

六六六微生物降解途径的研究进展

曹礼 张浩 黄科 谷涛 洪青* 李顺鹏

(南京农业大学 生命科学学院 农业部农业环境微生物重点实验室 江苏 南京 210095)

摘要: 六六六是一种曾在世界范围内广泛使用的有机氯杀虫剂。由于其具有高毒性和长残留性,目前在发达国家已经被限制或禁止使用,但是一些发展中国家和地区仍然在继续使用。即使在一些停用六六六多年的国家,六六六的残留依然存在。概述六六六降解菌的多样性和六六六4种主要同分异构体(α -、 β -、 γ -、 δ -HCH)的微生物降解的最新研究进展,为六六六污染地区进行经济可行的生物修复提供参考。

关键词: 六六六, 降解途径, 生物修复

Advances in microbial degradation pathway of hexachlorocyclohexane

CAO Li ZHANG Hao HUANG Ke GU Tao HONG Qing* LI Shun-Peng

(Department of Microbiology, Key Laboratory of Agricultural Environmental Microbiology, Ministry of Agriculture, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: Hexachlorocyclohexane (HCH) is a halogenated organic insecticide, which was once extensively used all over the world for agricultural and public health purposes. Its use has been restricted or banned in the developed countries due to its high toxicity and long persistence. However, HCH is still used in some developing countries. Even in those countries, where the use of HCH has been stopped for many years, the problem of residues still existed. In this article, we summarized the latest progress in the research of the diversity of

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31070099)

*通讯作者: Tel: 86-25-84398685; 邮箱: hongqing@njau.edu.cn

收稿日期: 2012-02-14; 接受日期: 2012-04-26

HCH-degrading microorganisms and the degradation pathway on the four main HCH-isomers (α -, β -, γ - and δ -HCH), which will provide the reference for the economical and feasible bio-remediation strategy on the HCH polluted environment.

Keywords: Hexachlorocyclohexane, Degradation pathway, Bioremediation

六六六又名六氯环己烷(Hexachlorocyclohexane, HCH), 是一种有机氯杀虫剂, 在 20 世纪 70 年代前曾在世界范围内被广泛使用^[1-6]。六六六在环境中的自然降解缓慢, 半衰期长达几十年, 甚至上百年, 在 2010 年被联合国环境规划署 (United nations environment programme, UNEP) 列入持久性有机污染物(Persistent organic pollutants, POPs)名单^[6-7]。

工业级六六六由苯和氯气在紫外线照射下合

成而得, 是一种含有各种异构体的混合物^[3]。理论上它有 8 种同分异构体, 图 1 为 α -、 β -、 γ -、 δ -、 ϵ -、 η -和 θ -HCH 的结构式, 这些异构体由于氯原子在环己烷环上不同的空间排列而有不同的性质^[8]。但是我们通常所说的六六六异构体一般包括 5 种异构体, 即 α -HCH (60%–70%)、 β -HCH (5%–12%)、 γ -HCH (10%–12%)、 δ -HCH (6%–10%) 和 ϵ -HCH (3%–4%)^[6], 其他 3 种异构体因为含量极少又不重要, 一般不包括在所谓的六六六总量内^[8]。

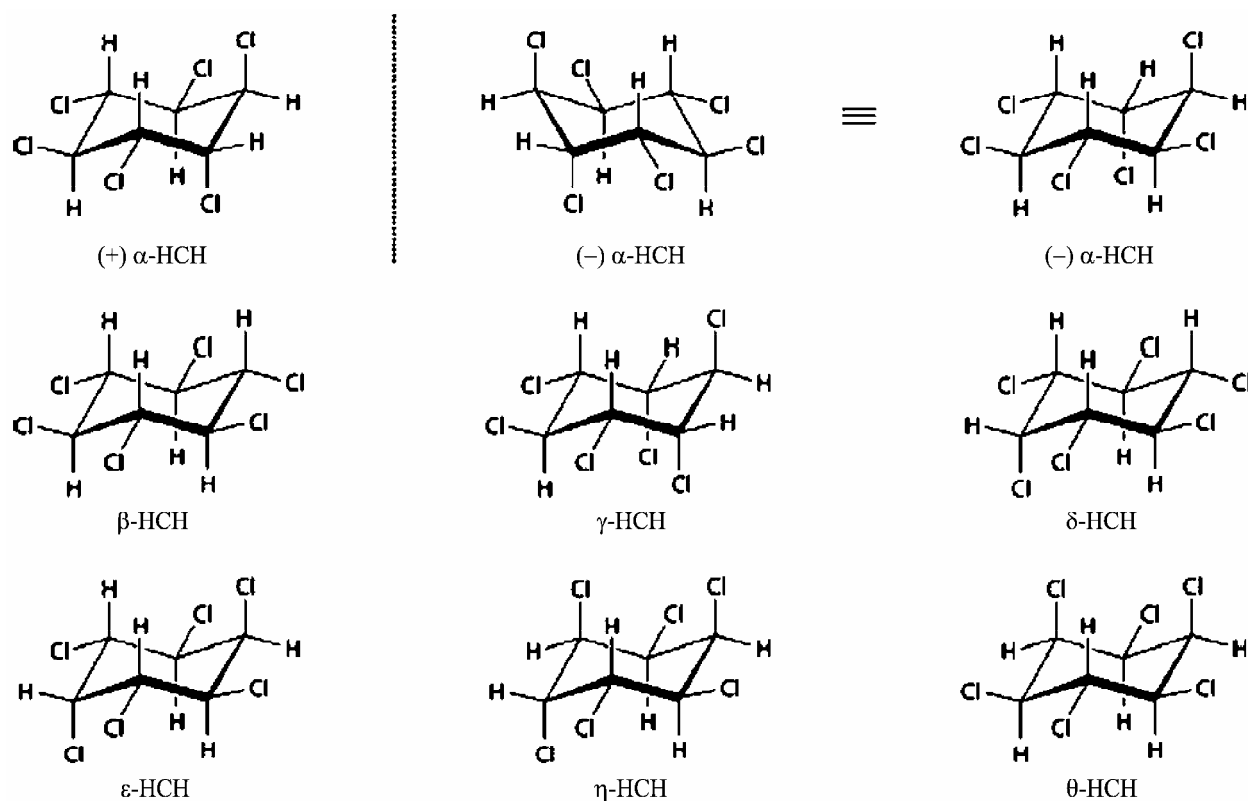


图 1 六六六 5 种主要的异构体与不常见的 η -和 θ -HCH 异构体的氯原子在环己烷环上的空间排列

Fig. 1 Axial versus equatorial arrangements of chlorine atoms in the five major isomers of HCH plus the less common η - and θ -isomers

六六六因其广谱毒性和长期残留性而引起世界范围内广泛关注。Weber 等科学家在 2008 年估计,全世界共合成了 $(4-6)\times 10^6$ t 六六六并释放到环境中,在规模上相当于其它所有持续性有机污染物(POPs)释放数量的总和^[5]。六六六的残留在世界许多国家的空气、水、土壤、食物、牛奶、鱼类和哺乳动物中均被检出,甚至人的血液和脂肪组织中,也有六六六残留,即使一些远离六六六生产和使用的地区,甚至从来没有生产和使用过六六六的地方,诸如北极、南极和太平洋中也被检测出有六六六的残留^[9-10]。虽然六六六在发达国家被限制或禁止使用,但是在印度和一些热带国家与地区,六六六仍然在生产和使用^[7],所以它在全世界的残留污染问题依然存在。

在六六六微生物降解途径的研究方面,主要的 4 种异构体(α -、 β -、 γ -和 δ -HCH)均取得了不同程度的进展。其中 γ -HCH 与 α -HCH 的微生物降解途径已被阐明, β -HCH 和 δ -HCH 微生物降解的研究是目前环境微生物研究领域的热点^[3]。

1 降解六六六的微生物

通过微生物对六六六污染环境进行生物修复一直是世界各国环境工作者关注的焦点。目前已经报道了一些能够降解六六六的微生物,包括细菌、真菌等^[4,11]。第一株被报道的好氧六六六降解菌是在 19 世纪 80 年代由日本科学家分离获得^[12],然后其他国家也陆续有相关菌株的报道和研究^[13-15]。这些好氧降解菌虽然来自世界各地的不同的细菌类群,但大多数集中在 *Sphingobium*。其中研究得比较详细的包括:从日本分离到的 *Sphingobium japonicum* UT26 (以下简称 UT26)^[12]、从法国分离到的 *Sphingobium francense* Sp⁺^[16]和从印度分离到的 *Sphingobium indicum* B90A (以

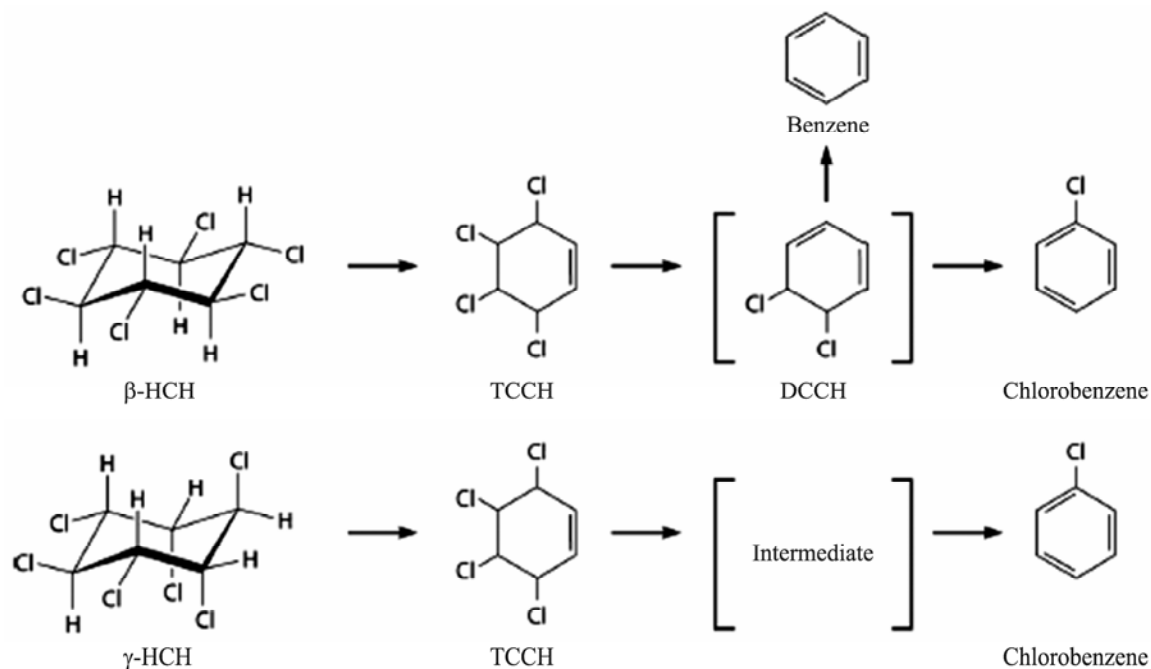
下简称 B90A)^[13] (最初将这 3 株菌均被鉴定为 *Sphingomonas paucimobilis*,直到 2005 年才将它们重新鉴定为 *Sphingobium* 属的 3 个新种^[17])。其它六六六的降解菌,分别分离筛选于德国、西班牙、中国、日本和印度等被六六六污染的土壤中^[4],这些六六六的降解菌,在六六六降解的早期阶段有不同的底物特异性,例如菌株 UT26 和 *Sphingomonas paucimobilis* BHC-A (以下简称 BHC-A)能降解六六六的 4 种主要异构体(α -、 β -、 γ -和 δ -HCH)^[18-20],菌株 *Pandora sp.*只能降解 α -HCH 和 γ -HCH^[21],而 *Xanthomonas sp.* ICH12 只能降解 γ -HCH^[22]。国内报道的六六六降解菌株主要有 BI 菌株^[23]和 BHC-A 菌株^[24]。

2 六六六的厌氧微生物降解途径的研究进展

有关六六六的厌氧降解的报道始于 19 世纪 60 年代,随后它的好氧降解微生物也陆续被发现^[4,11]。 α 、 β 、 γ 和 δ 异构体六六六的微生物降解都被发现,但由于 ϵ 异构体六六六在环境中相对而言最不稳定,它的好氧和厌氧降解至今仍未见报道。在六六六厌氧降解途径中,不同的异构体通过一系列厌氧反应最终生成苯或氯苯^[25-27] (图 2)。到目前为止,未见任何厌氧降解六六六的相关基因和酶被报道^[3]。

3 γ -和 α -HCH 的好氧微生物降解途径的研究进展

γ -HCH 降解途径及其相关基因的研究是 20 世纪 90 年代以来微生物降解研究的热点。日本学者通过近 15 年的努力首先从 UT26 克隆到了 16 个与 γ -HCH 降解直接相关基因,在 2005 年提出了一条完整的 γ -HCH 降解途径^[28-29]。如图 3

图2 β -和 γ -HCH 厌氧代谢途径Fig. 2 Consensus anaerobic degradation pathway of β - and γ -HCH

注: 方括号中两种假设的中间产物尚未被实验证实, TCCH 和 DCCH 的立体结构也尚未确立。

Note: Two intermediates that have been proposed but not yet observed empirically are shown in square brackets. The structures of TCCH and DCCH are shown in the planar format because their stereochemistries have not been established.

所示, 脱氯化氢酶基因(*linA*)、1,4-TCDN 脱氯酶基因(*linB*)、2,5-DDOL 脱氢酶基因(*linC*)和 2,5-DDOL 脱氢酶基因 *linX* 组成了 γ -HCH 生物降解的上游阶段。调节基因(*linR*)、2,5-DCHQ 还原性脱氯酶基因(*linD*)、氯代对苯二酚 1,2 双加氧酶基因(*linE*)和 MA 还原酶基因(*linF*)组成了 γ -HCH 生物降解的下游阶段^[29]。LinE 和 LinEb 都有催化 CHQ 生成 2,6-DCHQ 的活性, 但是 LinE 和 LinEb 在 UT26 中主要参与 CHQ 到 2,6-CHQ 的反应^[30]。编码琥珀酰辅酶 A:3-酮己二酸辅酶 A 转移酶基因(*linGH*)、 β -酮己二酸硫解酶基因(*linJ*)以及参与 *linGH* 基因表达的调节基因 *linI* 虽然也已经被鉴定, 但是其表达类型待定^[29]。

在六六六的上游代谢途径中, 有 3 个代谢产物, 即 2,5-DCHQ、1,2,4-TCB 和 2,5-DCP, 只有

2,5-DCHQ 可以在下游代谢途径中进一步被转化, 而 1,2,4-TCB 和 2,5-DCP 不能被 UT26 进一步降解, 称为死末端产物^[30]。另外, UT26 中的脱氯化氢酶(LinA)、1,4-TCDN 脱氯酶(LinB)定位在细胞的周质空间中^[31], 而 2 个死末端产物 1,2,4-TCB 和 2,5-DCP 在细胞的周质空间一旦产生, 将对 UT26 细胞有毒害作用^[32]。现在已经证明, 在 UT26 中有 4 个基因(*linKLMN*)编码的 ABC 转运系统作为一个转运泵, 将疏水性物质(尤其是 2,5-DCP)转运到细胞外, 来解除这种毒害^[33]。

B90A 和 BHC-A 中也存在类似 UT26 的 γ -HCH 降解途径。而关于 α -HCH 的降解, 目前的报道显示六六六的 α 和 γ 异构体有相似的代谢途径, 只有第一个脱氯酶催化的反应不同, 它和 γ -HCH 采用相同的途径^[34]。

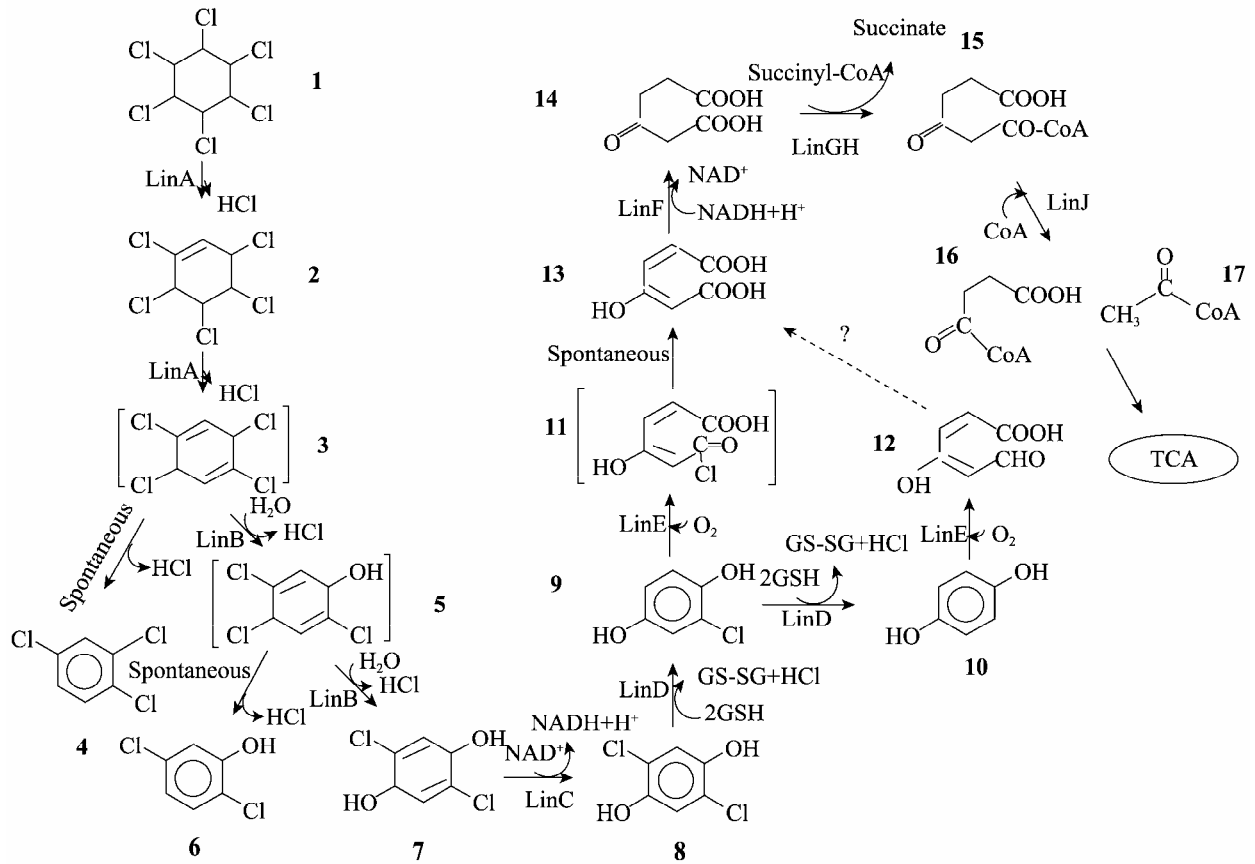


图3 *Sphingobium japonicum* UT26 中 γ -HCH 的降解途径

Fig. 3 Degradation pathways of γ -HCH in *Sphingobium japonicum* UT26

注: 1: γ -六六六; 2: γ -五氯环己烯; 3: 1,3,4,6-四氯-1,4-环己二烯; 4: 1,2,4-三氯苯; 5: 2,4,5-三氯-2,5-环己二烯-1-醇; 6: 2,5-二氯苯酚; 7: 2,5-二氯-2,5-环己二烯-1,4-二醇; 8: 2,5-二氯对苯二酚; 9: 氯代对苯二酚; 10: 对苯二酚; 11: 酰氯; 12: γ -羟基己二烯二酸半醛; 13: 顺丁烯二酸; 14: β -酮己二酸; 15: 3-酮己二酰辅酶 A; 16: 乙酰辅酶 A; 17: 琥珀酰辅酶 A; GSH: 谷胱甘肽。

Note: 1: γ -Hexachlorocyclohexane (γ -HCH); 2: γ -Pentachlorocyclohexene (γ -PCCH); 3: 1,3,4,6-Tetrachloro-1,4-cyclohexadiene (1,4-TCDN); 4: 1,2,4-Trichlorobenzene (1,2,4-TCB); 5: 2,4,5-Trichloro-2,5-cyclohexadiene-1-ol (2,4,5-DNOL); 6: 2,5-Dichlorophenol (2,5-DCP); 7: 2,5-Dichloro-2,5-cyclohexadiene-1,4-diol (2,5-DDOL); 8: 2,5-Dichlorohydroquinone (2,5-DCHQ); 9: Chlorohydroquinone (CHQ); 10: Hydroquinone (HQ); 11: Acylchloride; 12: γ -Hydroxymuconic semialdehyde (γ -HMSA); 13: Maleylacetate (MA); 14: β -Ketoadipate; 15: 3-Oxoadipyl-CoA; 16: Acetyl-CoA; 17: Succinyl-CoA; GSH: Glutathione.

4 β -HCH 的好氧微生物降解途径的研究进展

国际上对于 β -HCH 的微生物降解的研究进展较为缓慢。已分离出的六六六降解菌中, 大多数对于 α 和 γ 异构体具有良好的降解效果, 而对于 β 异构体则没有降解效果。在少数报道的可以降解 β 异构体的细菌中, 大多数对于 β 异构体的降解又极为缓慢, 例如 UT26, 在使用高浓度的细

胞时才能表现出对 β 异构体极微弱的降解能力^[35]。B90A 是目前报道的具有较强降解能力的菌株^[36]。最近, 在研究 β 异构体的降解基因方面获得了突破, 研究发现在 UT26 中的 *linB* 基因编码的酶 LinB 可以催化 β -HCH 转化为 β -五氯环己醇 (PCHL), 而 PCHL 则作为终产物不能再被 LinB 催化降解^[35]。BHC-A 对六六六的 4 种异构体都有很好的降解效果^[24], 如图 4 所示, 从中克隆到的 *linB* 基因(*linB2*)编码的酶 LinB2 不仅可以转化

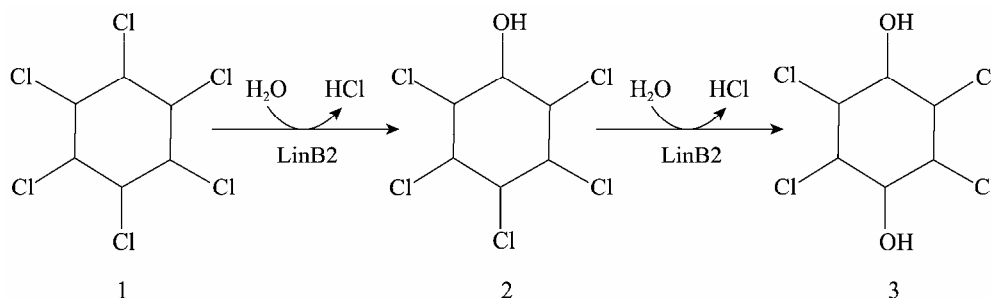


图4 *Sphingomonas* sp. BHC-A 中 β -HCH 的降解途径

Fig. 4 Proposed initial pathway for β -HCH degradation

注: 1: β -六六六; 2: β -五氯环己醇; 3: β -2,3,5,6-四氯-1,4-环己二醇。

Note: 1: β -Hexachlorocyclohexane (β -HCH); 2: β -2,3,4,5,6-Pentachlorocyclohexanol (β -PCHL); 3: β -2,3,5,6-Tetrachloro-1,4-cyclohexanediol (β -TDOL).

β -HCH 为 β -PCHL, 同时也可以继续催化 β -PCHL 的转化, 形成终产物 β -TDOL^[19]。除此之外, 还未见其它关于 β -HCH 的微生物降解方面的报道。

5 δ -HCH 的好氧微生物降解途径的研究进展

在 δ -HCH 的微生物降解方面, 已经报道的大部分 γ -HCH 降解菌株虽然在好氧条件下对 δ -HCH 也有不同程度的降解作用, 但是对 δ -HCH 的完整降解途径还没有解析^[21-22], 相关基因和酶的报道更少^[20,37-39]。1993 年 Nagata Y 报道了来源于 UT26 菌株的脱氯化氢酶 LinA 可以转化 δ -HCH 为 δ -PCCH^[37]。2001 年 Trantirek L 在研究 LinA 作用机理的基础上再次报道了 LinA 可以转化 δ -HCH 为 δ -PCCH, 并且 δ -PCCH 为 LinA 转化的终产物^[38]。2006 年 Sharma 等报道了 B90A 中的脱氯酶 LinB 可以转化 δ -HCH 为 δ -PCCH, 并继续转化为 δ -TDOL^[39]。而在 BHC-A 中, 如图 5 所示, δ -HCH 可以被 LinA 连续脱氯化氢, 转化为 δ -1,4-TCDN, 中间产生 δ -PCCH。同时反应体系中的这 3 种物质(δ -HCH、 δ -PCCH 和 δ -1,4-TCDN)

又都可以作为 LinB2 的底物, 通过 3 种不同的脱氯反应被 LinB2 转化^[20]。这也是 δ -HCH 到目前为止文献报道的最新进展。

6 结论

从六六六开始使用到现在 60-70 年的时间里, 六六六的高毒性和长期残留性已经引起了广泛的关注。在各种去除六六六污染的措施中, 通过微生物对六六六污染环境进行的生物修复因其高效、安全、成本低、无二次污染等优点而具有较好的发展前景^[3,40]。目前, 菌株 UT26 的全基因组测序已经完成^[41], 本课题组所分离的菌株 BHC-A 的全基因组测序刚刚完成, 相关降解酶的催化机制以及 β -HCH 和 δ -HCH 代谢途径的研究工作正在进行。随着研究的深入, 六六六代谢途径的进一步解析, 尤其对 β -HCH 和 δ -HCH 代谢途径的彻底阐明, 六六六新的降解基因的研究, 降解酶构象和动力学的研究, 以及六六六微生物应用修复技术的研究等, 将会有新的进展, 这将大大有助于对六六六污染产品或地区开展经济而有效的修复工作。

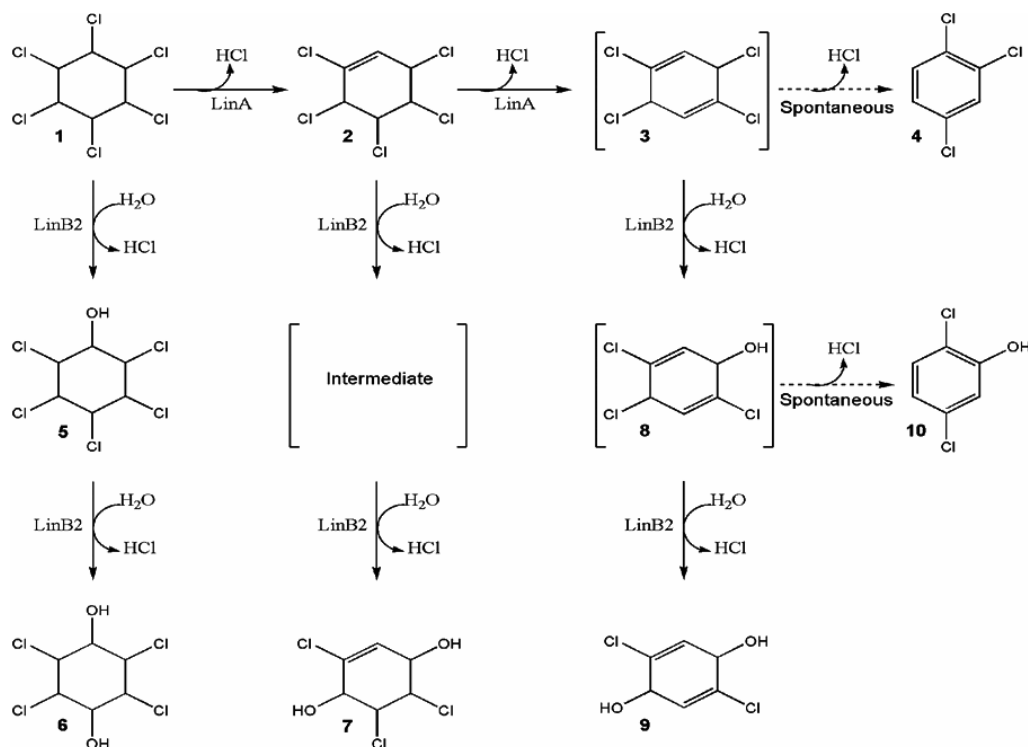


图 5 由 LinA 和 LinB2 组成的 δ -HCH 的降解途径

Fig. 5 Proposed degradation pathway of δ -HCH by LinA and LinB2

注: 1: δ -六六六; 2: δ -五氯环己烷; 3: δ -1,3,4,6-四氯-1,4-环己二烯; 4: 1,2,4-三氯苯; 5: δ -2,3,4,5,6-五氯环己醇; 6: δ -2,3,5,6-四氯-1,4-环己二醇; 7: δ -2,3,5-三氯-5-环己烯-1,4-二醇; 8: δ -2,4,5-三氯-2,5-环己二烯-1-醇; 9: δ -2,5-二氯-2,5-环己二烯-1,4-二醇; 10: 2,5-二氯苯酚。

Note: 1: δ -Hexachlorocyclohexane (δ -HCH); 2: δ -Pentachlorocyclohexene (δ -PCCH); 3: δ -1,3,4,6-Tetrachloro-1,4-cyclohexadiene (δ -1,4-TCDN); 4: 1,2,4-Trichlorobenzene (1,2,4-TCB); 5: δ -2,3,4,5,6-Pentachlorocyclohexanol (δ -PCHL); 6: δ -2,3,5,6-Tetrachloro-1,4-cyclohexanediol (δ -TDOL); 7: δ -2,3,5-Trichloro-5-cyclohexadiene-1,4-diol (δ -2,3,5-TCDL); 8: δ -2,4,5-Trichloro-2,5-cyclohexadiene-1-ol (δ -2,4,5-DNOL); 9: δ -2,5-Dichloro-2,5-cyclohexadiene-1,4-diol (δ -DDOL); 10: 2,5-Dichlorophenol (2,5-DCP).

参考文献

- [1] Breivik K, Pacyna JM, Münch J. Use of *alpha*-, *beta*- and *gamma*-hexachlorocyclohexane in Europe, 1970-1996[J]. Science of the Total Environment, 1999, 239(1/3): 151-163.
- [2] Li YF. Global technical hexachlorocyclohexane usage and its contamination consequences in the environment: from 1948 to 1997[J]. The Science of the Total Environment, 1999, 232(3): 121-158.
- [3] Lal R, Pandey G, Sharma P, et al. Biochemistry of microbial degradation of hexachlorocyclohexane and prospects for bioremediation[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2010, 74(1): 58-80.
- [4] Vijgen J, Yi LF, Forter M, et al. The legacy of lindane and technical HCH production[J]. Organohalogen Compounds, 2006, 68: 899-904.
- [5] Weber R, Gaus C, Tysklind M, et al. Dioxin- and POP-contaminated sites—contemporary and future relevance and challenges[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2008, 15(5): 363-393.
- [6] Nagata Y, Natsui S, Endo R, et al. Genomic organization and genomic structural rearrangements of *Sphingobium japonicum* UT26, an archetypal γ -hexachlorocyclohexane-degrading bacterium[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2011, 49(6/7): 499-508.
- [7] Vijgen J, Abhilash PC, Li YF, et al. Hexachlorocyclohexane (HCH) as new Stockholm

- Convention POPs—a global perspective on the management of Lindane and its waste isomers[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2011, 18(2): 152–162.
- [8] Willett KL, Ulrich EM, Hites RA. Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers[J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32(15): 2197–2207.
- [9] Iwata H, Tanabe S, Sakai N, et al. Geographical distribution of persistent organochlorines in air, water and sediments from Asia and Oceania, and their implications for global redistribution from lower latitudes[J]. *Environmental Pollution*, 1994, 85(1): 15–33.
- [10] Walker K, Vallero DA, Lewis RG. Factors influencing the distribution of lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment[J]. *Environmental Science and Technology*, 1999, 33(24): 4373–4378.
- [11] 张海燕, 李梅, 邱星辉. 持久性有机污染物 γ -六六六生物降解研究进展[J]. *微生物学通报*, 2007, 34(5): 965–969.
- [12] Imai R, Nagata Y, Senoo K, et al. Dehydrochlorination of γ -hexachlorocyclohexane (γ -BHC) by γ -BHC-assimilating *Pseudomonas paucimobilis*[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1989, 53(7): 2015–2017.
- [13] Sahu SK, Patnaik KK, Sharmila M, et al. Degradation of alpha-, beta-, and gamma-hexachlorocyclohexane by a soil bacterium under aerobic conditions[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1990, 56(11): 3620–3622.
- [14] Harayama S, Rekik M. The *meta* cleavage operon of TOL degradative plasmid pWVO comprises 13 genes[J]. *Molecular and General Genetics MGG*, 1990, 221(1): 113–120.
- [15] Datta J, Maiti AK, Modak DP, et al. Metabolism of γ -hexachlorocyclohexane by *Arthrobacter citreus* strain BI-100: identification of metabolites[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 2000, 46(2): 59–67.
- [16] C  r  monie H, Boubakri H, Mavingui P, et al. Plasmid-encoded γ -hexachlorocyclohexane degradation genes and insertion sequences in *Sphingobium francense* (ex-*Sphingomonas paucimobilis* Sp+)[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 257(2): 243–252.
- [17] Pal R, Bala S, Dadhwal M, et al. Hexachlorocyclohexane-degrading bacterial strains *Sphingomonas paucimobilis* B90A, UT26 and Sp+, having similar *lin* genes, represent three distinct species, *Sphingobium indicum* sp. nov., *Sphingobium japonicum* sp. nov. and *Sphingobium francense* sp. nov., and reclassification of [*Sphingomonas*] *chungbukensis* as *Sphingobium chungbukense* comb. nov.[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(5): 1965–1972.
- [18] Nagata Y, Miyauchi K, Takagi M. Complete analysis of genes and enzymes for γ -hexachlorocyclohexane degradation in *Sphingomonas paucimobilis* UT26[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1999, 23(4/5): 380–390.
- [19] Wu J, Hong Q, Han P, et al. A gene *linB2* responsible for the conversion of β -HCH and 2, 3, 4, 5, 6-pentachlorocyclohexanol in *Sphingomonas* sp. BHC-A[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 73(5): 1097–1105.
- [20] Wu J, Hong Q, Sun Y, et al. Analysis of the role of *LinA* and *LinB* in biodegradation of δ -hexachlorocyclohexane[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(9): 2331–2340.
- [21] Okeke BC, Siddique T, Arbestain MC, et al. Biodegradation of γ -hexachlorocyclohexane (lindane) and α -hexachlorocyclohexane in water and a soil slurry by a *Pandoraea* species[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(9): 2548–2555.
- [22] Manickam N, Misra R, Mayilraj S. A novel pathway for the biodegradation of γ -hexachlorocyclohexane by a *Xanthomonas* sp. strain ICH12[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 102(6): 1468–1478.
- [23] 刘继芳, 逢焕成, 严慧峻, 等. 用微生物对六六六污染土壤进行生物修复的初步试验研究[J]. *农业环境科学学报*, 2003, 22(6): 677–680.
- [24] 马爱芝, 武俊, 汪婷, 等. 六六六(HCH)降解菌

- Sphingomonas* sp. BHC-A 的分离与降解特性的研究[J]. 微生物学报, 2005, 45(5): 728–732.
- [25] Beland FA, Farwell SO, Robocker AE, et al. Electrochemical reduction and anaerobic degradation of lindane[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1976, 24(4): 753–756.
- [26] Boyle AW, Häggblom MM, Young LY. Dehalogenation of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) by anaerobic bacteria from marine sediments and by sulfate-reducing bacteria[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 29(4): 379–387.
- [27] Middeldorp PJM, Jaspers M, Zehnder AJB, et al. Biotransformation of α -, β -, γ -, and δ -hexachlorocyclohexane under methanogenic conditions[J]. Environmental Science and Technology, 1996, 30(7): 2345–2349.
- [28] Nagata Y, Miyauchi K, Takagi M. Complete analysis of genes and enzymes for γ -hexachlorocyclohexane degradation in *Sphingomonas paucimobilis* UT26[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1999, 23(4/5): 380–390.
- [29] Endo R, Kamakura M, Miyauchi K, et al. Identification and characterization of genes involved in the downstream degradation pathway of γ -hexachlorocyclohexane in *Sphingomonas paucimobilis* UT26[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(3): 847–853.
- [30] Nagata Y, Endo R, Ito M, et al. Aerobic degradation of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) in bacteria and its biochemical and molecular basis[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(4): 741–752.
- [31] Nagata Y, Futamura A, Miyauchi K, et al. Two different types of dehalogenases, LinA and LinB, involved in γ -hexachlorocyclohexane degradation in *Sphingomonas paucimobilis* UT26 are localized in the periplasmic space without molecular processing[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(17): 5409–5413.
- [32] Endo R, Ohtsubo Y, Tsuda M, et al. Growth inhibition by metabolites of γ -hexachlorocyclohexane in *Sphingobium japonicum* UT26[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2006, 70(4): 1029–1032.
- [33] Endo R, Ohtsubo Y, Tsuda M, et al. Identification and characterization of genes encoding a putative ABC-type transporter essential for utilization of γ -hexachlorocyclohexane in *Sphingobium japonicum* UT26[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(10): 3712–3720.
- [34] Lal R, Dogra C, Malhotra S, et al. Diversity, distribution and divergence of *lin* genes in hexachlorocyclohexane-degrading sphingomonads[J]. Trends in Biotechnology, 2006, 24(3): 121–130.
- [35] Kumar M, Chaudhary P, Dwivedi M, et al. Enhanced biodegradation of β - and δ -hexachlorocyclohexane in the presence of α - and γ -isomers in contaminated soils[J]. Environmental Science and Technology, 2005, 39(11): 4005–4011.
- [36] Siddique T, Okeke BC, Arshad M, et al. Temperature and pH effects on biodegradation of hexachlorocyclohexane isomers in water and a soil slurry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(18): 5070–5076.
- [37] Nagata Y, Hatta T, Imai R, et al. Purification and characterization of γ -hexachlorocyclohexane (γ -HCH) dehydrochlorinase (LinA) from *Pseudomonas paucimobilis*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1993, 57(9): 1582–1583.
- [38] Trantírek L, Hynková K, Nagata Y, et al. Reaction mechanism and stereochemistry of γ -hexachlorocyclohexane dehydrochlorinase LinA[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(11): 7734–7740.
- [39] Sharma P, Raina V, Kumari R, et al. Haloalkane dehalogenase LinB is responsible for β - and δ -hexachlorocyclohexane transformation in *Sphingobium indicum* B90A[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(9): 5720–5727.
- [40] Alexander M. Biodegradation of chemicals of environmental concern[J]. Science, 1981, 211(4478): 132–138.
- [41] Nagata Y, Ohtsubo Y, Endo R, et al. Complete genome sequence of the representative γ -hexachlorocyclohexane-degrading bacterium *Sphingobium japonicum* UT26[J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(21): 5852–5853.