

A-109201
0156

微生物发酵 的 代谢与控制

1982.9.1
图书馆

轻工业出版社

微生物发酵的代谢与控制

张克旭 编著

轻工业出版社

内 容 简 介

本书较系统地介绍了微生物发酵代谢与控制的基本理论,从分子水平上突出代谢控制发酵的发酵本质和育种要点,内容新颖,叙述简明。内容包括:糖代谢与调节,脂质类代谢与控制,氨基酸、核苷酸发酵的代谢与控制,抗菌素发酵及其调节等。

本书可供生物化学、微生物学工作者以及从事氨基酸、核苷酸、有机酸、抗菌素发酵生产和研究的科技人员、有关高等院校的师生参考。

微生物发酵的代谢与控制

张克旭 编 著

*

轻工业出版社出版

(北京阜成路3号)

南充报社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

*

287×1092毫米 1/32 印张:8 $\frac{24}{32}$ 插页:5 字数:190千字

1982年3月 第一版第一次印刷

印数:1—8,000 定价:1.10元

统一书号:15042·1614

前 言

代谢与控制是发酵工业的基础理论。发酵工业就是一种控制微生物代谢的生物化学过程。

代谢控制发酵技术是微生物发酵工业第三个转折期，它产生于分子生物学的研究，又促进了分子生物学的发展。近年来，有机酸、抗菌素、氨基酸与核苷酸发酵工业在我国已得到迅速发展，积累了许多宝贵经验，研究重点也逐渐由细胞水平转向分子水平。为了适应新形势下，教学、生产、科研的需要，编写了这本书，希望向有关工作者介绍一些基本知识。

本书系编者在中国科学院微生物研究所、天津轻工业学院、黑龙江省轻工业研究所、北京市发酵研究所和杭州味精厂等单位讲学的基础上，深入有关科研所、工厂进行调查研究，并参阅了许多国内外的有关资料而写成的。全书包括四个部分：糖代谢与调节；脂质类代谢与控制；氨基酸、核苷酸发酵的代谢与控制；抗菌素发酵及其调节。在编写时，主观上希望能从分子水平上突出代谢控制发酵的发酵本质和育种要点，力求简明清楚，反映国内外先进水平，对于微生物代谢的反馈调节和代谢控制发酵的遗传缺陷位置，也作了代谢图式的图解。

由于水平有限，书中错误在所难免，切盼读者批评指正。

本书承中国科学院微生物研究所方心芳先生、王大珍先生和有关人员审阅并提出宝贵意见，特此致谢。

编著者

目 录

引论.....	(1)
第一章 糖代谢与调节.....	(6)
第一节 EMP 途径	(6)
第二节 HMP 途径与代谢控制	(10)
一、HMP 途径	(10)
二、葡萄糖异构酶.....	(14)
三、D-核糖发酵	(16)
第三节 ED 途径	(19)
第四节 各种代谢途径的利用比率.....	(21)
第五节 TCA 环与柠檬酸发酵	(26)
一、TCA 环	(26)
二、柠檬酸发酵.....	(32)
第六节 CO ₂ 的固定反应.....	(35)
第七节 乙醛酸循环.....	(39)
第八节 电子传递系统与氧化磷酸化.....	(42)
第九节 糖代谢调节.....	(47)
参考文献.....	(52)
第二章 脂质类代谢与控制.....	(53)
第一节 脂肪的代谢与调节.....	(53)
一、脂肪酸的分解(β -氧化作用).....	(53)
二、脂肪酸的生物合成.....	(58)
三、脂代谢的调节以及与糖代谢的相互关系.....	(64)

第二节 磷脂的代谢与控制	(67)
一、磷脂的化学结构	(67)
二、膜磷脂与生物膜的动态结构	(70)
三、磷脂代谢	(74)
四、控制磷脂代谢与谷氨酸发酵	(75)
参考文献	(82)
第三章 氨基酸、核苷酸发酵的代谢与控制	(84)
第一节 微生物细胞氨基酸、核苷酸的调节机制与 代谢调节措施	(84)
一、微生物细胞的调节机制	(84)
二、微生物发酵中的代谢调节措施	(87)
三、代谢调节机制的分类	(87)
四、氨基酸、核苷酸产生菌的定向育种途径	(92)
第二节 氨基酸发酵的代谢控制	(99)
一、氨基酸发酵的种类、氨基酸结构类似物与关 键酶	(99)
二、反馈机制	(112)
三、天冬氨酸族氨基酸的代谢控制	(123)
四、芳香族氨基酸生物合成的代谢控制	(139)
五、鸟氨酸、瓜氨酸与精氨酸发酵	(150)
六、异亮氨酸、亮氨酸与缬氨酸发酵	(153)
第三节 核苷酸的代谢与控制	(171)
一、核酸的分解代谢	(171)
二、核苷酸的生物合成	(172)
三、嘌呤核苷酸生物合成的控制机制	(177)
四、核苷生产菌株的选育与发酵机制	(184)
五、核苷酸发酵的菌种选育与发酵机制	(197)

六、环腺苷酸发酵的菌种选育与调节机制·····	(211)
七、核苷酸类物质发酵中值得注意的几个问题 ·····	(217)
参考文献·····	(225)
第四章 抗菌素发酵及其调节 ·····	(226)
第一节 微生物的主要代谢、次级代谢和生物合成	
抗菌素的关系·····	(227)
第二节 抗菌素发酵的代谢调节机制 ·····	(231)
一、底物诱导·····	(233)
二、反馈调节·····	(234)
三、分解代谢产物调节·····	(244)
四、交叉途径的调节·····	(247)
五、无机磷的反馈调节·····	(252)
六、 NH_4^+ 抑制·····	(258)
七、溶解氧和金属的影响·····	(259)
第三节 生长期和生产期的相互关系 ·····	(260)
第四节 生物合成途径的遗传控制 ·····	(264)
一、选育营养缺陷型突变株·····	(265)
二、选育抗类似物突变株·····	(265)
三、选育抗抗菌素突变株·····	(267)
四、选育营养缺陷型的回复突变株·····	(268)
参考文献·····	(269)

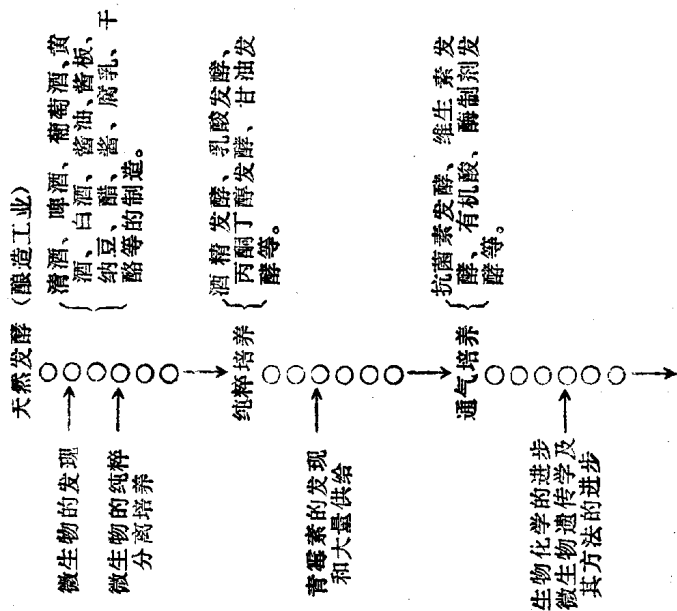
引 论

生命与周围物质的交换就是新陈代谢。新陈代谢是宇宙间普遍不可抵抗的规律。新陈代谢包括合成代谢和分解代谢两大方面。物质的新陈代谢是分解代谢和合成代谢的对立统一，分解代谢又称异化作用，指由复杂的营养物质分解成简单化合物的过程；合成代谢又称同化作用，指由简单化合物合成复杂的细胞物质的过程。

新陈代谢有三大特点：

- (1) 生化反应都在温和条件下进行，大都为酶所催化；
- (2) 反应有顺序性；
- (3) 具有灵敏的自动调节。

生物化学上将酵母菌中的无氧呼吸过程称为发酵。“发酵”这个名词的最初意义是指产生气泡(有 CO_2 气体产生)。典型的嫌气发酵时，发酵是供能的氧化还原反应，供氢体与受氢体均为有机化合物。有机酸类的好气发酵，可定义为有机化合物通过分子氧受到不完全氧化的反应。随着发酵工业的发展，出现了各种有机酸发酵、维生素发酵、抗菌素发酵、酶制剂发酵、氨基酸发酵、核酸发酵、生理活性物质发酵、多糖发酵与石油发酵等。现在，应用微生物工业上把所有通过微生物的培养，使某种特定代谢产物大量积累的过程都称为发酵。近年来，发酵已由野生型菌株的发酵向用高度人为控制的发酵转移，由依赖于微生物分解代谢的发酵向依赖于生物合成代谢的发酵转移，即向代谢产物大量积累的发酵转



此时人们还不清楚微生物与发酵的关系，是单凭经验而继承的产业。
这个时代称为天然发酵时代。

发现发酵原理，随后，对微生物的纯培养分离培养成功。设计了便于灭菌的密闭式发酵罐，开创了酒精发酵与丙丁发酵技术。

纯培养技术为第一个转折期。

二次世界大战期间，青霉素的大量生产成了抗菌素工业的先鋒，同时把通气搅拌技术引入发酵工业。
通气搅拌技术称为第二个转折期。

1956年谷氨酸发酵成功，氨基酸、核苷酸发酵随之而起，以DNA的分子水平来控制微生物代谢，称为代谢控制发酵技术的新型发酵技术。

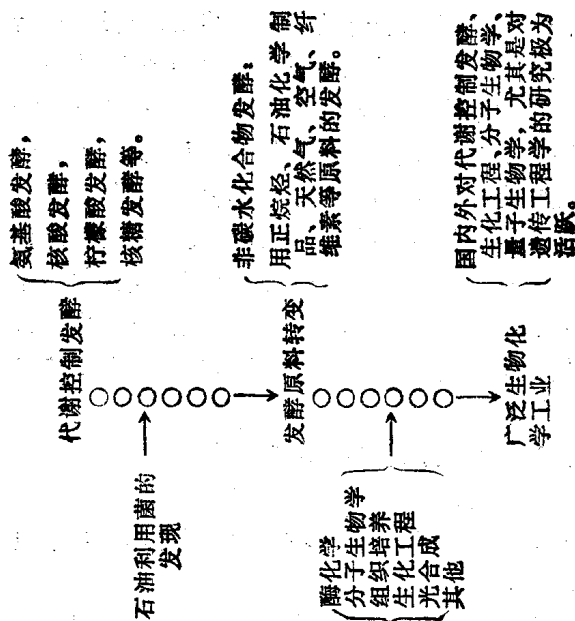
代谢控制发酵技术为第三个转折期。

近年来，增加了正烷烃、醋酸、天然气、醇类等重要发酵原料。从仅依靠农产品、天然气的状态转为从工业资源寻找原料。发酵原料的转变称为第四个转折期。

随着遗传工程学的发展，为人类定向育种提供了新的途径，将创造各种杂种生物、超级微生物服务于人类。

分子生物学、遗传工程学正面临着新的突破，必将给微生物发酵工业带来划时代的变化。

遗传工程技术可称为第五个转折期。



图引-1 微生物利用的发展

移。在育种方面，将遗传理论的研究和育种实践密切结合，不是从大量的菌种中盲目地挑选高产菌株，而是先研究有用产物的生物合成途径、遗传控制、代谢调节，进行定向选育，即代谢控制发酵。所谓代谢控制发酵就是用遗传学的方法或其他生物化学的方法，人为地在脱氧核糖核酸(DNA)的分子水平上，改变和控制微生物的代谢，使有用产物大量生成、积累的发酵。由发酵所生成的目的产物都是微生物中间代谢产物的积累，是对微生物正常代谢抑制的结果。换句话说，代谢控制发酵的关键，取决于其控制机制是否能够被解除，我们能否打破微生物正常的代谢调节，来人为控制微生物的代谢。代谢控制发酵的出现与发展，与以下几方面是分不开的：(1)确立了代谢图，研究阐明了微生物代谢的调节机制。(2)由于分子生物学和分子遗传学的发展，可以人为地在DNA分子水平上改变微生物的代谢，多方面利用微生物的代谢活性，使微生物的菌学性质按人为的目的变化。一般通过选育各种突变株，如营养缺陷型、抗反馈突变型、营养缺陷型的回复突变株、渗漏突变型、条件突变型等；通过转化、转导、杂交等遗传重组的方法；也期望通过遗传工程技术创造新型微生物等手段。(3)合理地控制环境条件，采用过程控制(监测、调节与自控)，逐步使用现代化的电子仪表、电子计算机、机器人控制，加强科学管理，完善受控参数，进行最佳化控制。

关于微生物利用的发展，如图引-1所示。

参照图引-1我们可以简示如下：

(1) 自然发酵→纯粹发酵→代谢控制发酵(突变型发酵)→超微生物发酵

(2) 分解代谢→生物合成代谢→打破种属界限

(3) 自然界中的发酵→只在人工环境条件下成立的发酵→通过人工支配遗传因子建立的发酵

近年来,代谢调节控制在氨基酸发酵、核苷酸类物质发酵、柠檬酸发酵及核糖发酵等方面的应用,都已看到了十分显著的效果。发酵工业已经发展成规模庞大的现代化企业,发酵罐规模达500吨,采用电子计算机控制,生产管理高度连续化、自动化。今后,随着分子生物学、量子生物学、遗传工程学的发展,发酵工业必将发生新的划时代的变化。

第一章 糖代谢与调节

概括来说，微生物分解葡萄糖可归纳为有氧降解和无氧降解两大类型。

葡萄糖有氧降解的最终产物是 CO_2 和 H_2O ，同时产生组成细胞物质的中间产物和大量的能量。微生物在有氧条件下，可有两条分解葡萄糖的途径：(1)葡萄糖先经酵解途径降解成丙酮酸，丙酮酸再进入三羧酸循环被彻底氧化成 CO_2 和 H_2O ；(2)葡萄糖经单磷酸己糖途径彻底氧化成 CO_2 和 H_2O 。

葡萄糖无氧降解的产物有各种有机酸、醇和气体(CO_2 和 H_2)。葡萄糖无氧降解的途径和产物，因不同微生物而异，但仍未脱离EMP途径和HMP途径两种基本方式。或在双磷酸己糖的基础上分解葡萄糖；或在单磷酸己糖的基础上分解葡萄糖；或利用两条途径分解葡萄糖，组成了所谓的混合途径。

第一节 EMP途径

葡萄糖经1,6-二磷酸果糖降解成丙酮酸的过程称为酵解途径，或称EMP途径。由于葡萄糖是在转化为1,6-二磷酸果糖时开始降解的，故又称为双磷酸己糖途径(简称HDP途径)⁽¹⁾。

从葡萄糖降解成丙酮酸，包括10个独立的，但却又是连续的反应(图1-1)⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾。

在反应进行中，必须先后有磷酸、ATP(腺三磷)、NAD(辅酶I)、金属离子(Mg^{++} , Mn^{++} 等)参加反应，大部分反应以

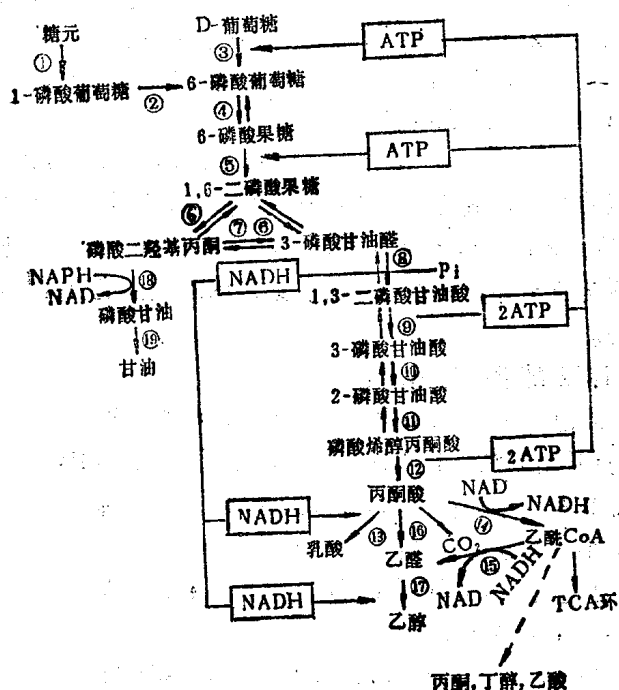
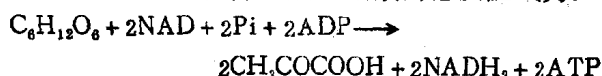


图1-1 EMP途径

- ① 糖元磷酸化酶 ② 葡萄糖磷酸变位酶 ③ 葡萄糖激酶 ④ 磷酸葡萄糖异构酶 ⑤ 磷酸果糖激酶 ⑥ 醛缩酶 ⑦ 磷酸丙糖异构酶 ⑧ 3-磷酸甘油醛脱氢酶 ⑨ 磷酸甘油酸激酶 ⑩ 磷酸甘油酸变位酶 ⑪ 烯醇化酶 ⑫ 丙酮酸激酶 ⑬ 乳酸脱氢酶 ⑭ 丙酮酸脱氢酶 ⑮ 醛脱氢酶 ⑯ 丙酮酸脱羧酶 ⑰ 醇脱氢酶 ⑱ 3-磷酸甘油脱氢酶 ⑲ 甘油激酶

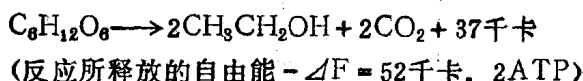
磷酸化的形式进行。磷酸果糖激酶(酶⑤)是EMP途径的关键酶,该酶受ATP、O₂、柠檬酸抑制,为AMP(腺-磷)所激活;3-磷酸甘油醛脱氢酶(酶⑧)受碘乙酸抑制;烯醇化酶(酶⑪)受氟化物抑制。1分子葡萄糖经EMP途径被降解生成2分子丙酮酸,2分子NADH₂和4分子ATP。但在激活己糖时消耗了2分子ATP,因此净得2分子ATP。

葡萄糖经EMP途径降解成丙酮酸的总反应式为:



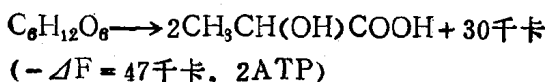
反应中所生成的NADH₂不能积存,必须被重氧化为NAD后,才能继续不断地推动全部反应。在无氧条件下,如以乙醛为受氢体,即酒精发酵。如以丙酮酸作受氢体,即乳酸发酵。

酒精发酵总反应式^[3]:



能量利用率为: $(2 \times 7.5/52) \times 100\% = 28\%$

乳酸发酵总反应式:

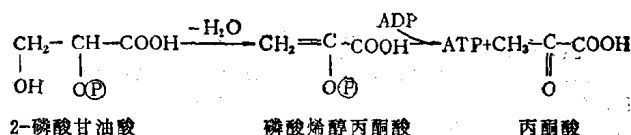


能量利用率为: $(2 \times 7.5/47) \times 100\% = 32\%$

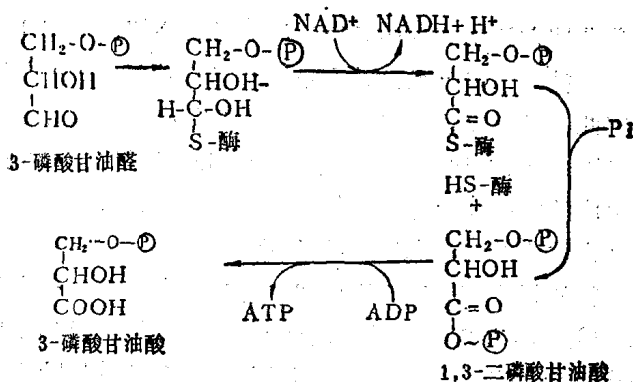
在某些发酵过程中,可有三个反应产生ATP^[4]:

(1) 低能的2-磷酸甘油酸,转换成丙酮酸时,2-磷酸甘油酸通过烯醇化酶(酶⑪)的催化作用,脱去1分子水,生成高能水平的磷酸烯醇丙酮酸。在这个反应过程中,分子内部的能量经过重新分布,集中到磷酸键上,形成一个高能键。磷酸烯醇丙酮酸,再通过丙酮酸激酶(酶⑫)的催化作用,将

分子上的高能磷键转移到ADP分子上，形成ATP。

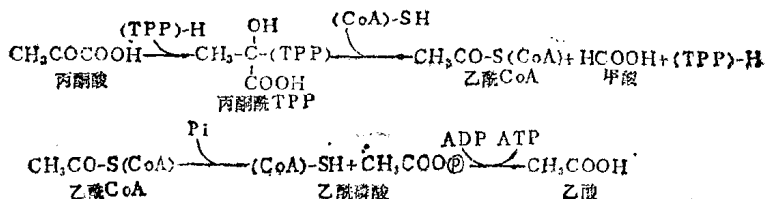


(2) 3-磷酸甘油醛经1,3-二磷酸甘油酸，生成3-磷酸甘油酸时，在醛脱氢酶(酶⑧)的巯基(-SH)参与反应下，产生ATP。醛基附加于巯基(-SH)上，接着被脱氢，脱下的氢交给 NAD^+ (辅酶I)，生成还原状辅酶I($\text{NADH} + \text{H}^+$)。在脱氢过程中产生的能量，集中在磷酸和羧基结合成的酸酐键上，形成高能磷键。与无机磷酸反应生成1,3-二磷酸甘油酸。1,3-二磷酸甘油酸进一步为磷酸甘油酸激酶(酶⑨)所催化，将磷酸和能量转移到ADP分子上，产生ATP。



(3) α -酮酸结合焦磷酸硫胺素(TPP)而活化。丙酮酸在丙酮酸转乙酰基酶的催化作用下，形成TPP键，该酶把乙酰基转移到辅酶A的巯基(-SH)上，产生甲酸。辅酶A的巯基(-SH)和其他酶的巯基(-SH)同样地作用，被氧化成

硫酯型的乙酰CoA时,形成高能键,用无机磷酸磷酸化,经乙酰磷酸产生ATP。



第二节 HMP 途径与代谢控制

一、HMP 途径^[1]

葡萄糖在转化成6-磷酸葡萄糖酸后就分解成为 CO_2 和5-磷酸核酮糖,也就是说,是在单磷酸己糖的基础上开始降解的。因此,常称为单磷酸己糖途径,即 HMP 途径,以突出它和 EMP 途径(在双磷酸己糖的基础上开始降解)的区别。因为所生成的磷酸戊糖可以重新组成磷酸己糖,形成循环反应,所以又常被称为磷酸戊糖环(PP 环)。

完整的 HMP 途径如图 1-2 所示^[5]。HMP 途径中包含有 C_4 、 C_5 、 C_7 等磷酸糖酯中间产物。这条代谢途径的主要特点是葡萄糖直接脱氢和脱羧,不必先经过三碳糖的阶段。另一个特点是只有辅酶Ⅱ(NADP)参与反应。

HMP 途径中的复杂变化(见图 1-2)可以分析为两个阶段:(1)葡萄糖经脱氢脱羧等作用形成五碳糖;(2)五碳糖重新合成六碳糖。第一阶段中包括三个反应:己糖激酶所