

好氧细菌对多环芳烃降解机制的研究进展

赵百锁 王 慧* 李瑞瑞 毛心慰

(清华大学环境科学与工程系环境模拟与污染控制国家重点联合实验室 北京 100084)

摘 要: 多环芳烃(PAHs)是指两个或两个以上的苯环以线性排列、弯接或簇聚方式构成的一类碳氢化合物。这类化合物广泛分布于环境中,具有潜在的致畸性、致癌性和遗传毒性。在自然环境中,好氧细菌对 PAHs 的生物降解是一种很重要的方式,凸显其在清除环境 PAHs 污染物中具有广阔的应用前景。在过去二十多年中,科学家们已经从基因水平上对好氧细菌降解 PAHs 的机制进行了深入的研究,其中包括 PAHs 降解基因的多样性、与 PAHs 降解有关的基因以及细菌群体 PAHs 遗传适应机制等。在此,就好氧细菌对多环芳烃降解机制的研究进展进行了综述和讨论。

关键词: 多环芳烃, 生物降解, PAHs 降解基因

Recent Advances in Biodegradative Mechanism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Aerobic Bacteria

ZHAO Bai-Suo WANG Hui* LI Rui-Rui MAO Xin-Wei

(State Key Joint Laboratory on Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which consist of two or more fused aromatic rings, are ubiquitous pollutants in the environment, and are of concern because of their toxic and carcinogenic potential. In nature, the aerobic bacterial bio-treatment of contamination with PAHs is of the major route. It is obvious that the degraders are more useful for the bioremediation of contaminated environments and may be potentially used in a wide of application. Therefore, many researchers have been focusing on the biodegradations of PAHs by various aerobic bacteria. In the last two decades, the mechanism of degradation in bacteria capable of aero-biotic utilizing PAHs has been well investigated in genetic studies such as diversities of genes of PAHs metabolism, the genes which participate directly in PAHs metabolism and the genetics mechanism of bacterial population and so on. In brief, most of PAH-catabolic genes are classed into two groups according to their identity. One group is called “the *nah*-like genes”, the other group, i.e. “the *nah*-unlike genes” is different from the *nah*-like genes. The different molecular genetics mechanisms of bacterial population adapted to PAH compound will be dealt with in three groups: (i) point mutations, (ii) gene transfer, and (iii) DNA rearrangements and absention. In this review, some genetic knowledge about aerobic bacteria with the mechanism for the degradation of PAHs is summarized.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons, Biodegradation, Genes of PAHs metabolism

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.30700023); 国家“973 计划”项目 (No. 2004CB418506); 中国博士后科学基金项目 (No. 20060400069)资助

*通讯作者: Tel: 010-62772137; 信箱: wanghui@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2007-06-14; 接受日期: 2007-07-24

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是指两个或两个以上的苯环以线性排列、弯折或簇聚方式构成的一类碳氢化合物。这类化合物广泛分布于大气、水体、淤泥和土壤中。其主要来源于一些人类活动,例如在石油开发与运输过程中,落地油和泄露油等能带来大量的PAHs;炼油厂、炼焦厂和煤气厂等排放的工业废水也含一定量的PAHs;煤、石油、木材、塑料和垃圾等不完全燃烧过程均会产生PAHs。此外,在微生物和植物的代谢过程中以及火山活动、森林和草原火灾中也产生少量的PAHs。PAHs已被证实具有潜在的致畸性、致癌性和遗传毒性,对生态环境和人类健康能够造成很大的危害。目前,许多国家已经将PAHs列入需要控制的污染物。因此,如何消除污染环境中的PAHs,一直是国内外科学家们的研究热点^[1-3]。好氧细菌在清除环境PAHs污染物中占据十分重要的地位,凸现其广阔的应用前景。也是科学家对降解PAHs机制的研究深入的领域,为利用好氧细菌治理PAHs污染环境提供了理论依据。尽管国内一些综述已涉及好氧细菌对PAHs降解的分子机制^[4-6]。但与PAHs降解有关的基因、PAHs调控基因以及细菌群体PAHs遗传适应机制尚未论述。因此,本综述在一些新发现的PAHs降解基因的基础上,深入阐述了好氧细菌对PAHs的降解机制。

1 PAHs 降解基因的多样性

通常,PAHs降解基因及其调节基因组成1个或多个基因簇。例如,经典的 nah 基因簇由20个基因组成,依次为 $nahAaAbAcAdBFCEd$ 基因簇、 $nahGTHINLOMKJ$ 基因簇和 $nahR$ 调控基因^[3]。依据PAHs降解基因簇与经典的 nah 基因簇之间核苷酸序列同源性高低,可为两类(表1):(1)“似 nah 基因”:主要包括 $nahAaAbAcAdBFCEdGTHINLOMKJR$ 、 $ndoABC$ 、 $doxAbAcAdEFGHIJ$ 和 $pahAaAbAcAdB-CDEF$ 。这类基因簇几乎全部来源于假单胞菌(*Pseudomonas* spp.),且降解基因之间的排列顺序相同,编码的氨基酸序列同源性也大于90%。(2)“非 nah 基因”:包括 $nagAaGHAbAcAdBF$ 、 $phnFECDAdB$ 、 $narAaAbB$ 、 $nidABCD$ 、 $nidDBA$ 和 $phdABCD$ 。该基因簇来源于不同的细菌物种,降解基因之间的排列顺序不相同、编码的氨基酸序列同源性非常低。PAHs降解基因簇编码PAHs分解途径

中所需要的各种代谢酶。其中,编码末端氧化酶(即Rieske型铁硫蛋白)的基因高度保守,该蛋白由 α_3 亚基和 β_3 亚基组成, α_3 亚基由 $nahAc$ 、 $nagAc$ 、 $pahAc$ 、 $phnAc$ 、 $nidA$ 、 $narA$ 和 $phtA1$ 等基因编码,包含1个典型的Rieske $[2Fe-2S]$ 结构域和1个单核Fe(II)催化活性结构域。最近,Jakoncic等发现鞘氨醇单胞菌CHY-1株(*Sphingomonas* sp.)之所以能够降解苯并[a]芘等高分子量的PAHs,主要是由于 α_3 亚基的催化活性结构域具有较大的空间和特殊的拓扑结构^[16,17]。至少在好氧细菌中, α_3 亚基被认为是PAHs降解能力潜在的生物标记^[18]。一般而言,PAHs降解基因丰富度与环境中的PAHs污染程度呈正相关性。因此,利用 α_3 亚基的某些保守序列设计简并引物进行PCR扩增可以获得探针,用来筛选PAHs降解基因或用于检测污染环境中PAHs降解基因的丰度^[19]。Ni Chadhain等根据所有Rieske型铁硫蛋白的保守区,设计PCR引物,并对环境样品进行PCR扩增得到1个78bp的片段。序列分析表明该样品中存在许多文献中未报道的双加氧酶基因,并且与已报道的双加氧酶基因在进化上相距较远^[20]。事实上,克隆的PAHs降解基因可以为构建基因工程菌提供材料。然而,目前主要是一些低环的PAHs降解基因,同时一些PAHs降解基因不可能通过传统的纯培养技术获得,限制了基因工程菌的应用范围。因此以末端氧化酶基因保守序列为基础的分子生物学技术,为估计环境中的PAHs降解基因的拷贝数以及发现新的双加氧酶基因提供了可能。

在好氧细菌中也相继发现一些PAHs降解调控基因。通常,NAH7质粒上的调控基因 $nahR$ 低水平表达,产物NahR结合于PAHs降解基因启动区前面的增强子上,使DNA链呈弯曲状态。当诱导物水杨酸与NahR蛋白结合时,就会使弯曲结构变松弛。这一构象的改变促进RNA聚合酶与启动子结合,导致转录开始^[18]。尽管罗尔斯通氏菌U2株(*Ralstonia* sp.)的 nag 基因与恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)G7株的 nah 基因的同源性低,基因之间的排列顺序不相同,但它们降解萘的调控机制却很相似。调控基因 $nagR$ 的诱导物也是水杨酸,NagR和NahR都是LysR-型转录调节蛋白家族(LTTR)中的正调节蛋白^[21]。Jeon等在极胞菌CJ2株(*Polaromonas* sp.)中发现了1个由 $nagR2$ 编码的阻遏蛋白,该蛋白不能被萘、水杨酸和龙胆酸诱导,属于MarR-型转录调控家族中的负调节蛋白,推测为

表 1 PAHs降解基因的多样性
Table 1 The genetic diversity of PAHs-degrading

菌株 Strain	位置 Location	底物 Substrate	基因型 Genetic type	文献 Reference
恶臭假单胞菌 G7 (<i>Pseudomonas putida</i> G7)	NAH7 质粒	萘	<i>nahAaAbAcAdBFCQED</i> <i>nahGTHINLOMKJ</i> <i>nahR</i>	[4]
恶臭假单胞菌 9816 (<i>Pseudomonas putida</i> 9816)	pWW60-1 质粒	萘, 菲	<i>ndoABC</i>	[4]
恶臭假单胞菌 AN10 (<i>Pseudomonas putida</i> AN10)	染色体	萘	<i>nahAaAbAcAdBFCED</i> <i>nahGTHINLOMKJ</i>	[4]
恶臭假单胞菌 OUS82 (<i>Pseudomonas putida</i> OUS82)	染色体	萘, 菲	<i>pahAaAbAcAdBFCQED</i>	[4]
铜绿假单胞菌 Pak1 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Pak1)	染色体		<i>pahA1A2A3A4BFCQED</i>	[4]
假单胞菌 C18 (<i>Pseudomonas</i> sp. C18)	质粒	萘	<i>doxABDEFGHIJ</i>	[4]
罗斯通氏菌 U2 (<i>Ralstonia</i> sp. U2)	质粒	萘	<i>nagAaGHAbAcAdBFCQED</i> <i>nagIKLMN</i>	[1]
极胞菌 CJ2 (<i>Polaromonas</i> sp. CJ2)		萘	<i>nagRAaGHAbAcBFCQED</i> <i>nagJl'orf1tnpA'istB</i> <i>nagR2orf2I''KL</i>	[7]
伯克霍尔德氏菌 RP007 (<i>Burkholderia</i> sp. RP007)	质粒	萘, 菲, 蒽	<i>PhnFECDAcAdB</i> <i>phnRS</i>	[1]
解环菌 A5 (<i>Cycloclasticus</i> sp. A5)	染色体	萘, 菲	<i>PhnA1b A1aA2C PhnA4A3D</i>	[8]
拟诺卡氏菌 KP7 (<i>Nocardiodetes</i> sp. KP7)	染色体	菲	<i>phdE-</i> <i>Forf131phdABorf72phdGHCD</i>	[4]
红球菌 I24 (<i>Rhodococcus</i> sp. I24)	染色体	萘	<i>nidABCD</i>	[2]
红球菌 NCIMB 12038 (<i>Rhodococcus</i> sp. NCIMB 12038)		萘	<i>narAaAbBC</i>	[9]
分歧杆菌 PYR1 (<i>Mycobacterium</i> sp. PYR1)	染色体	菲, 蒽, 芘, 蒹, 蒽 苯并[a]芘	<i>phtRAaAbUBAcAdIJ</i> <i>nidDBA</i> <i>phtAaAbAcAd</i>	[2] [10]
分歧杆菌 6PY1 (<i>Mycobacterium</i> sp. 6PY1)	染色体	芘	<i>nidA3B3</i>	[11]
分歧杆菌 S65 (<i>Mycobacterium</i> sp. S65)	染色体	菲, 蒽, 蒹	<i>PdoA1B1A2B2</i>	[12]
鞘氨醇单胞菌 CHY-1 (<i>Sphingomonas</i> sp. CHY-1)	染色体	萘, 菲, 蒽	<i>nidACH</i> <i>pdoBAC</i>	[13]
鞘氨醇单胞菌 A4 (<i>Sphingomonas</i> sp. A4)	染色体	蒽	<i>phnA4CA3A2A1D</i> <i>phnA1A2B</i>	[14]
少动鞘氨醇单胞菌 EPA505 (<i>Sphingomonas paucimobilis</i> EPA505)		蒽 萘, 菲, 蒽, 蒹, 蒽 苯并[a]芘, 蒽	<i>arhRA3A4A1A2</i>	[15]
恶臭假单胞菌 G7 (<i>Pseudomonas putida</i> G7)	NAH7 质粒	萘	<i>pbbABCD</i>	[2]
恶臭假单胞菌 9816 (<i>Pseudomonas putida</i> 9816)	pWW60-1 质粒	萘, 菲	<i>nahAaAbAcAdBFCQED</i> <i>nahGTHINLOMKJ</i> <i>nahR</i>	[4]
恶臭假单胞菌 AN10 (<i>Pseudomonas putida</i> AN10)	染色体	萘	<i>ndoABC</i>	[4]
恶臭假单胞菌 OUS82 (<i>Pseudomonas putida</i> OUS82)	染色体	萘	<i>nahAaAbAcAdBFCED</i> <i>nahGTHINLOMKJ</i>	[4]
铜绿假单胞菌 Pak1 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Pak1)	染色体	萘, 菲	<i>pahAaAbAcAdBFCQED</i>	[4]
假单胞菌 C18 (<i>Pseudomonas</i> sp. C18)	质粒	萘	<i>pahA1A2A3A4BFCQED</i>	[4]
			<i>doxABDEFGHIJ</i>	[4]

一种新类型的调控^[7]。

此外, 在好氧细菌中也发现了一些与PAHs代谢有关的基因。在少动鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas paucimobilis*) EPA500 株中, 发现编码丙酮酸磷酸激酶的*pbhD*基因与原核生物中编码葡萄糖运输有关蛋白的*ppdK*基因具有同源性。如果敲除*pbhD*基因, 菌株就不能代谢蒽, 推测该基因的功能与泄露到细胞外蒽副产物的回收有关系^[22]。一个由*katG*基因编码, 分子量为 81 kD 过氧化氢酶-过氧化物酶(catalase-peroxidase) 在棒状杆菌 PYR-1 株(*Mycobacterium* sp.)中被蒽诱导。该酶可能是防止双加氧酶被外源性物质氧化而失活, 或消除PAHs代谢中产生的H₂O₂^[23]。近年来, 对可降解芳香族化合物细菌中的谷胱甘肽S-转移酶(Glutathione S-transferases, GSTs)的研究逐渐成为热点。Cavalca发现鞘氨醇单胞菌C3R(*Sphingomonas* sp. C3R)菌株中的GSTs 活性在以菲为碳源时比以葡萄糖为碳源时高^[24]。夏颖等也发现菲诱导的少动鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas. paucimobilis*)中的GSTs活性明显高于未诱导, 推测GSTs的诱导与多环芳烃的降解有关。进一步证明, 该酶的*phnG*基因与*phnH*基因(编码2-羟基粘康酸半醛水解酶), 以及*phnI*基因(编码邻苯二酚 2,3-双加氧酶)组成S-型间位操纵子(S-meta operon)^[25,26]。另外, Grimm和Harwood推测NAH7 质粒上的*nahY*基因编码的膜蛋白作为一个化学信号受体来感应外界环境中蒽及其代谢物^[27]。

2 PAHs 降解菌的遗传适应机制

PAHs 污染环境 与细菌的相互作用能增加细菌在进化过程中的选择压力, 使某些细菌和细菌种群产生了有益于其本身存活的遗传适应机制, 主要包括基因的自发性点突变、基因水平转移以及基因重排与缺失。

在PAHs选择压力下, 只有那些经过基因自发性点突变(碱基突变、基因转换或链错误配对等)的菌株, 对PAHs底物特异性或代谢能力发生了改变, 从而得以生存。所以一些PAHs降解基因的同源性虽然很高, 但其宿主菌对PAHs底物的降解范围或降解能力却可能存在差异。例如假单胞菌G7 株中的*nah*基因簇与假单胞菌 9816 株中的*ndo*基因簇核苷酸序列同源性达 90%以上。然而携带*nah*基因簇的大肠杆菌只能降解萘, 携带*ndo*基因簇的大肠杆菌却能降解

萘、菲和蒽^[28]。这启示利用基因操作技术对PAHs降解基因中某些关键点进行突变, 就能扩大其底物范围或增强其降解能力, 为构建基因工程降解菌提供基因材料。

在PAHs污染环境中, 基因水平转移对细菌的群体进化起十分重要的作用。最近, Ma等以南极土壤中几株耐冷菌总DNA为模板进行PCR扩增得到萘双加氧酶*ndo*基因的部分序列。该基因位于自动转移质粒上(Self-transmissible plasmid), 编码的氨基酸序列与中温菌*ndo*基因的氨基酸序列同源性高达 98%~100%。而耐冷菌与中温菌的亲缘关系甚远, 推测南极土壤中的*ndo*基因是由于发生基因水平转移而来源于外来物种^[29]。Herrick等从地中海废弃的煤焦油地区分离得到 7 株携带单拷贝*nahAc*等位基因的PAHs降解菌。结果表明PAHs降解菌的 16S rDNA序列相差可达 7.9%, 表明不同细菌属种之间存在着PAHs降解基因水平转移现象^[30]。许多报道证明插入单元在PAHs降解基因水平转移中扮演着重要的角色。Bosch证明*tnpA3nahW tnpA2* 基因簇类似于细菌中的复合转座子^[31]。我国科学家蔡宝立等^[32]也发现 9 个能降解萘的假单胞菌株中均含有转座酶基因*tnpA1* 和解体酶基因*tnpR*。在恶臭假单胞菌AN10 株中, 萘的降解途径中存在的*tnpA1* 和*tnpA2* 也暗示着在过去某段时间内发生了基因转座事件。最近, Sota等^[33]比较了NAH7、pDTG1 和pWW0 三个质粒的全部核苷酸序列。结果表明, PAHs降解基因之间具有很高的同源性, 均位于不相容IncP-9 链上。其中, NAH7 质粒上的*nah*基因簇位于Tn4655 转座子上。该转座子编码点特异重组体系(site-specified recombination system), 主要是酪氨酸重组酶(TnpI)催化两个*attI*点进行分子内或分子间重组, 特异性链交换则发生在 1 个 41bp核心区上。这说明TnpI - *attI*重组体系在降解性质粒进化中也可能占据重要的位置。

DNA重排与缺失是PAHs降解基因进化的主要策略, 一般由转座作用和同源重组引发。PAHs基因二倍化或多倍化则是DNA重排的一种方式, 被认为是进化为新基因的一种很重要的机制。细菌固有的调节机制如果不能容纳外界高浓度PAHs, 就会通过增加降解基因或相关基因的拷贝数来维持其生存和繁殖。1999 年, Bosch等首次发现恶臭假单胞菌AN10 株中的*nahG*基因和*nah*基因均编码有相同功能的水杨酸-1-羟化酶。*nahG*位于间位裂解途径转录单元内

(the *meta*-pathway transcriptional unit), *nahW*则位于该转录单位上游大约 3kb处。推测NahG和NahW共存可以提高水杨酸-1-羟化酶的表达量,对菌株AN10 生存于高浓度PAHs环境下是有利的;还发现NahG和NahW均能被水杨酸诱导,能够代谢水杨酸、甲基水杨酸、氯代水杨酸等,但转化效率相差很大^[34]。Ferrero等发现 5_{III}Asal、2_ID_INH、11NH和S1MN2 等萘降解菌株中共存着两套截然不同的*nahAc*基因,一套来源于恶臭假单胞菌AN10 株,另一套则来源于恶臭假单胞菌C18 株^[35]。还有人推测分歧杆菌PYR-1 株(*Mycobacterium* sp.)之所以能降解多数低分子量和高分子量的PAHs,是因为其拥有 4个不同的双加氧酶基因,导致降解底物十分广泛^[10,11]。一个新的二倍化基因在细菌群体中能够稳定的遗传,并有稍微不同的功能,可能会逐渐进化为新基因。另外,DNA缺失也是PAHs降解基因进化中的推动力,假如某段DNA对宿主菌的降解功能不

再必需,那么缺失了该DNA区域的宿主菌将具有选择优势,从而在种群中逐渐成为优势群并稳定遗传。*nahW*丢失了羟化酶的保守区(即黄素腺嘌呤二核苷酸结合位点,adenine dinucleotidebinding site),但NahW与NahG的功能却相同^[34]。另外,铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)Pak1 株降解萘的上游途径的基因簇是由恶臭假单胞菌AN10 株的*nahAa nahAb nahAc nahAd nahB nahF nahC nahE nahD*基因簇和恶臭假单胞菌C18 株的*doxA doxB doxD doxE doxF doxG doxH doxI doxJ*基因簇在*nahF*和*doxF* 处经镶嵌模式(mosaic patterns, 图 1)进行同源同组,生成现在的*pahA1 pahA2 pahA3 pahA4 pahB pahF pahC pahQ pahE pahD*基因簇。

推测Pak1 祖先存在两套完整的*nah*基因簇和*dox*基因簇,只是在进化中各自缺失了一部分基因形成了现在的新基因簇^[31]。

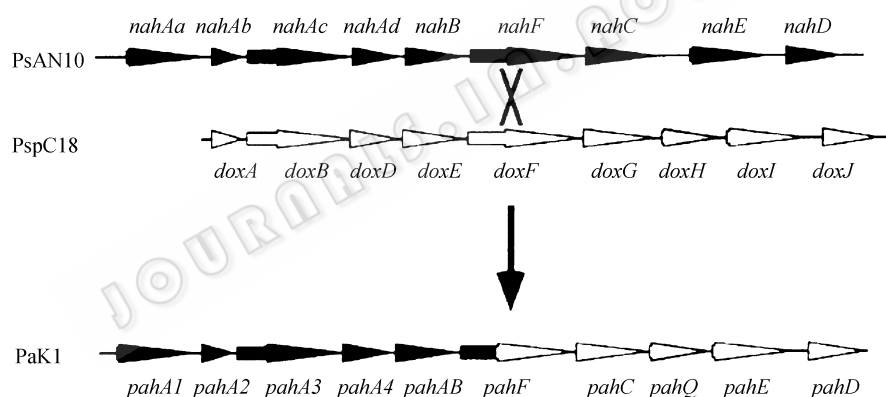


图1 *nah*基因簇和*dox*基因簇经镶嵌模式形成*pah*基因簇示意图^[31]

Fig. 1 Origin of *pah* genes cluster by mosaic pattern between *nah* genes cluster and *dox* genes cluster^[31].

3 结束语

目前,好氧细菌对萘、菲和蒽等低分子量PAHs降解机制的报道比较多,而对茚、芘等4环以上高分子量PAHs降解机制的报道还非常少。同时深入研究PAHs降解基因水平转移及其产生的生态效应,将有助于探讨PAHs降解基因等在分解代谢途径中的进化关系。值得注意的是,在许多PAHs污染环境常常伴随着高盐、强碱等极端环境,所以探索极端环境下PAHs降解菌、PAHs降解基因以及其遗传适应机制,有助于揭示PAHs细菌之间遗传物质的交

流,将丰富PAHs降解基因多样性,为检测PAHs环境污染及其环境生物修复提供理论依据。

参考文献

- [1] Habe H, Omori T. Genetics of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in diverse aerobic bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2003, **67**(2): 225–243.
- [2] Van Hamme JD, Wong ET, Dettman HD, *et al.* Pickard. Recent advances in petroleum microbiology. *Mol Bid Rev*, 2003, **67**(4): 503–549.
- [3] 仇 磊,袁红莉,汪双清,等.一株土壤杆菌降解菲的

- 代谢途径初探. 中国科学, 2005, **35**: 226–232.
- [4] 张春杨. 细菌降解多环芳烃上游途径的遗传学研究进展. 微生物学通报, 2006, **33**(3): 161–166.
- [5] 王 靖, 徐宏科, 刘元琴, 等. 微生物降解菲的机理研究进展. 微生物学通报, 2006, **33**(5): 138–144.
- [6] 郑 乐, 刘 宛, 李培军. 多环芳烃微生物降解基因的研究进展. 生态学杂志, 2007, **26**(3): 449–454.
- [7] Jeon CO, Park M, Ro HS, *et al.* The naphthalene catabolic(nag)genes of *polaromonas naphthalenivorans* CJ2: evolutionary implications for two gene clusters and novel regulatory control. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**(2): 1086–1095.
- [8] Kasai Y, Shindo K, Harayama S, *et al.* Molecular characterization and substrate preference of a polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase from *Cyclocloasticus* sp. strain A5. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 6688–6697.
- [9] Kulakov LA, Chen ShenChang, Allen CCR, *et al.* Web-type evolution of *Rhodococcus* gene clusters associated with utilization of naphthalene. *Appl Environ Microbiol*, 2005, **71**: 1754–1764.
- [10] Stingley RL, Khan AA, Cerniglia CE. Molecular characterization of a phenanthrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **322**: 133–146.
- [11] Kim S, Kweon O, Freeman JP, *et al.* Molecular cloning and expression of genes encoding a novel dioxygenase involved in Low- and High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**: 1045–1054.
- [12] Krivobok S, Kuony S, Meyer C, *et al.* Identification of pyrene-induced proteins in *Mycobacterium* sp. strain 6PY1: evidence for two ring-hydroxylating dioxygenases. *J Bacteriol*, 2003, **185**: 3828–3841.
- [13] Demanéche S, Meyer C, Micoud J, *et al.* Identification and functional analysis of two aromatic ring hydroxylating dioxygenases from a *sphingomonas* strain that degrades various polycyclic aromatic hydrocarbons. *Appl Environ Microbiol*, 2004, **70**(11): 6714–6725.
- [14] Sho M, Hamel C, Greer CW. Two distinct gene clusters encode pyrene degradation in *Mycobacterium* sp. strain S65. *FEMS Microbiol Ecol*, 2004, **48**(2): 209–220.
- [15] Kouzuma A, Pinyakong O, Nojiri H, *et al.* Functional and transcriptional analyses of the initial oxygenase genes for acenaphthene degradation from *Sphingomonas* sp. strain A4. *Microbiology*, 2006, **152**: 2455–2467.
- [16] Jakoncic J, Jouanneau Y, Meyer C, *et al.* The catalytic pocket of the ring-hydroxylating dioxygenase from *Sphingomonas* CHY-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **352**: 861–868.
- [17] Jakoncic J, Jouanneau Y, Meyer C, *et al.* The crystal structure of the ring-hydroxylating dioxygenase from *Sphingomonas* CHY-. *FEBS*, 2007, **274**(10): 2470–2481.
- [18] Park W, Padmanabhan P, Padmanabhan S, *et al.* *nahR*, encoding a LysR-type transcriptional regulator, is highly conserved among naphthalene-degrading bacteria isolated from a coal tar waste-contaminated site and in extracted community DNA. *Microbiology*, 2002, **148**(8): 2319–2329.
- [19] Park JW, Crowley DE. Dynamic changes in *nahAc* gene copy numbers during degradation of naphthalene in PAH-contaminated soils. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, **72**: 1322–1329.
- [20] Ní Chadhain SM, Norman RS, Pesce KV, *et al.* Microbial dioxygenase gene population shifts during polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**(6): 4078–4087.
- [21] Jones RM, Britt-Compton B, Williams PA. The naphthalene catabolic (nag) genes of *Ralstonia* sp. Strain U2 are an operon that is regulated by NagR, a LysR-type transcriptional regulator. *J Bacteriol*, 2003, **185**(19): 5847–5853.
- [22] Story SP, Parker SH, Kline JD, *et al.* Identification of four structural genes and two putative promoters necessary for utilization of naphthalene, phenanthrene, and fluoranthene by *Sphingomonas paucimobilis* var. EPA505. *Gene*, 2000, **260**: 155–169.
- [23] 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**: 4300–4304.
- [24] Cavalca L, Guerrieri N, Colombo M, *et al.* Enzymatic and genetic profiles in environmental strains grown on polycyclic aromatic hydrocarbons. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2007, **91**: 315–325.
- [25] 夏 颖, 闵 航. 一株多环芳烃降解菌的鉴定及 GST 基因克隆和序列分析. 微生物学报, 2003, **43**(6): 691–697.
- [26] Xia Y, Min H, Rao G, *et al.* Isolation and characterization of phenanthrene-degrading *Sphingomonas paucimobilis* strain ZX4. *Biodegradation*, 2005, **16**(5): 393–402.
- [27] Grimm AC, Harwood CS. *NahY*, a catabolic plasmid-encoded receptor required for chemotaxis of *Pseudomo-*

- nas putida* to the aromatic hydrocarbon naphthalene. *J Bacteriol*, 1999, **181**:3310–3316.
- [28] 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**:2158–2164.
- [29] Ma Y, Wang L, Shao Z. *Pseudomonas*, the dominant polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from Antarctic soils and the role of large plasmids in horizontal gene transfer. *Environ Microbiol*, 2006, **8** (3): 455–465.
- [30] Herrick JB, Stuart-Keil KG, Ghiorse WC, *et al.* Natural horizontal transfer of a naphthalene dioxygenase gene between bacteria native to a coal tar-contaminated field site. *Appl Environ Microbiol*, 1997, **63**(6): 2330–2337.
- [31] Bosch R, Garcia-VE, Moore ERB. Genetic characterization and evolutionary implications of a chromosomally encoded naphthalene degradation upper pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Gene*, 1999, **236**: 149–157.
- [32] 蔡宝立, 丁蕊, 任河山, 等. 萘降解细菌的分离及其降解和转座基因的分子检测. 食品与生物技术学报, 2006, **25**(6): 1–6.
- [33] Sota M, Yano H, Nagata Y, *et al.* Genomic and functional analysis of the IncP-9 naphthalene-catabolic plasmid NAH7 and its transposon Tn4655 suggests catabolic gene spread by a tyrosine recombinase. *J Bacteriol*, 2006, **188**: 4057–4067.
- [34] Bosch R, Moore ERB, Garcí'a-valdés E, *et al.* NahW, a novel, inducible salicylate hydroxylase involved in mineralization of naphthalene by *Pseudomonas stutzeri* AN10. *J Bacteriol*, 1999, **181**: 2315–2322.
- [35] Ferrero M, Llobet-Brossa E, Lalucat J, *et al.* Coexistence of two distinct copies of naphthalene degradation genes in *Pseudomonas* strains isolated from the western Mediterranean region. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**: 957–962.

稿件书写规范

高等院校教学栏目简介及撰稿要求

“高等院校教学”是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目,也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为高等院校教师开辟,是生物学教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告,特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线,撰写的稿件内容必须要有新意、要实用,不是泛泛地叙述教学设计与过程,而是确实有感而发,是教学工作中的创新体会,或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性,做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进,注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中,只有这样才能真正起到教与学的互动,促进高校生物学教学的发展,更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时,为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台,本栏目还开辟了“名师讲堂”版块。旨在通过推广名家的教学经验,帮助青年教师尽快成长,进一步提高教学质量。欢迎获得国家级“名师奖”或教育部“精品课程”等奖项的专家教授们积极撰稿,将你们在教学领域获得的经验和成功体会通过这个栏目展示出来。对于入选“名师讲堂”版块的文章,本刊将开辟快速审稿通道,优先发表,并免收审理费和版面费,支付优厚的稿酬。刊发时还将在正文前附作者简介和大幅彩照,以鼓励和褒奖教学名家不吝赐稿,让所有的读者分享他们的经验和心得。

欢迎投稿!欢迎对本栏目多提宝贵意见!