

耐高渗透压酵母产生甘油及阿拉伯糖醇的研究

IV. 耐高渗透压酵母的糖代谢途径*

张树政 王惠莲 杨廉婉

(中国科学院微生物研究所, 北京)

耐高渗透压酵母在高浓度的葡萄糖基质中通气培养时, 产生大量的甘油和其他多元醇, 近年来已有很多报导^[1-3]。但关于该酵母糖代谢的研究较少, Spencer 等^[6]用 C^{14} 标记的葡萄糖进行试验, 根据产物的标记情况推测葡萄糖分解通过 EMP^[4] 途径和磷酸葡萄糖酸氧化途径。转酮酶在阿拉伯糖醇形成中起重要作用。Onishi^[7] 在 *Pichia miso* 中找出与多元醇形成有直接关系的连系 NAD 的多元醇脱氢酶。最近 Weimberg^[8] 在 *Saccharomyces mellis* 提取液中测出连系 NADP 的多元醇脱氢酶活力, 从而推测出了 D-arabitol 形成途径。本试验室也曾分离并筛选出高产甘油及阿拉伯糖醇的菌种^[9] 并进行了发酵条件试验^[10]。本文报导耐高渗透压酵母的糖代谢途径的研究结果。

一、材料和方法

菌种及其培养 所用酵母为 *Hansenula arabitoligenes* Fang 275 及 *Zygosaccharomyces chevalieri* Guill. 2.309。培养基成分见前报^[10]; 在 30°C 液体振荡培养 24 小时, 或者用固体斜面培养 2 日。

静息细胞悬液之制备 斜面上长好的细胞用蒸馏水洗下, 离心分离后用蒸馏水洗 3 次, 悬浮于 M/15 磷酸缓冲液 (pH = 5.0) 中, 每毫升含细胞干重在 2—4 毫克之间。

无细胞提取液之制备 液体培养好的菌体离心分离并用蒸馏水洗 3 次, 再用 0.001 M pH 7.5 磷酸缓冲液洗 1 次, 加入相当湿菌体 2.5 倍重量的细石英砂 (高级研磨粉, 600 筛孔), 在冰盐浴中研磨 15 分钟, 然后对每一克湿菌体加 1 毫升 pH 7.5, 0.1 M 的磷酸缓冲液或 0.1 M $NaHCO_3$ 研匀, 在 10,000 转/分离心 10 分钟, 对蒸馏水或稀释 50 倍的上述缓冲液在冰箱中透析 20 小时。如有不同另行说明。

试剂 D-木酮糖和 D-核酮糖是分别由 D-木糖及 D-阿拉伯糖在吡啶中回流来制备的^[11], 用 Whatman 3 MM 滤纸分离提纯。NADH₂ 为由 NAD 被醇脱氢酶催化, 用乙醇还原制备的^[12], 其他试剂皆系商品。

酶活力的测定 以 NAD 或 NADP 为氢受体的酶活性是用 Hilger 分光光度计在波长 340 毫微米, 光径 1 厘米的小池中测定的, 光密度的变化表示酶的活力。氧的消耗与 CO₂ 的放出用普通的瓦氏呼吸计测定。其他方法详见下面酶活力测定部分。

* 韩文珍、任永娥二同志参加部分技术工作, 特此致谢。

1) 本文采用以下简写: EMP = Embden Meyerhof-Parnas 糖酵解途径; NAD = 辅酶 I; NADP = 辅酶 II; NADPH = 还原辅酶 II; ATP = 腺三磷; ADP = 腺二磷; G-6-P = 6-磷酸葡萄糖; 6-P-G = 6-磷酸葡萄糖酸; F-6-P = 6-磷酸果糖; FDP = 1, 6-二磷酸果糖; R-5-P = 5-磷酸核糖; Ru-5-P = 5-磷酸核酮糖; Xu-5-P = 5-磷酸木酮糖; TCA = 三氯乙酸, R. Q. = 呼吸商。Tris. = 三羟甲基氨基甲烷。A = 光密度。本文 1963 年 8 月 15 日收到。

同位素实验法 葡萄糖-1- C^{14} 及全标记的葡萄糖-全- C^{14} 加普通葡萄糖配成 0.1 M 溶液, 3 微居里/毫升。

计数方法 取一定大小及厚薄的滤纸片铺在小玻璃皿中, 将样品滴在纸片上, 在干燥器中干燥, 用薄窗钟罩形盖氏计数管计数, 呼吸放出之 CO_2 用 NaOH 吸收后亦直接滴在纸片上放在有固体 NaOH 之干燥器中干燥后计数, 因为只是作相对比较, 故未作自吸收校正。

分析方法 蛋白质含量用双缩脲方法测定^[13]。磷用 Fiske 和 Subbarow^[14] 法测定。丙酮酸用 Friedemann 和 Haugen 方法^[15]测定。

二、结 果

(一) 葡萄糖的氧化

275 号和 2.309 号酵母的无细胞提取液氧化葡萄糖的结果见表 1。在有 ATP、NAD、 Mg^{++} 及甲烯蓝存在下(完全系统)葡萄糖可被氧化, 缺少 ATP 时氧化降低, 说明葡萄糖必须先磷酸化后才能氧化。除去 NAD 时也不氧化。 Mg^{++} 对氧化有促进作用。氟化钠及碘乙酸有抑制作用, 不过 275 号对氟化钠较不敏感。

表 1 无细胞提取液对葡萄糖的氧化

反 应 系 统	275		2.309	
	耗 O_2 (微升/小时)	降 低 %	耗 O_2 (微升/小时)	降 低 %
完全系统	130.7	—	120.9	—
- $MgSO_4$	122.5	6	97.2	20
-甲烯蓝	110.9	15	100.8	17
-ATP	30.2	46	10.7	91
-NAD	3.4	98	6.0	95
+氟化钠 (2.5 微克分子)	83.7	36	56.0	54
+碘乙酸 (10 微克分子)	50.0	62	62.6	48

注: 表中数值已减去内呼吸(内呼吸值 275=12.1, 2.309=0) 反应系统 2.5 毫升中含下列物质微克分子数: 葡萄糖 10, $MgSO_4$ 10, ATP 3, NAD 1, 甲烯蓝 1, 0.1 M 甘氨酸 0.5 毫升, 无细胞提取液蛋白 14.7 毫克 (M/15 pH 7.5 磷酸缓冲液提取, 透析 13 小时)。30℃, 反应 1 小时, 振荡 100 次/分。

(二) 6-磷酸葡萄糖的氧化

除了用 6-磷酸葡萄糖代替葡萄糖和不加 ATP 外, 与葡萄糖的氧化条件相同, 结果见表 2。磷酸盐对 G-6-P 的氧化有明显的抑制作用。

(三) EMP 途径酶系的测定

1. 己糖激酶: 己糖激酶根据 Slein 等^[16]的方法测定, 无细胞提取液在 Mg^{++} 存在下与葡萄糖及 ATP 一起保温, 如果有己糖激酶的存在则有 G-6-P 生成, 靠无细胞提取液中本身具有的 G-6-P 脱氢酶(见后)的作用, 即可引起 NADP 的还原, 结果见图 1。可知两株酵母均有己糖激酶, 275 号活力很高。

2. 磷酸己糖异构酶: 磷酸己糖异构酶根据 Slein^[17] 的方法测定, F-6-P 经磷酸己糖异构酶催化, 转化为 G-6-P, 后者再经 G-6-P 脱氢酶作用引起 NADP 之还原。结果见图 2。可知两株酵母均有磷酸己糖异构酶活力。以 275 号活力较高, 不加 F-6-P 时无作用。

表 2 無細胞提取液对 G-6-P 的氧化

反 应 系 统	275		2.309	
	耗 O ₂ (微升/小时)	降 低 %	耗 O ₂ (微升/小时)	降 低 %
完全系统	160.5	—	137.0	—
-MgSO ₄	107.2	33	86.6	37
-甲烯蓝	82.7	49	60.3	56
-NADP	43.6	73	27.1	80
+氟化鈉 (2.5 微克分子)	120.0	25	117.6	14
+碘乙酸 (10 微克分子)	87.7	45	87.1	36
+Na ₂ HPO ₄ (50 微克分子)	98.1	39	62.5	54

注：表中数值已減去內呼吸数值 (內呼吸值 275=19.3, 2.309=3.6) 反应系統 2.5 毫升中含下列物质微克分子数：甲烯蓝 1, G-6-P 10, MgSO₄ 10, NADP 0.56, 0.1 M 甘氨酸緩冲液 0.5 毫升, 无細胞提取液蛋白 15 毫克 (用 0.1 M NaHCO₃ 提取, 透析 9 小时)。30℃, 反应 1 小时, 振速 100 次/分。

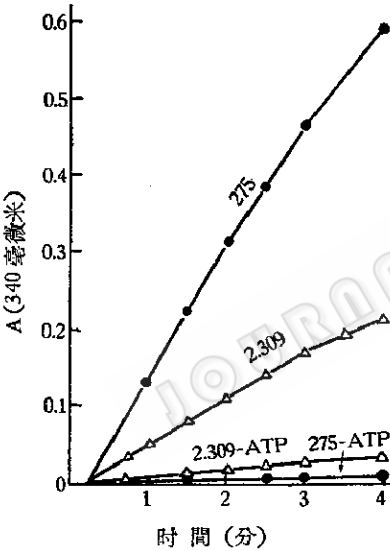


图 1 己糖激酶的活力

反应系統: 在 2.8 毫升中含下列物质微克分子数: 葡萄糖 20, ATP 10, MgCl₂ 10, NADP 0.8, 0.1 M pH 7.5 Tris 緩冲液 0.5 毫升, 无細胞提取液蛋白 0.9 毫克。

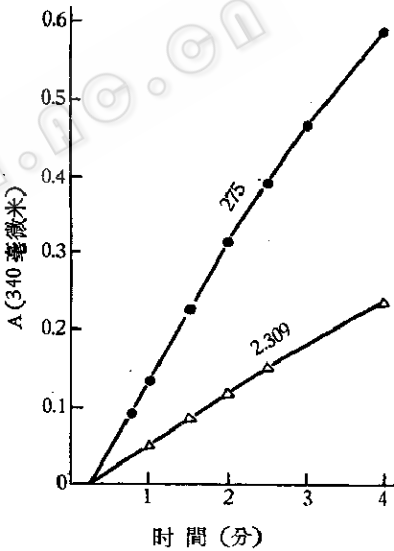


图 2 磷酸己糖异构酶的活力

反应系統: 2.8 毫升中含下列物质微克分子数: MgCl₂ 10, F-6-P 10, NADP 0.8, 0.1 M pH 7.5 Tris 緩冲液 0.5 毫升, 无細胞提取液蛋白 0.9 毫克。

3. 磷酸果糖激酶: 无細胞提取液与 F-6-P 及 ATP 一起保温, 如果有磷酸果糖激酶, 則生成 FDP。而該物为醛縮酶的底物, 故可按測定醛縮酶的方法进行測定。在該两酵母的无細胞提取液中由下面实验可以看出, 均有醛縮酶及 3-磷酸甘油醛脫氢酶存在, 因此沒有补充加入这两个酶。結果见图 3。275 号有磷酸果糖激酶, 2.309 未能測出活力。

4. 醛縮酶和 3-磷酸甘油醛脫氢酶: 按 Warburg 和 Christian^[18] 的方法測定, FDP 經醛縮酶作用生成磷酸二羥丙酮及 3-磷酸甘油醛, 后者再經 3-磷酸甘油醛脫氢酶作用使 NAD 还原, 用这个方法同时測定該两酶的存在。結果见图 4。两株酵母均能測出酶活力, 仍以 275 号活力較高。

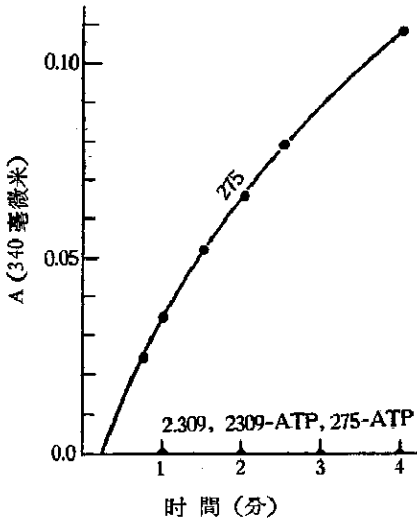


图 3 磷酸果糖激酶的活力

反应系统: 2.8 毫升中含下列物质微克分子数: F-6-P 10, $MgCl_2$ 10, ATP 5, 半胱氨酸 20, 磷酸二钠 34, NAD 0.6, 0.1M pH 7.5 Tris 缓冲液 0.5 毫升, 无细胞提取液蛋白 1.8 毫克。

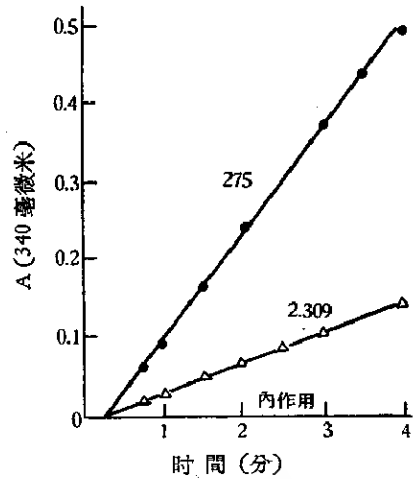


图 4 醛缩酶及 3-磷酸甘油醛脱氢酶活力
反应系统: 2.8 毫升中含下列物质微克分子数: 磷酸二钠 34, 甘氨酸 81, 半胱氨酸 20, FDP 10, NAD 0.6, 无细胞提取液含蛋白 2 毫克。

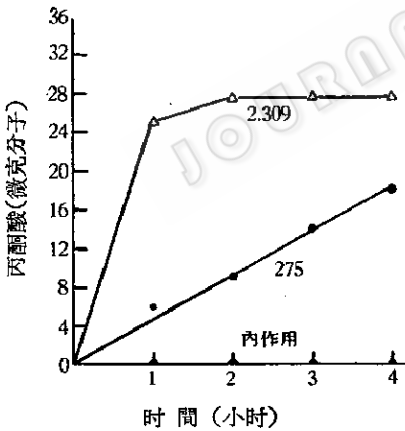


图 5 由 3-磷酸甘油酸生成丙酮酸

反应系统: 12 毫升含下列物质微克分子数: ADP 5, Na_2AsO_4 25, 3-磷酸甘油酸 30, pH 7.5 0.2 M 甘氨酸 2.5 毫升, 无细胞提取液蛋白 30 毫克。内作用不加底物。31°C, 每小时取样 2 毫升加等体积 10% TCA 终止酶的活力, 离心后取 0.5 毫升上清液进行丙酮酸分析。

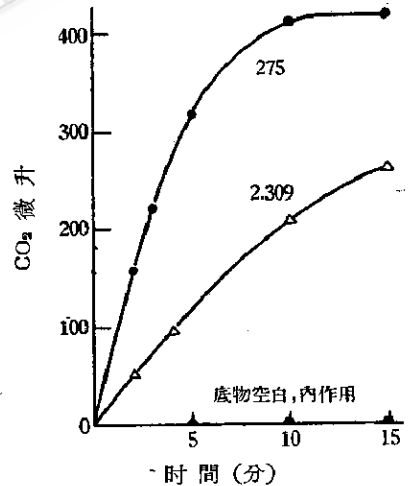


图 6 羧化酶活力

反应系统: 2.4 毫升中含丙酮酸 50 微克分子, 0.2 M pH 5.0 醋酸缓冲液 0.2 毫升, 无细胞提取液 275 含蛋白 9 毫克, 2309 含蛋白 9.5 毫克 (用 pH 6.0 1/15 M 磷酸缓冲液提取, 不经过析, 离心后立即测定)。内作用以水代底物。底物空白以水代无细胞提取液, 30°C。

5. 由 3-磷酸甘油酸生成丙酮酸: 按照 Sih 等^[19]的方法用 3-磷酸甘油酸作底物加入 ADP 及缓冲液和无细胞提取液一起保温, 经过一定时间, 然后测定生成的丙酮酸。结果见图 5。两株酵母均能催化 3-磷酸甘油酸转变为丙酮酸, 可知无细胞提取液中有 3-磷酸

甘油酸变位酶、烯醇化酶和丙酮酸激酶。

6. 羧化酶：按 Green 等^[20]的方法测定，羧化酶催化丙酮酸脱羧生成乙醛及 CO₂，利用瓦氏呼吸计测定放出的 CO₂ 量，表示该酶的活力。结果见图 6，两种酵母均有羧化酶活力，以 275 号较高。

7. 醇脱氢酶：按 Racker^[21] 法测定，以乙醇为底物测定 NAD 之还原。结果见图 7。275 号酵母中醇脱氢酶活力很高，2.309 号的极低。这与 275 号酵母产生乙醇的事实相符。

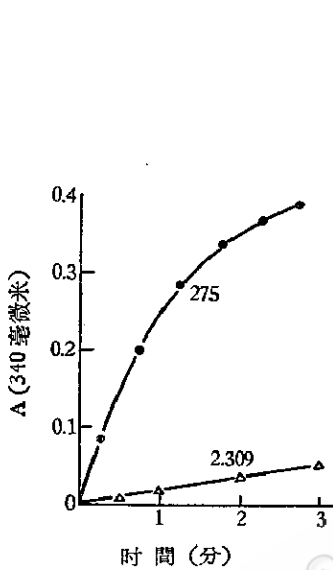


图 7 醇脱氢酶活力

反应系统：2.8 毫升中含乙醇 300 微克分子，NAD 0.5 微克分子，0.2 M pH 8.6 Tris 缓冲液 0.2 毫升，无细胞提取液含蛋白 1.6 毫克。

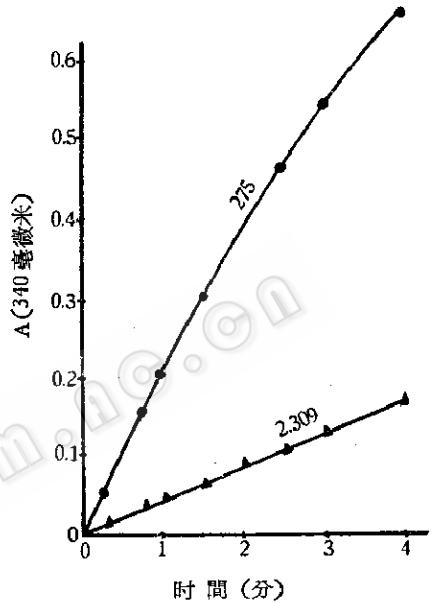


图 8 G-6-P 脱氢酶活力

反应系统：2.9 毫升中含下列物质微克分子数：G-6-P 2，NADP 0.8，MgCl₂ 10，甘氨酸 2 缓冲液 0.1 M pH 7.5 0.2 毫升，无细胞提取液含蛋白 1 毫克。

(四) 磷酸戊糖循环酶系的测定

1. G-6-P 脱氢酶：按 warburg^[22] 法测定，以 G-6-P 为底物，测定 NADP 的还原，结果见图 8。两种酵母均有 G-6-P 脱氢酶活力，主要以 NADP 为氢受体，以 NAD 代 NADP 时则几乎无作用(2.309)或作用极低(275)。G-6-P 脱氢酶受磷酸盐抑制(表 3)，磷酸盐浓度在 0.027 M 即有明显的抑制作用。

表 3 磷酸盐* 对 G-6-P 脱氢酶的抑制作用

磷酸盐浓度 (M)	抑 制 %	
	275	2.309
0	0	0
0.027	26.0	44.9
0.054	78.0	57.4
0.107	93.6	78.7

* 磷酸盐为 pH 8.5 磷酸缓冲液，反应系统的 pH 亦为 8.5。

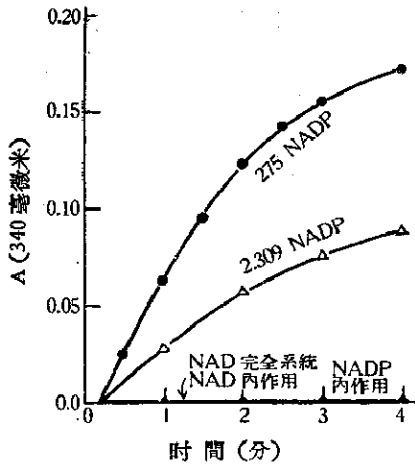


图 9 6-P-G 脱氢酶的活力

反应系统: 2.9 毫升含下列物质微克分子数: $MnCl_2$ 1.8, 6-P-G 2, NADP 或 NAD 0.8, 0.1 M pH 7.5 Tris 缓冲液 1 毫升, 无细胞提取液蛋白 275 1.1 毫克, 2309 1.2 毫克。

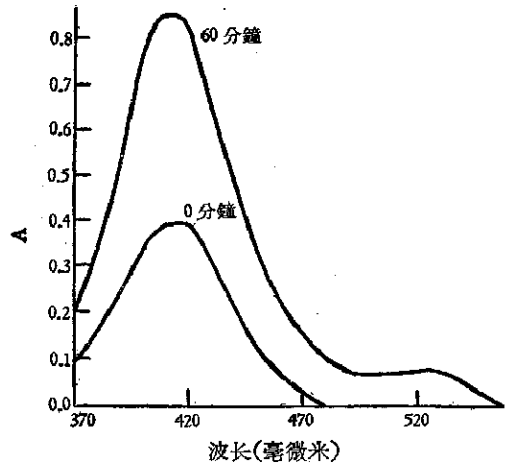


图 10 275 转酮酶反应产物的 Cysteine- H_2SO_4 反应光谱

反应系统: 5 毫升中含下列物质微克分子数: R-5-P 20, $MgCl_2$ 40, 半胱氨酸 10, 甘氨酸 (pH 7.5) 50, 亚硫酸钠 100, 无细胞提取液含蛋白 13.2 毫克。用等体积 10% TCA 停止酶的活动, 离心后取 0.3 毫升做 Cysteine- H_2SO_4 反应。

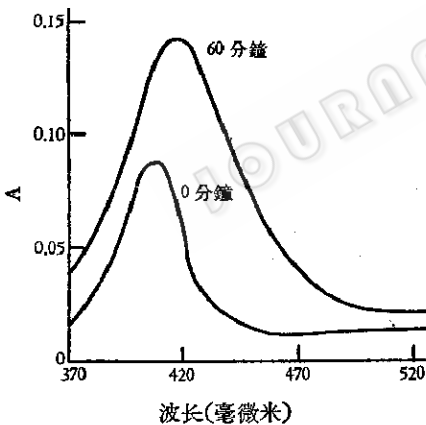


图 11 2309 转酮酶反应产物 Cysteine- H_2SO_4 反应光谱

反应系统中无细胞提取液蛋白 12.1 毫克, 不加亚硫酸氢钠。其他同图 10。

再经转酮酶作用形成 3-磷酸甘油醛和 7-磷酸景天糖, 这两个产物为转醛酶的底物, 经转醛酶作用形成磷酸己糖。由此结果可知, 在两株酵母的无细胞提取液中有磷酸戊糖异构酶、转酮酶和转醛酶的活力。

(五) 多元醇脱氢酶

在这两株酵母的无细胞提取液中均测出有连系 NADP 的多元醇脱氢酶存在, 测定方法是以 D-核酮糖、D-木酮糖或二羟丙酮等为底物测 NADPH 的氧化, 结果见图 12、13, 275 号能还原 D-核酮糖、D-木酮糖及二羟丙酮, 2309 号只能还原二羟丙酮, 符合于

2. 6-P-G 脱氢酶: 以 6-P-G 为底物测 NADP 之还原, 结果见图 9。两株酵母均有酶活力, 以 NADP 为受氢体, 加 NAD 时无作用。

3. 由 R-5-P 生成己糖: 将 R-5-P 与无细胞提取液一起保温, 经过一定时间后, 用等体积的 10% TCA 停止酶的作用, 然后用 Dische^[23] 等人的半胱氨酸-硫酸反应鉴定。结果见图 10、11。由图 10、11 看出, 反应 1 小时后在 415 毫微米处有光密度的增加, 表示有己糖的生成。转酮酶的底物应该是 R-5-P 及 Xu-5-P, 我们只加入 R-5-P, 在鉴定产物时发现已有己糖, 己糖如何形成呢? 只有 R-5-P 经过磷酸戊糖异构酶部分转化成为 Xu-5-P, 有这两个底物

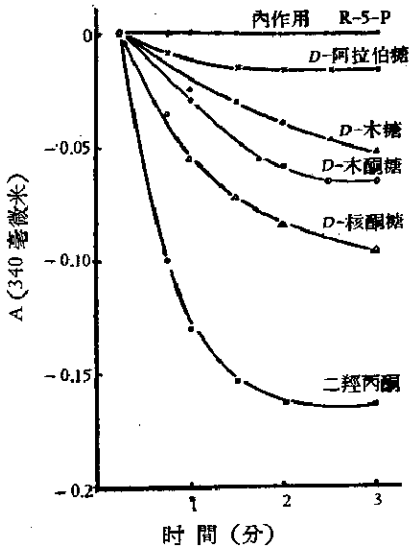


图 12 275 多元醇脱氢酶活力
(以 NADPH_2 为氢供体)

反应系统: 1.4 毫升中含下列物质微克分子数: NADP 0.84, G-6-P 2.1, MgCl_2 21, 0.5 M pH 7.5 甘氨酸 0.35 毫升, 无细胞提取液蛋白 10.8 毫克, 当形成的 NADPH_2 不再增加时再加 1.4 毫升 0.2 M pH 7.5 磷酸缓冲液, 当加入底物 (0.1 M) 0.2 毫升后 15 秒钟开始读数, 内作用以水为底物。

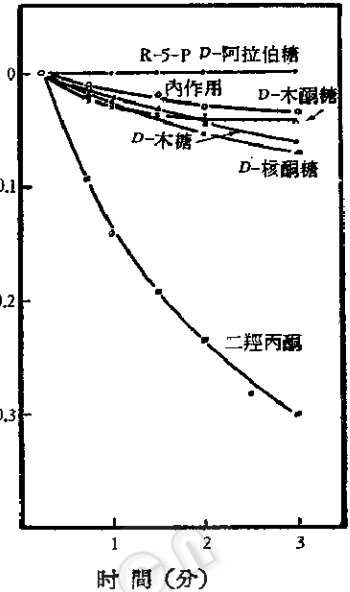


图 13 2.309 多元醇脱氢酶活力
反应系统: 除无细胞提取液蛋白为 3.94 毫克外, 其他同图 12。

275 号生成甘油及 D-阿拉伯糖醇而 2.309 号只生成甘油的事实。以 NADH_2 代替 NADPH_2 时 275 号仅能还原二羟丙酮, 2.309 号则均无作用(图 14)。

以 R-5-P 为底物时无作用, 因无细胞提取液中有磷酸戊糖异构酶, 可催化 R-5-P 生成 Ru-5-P 及 Xu-5-P, 可知这些均不能作为底物, 看来多元醇脱氢酶的底物应为酮糖而非酮糖磷酸酯。

(六) 磷酸酯酶活力

糖代谢中间产物多为糖磷酸酯, 但多元醇脱氢酶则要求游离酮糖为底物, 推测菌体中应有磷酸酯酶, 可分解糖磷酸酯为游离糖, 故又进行了磷酸酯酶活力的测定。以糖磷酸酯作为底物, 与无细胞提取液在一定的缓冲液中一起保温时, 每 15 分钟取样 1 次, 用等体积的 10% TCA 沉淀蛋白后, 用 Fiske-Subbarow 法定无机磷酸, 随着保温时间的增长, 释放无机磷酸的加多来表示酶的活力, 见图 15。两株酵母菌有磷酸酯酶活力。

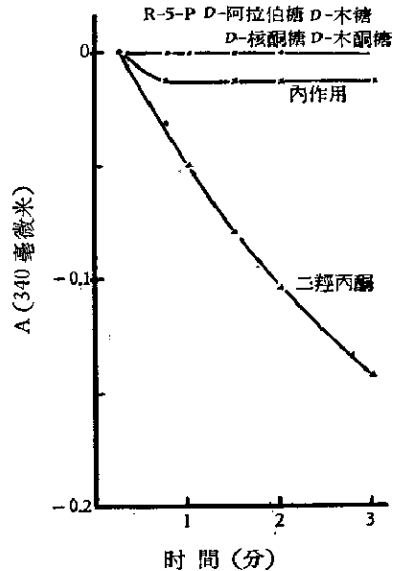


图 14 275 多元醇脱氢酶活力
(以 NADH_2 为氢供体)

反应系统: 2.9 毫升内含下列物质微克分子数: 底物 20, NADH_2 0.63, MgCl_2 10, 0.2 M pH 7.5 磷酸缓冲液 0.5 毫升, 无细胞提取液蛋白 10.8 毫克。注: 2.309 号在上述条件下未测出该酶活力。

(七) 用葡萄糖- C^{14} 进行的呼吸试验

由以上结果知两株酵母中均有 EMP 及磷酸戊糖循环的一系列酶活力。为了更进一步查出两途径的相对比重, 我们又用葡萄糖- $1-C^{14}$ 和全标记的葡萄糖-全- C^{14} 进行了呼吸试验, 收集呼吸释放的 CO_2 并测定其放射活性; 然后根据由两种底物放出 CO_2 的放射性计数, 计算 C_1/C_{2-6} 比值。在计算以前, 对 CO_2 的计数作两种校正: (1) 由葡萄糖- $1-C^{14}$ 和葡萄糖-全- C^{14} 放出的 CO_2 (实际上测定的耗 O_2 量) 有时相差较大, 故根据耗 O_2 量对 CO_2 计数作校正, 例如表 4 中实验 2 的 275 号的数据由葡萄糖- $1-C^{14}$ 和全- C^{14} 所生 CO_2 计数分别为 572 和 518 c. p. m., 所耗 O_2 分

别为 205 和 187 微升。校正法如下: $518 \times 205/187 = 568$ 。(2) 两种酵母的 R. Q. 不同, 275 号变动在 1.5—2 之间。2.309 号在 1.1—1.3 之间, 275 号产生乙醇, R. Q. 较高是由于乙醇发酵产生 CO_2 , 而乙醇发酵所生 CO_2 的碳来自葡萄糖的第 3 和第 4 碳原子。这样由葡萄糖-全- C^{14} 所生 CO_2 的计数就相应地高了。此数值再除以 R. Q. 值即代表真正由呼吸释放 CO_2 的计数。仍举上述例子, 由葡萄糖-全- C^{14} 所生 CO_2 计数已校正为 568, 其 R. Q. 为 1.45。 $568 \div 1.45 = 391$ 。此数值即表 4 中所列数据, 至于原始加入的两种葡萄糖计数也稍有差别, 但在各项实验中均不变, 因作相对的比较, 所以未作校正。 C_1/C_{2-6} 的计算方法如下: 设由葡萄糖- $1-C^{14}$ 所生 CO_2 的计数为 a , 由葡萄糖-全- C^{14} 所

生 CO_2 的计数为 b , 则 $\frac{C_1}{C_{2-6}} = \frac{\frac{a}{6}}{\left(b - \frac{a}{6}\right) \div 5}$ 。为了检验以上的校正方法是否合理, 我

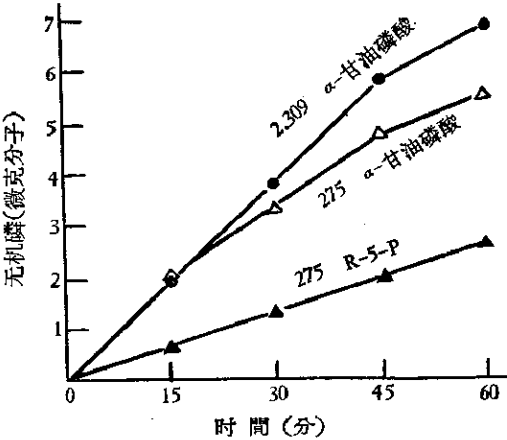


图 15 磷酸酯酶活力

反应系统: 10 毫升中含下列物质微克分子数: 磷酸酯 20, $MgCl_2$ 10, pH 5.0 醋酸缓冲液 0.2 M 5 毫升, 无细胞提取液蛋白 10 毫克。

表 4 葡萄糖- C^{14} 的呼吸试验

实验号数	呼吸时间(分)	底物葡萄糖*	275		2.309	
			CO_2 c.p.m.	C_1/C_{2-6}	CO_2 c.p.m.	C_1/C_{2-6}
1	60	$C-1$ $C-全$	217 138	1.76	284 314	0.80
2	30	$C-1$ $C-全$	572 391	1.61	361 417	0.85
3	30	$C-1$ $C-全$	480 329	1.60	328 343	0.95
4	30	$C-1$ $C-全$	387 227	1.98	308 342	0.75
平均				1.74		0.84

* 加入葡萄糖为 30 微克分子。其比活性葡萄糖- $1-C^{14}$ = 489 c. p. m./微克分子, 葡萄糖-全- C^{14} = 517 c. p. m./微克分子。

們用啤酒酵母作了实验,啤酒酵母 2.399 号 $R. Q. = 3.08$, 由葡萄糖-1- C^{14} 和葡萄糖-全- C^{14} 所生 CO_2 之计数分别为 240 和 815, 如果按此数直接计算 $\frac{C_1}{C_{2-6}}$ 为 0.258, 如对 $R. Q.$ 校正后, 则为 0.89。啤酒酵母以 EMP 为主, 比值不超过 1, 说明这种计算方法是合理的。

文献上多用葡萄糖-1- C^{14} 和葡萄糖-6- C^{14} 作呼吸底物, 计算 $\frac{C_1}{C_6}$ 比值^[2], 如果葡萄糖完全通过 EMP 途径然后通过三羧酸循环氧化时, 则 $\frac{C_1}{C_6}$ 比值理论上应为 1。呼吸时葡萄糖的各碳原子转化为 CO_2 的先后不同, 第 3、4 碳原子较优先放出, 因此用 $\frac{C_1}{C_{2-6}}$ 比值常要小于 1。啤酒酵母和 2.309 的该比值均小于 1。推则 2.309 号酵母以 EMP 为主。275 号酵母的比值则远大于 1, 即第 1 碳原子优先成 CO_2 放出的比例较大, 也就是磷酸戊糖循环所占的比重较大, 这与它生成五碳化合物——阿拉伯糖醇的事实是相符的。

三、討 論

由以上结果可知所测定的 EMP 途径及磷酸戊糖循环的各个酶在两株酵母无细胞提取液中均存在, 仅在 2.309 号酵母中未能测出磷酸果糖激酶活力, 但这并不能认为在 2.309 号酵母不能通过双磷酸己糖的途径, 因为在葡萄糖- C^{14} 的呼吸试验中表明 2.309 以 EMP 途径为主, 推测可能在 2.309 中磷酸果糖激酶不稳定, 在提取过程中即行失活所致。

关于多元醇的形成途径可以有两种方式, 一为磷酸酮糖先还原为磷酸多元醇然后分解掉磷酸成游离多元醇。一为磷酸酮糖先分解掉磷酸, 再还原成多元醇, 我们的结果支持后一种方式。推定阿拉伯糖醇的形成途径如下:

葡萄糖 \longrightarrow 6-磷酸葡萄糖 \longrightarrow 6-磷酸葡萄糖酸 \longrightarrow 5-磷酸核糖 \longrightarrow 5-磷酸核酮糖 \longrightarrow D-核酮糖 \longrightarrow D-阿拉伯糖醇。

四、摘 要

1. 测定了两株耐高渗透压酵母 (*Hansenula arabitoligenes* Fang. 275 及 *Zygosaccharomyces chevalieri* Guill. 2.309) 无细胞提取液中 EMP 及磷酸戊糖循环的酶活力, 除在 2.309 中未能测出磷酸果糖激酶外, 其他所测各酶在两株酵母中均有活力。

2. 在两株酵母中均有联系 NADP 的多元醇脱氢酶, 催化二羟丙酮还原为甘油 (275 及 2.309 中) 以及 D-核酮糖还原为 D-阿拉伯糖醇 (仅在 275 中)。

3. 用葡萄糖- C^{14} 的呼吸实验表明在 275 号酵母中磷酸戊糖循环占较大比重, 这与它能产生大量五碳化合物——阿拉伯糖醇是相符的。

参 考 文 献

- [1] Spencer, J. F. T. & Sallans, H. R.: *Can. J. Microbiol.*, 2:72—79, 1956.
- [2] Spencer, J. F. T. & Shu, Ping: *Can. J. Microbiol.*, 3:559—567, 1956.
- [3] Peterson, W. H., Hendershot, W. F., & Hajny, G. J.: *Appl. Microbiol.*, 6:349—357, 1958.
- [4] Hajny, G. J., Hendershot, W. F., & Peterson, W. H.: *Appl. Microbiol.*, 8:5—11, 1960.
- [5] Onishi, Hiroshi, Saito, Narimasa, & Koshiyama, Ikunori: *Agr. Biol. Chem.*, 25:124—130, 1961.
- [6] Spencer, J. F. T., Neish, A. C., Blackwood, A. C., & Sallans, H. R.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, 34: 459—501, 1956.

- [7] Onishi, Hiroshi & Saito, Naomasa: *Agr. Biol. Chem.*, **26**:245—251, 1962.
- [8] Weinberg, R.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **8**:442, 1962.
- [9] 张树政、杨廉婉、王惠莲:微生物学报, **8**:369—376, 1962.
- [10] 张树政、杨廉婉、王惠莲:微生物学报, **9**:134—139, 200—201, 1962.
- [11] Schmidt, C. T. H., & Treiber, R.: *Ber.*, **66**:1765, 1933.
- [12] Rafter, G. W., & Colowick, S. P. *Methods in Enzymology*, **11**:887. Colowick, S. P. & Kaplan, N. O. (Eds.) 1957.
- [13] Levin, R., & Brauer, R. W.: *Lab. Clin. Med.*, **38**:474, 1951.
- [14] Fiske, C. H., & Subbarow, Y.: *J. Biol. Chem.*, **66**:375—400, 1925.
- [15] Friedemann, T. E., & Haugen, G. E.: *J. Biol. Chem.*, **147**:415—422, 1943.
- [16] Slein, M. W., Cori, G. T., & Cori, C. F.: *J. Biol. Chem.*, **186**:763—780, 1950.
- [17] Slein, M. W.: *ibid.*, **186**:753—761, 1950.
- [18] Taylor, J. F.: *Methods in Enzymology* **1**:310. Colowick, S. P., & Kaplan N. O. (Eds) 1955.
- [19] Silb, C. J., & Knight, S. G.: *J. Bacteriol.*, **72**:694—699, 1956.
- [20] Green, D. E., Herbert, D., & Subrahmanyam, V.: *J. Biol. Chem.*, **138**:327—339, 1941.
- [21] Racker, E.: *J. Biol. Chem.*, **184**:313—319, 1950.
- [22] Kornberg, A. & Horecker, B. L.: *Methods in Enzymology* **1**:323. Colowick, S. P., & Kaplan N. O. (Eds) 1955.
- [23] Dische, Z., Shettles, L. B., & Osnos, M.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **22**:169—184, 1949.
- [24] Bloom, B., & Stetten, D.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**:5446, 1953.

STUDIES ON THE PRODUCTION OF GLYCEROL AND ARABITOL BY OSMOPHILIC YEASTS

IV. CARBOHYDRATE METABOLISM IN OSMOPHILIC YEASTS

CHANG SHU-CHENG, WANG HUEI-LIEN, YANG LIEN-WAN

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Peking)

1. Activity of enzymes of EMP and pentose phosphate cycle was determined in cell-free extracts of two strains of osmophilic yeasts. i.e., *Hansenula arabitoligenes* Fang 275 and *Zygosaccharomyces chevalieri* Guill. 2.309. Except phosphofructkinase, which was not detected in 2.309, all other key enzymes were present in the extracts of both strains.

2. A NADP—linked polyol dehydrogenase, which catalyzed the reduction of dihydroxyacetone to glycerol (in both 275 and 2.309) and D-Ribulose to D-arabitol (in 275 only) was found in both strains.

3. Respiration experiments using glucose-C¹⁴ showed that pentose phosphate cycle was more dominant in strain 275. This is in accordance with the fact that strain 275 produced more 5-carbon compound—arabitol.