

細菌が産生するチトクローム P450による有害有機化合物の分解

井勝 久喜

Degradation of hazardous organic chemicals by bacterial cytochrome P450

Hisayoshi IKATSU

要 約

チトクローム P450は、基質となる有機化合物に一原子酸素を導入するモノオキシゲナーゼ反応を触媒する酵素であり、カビ、酵母、植物、昆虫、魚類及び哺乳動物などあらゆる生物に存在している。細菌が産生するチトクローム P450は、その機能が不明なものが多いが、基質特異性の広さから、種々の有機化合物を代謝することができる。また、細菌が産生するチトクローム P450は農薬、有機塩素化合物や芳香族炭化水素などの有害有機化合物の分解にも関与している。これらの能力は、環境中での有害有機化合物の分解に重要な役割を果たしていると考えられる。

キーワード：チトクローム P450, 有害有機化合物, 微生物分解

1. はじめに

現在、約5万～10万種の化学物質が日常的に使用されているといわれている。これらの化学物質は生産、流通、使用、廃棄等の過程で環境中に放出されており、大気圏、水圏及び土壌等から種々の化学物質が検出されている。

環境中に放出された化学物質の除去は非常に困難であるが、自然界に放出された化学物質の一部は微生物の作用で分解・除去され環境が保全されてきた。実際、クロロホルム¹⁾、トリクロロエチレン²⁾、テトラクロロエチレン³⁾、ジクロロメタン⁴⁾などの有機塩素化合物やポリビニルアルコール⁵⁾、有機水

銀⁶⁾、有機スズ⁷⁾、PCB⁸⁾などの有害有機化合物を分解する細菌が報告されている。これらの物質の分解に関与する酵素として、薬物代謝酵素として知られているチトクローム P450（以下、P450）が重要な位置を占めていることが明らかとなってきた。

本稿では、細菌が産生する P450による有害有機化合物の分解について、これまでの知見を整理して解説する。

2. P450の概要

チトクローム P450 (Cytochrome P450) のチトクロームとは、ヘム鉄が酸化還元を行って電子伝達に

関与するヘムタンパク質に与えられた名称である。ヘムはポルフィリン環に鉄が配位した構造を持つ化合物であり、ポルフィリンの側鎖構造の違いにより、プロトヘム、ヘム a、ヘム c などに区別されている。P450はプロトヘムを含むタンパク質であることからチトクロームと呼ばれているが、この酵素の機能はモノオキシゲナーゼ反応の触媒であり、呼吸鎖電子伝達に関与しているチトクロム a やチトクロム c とは本質的に異なるタンパク質である。

P450は、還元状態で一酸化炭素と結合したときに450nm に吸収極大を示すことから命名された。この酵素は、基質となる有機化合物に一原子酸素を導入するモノオキシゲナーゼ反応を触媒する酵素であり、カビ、酵母、植物、昆虫、魚類及び哺乳動物などあらゆる生物に、多くの種類が存在しており、その数は500種類を越えているが、正確な種類数を知ることは困難である⁹⁾。

ここ数年報告される P450の数が飛躍的に増加したが、これはゲノムプロジェクトの成果が大いに寄与している。例えば、*Bacillus subtilis* には CYP 2 A 2 や CYP 2 A 3 に類似した配列も含め、計 8 個の P450遺伝子が存在する⁹⁾。また、*Bradyzobium japonicum* の P450遺伝子クラスターには CYP112, CYP114, CYP115, CYP117以外にも 5つの ORF が存在することが明らかとなった¹⁰⁾。さらに *Mycobacterium tuberculosis* には20個もの遺伝子が見つかっている¹¹⁾。細菌以外では、線虫 *Caenorhabditis elegans* に80個、植物のイロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* にいたっては142個もの遺伝子が見つかっている⁹⁾。しかし、これらの P450類似配列が本当に機能しているか、機能するとすればどのような生理活性を担っているかについてはほとんど解明されておらず、今後の大きな課題である。

P450は、生体内で多くの生理機能を有しており、ステロイドホルモンの生合成、胆汁酸の生合成、プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエ

ンなどの生理活性物質合成経路への関与、活性型ビタミン D₃の生合成などに関与している。また、Cooper ら¹²⁾により肝ミクロソームの薬物酸化活性が P450に触媒されることが確かめられて以来、P450は薬物代謝のために存在している酵素であると考えられた時期もあり、生体内における薬物代謝に対する関与については、非常に幅広く研究が行われ、薬物代謝酵素としても知られている。

P450には触媒特性の異なる多くの種類があるが、その中には幅広い基質と反応できる P450が存在することも知られている¹³⁾。また、この酵素は、芳香環の水酸化、側鎖の水酸化、O-脱アルキル、脱ニトロ、脱ハロゲンなど多種多様な反応パターンを示すことから、多種類の有機化合物を基質として代謝することが可能である。このように、P450には非常に多くの種類が存在し、しかも、一般的な酵素に比較して基質特異性が極めて広い種類も存在することから、代謝される化合物は非常に多種類に上る。この性質は生物が本来持っている代謝能力を超えている合成有機化合物の分解にとって都合の良い性質である。事実、ほ乳類においては多くの薬物や有害有機物質の代謝にこの酵素が関与していることが報告されている¹⁴⁾。

3. P450を産生する細菌

P450を産生する細菌が分離された経過として、化学物質分解菌として分離された細菌の化学物質分解酵素を検討している過程で P450が発見されたケース、および、生理活性物質の合成に関与する遺伝子あるいはその他の遺伝子を解析している過程で発見されたケースがある。また、最近では、遺伝子の解析により P450が発見されるケースが多くなっている¹⁵⁾。

P450を産生する細菌として、*Streptomyces* 属、*Mycobacterium* 属、*Bacillus* 属、*Rhodococcus* 属、*Pseudomonas* 属などが報告されている¹⁵⁾。P450を産

生する菌としては放線菌が多いようにも思えるが、グラム陰性、グラム陽性細菌だけでなく古細菌の仲間も P450 を産生していることから、P450 産生菌は属を越えて広く分布していると思われる。しかし、これまでに報告されている細菌はただか30属程度であり、今後さらに多くの細菌に P450 が発見される可能性がある。

4. 細菌の P450 による有害有機化合物の分解

4. 1 細菌が産生する P450 の機能

細菌の P450 が、細菌の生存に対してどのような役割を果たしているのかについては不明な点が多い。外来物質を資化する場合や殺菌剤のような細菌にとって有害な物質を代謝する場合には、P450 の存在が必要であると思われる。しかし、細菌の P450 は細菌の生存には関係ないと思われる機能を持っているものも存在する。また、脂肪酸の水酸化¹⁶⁾、ステロイドホルモンの水酸化¹⁷⁾、コレステロールの水酸化¹⁸⁾、ビタミン D₃ の代謝¹⁹⁾、抗生物質の合成に関与する細菌の P450 が報告されている²⁰⁾。

P450 は種々の反応を触媒するが、全ての反応は P450 のモノオキシゲナーゼ反応に依存するものである。すなわち、O-脱アルキルや N-脱アルキル、脱ニトロや脱アミノ反応は一見複雑なようでも、P450 による水酸化反応で生じた反応中間体が分解して、2次反応として脱アルキル等が起きる。P450 の基質特異性の広さ及び分子種の多さから考えると、ほとんど全ての有機化学物質が P450 により代謝される可能性がある。当然、細菌による有害有機化合物の分解にもこの酵素が関与しており、種々の有害有機化合物が細菌の P450 により代謝されることが報告されている。

4. 2 農薬類の分解

防虫剤として使用される camphor は、*Pseudomonas putida* PpG 1 (ATCC 17453 株) の菌体内

において、第一段階で 5-exo-hydroxycamphor に水酸化され、続いて 2,5-ketocamphane に代謝される。ついでこの化合物がラクトン化された後、数段階の代謝経路を経て最終的には酢酸とイソ酪酸にまで分解され資化される。この第一段階の水酸化酵素が P450cam である²¹⁾。

除草剤 (sulfonylurea) 存在下で培養した *Streptomyces griseolus* ATCC 11796 株は類似の除草剤である sulfometuron methyl と chlorsulfuron を図 1 の経路で代謝する²²⁾。この菌は P450su1 (CYP105A1)、P450su2 (CYP105B1) 及び P450con の 3 種類の P450 を産生し、P450su1 と P450su2 が除草剤の代謝に関与していることが報告された。除草剤を代謝する菌としてはこのほかに、*Rhodococcus* sp. strain NI 86/21 の産生する P450 が atrazine などの thiocarbamate 系の除草剤を代謝することが報告されている²³⁾。

Streptomyces griseus ATCC 13273 株を soybean flour を炭素源として培養したときに、precocene II を代謝する酵素が産生されることが報告された²⁴⁾。この酵素を詳細に検討した結果、P450soy (CYP105D1) であることが明らかとなった²⁵⁾。P450 は precocene II の代謝において、最初の段階に関与している。なお、後述するが P450soy はその後の研究で非常に多くの種類の化学物質を代謝す

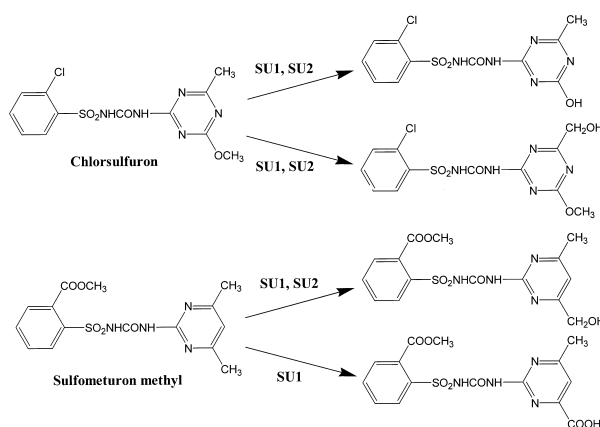


図1 *Streptomyces griseolus* による除草剤の代謝²²⁾

ることが明らかとされた。

4. 3 有機塩素化合物の分解

Rhodococcus chlorophenolicus PCP-1 株はポリクロロフェノールのパラ位水酸化と脱ハロゲンを行う²⁶⁾。この活性は pentachlorophenol により誘導され、2-methoxyphenol 等も代謝することが報告されたが、代謝酵素の本体は不明なままであった。その後、1991年に Uotila らがこの水酸化酵素を膜から可容化し、P450が関与していることが明らかとされた²⁷⁾。

1988年には Haggblom らによりクロロフェノールを代謝する細菌として *Mycobacterium fortuitum* CG-2 株が報告されたが²⁸⁾、この菌についても P450が関与しているのが明らかとなったのは1992年になってからである²⁹⁾。

1983年に *Pseudomonas putida* PpG786株が産生する450cam が chloropicrin を代謝することが明らかとなって以来³⁰⁾、P450cam による有機塩素化合物の分解が検討されるようになった。Lam と Vilker は bromotrichloromethane (BTM) と 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) の代謝を検討し、これらの物質が450cam により代謝されることを明らかにした³¹⁾。Castro らは trichloronitromethane (chloropicrin), bromotrichloromethane, carbon tetrachloride, ethylenedibromide, 1,2-dibromo-3-chloropropane の分解を検討し、P450cam がこれらの物質を代謝することを見いだした³²⁾。なお、polyhalomethane は

還元的脱ハロゲンを受け、vicinal halide は olefin に代謝されることが報告された。Vilker と Khan は *P. putida* PpG786の resting culture を用いて P450cam による 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) の脱ハロゲン化を試み、DBCP が PpG786株により代謝されることを明らかとした³³⁾。同様に、camphor で培養した菌 PpG786株の resting cell は 1,1,2-trichloroethane を、酸化経路でクロロ酢酸及びグリオキシル酸に、還元経路でビニルクロライドに代謝した³⁴⁾。さらに、PpG786株は嫌気的条件下で hexachloroethane, pentachloroethane, 1,1,1,2-tetrachloroethane を還元的に代謝した³⁵⁾。図2に 1,1,1,2-tetrachloroethane の酸化的及び還元的代謝経路を示した。

4. 4 芳香族炭化水素類の代謝

殺虫剤 precocene II を代謝する P450として報告された *Streptomyces griseus* ATCC 13273の産生する P450soy (CYP105D1) が非常に多くの種類の化学物質を代謝することが明らかとされた。Trower らは P450soy による種々の芳香族化合物の代謝及び代謝産物を検討した。その結果を表1に示した³⁶⁾。P450soy は aromatic, benzylic, alicyclic hydroxylation, O-dealkylation, non-aromatic double bond epoxidation, N-oxidation, N-acetylation など種々の反応を触媒する事が明らかとなった。

Taylor らは CYP105D1を大腸菌に発現させ、外来異物の代謝活性を検討した。その結果、benzo [a] pyrene, erythromycin, warfarin, testosteroneなどを代謝することが明らかとなった³⁷⁾。また、Lamb らは CYP105D1をプラスミド pSP19g10L に組み込んで、*Acinetobacter calcoaceticus* strain BD413に発現させた。その結果、*A. calcoaceticus* がもともと代謝する除草剤以外にアトラジン及びアトラジン誘導体、クロロトルロン及びクロロトルロン誘導体を代謝した³⁸⁾。

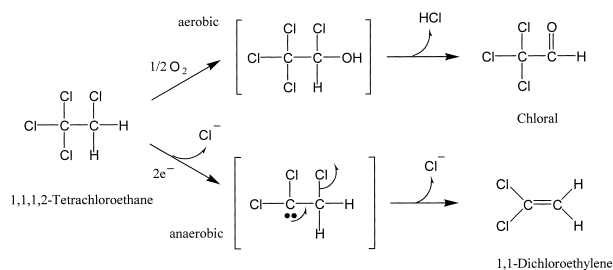


図2 1,1,1,2-tetrachloroethane の酸化的および還元的代謝経路³⁵⁾

表1 *Streptomyces griseus* ATCC 13273が産生する P450soy (CYP105D1) により代謝される芳香族有機化合物とその代謝産物²⁵⁾

Substrate	Products
Benzene	Phenol, Catechol, Hydroquinone, Benzaldehyde
Chlorobenzene	2-Chlorophenol, 4-Chlorophenol
Toulene	2-Methylphenol
Naphthalene	1-Naphthol
Biphenyl	2-Hydroxybiphenyl, 4-hydroxybiphenyl
17 β -Estradiol	2-Hydroxyestradiol, 4-hydroxyestradiol
Benzo[a]pyrene	3-Hydroxybenzo[a]pyrene
Aniline	2-Aminophenol, 4-Aminophenol, Acetanilide
Cyclohexane	Cyclohexanol
7-Ehoxycoumarin	7-Hydroxycoumarin
Precocene II	<i>cis</i> -and <i>trans</i> -recocene dihydrodiols
Pyridine	Pyridine N-oxide

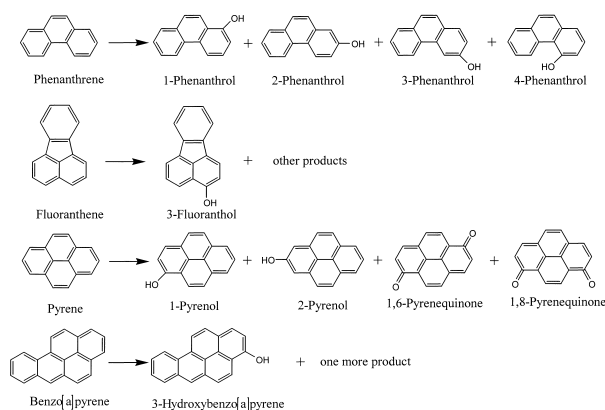


図3 P450cam ミュータントによる多環芳香族炭化水素の代謝⁴¹⁾

Kulisch と Vilker は芳香族化合物の排水処理に応用するため P450cam の利用を検討し, camphor で培養した細胞 (resting culture) でナフタレンが分解できることを報告した³⁹⁾。Fruetel らは精製 P450cam, putidaredoxin 及び putidaredoxin reductase を用いて styrene の代謝を検討した⁴⁰⁾。その結果, styrene は styrene oxide と微量の phenylacetaldehyde に代謝された。Harford-Cross らは P450cam の活性部位 F87A-Y96F と F87L-Y96F のミュータントを作成し, 多環芳香族炭化水素の代謝を検討し

た。その結果, 図3に示す経路で phenanthrene, fluoranthene, pyrene, benzo [a] pyrene の代謝ができることが明らかとなった⁴¹⁾。当初は P450cam は基質特異性が高いと考えられていたが, これまでの研究により, 他種類の化学物質を代謝できることが明らかとされた。P450cam, P450soy 以外にも基質特異性が低い細菌の P450が発見される可能性がある。

4. 5 その他の有機化学物質の分解

アルカン類の代謝は石油成分の分解にとって重要な要素であり, 化学工業的にも, 環境汚染回復のためにも微生物によるアルカン類の代謝は興味をもたれるところである。アルカン類の代謝としては, 1968年に *n*-octane で生育した *Corynebacterium* sp. strain 7 E 1 C が P450を産生していることが明らかとなり⁴²⁾, この P450が *n*-octane を octanoic acid に代謝していることが示された⁴³⁾。また, 1984年には *Acinetobacter calcoaceticus* に *n*-hexadecane により誘導され, 種々のアルカンを代謝する P450が見つかった⁴⁴⁾。P450soy (CYP105D1) は殺虫剤 precocene II 以外にもベンゼン環や多環芳香環の水酸化, O-脱アルキル化, エポキシ化, N-oxidation, N-acetylation など多彩な代謝反応を示すことが報告されている^{45,46)}。なお, P450を用いて有機化学物質を代謝する細菌としては, *Bacillus cereus* UI-1477⁴⁷⁾, *Nocardia* NH1⁴⁸⁾ *Methylosinus trichosporium* OB 3 b⁴⁹⁾などが報告されている。

5. おわりに

近年, 微生物による環境修復技術としてバイオレメディエーション技術が注目されている。バイオレメディエーションに利用される微生物は, 特定の化学物質を分解する菌が主体であるが, 今後は遺伝子操作等の技術を用いて, より強力な分解作用を持たせた微生物が開発されると思われる。中でも, チト

クローム P450は基質範囲が広いこと、および生物種を越えて存在することから、有害化学物質分解へ利用できる可能性が高い酵素である。

細菌が産生する P450は多くの有害有機化合物を分解することができることから、環境中における有害有機化合物の分解に細菌の P450が関与していると推測される。しかし、細菌が産生する P450はほとんどが誘導酵素であり、通常の状態では菌体内には産生されていないことから、環境中で細菌が P450を産生しているかどうかは不明なままである。今後、この方面の研究が進むことを期待したい。

参考文献

- 1) Bagley, D. M. and Gossett, J. M.(1995)Chloroform degradation in methanogenic methanol enrichment cultures and by *Methanosarcina barkeri* 227.*Appl. Environ. Microbiol.*61 : 3195-3201
- 2) Arciero, D., Vannelliti, T., Logan, M. and Hooper, A. B. (1989)Degradation of trichloroethylene by the ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 159 : 640-643.
- 3) Freedman, D. L. and Gossett, J. M.(1989)Biological reductive dechlorination of tetrachloroethylene and trichloroethylene to ethylene under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 2144-2151.
- 4) Vannelli, T., Logan, M., Arciero, D. M. and Hooper, A. B.(1990)Degradation of halogenated aliphatic compounds by the ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 1169-1171.
- 5) Sakazawa, C., Shimano, M., Tanigichi, Y. and Kato, N.(1981)Symbiotic utilization of polyvinyl alcohol by mixed culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 : 747-756.
- 6) Olson, B. H., Barkay, T. and Colwell, R. R.(1979)Role of plasmids in mercury transformation by bacteria isolated from the aquatic environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 38 : 478-485.
- 7) 篠田純男, 大野木宏 (1992) 有機スズ化合物と微生物. 水環境学会誌15 : 505-510.
- 8) Ahmed, M. and Focht, D. D.(1973)Degradation of polychlorinated biphenyls by two species of *Achromobacter*. *Can. J. Microbiol.* 19 : 47-52.
- 9) David Nelson (2006) Cytochrome P450Homepage. <http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html>.
- 10) Tully, R. E., Berkum, P., Lovins, K. W., Keister, D. L. (1998)Identification and sequencing of a cytochrome P450 gene cluster from *Bradyrhizobium japonicum*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1398 : 243-255.
- 11) Cole, S. T.(1998)Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genom sequence. *Nature*, 393 ; 537-544.
- 12) Cooper, D. Y., Levin, S., Narasimhulu, S., Rosenthal, O. and Estabrook, R. W.(1965)Photochemical action spectrum of the terminal oxidase of mixed function oxidase system. *Science* 147 : 400.
- 13) 佐藤了, 大村恒雄 (1988) 薬物代謝の酵素系, pp. 100-104, 講談社サイエンティフィック, 東京.
- 14) Vermeulen, N. P. E.(1996)Role of metabolism in chemical toxicity. In, Cytochromes P450, edited by Ioannides, C. pp.29-54, CRC Press, New York.
- 15) 井勝久喜 (2001) 有害有機化合物分解のためのチトクローム P450遺伝子組込微生物開発. 平成10~12年度科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2))研究成果報告書.
- 16) Ho, P. P. and Fulco, A. J.(1976)Involvement of a single hydroxylase species in the hydroxylation of palmitate at the $\omega-1$, $\omega-2$ and $\omega-3$ position by a preparation from *Bacillus megaterium* *Biochim.Biophys. Acta* 431 : 249-256.
- 17) Matsunaga, I., Yokotani, N., Gotoh, O., Kusunose, E., Yamada, M. and Ichihara, K. (1997)Molecular cloning and expression of fatty acid α -hydroxylase from *Sphingomonas paucimobilis*. *J. Biol. Chem.*, 272 ; 23592-23596.
- 18) Berg, A., Carlstrom, K., Gustafsson, J. -A. and Ingelman-Sundberg, M. (1975) Demonstration of a cytochrome P-450-dependent steroid 15β -hydroxylase in *Bacillus megaterium*. *Biochem. Biophys. Res. Com-*

- mun.* 66 : 1414-1423.
- 19) Ishizaki, T., Hirayama, N., Shinkawa, H., Nimi, O. and Murooka, Y. (1989) Nucleotide sequence of the gene for chlesterol oxidase from a *Streptomyces* sp. *J. Bacteriol.* 171 : 596-601.
 - 20) Sasaki, J., Miyazaki, A., Saito, M., Adachi, T., Mizoue, K., Hanada, K., Omura, S. (1992) Transformation of vitamin D₃ to 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ via 25-hydroxyvitamin D₃ using *Amycolata* sp. strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 38 : 152-157.
 - 21) Koga, H., Yamaguchi, E., Matsunaga, K., Aramaki, H., and Horiuchi, T. (1989) Cloning and nucleotide sequences of NADH-putidaredoxin reductase gene (*camA*) and putidaredoxin gene (*camB*) involved cytochrome P-450cam hydroxylase of *Pseudomonas putida*. *J. Biochem.*, 106, 831-836.
 - 22) Rommessenger, J. A. and O'Keefe, D. P. (1986) Induction of cytochrome P-450-dependent sulfonylurea metabolism in *Streptomyces griseolus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 140 : 650-659.
 - 23) Nagy, I., Compennolle, F., Ghys, K., Vanderleyden, J. and Mot, R. D. (1995) A single cytochrome P-450 system is involved in degradation of the herbicides EPTC (S-ethyl dipropylthio-carbamate) and atrazine by *Rhodococcus* sp. strain NI86/21. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 : 2056- 2060.
 - 24) Sariaslani, F.S., Mcgee, L.R. and Ovenall, D.W. (1987) Microbial transformation of precocin II: Oxidative reactions by *Streptomyces griseus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1780-1784.
 - 25) Trower, M.K., Sariaslani, F.S., and Kitson, F.G. (1988) Xenobiotic oxidation by cytochrome P-450-enriched extracts of *Streptomyces griseus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 157, 1417-1422.
 - 26) Apajalahti, J.H.A., and Salkinoja-Salonen, M.S. (1987) Dechlorination and *para*-hydroxylation of polychlorinated phenols by *Rhodococcus chlorophenolicus*. *J. Bacteriol.*, 169, 675-681.
 - 27) Uotila, J.S., Salkinoja-Salonen, S., and Apajahti, J.H.A. (1991) Dechlorination of pentachlorophenol by membrane bound enzymes of *Rhodococcus chlorophenolicus* PCP-I. *Biodegradation*, 2, 25-31.
 - 28) Haggblom, M.M., Nohynek, L.J. and Salkinoja-Salonen, M.S. (1988) Degradation and O-methylation of chlorinated phenolic compounds by *Rhodococcus* and *Mycobacterium* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 3043-3052.
 - 29) Uotila, J.S., Kitunen, V.H., Saastamoinen, T., Coote, T., Haggblom, M.M., and Salkinoja-Salonen, M.S. (1992) Characterization of aromatic dehalogenases of *Mycobacterium fortuitum* CG-2. *J. Bacteriol.*, 174, 5669-5675.
 - 30) Castro, C.E., Wade, R.S., and Belser, N.O. (1983) Biodehalogenation. The metabolism of chloropicrin by *Pseudomonas* sp. *J. Agric. Food Chem.*, 31, 1184-1187.
 - 31) Lam, T., and Vilker, V.L. (1987) Biodehalogenation of bromotrichloromethane and 1,2-dibromo-3-chloropropane by *Pseudomonas putida* PpG-786. *Biotechnol. Bioeng.*, 29, 151-159.
 - 32) Castro, C.E., Wade, R.S. and Belser, N.O. (1985) Biodehalogenation: Reactions of cytochrome P-450 with polyhalomethanes. *Biochemistry*, 24, 204-210.
 - 33) Vilker, V. L., Khan, F. (1989) Stability of cytochrome P-450 enzyme and the dehalogenation activity in resting cultures of *Pseudomonas putida* PpG 786. *Biotechnology Progress* 5 : 70-74.
 - 34) Castro, C.E., and Belser, N.O. (1990) Biodehalogenation: Oxidative and reductive metabolism of 1, 1,2-trichloroethane by *Pseudomonas putida*-biogenesis of vinyl chloride. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9, 707-714.
 - 35) Logan, M.S.P., Newman, L.M., Schanke, C.A., and Wackett, L.P. (1993) Cosubstrate effects in reductive dehalogenation by *Pseudomonas putida* G786 expressing cytochrome P-450cam. *Biodegradation*, 4, 39-50.
 - 36) Trower, M.K., Sariaslani, F.S., and Kitson, F.G. (1988) Xenobiotic oxidation by cytochrome P-450-enriched extracts of *Streptomyces griseus*. *Biochem.*

- Biophys. Res. Commun.*, 157, 1417-1422.
- 37) Taylor, M., Lamb, D.C., Cannell, R., Dawson, M., and Kelly, S.L. (1999) Cytochrome P450105D1 (CYP105 D1) from *Streptomyces griseus*: Heterologous expression, activity, and activation effects of multiple xenobiotics. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 263, 838-842.
 - 38) Lamb, D.C., Kelly, D.E., Masaphy, S., Jones, G.L., and Kelly, S.L. (2000) Engineering of heterologous cytochrome P450 in *Acinetobacter* sp.: Application for pollutant degradation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 276, 797-802.
 - 39) Kulisch, G.P., and Vilker, V.L. (1991) Application of *Pseudomonas putida* PpG 786 containing P-450 cytochrome monooxygenase for removal of trace naphthalene concentration. *Biotechnol. Prog.*, 7, 93-98.
 - 40) Fruetel, J.A., Collins, J.R., Camper, D.L., Loew, G.H., and Montellano, P.R.O. (1992) Calculated and experimental absolute stereochemistry of the styrene and β -methylstyrene epoxides formed by cytochrome P450cam. *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 6987-6993.
 - 41) Harford-Cross, C.F., Carmichael, A.B., Allan, F.K., England, P.A., Roouch, D.A. and Wong, L.L. (2000) Protein engineering of cytochrome P450cam (CYP 101) for the oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Protein Engng.*, 13, 121-128.
 - 42) Cardini, G. and Jurtshuk, P. (1968) Cytochrome P-450 involvement in the oxidation of *n*-octane by cell-free extracts of *Corynebacterium* sp. strain 7 E 1 C. *J. Biol. Chem.* 243 : 6070-6072.
 - 43) Cardini, G., and Jurtshuk, P., (1970) The enzymatic hydroxylation of *n*-octane by *Corynebacterium* sp. strain 7 E 1 C. *J. Biolog. Chem.*, 245, 2789-2796.
 - 44) Aspeeger, O., Naumann, A., and Kleber, H.P., (1984) Inducibility of cytochrome P-450 in *Acinetobacter calcoaceticus* by *n*-alkanes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 19, 398-403.
 - 45) Trower, M. K., Sariaslani, F. S. and Kitson, F. G. (1988) Xenobiotic oxidation by cytochrome P-450-enriched extracts of *Streptomyces griseus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157 : 1417-1422.
 - 46) Sariaslani, F. S. and Stahl, R. G.Jr. (1990) Activation of promutagenic chemicals by *Streptomyces griseus* containing cytochrome P-450soy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 166 : 743-749.
 - 47) Liu, W.G., and Rosazza, J.P.N. (1993) A soluble *Bacillus cereus* cytochrome P-450cin system catalyzes 1, 4 -cineole hydroxylations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 3889-3893.
 - 48) Broadbent, D.A., and Cartwright, N.J. (1971) Bacterial attack on phenolic ethers. Resolution of a *Nocardia* O-demethylase and purification of a cytochrome P450 component. *Microbios*, 4, 7 -12.
 - 49) Yoshinakri, T., and Shafer, D. (1990) Degradation of dimethyl nitrosamine by *Methylosinus trichosporium* OB 3 b. *Can. J. Microbiol.*, 36, 834-838.

Abstract

Cytochrome P450s (P450), which are a special class of heme-containing monooxygenase, are widely distributed in the biosphere in mammalian, plant, insect, fish, and microbial systems. Different P450 isozymes not only accept a broad range of substrates, but also catalyze a large number of oxidation reactions such as aromatic oxidation, aliphatic oxidation, dealkylation, oxidative deamination, and dehalogenation. Due to their versatility and wide distribution in biological systems, P450 has been recognized to have a central role in the oxidative metabolism of chemicals of pharmaceutical, agricultural, and environmental significance. Bacterial P450s are therefore potential tools in the biodegradation of hazardous organochemicals in the environment. The present paper shows the degradation ability of hazardous organochemicals by cytochrome P450-producing bacteria.

Key words : cytochrome P450, hazardous organochemicals, biodegradation