



分解代谢物阻遏

张克旭

(天津轻工业学院, 天津)

一、什么是分解代谢物阻遏

在基质中如果同时存在有多种分解代谢物时, 某些酶的合成往往被容易分解利用的碳源(如葡萄糖)所阻遏。例如, 将大肠杆菌培养在含葡萄糖和乳糖的培养基上, 葡萄糖被优先利用, 同时葡萄糖阻遏 β -半乳糖苷酶的诱导合成。这种阻遏效应最早在1942年被莫诺(Monod)在大肠杆菌中发现, 称为葡萄糖效应。其后, 在不同微生物和不同的基质也发现类似情况, 1961年, Magasanik^[1]将此现象称为分解代谢物阻遏。即当细胞具有一优先利用的底物(通常是, 但并不总是葡萄糖)时, 很多其它分解反应途径受到阻遏。值得注意的是, 分解代谢物阻遏并不仅限于碳源, 能被优先利用的氮源, 如铵离子或谷氨酰胺亦阻遏降解其它含氮代谢物的酶系。这种阻遏机制对微生物是很有利的, 只要有一个容易同化的底物存在, 细胞就不必耗费能量去合成效率较低的途径的酶系, 而使其代谢作用能更多地用于产生生长所必需的组份。

受分解代谢物阻遏的一些酶系和具有分解阻遏作用的微生物已被大量发现和证实^[2]。

二、分解代谢物阻遏的实质

分解代谢物阻遏的实质是由于细胞内缺少了环腺苷酸(cAMP)^[3]。

在葡萄糖上生长的大肠杆菌, 细胞内cAMP的量很少, β -半乳糖苷酶的合成也很少, 如果加入了cAMP, β -半乳糖苷酶的合成速度就大大增加。把经过异丙基- β -硫代半乳糖苷(IPTG)诱导的大肠杆菌培养在含葡萄糖的培养基上, 形成的乳糖操纵子mRNA的量极少, 接近于未经诱导的水平; 但是, 如果加入cAMP, 则mRNA的量大为增加, 几乎达到在不含有葡萄糖的培养基上经IPTG诱导的水平。这个实验不仅

说明了cAMP的作用, 外加cAMP可解除分解代谢物阻遏, 阐明分解代谢物阻遏的实质是由于细胞内缺少了cAMP; 而且证实了解分解代谢物阻遏作用是发生在转录水平上, cAMP在乳糖操纵子中的作用, 是调节mRNA的生成, 属转录水平的调节。

三、cAMP是怎样控制酶水平的?

那么, 分解代谢物阻遏是怎样在分子水平上起调节作用的? 换言之, cAMP是怎样控制酶水平的呢? 在回答这个问题时, 应该指出在不同微生物、不同酶系中具有许多不同的机制。在此, 我们仅就大肠杆菌降解其它碳源的酶系受葡萄糖阻遏的例子, 作一介绍。

1. 大肠杆菌的分解阻遏作用(图1)^[2]:

(1) 具有一个CRP基因编码一种调节蛋白, 称为cAMP受体蛋白(简写作CRP或CAP), 这个调节蛋白可与许多操纵子转录起动的专一部位结合。实验证明, 从大肠杆菌野生型菌株中抽提出来的这种蛋白质可以刺激mRNA的形成。经纯化, 确认CRP是由分子量为22,300的两个亚基所组成。若CRP基因失活的突变

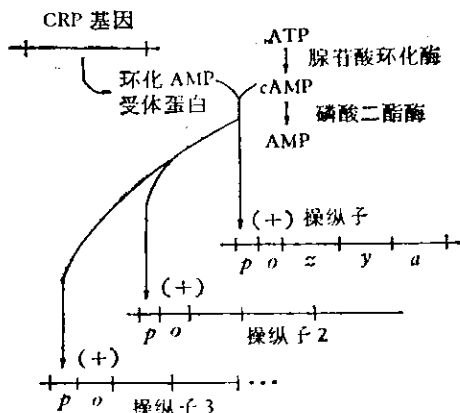


图1 大肠杆菌的分解阻遏作用

株,就不能诱导任何分解阻遏系统的合成,因而只能在易被利用的碳源,如葡萄糖中生长。

(2) 转录起动前, cAMP 须先与 CRP 结合成 CRP-cAMP 复合物,再与启动基因(p)结合。

(3) cAMP 与 CRP 结合,使转录起动(注意 CRP 起正的作用),因而解除分解阻遏。cAMP 和 CRP 必须加入到体外蛋白质合成系统中才能获得最大的活力。

(4) 细胞内的 cAMP 水平在某些方面反映出细胞内能量的状态,这可能是由于



反应中, cAMP 水平与腺苷酸环化酶和磷酸二酯酶的相对活力有关。

(5) 丧失腺苷酸环化酶的突变株,不能在受阻遏的碳源(如甘油、乳糖、蔗糖)上生长,但与 CRP 缺陷的突变株不同,外加入 cAMP 还是有效的。

2. cAMP 在乳糖操纵子转录中的作用(图 2)^[3]:

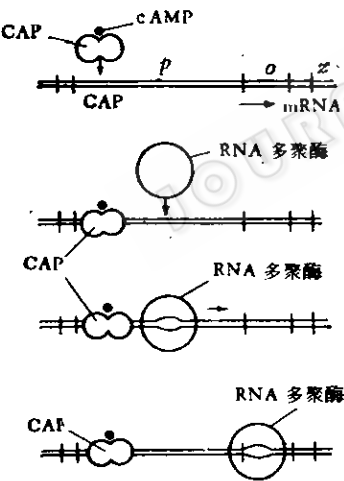


图 2 cAMP 在乳糖操纵子转录中的作用

(1) 乳糖操纵子的启动基因(p)包含两个位点:与 CRP 结合的位点(称 CRP 位点)以及和 RNA 多聚酶结合的位点。

(2) 转录开始时, cAMP 先与 CRP 结合成 CRP-cAMP 复合物。

(3) CRP-cAMP 复合物与乳糖操纵子上启

动基因 P 的 CRP 位点结合,从而活化了 RNA 多聚酶位点,促进了 RNA 多聚酶和 RNA 多聚酶结合位点的结合。

(4) RNA 多聚酶进入 RNA 多聚酶位点,向前漂移。

(5) RNA 多聚酶进入操纵基因 O 位点内的转录开始位点。

(6) cAMP 在乳糖操纵子转录中的作用,是当 CRP-cAMP 复合物与 DNA 结合时促进转录,这种控制方式称为正控制。

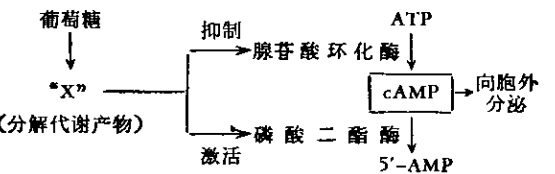
四、葡萄糖是如何调节 cAMP 水平的^[3,4]?

在大肠杆菌中, cAMP 的胞内水平是由三种不同的过程决定的: cAMP 是通过腺苷酸环化酶催化从 ATP 合成的; cAMP 可为 cAMP 磷酸二酯酶所降解; cAMP 透过细胞膜分泌到外部介质里。

至于为什么在葡萄糖上生长的大肠杆菌,会使细胞内 cAMP 的浓度降低呢? 也就是说,葡萄糖是如何调节 cAMP 水平的呢?

(1) 可能是由于葡萄糖分解过程中的某种中间产物抑制了细胞内 cAMP 的形成;

(2) 可能是这种中间产物激活了 cAMP 的分解。



这两种情况都足以使 cAMP 的水平降低,但这个中间产物究竟是什么还不清楚,有待于进一步研究。

五、分解代谢物阻遏机制在工业发酵上的应用

1. 抗生素发酵^[5]: 近年来,在许多抗生素发酵中都发现了抗生素的积累受分解代谢物阻遏的现象。葡萄糖的分解产物能抑制青霉素、头孢霉素 C、赤霉素、土霉素、自力霉素、新霉素、盐霉素、放线菌素 D、紫色杆菌素、丝裂霉素、杆菌肽以及所有芽孢杆菌形成的多肽抗生素等很多抗生素的合成。一般认为,这是由于葡萄糖分解产物的积累阻遏了次级代谢物的合

成酶,从而抑制了抗生素的产生。在青霉素发酵中,发现能迅速利用的葡萄糖并不适于青霉素的合成,而缓慢利用的乳糖却有利于提高青霉素的产量。乳糖并不是合成青霉素的特异前体,它的价值在于缓慢利用。目前青霉素发酵已采用定时流加限量的葡萄糖液或糖蜜,代替价格较高的乳糖。由于限制了葡萄糖的浓度,就使分解代谢产物的浓度维持在较低的水平上,不会产生分解阻遏作用。此外,在很多抗生素生产中都在设法解除分解代谢物阻遏,如使用混合碳源、定时流加限量葡萄糖液或定时流加限量麦芽糖液、液化淀粉等,以增加抗生素的产量。

2. 增加酶制剂的产量: 酶合成和调节机制的研究成果,可用于增加酶制剂的产量。酶的生成受终产物和分解代谢产物的阻遏。因此,培养基的成分,对受阻遏的酶的生成是非常重要的。为了提高酶的产量,应当避免采用含有大量可迅速利用的碳源(如葡萄糖等)的培养基或丰富的合成培养基。

利用被阻遏的酶的底物,作为唯一碳源或氮源,可以筛选出不受分解代谢物阻遏的突变株。例如,产气气杆菌的组氨酸酶受葡萄糖的阻遏。如果连续地将产气气杆菌的菌株,转移到含葡萄糖和组氨酸(没有其它氮源)的培养基

内,可以筛选出不受葡萄糖阻遏的产组氨酸酶的突变株,其组氨酸酶产量大大增加。

利用鉴别性培养基,可选出抗分解代谢物阻遏的突变株。例如,在含有葡萄糖和乳糖或其它诱导物的培养基上的菌落表面,喷上磷硝基- β -D-半乳糖苷(ONPG),组成型呈黄色,诱导型呈白色,选出呈黄色的菌落,即为抗分解阻遏的突变株^[6]。

此外,也可通过选育链霉素依赖型来寻找不受分解代谢物阻遏的突变株。据报道,曾发现大肠杆菌的链霉素依赖型菌株中的许多酶都不受葡萄糖的分解阻遏^[7],其原因可能是在这些细菌中葡萄糖的利用率大为降低。

参 考 文 献

- [1] Magasank, B.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 26:249, 1961.
- [2] I. W. 道斯, L. W. 萨瑟兰著,中国科学院上海植物所微生物室译:《微生物生理学》, 165—179, 科学出版社, 1980.
- [3] 沈仁权等编:《基础生物化学》, 425—426, 上海科学技术出版社, 1980.
- [4] 乔治·科恩著, 吴明译:《微生物与分子生物学》, 科学出版社, 北京, 1980, 167—175.
- [5] 周家惠: 微生物学报, 15(3): 246—258, 1975.
- [6] 盛祖嘉:《微生物育种学术讨论会文集》(国外资料评述), 科学出版社, 北京, 1974, 1—23.
- [7] Coukell, M.B. and Polglase, W. J.: Biochem. J., 111: 229, 1969.