

# D-木糖操纵子

崔涛 陈波 刘咸安

(中国科学技术大学生物系,合肥)

不少微生物都能利用木糖。在肠道细菌中,至少有四个蛋白质参与木糖的代谢:木糖透性酶或木糖转运蛋白(xylose permease 或 xylose transport),木糖异构酶(xylose isomerase),木酮糖激酶(xylulokinase)和一个特定的调节蛋白<sup>[1]</sup>。在这些蛋白质作用下,木糖被转运进细胞后异构成木酮糖,再被转变成 5-磷酸木酮糖,最终进入戊糖磷酸途径或糖酵解循环(图 1)。

第二,人类为了利用自然界丰富的木糖资源,特别是木材加工和许多农作物的废料含大量木聚糖(xylan),曾期望将木聚糖经酸水解产生的木糖,通过微生物发酵生产乙醇。尽管有一些酵母菌株,如假丝酵母(*Candida*)<sup>[2]</sup>和另外一些丝状真菌,如毛霉(*Mucor*)和镰孢(*Fusarium*)<sup>[3]</sup>都能直接利用戊糖产生乙醇。可有时,发酵的最终产物不是乙醇,而是木糖醇或阿拉伯糖醇。当木糖被还原成木糖醇时,在无氧情况下则有 NADH 的大量积累,使细胞死亡。另外一些酵母菌株,象椭圆酿酒酵母(*S. cerevisiae*)和粟酒裂殖酵母(*S. pombe*)<sup>[4]</sup>具有耐受高浓度乙醇、发酵周期短、产率高的特点,但他们恰恰是木糖异构酶缺陷型。如果将外源木糖异构酶基因引入这类菌中,将木糖转化成木酮糖就可以避免木糖醇的途径,并发酵木酮糖生产乙醇,因此商业价值十分巨大。正因为木糖异构酶应用前景可观<sup>[5,6]</sup>,对 D-木糖操纵子的研究受到一定关注。

目前,人们研究得最多的是大肠杆菌的 D-木糖操纵子,其结构和调节机制已基本弄清<sup>[5,6]</sup>。对于沙门氏菌<sup>[7]</sup>、枯草杆菌<sup>[8]</sup>和链霉菌<sup>[9]</sup>的 D-木糖异构酶基因及有关的基因也已做了不少工作。

D-木糖操纵子在大肠杆菌等革兰氏阴性菌中由代谢抑制进行调节。操纵子由 D-木糖异构酶基因(xylA),D-木酮糖激酶基因(xylB),透性酶或转运蛋白基因(xylT)及有关的调节基因(xylR)构成,三个酶的活性都由 D-木糖诱导协同控制。编码这些酶的基因在大肠杆菌染色体上成簇排列。在野生型菌株中,D-木糖诱导后酶活性出现的先后顺序依次为异构酶、激酶、透性酶。D-木糖操纵子被葡萄糖抑制,

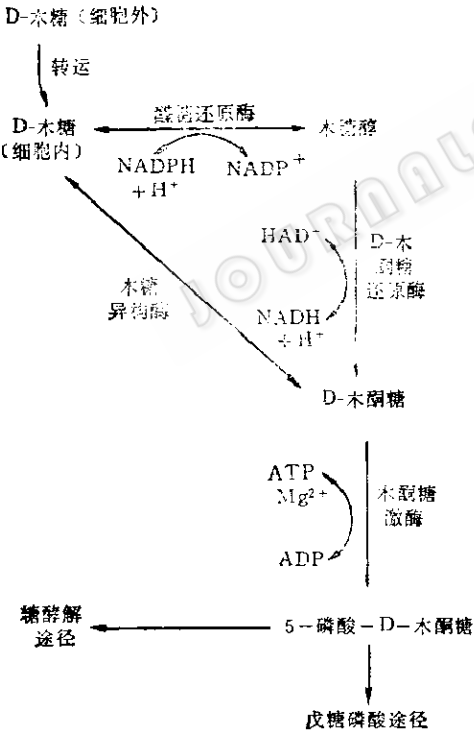


图 1 细菌 D-木糖代谢途径

D-木糖异构酶( EC 5.3.1.5)有二个重要的用途。第一,在体外该酶能催化 D-葡萄糖至 D-果糖的异构化反应,它是工业上大规模从淀粉制备高果糖浆的关键酶,称为葡萄糖异构酶。

但加入环化腺苷酸可解除葡萄糖的抑制。D-木糖操纵子在转录水平进行调节,其调节子(xylR)为一正调节子,在此位点的突变产生组成型的 xyl 表型。但研究表明除 xylR 外,xylA 也有部分的调节作用<sup>[10]</sup>。

D-木糖操纵子在大肠杆菌染色体上位于 80 分钟处,靠近 glyS (tRNA<sup>Gly</sup> 氨酰 tRNA 合成酶)位点,它已被进行了详细的分析<sup>[10]</sup>。xylA 基因和它下游的大约 3kb 的 DNA 序列已经测定,xylA 的结构基因有 1320 个核苷酸,编码 440 个氨基酸,其 N-末端的翻译起始密码子 ATG (甲酰甲硫氨酸)上游有一个核糖体结合位置即 S-D 序列<sup>[11]</sup>。除 xylA 外,其余三个可读框是 xylB, xylT 和 xylR,而 xylA 和 xylB 是不同的转录单位。在大肠杆菌中 D-木糖的转运由一套复杂的系统完成,至少有两个基因参加。位于 80 分钟处的 xylT 编码一个转运体系的结合蛋白质;而在 pgi (磷酸葡萄糖异构酶)和 malB (麦芽糖转运)之间 91.4 分钟位置,有一个编码与木糖-H<sup>+</sup>共同传送(symport)相关的基因,它包含 1473 个碱基对的可读框,翻译一分子量为 5.3Kdal 的疏水性蛋白<sup>[12]</sup>。如果继续用 xylT 笼统地表示与木糖转运有关的基因,我们建议将编码转运结合蛋白的基因称为 xylF,而把编码木糖-H<sup>+</sup>共同传送系统的基因写作 xylE。

沙门氏菌的 D-木糖操纵子与大肠杆菌的基因组织顺序和调节方式相似<sup>[7]</sup>。沙门氏菌的 D-木糖操纵子位于其染色体 78—79 分钟处,其中的基因按:启动子 -xylA-xylB-xylR-xylT-的顺序排列,紧靠 glyS 基因之后。

沙门氏菌的调节子(regulon)存在于两个分离的位点,一个靠近 xylT,在 xylT 和 xylR 之间,一个靠近 xylB,在 xylR 和 xylB 之间,xylR 被激活后的基因产物作用于 xylT-xylR 及 xylR-xylB 区域的起始位点,对 D-木糖操纵子进行调控。沙门氏菌的 D-木糖转运系统与大肠杆菌不同,它只有一个转运系统,但不依赖于质子,可能仅与结合蛋白质有关。

枯草杆菌和链霉菌中的工作还不多,但从

已有的文献来看<sup>[8,9]</sup>,枯草杆菌和链霉菌等革兰氏阳性菌的有关基因也构成 D-木糖操纵子,基因组成形式上与大肠杆菌和沙门氏菌等革兰氏阴性菌可能相似。枯草杆菌的木糖异构酶基因与大肠杆菌的木糖异构酶基因具有较高的同源性。但迄今为止,在革兰氏阳性菌中涉及木糖利用有关的蛋白表达的调节的报道还很少。最近 Gartner 等人的研究指出<sup>[13]</sup>,枯草杆菌的 D-木糖操纵子可能是一负操纵子,其调节作用由一阻抑蛋白执行,而有关链霉菌的 D-木糖操纵子的调节机理尚未见报道。总之,对 D-木糖操纵子的研究有助于我们更好地了解和利用葡萄糖异构酶。

最后想提及的是,除了上述大肠杆菌葡萄糖异构酶基因的克隆及其核苷酸序列外,另有 3 种不同菌属的葡萄糖异构酶基因序列已正式报道,它们分别为枯草芽孢杆菌<sup>[14]</sup>、紫黑链霉菌(*Streptomyces violaceoniger*)<sup>[15]</sup>和小瓶属 3876 菌株(*Ampullariella* sp. strain 3876)<sup>[16]</sup>。据个人通讯资料,来自节杆菌 NRRL B3728 菌株(*Arthrobacter* sp. strain NRRL B3728)和 7 号淀粉酶链霉菌 M1033 菌株(*Streptomyces disastaticus* No.7 strain M1033)的木糖异构酶基因序列也将在近期发表。从已看到的核苷酸顺序上分析,这类基因由 1167 至 1320 个核苷酸组成,编码 388 到 440 个氨基酸不等,并有较大的同源性。

## 参 考 文 献

1. Jeffries T J: *Adv. Biochem. Eng. Biotech.*, **27**: 1—32, 1983.
2. Gong C S et al.: *Biotechnol. Lett.*, **3**: 245—250, 1981.
3. Ueng P P and C S: *Gong Enzyme Microb. Technol.*, **4**: 169—171, 1982.
4. Gong, C. S. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**: 430—436, 1981.
5. Chen W P: *Process Biochem.*, **6/7**: 30—35, 1980.
6. Chen W P: *Process Biochem.*, **8/8**: 36—41, 1980.
7. Shamanna D K & K E Sanderson: *J. Bacteriol.*, **139**: 71—79, 1979.
8. Wilhelm M and C. P Hollenberg: *EMBO J.*, **3**: 2555—2560, 1984.
9. Marcel T et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **208**: 121—126, 1987.

(下转第291页)

(上接第 316 页)

10. David J D and H Wiesmeyer: *Biochim. Biophys. Acta*, 201: 497—499, 1970.
11. Schellenberg G D et al.: *J. Biol Chem.*, 259: 6826—6832, 1984.
12. Davis E O et al.: *J. Biol. Chem.*, 259: 1520—1525, 1984.
13. Gartner D et al.: *J. Bacteriol.*, 170: 3102—3109, 1988.
14. Wilhelm M and C P Hollenberg: *Nucleic Acids Res.*, 13: 5717—5722, 1985.
15. Drocourt D et al.: *Nucleic Acids Res.*, 16: 9337, 1988.
16. Saari G C et al.: *J. Bacteriol.*, 169: 612—618, 1987.