

## Biphenyl의 *Sphingobium yanoikuyae* BK-10에 의한 분해 특성

이중복 · 김동걸 · 최충식<sup>1</sup> · 손호용<sup>2</sup> · 김장억<sup>3</sup> · 권기석\*

안동대학교 생명자원과학부, <sup>1</sup>주) 한스바이오, <sup>2</sup>안동대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>경북대학교 농화학과

**Biodegradation of Biphenyl by *Sphingobium yanoikuyae* BK-10.** Lee, Jung-Bok, Dong-Geol Kim, Chung-Sig Choi<sup>1</sup>, Ho-Yong Sohn<sup>2</sup>, Jang-Eok Kim<sup>3</sup>, and Gi-Seok Kwon\*. The School of Bioresource Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea, <sup>1</sup>HansBio Co., BI center 303, Andong National University, Andong 760-749, Korea, <sup>2</sup>Dept. of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea, <sup>3</sup>Dept. Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea – Bacterium capable of using biphenyl as a sole source of carbon and energy were isolated from soil, and based on the results of 16S rDNA sequence, strain BK10 identified as a *Sphingobium yanoikuyae*. The optimum cultural conditions were as follows; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, CaCO<sub>3</sub> 0.2 g per 1 liter of distilled water. The *Sphingobium yanoikuyae* BK10 strain was completely utilized biphenyl in mineral salt media containing biphenyl at concentration 500 µg/ml of biphenyl as a sole carbon and energy source within 48 hours. Optimal pH and temperature for biphenyl degradation and cell growth of strains were 6.0~8.0 and 20~50°C, respectively. Especially, at 30°C, cell-growth were higher than other temperature. Cell grown on biphenyl has been shown to have a higher removal rate for biphenyl than grown on sucrose. This study shows that *Sphingobium yanoikuyae* BK10 strain had a high biodegradation capability of biphenyl and can be simulate a candidate compounds the bioremediation of PCBs (Polychlorinated biphenyl) contaminant soil and water.

**Key words:** Biphenyl, *Sphingobium yanoikuyae* BK10, PCBs (Polychlorinated Biphenyls), biodegradation

현대 사회가 고도로 다양한 산업형태로의 발전에 따라 발생하는 여러 가지 난분해성 물질과 폐기물 및 유기화학물질에 의한 오염으로 자연계의 심각한 환경문제가 제기되고 있다. 요오드화 벤젠과 구리가루를 가열 반응시켜 처음으로 합성한 biphenyl은 두개의 벤젠 고리로 이루어진 방향족 화합물로서 생태계에 다량으로 존재하며, 물리·화학적으로 안정하여 분해하기 어려울 뿐만 아니라, 고농도의 biphenyl에 짧은 시간 노출되면 눈과 피부에 염증을 일으킨다[11]. 또한 biphenyl 독소의 영향으로 인한 신장과 중추·말초신경에 악영향을 주어 두통, 위장병, 소화불량, 손과 다리의 마비, 만성피로와 같은 징후가 나타나게 된다[17].

Biphenyl은 아직까지 사람에게서 암을 일으킨다고 보고된 바는 없고, EPA(Environmental Protection Agency)의 발암성 분류기준에서도 사람에게 대한 발암성 물질로 분류할 수 없는 물질(Not classifiable as to Human Carcinogenicity), 사람 또는 동물에서 발암성 증거가 불충분하거나 없는 물질그룹인 Group D로 분류되어있으며, 쥐의 실험에 의하면 0.05 mg/kg/d(1일 허용량, 기준치)이상을 호흡에 의해서 흡수하게 되면 신장의 손상을 준다고 보고되었다[17]. 또한 biphenyl

은 유기물합성, 액체 열 전달체, 음식의 방부제, 부패방지를 위하여 과일 같은 과일의 포장할 때 많이 사용이 되고 있으며 특히, 발암성물질인 PCBs(polychlorinated biphenyls)의 모체라는 점에서 많은 연구자들에 의해 biphenyl계 물질들의 분해 메커니즘에 대한 연구가 진행되어 왔다[2, 3, 5, 6, 8].

이러한 biphenyl/PCBs 분해 균주의 분리와 PCBs 분해 대사산물을 통한 biphenyl의 일반적인 이화학적 분해과정 보고되어진 바, biphenyl이 bph A gene의 생산물인 biphenyl dioxygenase의 작용에 의해 두개의 산소가 biphenyl 2,3번 탄소에 붙어 2,3-dihydroxy-1-phenylcyclohexa-4,6-diene(dihydrodiol compound)로 되며, dihydrodiol은 bphB gene의 생산물인 dihydrodiol dehydrogenase에 의해서 2,3-dihydroxybiphenyl (2,3-DHBP)로 환원된다. 2,3-DHBP는 bphC gene의 생산물인 2,3-dihydroxybiphenyl-1,2-dioxygenase에 의해서 2,3-DHBP에 1,2위치가 부서져 2-hydro-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoate(HOPD)인 yellow meta-cleavage compound를 생성한다. HOPD는 bphD gene의 생산물인 meta-cleavage hydrolase에 의해서 Benzonate와 2-hydroxypenta-2,4-dienoate(HPD)로 가수분해되며, Benzonate는 meta-cleavage pathway에 의해서 분해가 이루어지며, HPD는 bphE, bphF와 bphG에 의한 연속된 촉매작용에 의해 pyruvate와 acetyl CoA로의 과정이 보고되었다[4, 13]. 또한 이러한 분해유전자를 가지고 있는 다양한 미생물로 *Pseudomonas* sp.,

\*Corresponding author

Tel: 82-54-820-5909, Fax: 82-54-823-6252

E-mail: gskwon@andong.ac.kr

*Beijerinckia*, *Arthrobacter* 그리고 *Sphingomonas* sp. 등이 보고되어졌다[1, 5, 8, 9].

본 연구에서는 환경 생태계에 대한 독성물질인 biphenyl/PCBs을 효율적이면서 경제적으로 처리하는 방법인 생물학적 분해(biodegradation)를 위해, 분해능이 우수한 새로운 균주를 선발하고자 하였다. 그 과정 중에 분해능이 우수한 biphenyl분해균주를 분리하여 이들 균주의 특성을 규명하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 배지

Biphenyl ( $C_{12}H_{10}$ )은 Sigma Chemical Co.을 사용하였고, GC분석용 petroleum ether는 순도 99.5%(Showa, Japan) 제품을 사용하였다. Biphenyl 분해균 BK10을 분리하기 위한 배지성분은 1 liter의 증류수에  $NH_4NO_3$  1 g,  $K_2HPO_4$  1 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5 g,  $CaCO_3$  0.2 g을 함유하는 mineral salt(MM)배지를 사용하였다. 분리한 biphenyl 분해균주의 보존은 25% glycerol stock과 LB 배지(Tryptone 1%, Yeast extract 0.5%, NaCl 0.5%, Agar 1.5%)를 이용하여 30°C에서 배양 한 후 4°C에서 냉장 보관하였으며, 필요 시 계대 배양하여 활성화한 후 이용하였다.

### Biphenyl 분해미생물의 분리

Biphenyl 분해균주의 분리를 위하여 경북 D시에서 채취한 토양 시료 2 g을 10 ml의 0.85% NaCl에 현탁 한 후, 단계적으로 희석하여 각 희석액 100 ml을 mineral salt배지에 접종하여 30°C에서 7일동안 배양하였다. Mineral salt 배지 상에 나타난 bacteria colony들 중, colony주위를 노랑색으로 착색한 colony를 biphenyl 분해후 생성된 산물인 HOPD인 yellow meta-cleavage compound를 생성된 균주 선별하여 선정하였다[4, 13, 18].

### 16S rDNA의 Sequencing

Biphenyl 분해균주 BK10의 분류학적 위치를 규명하기 위하여 16S ribosomal DNA 영역의 부분염기서열 분석을 실시하였다. 먼저 염기서열분석에 이용할 염색체 DNA를 분리하기 위하여 Malt extract broth(DIFCO Laboratories, Detroit, U.S.A.)에 균주를 접종하고 25°C에서 3일간 배양하였다. 배양된 균체를 수집하여 Yoon등[19]의 방법으로 DNA를 분리하고 small subunit rDNA 영역을 PCR로 증폭하였다[20, 21].

PCR증폭에 이용한 primer는 9F [5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG; positions 9-27(*Escherichia coli* 16S rRNA numbering)]와 1542R [5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC; 1542-1525]이었다[21]. PCR로 증폭한 단편들은 QIAquick PCR purification kit(Qiagen Inc., Germany)를 사용하여 정제한 후 ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit(PE Biosystems, U.S.A.)를 사용하여 sequencing 반

응을 수행하였고, sequencing 반응에 이용한 primer는 536R [5'-GWATTACCGCGGCKGCTG; 536-519]이었으며, 반응 결과 생산된 DNA 단편들은 ABI 310 DNA sequencing (PERKIN ELMER, New Jersey, U.S.A.)를 이용하여 분석하였다. 분석 결과 얻어진 biphenyl 분해균주 BK10의 16S rDNA의 부분 염기서열은 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 GenBank data base에 등록하여 고유번호를 부여받았다(Accession number: AF406817).

### Biphenyl 분해 특성 조사

Biphenyl 분해균주 BK10의 biphenyl 분해능을 확인하기 위해 biphenyl이 첨가된 mineral salt배지에서 증배양한 균체를 10,000 rpm으로 20분간 원심분리한 후 15 mM phosphate buffer(pH 7.0)로 2회 세척한 다음, 본 실험에 사용하였다. 실험마다 수확한 시료에서 균의 생육은 적외선 분광광도계 (Milton Roy Co., U.S.A.)를 이용하여 550 nm에서 측정하였다.

Biphenyl 분해 최적 pH와 온도를 알아보기 위하여 mineral salt 배지 10 ml이 든 50 ml 삼각플라스크에 biphenyl을 500  $\mu$ g/ml 수준으로 처리하고 biphenyl 분해균주를 2%되게 접종하고 48시간동안 110rpm에서 진탕 배양 한 후, pH는 5.0~9.0의 범위에서 온도는 10~50°C의 범위에서 실험하였다. 분리한 균주의 최대 biphenyl 분해농도를 알아보기 위해서 농도별(50, 200, 350, 500  $\mu$ g/ml)로 biphenyl이 포함된 mineral salt 배지 10 ml이 들어있는 50 ml 삼각플라스크에 2%의 균주를 접종하여 실험하였다.

### Biphenyl 분해활성유도

Biphenyl 분해 효소의 유도를 위한 최적 탄소원 탐색하기 위하여 glucose, galactose, sucrose, fructose, lactose, starch, dextrin과 같은 탄소원을 mineral salt media에 2%(w/v) 넣어서 48 hr동안 30°C에서 배양하였다. 선택된 탄소원과 biphenyl에서 증배양한 cell을 대상으로 biphenyl이 100  $\mu$ g/ml이 포함된 최소배지에서 biphenyl 분해효소 유도실험을 하였다.

### 분석 방법

Biphenyl의 정량적 분석을 위하여 수확한 시료 10ml 을 petroleum ether를 사용하여 추출 · 농축하여 GC-FID를 사용하여 분석하였다. Column은 ultra 2.5% phenyl methyl siloxane capillary(25 m  $\times$  0.33 mm NOMINAL)을 사용하였으며, 분석조건으로는 column 온도는 60°C에서 10°C/min로 증가하여 100°C에서 5분간 이후 7°C/min로 증가하여 200°C에서 4분간 분석하였으며, injector, detector의 온도는 각각 280°C, 250°C이고, 운반기체는  $H_2$ 를 사용하였다. 이때 biphenyl의 Retention time(RT)는 23.29 min에서 조사되었다.

결과 및 고찰

Biphenyl 분해미생물의 분리 및 동정

경북 D시에서 채취한 시료로부터 biphenyl을 유일한 탄소원 및 에너지원으로 이용하여 증식이 가능한 균주를 screening하였다. 그 결과, 고체배지상에서 10여종의 biphenyl 분해균주로 생각되는 균주를 분리하였으나, 분리된 균주 중 액체배지상에서 biphenyl분해능이 우수한 BK10 strain을 최종적으로 biphenyl 분해균주로 선발하게 되었다(data not shown).

선발된 BK10 strain의 16S rDNA 부분 염기서열을 분석하여 얻어진 450 bp의 염기서열을 NCBI의 GenBank에 등록된 nucleotide data base와 비교하여 본 결과 *Sphingobium yanoikuyae* GIFU 9882의 동일 영역 염기서열과 99%의 유사도를 나타내었다. 이와 같은 결과를 토대로 상기에서 조사한 생리 생화학적 결과 및 분자분류학적 결과를 종합하여 BK10 strain를 *Sphingobium yanoikuyae*로 동정할 수 있었다.

*Sphingobium yanoikuyae* BK10에 의한 최적의 biphenyl 분해조건

*S. yanoikuyae* BK10에 의한 최적의 biphenyl 분해 pH와 온도를 조사한 결과, Fig. 1은 각각의 다른 초기 pH조건에서 biphenyl에 대한 분해율을 나타낸 것이다. 그 결과 pH 5.0~9.0사이에서는 모두 biphenyl의 분해가 일어났으나, pH 5.0과 pH 8.0사이에서는 99% 이상의 높은 분해율을 보여주고 있으며, 상대적으로 pH 9.0에서는 82.84%로 분해율이 낮게 나타났다. Fig. 2는 biphenyl분해 균주의 biphenyl 분해 및 균주의 생육에 대한 온도의 영향을 조사한 결과이다. 그 결과, 10°C~50°C에서 모두 biphenyl의 분해가 일어났으나, 생육온도 20~50°C 사이에서는 99.5%이상 biphenyl이 분해되었으나 상대적으로 10°C에서는 71.98%로 낮게 나타났다.

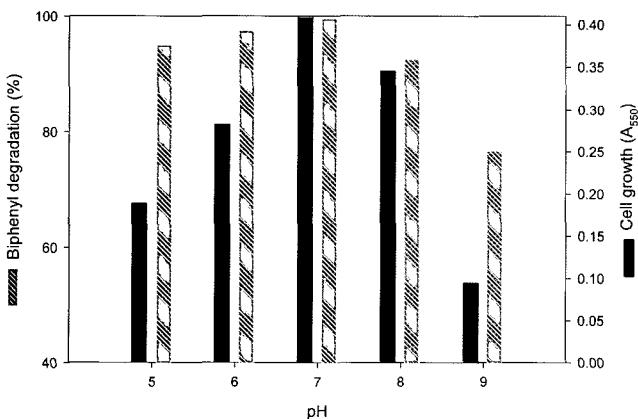
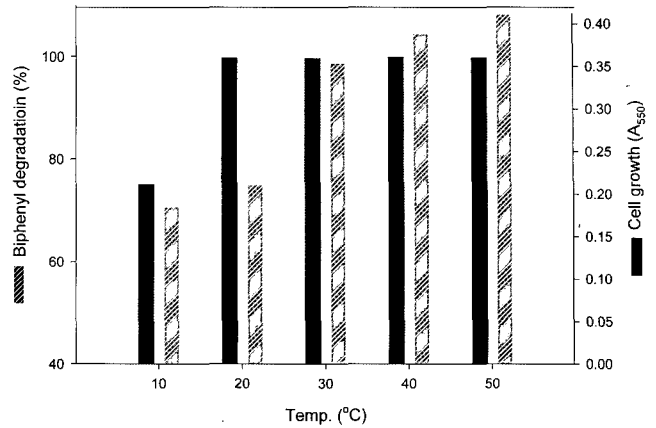


Fig. 1. Effect of initial pH on biphenyl degradation and cell growth by *Sphingobium yanoikuyae* BK10 in mineral salt media containing 500 µg/ml of biphenyl as a sole carbon source.



Temp.(°C)	10	20	30	40	50
Cell Growth (A <sub>550</sub> )	0.187	0.212	0.356	0.38	0.42
Conc. of Biphenyl Degradation (µg/ml)	359.9	497.5	497.5	499.55	498
Biphenyl degradation rate (%)	71.98	99.5	99.5	99.51	99.6

Fig. 2. Effect of temperature on biphenyl degradation and cell growth by *Sphingobium yanoikuyae* BK10 in mineral salt media containing 500 µg/ml of biphenyl as a sole carbon source.

또한 고온인 40, 50°C에서의 cell-growth가 다른 온도에서 보다 높은 것으로 보아 고온에서 생장속도가 더욱 빨라진 것을 알 수 있다. *S. yanoikuyae* BK10을 각기 다른 농도의 biphenyl이 포함된 mineral salt배지에 접종한 후, biphenyl의 분해능을 비교하였다. 그 결과, Table 1에서 보여주듯이 *S. yanoikuyae* BK10는 50, 200, 350, 500 µg/ml에서 모두 99%이상의 높은 분해능을 보여 주었으며, cell-growth를 비교해 보면, 탄소원으로 첨가된 biphenyl의 농도가 높아질수록 cell-growth도 좋아지는 것으로 보아 *S. yanoikuyae* BK10는 biphenyl을 탄소원 및 에너지원으로 이용한다고 사료된다.

이상의 결과를 토대로, *S. yanoikuyae* BK10는 넓은 범위에서의 pH, 배양온도, 그리고 biphenyl농도에 대한 영향을 받지 않고 안정적으로 biphenyl 분해활성을 나타낸다는 결론을 얻을 수 있었다.

*S. yanoikuyae* BK10에 의한 Biphenyl의 경시적 분해양상

*S. yanoikuyae* BK10을 biphenyl이 포함된 mineral salt 배지에서 배양하면서 12시간 간격으로 분해 양상을 조사한

Table 1. Effect of biphenyl concentration on cell growth and biphenyl degradation by *Sphingobium yanoikuyae* BK10.

Strain	Biphenyl conc. (µg/ml)	Cell-growth (A <sub>550</sub> )	Biphenyl degradation (%)
<i>S. yanoikuyae</i> BK10	50	0.084	99.3
	200	0.132	99.2
	350	0.274	99.1
	500	0.421	99.3

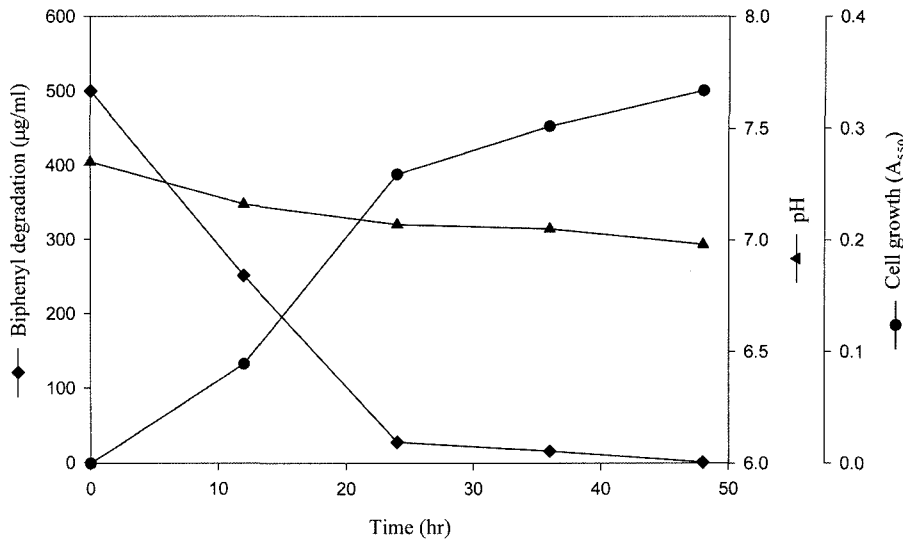


Fig. 3. Time course of cell growth and biphenyl degradation by *Sphingobium yanoikuyae* BK10 at pH 7.2 and 30°C.

결과는 Fig. 3과 같았다. Biphenyl은 배양시간이 지남에 따라 급속하게 줄어들어 24시간이 경과하면서 90%이상의 분해효율을 보였으며 48시간 경과 후에는 99%이상의 높은 분해효율을 나타내었다. 이 결과는 이미 biphenyl 분해균주로 보고되어진 *Pseudomonas* sp.[9], *Alcaligenes xylosoxydans* [12], *Commamonas acidovorans*[15]는 각각 5.05 µg/ml/hour, 13.12 µg/ml/hour, 5 µg/ml/hour의 분해율 보다 우수한 분해활성을 갖는 것으로 조사되었다.

또한, GC/MS를 통해 biphenyl의 대사산물을 조사한 결과, 기존에 알려진 대사산물은 관찰할 수 없었지만, *S. yanoikuyae* BK10가 증식하면서, colony 주변을 비롯한 배지가 노랑색으로 변하는 것으로 보아, biphenyl을 탄소원으로 이용하면서 분해과정을 통해 meta-cleavage compound[4, 18]인 2-hydro-6-oxo-6-phenylhexa-2.4-dienoate를 거쳐 mineralization 된다고 생각된다.

**Biphenyl 분해효소의 유도**

Biphenyl 분해활성의 유도를 조사하기 위하여 다른 기질로서 사용할 carbon source를 탐색한 결과, sucrose로 나타났으며(data not shown), sucrose 및 biphenyl에서 증식한 균체를 이용해 biphenyl 분해실험을 한 결과 Fig. 4와 같이 나타났었다. 실험 결과 sucrose에서 증식한 균체에 비해 biphenyl에서 증식한 균체가 보다 빨리 biphenyl을 분해하였으며, 시간이 지날수록 sucrose에서 증식한 균체가 처음 보다 빠른 속도로 biphenyl을 분해하는 것을 관찰 할 수 있었다. 이 결과는 biphenyl을 분해하기 위하여 bph A, B 및 C gene에서 분비하는 enzyme을 biphenyl에서 증식한 균체가 sucrose에서 증식한 균체보다 빨리 분비하는 것으로 나타났었다. Biphenyl 분해속도를 구한 결과, sucrose에서 증식한 균체는 4.46 µg/ml/hour이었고, biphenyl에서 증식한 균체는

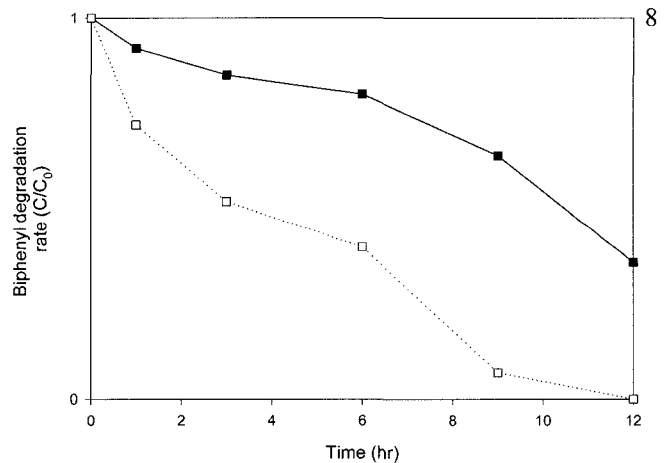


Fig. 4. Compared with degradation rate of biphenyl by *Sphingobium yanoikuyae* BK10 grown on sucrose (□) and biphenyl (■) as a sole carbon source (Carbon concentration in the mineral salt medium: 2% sucrose, 300 µg/ml of biphenyl).

.16 µg/ml/hour로 측정되었다.

따라서, biphenyl이 아닌 cell-mass를 많이 얻을 수 있는 탄소원에서 배양을 했을 때에도 단시간에 biphenyl을 분해하는 enzyme을 분비한다는 것을 알 수 있었다. 이는 bph gene이 발현되어지는데 있어 탄소원으로 이용되는 물질이 biphenyl/PCBs 뿐 아니라 이용되는 당에 의해서도 영향을 받는 것으로 생각되며, 균주를 대량배양하는데 있어 경제적으로 용이할 것으로 판단된다.

**요 약**

PCBs(polychlorinated biphenyl)는 난분해성 물질로써, 환경호르몬으로 분류된 유독한 화합물이다. 이런 유독한 화

합물인 PCBs 화합물이 오염된 토양 및 수계를 회복하기 위해 PCBs의 모체인 biphenyl을 효과적으로 분해하는 미생물을 토양으로부터 분리 선별하여 *S. yanoikuyae* BK10 (AF406817)와 같이 분해능이 우수한 균주를 분리하였다. 분리된 *S. yanoikuyae* BK10의 특성을 조사하기 위하여, 자연계의 토양 조건인 pH 5.0~8.0에서 99%이상의 높은 biphenyl 분해효율을 보였다. 또한, 온도를 달리하여 실험 한 결과, 10~50°C의 범위에서 모두 70% 이상의 높은 분해효율을 보여줌으로써 실제 biphenyl/PCBs로 오염된 토양에서 온도의 영향을 덜 받고 biphenyl을 효과적으로 분해 할 수 있을 것으로 생각된다.

*S. yanoikuyae* BK10는 biphenyl이 500 µg/ml로 처리된 mineral salt 배지에서 48시간동안 99% 이상의 biphenyl을 분해하는 높은 분해활성을 보이며, biphenyl을 mineralization 시키는 것으로 판단된다.

또한 biphenyl 분해효소 유도 실험결과는 기질을 biphenyl로 사용하여 증식한 균체가 다른 기질을 사용해서 증식한 균체보다 약 2배가량 biphenyl을 빨리 분해시켰다. 그렇지만, cell-mass를 많이 얻을 수 있는 당을 탄소원으로 사용하여 배양하였을 때에도 단시간 내에 biphenyl분해 효소를 분비하여 biphenyl을 분해하는 것으로 보아, *S. yanoikuyae* BK10는 실제 biphenyl/PCBs에 오염된 토양 적용 할 경우 안정적으로 균주의 제공이 가능하다고 판단된다. 이상의 결과를 토대로, 토양에서부터 분리한 *S. yanoikuyae* BK10는 자연계에서 유해화합물인 biphenyl/PCBs을 효과적으로 분해할 수 있다고 생각되며, 분리균주인 *S. yanoikuyae* BK10의 분자 생물학적 특성을 조사하여 biphenyl과 PCBs를 분해하는 유전자 탐색에 유용한 정보를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2004학년도 안동대학교 특별학술연구사업 지원에 의해 수행된 연구임.

## REFERENCES

- Eracksoñ, B. D. and F. J. Mondello. 1992. Nucleotide sequencing and transcriptional mapping of the genes encoding biphenyl dioxygenase, a multicomponent polychlorinated-biphenyl-degrading enzyme in *Pseudomonas strain LB400*. *J. Bacteriol.* **174**: 2903-2912.
- Furukawa, K. 1982. Micro degradation of polychlorinated biphenyl(PCBs), pp. 33-57. In A. M. Chakrabarty(ed), *Biodegradation and detoxification of environmental pollutants*. CRC Press Inc. Boca Raton, Fla.
- Furukawa, K. and T. Miyazaki. 1986. Cloning of a gene cluster encoding biphenyl and chlorobiphenyl degradation in *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. *J. Bacteriol.* **166**: 392-398.
- Fukawa, K., N. Tomizuka, and A. Kamibayashi. 1979. Effect of chlorine substitution the bacterial metabolism of various polychlorinated biphenyls. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**: 301-310.
- Fukawa, K., N. Hayase, K. Taira, and N. Tomizuka. 1989. Molecular relationship of chromosomal genes encoding biphenyl/polychlorinated biphenyls catabolism: Some soil bacteria possess a highly conserved *bph* operon. *J. Bacteriol.* **171**: 5467-5472.
- Hayase, N., K. Taira, and K. Furukawa. 1990. *Pseudomonas putida* KF715 *bph*ABCD operon encoding biphenyl and polychlorinated biphenyl degrader. Cloning analysis, and expression in soil bacteria. *J. Bacteriol.* **172**: 1160-1164.
- Kimbara, K., T. Hashimoto, M. Fuluda, T. Koana, M. Takagi, M. Oishi, and K. Yano. 1989. Cloning and sequencing of two tandem genes involved in degradation of 2,3-dihydroxybiphenyl to benzoic and in the polychlorinated biphenyl-degrading soil bacterium *Pseudomonas sp. KKS102*. *J. Bacteriol.* **171**: 2704-2747.
- Kim, E and G. J. Zylstra. 1995. Molecular and biochemical characterization of two meta-cleavage dioxygenase involved in biphenyl and m-xylene degradation by *Beijerinckia sp. strains B1*. *J. Bacteriol.* **177**: 3095-3103.
- Kim, J. H., S. K. Choi, and Y. H. Kim. 1996. Biodegradation of Polychlorinated Biphenyl (PCBs) within Insulating Oil by *Pseudomonas sp. P2*. *Kor. J. Env. Health. Soc.* **22**: 1-7.
- Kwon, J. K. 1999. Isolation and Characterization of *Sphingomonas sp. KMG425* degrading Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Ms.D. Thesis, Kyungpook National University.
- Lee, N., J. M. Lee, K. H. Min, and D. Y. Kwon. 2003. Purification and Characterization of 2,3-Dihydroxybiphenyl 1,2-Dioxygenase from *Comamonas sp. SMN4*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **13**: 487-494.
- Lee, N. R., H. Y. On, M. S. Jeong, C. K. Kim, Y. K. Park, J. O. Ka, and K. H. Min. 1997. Characterization of Biphenyl Biodegradation, and Regulation of Biphenyl Catabolism in *Alcaligenes xylosoxydans*. *J. Microbiol.* **35**: 141-148.
- Masai, E., A. Yamada, J. M. Healy, T. Hatta, K. Kimbara, M. Fukuda, and K. Yano. 1995. Characterization of biphenyl catabolic genes of Gram-positive polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus sp. strain RHA 1*. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 2079-2085.
- Monello, F. J. 1989. Cloning and express in *Escherichia coli* of *Pseudomonas strain LB400* genes encoding polychlorinated biphenyl degradation. *J. Bacteriol.* **171**: 1725-1732.
- Oh, H. Y., N. R. Lee, Y. C. Kim, C. K. Kim, Y. S. Kim, Y. K. Park, J. O. Ka, K. S. Lee, and K. H. Min. 1998. Extradiol Cleavage of Two-ring Structures of Biphenyl and Indole Oxidation by Biphenyl Dioxygenase in *Comamonas Acidovorans*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **8**: 264-269.
- Sittg, M. 1985. Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens. 2nd ed. Noyes Publications, Park Ridge, NJ.

17. U.S. Department of Health and Human Service. 1993. Hazardous Substance Data Bank (HSDB, online database): National Toxicology Information Program, Nation Library of Medicine, Bethesda, MD.)
18. Wanger-Döbler I., A. Bennasar, M. Vancanneyt, C. Strömpl, I. Brümmer, C. Eichner, I. Grammel, And E. R. B. Moore. 1998. Microcosm Enrichment of Biphenyl-Degrading Microbial Communities from Soils and Sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 3014-3022.
19. Yoon, J. H., S. B. Kim, H. J. Kim, W. Y. Kim, S. T. Lee, M. Goodfellow, and Y. H. Park. 1996. Identification of *Saccharomonospora* strains by the use of genomic DNA fragments rRNA gene probes. *Int. J. Syst Bacteriol.* **46**: 502-505.
20. Yoon, J. H., S. T. Lee, and Y. H. Park. 1998. Inter- and intraspecific phylogenetic analysis of the genus *Nocardioides* and related taxa based on 16S rDNA sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **48**: 187-194.
21. Yoon, J. H., S. T. Lee, S. B. Kim, W. Y. Kim, M. Goodfellow, and Y. H. Park. 1997. Restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S ribosomal DNA for rapid identification of *Saccharomonospora* strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47**: 111-114.

(Received Apr. 11, 2006/Accepted June 13, 2006)