

综述

DOI:10.14188/j.ajsh.2020.06.006

黑色素形成机理、生物学功能和应用开发的研究进展

陈海雁[†], 陈向东[†], 俞黎珊

(武汉大学 生命科学院, 湖北 武汉 430000)

摘要: 黑色素(melanin)是一类化学结构极其复杂、非均质的酚类或吲哚类物质聚合体,是自然界中最为丰富的天然色素,广泛存在于各种动物、植物和微生物中。根据合成途径和中间代谢产物的不同,黑色素主要可分为真黑素(eumelanin)、棕黑素(phaeomelanin)、异黑色素(allomelanin)三大类。其中异黑色素又包括脓黑素(pyomelanin)、1,8-二羟基萘(dihydroxynaphthalene, DHN)黑色素等。基于黑色素的生化功能,它们在工业、医药、农业中都有广泛用途,是重要的生物资源。本文主要介绍天然黑色素在动植物和微生物中的合成途径、生物学功能以及有潜力的获取方法和应用前景。

关键词: 黑色素;合成途径;酪氨酸酶;提取;应用

中图分类号: Q939.97

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2020)06-0652-08

Biosynthesis, function and applications of melanin

CHEN Haiyan[†], CHEN Xiangdong[†], YU Lishan

(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430000, Hubei, China)

Abstract: Melanin is a kind of phenol or indole polymers which is heterogeneous with extremely complex chemical structure. It is the most abundant natural pigment and widely exists in various animals, plants and microorganisms. The main types of melanin are eumelanin, pheomelanin and allomelanin. Among them, allomelanin includes pyomelanin and 1,8-dihydroxynaphthalene (DHN) melanin. Based on the biochemical function, melanin is widely used in industry, medicine and agriculture as important biological resources. This paper focuses on the biosynthesis and biological function of natural melanin in animals, plants and microorganisms as well as the potential acquisition methods and applications.

Key words: melanin; biosynthesis; tyrosinase; extraction; application

0 引言

黑色素(melanin)是一类化学结构极其复杂、非均质的酚类或吲哚类物质聚合体,是自然界中最为丰富的天然色素,广泛存在于各种动物、植物和微生物中。作为次级代谢产物的黑色素虽然并非为生物的生长发育所必需,但却能有效提高生物的生存和竞争能力,它的普遍存在因而被认为是进化过程中生命与环境长期相互适应的结果。此外,黑色素被

证明具有抗氧化、抗辐射、抗病毒感染,可激活免疫系统,可结合重金属离子、结合药物等许多重要的生理功能,其中间产物L-多巴(L-dihydroxyphenylalanine, L-DOPA)还是一种治疗神经性疾病的药物,具有广泛的应用开发价值。另一方面,由于发酵过程中黑色素的合成会导致碳源的流失和增加产物分离纯化的难度,人们有时也希望通过基因工程手段构建弱产甚至不产黑色素的微生物发酵菌株。因此,对各种生命过程中黑色素形成机理、生物学功能

收稿日期: 2020-08-09 修回日期: 2020-09-06 接受日期: 2020-09-09

作者简介: 陈海雁(1999-),女,本科生,研究方向为微生物遗传学, E-mail: 2017301110136@whu.edu.cn; 陈向东(1963-),男,教授,博士,研究方向为微生物遗传学。 E-mail: xdchen@whu.edu.cn。陈海雁、陈向东对本文有同等贡献,为共同第一作者。

基金项目: 国家自然科学基金(31770052); 国家基础科学人才培养基金资助项目(J1103513); 武汉大学实验教学中心开放实验资助项目

引用格式: 陈海雁, 陈向东, 俞黎珊. 黑色素形成机理、生物学功能和应用开发的研究进展[J]. 生物资源, 2020, 42(6): 652-659.

Chen H Y, Chen X D, Yu L S. Biosynthesis, function and applications of melanin [J]. Biotic Resources, 2020, 42(6): 652-659.

和应用开发的研究在理论和应用方面均有重要意义。

根据合成途径和中间代谢产物的不同,黑色素主要可分为真黑素(eumelanin)、棕黑素(phaeomelanin)、异黑色素(allomelanin)三大类。其中异黑色素又包括脓黑素(pyomelanin)、1,8-二羟基萘(dihydroxynaphthalene, DHN)黑色素等。基于黑色素的生化功能,它们在工业、医药、农业中都有广泛用途,是重要的生物资源。表1列举了其合成路径、生物功能、以及应用方面的研究成果。

1 黑色素的生物合成及功能

1.1 细菌黑色素

细菌黑色素种类繁多,利用不同底物和合成途径可生成真黑色素、棕黑素、脓黑素以及DHN黑色素等。其中前面两类色素又被称为多巴黑色素,因为它们主要是通过酪氨酸酶(tyrosinase)、漆酶(laccase)等多酚氧化酶的作用,将酪氨酸等单酚类物质首先羟基化成L-DOPA等双酚类物质,然后再将其进一步氧化成为醌类物质(*o*-quinones)。醌类化合物是黑色素的活性前体,可通过一系列复杂的非酶促的自我氧化过程最终形成色素;能检测到中间产物L-DOPA的存在是该途径的标志之一^[1]。棕黑素与真黑素的区别仅在于前者的色素形成过程中有半胱氨酸参与反应,L-DOPA先氧化后聚合,生成含硫的色素,呈红色或黄色^[2]。DHN黑色素是以丙二酰辅酶A(malonyl-CoA)为底物通过DHN途径合成。DHN途径最早在真菌细胞内发现,后来在细菌中也发现了该黑色素途径。细菌以5分子的丙二酰辅酶A为底物,首先受到同型二聚体聚酮合酶(polyketide synthases)RppA催化,使醛酮还原酶(AKR)超家族催化发生连续脱羧聚合反应生成1,3,6,8-四羟基萘(THN),再经SnoaL-2样NTF2超家族脱水作用合成1,8-二羟基萘(1,8-dihydroxynaphthalene, 1,8-DHN),再自发聚合形成DHN黑色素^[3]。而脓黑素则又被称为尿黑酸黑色素,因为尿黑酸(homogentisate, HGA)是该色素合成途径中的特征性中间产物。HGA由酪氨酸代谢

途径中的羟苯丙酮酸双加氧酶(4-hydrophenylpyruvate dioxygenase)催化底物4-羟苯丙酮酸(4-hydrophenylpyruvate)形成,再经尿黑酸1,2-双加氧酶(1,2-dioxygenase)等催化合成延胡索酸酯(fumarate)和乙酰乙酸盐(acetoacetate),后者通过自发的氧化和聚合反应最终生成脓黑素^[4]。

黑色素在不同细菌中的生物学功能可归纳为两点。第一是适应外界环境的能力,得益于其抗辐射的特性,可在高辐射条件下减轻紫外线对细菌的灼伤;带负电的黑色素对金属离子具有亲和性,让产黑细菌在重金属污染地区可以通过吸收金属离子而存活^[5]。我们实验室最近的研究中发现,有温度嗜性的杀鲑气单胞菌(*A. salmonicida*)会根据环境温度变化,利用温敏基因调控黑色素的生成以调整对周围光热的吸收^[6]。第二是黑色素与细菌致病性相关,在绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)以及洋葱伯克氏细菌(*Burkholderia cepacia*)等致病菌中,研究人员均揭示了产黑菌株相比不产黑菌种拥有更强的毒性和宿主侵染能力^[7];黑色素还可以降低病原体对宿主防御机制的敏感性,影响宿主对感染的免疫反应、清除自由基、减少宿主细胞的氧化破裂,保护该病原体免受氧化应激^[8]。

1.2 真菌黑色素

真菌黑色素组成更加复杂且异质性明显高于细菌,可合成DHN黑色素、真黑素、和多种异黑色素如:γ-谷氨酰胺基-二羟基苯黑色素(γ-glutaminy-3,4-dihydroxy-benzene, GDHB)、脓黑素、儿茶酚(catechol)黑色素、对羟基酚黑色素(*p*-aminophenol, PAP)。这些黑色素与N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine)或膜甘油(membrane glycerin)之间由含碳共价链连接,构成交联的多聚体^[9]。其合成的两个主要途径为DHN途径和L-DOPA途径。与细菌所不同的是,真菌参与DHN途径的酶系统有显著差异,在共有的聚酮酶的基础上还利用I型植物类型Ⅲ聚酮化合物合酶(PKS)、短链脱氢还原酶(SDR)超家族酶和SD样NTF2超家族酶^[3]。生成的DHN前体分子需要漆酶参与将其转变为DHN自

表1 黑色素种类、来源、合成及应用
Table 1. Type, origin, biosynthetic pathway and application of melanins

黑色素种类	来源	合成途径	特性	应用
真黑素	细菌、真菌、动物	L-DOPA途径	抗氧化、抗辐射、促进免疫、抗艾滋病毒、抗癌症等	防晒霜、抗衰老产品、抗辐射材料、染发剂、食品添加剂、Bt杀虫剂的稳定剂、污染防治、肿瘤治疗、医学成像等。
棕黑素	细菌、动物	L-DOPA途径(半胱氨酸参与反应)		
异黑色素	细菌、真菌、植物	DHN途径等		

由基,再经分子间交联聚合形成 DHN 黑色素。这一过程相较于细菌 DHN 的自发聚合更加复杂^[10]。不同真菌中特异性酶的加入,从经典途径衍生出更多旁路产生其他异黑色素。如禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)中的 DHN 途径^[11]会将 THN 转变为 5-脱氧鸟苷最终生成脱氧鸟苷黑色素。在土曲霉(*Aspergillus terreus*)中的 DOPA 途径会形成中间产物 4-羟基丙酮酸^[12]并在 NRPS 样酶和酪氨酸酶催化下最终生成 Asp 黑色素。更有甚者,黑色素合成跳脱了两大经典途径。如双孢菌(*Agaricus bisporus*)中以分支酸(chorismate)为底物转化成 GHB、PAP 最终生成 GHB⁻、PAP-两种异黑色素^[13]。真菌黑色素合成依赖于培养环境中的氮源、碳源、微量元素 Cu。合成后呈颗粒状分布,与几丁质交联固定在细胞壁的外侧或者内侧,因而降低了可溶性^[14]。

真菌黑色素能有效转化太阳光能,捕获单个电子,或者作为光激活的毒素产生单线态分子氧^[15]。通过一些化学变化和自由基清除,在一定程度上帮助生物抵抗电离辐射。对于极端环境下的真菌,细胞壁的黑色素能有力保护其应对环境压力,提高生存能力;对于许多病原真菌,黑色素影响其毒力,能抵御水解酶对细胞壁的攻击,隔离宿主产生的防御蛋白和金属离子。在高污染水域中,真菌与细菌黑色素类似,可以结合金属离子,使其能够在重金属污染的环境中生存。从一个含有高浓度有毒重金属的废弃矿井中分离出的产黑地衣含有铀、铁和铜等金属离子^[16]。利用这一性质,产黑真菌可用于环境污染毒素的清除。

1.3 动物黑色素

在动物中,真黑素广泛存在于毛发、神经感觉组织,如耳蜗、视网膜和黑质。在一些高等动物或鸟类中还存在棕黑素。另有一种特殊的神经黑色素(neuromelanin),在黑质中产生,由多巴胺衍生物聚合形成^[17]。动物黑色素的合成在特定的黑色素细胞中完成,该细胞是一种来源于神经脊的树突状细胞,含有黑素体这一专门用来合成黑色素的细胞器。黑色素的合成主要通过 L-DOPA 途径,酪氨酸在酪氨酸酶和两个相关性蛋白(TYRP1 和 TYRP2)共同作用下开始合成反应,最终生成真黑素或者棕黑素。黑色素合成后被运输到角质形成细胞,通过肾排泄,或者转移到角蛋白中,从而随表皮生长迁移到角质层^[18]。在一些头足类动物的墨汁中也有大量的黑色素,如乌贼的墨汁,被誉为动物黑色素最丰富的来源。此来源的黑色素是真黑素与蛋白多糖的不溶性复合物颗粒,由墨囊分泌腺合成并贮存在墨囊中^[19]。

动物黑色素具备最多样化的生物学功能。在鱼、鸟、昆虫、两栖动物中,黑色素可赋予它们独特的外表,如黑色的羽毛。这对于它们在自然界中信息交流互相区分有重要意义^[20]。在人体中,皮肤中的黑色素可以提供光防护功能,减轻紫外线的杀伤,以及保护核 DNA 不受损伤。真黑素也具备自由基清除能力以减少活性氧产生。同时,黑色素的缺乏也会引起多种疾病,人眼中虹膜和视网膜中色素沉着影响着年龄相关型黄斑变性(AMD)和脉络膜黑色素瘤等眼病。在人的面部和体表皮肤,缺乏黑色素时会导致曝晒阳光接触紫外线过多,引起恶性肿瘤——黑色素瘤。这一疾病在以白色人种为主的欧、美、澳地区具有很高的发病率^[21]。在人脑中,神经黑色素或与帕金森的发生相关^[22]。

1.4 植物黑色素

植物中的黑色素主要是不含氮的异黑色素,可在受伤组织或种子中合成。植物黑色素是异质性较高的化合物,其可能的前体物质包括儿茶酚(catechol),咖啡酸(caffeic)、绿原酸(chlorogenic)、原茶酸(protocatechuic)和没食子酸(gallic acids)^[23]。在受伤组织中,植物黑色素的形成主要与酶促褐变反应相关。当细胞屏障受到破坏时,叶绿体中的多酚氧化酶(polyphenol oxidases, PPOs)释放出来,与液泡中的物质相互作用,生成邻苯醌(*o*-quinones),邻苯醌接下来在无酶催化下可以与巯醇(thiols)、氨基酸、多肽等成分聚合生成色素前体。这些色素产物再与水反应,被还原成三酚类(triphenols)或原始酚类(original phenols)^[24]。在植物种子中,黑色素的合成一直缺乏研究。最近有理论认为完整种子中的黑色素生成受与 PPOs 相关基因的调控。分子基因学数据表明,完整种子中的黑色素积累与 PPOs 的编码基因相关。如稻壳中编码 PPOs 的 ph1 和编码酪氨酸转运子的 Bh4^[25]。在大麦中黑色素的合成受 Blp 基因座的单基因控制。目前 Blp 基因座已经精确到了 21 个基因^[26]。也有研究者通过代谢组学的比较,发现了大麦种子中生物合成基因可能与苯丙素(phenylpropanoid)衍生的生物合成途径有关,如类黄酮(flavonoids)和木质素(lignins)^[27]。未来多组学的交叉研究将有望发掘更多植物黑色素合成的相关基因。

植物黑色素对植株有着重要的生理意义。首先是庇护作用,例如具有黑色外壳的小麦种子当成熟后从植株脱落到地面,黑棕色的外壳可以帮助其逃避鸟类的识别。同时黑色素也提供了很多药用价值,例如黑色的葵花籽更容易抵抗病虫害感染。此外黑色素也具备抗毒能力,可以有效保护西瓜种子在

环境压力下保持较高的种子活力和出芽率^[28]。尽管黑色素在植物中的作用机制未完全清晰,但多种现象均表明黑色素是一种良好有效的植物天然色素。

2 天然黑色素的获取

为进行天然黑色素特性的深入研究以及应用开发,需要从生物体中提取黑色素。目前可获取黑色素的重要途径是从动植物组织器官中提取或从改良基因工程微生物中自主合成。

2.1 黑色素的动植物提取

植物源黑色素主要是异黑色素,动物源黑色素主要类型为真黑色素,可提取自乌骨鸡、乌骨羊和头足类海洋生物。两种来源的黑色素大都与组织中的多糖、蛋白形成复合物,因而纯化困难。在植物中,我国对于提取黑色素工艺的专利众多,目前有权专利中的黑色素提取植物原料包括香蕉皮、黎豆种皮、薏仁种壳等。对于不溶性黑色素,大多采用强碱NaOH、KOH在水浴或高压状态下汽液回流对底物进行碱处理。部分植物如黑米和黑芝麻,其黑色素为花苷类可溶于水或乙醇等极性溶剂,相应的处理方法为乙醇溶解、超声波提取等^[29]。然而通过酸碱水解获得的天然黑色素,很大程度上在脱羧过程中发生分解而使物化性质发生改变^[30],因此更温和的酶解法比较适用于提取动物黑色素,尤其是毛发中的黑色素。如从乌骨鸡中提取黑色素,相关研究显示利用酶法更能有效保护其抗自由基性能和对热的稳定性^[31]。此外还可从鱿鱼墨中提取黑色素,其提取工艺更为复杂,需要利用胃蛋白酶解法和高速离心法来保持其基本结构^[32]。其他一些获得专利的提取方法还包括从足类动物、鲨鱼皮、枪乌贼中提取黑色素。但基于动植物资源的有限,以此为来源的黑色素很难实现大规模生产。

2.2 微生物黑色素的的生产潜力

从天然动植物中提取黑色素由于原料有限,成本较高。目前最具有潜力的黑色素生产方式仍然是微生物合成途径。这是一种更加环保和低成本的综合途径,有利于放大生产。

2.2.1 细菌黑色素开发

能够自发合成和分泌黑色素的放线菌是细菌黑色素获取的重要途径之一。在链霉菌(*Streptomyces*)的次级代谢产物中包含许多可溶的黑色素或类黑色素,研究者曾利用一株链霉菌(*Streptomyces kathirae*)在所尝试的最优培养成分中产黑高色素达13.6 g/L,创下最高纪录^[33]。重组工程菌是获取多种黑色素的另一个高效途径。通过基因工程改良大

肠杆菌(*Escherichia coli*)有望获取高产量的多种黑色素,包括真黑色素、脓黑色素。已有的改良思路包括选取固氮根瘤菌(*Rhizobium etli*)或链霉菌中编码酪氨酸酶的基因,并将此异源基因插入进大肠杆菌中,使菌株利用酪氨酸为底物生成真黑色素^[34]。而欲生成脓黑色素,依赖的分子基础是调控尿黑酸代谢途径的4-羟基苯丙酮酸双加氧酶(4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, 4-Hpd)及其编码基因*hpdD*。研究者克隆了铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和气单胞菌菌株相应的*hpdD*基因来构建大肠杆菌重组菌,实现了利用4-羟基苯丙酮酸为底物生成脓黑色素^[35,36]。也有研究通过代谢工程修饰菌株,在大肠杆菌中实现利用葡萄糖为能源合成更多的色素前体物质L-酪氨酸,进一步降低成本^[37]。此外,研究者开发了一株表达MutmelA的大肠杆菌突变株,可利用甘油作为碳源生成儿茶酚黑色素(catechol melanin)^[38]。苏云金芽孢菌(*Bacillus thuringiensis*)可在42℃下,利用L-酪氨酸合成脓黑色素,也有研究利用苏云金芽孢菌突变株BMB181在酪氨酸缺陷的生长培养基中实现异黑色素的合成^[39]。利用发酵肉汤培养苏云金芽孢杆菌48 h,通过培养液离心可获得黑色素的产率为3.0~5.0 g/L^[40]。苏云金芽孢菌突变株BMB181在不额外添加酪氨酸的基础下仍可产生大量的黑色素,相较于普通菌株有更高产量且该性状能稳定遗传^[41]。值得一提的是,目前已有研究利用世界上生长最快的细菌——需钠弧菌(*Vibrio natriegens*)为宿主^[42],通过异源合成的途径来制备DHN黑色素和脓黑色素。研究发现配合启动子以及在IPTG的诱导下,酪氨酸酶的表达量提高了100倍,在M9培养基中培养该菌株,黑色素的生产速度可达到每克细胞干重每小时420 mg,快于已报道的所有菌株。

2.2.2 真菌黑色素开发

真菌中可以提取到的黑色素有真黑色素和棕黑色素。目前从全球真菌制备黑色素的专利申请情况来看,热点研究方向集中在高产菌株筛选、培养条件优化、产物改性等方面。应用较多的菌种有短梗霉属(*Aureobasidium*)、木耳属(*Auricularia*)、粒毛盘菌属(*Lachnum*)、层孔菌属(*Fomes*)等^[43]。现已确定短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)可通过L-DOPA途径合成真黑色素^[44]。利用出芽短梗霉产黑的关键是调节碳源和氮源比例,因此培养过程中需调控葡萄糖和酵母浸膏的含量^[45]。耐辐射短梗霉菌株MF1优化后实现可溶性黑色素最高产量0.53 g/L,经过酸碱、光、热和耐氧化性的测试,证实了该黑色素具有较强的稳定性、水溶性、耐酸碱性和抗氧化性^[46]。研

究者找到了出芽短梗霉菌中一种大量产生B-聚苹果酸的诱变菌株TKPM00006可产生更大量的黑色素,同时还优化了高产菌株的发酵条件,大大提高了诱变育种的工作效率^[47]。另一种具有药用价值的可食用真菌黑木耳(*Auricularia auricula*)发酵生产可获得棕黑素,并在色素中保留更多有益生物活性。研究者利用超声波辅助提取黑木耳废渣中的黑色素,并对提取工艺进行优化,将黑色素得到率提升至 $(11.99 \pm 0.13)\%$ ^[48]。针对同样具有发展前景的桦褐孔菌(*Inonotus hispidus*),利用固态发酵培养基辅以超声波提取,可得到真黑素^[49]。采用马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB)液态发酵辛格粒毛盘菌(*Lachnum singerianum*)制备胞内黑色素,经理化性质证明为棕黑素^[50]。

3 黑色素的应用前景

基于天然黑色素的生物学功能,发挥其抗氧化、抗辐射、促进免疫、抗艾滋病毒、抗癌症等特性,在工业、农业、医药等方面都具有广泛的应用前景。

在工业上,黑色素因其具有光保护性、抗氧化性和染料特性而被应用于化妆产品的生产,例如防晒霜、抗衰老产品和天然染发剂等。例如利用斯氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)产生的黑色素来提高防晒霜的防晒系数^[51]。在食品加工业方面,黑色素作为一种天然着色剂、抗氧化剂和抑菌剂,可作为食品添加剂,起到调色、营养、延长保质期的作用。在电子领域,黑色素因具有电导性、光导性,可用作显示器、半导体、有机超导、光电装置等的材料。利用黑色素的防辐射特性,可生产防辐射的衣物、眼罩等用品^[52,53]。近来,黑色素复合材料是开发应用的一个新方向,例如在高分子材料聚氨酯(PU)和聚乙烯醇(PVA)中添加少量黑色素,可以提高PVA热降解温度,阻断其“拉链式”降解,得到高透明性的紫外线屏蔽纳米复合材料^[54]。

农业上,生物杀虫剂苏云金芽胞杆菌在我国具有广泛应用,但Bt毒蛋白稳定性较差,容易受到光照、气温等因素的影响,从而影响苏云金芽胞杆菌的杀虫效果。利用黑色素吸收紫外线的的能力,添加黑色素的苏云金芽胞杆菌可以有效降低紫外线对Bt毒蛋白的破坏^[55],提高Bt毒蛋白稳定性,进而增强杀虫效力。在已生产的添加黑色素的苏云金芽胞杆菌产品中应用效果有了明显提升。利用黑色素螯合重金属的特性,也可将其应用于环境治理^[16],例如斯氏假单胞菌产生的黑色素纳米颗粒可用于净化重金属污染的水域和土壤^[56]。

在医学诊疗领域,黑色素作为一种标志物可用于医学成像技术。在MRI中通过检测原位黑色素可实现对一些特殊疾病的诊断,如黑色素瘤^[57]。也有实验表明,来自茶叶和黑木耳的天然黑色素,能够显著提高抗氧化酶SOD活性,显著降低脂质过氧化产物MDA含量($P < 0.01$),缓解CCl₄诱导的急性肝损伤^[58]。纳米技术的兴起,黑色素纳米颗粒在保留黑色素的金属螯合力和光热转换特性的基础上,提升了生物可溶性和可降解能力,在肿瘤治疗中也开始发挥作用。研究人员将索拉菲尼(sorafenib, SRF)——受FDA批准肝癌激酶抑制剂,与黑色素结合构建水溶性的纳米药物递送的载体,显示对小鼠的肿瘤有良好的疗效^[59]。

4 展望

随着基因测序技术的渗透,更多黑色素合成酶编码的基因有待挖掘。微生物中黑色素合成调控的研究也有助于改造基因工程菌,实现更高产量。当然利用生物合成的方法获得黑色素,就不可避免的引入培养基中其他的化学物质,使得黑色素的纯化困难,甚至稳定性受到破坏。未来的发展方向,仍然是集中在开发基因工程菌株以提高产量,简化发酵工艺、结合基因组学和代谢组学相关技术,更高效的调控微生物中酪氨酸酶的表达。此外,为了提高黑色素的应用率,还需解决黑色素难溶于水,提取成本过高等多项难题。

参考文献

- [1] Plonka P M, Grabacka M. Melanin synthesis in microorganisms: biotechnological and medical aspects [J]. *Acta Biochim Polonica*, 2006, 53(3): 429-443.
- [2] Zaidi K U, Ali A S, Ali S A, *et al.* Microbial tyrosinases: promising enzymes for pharmaceutical, food bioprocessing, and environmental industry [J]. *Biochem Res Int*, 2014, 2014: 1-16.
- [3] Sone Y, Nakamura S, Sasaki M, *et al.* Bacterial enzymes catalyzing the synthesis of 1, 8-dihydroxynaphthalene, a key precursor of dihydroxynaphthalene melanin, from sporangium cellulosum [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2018, 84(9): 00258-18.
- [4] Pavan M E, López N I, Pettinari M J. Correction to: Melanin biosynthesis in bacteria, regulation and production perspectives [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(4): 1821-1822.
- [5] Pavan M E, Pavan E E, López N I, *et al.* Living in an extremely polluted environment: clues from the genome of melanin-producing *Aeromonas salmonicida* subsp.

- pectinolytica* 34mel^T [J]. Appl Environ Microbiol, 2015, 81(15): 5235-5248.
- [6] Qiao Y, Wang J, Wang H, *et al.* 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase thermolability is responsible for temperature-dependent melanogenesis in *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* [J]. Appl Environ Microbiol, 2018, 85(1): e01926-18.
- [7] 柴保中, 基于基因组测序的中间气单胞菌 WS 菌株黑色素调控研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2015.
Chai B Z. Study on melanin regulation of the WS strain of *Aeromonas intermediates* based on genome sequencing [D]. Wuhan: Wuhan University, 2015
- [8] Han H S, Iakovenko L, Wilson A C. Loss of homogentisate 1, 2-dioxygenase activity in *Bacillus anthracis* results in accumulation of protective pigment [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0128967.
- [9] Nosanchuk J D, Stark R E, Casadevall A. Fungal melanin: what do we know about structure? [J]. Front Microbiol, 2015, 6: 1463.
- [10] Ao J, Bandyopadhyay S, Free S J. Characterization of the *Neurospora crassa* DHN melanin biosynthetic pathway in developing ascospores and peridium cells [J]. Fungal Biol, 2019, 123(1): 1-9.
- [11] Frandsen R J N, Rasmussen S A, Knudsen P B, *et al.* Black perithecial pigmentation in *Fusarium* species is due to the accumulation of 5-deoxybostrycoidin-based melanin [J]. Sci Rep, 2016, 6: 26206.
- [12] Geib E, Gressler M, Viedernikova I, *et al.* A non-canonical melanin biosynthesis pathway protects *Aspergillus terreus* conidia from environmental stress [J]. Cell Chem Biol, 2016, 23(5): 587-597.
- [13] Weijn A, Bastiaan-Net S, Wichers H J, *et al.* Melanin biosynthesis pathway in *Agaricus bisporus* mushrooms [J]. Fungal Genet Biol, 2013, 55: 42-53.
- [14] Eisenman H C, Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93(3): 931-940.
- [15] Toledo A V, Franco M E E, Yanil Lopez S M, *et al.* Melanins in fungi: types, localization and putative biological roles [J]. Physiol Mol Plant Pathol, 2017, 99: 2-6.
- [16] Purvis O W, Bailey E H, McLean J, *et al.* Uranium biosorption by the lichen *Trapelia involute* at a uranium mine [J]. Geomicrobiol J, 2004, 21(3): 159-167.
- [17] Sugumaran M, Berek H. Critical analysis of the melanogenic pathway in insects and higher animals [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(10): 1753.
- [18] 熊和丽, 席冬梅, 李国治, 等. 动物黑色素细胞及其相关性状形成机制的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(1): 72-79.
- Xiong H L, Xi D M, Li G Z, *et al.* Research advances on the formation mechanism of animal melanocytes and its related traits [J]. China Animal Husbandry Vet Med, 2019, 46(1): 72-79.
- [19] 李和生, 李晓, 董亚辉, 等. 乌贼墨黑色素的超微结构及抗氧化活性研究 [J]. 中国食品学报, 2012, 12(10): 62-66.
Li H S, Li X, Dong Y H, *et al.* Ultrastructure and antioxidative activity of melanin from cuttlefish [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2012, 12(10): 62-66.
- [20] McGraw K J. An update on the honesty of melanin-based color signals in birds [J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2008, 21(2): 133-138.
- [21] 王一芩, 周佳磊, 白凯文, 等. 黑色素瘤的发病机制和治疗方法研究进展 [J]. 药物生物技术, 2019, 26(4): 357-361.
Wang Y Q, Zhou J L, Bai K W, *et al.* The pathogenesis and treatment of melanoma [J]. Pharm Biotechnol, 2019, 26(4): 357-361.
- [22] d'Ischia M, Wakamatsu K, Cicoira F, *et al.* Melanins and melanogenesis: from pigment cells to human health and technological applications [J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2015, 28(5): 520-544.
- [23] Solano F. Melanins: skin pigments and much more——types, structural models, biological functions, and formation routes [J]. New J Sci, 2014, 2014: 1-28.
- [24] Taranto F, Pasqualone A, Mangini G, *et al.* Polyphenol oxidases in crops: biochemical, physiological and genetic aspects [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2): 377.
- [25] Fukuda A, Shimizu H, Shiratsuchi H, *et al.* Complementary genes that cause black ripening hulls in F1 Plants of crosses between *Indica* and *Japonica* rice cultivars [J]. Plant Prod Sci, 2012, 15(4): 270-273.
- [26] Long Z K, Jia Y, Tan C, *et al.* Genetic mapping and evolutionary analyses of the black grain trait in barley [J]. Front Plant Sci, 2019, 9: 1921.
- [27] Shoeva O Y, Mock H P, Kukoeva T V, *et al.* Regulation of the flavonoid biosynthesis pathway genes in purple and black grains of *Hordeum vulgare* [J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0163782.
- [28] Glagoleva A Y, Shoeva O Y, Khlestkina E K. Melanin pigment in plants: current knowledge and future perspectives. Front Plant sci, 2020, 11: 770.
- [29] 马养民, 王改利, 杨秀芳. 植物黑色素的研究进展 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(8): 189-194.
Ma Y M, Wang G L, Yang X F. Research progress on plant melanin [J]. J Northwest Sci-Tech Univ Agr,

- 2013, 41(8): 189-194.
- [30] Liu Y, Kempf V R, Nofsinger J B, *et al.* Comparison of the structural and physical properties of human hair eumelanin following enzymatic or acid/base extraction [J]. *Pigment Cell Research*, 2010, 16(4): 355-365.
- [31] 刘相莹, 王利平, 熊和丽, 等. 动物黑色素资源研究进展 [J]. *现代畜牧兽医*, 2017(1): 28-32.
- Liu X Y, Wang L P, Xiong H L, *et al.* The research progress of animal melanin [J]. *Mod J Animal Husbandry Vet Med*, 2017(1): 28-32.
- [32] 戴宏杰, 陈启彪, 曹子璇, 等. 乌贼生物活性物质研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45: 281-289.
- Dai H J, Chen Q B, Cao Z X, *et al.* Research progress on bioactive substances of cuttlefish [J]. *Food and Fermentation Industries* 2019, 45: 281-289.
- [33] Guo J, Rao Z M, Yang T W, *et al.* High-level production of melanin by a novel isolate of *Streptomyces kathirae* [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2014, 357(1): 85-91.
- [34] Lagunas-Muoz V H, Cabrera-Valladares N, Bolivar F, *et al.* Optimum melanin production using recombinant *Escherichia coli* [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 101(5): 1002-1008.
- [35] Bolognese F, Scanferla C, Caruso E, *et al.* Bacterial melanin production by heterologous expression of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase from *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 133: 1072-1080.
- [36] Wang H, Qiao Y Q, Chai B Z, *et al.* Identification and molecular characterization of the homogentisate pathway responsible for pyromelanin production, the major melanin constituents in *Aeromonas media* WS [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0120923.
- [37] Lagunas-Muñoz V H, Cabrera-Valladares N, Bolivar F, *et al.* Optimum melanin production using recombinant *Escherichia coli* [J]. *J Appl Microbiol*, 2006, 101(5): 1002-1008.
- [38] Mejia-Caballero A, de Anda R, Hernández-Chávez G, *et al.* Biosynthesis of catechol melanin from glycerol employing metabolically engineered *Escherichia coli* [J]. *Microb Cell Fact*, 2016, 15: 161.
- [39] Yang W, Ruan L, Tao J, *et al.* Single amino acid substitution in homogentisate dioxygenase affects melanin production in *Bacillus thuringiensis*. *Front Microbiol*, 2019, 9: 2242.
- [40] Anthony T, Rajesh T, Kayalvizhi N, *et al.* Influence of medium components and fermentation conditions on the production of bacteriocin(s) by *Bacillus licheniformis* AnBa9 [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100(2): 872-877.
- [41] 刘凤侠, 杨文君, 阮丽芳, 等. 超氧化物歧化酶与苏云金芽胞杆菌高温诱导产黑色素相关 [J]. *华中农业大学学报*, 2012, 31(1): 39-43.
- Liu F X, Yang W J, Ruan L F, *et al.* Superoxide dismutase and the melanin production in *Bacillus thuringiensis* induced by high temperature [J]. *J Huazhong Agric Univ*, 2012, 31(1): 39-43.
- [42] Wang Z, Tschirhart T, Schultzhause Z, *et al.* Melanin produced by the fast-growing marine bacterium *Vibrio natriegens* through heterologous biosynthesis: characterization and application [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2019, 86(5): e02749-19.
- [43] 侯若琳, 王丹亭, 刘鑫, 等. 基于国际专利数据的真菌黑色素创新发展趋势分析 [J]. *微生物学通报*, 2019, 46(6): 1470-1484.
- Hou R L, Wang D T, Liu X, *et al.* Analysis of innovation trend of fungal melanin based on international patent data [J]. *Microbiology*, 2019, 46(6): 1470-1484.
- [44] Ye M, Guo G Y, Lu Y, *et al.* Purification, structure and anti-radiation activity of melanin from *Lachnum* YM404 [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 63: 170-176.
- [45] Zheng W F, Campbell B S, McDougall B M, *et al.* Effects of melanin on the accumulation of exopolysaccharides by *Aureobasidium pullulans* grown on nitrate [J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(16): 7480-7486.
- [46] 朱静, 房世杰, 王玮, 等. 耐辐射短梗霉黑色素的发酵条件优化及稳定性研究 [J]. *新疆农业科学*, 2016, 53(9): 1692-1699.
- Zhu J, Fang S J, Wang W, *et al.* Study on the optimization of fermentation conditions and stability of melanin from a radiation-resistant *Aureobasidium pullulans* [J]. *Xinjiang Agric Sci*, 2016, 53(9): 1692-1699.
- [47] 敖爱华. 短梗霉产黑色素过程的优化及黑色素的提取 [D]. 天津: 天津科技大学, 2012.
- Ao A H. Optimization of melanin production process and extraction of melanin in mildew [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2012.
- [48] Liu X, Hou R L, Wang D T, *et al.* Comprehensive utilization of edible mushroom *Auricularia auricula* waste residue: extraction, physicochemical properties of melanin and its antioxidant activity [J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(11): 3774-3783.
- [49] Hou R L, Liu X, Xiang K K, *et al.* Characterization of the physicochemical properties and extraction optimization of natural melanin from *Inonotus hispidus* mushroom [J]. *Food Chem*, 2019, 277: 533-542.
- [50] 合肥工业大学. 一株辛格粒毛盘菌及其液态发酵制备胞内黑色素法: CN201110072469. 2 [P]. 2011-09-28.
- Hefei University of Technology. A strain of *Cingulate pellet* and its liquid fermentation method for preparing in-

- tracellular melanin :CN201110072469.2 [P]. 2011-09-28.
- [51] Kurian N K, Bhat S G. Data on the characterization of non-cytotoxic pyomelanin produced by marine *Pseudomonas stutzeri* BTCZ10 with cosmetological importance [J]. Data Brief, 2018, 18: 1889-1894.
- [52] Patel K R, Wyman J A, Patel K A, *et al.* A mutant of *Bacillus thuringiensis* producing a dark-brown pigment with increased UV resistance and insecticidal activity [J]. J Invertebr Pathol, 1996, 67(2): 120-124.
- [53] 燕玉清, 赵红. 脉络膜黑色素瘤的核磁诊断价值 [J]. 中国CT和MRI杂志, 2018, 16(8): 33-34, 64.
Yan Y Q, Zhao H. The Value of nuclear magnetic diagnosis of choroidal melanoma [J]. Chinese Journal of CT and MRI, 2018, 16(8): 33-34, 64.
- [54] Zhang R P, Fan Q L, Yang M, *et al.* Engineering melanin nanoparticles as an efficient drug-delivery system for imaging-guided chemotherapy [J]. Adv Mater, 2015, 27(34): 5063-5069.
- [55] Rizvi A, Ahmed B, Zaidi A, *et al.* Bioreduction of toxicity influenced by bioactive molecules secreted under metal stress by *Azotobacter chroococcum* [J]. Ecotoxicology, 2019, 28(3): 302-322.
- [56] Thaira H, Raval K, Manirethan V, *et al.* Melanin nanoparticles for heavy metal remediation from water [J]. Sep Sci Technol, 2019, 54(2): 265-274.
- [57] 汪洋, 东为富. 黑色素的结构、性质及其在纳米复合材料领域的应用 [J]. 中国材料进展, 2019, 38(5): 470-479.
Wang Y, Dong W F. Structure and properties of melanin and its application in nanocomposites [J]. Mater China, 2019, 38(5): 470-479.
- [58] 刘城移, 戚梦, 吕虹燕, 等. 黑木耳黑色素对急性肝损伤的改善作用 [J]. 菌物学报, 2018, 37(12): 1741-1750.
Liu C Y, Qi M, Lü H Y, *et al.* The improvement of *Auricularia heimuer* melanin on acute liver injured mice [J]. Mycosystema, 2018, 37(12): 1741-1750.
- [59] Zhang R, Fan Q, Yang M, *et al.* Engineering melanin nanoparticles as an efficient drug-delivery system for imaging guided chemotherapy [J]. Advanced Materials, 2015, 27(34): 5063-5069.
- (编辑: 梅楠)