

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (8) :913 -918; 4 August 2014
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.08.009

白腐真菌 *Trametes* sp. SQ01 漆酶的新功能: 转化 2-羟基-6-氧-6-苯基-2,4-己二烯酸

杨秀清, 文潇玮

山西大学生物技术研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: 【目的】利用白腐真菌 *Trametes* sp. SQ01 漆酶转化 2-羟基-6-氧-6-苯基-2,4-己二烯酸 (HOPDAs), 可以帮助我们进一步了解漆酶新的催化特性及解决多氯联苯降解过程中 HOPDAs 的积累问题。【方法】利用紫外可见光谱分析法, 研究了漆酶对 8 种不同取代基的 HOPDAs 的转化情况, 并对漆酶的稳态动力学参数进行了测定。【结果】漆酶可以在没有任何中介物的条件下催化 HOPDAs, 并生成无色的物质, 尤其是漆酶可以催化 3,8,11-3Cl HOPDA, 而这一物质几乎不能被 BphD 和 *Rhodococcus* sp. R04 转化。稳态动力学分析表明, 在 5 种 HOPDAs 中, 10-Cl HOPDA 是漆酶的最适底物, 其 K_m 与 HOPDA 和 8-Cl HOPDA 相近。尽管 3,10-2F HOPDA 并不是漆酶的最适底物 ($K_m = 17.02 \mu\text{mol/L}$), 但是它的转化效率 (k_{cat}/K_m) 是最高的。【结论】漆酶可以有效转化多种 HOPDAs, 这为多氯联苯的降解提供一种新的思路。

关键词: 2-羟基-6-氧-6-苯基-2,4-己二烯酸 (HOPDAs), 漆酶, 催化作用

中图分类号: Q814 **文章编号:** 0001-6209(2014)08-0913-06

2-羟基-6-氧-6-苯基-2,4-己二烯酸 (2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoate, HOPDA) 是联苯降解途径中产生的一种黄色中间代谢物^[1], 在这一过程中, 2,3-二羟基联苯-1,2-双加氧酶 (2,3-dihydroxybiphenyl-1,2-dioxygenase, BphC) 转化 2,3-二羟基联苯 (2,3-dihydroxybiphenyl, DHBP) 生成 HOPDA^[2], 之后 2-羟基-6-氧-6-苯基-2,4-己二烯酸水解酶 (2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoate hydrolase, BphD) 将 HOPDA 水解生成苯甲酸和 2-羟基-2,4-戊二烯酸 (2-hydroxypenta-2,4-dienoate, HPD), 由于 BphD 被氯代的 HOPDAs 抑制从而导致 HOPDAs 大量积累并阻碍了其进一步降解^[3]。

漆酶 (*p*-diphenol: dioxygen oxidoreductase, EC 1.10.3.2) 是一种含铜氧化酶, 属于铜蓝蛋白家族^[4]。漆酶的催化氧化的底物范围很广, 除了苯酚类化合物外, 漆酶还可以催化许多芳香类化合物和电子供体底物, 例如取代酚类、二元胺类、芳香胺类和硫醇类化合物, 甚至漆酶可以催化氧化一些无机化合物, 例如: 碘、 $\text{Mo}(\text{CN})_8^{4-}$ 和 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ^[5]。漆酶的催化特异性和宽泛底物作用, 使其在许多生物技术应用方面得以应用。漆酶可以催化羧酸及其衍生物, 一般指芳环羧基邻、对位连有羟基、烷氧基或胺基等芳香酸^[6]。但是目前未有报道漆酶可以催化 HOPDAs 这类芳香环上不含有上述基团的底物,

基金项目: 国家自然科学基金项目 (3080030); 山西省高等学校高新技术产业化项目 (2012002)

作者简介: 杨秀清 (1975 -), 男, 山西代县人, 副教授, 主要从事微生物转化与生物催化方面的研究工作。Tel/Fax: +86-351-7010215; E-mail: xiuqiang@sxu.edu.cn

收稿日期: 2014-02-28; **修回日期:** 2014-05-05

HOPDA 结构见图 1。

在实验中,我们发现来自白腐真菌栓菌 (*Trametes* sp.) SQ01 的漆酶可以像脱色偶氮类、三苯甲烷类和蒽醌类染料^[7]那样,使 HOPDA 脱色生成无色物质。在本研究中,我们采用紫外可见光谱法对漆酶转化 HOPDA 及其衍生物进行研究,并对漆酶的稳态动力学进行了分析。本研究首次报道了漆酶可以转化 HOPDA 及其衍生物。

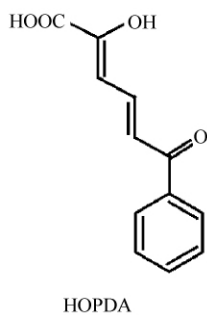


图 1. HOPDA 结构

Figure 1. The structure of HOPDA.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器:联苯购自军事医学科学院试剂站,4-Fluorobiphenyl (4-FB)、4,4'-Difluorobiphenyl (4,4'-FB)、4-Bromobiphenyl (4-BrB)、4-Chlorobiphenyl (4-CB)、2-Chlorobiphenyl (2-CB)、4-Methylbiphenyl (4-MB)、3,4-Dichlorobiphenyl (3,4-CB)、2,3,4,5-Tetrachlorobiphenyl (2,3,4,5-CB)、2,4',5-Trichlorobiphenyl (2,4',5-CB) 和 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) (ABTS) 均购自美国 Fluka 公司。联苯水解酶 BphD 由本实验室保存。

1.1.2 菌株及其生长培养基:重组的大肠杆菌 (*Escherichia coli*) BL21/pBV220-bphC 和 *bphD* 基因缺失红球菌 R04 突变株 (*Rhodococcus* sp. R04 Δ *bphD*, Δ D) 由本实验室保存。 Δ D 在 MM 培养基^[8]中培养。*Trametes* sp. SQ01 漆酶按文献提供方法纯化^[9]。

1.2 HOPDAs 制备和提纯

2,3-二羟基联苯 (DHBP) 溶解于丙酮中,加入适量 DHBP 与重组菌 *E. coli* BL21/pBV220-bphC 在磷酸钾缓冲液中 (20 mmol/L, pH 8.0) 反应至 OD_{435} 不

再增加。采用静息细胞法^[10]处理 Δ D 菌株,按文献方法转化制备 HOPDAs。当 HOPDAs 在各自最大吸收波长处的吸光值达到最大时,将培养液离心 (9530 \times g, 10 min),取上清。按文献方法提纯 HOPDA 及其衍生物^[11],制备纯的 HOPDAs 干粉。

1.3 酶活性测定

1.3.1 漆酶催化 HOPDA 的标准活力测定方法:常规漆酶活性测定采用 ABTS 法^[9]。每分钟转化 1 μ mol ABTS^{•+} 所需的漆酶酶量定义为一个酶活力单位。以 HOPDA 为底物时,漆酶活力测定方法:以 10 mmol/L HOPDA 作为反应的底物 (ABTS 为底物),在 20 mmol/L、pH 8.0 的磷酸钾缓冲液体系中,加入适量酶液,于 25 $^{\circ}$ C 进行反应,紫外可见分光光度计 435 nm 处测定反应吸光值的变化情况。每分钟转化 1 μ mol HOPDA 所需的漆酶酶量定义为一个酶活力单位。

1.3.2 利用水解 HOPDA 测定 BphD 的活性:方法参照文献 [1] 进行。每分钟转化 1 μ mol HOPDA 所需的 BphD 酶量定义为一个酶活力单位。

1.4 漆酶转化 HOPDAs

将一定量的 HOPDAs 粉末分别溶解于 20 mmol/L、pH 8.0 的磷酸钾缓冲液中,加入一定量漆酶,在 300 nm - 550 nm 波长范围内进行紫外可见光谱扫描,反应在室温下进行。

1.5 光谱扫描分析 BphD、漆酶转化 HOPDA 的机制

在含有一定浓度 HOPDA 的磷酸钾缓冲液 (20 mmol/L, pH 8.0) 中,分别加入 0.02 U BphD 和 0.5 U 漆酶 (ABTS 为底物),在 200 nm - 600 nm 波长范围内进行紫外可见光谱扫描。以煮沸 10 min 灭活的 BphD 和漆酶作为对照。

1.6 动力学试验

漆酶催化 HOPDA 的稳态动力学试验在磷酸钾缓冲液 (20 mmol/L, pH 8.0) 中进行,反应体积为 2 mL,反应温度为室温。实验重复 3 次,实验数据以 3 次平均值 \pm 标准偏差表示。

2 结果和讨论

2.1 漆酶转化 HOPDAs

本研究中,我们采用一定量的漆酶对 8 种 HOPDAs 的进行了转化实验。当仅加入 0.05 U 漆酶后,10-F HOPDA 和 3,10-2F HOPDA 分别在

5 min, 9 min 后完全转化(图 2-A、B)。将漆酶的量增加至 0.5 U 后, 10-Cl HOPDA 在 6 min 后完全转化(图 2-D), HOPDA、9, 10-2Cl、10-Me 和 8, 9, 10, 11-4Cl HOPDA 在 16-24 min 内完全转化(图 2-C、E、F 和 G)。但是, 漆酶对 3, 8, 10-3Cl HOPDA 的转化较为困难, 在反应 8 h 后, 黄色才几乎完全褪去(图 2-H)。在这 8 种 HOPDAs 中, 加入少量的漆酶, 氟取代的 HOPDA 可以快速地完全转化。像 9, 10-2Cl 和 8, 9, 10, 11-4Cl HOPDA 的这样苯基上的多个氢原子被氯取代后, 漆酶对其转化能力弱于 HOPDA。文献报道, 在 BphD 催化 HOPDAs 过程中, HOPDAs 的 3 位、4 位氢原子被氯取代, 会抑制 BphD 的活性^[1, 12-13]。此外, 3 位取代基团原子半径增加会降低 BphD 的转化效率: BphD 对 3 位取代的 HOPDAs 降解能力顺序为 H > F > Cl > Me^[14]。但是本研究显示, 尽管加入更少量的漆酶, 漆酶对 3, 10-2F HOPDA 的转化快于 HOPDA, 稳态动力学分析也证明了这一结果(表 1)。3, 8, 11-3Cl HOPDA 在降解 2, 4', 5-CB 过程中很容易产生并大量积累, 并且培养 5 d 后仍存在于培养基中, BphD 与 *Rhodococcus* sp. R04 几乎不能转化 3, 8, 11-3Cl HOPDA^[8]。但是在本研究中, 尽管漆酶对 3, 8, 11-3Cl HOPDA 的转化能力较弱, 漆酶却可以在 8 h 将 3, 8, 11-3Cl HOPDA 完全转化。因此, 漆酶对 HOPDAs 的催化能力与 BphD 有较大差异。

2.2 光谱扫描分析 BphD、漆酶催化 HOPDA 的机制

BphD 和漆酶都可以催化 HOPDA, 但二者催化 HOPDA 的紫外可见光谱图是不同的, 尤其在 240 - 280 nm 波长范围内有较大差别。如图 3-A 所示, 当 BphD 催化 HOPDA 反应开始后, 最大吸收峰 435 nm 处的吸光值逐渐降低, 而紫外光区的吸光值有较大变化; A 中插图所示的差示谱中, 在 268 nm 处形成一个新吸收峰, 且该吸收峰的吸光值在反应开始 200 s 内逐渐增加, 之后逐渐降低, 整个反应过程中 268 nm 处吸光值的变化约为 0.11 OD。出现这一现象的原因是 HOPDA 经 BphD 催化生产 HPD, 同时也伴随着一个 HPD 被 BphD 继续分解的过程^[11]。Pollard 认为, HPD 的分解是由于 HPD 不稳定, 其二烯醇基团易向酮式转变, 这一转变可以在 C-3 或 C-5 发生^[15]; 随后 Horsman 等人发现 HPD 的分解除了上述非酶促因素外, 还存在另一个因素, BphD 能够继续催化 HPD 的转化^[11]。图 3-B 中, 当漆酶催化

HOPDA 反应开始后, 435 nm 处吸光值也逐渐下降, 但紫外光区的吸光值变化不明显。在图 3-B 插图所示的差示谱中可以发现, 240nm - 280 nm 范围内形成了两个吸收峰, 其中 245 nm 处吸收峰的吸光值逐渐增加, 而 273 nm 处吸光值却逐渐降低, 此外整个反应过程中吸光值的最大变化值仅为 0.03 OD, 约为图 2-A 中的 1/4。这一发现表明漆酶催化 HOPDA 的机制与 BphD 不同。

2.3 稳态动力学分析

以 HOPDA 为底物, 漆酶的最适反应 pH 是 pH 8.0 磷酸钾缓冲液, 最适反应温度是 50℃。稳态动力学分析表明, 在 5 种测试底物中, 10-Cl HOPDA 是漆酶的最适底物(表 1)。分别以 HOPDA 与 8-Cl HOPDA 为底物时, 漆酶的 K_m 值相近, 且均大于 10-Cl HOPDA。尽管 3, 10-2F HOPDA 并非漆酶的最适底物, 但漆酶对其的转换数 k_{cat} 与转化效率 k_{cat}/K_m 却是最高的。漆酶对 HOPDA 的 k_{cat} 与 k_{cat}/K_m 低于 3, 10-2F HOPDA, 而对 9, 10-2Cl HOPDA 的转换数与转化效率是 5 种底物中最低的。这表明 HOPDA 衍生物二烯醇部分的氟原子对漆酶催效能力的影响小于其他取代基团包括氢原子。

我们的研究结果表明, *Trametes* sp. SQ01 漆酶可以催化酚类及非酚类底物, 如 ABTS、2, 6-DMP、对苯二酚、愈创木酚及儿茶酚类^[9]。在这些化合物中, ABTS 是该漆酶的最适底物, 以 ABTS 为底物时漆酶的 K_m 值为 0.029 mmol/L, 高于以 HOPDAs 为底物时漆酶的 K_m 值。漆酶对 ABTS、对苯二酚及儿茶酚类的转化效率较 HOPDAs 高, 是 3, 10-2F HOPDA 的 1 到 4 倍。此外, 在 5 种测试底物中, 漆酶对 9, 10-2Cl HOPDA 的转化效率是最低的, 稍低于 2, 6-DMP [$k_{cat}/K_m = 0.32 \times 10^5 \text{ mol}/(\text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$], 高于愈创木酚 [$k_{cat}/K_m = 0.16 \times 10^5 \text{ mol}/(\text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$]; 然而, 漆酶对其余 4 种 HOPDAs 的转化效率均高于 2, 6-DMP 和愈创木酚。可见, 漆酶对 HOPDAs 这类非酚类化合物的转化能力与酚类化合物相近。

HOPDAs 是联苯及多卤代联苯降解过程中的一种中间代谢物, 该类化合物是联苯降解上游途径中第 4 个酶 BphD 的底物。研究结果表明 BphD 可以催化 HOPDA 及多种卤代 HOPDAs, 如 HOPDA、8-Cl、10-Cl 和 9, 10-2Cl HOPDA, 其 K_m 值分别为 0.19、0.33、0.13 和 0.154 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ^[12]。而以 HOPDAs 为底物时漆酶的 K_m 值是 BphD 的 9 倍以上。在上述 4 种底物中,

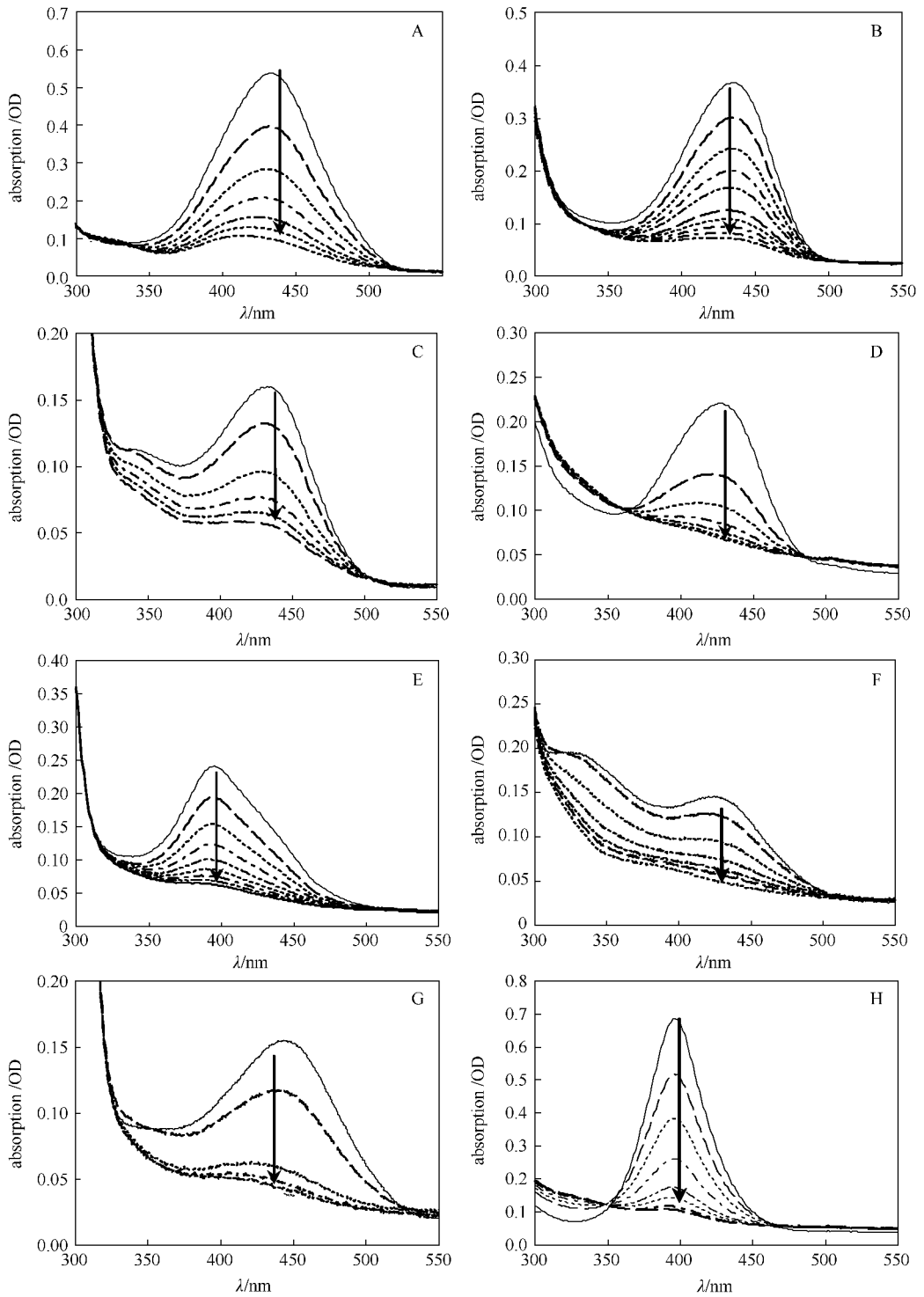


图 2. 漆酶转化 HOPDAs 光谱扫描

Figure 2. Spectra of HOPDAs transformed by laccase. “ \downarrow ” indicates the changing direction of absorption spectra curves. Solid line: HOPDAs, Dotted line: HOPDAs added with Laccase. A: 10-F HOPDA, laccase 0.05 U, time between scans = 5 min; B: 3,10-2F HOPDA, laccase 0.05 U, time between scans = 9 min; C: HOPDA, laccase 0.5 U, time between scans = 24 min; D: 10-Cl HOPDA, laccase 0.5 U, time between scans = 6 min; E: 9,10-2Cl HOPDA, laccase 0.5 U, time between scans = 16 min; F: 10-Me HOPDA, laccase 0.5 U, time between scans = 20 min; G: 8,9,10,11-4Cl HOPDA, laccase 0.5 U, time between scans = 16 min; H: 3,8,11-3Cl HOPDA, laccase 0.5 U, time between scans = 8 h.

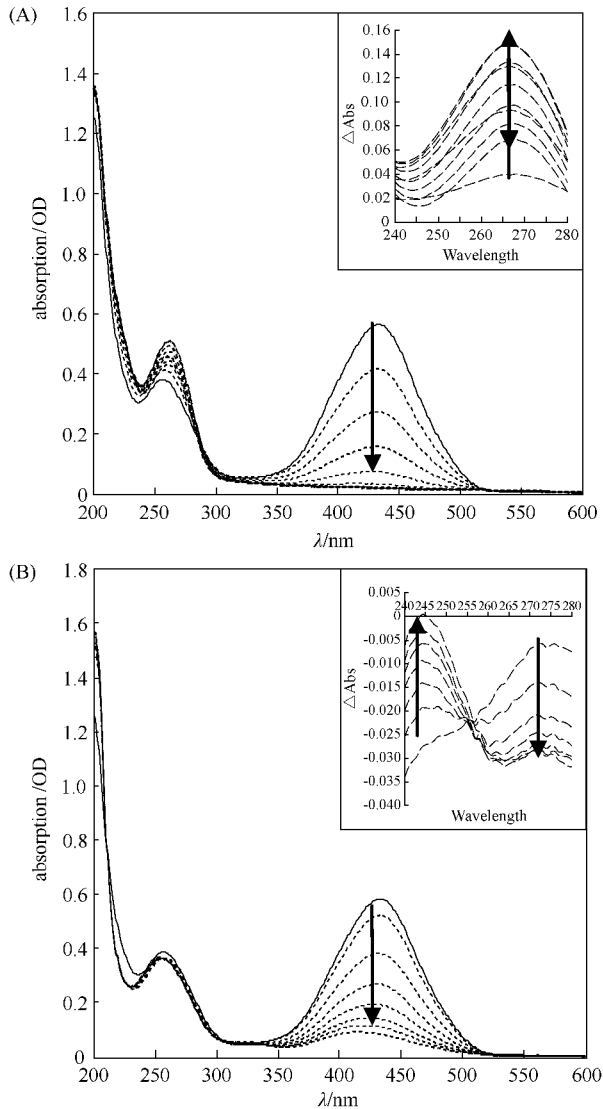


图 3. 光谱扫描 BphD 和漆酶转化 HOPDA

Figure 3. Spectra of HOPDAs transformed by BphD and laccase. [HOPDA] = 22 $\mu\text{mol/L}$. “ \downarrow ” indicates the changing direction of absorption spectra curves. Solid line: HOPDAs, Dotted line: HOPDAs added with Laccase. A: HOPDA catalyzed by BphD, 400 s, the inset shows the difference spectrum resulting from the subtraction of the HOPDA spectrum (added with inactive BphD) from the time sequence spectra at 40, 80, 120, 160, 200, 240, 280, 320, 360 and 400 s (added with active BphD); B: HOPDA catalyzed by laccase, 24 min, the inset shows the difference spectrum resulting from the subtraction of the HOPDA spectrum (added with inactive laccase) from the time sequence spectra at the start, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 min (added with active laccase).

HOPDA 是 BphD 的最适底物, 而本研究中漆酶的最适底物却是 10-Cl HOPDA。BphD 对 10-Cl HOPDA 的转化效率是最高的, 对 8-Cl HOPDA 的转化效率是最

低的, 但是漆酶对二者的转化效率却较为相近。尽管在这几种底物中, BphD 对 8-Cl HOPDA 的转化能力最弱, 但仍高于漆酶。由此可见, 漆酶、BphD 对 HOPDAs 的催化性能有较大不同。

表 1. 漆酶催化 HOPDAs 的稳态动力学参数

Table 1. Steady-state kinetic parameters of laccase with HOPDAs.

HOPDA substituent	$\varepsilon /$ [mmol/ (L ⁻¹ ·cm ⁻¹)]	$K_m /$ ($\mu\text{mol/L}$)	$k_{cat} /$ s ⁻¹	$[k_{cat} / K_m (10^6)] /$ [mol/ (L ⁻¹ ·s ⁻¹)]
None	25.7 ^[1]	7.66 ± 0.19	0.89 ± 0.01	1.16 ± 0.01
8-Cl	40.3 ^[1]	7.28 ± 0.02	0.64 ± 0.01	0.88 ± 0.01
10-Cl	26.3 ^[1]	6.39 ± 0.48	0.57 ± 0.02	0.89 ± 0.03
9,10-2Cl	37.9 ^[4]	13.96 ± 0.91	0.29 ± 0.01	0.21 ± 0.01
3,10-2F	27.5 ^[15]	17.02 ± 0.91	3.10 ± 0.09	1.85 ± 0.09

* k_{cat} values of HOPDAs were calculated with the substrate concentration 10 $\mu\text{mol/L}$.

参考文献

- [1] Seah SYK, Labbé G, Nerdinger S, Johnson MR, Snieckus V, Eltis LD. Identification of a serine hydrolase as a key determinant in the microbial degradation of polychlorinated biphenyls. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275 (21): 15701-15708.
- [2] Ohtsubo Y, Kudo T, Tsuda M, Nagata Y. Strategies for bioremediation of polychlorinated biphenyls. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 65 (3): 250-258.
- [3] Seeger M, Timmis KN, Hofer B. Conversion of chlorobiphenyls into phenylhexadienoates and benzoates by the enzymes of the upper pathway for polychlorobiphenyl degradation encoded by the bph locus of *Pseudomonas* sp. strain LB400. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61 (7): 2654-2658.
- [4] Mayer AM, Staples RC. Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochemistry*, 2002, 60 (6): 551-565.
- [5] Dwivedi UN, Singh P, Pandey VP, Kumar A. Structure-function relationship among bacterial, fungal and plant laccases. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2011, 68 (2): 117-128.
- [6] Ji L, Hu P. Structure, function and application of laccase. *Amino Acids & Biotic Resource*, 1996, 18 (1): 25-29. (in Chinese)
季立才, 胡培植. 漆酶的结构、功能及其应用. 氨基酸和生物资源, 1996, 18 (1): 25-29.
- [7] Yang XQ, Zhao XX, Liu CY, Zheng Y, Qian SJ. Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by a newly isolated *Trametes* sp. SQ01 and its laccase. *Process Biochemistry*, 2009, 44 (10): 1185-1189.
- [8] Yang XQ, Sun Y, Qian SJ. Biodegradation of seven polychlorinated biphenyls by a newly isolated aerobic

bacterium (*Rhodococcus* sp. R04). *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2004, 31 (9) : 415-420.

- [9] Yang X, Zhao X, Zhao Y, Zheng Y. A pH-stable yellow laccase from white rot fungus *Trametes* sp. SQ01: rapid purification and characterization. *Microbiology China*, 2009, 36 (2) : 299-308. (in Chinese)
杨秀清, 赵晓霞, 赵永福, 郑媛. 一种 pH 稳定的黄色漆酶的快速纯化和性质特征. *微生物学通报*, 2009, 36 (2) : 299-308.
- [10] Yang X, Zheng Y, Li P, Wang J. Influencing factor for the biodegradation of polyhalogenated biphenyls by *Rhodococcus* sp. R04. *China Environmental Science*, 2010, 30 (5) : 694-698. (in Chinese)
杨秀清, 郑媛, 李鹏丽, 王靖人. 红球菌-R04 生物降解多卤代联苯的影响因素研究. *中国环境科学*, 2010, 30 (5) : 694-698.
- [11] Horsman GP, Ke J, Dai SD, Seah SYK, Bolin JT, Eltis LD. Kinetic and structural insight into the mechanism of BphD, a C-C bond hydrolase from the biphenyl degradation pathway. *Biochemistry*, 2006, 45 (37) :

11071-11086.

- [12] Seah SYK, Labbé G, Kaschabek SR, Reifenrath F, Reineke W, Eltis LD. Comparative specificities of two evolutionarily divergent hydrolases involved in microbial degradation of polychlorinated biphenyls. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183 (5) : 1511-1511
- [13] Seah SYK, Denis G, Horsman GP, Fortin PD, Whiting CJ, Eltis LD. Characterization of a C-C bond hydrolase from *Sphingomonas wittichii* RW 1 with novel specificities towards polychlorinated biphenyl metabolites. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189 (11) : 4038-4045.
- [14] Bhowmik S, Horsman GP, Bolin JT, Eltis LD. The molecular basis for inhibition of BphD, a C-C bond hydrolase involved in polychlorinated biphenyls degradation. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282 (50) : 36377-36385.
- [15] Pollard JR, Henderson IMJ, Bugg TDH. Chemical and biochemical properties of 2-hydroxypentadienoic acid, a homologue of enolpyruvic acid. *Chemical Communications*, 1997, (19) : 1885-1886.

New function of laccase from *Trametes* sp. SQ01: transforming 2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoate

Xiuqing Yang^{*}, Xiaowei Wen

Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Institute of biotechnology, Shanxi University, Taiyuan 030006, Shanxi Province, China

Abstract: [Objective] To study the transformation of 2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoates (HOPDAs) by laccase from *Trametes* sp. SQ01 so to further understand the new catalytic properties of laccase and solve the problem of accumulations of HOPDAs in polychlorinated biphenyls (PCBs) degradation. [Methods] With UV-vis spectrophotometer, we studied the transformations of 8 substituted HOPDAs by laccase, and measured the steady-state kinetics parameters of laccase against parts of HOPDAs. [Results] Laccase catalyzed HOPDAs to colorless substances without any mediators; among them, especially 3,8,11- β -Cl HOPDA that was barely transformed by 2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoate hydrolase (BphD) and *Rhodococcus* sp. R04, also could be transformed by this laccase. The analysis of the steady-state kinetics indicated that 10-Cl HOPDA was the optimal substrate of laccase among 5 HOPDAs, and the K_m was lower than that of HOPDA and 8-Cl HOPDA. Although 3,10- β -F HOPDA was not the optimal substrate ($K_m = 17.02 \mu\text{mol/L}$), its transformation efficiency (k_{cat}/K_m) was the highest. [Conclusion] Laccase from *Trametes* sp. SQ01 could transform various HOPDAs effectively, and has its potential in eliminating PCB pollution.

Keywords: HOPDAs (2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoates), laccase, catalysis

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (3080030) and by the High-tech Industrialization Projects of Universities of Shanxi Province (2012002)

^{*} Corresponding author. Tel/Fax: +86-351-7010215; E-mail: xiuqyang@sxu.edu.cn

Received: 28 February 2014 / Revised: 5 May 2014