

cAMP 与微生物代谢调节

虞和慈

(上海第三制药厂抗生素研究所)

在微生物代谢过程中,存在着—类含量极微,但与代谢调节密切有关的小分子化合物,既环核苷酸类化合物。其中,研究最早、最广泛的就是 cAMP。十多年来的研究表明^[1-3], cAMP 对于从分子水平上探索微生物细胞中基因表达的调节及一系列生理生化过程方面起了重要的作用。

cAMP 与分解物阻遏

在微生物的分解代谢中,普遍存在称为“分解物阻遏”的现象,即葡萄糖或其它易被迅速利用的碳源可阻遏某些为诱导酶编码的基因的转录。而 cAMP 可解除分解物阻遏。cAMP 水平升高,可作为细胞能量缺乏的信号,表示可优先利用的碳源已耗尽,其它碳源分解酶之合成解除阻遏,从而开始利用其它碳源以提供生长。这种 cAMP 的调节机制,使细胞处在很“经济”的方式下生长,以有利于在自然界中生存。

目前所知,在许多种细菌中,诱导酶的合成需要 cAMP,受 cAMP 控制的基因如乳糖操纵子、半乳糖操纵子、阿拉伯糖操纵子以及果糖酶、色氨酸酶等的合成^[1]。因此,利用 cAMP 调节机制来提高某些酶的合成,是值得进一步研究的。在大肠杆菌发酵过程中,葡萄糖阻遏青霉素酰化酶的合成,但加入 cAMP 可完全克服葡萄糖的阻遏作用^[4]。进一步的实验证实,cAMP 的作用在于控制为青霉素酰化酶编码的 DNA-mRNA 转录这一步。

次级代谢与 cAMP

在微生物的次级代谢中,可被迅速利用的碳源阻遏有关酶合成的现象也普遍存在^[5,6]。例如青霉素产生菌 *Penicillium chrysogenum* 中,葡萄糖分解产物的积累阻遏了青霉素合成酶,从而抑制青霉素的产生。*Streptomyces antibioticus* 生物合成放线菌素的最适培养基中含 0.1% 葡萄糖与 1.0% 乳糖,放线菌素生物合成要到葡萄糖耗尽才开始,这是由于葡萄糖阻遏了合成放线菌素的关键酶——吩噻嗪合成酶。在噻吩霉素

生物合成中的最后一个酶——氧去甲基噻吩霉素甲基转移酶也受葡萄糖分解物阻遏。最近,Behmer 等^[6]进一步研究了 *Cephalosporium acremonium* 生物合成 β -内酰胺抗生素中分解物阻遏调节,指出高浓度葡萄糖严重干扰生物合成头孢菌素 C。

总之,许多次级代谢物的生物合成可因存在易代谢的营养物而受到抑制。但是,次级代谢中分解物阻遏的机理是否也与 cAMP 的水平有关,关于这一点,目前尚无定论。研究发现,在 *P. chrysogenum* 中, cAMP 的加入并不能逆转葡萄糖对青霉素生物合成的阻遏。但也有报道^[7],在卡那霉素产生菌中,某些碳源(如葡萄糖、果糖等)可阻遏 N-乙酰基卡那霉素酰胺酶。而加入 cAMP 则可解除阻遏,但以后未见进一步报道。1978 年, Ragen^[8]报道链霉素产生菌 *Streptomyces griseus* 的胞内 cAMP 水平变化与链霉素产生的关系,企图确证次级代谢物生物合成的控制机制与细菌中诱导酶合成的控制是相似的。实验结果发现 *S. griseus* 的细胞中确实存在 cAMP,胞内 cAMP 水平的变化是:在快速生长期,每克干细胞含 7—9nM 的 cAMP;进入静止期时,即链霉素生物合成之前, cAMP 迅速下降,仅为快速生长期的 10%。cAMP 从高峰下降与链霉素开始合成之间迟滞了 5.5 小时。在大肠杆菌中, β -半乳糖苷酶在 cAMP 达到高峰后 3 分钟即开始出现。因此作者认为, cAMP 水平与链霉素生物合成之间似无明显联系。这里可能涉及磷酸盐调节问题,因为磷酸盐在抗生素生物合成中起重要作用,可能是抗生素分泌的“开关”,因此,进入静止期后, cAMP 水平的下降可能与磷酸盐耗尽有关。

Gersch 等报道大环内酯类抗生素 Turimycin 产生菌 *Streptomyces hygroscopicus* 中存在 cAMP 及 cAMP 的受体蛋白 CRP,还研究了 cAMP 对生长及 Turimycin 生物合成的调节作用,以及次级代谢中无机磷抑制与 cAMP 的关系等问题。在 *S. hygroscopicus* 的发酵过程中,菌丝中的 cAMP 水平与其生长及生物合成密切相关。在高产的变异株中,菌丝生长期出现高水平的胞内 cAMP,而当进入分泌期后, cAMP 水

平迅速下降;此时如果加入外源 cAMP,使胞内 cAMP 仍维持在高水平,则菌丝继续生长^[9-11]。有趣的是,即使在接种后 24 小时,生长早已停止时,加入 cAMP,仍可引起蛋白质、核酸的合成,但 Turimycin 生物合成却明显下降。另一方面,如果加入腺苷环化酶的效应物——氟化钠,同样也能刺激菌丝的生长。这一结果说明确实是 cAMP 本身在初级代谢与次级代谢中起着调节作用。实验又发现,在低产的野生型菌株中,发酵过程中 cAMP 维持在某一水平,基本保持不变。这一点进一步说明了 cAMP 的调节作用。

许多次级代谢物的生物合成受一定水平无机磷的抑制,而该水平对细胞的生长却有利^[12],因此磷抑制是初级代谢与次级代谢相互关系的一个很好模型。但对磷抑制的机制了解很少。接种 *S. hygroscopicus* 时加入无机磷,在野生株及高产株中均引起 Turimycin 的分泌下降,但伴有菌丝干重及呼吸的增加。在高产株中,随着无机磷的加入,胞内 cAMP 水平迅速上升,然后下降。无机磷对 Turimycin 生物合成的抑制,可通过加入外源 cAMP 而逆转或部分逆转。由此说明 cAMP 参与次级代谢的调节及无机磷抑制的调节。Martin 等^[13]在研究 *S. griseus* 生物合成 Candidicin 中,发现加入 cAMP 后,无机磷抑制现象更为严重,因此,他们认为不是 cAMP 本身,而是其分子中的磷酸在起作用。

最近 Gersch 又报道了 Turimycin 生物合成时基质与 cAMP 的关系^[14]。Turimycin 具有大环内酯的结构,低级脂肪酸是其内酯及 Mycarose 部分的酰基的前体,但是在发酵中加入如乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐等低级脂肪酸盐将引起生物合成 Turimycin 下降,且与加入量成线性关系。在高产株及野生株中都出现这样的情况,但是,如果加入相应的醇如乙醇、丙醇等,则可刺激生物合成。进一步研究产生菌胞内外 cAMP 水平的变化,发现加入脂肪酸盐引起胞内、胞外 cAMP 水平明显上升。而加入醇,并无这样的结果。推测这是由于低级脂肪酸盐与低级脂肪醇基质所带的电荷不同,前者带负电荷、后者不带电,对细胞膜来说,对于基质的运载机制也就不一样。运载阴离子基质,促进膜上腺苷环化酶的活力,从而使 cAMP 水平上升。另一个有趣的现象是,在发酵中加入磷酸二酯酶活化剂咪唑可部分克服丙酸钠对 Turimycin 生物合成的抑制作用,这是由于磷酸二酯酶使 cAMP 降解,从而降低了 cAMP 的水平。这一点也证实了基质利用与 cAMP 之间的关系。

cAMP 对细胞生长分化及其它方面的调节

微生物细胞的生长、分化、形态特征及其它一些生理生化过程也受到 cAMP 的调节。

某些细菌的鞭毛产生与否和胞内 cAMP 的存在有关。研究发现^[14],鞭毛的结构蛋白质——鞭毛蛋白及基础颗粒蛋白质的合成需要 cAMP,如果没有 cAMP-CRP 复合物,则 mRNA 就不能开始合成。当葡萄糖大量存在时,就不产生鞭毛。待葡萄糖耗尽,胞内 cAMP 量增加,鞭毛开始形成,从而有利于细胞寻找新的能源。这一现象说明产生鞭毛的基因组也对分解物阻遏敏感而受 cAMP 调节。

cAMP 对 *E. coli* 的生长有明显影响,例如,在好氧条件下,生长于葡萄糖中的 *E. coli* 的氧化磷酸化活力受抑。*E. coli* K-12 的需 cAMP 变株,生长在葡萄糖中时,细胞色素 b_1 、细胞色素氧化酶 o 均下降,如果加入 cAMP,则显著上升,且生长也恢复到正常水平。在厌氧条件下, cAMP 可刺激菌的生长。

某些菌对噬菌体的敏感性也与 cAMP 有关^[14]。实验发现,*E. coli* K-12 的 *cya* 或 *crp* 变株,比野生株对于噬菌体 T6 的感染有更大的抗性,这是由于 cAMP 影响细菌的外膜、内膜的结构。噬菌体对宿主细胞的感染,必须通过宿主细胞膜上特异的受体蛋白吸附噬菌体,而 T6 噬菌体受体蛋白的合成所需的 mRNA 转录必须有 cAMP-CRP 复合物存在, *cya* 或 *crp* 变株正是由于缺失 cAMP-CRP 复合物,使特异的受体蛋白缺失或改变,因此不易感染噬菌体。

某些细菌对抗生素的敏感性与 cAMP 的水平也有关。例如,生长于氯化钠-甘油培养基中的 *E. coli* 当加入 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 链霉素时,经短时间迟滞后,即失去生存,但当存在葡萄糖时,则可阻遏杀菌。而加入 cAMP 又可使葡萄糖的阻遏逆转。因此, cAMP 可提高 *E. coli* 对链霉素的敏感性。

在 *Streptomyces hygroscopicus* 中, *E. coli* 对生长与分化存在明显的调节作用。Gersch 研究了 *S. hygroscopicus* 的孢子发芽、生长过程中 cAMP 的变化^[15]。在休眠孢子中, cAMP 含量极低,约为 $2 \times 10^{-12} \text{M}$ 。孢子发芽的早期, cAMP 迅速上升,在芽管长出时达最高水平,为了搞清 cAMP 在发芽过程中的调节作用,在发芽过程的不同时间加入外源 cAMP,结果发现,在孢子接种时加入 cAMP,引起芽管出现速度降低,其抑制程度随加入浓度增高而加重,在 5—10 mM cAMP 时,完全抑制孢子发芽。当芽管一经出现,加入 cAMP 则可明显地刺激芽管进一步生长。孢子发芽与生长时对 cAMP 的不同敏感度,可认为 cAMP 是一“生化调节剂”或是作为“第一信使”对发芽及生长起双重调节作用的结果。

在真菌中, cAMP 对生长与分化也起着重要的调节作用。*Saccharomyces cerevisiae* 的产孢子能力受葡萄糖阻遏的现象可被 cAMP 逆转。在 *Coprinum macrorhizus* 中, cAMP 与子实体的形成有关,在形成子实体的菌丝中,含腺苷环化酶、磷酸二酯酶,而不形

成子实体的菌丝中缺少这些酶。在葡萄糖丰富时,阻止 cAMP 水平上升,从而阻止了子实体的形成。

参 考 文 献

- [1] Pastan, I. and S. Adhya: *Bacteriol. Rev.*, 40(3): 527—551, 1976.
- [2] Botsford, J. L.: *Microbiol. Rev.*, 45(4): 620—642, 1981.
- [3] Pall, M. L.: *Microbiol. Rev.*, 45(3): 462—480, 1981.
- [4] Gang, D. M.: *Biochem. Biophys. Acta*, 425(1): 110—115, 1976.
- [5] Demain, A. L. and W. S. Hu: *Proc. Biochem.*, 14(9): 2—6, 1979.
- [6] Behmer, C. J. and A. L. Demain: *Current Microbiol.*, 8(2): 107—114, 1983.
- [7] Satoh, A. et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 40(1): 191—196, 1976.
- [8] Ragan, C. M. et al.: *Can. J. Microbiol.*, 24(8): 1012—1015, 1978.
- [9] Gersch, D. et al.: *Proc. Biochem.*, 15(3): 21—25, 1980.
- [10] Gersch, D. et al.: *Current Microbiol.*, 4(5): 271—275, 1980.
- [11] Gersch, D. et al.: *FEMS Lett.*, 14(4): 251—255, 1982.
- [12] Demain, A. L. and J. F. Martin: *Microbiol. Rev.*, 44(2): 230—251, 1980.
- [13] Demain, A. L. and J. F. Martin: *Can. J. Microbiol.*, 23(10): 1334—1339, 1977.
- [14] 横田 健: 日本細菌學雜誌, 35(5): 673—689, 1980。