# A newly defined dioxygenase system from *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 endowed with an enhanced activity of dihydroxylation of high-molecular-weight polyaromatic hydrocarbons

Yiquan Wu<sup>1,2</sup>, Ying Xu (🖂)<sup>1,2</sup>, Ningyi Zhou<sup>1,2</sup>

### HIGHLIGHTS

• Mycobacterium vanbaalenii . I. . . . L 1L / .i Л. . I Т 1 1 Ι.Ι... I. Т ,1% L L Ĺ

### ARTICLE INFO

Keywords:

# GRAPHIC ABSTRACT



### ABSTRACT

I. . . L I L 1...I L L L НŤ. L Mycobacterium vanbaalenii Ĩ. L L. L I. I. Nocardioides ÷Ľ. Т L Т fi Т Ë Ι. fi Ĺ Ĩ. Ì. LI. L. fi , ±/ 1.7 fi 丨 L LF. u / / , ±/ // ∎ L  $\mathbf{fi}$ Т LT 1 Т ,1% L 1  $K_1 \quad k_1 \quad k_1 \quad K_2 \quad I$  $\pm$  ,  $\mu$  , /  $\pm$ μ  $k_{\perp} K_{\perp} = 1$ ±/ , . , ± μ μ ΤĽ. Ĩ L . **I**...... Ļ 

# **1** Introduction

Т L fi l . . **.** . . . . . **.** . 1 L , ... fi . . . , 1 L ......L. ,. ....**.** Т Т 11 L . . . . . . . . . . . . L Т Ш L 1 L . ... . I 1. ... . . . . **.** . . . L . . . . . . . . fi . **l** . . I I Mycobacterium

Mycobacterium flavescens Mycobacterium . . . . . . . . . . . L ..... **I** cis 1 L . I L . . . . . . fi Mycobacteria vanbaalenii and the terminal second second 1.

. . . 11. L. H. . . . . **I**... . . I. . ..... · · · · · 1.... I.. .. .. and the product of the second *nidA3B3* **I I I fi** *i*  

 dioides
 1
 1
 Nocar

 dioides
 1
 1
 1
 1

 I
 E. coli
 1
 1
 1

 I
 I
 I
 I
 1
 1

 i , . . . I. . . . . I. I. . . . . . . . nidA3B3.... I. I. ... I. .... I. ... I. .... I. ... .I., 1 1 1 , , , **I** , , , , .**I** , , , , , 11. . . . Ι., I. . . . . . fi . . . **.** . . . . I . . , ,





### 2 Materials and methods

. . . Lastrations

 $\dots \quad \mathbf{L} = \mathbf{I} \quad \dots \quad \mathbf{L} \quad \dots \quad \mathbf{L} \quad \dots \quad \mathbf{L} \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{I} \quad \dots \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{I} \quad \dots \quad \mathbf{I} \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{I} \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{I} \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{I} \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{I} \quad \mathbf{M} \quad \mathbf{M}$ 

Table 1	L	. 1											
---------	---	-----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

L I	· H · · · · ·	
. L		
Mycobacterium vanbaalenii		.,
E. coli	$ ompThsdSB(R^{b-}m^{B-})$ gal (c1, ind1 Sam7 nin5 lacUV5 T7gene1) dcm ()	, <b>I</b> .
E. coli	[lacZ], (lacZYA-argF)U169 recA1 endA1 hsdR17 r <sup>k-</sup> , m <sup>k+</sup> phoA supE44 l-thi-1 gyrA96 relA1 tonA	, <b>I</b> .
		$\gamma = \mathbf{I}$ .
· · / · ·	fnidA3B3	
· / · ·	nidA3B3	
	fnidA3B3 and phtAcAd	
	nidA3B3 and phtAcAd	
	nid and phdCD	
	phtAc	
	phtAd	

Table 2

· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	TAAGAAGGAGATATA <u>CCATGG</u>
	GCCGAGCTCGAATTC <u>GGATCC</u>
	TAAGAAGGAGATATA <u>CCATGG</u>
······	TAAGAAGGAGATATA <u>CATATG</u>
	TTTACCAGACTCGAG <u>GGTACC</u>
	TCATCACCACAGCCA <u>GGATCC</u>
	GCATTATGCGGCCGC <u>AAGCTT</u>
	TCATCACCACAGCCA <u>GGATCC</u>
	GCATTATGCGGCCGC <u>AAGCTT</u>
$\cdot$	TCATCACCACAGCCA <u>GGATCC</u>

vanbaalenii	
/ 	E. coli
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	· I · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
	···· I····· I······
a is statute	i i i i i i i i i i i i i i i i i i i

## 

	/ %	
I	M. vanbaa	llenii
		. I
,		• • • • • • • • •
,,.,.,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,		./. <b>I</b>
,/ . <b>l</b>	<b></b> ,.,	11. 1 // .
L., I, ,		

### , . . . **I**..

M. vanbaalenii

 M. vanbaalenii
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I

### . . . . **I**. . **fi I**. **I**. . **I**. . . . . . .

 
 I
 I
 I

 fnidA3B3
 nidA3B3
 I

 I
 I
 I
 I
 I

 I
 I
 I
 I
 I

	• • • • • • •	fnidA3B3	nidA3B3
	<b>I</b>		phtAcAd
· <b>I</b> · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	phdCD		
l phtAc l p fi	htAd	phtAc <b>l</b> p	htAd
i i i i i i i i i i i i i i i i i i i	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		E. coli

## . . **I**., . **I**.

*E. coli*  $I = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} +$ L 
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I</t 

### . . . . . Hann

1 

n an an <mark>Eur I Eur</mark> (an an an an an a Eura). Earlan an an an an

 $\begin{bmatrix}
 1 \\
 1 \\
 1
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 1 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \begin{bmatrix}
 \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}$  \\
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}
 \end{bmatrix}

 \\

### **3** Results

 fi
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l
 l

	, / %		· , / · · ·	· ··•
·····	n an Iana I	· · · · · · · · ·		
I /		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		<b>n</b> . 
 	M. vanbaaleni I	i	L.	. <b>I</b> 
. I . I	         %	· · ·		· • · · ·
	I I fl	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	· · · · · ·	L
fi	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	I	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	I I 
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		<b>I</b> .



 Fig. 2
 M. vanbaalenii

 I
 fi

 I
 fi

 I
 I

 I
 I

· L L · · · · · · · · · · · · · · · · ·	· · · ·	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	, , <b>I</b>
,		l	L. L.
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	<b>L</b>	· · · · ·	
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	, , , + ·	در م  ممم .	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
·			· · · · <b>I</b> , · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·

.

$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	
$(\mathbf{x}, \mathbf{y}, y$	
I cis	
cis	
	t
service and the service of the servi	
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
final many la alla seconda	
The second	
. I. I I , I I	

in a state in the second state of the second s

I I
E. coli
$\mathbf{L}_{\mathbf{\mu}} = \mathbf{L}_{\mathbf{\mu}} + $
$\mathbf{f}_{\mathbf{i}} = \mathbf{f}_{\mathbf{i}} + \mathbf{f}_{\mathbf{i}} = \mathbf{f}_{\mathbf{i}} = \mathbf{f}_{\mathbf{i}} + \mathbf{f}_{\mathbf{i}} = $
$\mathbf{I}_{\mathbf{n}} = \mathbf{I}_{\mathbf{n}} $
$\frac{1}{1} = \frac{1}{2} + \frac{1}$
,



 Fig. 3
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 <th1</th>
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1</th

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
	fi I I	<b></b>
L.		%
• ·	/ , ±/ /	11
×	/ / , ±/ //	±

 
 Table 3
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I</ 1



 

 Fig. 4
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1
 1</t . . . .

	 I	. /%	
- / % . / "	· L	1	I,
		, 1%	I.
	····		l
			. L.
		••••••••••••••••••••••••••••••••••••••	
in	· · · · · · · ·	, <b>I</b>	
/			
	     %.         fi ,	1       1         1       1	1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1         1       1       1       1       1       1         1       1       1       1       1       1         1       1       1       1       1       1         1       1       1       1       1       1 <tr< td=""></tr<>

 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I



 Fig. 5
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I
 I</t

domonas putida I L Ralstonia . . . . . L L ..., **I** . . . . . Rhodococcus L L L Т L % Novosphingobium aromaticivorans . . . . . . . **. .** . . . I L Mycobacterium L Т Г L Nocardioides . . . . . . . . . . . . . ľ L L Nocardioides Ĺ I I L L L L . I LĽ L T . . 1, L L . . . . ,

. . . . . . . . **I** . . . . . . fi . L L L L Т fl L Т 17 L L I L L L L L I

# 4 Discussion

							_			I	-			-																				
2							I		,					I						2	I		2.						I					
			-		÷															_							~	I					-	
			-		~									-							-			I					-					
					-		2	-		-					I	-		-								I	<i>.</i> .				~			
•		~				-			,					, ,		1	M	<i>y</i>	c	oi	Ьс	10	ct	eı	i	ur	n	I		1. ,	-	-	I	
					L							I	į		I		į																	



L fi 🛛 fi | .... I L I L I L fi L  $\mathbf{fi}$ Ш L L Т 11. phtAcAd L L phtAaAb nidA3B3 L L L 11 **[**\_\_\_\_fi **]** L L / I L L I I LI L I L I L L 11 Ι. L I L L I Ι. I I L L Т I  $\mathbf{fi}$ L L L I I L L I L 11 1 ... L L L L . . . fi l L Ľ . . . | Le constante de la constante de fi

fi 🛛 I. L L ۱I 1.... L I I L L н ۱., 11 L L L Mycobacteria I I % L ,, L I I " I Т L I L I L L . I fi I I I L L I Т Vibrio I L I I L L Mycobacterium L L . 1 L L fi L L L LI I Т Т Mycobacterium L " L L 1... L 1 L LI L 11 L 1. L 

 . L	· · · · <b>I</b> · · · · · · · ·	Mycobacteriu	m Rho-
dococcus N	locardioides	<b>.</b>	
		. <b>I I I</b> .	
Pseudomon	as, Sphingomonas	· · · · · <b>·</b> · · · //	,
	<b> </b>	<b>I I</b>	
L., L	P. putida	· · · · · · ·	<b>I</b> .,
	i i Listi II stari Listi II stari	Rals	tonia
	<b>L</b>	Sphingobiur	n yanoi-
kuyae		<b></b>	
<b>I</b>		<b> .</b> .	
. <b>.</b>	· · · · · ·	<b>I</b>	fi 🖬 🖉
			,
fi			
I	<b></b>		

# 5 Conclusions

· · · · · · <b>·</b> · · · · · · · · · · · ·		
La La serie	L.,	

Mycobacterium vanbaalenii ,...1 11

- 1.....
- fi I I I I Mycobacterium vanbaalenii
- La Indiana (Secondaria), 🗸 🗸
- 1
- Mycobacterium vanbaalenii
- 1.... Ι, Anna an Inne an Mycobacterium tuberculosis.
- Mycobacterium
- LL. Mycobacterium vanbaalenii. . . . . . 1
- , <u>, , ,</u> , **,** , , , , , L . 1 .... **L**. , .. Nocardioides
- Escherichia coli.
   I
   I

   I
   I
   I

   I
   I
   I

   I
   I
   I

   I
   I
   I

   Mycobacterium
   I
   I

   I
   fi
   I
   Т \_
- . . . I .

Mycobacterium vanbaalenii

- 1. . . . 1 I I Pseudomonas stutzeri Е -, , , I,
- . . . . . **.** I.
- , . . . . . . . . . . . . . . . . . . 1.1...
- 11...1. . . . **I**. . . . . . Sphingobium yanoikuyae
- t a sea a se a se a se I I I . L . . . . . . . . . . . . . . ., . . . . . . . .  $\mathbf{I}_{1}, I_{2}, I_{3}, \dots, I_{n-n}, I_{n-n}$
- L . L. I. . . .
- Ralstonia L. .
- La sur a — / ,