多环芳烃微生物降解基因的研究进展*

郑 乐[1,2] 刘 宛[1**] 李培军[1]

([1] 中国科学院沈阳应用生态研究所,沈阳 110016;[2] 中国科学院研究生院,北京 100039)

摘 要 多环芳烃(PAHs)是环境中普遍存在的一类有机污染物,微生物的降解是PAHs去除的主要途径。近年来,有关PAHs微生物降解途径和代谢产物的研究已有很多报道。小分子PAHs一般可以直接被微生物降解,而大分子PAHs则需要微生物以共代谢的方式降解。在过去20年中,微生物降解PAHs的基因相继被发现,各种基因在调控PAHs降解过程中的功能也越来越清晰。本文概述了PAHs微生物降解基因方面的研究进展,详细介绍了微生物对萘、菲的降解基因,最后对PAHs微生物降解基因的应用前景进行了展望。

关键词 多环芳烃;微生物降解;降解基因

中图分类号 X172 **文献标识码** A **文章编号** 1000 - 4890(2007)03 - 0449 - 06

Polycyclic aromatic hydrocarbons-degradation genes of microbes: A research review.

ZHENG Le[1,2], LIU Wan[1], LI Pei-jun[1] ([1]*Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang* 110016, *China*; [2]*Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100039, *China*). *Chinese Journal of Ecology*, 2007, **26**(3): 449 - 454.

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous in the environment, while microbial degradation is considered to be an essential approach in their decontamination. Many researches have been made on the pathways and metabolic intermediates of PAHs degradation. In general, low molecular weight PAHs can be degraded by microbes directly, while the microbial degradation of high molecular weight PAHs should be carried through by co-metabolism. In the last two decades, the PAHs-degradation genes of microbes were discovered consecutively, and their structure-function relationships were studied. This paper summarized the research advances in these fields, with the focus on the genes in the microbial degradation of naphthalene and phenanthrene, and discussed their application prospects.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); microbial degradation; degradation gene.

1 引 言

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是指由2个或2个以上的高温获得的苯环以直链状、角状或串状排列组成的化合物,是有机物不完全燃烧或高温裂解的副产品(高学晟等,2002),广泛存在于土壤、水体和空气中。PAHs水溶性差、具有热稳定性,而且其中相当的一部分具有致癌、致畸、致突变性,对人类健康及生态环境构成很大危害,因此美国环保局(USEPA)在20世纪70年代末就将16种PAHs列为优先污染物(Keith & Telliard, 1979)。

随着PAHs带来的环境污染问题日益突出,相关研究不断深入。微生物降解是环境中尤其是土壤中PAHs去除的主要方式,目前,研究的重点已经从一般寻找降解污染物的微生物转入微生物代谢途径、遗传调控机制和高效基因工程菌的研究(田蕴等,2003)。国内外许多学者已经对PAHs的微生物降解作了综述(Cerniglia, 1993;郭楚玲等,2000;Juhasz & Naidu, 2000;Kanaly & Harayama, 2000;包贞等,2003;陶雪琴等,2003;田蕴等,2003;Mrozik *et al.*, 2003),但多集中在微生物的降解途径以及中间代谢产物等方面。本文主要就微生物对PAHs的降解基因进行综述。

* 国家自然科学基金重点项目(20337010)、国家重点基础研究发展规划项目(2004CB418506)和国家自然科学基金资助项目(20377043)。

** 通讯作者 E-mail: liuwan63@hotmail.com

收稿日期:2006-05-09 接受日期:2006-10-27

2 微生物对 PAHs 的降解作用

2.1 微生物降解 PAHs 的途径

微生物对 PAHs 的降解一般通过 2 种方式:1)以 PAHs 作为惟一的碳源和能源生活而将其降解;2)把 PAHs 与其它有机质共代谢(或共氧化)而降解(丁克强和骆永明,2001;包贞等,2003;陶雪琴等,2003;田蕴等,2003)。

微生物可以直接降解萘、菲等小分子 PAHs,而苯并[α]芘等大分子 PAHs 的生物降解一般均以共代谢方式进行。共代谢作用可以提高微生物降解 PAHs 的效率,改变微生物碳源与能源的底物结构,增大微生物对碳源和能源的选择范围,从而达到难降解 PAHs 最终被微生物利用并降解的目的(巩宗强等,2000)。

2.2 微生物降解 PAHs 的关键酶

PAHs 降解过程实际上是一系列酶促反应过程,微生物降解 PAHs 依赖于酶的活性。真菌产生单加氧酶,细菌产生双加氧酶(郭楚玲等,2000;丁克强和骆永明,2001;包贞等,2003;陶雪琴等,2003;田蕴等,2003)。在目前已知的代谢途径中,芳香环通过羟基化后经过环的开裂再进一步代谢,已成为最为显著的共性。在细菌对多环芳烃的代谢过程中有两个关键酶,即第一步反应的起始双加氧酶,在它的作用下完成氧对芳香环的进攻,另一个是芳香环开环裂解关键酶即邻苯二酚双加氧酶,在它的作用下使 PAHs 彻底开环裂解,生成三羧酸循环中间物。

多环芳烃代谢过程中的这两种酶及其相关基因,一直是科学研究领域中的热点之一。目前已知的能催化氧化芳香烃类化合物的双加氧酶大约有 40 余种,国外的相关研究已经深入到反应机理的研究、双加氧酶结构与功能的分子生物学改造以及相关基因结构与起源的研究等领域(章俭和夏春谷,2004),国内在此方面的研究也取得了一定进展(罗如新等,1999;张杰等,2003;钟文辉等,2004;周德平等,2004)。

3 PAHs 降解基因

3.1 降解性质粒

编码降解 PAHs 关键酶的基因有的位于染色体上,有的位于质粒上。位于染色体上的基因较为稳定且基因承载量大。质粒是染色体外的遗传因子,具有复制和控制机构,能够在细胞质中独立自主地进行自身复制,并使子代细胞保持它们恒定的拷贝数。降解性质粒(degradative plasmid)是一类编码有降解某些化学物功能的质粒,在微生物对污染环境的适应和对环境污染物的降解中有着特殊意义,到目前为止,国际上从自然界分离的菌株中发现的天然降解性质粒共约有 30 种(胡尚勤和刘天贵,2003)。

随着功能基因底物的不断复杂化,芳香环数量增加,所需的双加氧酶基因及其所在的操纵元都将变得庞大起来,一般小质粒不能承载,这时通常降解基因位于染色体上,或者染色体分担质粒的负担,或质粒线性化、扩大化。

3.2 小分子 PAHs 的降解基因

3.2.1 萘的降解基因 萘是最简单的 PAHs,相关研究最早也最为深入和透彻。土壤中假单胞菌降解萘首次报道于 1964 年(Davies & Evans,1964),萘的代谢通常被位于大质粒上的基因所调控,这其中研究最透彻的是 *Pseudomonas putida* G7 的 83 kb NAH7 质粒。研究表明(Yen & Gunsalus,1982;Grund & Gunsalus,1983;Yen & Gunsalus,1985),萘的降解基因组成 3 个操纵子,第 1 个操纵子(上游操纵子)*nah*1 编码的酶使萘转化成水杨酸;第 2 个操纵子(下游操纵子)*nah*2 编码的酶通过间位裂解的方式把水杨酸进一步降解成三羧酸循环的中心代谢产物;第 3 个操纵子 *nah*R 位于以上 2 个操纵子之间,是调节基因,它编码的蛋白对 *nah*1 和 *nah*2 的表达进行正调控。

20 世纪 80 年代末 90 年代初陆续有学者对与 NAH7 质粒相似的质粒进行了研究,在一些假单胞菌属的菌株中,编码萘上游代谢途径酶的基因的核苷酸序列相继被报道:*P. putida* strain NCIB9816 的 *ndo* 基因(Kurkela *et al.*, 1988)、*P. putida* G7 和 NCIB9816-4 的 *nah* 基因(Simon *et al.*, 1993;Eaton,1994)、*Pseudomonas* sp. strain C18 的 *dox* 基因(Denome *et al.*, 1993)、*P. putida* OUS82 和 *P. aeruginosa* PaK1 的 *pah* 基因(Takizawa 1994;Takizawa *et al.*, 1999)以及 *P. stutzeri* AN10 的 *nah* 基因(Bosch *et al.*, 1999, 2000)等,在这些菌株的上游代谢途径基因中,基因的组织和序列的相似性(大约 90%)均与 *P. putida* G7 的 NAH 质粒的 *nah* 基因非常相似,它们通常被称为"经典的 *nah-like* 基因"。部分假单胞菌萘上游代谢途径基因的结构如图 1(Hiroshi & Toshio,2003)。

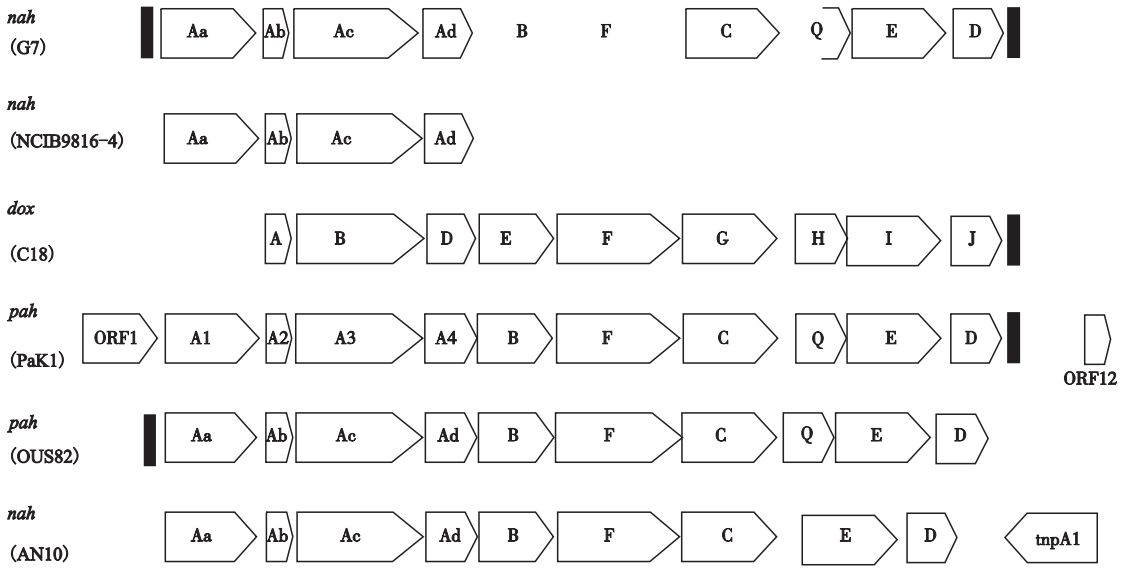

图 1　假单胞菌萘上游代谢途径基因结构

Fig. 1　Genetic organization of upper catabolic pathway for naphthalene degradation in *Pseudomonas* strains

在以上基因中,上游代谢途径基因序列完全明确的有 OUS82、PaK1 和 AN10,然而到目前为止,对于下游代谢途径的基因只有 AN10 的完整序列被确定:上游序列为 *nah*AaAbAcAdBFCED,下游序列为 *nah*RGTHINLOMKJ,而且与多数菌株不同的是,AN10 的降解基因位于染色体而非质粒上。

近年来,国内学者在此方面的研究也取得了一定的成绩,张心平等(2000)、蔡宝立等(2002)、赵化冰等(2004)从工业废水中分离出能降解萘的 *Pseudomonas* sp. ND6 菌株,并证明该菌株中含有一个 115 kb 的大质粒 pND6,通过 DNA 杂交实验表明 pND6 质粒含有与 *Pseudomonas putida* G7 菌株 NAH7 质粒同源的萘降解基因;而后他们制备了含有 pND6 – 1 随即片段的基因文库,并从中筛选出含有萘趋化基因 *nah*Y(1617bp)的克隆,与 G7 菌株 *nah*Y 基因的核苷酸序列具有较高的同源性;2004 年,他们以 pUC18 质粒为载体,制备了含有水杨酸羟化酶基因 *nah*G(1305bp)的克隆,与 NCIB9816 – 4 菌株的水杨酸羟化酶基因相比,其核苷酸序列同源性达到了 100%。

3.2.2　菲的降解基因　在对萘降解基因研究的基础上,一部分菲的降解基因已经被确定。Goyal 和 Zylstra(1996)分离出 3 株降解菲的丛毛单胞菌 *Comamonas testosteroni* GZ38A, GZ39 和 GZ42, Zylstra 等(1997)报道了 GZ39 降解菲的 *phd* 基因顺序为 *phd*AbAaBAcAdDE,*phd*Ab 基因编码铁氧化还原蛋白,*phd*Aa 基因编码铁氧化还原蛋白还原酶,*phd*B 基因编码顺式-二羟基脱氢酶,*phd*Ac 和 *phd*Ad 基因分别编码铁硫蛋白(ISP)的大(α)、小(β)亚基,*phd*D 基因编码异构酶,*phd*E 基因编码水合酶 – 醛缩酶。GZ38A 的菲降解基因与 GZ39 相似但有所不同,GZ42 却没有任何与 *phd* 基因相似的基因,说明在这 3 株菌中至少存在 2 组不同的菲降解基因,而且这些基因与 *P. putida* NCIB9816-4 的 *nah* 基因不具有同源性。

Laurie 和 Lloyd-Jones(1999)报道了不同的菲降解基因 *phn*,*phn* 基因来自 *Burkholderia* sp. RP007,该菌能以菲为惟一碳源和能源生长,同时也可以降解其它小分子 PAHs,如萘和蒽。他们通过逆转录 PCR(RT-PCR)实验和生物转化实验从两个方面证明了 *phn* 基因对菲的降解,*phn* 基因尽管在功能上与经典的 *nah-like* 基因相似,但与其同源性非常低。*phn* 基因位于 11.5 kb 的 *Hind*Ⅲ片段上,由 9 个开放阅读框(ORFs)组成,基因顺序为 *phn*RSFECDAcAdB,其中 *phn*R 和 *phn*S 是 2 个调控基因,*phn*F 基因编码乙醛脱氢酶,*phn*E 基因编码水合酶 – 醛缩酶,*phn*C 基因编码外源型双加氧酶,*phn*D 基因编码异构酶,*phn*Ac 基因和 *phn*Ad 基因分别编码起始双加氧酶铁硫蛋白(ISP)的大(α)、小(β)亚基,*phn*B 基因编码二羟基脱氢酶。

在菲的降解基因中,研究比较多的还有 *Nocardioides* sp. KP7 的 *phd* 基因,基因的结构和序列的相似性上的差别显示 *phd* 基因是区别于以往的一类新的 PAHs 降解基因。Iwabuchi 和 Harayama(1997,

1998)连续报道了 *Norcardioides* sp. KP7 在菲降解途径中,3 种酶-2-羧基苯甲醛脱氢酶、1-羟基-2-萘双加氧酶和反式-2-羧基苯亚甲基丙酮酸盐水合酶 – 醛缩酶的生物化学、分子生物学以及遗传学特性,他们将这些酶的结构基因进行了克隆和测序,发现了分别由 3 个基因 *phd*I、*phd*J 和 *phd*K 所编码,除了 *phd*IJK 基因外,关于将 1 – 羟基 – 2 – 萘甲酸盐转化成邻苯二甲酸盐的代谢基因还未见报道。随着研究的深入,KP7 编码降解菲的另一个基因簇 *phd*EFAB-GHCD 被发现,研究表明该基因簇位于 *phd*IJK 的下游 6.1 kb 处,对 *phd*A、*phd*B、*phd*C、*phd*E、*phd*D、*phd*F、*phd*G、*phd*H 等基因的产物及功能进行了分析,在将 *phd*ABCD 转入大肠杆菌中后,大肠杆菌 *E. coli* BL21(DE3)获得了降解菲的能力(Saito *et al.*, 1999)。

国内对菲的降解基因已有很多研究,张杰等(2003)从辽河油田稠油污染土壤中分离出菲的优势降解菌株 *Sphingomonas* sp. ZL5,ZL5 含有一个大小约为 60 kb 的质粒,通过丝裂霉素 C 消除法和转化法表明与菲降解有关的基因位于菌株 ZL5 的内生质粒上。以 ZL5 的代谢性质粒为模板,扩增出邻苯二酚 2,3-双加氧酶(C23O)基因,通过杂交对其进行定位,结果表明 ZL5 的 C23O 基因分别位于内生质粒 7kb 的 *Bam*HI 片断、25 kb 的 *Bgl* Ⅱ 片断、20 kb 的 *Hind* Ⅲ 片断和 6kb 的 *Kpn* Ⅰ 酶切片断上。将该基因和表达载体 pET-30a(+)连接,转化 *E. coli* JM109(DE3),获得了高效表达的转化子。

周德平等(2003,2004)从石油污染土壤中分离纯化到能降解菲的菌株 *Sphingomonas paucimobilis* ZX4,利用 PCR 扩增分离得到 ZX4 的邻苯二酚 2,3-双加氧酶基因(C23O-ZX4)。核苷酸序列测定与分析表明,该基因片段全长 924 bp 并且具有一个完整的阅读框,编码 306 个氨基酸残基。序列分析结果表明,该基因与已报道的 *Sphingomonas yanoikuyae* B1 和 *Sphingomonas* sp. KMG425 的 *xylE* 基因的核苷酸序列同源性分别高达 94.37% 和 94.05%。

3.3 大分子 PAHs 的降解基因

3.3.1 芘的降解基因 芘在大分子 PAHs 的生物降解中经常被作为一种模式化合物,微生物在芘的降解过程中也起到很重要的作用。长期以来对芘的微生物降解主要集中在对降解途径的研究,Wang 等(2000)报道了 *Mycobacterium* sp. PYR-1 在芘降解途径中,编码过氧化氢酶 – 过氧化物酶的 *KatG* 基因,将 *KatG* 基因在 *E. coli* 中表达,使蛋白获得了过氧化氢酶 – 过氧化物酶的活性。

Khan 等(2001)报道了 PYR-1 编码双加氧酶的基因,*nid*D 基因编码脱氢酶,*nid*B 基因编码双加氧酶的小(β)亚基,*nid*A 基因编码双加氧酶的大(α)亚基,基因顺序为 *nid*DBA。这种 PAH-双加氧酶的 β 和 α 亚基顺序(*nid*BA)与编码其它细菌双加氧酶系统的基因不同,非常少见。

3.3.2 苯并[α]芘的降解基因 能降解苯并[α]芘的微生物已有很多报道,而且对于苯并[α]芘的代谢途径也已逐渐清晰(Schneider *et al.*, 1996; Moody *et al.*, 2004),但关于其降解基因的报道至今未见,这也是今后研究的一个热点和方向。

4 前景与展望

随着对 PAHs 微生物降解途径和机理的不断探索,从分子水平上认识的逐渐深入,已经确定的萘、菲等小分子 PAHs 代谢基因的数目越来越多、功能越来越明确,这些都将为 PAHs 的生物修复提供更多的理论依据。然而,环境中存留时间更长、危害性更强的是芘和苯并[α]芘等四环及以上的 PAHs,对这些 PAHs 降解基因的认识还非常有限,因此继续对这些基因进行深入的研究是十分必要的,而且具有重大意义。

随着现代分子生物学的发展,新的生物技术手段不断被应用于 PAHs 污染的生物修复,PCR 技术的成熟和发展使发现更多新的代谢基因成为可能,通过基因重组构建 PAHs 的高效降解菌株,寻找 PAHs 新的降解途径并实际应用于生物修复过程,科学家们任重而道远。

参考文献

包 贞,潘志彦,杨 晔,等. 2003. 环境中多环芳烃的分布及降解. 浙江工业大学学报,**31**(5):528 – 533.

蔡宝立,刘 斌,马 琳,等. 2002. 萘降解质粒 pND6-1 中萘趋化基因 *nah*Y 的克隆和核苷酸序列分析. 应用与环境生物学报,**8**(6):662 – 665.

丁克强,骆永明. 2001. 多环芳烃污染土壤的生物修复. 土壤,(4):169 – 178.

高学晟,姜 霞,区自清. 2002. 多环芳烃在土壤中的行为. 应用生态学报,**13**(4):501 – 504.

巩宗强,李培军,王 新,等. 2000. 污染土壤中多环芳烃的共代谢降解过程. 生态学杂志,**19**(6):40 – 45.

郭楚玲,郑天凌,洪华生. 2000. 多环芳烃的微生物降解与

生物修复. 海洋环境科学, **19**(3): 24 – 29.

胡尚勤, 刘天贵. 2003. 天然降解性质粒在控制环境持久性有机污染物中的应用. 重庆环境科学, **25**(12): 174 – 176.

罗如新, 张素琴, 李顺鹏. 1999. 邻苯二酚 1,2-双加氧酶(C12O)基因的定位、克隆和表达. 应用与环境生物学报, **5**(2): 208 – 211.

陶雪琴, 党　志, 卢桂宁, 等. 2003. 污染土壤中多环芳烃的微生物降解及其机理研究进展. 矿物岩石地球化学通报, **22**(4): 356 – 360.

田　蕴, 郑天凌, 胡　忠. 2003. 海洋环境中多环芳烃的微生物降解研究进展. 应用与环境生物学报, **9**(4): 439 – 443.

张　杰, 刘永生, 冯家勋, 等. 2003a. 多环芳烃降解菌 ZL5 分离鉴定及其降解质粒. 应用与环境生物学报, **9**(4): 433 – 435.

张　杰, 刘永生, 冯家勋, 等. 2003b. 邻苯二酚 2,3-双加氧酶基因克隆、定位和高效表达. 应用与环境生物学报, **9**(5): 542 – 545.

张　杰, 刘永生, 孟　玲, 等. 2003. 多环芳烃降解菌筛选及其降解特性. 应用生态学报, **14**(10): 1783 – 1786.

张心平, 岳晓含, 黄今勇, 等. 2000. 萘降解质粒 pND6 的分离和鉴定. 应用与环境生物学报, **6**(2): 187 – 190.

章　俭, 夏春谷. 2004. 芳香烃双加氧酶的结构与功能研究. 化学进展, **16**(1): 116 – 122.

赵化冰, 刘　斌, 马　琳, 等. 2004. 假单胞菌 ND6 菌株水杨酸羟化酶基因(*nah*G)的核苷酸序列分析和酶鉴定. 南开大学学报(自然科学版), **37**(4): 95 – 99.

钟文辉, 何国庆, 孙　明, 等. 2004. 假单胞菌的氯儿茶酚 1,2-双加氧酶基因的克隆和表达. 中国环境科学, **24**(2): 175 – 179.

周德平, 闵　航, 夏　颖, 等. 2004. 少动鞘氨醇单胞菌 ZX4 儿茶酚 2,3-双加氧酶基因的克隆与序列分析. 农业生物技术学报, **12**(2): 192 – 196.

周德平, 夏　颖, 韩如旸, 等. 2003. 三株菲降解菌的分离、鉴定及降解特性的研究. 微生物学报, **43**(6): 691 – 697.

Bosch R, Garcia-Valdés E, Moore ERB. 1999. Genetic characterization and evolutionary implications of a chromosomally encoded naphthalene degradation upper pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Gene*, **236**(1): 149 – 157.

Bosch R, Garcia-Valdés E, Moore ERB. 2000. Complete nucleotide sequence and evolutionary significance of a chromosomally encoded naphthalene-degradation lower pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Gene*, **245**(1): 65 – 74.

Cerniglia CE. 1993. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*, **4**(3): 331 – 338.

Davies JI, Evans WC. 1964. Oxidative metabolism of naphthalene by soil pseudomonads: The ring-fission mechanism. *Biochemical Journal*, **91**(2): 251 – 261.

Denome SA, Stanley DC, Olson ES, *et al*. 1993. Metabolism of dibenzothiophene and naphthalene in Pseudomonas strains: Complete DNA sequence of an upper naphthalene catabolic pathway. *Journal of Bacteriology*, **175**(21): 6890 – 6901.

Eaton RW. 1994. Organization and evolution of naphthalene catabolic pathways: Sequence of the DNA encoding 2-hydroxychromene-2-carboxylate isomerase and trans-o-hydroxybenzylidenepyruvate hydratase-aldolase from the NAH7 plasmid. *Journal of Bacteriology*, **176**(24): 7757 – 7762.

Goyal AK, Zylstra GJ. 1996. Molecular cloning of novel genes for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation from *Comamonas testosteroni* GZ39. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**(1): 230 – 236.

Grund AD, Gunsalus IC. 1983. Cloning of genes for naphthalene metabolism in *Pseudomonas putida*. *Journal of Bacteriology*, **156**(1): 89 – 94.

Hiroshi H, Toshio O. 2003. Genetics of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in diverse aerobic bacteria. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **67**(2): 225 – 243.

Iwabuchi T, Harayama S. 1997. Biochemical and genetic characterization of 2-carboxybenzaldehyde dehydrogenase, an enzyme involved in phenanthrene degradation by *Nocardioides* sp. strain KP7. *Journal of Bacteriology*, **179**(20): 6488 – 6494.

Iwabuchi T, Harayama S. 1998. Biochemical and molecular characterization of 1-hydroxy-2-naphthoate dioxygenase from *Nocardioides* sp. KP7. *The Journal of Biological Chemistry*, **273**(14): 8332 – 8336.

Iwabuchi T, Harayama S. 1998. Biochemical and genetic characterization of trans-2'-carboxybenzalpyruvate hydratase-aldolase from phenanthrene-degrading *Nocardioides* strain. *Journal of Bacteriology*, **180**(4): 945 – 949.

Juhasz AL, Naidu R. 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the microbial degradation of benzo[α]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **45**(1-2): 57 – 88.

Kanaly RA, Harayama S. 2000. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology*, **182**(8): 2059 – 2067.

Keith LH, Telliard WA. 1979. Priority pollutants: I-A perspective view. *Environmental Science & Technology*, **13**(4): 416 – 423.

Khan AA, Wang RF, Cao WW, *et al*. 2001. Molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of genes encoding a polycyclic aromatic ring dioxygenase from *Mycobacte-*

rium sp. strain PYR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**(8): 3577-3585.

Kurkela S, Lehväslaiho H, Palva ET, *et al*. 1988. Cloning, nucleotide sequence and characterization of genes encoding naphthalene dioxygenase of *Pseudomonas putida* strain NCIB9816. *Gene*, **73**(2): 355-362.

Laurie AD, Lloyd-Jones G. 1999. The *phn* genes of *Burkholderia* sp. strain RP007 constitute a divergent gene cluster for polycyclic aromatic hydrocarbon catabolism. *Journal of Bacteriology*, **181**(2): 531-540.

Moody JD, Freeman JP, Fu PP, *et al*. 2004. Degradation of benzo[α]pyrene by Mycobacterium vanbaalenii PYR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**(1): 340-345.

Mrozik A, Piotrowska-Seget Z, Labuzek S. 2003. Bacterial degradation and bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polish Journal of Environmental Studies*, **12**(1): 15-25.

Saito A, Iwabuchi T, Harayama S. 1999. Characterization of genes for enzymes involved in the phenanthrene degradation in *Nocardioides* sp. KP7. *Chemosphere*, **38**(6): 1331-1337.

Schneider J, Grosser R, Jayasimhulu K, *et al*. 1996. Degradation of pyrene, benz[α]anthracene, and benzo[α]pyrene by *Mycobacterium* sp. strain RJGII-135, isolated from a former coal gasification site. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**(1): 13-19.

Simon MJ, Osslund TD, Saunders R, *et al*. 1993. Sequences of genes encoding naphthalene dioxygenase in *Pseudomonas putida strains* G7 and NCIB9816-4. *Gene*, **127**(1): 31-37.

Takizawa N, Kaida N, Torigoe S, *et al*. 1994. Identification and characterization of genes encoding polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase and polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiol dehydrogenase in *Pseudomonas putida* OUS82. *Journal of Bacteriology*, **176**(8): 2444-2449.

Takizawa N, Iida T, Sawada T, *et al*. 1999. Nucleotide sequences and characterization of genes encoding naphthalene upper pathway of *Pseudomonas aeruginosa* PaK1 and *Pseudomonas putida* OUS82. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **87**(6): 721-731.

Wang RF, Wennerstrom D, Cao WW, *et al*. 2000. Cloning, expression, and characterization of the katG gene, encoding catalase-peroxidase, from the polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium *Mycobacterium* sp. strain PYR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**(10): 4300-4304.

Yen KM, Gunsalus IC. 1982. Plasmid gene organization: Naphthalene/salicylate oxidation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **79**(3): 874-878.

Yen KM, Gunsalus IC. 1985. Regulation of naphthalene catabolic genes of plasmid NAH7. *Journal of Bacteriology*, **162**(3): 1008-1013.

Zylstra GJ, Kim E, Goyal AK. 1997. Comparative molecular analysis of genes for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. *Genetic Engineering*, **19**: 257-269.

作者简介 郑 乐,男,1980年生,硕士研究生。主要从事生态毒理学研究,发表论文3篇。E-mail: zhengle_iae@163.com

责任编辑 王 伟