

# 硝基苯污染物的生物降解途径\*

范丽微 郭东林 刘会娟 郭长虹 王晓萍\*\*

(哈尔滨师范大学生命与环境科学学院 哈尔滨 150025)

**摘要** 硝基苯是一种有毒化合物,目前,关于硝基苯污染物的生物降解已进行了大量的研究。综述了生物降解硝基苯的两种主要途径氧化途径和部分还原途径,介绍了两种途径降解硝基苯的具体机制及相关酶和编码基因的特点,并对两种降解途径进行了简要的对比分析,为硝基苯及其它有机污染物生物降解技术的开发应用提供依据。

**关键词** 硝基苯,生物降解,氧化途径,部分还原途径

中图分类号:Q93 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2007)05-0976-06

## Pathways for Nitrobenzene Biodegradation\*

FAN Li-Wei GUO Dong-Lin LIU Hui-Juan GUO Chang-Hong WANG Xiao-Ping\*\*

(College of Biological and Environmental Science, Harbin Normal University, Harbin 150025)

**Abstract** Nitrobenzene is one of the toxic compounds. Much work had focused on biodegradation of it so far. Two main pathways for nitrobenzene biodegradation, oxidative and partial reductive pathways, were reviewed in this article. The mechanism of these pathways including involved enzymes and genes was introduced in details. Comparative analysis of the pathways would provide basis for the development and application of biodegradation technology for nitrobenzene and other organic pollutants.

**Key words** Nitrobenzene, Biodegradation, Oxidative pathway, Partial reductive pathway

硝基苯是一种重要的化工原料,广泛应用于生产农药、燃料、医药、多聚体及其他化工产品。硝基苯呈淡黄色,有苦杏仁味,对人体和生物具有高毒性,而且很难被降解,被我国列为52种优先控制的有毒化学品之一。2005年11月13日,中石油吉林石化公司双苯厂爆炸引起松花江水污染的重大环境污染事件,硝基苯是其中主要污染物之一。利用微生物的活性来降解硝基苯污染物与活性炭吸附、萃取、辐照、氧化和电化学处理等物理和化学方法相比成本相对低得多,无二次污染,且微生物又具有较强的可变性及适应性,是处理硝基苯污染物的理想方法。关于硝基苯的生物降解,国内外进行了大量的研究,对于其降解途径和机制都有了比较详细的叙述。目前,有报道的硝基苯生物降解途径主要有两种:一种是氧化途径,以释放亚硝酸(盐)为特征;另一种是部分还原途径,以释放氨为特征。本文将对这两种降解途径的具体机制及相关酶和

编码基因的特点作简要的概括和分析,为硝基苯及其他污染物生物降解技术的开发应用提供依据。

## 1 硝基苯生物降解的氧化途径

硝基苯生物降解的氧化途径在 *Comamonas* sp. JS765(下称JS765)中有所描述<sup>[1]</sup>,JS765利用硝基苯作为唯一的氮源、碳源和能源,是唯一能生长在硝基苯中释放亚硝酸(盐)的菌。氧化途径首先是硝基苯被转变成儿茶酚(邻苯二酚),然后儿茶酚经过儿茶酚间位环裂途径代谢,即儿茶酚的芳香环经儿茶酚2,3-双加氧酶催化断裂,其产物2-羟基-己二烯二酸-6-半醛被氧化成2-羟基-己二烯二酸,然后被草酰巴豆酸互变异构酶、4-草酰巴豆酸脱羧酶、2-氧代-4-戊烯酸水合酶和4-羟基-2-氧代-戊酸醛缩酶代谢生成乙醛和丙酮酸。

### 1.1 硝基苯转变成儿茶酚

硝基苯氧化途径的第一步是去除硝基。硝基

\* 国家科技攻关松花江水污染应急专项,黑龙江省科技计划松花江水污染应急专项,哈尔滨师范大学骨干教师资助计划项目(No. KG2006-05)

\*\* 通讯作者 Tel: 0451-88060576, E-mail: dr\_wxp@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-12-18,修回日期:2007-04-06

苯在硝基苯双加氧酶的作用下先生成二羟中间物,然后自发重排成儿茶酚(释放出亚硝酸(盐))。硝基苯双加氧酶由还原酶、铁氧还蛋白、氧化酶 $\alpha$ 和氧化酶 $\beta$  4 个成份组成,其基因分别为 *nbzAa*、*nbzAb*、*nbzAc* 和 *nbzAd*;硝基苯双加氧酶有较宽的底物范围,属于萘族非血红素铁氧化酶类,其成分与来自 *Pseudomonas* sp. JS42 的 2-硝基甲苯双加氧酶有较高的同源性<sup>[2-7]</sup>。

## 1.2 儿茶酚代谢

JS765 中儿茶酚以间位环裂途径降解,儿茶酚间位环裂途径是芳香化合物降解的主要机制。首先儿茶酚 2,3-双加氧酶催化儿茶酚的芳香环在其中一个羟基的间位发生断裂,生成 2-羟基己二烯二酸-6-半醛。2-羟基己二烯二酸-6-半醛在  $\text{NAD}^+$  参与下经 2-羟基己二烯二酸-6-半醛脱氢酶催化脱氢,生成的 2-羟基-己二烯二酸(烯醇式草酰巴豆酸)在 4-草酰巴豆酸互变异构酶的作用下生成 4-草酰巴豆酸(2-氧代-3-己烯-1,6-二酸)。4-草酰巴豆酸在草酰巴豆酸脱羧酶、2-氧代-4-戊烯酸水合酶和 4-羟基-2-氧代戊酸醛缩酶作用下最终生成乙醛和丙酮酸。在这一过程中 2-羟基己二烯二酸-6-半醛也可以被 2-羟基己二烯二酸-6-半醛水解酶催化,生成的 2-羟基-2,4-戊二烯酸可能与 2-氧代-4-戊烯酸发生烯醇式和酮式的互变而进一步代谢。

目前只从 JS765 中克隆出这一途径的儿茶酚 2,3-双加氧酶基因(*cdoE*)和 2-羟基己二烯二酸-6-半醛脱氢酶基因(*cdoG*),已知 *cdoE* 和 *cdoG* 相距约 3000bp,其中含有一些功能未知的基因<sup>[8,9]</sup>。在经典的间位环裂途径操纵子中基因是按照儿茶酚 2,3-双加氧酶基因、2-羟基己二烯二酸-6-半醛脱氢酶基因、2-羟基己二烯二酸-6-半醛水解酶基因<sup>[10,11]</sup>或儿茶酚 2,3-双加氧酶基因、2-羟基己二烯二酸-6-半醛水解酶基因、2-羟基己二烯二酸-6-半醛脱氢酶基因<sup>[12]</sup>这样的顺序紧密排列的;在 *Sphingomonas* sp. HV3<sup>[13]</sup>、*Pseudomonas* sp. DJ77<sup>[14]</sup> 和 *Sphingomonas aromaticivorans* F199<sup>[15]</sup>中,2-羟基己二烯二酸-6-半醛水解酶基因在 2-羟基己二烯二酸-6-半醛脱氢酶基因之前、在儿茶酚 2,3-双加氧酶基因与 2-羟基己二烯二酸-6-半醛脱氢酶基因之间有一个功能未知的开放读码框。虽然 JS765 中环裂途径基因的具体组织形式还没有研究清楚,但显然不同于以上两种情况,代表

了第三种类型的间位环裂途径基因组织形式<sup>[9]</sup>。

## 2 硝基苯生物降解的部分还原途径

在研究过的生境中进行还原降解的菌是比较普遍的,目前对这一途径的理解主要是通过 *Pseudomonas* JS45<sup>[16]</sup>(下称 JS45)和 *P. putida* HS12<sup>[17,18]</sup>(下称 HS12)的研究得到的。JS45 和 HS12 利用硝基苯作为唯一的氮源、碳源和能源,研究表明硝基苯还原降解由硝基苯的不完全还原开始,经羟基苯胺生成 2-氨基苯酚,2-氨基苯酚经过间位环裂生成 2-氨基己二烯二酸-6-半醛;在  $\text{NAD}^+$  参与下 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛被氧化成 2-氨基-己二烯二酸,2-氨基-己二烯二酸定量脱氨,生成的 4-草酰巴豆酸以与氧化途径相同的步骤被代谢成乙醛和丙酮酸,脱氨作用释放的氨就可以作为微生物生长的氮源。

### 2.1 硝基苯经羟基苯胺转变成 2-氨基苯酚

硝基苯部分还原途径的第一步是由硝基苯硝基还原酶催化的硝基还原,这一反应是硝基苯代谢过程中分子不完全还原的关键。硝基苯硝基还原酶定量催化硝基苯 4 电子还原生成羟基苯胺,如果继续还原生成苯胺,就没有重排生成 2-氨基苯酚的反应了<sup>[19]</sup>,羟基苯胺不是还原酶的底物,所以没有苯胺生成<sup>[16,20]</sup>,羟基苯胺经羟基苯胺变位酶作用,重排生成 2-氨基苯酚,由变位酶涉及羟基苯胺重排的反应在其它硝基芳烃降解途径中也有发现,比如 *Mycobacterium* sp. HL4-NT-1 的 4-硝基甲苯途径<sup>[21]</sup>、*R. eutropha* JMP134 的 3-硝基苯酚和 2-氯-5-硝基苯酚途径<sup>[22,23]</sup>、LW1 的 4-氯-硝基苯途径<sup>[24]</sup> 和 *P. fluorescens* KU-7 的 2-硝基苯甲酸途径等<sup>[25]</sup>。

这两步反应的酶都已经从 JS45 和 HS12 中分离出来,硝基苯硝基还原酶是一种紧密结合黄素单核苷酸辅因子的黄素蛋白, pH8 时有最大活性,40℃以下相对稳定<sup>[20]</sup>。硝基苯降解菌中,硝基还原酶的序列信息局限在 *nbzA* 基因中,它来自 HS12 的分解代谢质粒 pNB1(59.1kb),定位在 pNB1 质粒 1.1-kb 的 *Sma*I-*Sna*BI 片段上;变位酶基因 *nbzB* 定位在 HS12 的另一个质粒 pNBX(43.8)1.0-kb 的 *Ssp*I-*Sph*I 片段上<sup>[17,25]</sup>。JS45 的染色体带有编码两个变位酶同工酶的基因 *habA* 和 *habB*,相距 2.5kb,都可以编码一个有功能的酶,JS45 中只有 *habA* 表达<sup>[26]</sup>。

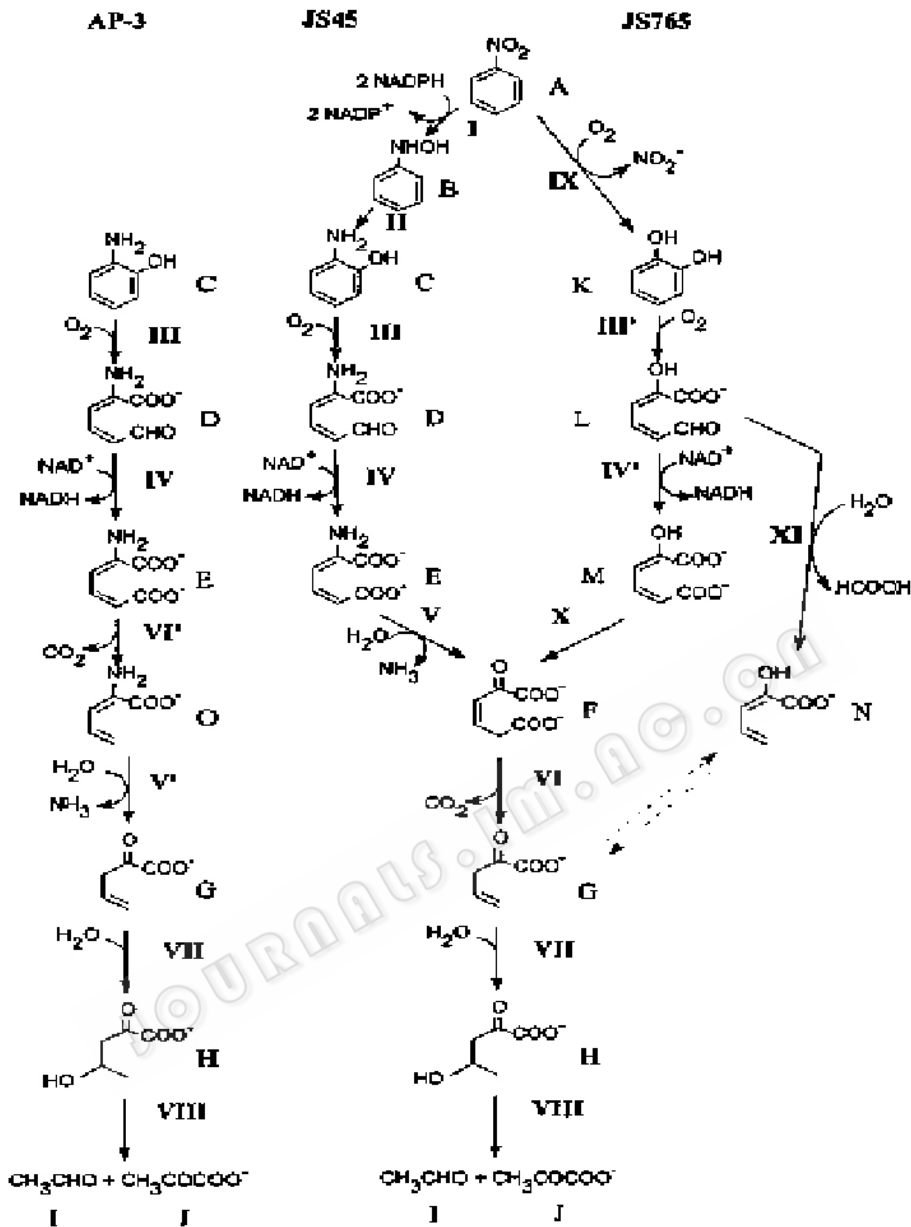


图1 硝基苯在 *Pseudomonas* JS45 和 *Comamonas* sp. JS765 中的降解途径及 *Pseudomonas* sp. AP-3 中 2-氨基苯酚降解途径<sup>[30]</sup>

(A 硝基苯, B 羟基苯胺, C 2-氨基苯酚, D 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛, E 2-氨基-己二烯二酸, F 4-草酰巴豆酸, G 2-氧代-4-戊烯酸, H 4-羟基-2-氧代-戊酸, I 乙醛, J 丙酮酸, K 儿茶酚, L 2-羟基-己二烯二酸-6-半醛, M 2-羟基-己二烯二酸, N 2-羟基-2-戊二烯酸, O 2-氨基-2-戊二烯酸; I 硝基苯硝基还原酶, II 羟基苯胺变位酶, III 2-氨基苯酚 1,6-双加氧酶, III' 儿茶酚 2,3-双加氧酶, IV 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶, IV' 2-羟基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶, V 2-氨基-己二烯二酸脱氨酶, V' 2-氨基-2-戊二烯酸脱氨酶, VI 4-草酰巴豆酸脱羧酶, VI' 2-氨基-己二烯二酸脱羧酶, VII 2-氧代-4-戊烯酸水合酶, VIII 4-羟基-2-氧代-戊酸醛缩酶, IX 硝基苯双加氧酶, X 4-草酰巴豆酸互变异构酶, XI 2-羟基-己二烯二酸-6-半醛水解酶)

## 2.2 2-氨基苯酚代谢途径

部分还原途径中,硝基苯分解产生的 2-氨基苯酚经 2-氨基苯酚 1,6-双加氧酶的催化,在氨基间位发生断裂,这个反应与大多数芳香化合物降解途径中的环裂不同,不需要二羟基或三羟基化合物作为环裂底物。生成的 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛是硝

基苯还原降解途径中一个不稳定的中间物,容易环化成吡啶甲酸,在  $\text{NAD}^+$  存在时经 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶催化生成 2-氨基-己二烯二酸,2-氨基-己二烯二酸经 2-氨基-己二烯二酸脱氨酶作用脱去氨基,生成 4-草酰巴豆酸。去除氨基有 4 种比较普遍的机制<sup>[21]</sup>:(1)转氨基作用;(2)水解作用;(3)

由脱氨酶催化的脱氨作用,没有水的参与(4)由氨基酸脱氨酶或氧化酶催化的氧化脱氨基作用,需要NAD(P)<sup>+</sup>、FAD或其他受体参与。部分还原途径中,2-氨基-己二烯二酸在没有附加辅因子情况下脱氨,先生成活泼的亚胺中间体,然后水解成4-草酰巴豆酸,4-草酰巴豆酸之后的代谢与氧化途径相应的步骤一样,经2-氧代-4-戊烯酸和4-羟基-2-氧代-戊酸转变成乙醛和丙酮酸。

Takenaka等<sup>[28]</sup>发现了*Pseudomonas* sp. AP-3(下称AP-3)降解2-氨基苯酚的一种选择途径,如图1,这一途径的前两步与JS45和HS12中2-氨基苯酚代谢一样,经2-氨基苯酚1,6-双加氧酶和2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶催化,生成的2-氨基-己二烯二酸先由2-氨基-己二烯二酸脱羧酶催化脱羧,生成2-氨基-2,4-戊二烯酸,然后由2-氨基-2,4-戊二烯酸脱氨酶催化脱氨,生成的2-氧代-4-戊烯酸也经2-氧代-4-戊烯酸水合酶和4-羟基-2-氧代-戊酸醛缩酶代谢生成乙醛和丙酮酸。这一途径不存在于JS45中,代谢2-氨基-己二烯二酸-6-半醛生成乙醛和丙酮酸的能力说明除了Takenaka等指出的途径外,在AP-3中部分2-氨基苯酚也可能经JS45的途径降解了,因为如果没有酶催化,2-氨基-己二烯二酸可自发脱氨生成4-草酰巴豆酸<sup>[29]</sup>。

2-氨基苯酚代谢相关的一系列酶都已经从两种硝基苯降解菌(JS45和HS12)或2-氨基苯酚降解菌(*Pseudomonas* sp. AP-3)中分离出来,其中2-氨基苯酚1,6-双加氧酶是一种具 $\alpha_2\beta_2$ 异四聚体天然构型的无色蛋白质,以Fe<sup>2+</sup>作为辅因子,酶活性最适pH值7到9,底物范围较窄,是非血红素铁双加氧酶的典型成员<sup>[18,28,30,31]</sup>;2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶由3个相同的亚基构成,最适pH值为7.3,与NAD<sup>+</sup>有较高的亲和性,可加速2-氨基-己二烯二酸-6-半醛向2-氨基-己二烯二酸的转变,避免不必要的吡啶甲酸的生成,它还可以氧化包括2-羟基-己二烯二酸-6-半醛、己醛和苯甲醛在内的几种乙醛类似物<sup>[32]</sup>;JS45中的2-氨基-己二烯二酸脱氨酶是第一个被纯化的作用于不饱和链式脂肪酸的脱氨酶,它由6个相同的亚基构成,pH6.6时表现出最佳活性<sup>[33]</sup>。

在JS45中有报道的编码2-氨基苯酚代谢酶的基因只有*amnBA*<sup>[34]</sup>(2-氨基苯酚1,6-双加氧酶)和*amnC*<sup>[32]</sup>(2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶);在

HS12中,位于pNB1质粒的氨基苯酚操纵子含有所有将2-氨基苯酚转变成乙酰CoA和丙酮的酶基因,其中包含一个调节基因*nbzR*和9个结构基因*nbzJ*、*CaCbD*、*GFEIH*、*NbzJ*为一种铁氧还蛋白,其余8个基因编码2-氨基苯酚代谢的催化酶(表1);*NbzR*拥有一个Lue拉链结构和一个MarR同源结构域,它是氨基苯酚操纵子的抑制子,通过其二聚体形式与启动子区域结合而起作用<sup>[18]</sup>。AP-3途径相关酶基因的组织形式也已研究清楚,8个基因*amnBACFEDHG*紧密聚集并同向转录,很有可能形成一个操纵子。其中2-氨基苯酚1,6-双加氧酶、2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶、2-氨基-己二烯二酸脱氨酶、4-草酰巴豆酸脱羧酶、2-氧代-4-戊烯酸水合酶和4-羟基-2-氧代-戊酸醛缩酶分别由*amnBA*、*amnC*、*amnE*、*amnD*、*amnF*和*amnG*编码<sup>[35]</sup>(表1)。

表1 硝基苯生物降途径相关酶及编码基因

酶	来源 (硝基苯降解菌)	编码 基因
硝基苯双加氧酶	<i>Comamonas</i> sp. JS765	<i>nbzA</i>
儿茶酚2,3-双加氧酶	<i>Comamonas</i> sp. JS765	<i>cdoE</i>
2-羟基己二烯二酸-6-半醛脱氢酶	<i>Comamonas</i> sp. JS765	<i>cdoG</i>
硝基苯硝基还原酶	<i>Pseudoaligenes</i> JS45	
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzA</i>
羟基苯胺变位酶	<i>Pseudoaligenes</i> JS45	<i>habA</i>
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzB</i>
2-氨基苯酚1,6-双加氧酶	<i>Pseudoaligenes</i> JS45	<i>amnBA</i>
	<i>Pseudomonas</i> sp. AP-3	<i>amnBA</i>
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzCbCa</i>
2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶	<i>Pseudoaligenes</i> JS45	<i>amnC</i>
	<i>Pseudomonas</i> sp. AP-3	<i>amnC</i>
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzD</i>
2-氨基-己二烯二酸脱氨酶	<i>Pseudoaligenes</i> JS45	
	<i>Pseudomonas</i> sp. AP-3	<i>amnE</i>
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzE</i>
4-草酰巴豆酸脱羧酶	<i>Pseudomonas</i> sp. AP-3	<i>amnD</i>
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzF</i>
2-氧代-4-戊烯酸水合酶	<i>Pseudomonas</i> sp. AP-3	<i>amnF</i>
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzG</i>
4-羟基-2-氧代-戊酸醛缩酶	<i>Pseudomonas</i> sp. AP-3	<i>amnG</i>
	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzH</i>
乙醛脱氢酶	<i>P. putida</i> HS12	<i>nbzI</i>

### 3 讨论与展望

在需氧条件下,硝基苯降解的氧化途径和还原途径产生共同的中间物 4-草酰巴豆酸。氧化途径简单,需要起始双加氧酶反应和儿茶酚环裂的次级代谢,然而,这一途径需要 2mol 分子氧来生成 4-草酰巴豆酸,如果硝基苯作为生长的氮源,那么亚硝酸盐(盐)还原成氨还需要 3mol NAD(P)H;相对来说,较复杂一些的部分还原途径还原等量的底物仅需要 1mol 氧和 1mol 还原等价物就能将硝基苯转变成 4-草酰巴豆酸和氨,可见,在以硝基苯为唯一碳源、氮源和能源,并且氧含量很有限的生境中,部分还原途径的优势是很明显的<sup>[27]</sup>。这两种途径中,2-氨基苯酚转变成 4-草酰巴豆酸的反应与相应的从儿茶酚到 4-草酰巴豆酸的反应有生化上的相似性,来自 JS45 的 2-氨基苯酚 1,6-双加氧酶和 JS765 的儿茶酚 2,3-双加氧酶也可分别作用于儿茶酚和 2-氨基苯酚,只是儿茶酚是 2-氨基苯酚 1,6-双加氧酶较合适的底物,2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶和 2-羟基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶是同源的,来自 JS765 的 2-羟基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶(最适 pH 值 8.5)能作用于 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛, pH 值 8.0 时相对活性是作用于 2-羟基-己二烯二酸-6-半醛的 18%, pH 值 7.3 时是 3.4%;来自 JS45 的 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛脱氢酶活性作用于 2-氨基-己二烯二酸-6-半醛比作用于 2-羟基-己二烯二酸-6-半醛高出 300%。来自 JS45 的 2-氨基-己二烯二酸脱氨酶与来自 JS765 的 4-草酰巴豆酸互变异构酶有类似的物理特性,但其序列没有较大的一致性。JS45 中也含有互变异构酶,只是在 2-氨基苯酚代谢中没有用到此活性;JS765 中只有互变异构酶活性而没有 2-氨基-己二烯二酸脱氨酶活性,但其互变异构酶活性比 JS45 中强得多(约 100 倍)<sup>[29]</sup>。

尽管 JS45 和 HS12 有不同的地理来源,但它们的硝基苯降解途径非常相似,而且与 AP-3 途径有较大的一致性。AP-3 途径中脱氨作用和脱羧作用是颠倒的,在细菌代谢途径中,有一些连续的酶促反应以任一顺序发生的例子,比如在 *Clostridium thermoaceticum* 中,脱羧酶既能作用于 4-羟基-3-甲氧苯甲酸又能作用于它的脱甲基产物 3,4-二羟基苯甲酸<sup>[36]</sup>。类似地,在 *Escherichia coli* 和 *Bacillus subtilis* 生物合成黄素时,脱氨作用既可以发生在还原反应

之前,也可以发生在还原反应之后<sup>[37]</sup>。研究 JS45 中脱氨作用和脱羧作用是否可以颠倒是很有意义的。

最近的报道表明, *Comamonas* sp. CNB-1 以不同于 JS45 和 HS12 的部分还原途径降解硝基苯和 4-氯代硝基苯,与代谢有关的基因片段定位于其 pCNB1 质粒上。通过对 *Comamonas* sp. CNB-1 中 4-氯代硝基苯代谢途径的研究,这一途径很像是 JS45 和 HS12 中的上游途径(硝基还原和环裂)与 JS765 中下游途径(环裂之后的反应)的结合<sup>[38]</sup>。有关 *Comamonas* sp. CNB-1 中硝基苯生物降解部分还原途径的详细机制还需进一步的研究。

目前,对于硝基苯生物降解途径和相关酶的特性已有了较深入的研究,以上对主要代谢途径和相关酶及编码基因的情况作了简要的概括分析,但硝基苯代谢的分子基础、调控机制和进化关系等详细信息仍有待于进一步的研究阐述。

### 参考文献

- [1] Nishino S F, Spain J C. Appl Environ Microbiol, 1995, **61**(6): 2308 ~ 2313.
- [2] Gibson D T, Parales R E. Curr Opin Biotechnol, 2000, **11**(3): 236 ~ 243.
- [3] Lessner D J, Johnson G R, Parales R E. Appl Environ Microbiol, 2002, **68**(2): 634 ~ 641.
- [4] Lessner D J, Parales R E, Narayan S, et al. J Bacteriol, 2003, **185**(13): 3895 ~ 3904.
- [5] Lee K S, Parales J V, Friemann R, et al. Microbiol Biotechnol, 2005, **32**(10): 465 ~ 473.
- [6] Parales R E, Huang R, Yu C L, et al. Appl Environ Microbiol, 2005, **71**(7): 3806 ~ 3814.
- [7] Ju K S, Parales R E. Appl Environ Microbiol, 2006, **72**(3): 18171 ~ 18824.
- [8] Parales R E, Onlt T A, Gibson D T. J Ind Microbiol. Biotechnol, 1997, **19**(5-6): 385 ~ 391.
- [9] He Z Q, Parales R E, Spain J C, et al. J Ind Microbiol Biotechnol, 2007, **34**(2): 99 ~ 104.
- [10] Williams P A, Sayers J R. Biodegradation, 1994, **5**(3-4): 195 ~ 217.
- [11] Bosch R, Moore E R B, Garcia V E, et al. J Bacteriol, 1999, **181**(8): 2315 ~ 2322.
- [12] Kukor J J, Olsen R H. J Bacteriol, 1991, **173**(15): 4587 ~ 4594.
- [13] Yrjala K, Paulin L, Romantschuk M. FEMS Microbiol Lett, 1997, **154**(2): 403 ~ 408.
- [14] Kim S, Shin H J, Kim Y, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1997, **240**(1): 41 ~ 45.

- (5): 1585 ~ 1602.
- [16] Nishino S F, Spain J C. Appl Environ Microbiol, 1993, **59**(3): 2520 ~ 2525.
- [17] Park H S, Kim H S. J Bacteriol, 2000, **182**(3): 573 ~ 580.
- [18] Park H S, Kim H S. J Bacteriol, 2001, **183**(17): 5074 ~ 5081.
- [19] Johnson G R, Spain J C. Appl Environ Microbiol, 2003, **62**(2-3): 110 ~ 123.
- [20] Somerville C C, Nishino S F, Spain J C. J Bacteriol, 1995, **177**(13): 3837 ~ 3842.
- [21] Spiess T, Desiere F, Fischer P, *et al.* Appl Environ Microbiol, 1998, **64**(2): 446 ~ 452.
- [22] Schenzle A, Lenke H, Spain J C, *et al.* Appl Environ Microbiol, 1999, **65**(6): 2317 ~ 2323.
- [23] Schenzle A, Lenke H, Spain J C, *et al.* J Bacteriol, 1999, **181**(5): 1444 ~ 1450.
- [24] Katsivela E, Wray V, Pieper D H, *et al.* Appl Environ Microbiol, 1999, **65**(4): 1405 ~ 1412.
- [25] Park H S, Lim S J, Chang Y K, *et al.* Appl Environ Microbiol, 1999, **65**(3): 1083 ~ 1091.
- [26] Davis J K, Paoli G C, He Z, Appl Environ Microbiol, 2006, **66**(7): 2965 ~ 2971.
- [27] He Z Q, Spain J C. Appl Environ Microbiol, 1997, **63**(12): 4839 ~ 4853.
- [28] Takenaka S, Murakami S, Shinke R, *et al.* Arch Microbiol, 1998, **170**(2): 132 ~ 137.
- [29] He Z Q, Spain J C. Arch Microbiol, 1999, **171**(5): 309 ~ 316.
- [30] Lendenmann U, Spain J C. J Bacteriol, 1996, **178**(21): 6227 ~ 6232.
- [31] Takenaka S, Murakami S, Shinke R. J Biol Chem, 1997, **272**(23): 14727 ~ 14732.
- [32] He Z Q, Davis J K, Spain J C. J Bacteriol, 1998, **180**(17): 4591 ~ 4595.
- [33] He Z Q, Spain J C. J Bacteriol, 1998, **180**(9): 2502 ~ 2506.
- [34] Davis J K, He Z, Somerville C C, *et al.* Arch Microbiol, 1999, **172**(5): 330 ~ 339.
- [35] Takenaka S, Murakami S, Kim Y J, *et al.* Arch Microbiol, 2000, **174**(4): 265 ~ 272.
- [36] Hsu T, Lux M F, Drake H L. J Bacteriol, 1990, **172**(10): 5901 ~ 5907.
- [37] Richter G, Fischer M, Krieger C, *et al.* J Bacteriol, 1997, **179**(6): 2022 ~ 2028.
- [38] Wu J F, Jiang C Y, Wang B J, *et al.* Appl Environ Microbiol, 2006, **72**(3): 1759 ~ 1765.