

• 综述 •

唐鸿志 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教授、博士生导师 (2014 年破格晋升)。2012 年 12 月–2013 年 12 月美国麻省理工学院访问学者。研究方向为环境微生物学。目前担任中国微生物学会-环境微生物专业委员会委员兼秘书。中国生物工程学会-合成生物学专业委员会 (筹) 委员。2016 年获得教育部自然科学一等奖 (排名第二), 2013 年获得“明治乳业生命科学奖”。曾获得国家自然科学基金-优秀青年基金、上海市曙光学者、上海市青年科技启明星、上海市教委“晨光”计划、上海交通大学“晨星计划”、首届“仲英青年学者”, 已于 *PLoS Genet*、*PNAS*、*mBio*、*Commun Biol*、*Biotechnol Adv*、*Mol Microbiol*、*Appl Environ Microbiol*、*J Bacteriol*、*J Biol Chem* 等期刊发表 SCI 论文 80 篇 (第一/通讯作者 45 篇)。



细菌降解低分子量多环芳烃的研究进展

周子康^{1,2}, 崔洁^{1,2}, 许平^{1,2}, 唐鸿志^{1,2}

1 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

2 上海交通大学 代谢与发育科学国际联合实验室, 上海 200240

周子康, 崔洁, 许平, 等. 细菌降解低分子量多环芳烃的研究进展. 生物工程学报, 2019, 35(11): 2069–2080.

Zhou ZK, Cui J, Xu P, et al. Progress in biodegradation of low molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons. Chin J Biotech, 2019, 35(11): 2069–2080.

摘要: 具有“三致”效应的多环芳烃污染造成了巨大的环境危害, 威胁人类健康和生存。目前能够降解低分子量多环芳烃的细菌已有广泛的研究。细菌通过多层次的调控分析和适应性进化提高它们的降解能力。本文基于国内外文献调研, 简要总结了生物修复在低分子量多环芳烃降解领域的研究进展。拟通过多层次的调控分析和适应性进化来产生多种分解代谢途径, 为生物降解能力强化的未来降解技术提供支撑。

关键词: 多环芳烃, 低分子量多环芳烃, 生物修复, 芬

Received: June 17, 2019; **Accepted:** October 11, 2019

Supported by: Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (No. 17JC1403300), The “Dawn” Program of Shanghai Education Commission (No. 17SG09), National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFA0901200).

Corresponding author: Hongzhi Tang. Tel: +86-21-34204066; E-mail: tangzhihong@sjtu.edu.cn

上海市 2017 年度“创新行动计划”基础研究重点项目 (No. 17JC1403300), 上海市曙光计划 (No. 17SG09), 国家重点研发计划 (No. 2018YFA0901200) 资助。

Progress in biodegradation of low molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons

Zikang Zhou^{1,2}, Jie Cui^{1,2}, Ping Xu^{1,2} and Hongzhi Tang^{1,2}

1 State Key Laboratory of Microbial Metabolism, and School of Life Sciences & Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

2 Joint International Research Laboratory of Metabolic & Developmental Sciences, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) cause enormous environmental hazards that threaten human health. Bacterial degradation of PAHs has been extensively studied. Bacteria enhanced their biodegradability through multiple levels of regulatory analysis and adaptive evolution to produce diverse catabolic pathways. Based on recent developments, we address here the research progress in bioremediation technology to degrade low molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons.

Keywords: PAHs, low molecular weight PAHs, bioremediation, fluorene

多环芳烃 PAHs (Polycyclic aromatic hydrocarbons) 是指由两个或两个以上苯环以线状、角状或簇状排列的碳氢化合物,大多来源于有机物的不完全燃烧或高温裂解^[1]。PAHs 广泛存在于石油、煤炭中,具有潜在的致畸性、致癌性和基因毒性,且毒性随着苯环的增加而增加^[2-3],对环境、生物体以及人类都有极大的危害。由于多环芳烃类化合物具有极低的水溶性,在环境中很难消除,因此,PAHs 被美国环保局和欧共体同时确定为优先控制的污染物,并选定其中的 16 种多环芳烃类化合物作为环境污染的监测对象^[4](表 1)。

微生物扮演着生态系统中最重要分解者的角色,可产生多种多样的复合酶系,催化复杂化合物的降解,其代谢多环芳烃的能力较强,代谢速率较高。因其能将污染物进行完全矿化,具有相比物化方法更低的处理成本、更高的安全性、更好的环境包容性等潜在的优点,微生物降解成为了有效解决 PAHs 污染物危害的最佳选择^[5-7]。

研究发现,细菌可以通过代谢或共代谢的方式以 PAHs 为底物来满足自身生长需求^[8]。其中的低分子量多环芳烃 (Low molecular weight PAHs, LMW PAHs, 2 个或 3 个苯环组成) 相对于高分子

















量多环芳烃 (High molecular weight, HMW PAHs, 4 个及以上苯环组成) 较易挥发,水溶性较高,因此它们更容易生物降解^[9]。在 LMW PAHs 中,萘、蒽和菲在整个环境中广泛分布,并且被认为是原型 PAHs。它们的核心结构骨架存在于许多致癌 PAHs 中,因此常用作检测 PAHs 污染的标志性化合物。它们还被用作模式 PAHs,以确定高环芳烃的生物利用效率、生物降解潜力和环境中细菌降解速率等的影响因素^[10]。同样被用作模式 PAHs 的还有三环芳烃——芴,它是具有致癌性的化石燃料的主要成分。与呋啉、二苯并噻吩、二苯并呋喃、二苯并二噁英等具有一定的结构关系,且同时具有芳香族和脂环族的化学结构^[11-13]。本文基于国内外多环芳烃研究进展,并结合笔者实验室多环芳烃降解的研究近况,总结了 LMW PAHs,包括萘、蒽、菲、芴的多种细菌代谢途径。

1 萘、菲、蒽的细菌分解代谢

萘 (Naphthalene) 是广泛存在于环境中的双环芳烃,早在 1964 年, Davies 和 Evans 就报道了第一株能降解土壤中萘的假单胞菌^[14]。研究发现萘的主要代谢途径如图 1A 所示。首先,在萘双加氧酶

表 1 美国环保局认定的 16 种优先 PAHs 化合物

Table 1 The 16 priority PAH compounds identified by the US EPA

中文名称	English abbreviation	CAS	Relative molecular mass	Solubility (mg/L, 25 °C)	Bioconcentration factor	Structural formula
萘	NAP	91-20-3	128	31.5	0.2	
苊	ACY	83-32-9	152	16.1	0.3	
苊烯	ACE	208-96-8	154	3.9	0.3	
芴	FLR	86-73-7	166	1.9	1.0	
菲	PHE	85-1-8	178	1.2	1.5	
蒽	ANT	120-12-7	178	0.05	1.5	
荧蒽	FLN	206-44-0	202	0.26	3.4	
芘	PYR	129-00-0	202	0.13	3.4	
苯并[a]蒽	BaA	56-55-3	228	9.4×10^{-3}	12	
屈	CHR	218-01-9	228	2.0×10^{-3}	12	
苯并[b]蒽	BbF	205-99-2	252	1.5×10^{-3}	27	
苯并[k]蒽	BkF	207-09-9	252	0.8×10^{-3}	39	
苯并[a]芘	BaP	5-32-8	252	1.6×10^{-3}	27	
二苯并[a,h]蒽	DbahA	53-70-3	278	0.6×10^{-3}	92	
苯并[g,h,i]芘	BghiP	191-24-2	276	0.3×10^{-3}	61	
茚并[1,2,3-cd]芘	InP	193-39-5	276	0.2×10^{-3}	59	

(NDO) 的催化作用下, 萘的苯环的 1,2 位引入氧分子, 生成顺式-(1R, 2S)-二羟基-1,2-二氢化萘 (顺式-萘二氢二醇) (图 1A) 化合物 A-II)。该双加氧酶系统由 3 种成分组成, 即铁氧还蛋白还原酶、铁氧还蛋白以及由两个不同的亚基 α 和 β 组成的铁硫蛋白 (ISP)。电子传递是通过在铁氧还蛋白还原酶中从 NAD(P)H 到 FAD 的单个双电子转移引发的, 其产生完全还原形式的 FAD。还原的 FAD 为

铁氧还蛋白的铁硫簇 (2Fe-2S) 分别提供一个电子, 这些电子最终转移到 ISP 并用于其活性位点, 以促进氧分子的加成 (图 2)。NDO 的底物特异性已经有了很详细的研究^[15], 其组分的三维结构也已被鉴定^[16], Parales 等^[17]发现 NDO 催化结构域中的 Asp-205 对其活性至关重要, 晶体结构显示 NDO 的另一种底物吡啶会在单核铁原子的附近被结合, 这表明此残基是氧的活化位点^[18]。后续研究通过

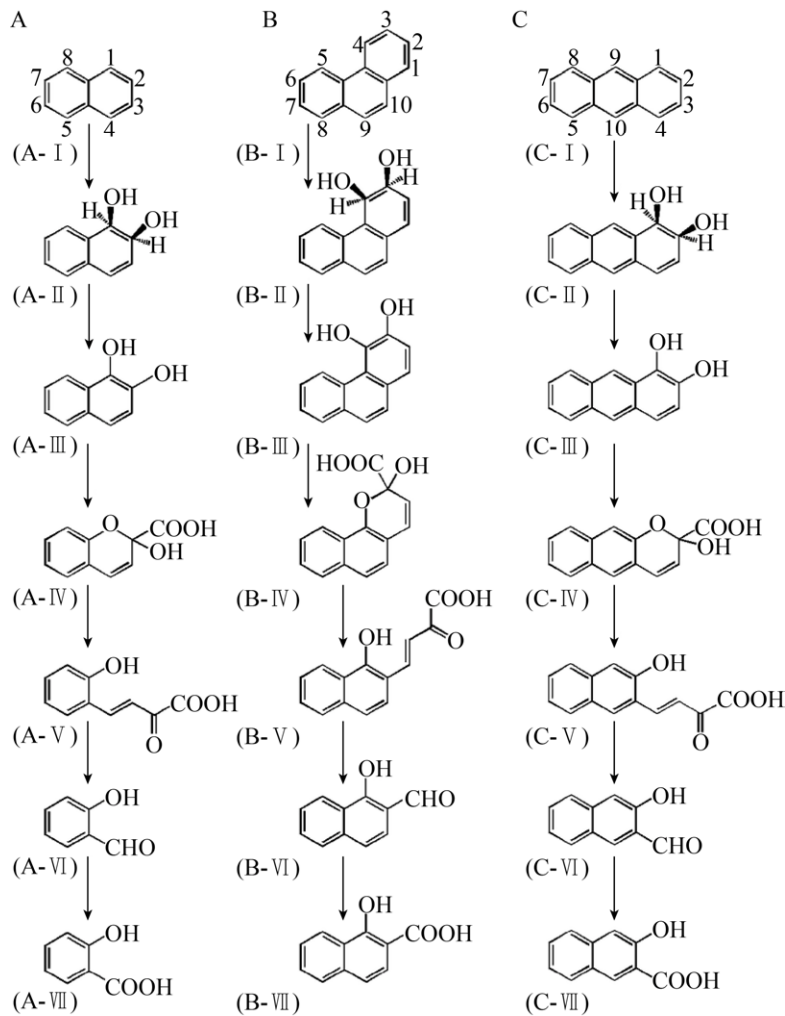


图 1 萘 (A)、菲 (B)、蒽 (C) 的上游分解代谢途径

Fig. 1 Upper catabolic pathways of naphthalene (A), phenanthrene (B) and anthracene (C).

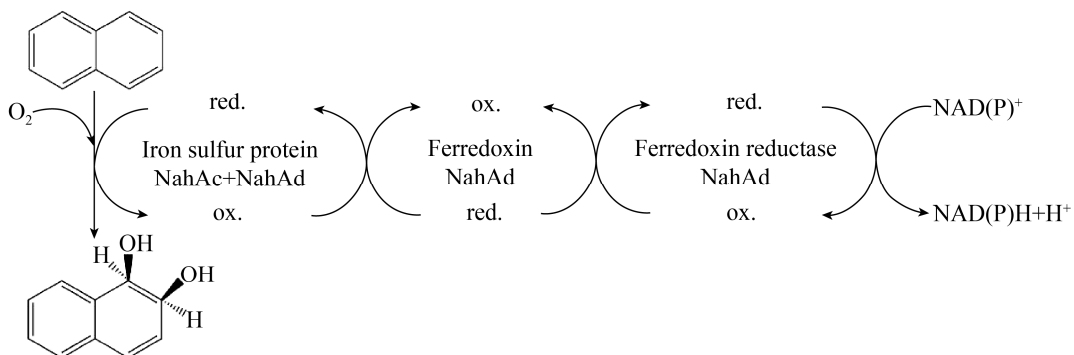


图 2 萘双加氧酶将萘初步氧化成顺式-1,2-二羟基-1,2-二氢萘

Fig. 2 Initial oxidation of naphthalene to cis-1,2-dihydroxy-1,2-dihydronaphthalene by naphthalene dioxygenase.

定点诱变以测定几个活性位点残基对于催化活性的关键性,发现 Phe-352 的取代会导致顺式萘二氢二醇的形成,同时伴随着立体化学结构及联苯和菲的氧化位点的改变^[19],此结果为 NDO 在其加氧酶组分中与底物的结合提供了良好的结构模型。

第二步反应是在顺式-萘二氢二醇脱氢酶的催化作用下,顺式-萘二氢二醇脱氢形成 1,2-二羟基萘(图 1A, 化合物 A-III)。1,2-二羟基萘通过 1,2-

二羟基萘双加氧酶进行复合,得到的环裂解产物自发地形成 2-羟基-2-氢-色烯-2-羧酸(图 1A), 化合物 A-IV)。通过异构酶和水杨酸酶-醛缩酶的酶促反应生成水杨醛(图 1A, 化合物 A-VI), 然后在水杨醛脱氢酶的催化作用下转化为水杨酸(图 1A, 化合物 A-VII)。水杨酸通过邻苯二酚(图 3, 化合物 A-II) 或 2,5-二羟基苯甲酸(图 3, 化合物 B-II) 进一步代谢为 TCA 循环中间体。

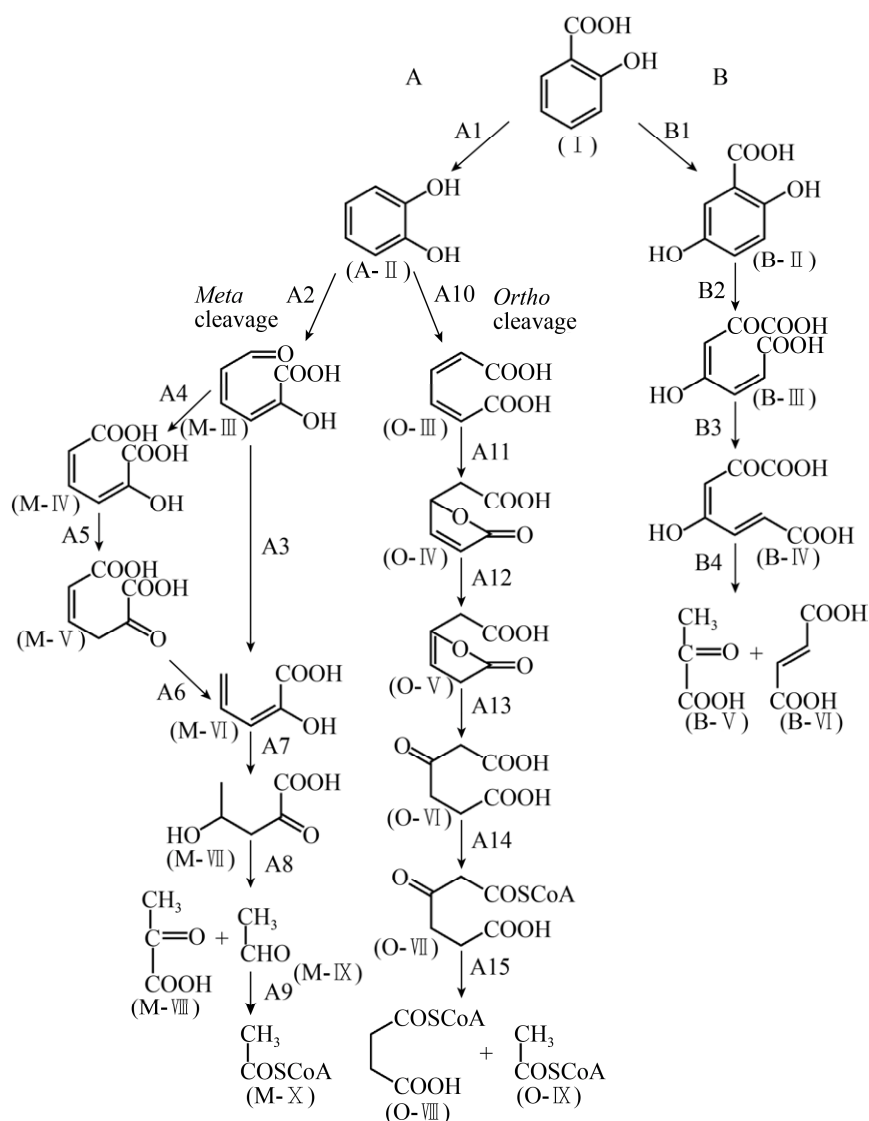


图 3 通过邻苯二酚 (A) 和 2,5-二羟基苯甲酸 (B) 的萘的下游代谢途径

Fig. 3 Lower pathways of naphthalene degradation via catechol (A) and gentisic acid (B).

菲 (Phenanthrene) 由 3 个苯环组成, 常用作研究致癌 PAHs 代谢的模式化合物。在过去的 60 年中, 已经报道了许多革兰氏阴性和阳性细菌降解菲的研究^[20-23], 菲的主要代谢途径如图 1B 所示。参与萘转化为水杨酸的酶可以通过类似的分解代谢反应将菲降解为 1-羟基-2-萘甲酸 (图 1A, 化合物 B-VII), 其主要通过两个途径进行进一步代谢。一种分解代谢途径涉及 1-羟基-2-萘甲酸的羟基化, 形成 1,2-二羟基萘 (图 4A, 化合物 A-II), 然后进入萘降解途径。在另一种代谢途径中, 1-羟基-2-萘甲酸的苯环被 1-羟基-2-萘甲酸双加氧酶直接裂解 (图 4B)。后通过酶促反应生成邻苯二甲酸酯 (图 4B, 化合物 B-IV), 其通过原儿茶酸酯 (图 4B, 化合物 B-V) 进一步代谢为 TCA 循环中间体。

相似地, 蒽 (Anthracene) 的主要分解代谢途径的第一步是通过在 1,2 位的初始氧化作用, 蒽转化为 1,2-二羟基蒽 (图 1C, 化合物 C-III)。然后通

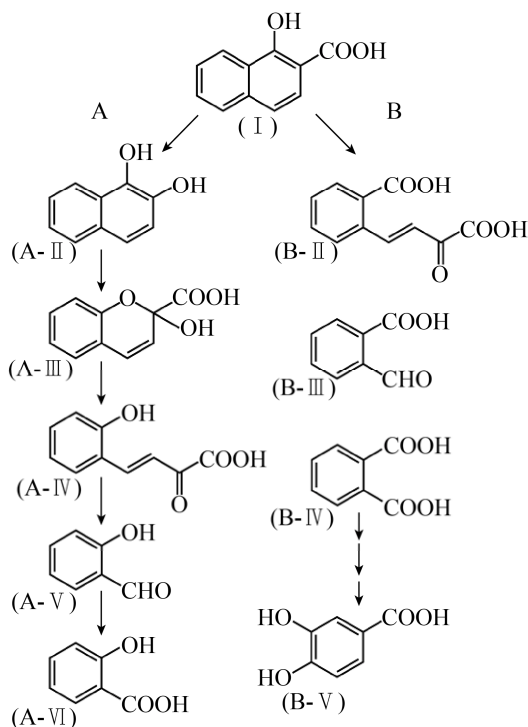


图 4 通过 1,2-二羟基萘 (A) 和邻苯二甲酸酯 (B) 的菲的下游代谢途径

Fig. 4 Lower pathways of phenanthrene degradation via 1,2-dihydroxynaphthalene (A) and phthalate (B).

过 1,2-二羟基蒽的间位裂解途径, 生成 2-羟基-3-萘甲酸 (图 1C, 化合物 C-VII), 2-羟基-3-萘甲酸酯紧接着转化为 2,3-二羟基萘, 其进一步代谢为水杨酸盐和邻苯二酚。

截至目前, 已经研究报道的可降解萘、蒽、菲的细菌超过 200 种, 早在 60 年代就有研究, 之后陆续在假单胞菌属中发现很多代谢萘、蒽、菲的基因, 例如铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* PaK1 中的 *pah* 基因簇^[28], 恶臭假单胞菌 *P. putida* G7 中的 *nah* 基因簇^[24-26], *Pseudomonas* sp. C18 中的 *dox* 基因簇^[31]等, 为萘、蒽、菲及更复杂的多环芳烃的降解研究提供了重要元器件和实践基础。

在 *pah* 基因簇中, *pahA1A2A3A4* 是编码萘、蒽、菲初始氧化作用的双加氧酶的操纵子, *pahBCDEF* 分别编码代谢途径中的脱氢酶, 二羟基萘、蒽、菲双加氧酶, 异构酶, 水合酶醛缩酶, 以及水杨醛脱氢酶, 最终代谢为水杨酸。在 *nah* 基因簇中, *nahAaAbAcAd* 是编码萘、蒽、菲初始氧化作用的双加氧酶的操纵子, *nahBCDEF* 分别编码途径中剩余的酶。在 *dox* 基因簇中, *doxABD* 是编码萘、蒽、菲初始氧化作用的双加氧酶的操纵子, *doxEFGIJ* 分别编码途径中剩余的酶。具体的基因编码情况如表 2 所示。

表 3 总结了包括以上 3 个降解菌株的更多降解 PAHs 菌株的生长底物特性以及参与其上游降解代

表 2 假单胞菌中萘、蒽、菲上游降解基因簇

Table 2 Naphthalene, anthracene and phenanthrene upper-degradation gene cluster in *Pseudomonas* strains

Function of gene product	PaK1	G7	C18
Ferredoxin reductase	<i>pahA1</i>	<i>nahAa</i>	ND
Ferredoxin	<i>pahA2</i>	<i>nahAb</i>	<i>doxA</i>
ISP α	<i>pahA3</i>	<i>nahAc</i>	<i>doxB</i>
ISP β	<i>pahA4</i>	<i>nahAd</i>	<i>doxD</i>
Dehydrogenase	<i>pahB</i>	<i>nahB</i>	<i>doxE</i>
SAL dehydrogenase	<i>pahF</i>	<i>nahF</i>	<i>doxF</i>
Dioxygenase	<i>pahC</i>	<i>nahC</i>	<i>doxG</i>
Hydroatase-aldolase	<i>pahE</i>	<i>nahE</i>	<i>doxI</i>
Isomerase	<i>pahD</i>	<i>nahD</i>	<i>doxJ</i>

ND: indicates that the gene encoding the enzyme has not been detected.

表 3 PAHs 降解细菌的基因定位、生长底物特异性和酶底物特异性

Table 3 Gene location, growth substrates, and enzyme substrate specificity of genetically characterized PAH-degrading bacteria

Bacterial strain ^a	Gene name	Genotype	Location ^b	Growth substrates ^c Nap/Phe/Ant	Enzyme substrates ^d Nap/Phe/Ant
<i>Pseudomonas putida</i> G7 ^[24-26]	nah	nah(G7)	NAH7	+/n/n	+/+/+
<i>P. putida</i> NCIB9816-4 ^[15]	nah	nah(G7)	pDTG1	+/n/n	(+)/(+)/(+)
<i>P. putida</i> NCIB9816 ^[27]	nah	nah(G7)	pWW60-1	+/+n	+/+n
<i>Pseudomonas</i> sp. C18 ^[28]	dox	nah(G7)	Plasmid	+/n/n	+/+n
<i>P. putida</i> OUS82 ^[39-31]	pah	nah(G7)	Chromosome	+/+/-	+/+/+
<i>P. aeruginosa</i> PaK1 ^[31]	pah	nah(G7)	Chromosome	+/-/-	+/+/+
<i>P. stutzeri</i> AN10 ^[32]	nah	nah(G7)	Chromosome	+/n/n	n/n/n
<i>P. putida</i> BS202	nah	nah(G7)	NPL-1	+/n/n	n/n/n
<i>Comamonas testosteroni</i> GZ39 ^[33-35]	phd	phd(GZ39)	n	+/+/-	(+)/(+)/n
<i>C. testosteroni</i> GZ42 ^[33-35]	nah	nag(U2)	n	+/+/-	n/n/n
<i>C. testosteroni</i> H ^[36-37]	pah	nag(U2)	n	+/+n	n(+)/n
<i>Ralstonia</i> sp. U2 ^[38-39]	nag	nag(U2)	Plasmid	+/n/n	n/n/n
<i>Burkholderia</i> sp. RP007 ^[40]	phn	phn(RP007)	n	+/+/+	(+)/(+)/n
<i>Alcaligenes faecalis</i> AFK2 ^[41]	phn	phn(AFK2)	Plasmid	-/+n	n/n/n
<i>Rhodococcus</i> sp. NCIMB12038	nar	nar(NCIMB12038)	n	+/n/n	n/n/n

a. Listed PAH-degrading bacteria; b. “n” means “not yet reported”; c. Nap, Phe and Ant represent naphthalene, phenanthrene and anthracene, respectively; “+” and “-” mean “growth” and “non-growth”, respectively; d. “+” means that a clone carrying a metabolic pathway enzyme-encoding gene can convert naphthalene to salicylic acid, convert phenanthrene to 1-hydroxy-2-naphthoic acid, or convert hydrazine to 2-hydroxy-3-naphthoic acid. “(+)” means that at least the initial double oxidative decomposition of each PAH compound was observed.

谢途径的酶对萘、菲和蒽的转化能力。对于列出的大多数细菌，都可以利用萘和菲作为底物生长，然而，通过邻苯二甲酸酯途径的非降解细菌（例如，菌株 AFK2 和 KP7）不能以萘为唯一碳源进行生长。

2 芴的降解

芴 (Fluorene) 是美国环保局确定的 16 种优先处理的污染物之一，存在于汽车废气、玉米须以及煤焦油的高沸点组分中，有类似于萘的特征性芳香气味。2017 年 10 月 27 日世界卫生组织国际癌症研究机构公布的致癌物清单中，芴被列入 3 类致癌物。经过多年的研究，已经发现了不少可以利用芴作为唯一底物的菌株^[10,42-45]，芴的 3 种主要代谢途径如图 6 所示。其中两种途径分别是通过 1,2 位 (图 5A) 和 3,4-位 (图 5B) 的双氧化作用开始的，

生成相应的顺式-二氢二醇 (图 4, 化合物 A-II, 化合物 B-II)，紧接着发生脱氢反应，然后进行间位裂解。在醛缩酶反应和环状产物脱羧反应后，得到的茛酮是 Baeyer-Villiger 反应的底物，经反应后分别得到芳香内酯 3-异色酮和 3,4-二氢香豆素 (化合物 A-VI 和 B-VI)。3,4-二氢香豆素可通过酶促水解产生 3-(2-羟基苯基) 丙酸 (化合物 B-VII)，其可进一步代谢为水杨酸。第三种途径 (图 5C) 通过在 C-9 位置的单氧化作用引发，得到 9-芴醇，然后通过脱氢反应生成 9-芴酮。9-芴酮在角二氧化作用下生成 1,1a-二羟基-1-氢-9-芴酮 (化合物 C-IV)，接下来发生五元环的裂解生成 2,3-二羟基联苯的 2'-羧基衍生物，其通过类似于联苯降解的反应进行分解代谢，导致邻苯二甲酸的生成，然后通过 3,4-二羟基苯甲酸的产生代谢邻苯二甲酸。

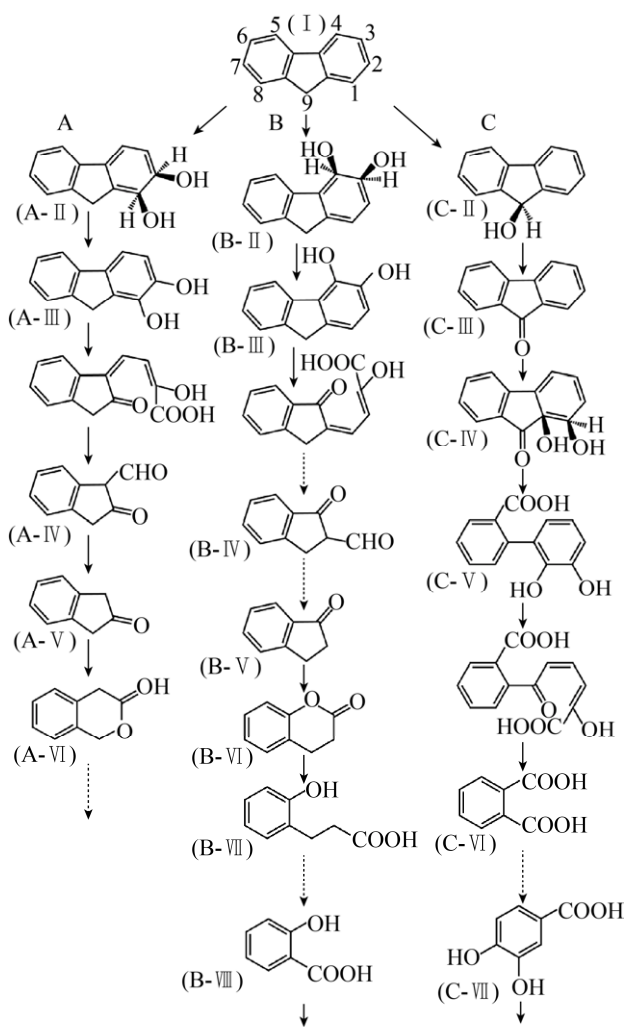


图5 芴的分解代谢途径

Fig. 5 Catabolic pathways of fluorene.

尽管已经分离和表征了许多降解芴的细菌,但是关于芴的分解代谢中涉及的特定酶,特别是编码这些酶的基因,还需要更深入的研究。本文以地杆菌 *Terrabacter* sp. *DBF63* 为例,对芴降解的基因簇加以介绍。该基因簇由 *dbfA*、*flnB*、*flnC*、*flnD* 和 *flnE* 组成,其中 *dbfA* 编码芳环双加氧酶,*flnBC* 均编码短链的还原脱氢酶,*flnD* 编码二羟基双加氧酶,*flnE* 编码 meta-cleavage 水解酶,在以上酶系的作用下将芴分解为邻苯二甲酸(图6)。

近期,笔者实验室同仁从上海老港垃圾填埋场分离到一株以芴为唯一碳源的 SMT-1 菌株^[46],经

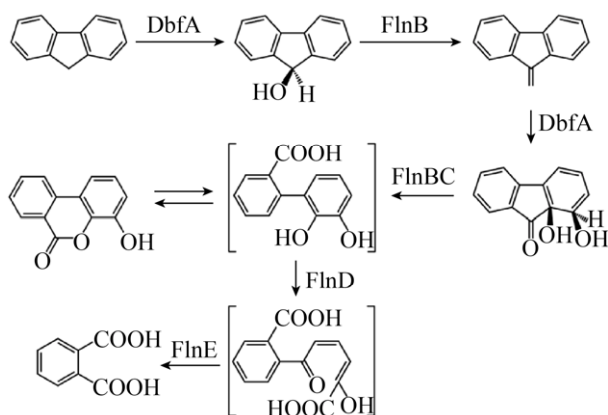


图6 芴的分解代谢基因簇

Fig. 6 Metabolic gene cluster of fluorene.

16S rDNA 基因序列分析鉴定为假单胞菌。该菌株在含 0.4 mm 芴的无机盐培养基中,以 30 °C、pH 7.0 和 200 r/min 条件下生长和降解活性最高。此外,菌株 SMT-1 在连续 6 d 内降解不同多环芳烃的比较结果,芴为 85%,菲为 48.4%,二苯并呋喃(DBF)为 47.5%,荧蒽为 29.1%。这些降解特性表明,菌株 SMT-1 在芴降解中具有良好的降解效果,并有一定的底物适应范围。基因组信息的初步分析揭示了该菌株中可能存在参与芳香化合物代谢的重要基因。

二苯并呋喃的降解也是环境治理领域的热点问题之一。本实验室 Fawad Ali 等^[47]分离鉴定了一株具有高 DBF 降解活性的铜绿假单胞菌 FA-HZ1。该菌株降解中间产物的鉴定表明,其通过利用横向脱氧和间裂途径降解 DBF(图7)。一种新型双加氧酶——HZ6359 可将 DBF 转化为 1,2-二羟基-1,2-二氢二苯并呋喃。铜绿假单胞菌对 DBF 的降解作用在以往的研究中尚未见报道,该研究首次明确了铜绿假单胞菌对 DBF 的降解能力。此外,菌株 FA-HZ1 还可以利用 DBF 以外的其他碳源,其针对多底物的广泛降解活性对环境生物修复具有重要意义。

与降解途径相比,低分子量 PAHs 的分解代谢途径的调控机制的研究也至关重要。研究者就

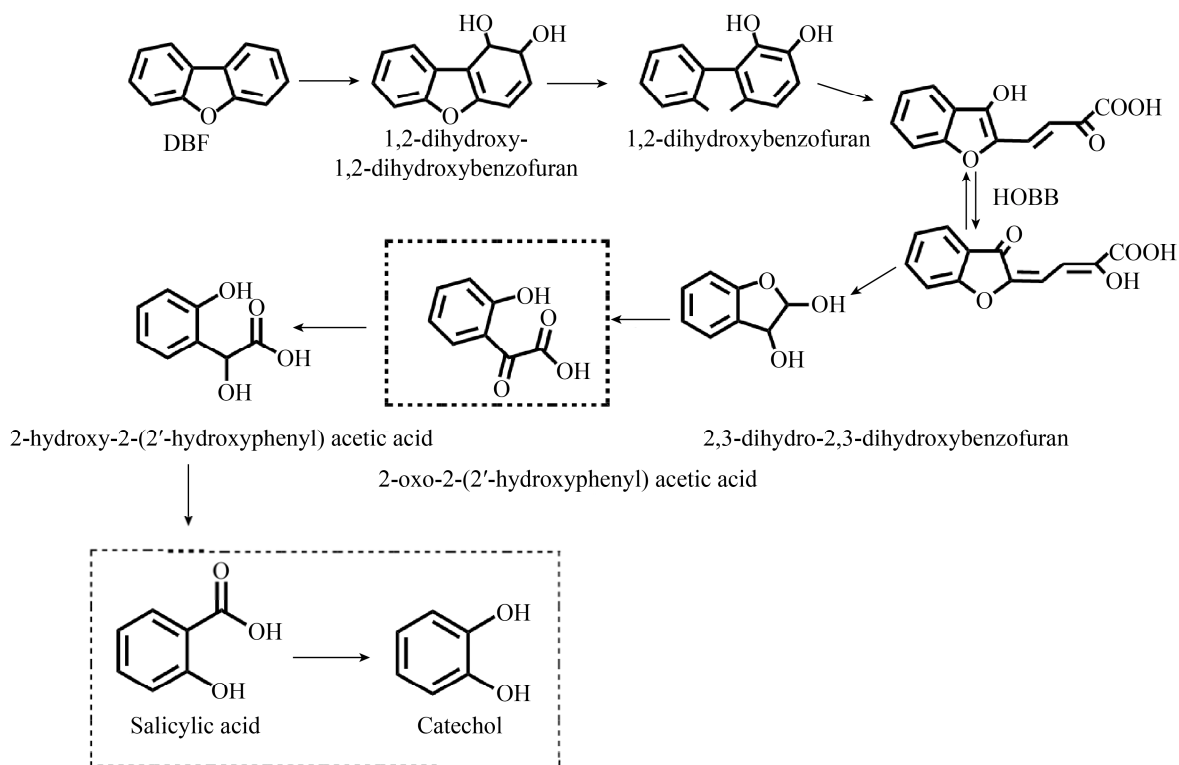


图 7 推测出的菌株 FA-HZ1 代谢 DBF 的降解途径

Fig. 7 Proposed DBF degradation pathway by strain FA-HZ1.

调节过程中的分子伴侣、触发途径表达的的信号以及激活和抑制表达的确切机制等进行了深入的研究,很快发现了大量多样的调节系统用于介导分解代谢途径的表达^[48]。例如 LysR 型转录调节因子家族 (LTTR)^[49-50],该家族包含不同菌属的 100 多个成员。其中 CatR 控制恶臭假单胞菌中邻苯二酚代谢的 *catBCA* 表达^[51], TfdR (和/或其相同的双 TfdS) 也调节编码氯代邻苯二酚代谢的操纵子 (即 *tfdDCEFB* 基因)。NahR 蛋白是萘降解调控中的主要调节因子,通过控制萘对水杨酸和丙酮酸代谢所需的 *nah* 操纵子和 *sal* 操纵子的表达起作用,编码水杨酸酶,两个操纵子都存在于质粒 NAH7 上^[52-53]。经过 20 多年的研究,我们理解了不同调控蛋白在介导转录过程中的行为,但对于调节蛋白和效应化合物之间的相互作用、结合位点、信号传导等方面的内容还知之甚少,仍需要

进一步探索。

3 总结与展望

为了探求更高效的 PAHs 降解途径,减轻其对环境的危害,生态友好地进行生物修复,需要在分子水平更深入地了解细菌降解代谢 PAHs 的全过程。经过几十年的深入研究,已报道的可降解二环或三环组成的 PAHs 的分解代谢基因的数量已经大大增加。然而,在 LMW PAHs 中,芴和氘代芴等的降解涉及的分解代谢基因还需要更积极地探索,可降解由 4 个及以上苯环组成的 PAHs 基因的获取还很有限,由于 PAHs 的毒性和致癌性,更突显了这些研究的急迫性和重要性。同时,低分子量 PAHs 关键代谢酶的研究可以为实现改造人工酶进而实现高分子量 PAHs 降解提供理论基础。因此,不仅要深入了解这些基因和关键酶的功能,还要对

PAHs 的代谢或共代谢途径有全面的认识, 基于此可构建用于监测污染环境中降解物的基因探针, 进一步促进生物修复的发展。此外, 考虑到环境中污染物的复杂程度, 我们需要进一步研究除萘、菲、蒽、芴以外的 PAHs 的降解。通常认为, 高环 PAHs 开环降解过程会进入低环途径, 因此, 低分子量 PAHs 的降解途径对最终修复环境中所有 PAHs 的污染至关重要。最近, 基于 PCR 的方法, 已经报道了许多新的可部分分解代谢 PAHs 的基因, 这些结果表明环境中 PAHs 降解细菌的多样性, 并且可能仍有许多未鉴定出的 PAHs 降解细菌, 包括不可培养的细菌。积累这些信息对于监测 PAHs 污染土壤中不同 PAHs 分解代谢基因型的有效性是必要的, 并有助于 PAHs 的有效生物修复。这是我们相关研究的最终目标, 相信这一目标将在广大科研工作者的共同努力下实现。

REFERENCES

- [1] Dat ND, Chang MB. Review on characteristics of PAHs in atmosphere, anthropogenic sources and control technologies. *Sci Total Environ*, 2017, 609: 682–693.
- [2] Wang CY, Wang YD, Herath HMSK. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in biochar - their formation, occurrence and analysis: a review. *Organ Geochem*, 2017, 114: 1–11.
- [3] Kuppasamy S, Thavamani P, Venkateswarlu K, et al. Remediation approaches for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soils: Technological constraints, emerging trends and future directions. *Chemosphere*, 2017, 168: 944–968.
- [4] Keith L, Telliard W. ES&T special report: priority pollutants: I-a perspective view. *Environ Sci Technol*, 1979, 13(4): 416–423.
- [5] Cerniglia CE. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 1992, 3(2/3): 351–368.
- [6] Shuttleworth KL, Cerniglia CE. Environmental aspects of PAH biodegradation. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 54(1/3): 291–302.
- [7] Gibson DT, Parales RE. Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. *Curr Opin Biotechnol*, 2000, 11(3): 236–243.
- [8] Kanaly RA, Harayama S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *J Bacteriol*, 2000, 182(8): 2059–2067.
- [9] Pannu JK, Singh A, Ward OP. Influence of peanut oil on microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Can J Microbiol*, 2003, 49(8): 508–513.
- [10] Moody JD, Freeman JP, Doerge DR, et al. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp. strain PYR-1. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 67(4): 1476–1483.
- [11] Grifoll M, Casellas M, Bayona JM, et al. Isolation and characterization of a fluorine-degrading bacterium: identification of ring oxidation and ring fission products. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58(9): 2910–2917.
- [12] Grifoll M, Selifonov SA, Chapman PJ. Evidence for a novel pathway in the degradation of fluorene by *Pseudomonas* sp. strain F274. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60(7): 2438–2449.
- [13] Grifoll M, Selifonov SA, Gatlin CV, et al. Actions of a versatile fluorene-degrading bacterial isolate on polycyclic aromatic compounds. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61(10): 3711–3723.
- [14] Davies JI, Evans WC. Oxidative metabolism of naphthalene by soil *Pseudomonads*: the ring-fission mechanism. *Biochem J*, 1964, 91(2): 251–261.
- [15] Resnick SM, Lee K, Gibson GT. Diverse reactions catalyzed by naphthalene dioxygenase from *Pseudomonas* sp. strain NCIB 9816. *J Ind Microbiol*, 1996, 17(5/6): 438–457.
- [16] Kauppi B, Lee K, Carredano E, et al. Structure of an aromatic-ring-hydroxylating dioxygenase-naphthalene 1, 2-dioxygenase. *Structure*, 1998, 6(5): 571–586.
- [17] Parales RE, Parales JV, Gibson DT. Aspartate 205 in the catalytic domain of naphthalene dioxygenase is essential for activity. *J Bacteriol*, 1999, 181(6): 1831–1837.
- [18] Carredano E, Karlsson A, Kauppi B, et al. Substrate binding site of naphthalene 1,2-dioxygenase: functional implications of indole binding. *J Mol Biol*,

- 2000, 296(2): 701–712.
- [19] Parales RE, Lee K, Resnick SM, et al. Substrate specificity of naphthalene dioxygenase: effect of specific amino acids at the active site of the enzyme. *J Bacteriol*, 2000, 182(6): 1641–1649.
- [20] Blumer M. Polycyclic aromatic compounds in nature. *Sci Am*, 1976, 234(3): 34–45.
- [21] IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans//Polynuclear Aromatic Compounds. Part 1. Chemical, Environmental and Experimental Data. Lyon, France: World Health Organization, 1983, 419–430.
- [22] Pelkonen O, Nebert DW. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: etiologic role in carcinogenesis. *Pharmacol Rev*, 1982, 34(2): 189–222.
- [23] Gibson DT, Subramanian V. Microbial degradation of aromatic hydrocarbons//Gibson DT, Ed. *Microbial Degradation of Organic Compounds*. New York: Dekker, 1984: 181–252.
- [24] Menn FM, Applegate BM, Sayler GS. NAH plasmid-mediated catabolism of anthracene and phenanthrene to naphthoic acid. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(6): 1938–1942.
- [25] Yen KM, Serdar CM. Genetics of naphthalene catabolism in *Pseudomonads*. *Crit Rev Microbiol*, 1988, 15(3): 247–268.
- [26] Simon MJ, Osslund TD, Saunders R, et al. Sequences of genes encoding naphthalene dioxygenase in *Pseudomonas putida* strains G7 and NCIB 9816-4. *Gene*, 1993, 127(1): 31–37.
- [27] Yang Y, Chen RF, Shiaris MP. Metabolism of naphthalene, fluorene, and phenanthrene: preliminary characterization of a cloned gene cluster from *Pseudomonas putida* NCIB 9816. *J Bacteriol*, 1994, 176(8): 2158–2164.
- [28] Takizawa N, Iida T, Sawada T, et al. Nucleotide sequences and characterization of genes encoding naphthalene upper pathway of *Pseudomonas aeruginosa* PaK1 and *Pseudomonas putida* OUS82. *J Bacteriol Bioeng*, 1999, 87(6): 723–731.
- [29] Kiyohara H, Torigoe S, Kaida N, et al. Cloning and characterization of a chromosomal gene cluster, pah, that encodes the upper pathway for phenanthrene and naphthalene utilization by *Pseudomonas putida* OUS82. *J Bacteriol*, 1994, 176(8): 2439–2443.
- [30] Takizawa N, Kaida N, Torigoe S, et al. Identification and characterization of genes encoding polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase and polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiol dehydrogenase in *Pseudomonas putida* OUS82. *J Bacteriol*, 1994, 176(8): 2444–2449.
- [31] Denome SA, Stanley DC, Olson ES, et al. Metabolism of dibenzothiophene and naphthalene in *Pseudomonas* strains: complete DNA sequence of an upper naphthalene catabolic pathway. *J Bacteriol*, 1993, 175(21): 6890–6901.
- [32] Takizawa N, Iida T, Sawada T, et al. Nucleotide sequences and characterization of genes encoding naphthalene upper pathway of *Pseudomonas aeruginosa* PaK1 and *Pseudomonas putida* OUS82. *J Bacteriol Bioeng*, 1999, 87(6): 723–731.
- [33] Bosch R, García-Valdés E, Moore ERB. Genetic characterization and evolutionary implications of a chromosomally encoded naphthalene-degradation upper pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Gene*, 1999, 236(1): 149–157.
- [34] Goyal AK, Zylstra GJ. Molecular cloning of novel genes for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation from *Comamonas testosteroni* GZ39. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62(1): 230–236.
- [35] Zylstra GJ, Kim E, Goyal AK. Comparative molecular analysis of genes for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation//Setlow JK, ed. *Genetic Engineering*. Boston, MA: Springer, 1997: 257–269.
- [36] Goyal AK, Zylstra GJ. Genetics of naphthalene and phenanthrene degradation by *Comamonas testosteroni*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 1997, 19(5/6): 401–407.
- [37] Meyer S, Moser R, Neef A, et al. Differential detection of key enzymes of polyaromatic-hydrocarbon-degrading bacteria using PCR and gene probes. *Microbiology*, 1999, 145(7): 1731–1741.
- [38] Moser R, Stahl U. Insights into the genetic diversity of initial dioxygenases from PAH-degrading bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 55(5): 609–618.
- [39] Fuenmayor SL, Wild M, Boyes AL, et al. A gene cluster encoding steps in conversion of naphthalene to gentisate in *Pseudomonas* sp. strain U2. *J Bacteriol*, 1998, 180(9): 2522–2530.
- [40] Zhou NY, Fuenmayor SL, Williams PA. nag genes of

- Ralstonia* (formerly *Pseudomonas*) sp. strain U2 encoding enzymes for gentisate catabolism. *J Bacteriol*, 2001, 183(2): 700–708.
- [41] Laurie AD, Lloyd-Jones G. The *phn* genes of *Burkholderia* sp. strain RP007 constitute a divergent gene cluster for polycyclic aromatic hydrocarbon catabolism. *J Bacteriol*, 1999, 181(2): 531–540.
- [42] Kiyohara H, Nagao K, Kouno K, et al. Phenanthrene-degrading phenotype of *Alcaligenes faecalis* AFK2. *Appl Environ Microbiol*, 1982, 43(2): 458–461.
- [43] Casellas M, Grifoll M, Bayona JM, et al. New metabolites in the degradation of fluorene by *Arthrobacter* sp. strain F101. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(3): 819–826.
- [44] Casellas M, Grifoll M, Sabaté J, et al. Isolation and characterization of a 9-fluorenone-degrading bacterial strain and its role in synergistic degradation of fluorene by a consortium. *Can J Microbiol*, 1998, 44(8): 734–742.
- [45] Wattiau P, Bastiaens L, Van Herwijnen R, et al. Fluorene degradation by *Sphingomonas* sp. LB126 proceeds through protocatechuic acid: a genetic analysis. *Res Microbiol*, 2001, 152(10): 861–872.
- [46] Wang RF, Wennerstrom D, Cao WW, et al. Cloning, expression, and characterization of the *katG* gene, encoding catalase-peroxidase, from the polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium *Mycobacterium* sp. strain PYR-1. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(10): 4300–4304.
- [47] Desta M, Wang WW, Zhang LG, et al. Isolation, characterization, and genomic analysis of *Pseudomonas* sp. strain SMT-1, an efficient fluorene-degrading bacterium. *Evol Bioinform*, 2019, 15, doi: 1176934319843518.
- [48] Ali F, Hu HY, Wang WW, et al. Characterization of a dibenzofuran-degrading strain of *Pseudomonas aeruginosa*, FA-HZ1. *Environ Pollut*, 2019, 250: 262–273.
- [49] Keasling JD. Gene-expression tools for the metabolic engineering of bacteria. *Trends Biotechnol*, 1999, 17(11): 452–460.
- [50] Henikoff S, Haughn GW, Calvo JM, et al. A large family of bacterial activator proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(18): 6602–6606.
- [51] Schell MA. Molecular biology of the LysR family of transcriptional regulators. *Annu Rev Microbiol*, 1993, 47: 597–626.
- [52] Rothmel RK, Aldrich TL, Houghton JE, et al. Nucleotide sequencing and characterization of *Pseudomonas putida* *catR*: a positive regulator of the *catBC* operon is a member of the LysR family. *J Bacteriol*, 1990, 172(2): 922–931.
- [53] Schell MA. Transcriptional control of the *nah* and *sal* hydrocarbon-degradation operons by the *nahR* gene product. *Gene*, 1985, 36(3): 301–309.
- [54] Schell MA, Wender PE. Identification of the *nahR* gene product and nucleotide sequences required for its activation of the *sal* operon. *J Bacteriol*, 1986, 166(1): 9–14.

(本文责编 郝丽芳)