatile peroxidase as a highly efficient biocatalyst for the removal of endocrine disrupting compounds[J]. New Biotechnology, 2016, 33(1): 187-195
- [44] Li JH, Zhang Y, Huang QG, et al. Degradation of organic pollutants mediated by extracellular peroxidase in simulated sunlit humic waters: A case study with 17 β -estradiol[J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 331: 123-131