

## 乙酸菌糖磷酸化作用的研究

姜卫红<sup>1, 2</sup> Patterson John A<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 中国科学院上海植物生理研究所 上海 200032)

(<sup>2</sup> Department of Animal Sciences, Purdue University, IN47907, USA)

**提 要** 对 7 种乙酸菌(*Acetitomaculum ruminis*, *Acetobacterium woodii*, *Eubacterium limosum* 和分离株 A2、A4、A10、H3HH)的葡萄糖和 2-脱氧葡萄糖磷酸化作用进行了研究。尽管所有机体都存在磷酸化反应,但它们在依赖 PEP 和 ATP 的比例上有实质性区别。分离菌株 A10 具有最高的依赖 PEP 的葡萄糖磷酸化活力( $11.62\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )。A10、H3HH 和 *E. limosum* 都具有葡萄糖磷酸转移酶系统(phosphotransferase system, PTS)。相反, *A. ruminis*、*A. woodii*、A2 和 A4 则不具有 PTS 活力。这七株菌的葡萄糖依赖 ATP 的磷酸化活力都高于依赖 PEP 的磷酸化活力,但其程度有所不同。A10 和 H3HH 的葡萄糖 PTS 可通过胞外葡萄糖诱导,并且其比活在对数期随培养时间延长而增加。此外,还检测到 A10 和 H3HH 对麦芽糖和果糖的依赖 ATP 和 PEP 的磷酸化活力。

**关键词** 乙酸菌 糖磷酸化 磷酸转移酶系统

**分类号** Q935 **文献标识码** A **文章编号** 0001-6209(1999)06-0539-45

乙酸菌的种类多样,但它们都能利用  $\text{H}_2$  和  $\text{CO}_2$  合成乙酸,这个代谢途径叫“乙酰-CoA 途径”或“Wood 途径”。除  $\text{H}_2$  和  $\text{CO}_2$  外,乙酸菌还可利用其它多种物质,如甲醛、甲醇、延胡索酸和糖类等<sup>[1]</sup>。由于 Wood 途径的特殊性,乙酸菌研究工作主要围绕该途径展开<sup>[2]</sup>,而对其它途径的研究则相对较少。

在厌氧系统中,已发现四种糖的转移系统,即易化扩散、主动运输、糖-离子同向转移和基团转运。磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)-糖的磷酸转移酶系统(PTS)属于一种基团转运机制,能利用 PEP 作为磷酸基的供体,在吸收糖的同时使其磷酸化,从而节省了 ATP<sup>[3]</sup>。PTS 只局限于那些可经 EMP 途径发酵糖的生物<sup>[4]</sup>。在乙酸菌中,已检测到一些 EMP 途径的酶活力<sup>[5]</sup>。因而,乙酸菌通过 PTS 利用糖的可能性存在,这也是本研究的主要内容。

研究乙酸菌糖转移系统的另一个目的是要弄清  $\text{H}_2$  的利用是否受到与 PTS 有关糖的调节。某些乙酸菌,如 *E. limosum*,不能同时利用糖和  $\text{H}_2/\text{CO}_2$ (Pinder,未发表资料)。这些菌株具有以糖类作为能源的偏爱,形成一个二次生长曲线。对这种现象尚未有满意的解释,它可能涉及糖吸收利用系统中的某些因子对 Wood 途径的调节。细菌的 cAMP 和其受体蛋白(CRP)对基因转录有影响,故而 PTS 系统可以影响细胞中其它能量系统的代谢活动。本实验所用乙酸菌大都来自瘤胃,瘤胃内容物含有各种糖类,这些糖类的浓度随动物食粮的种类和饲喂后的时间而变化<sup>[6]</sup>。在这种特定的生态系统中,细菌存活的关键是使自己的糖转移系统适应于环境条件的变化。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株和生长条件

乙酸菌分离株 H3HH、A2、A3 和 A10 由 Dr. John Patterson 实验室分离得到。 *A. ruminis* 由 Upjohn 公司的 Dr. Joseph Robinson 惠赠。 *A. woodii* (ATCC29683) 由 Dr. Ralph Wolf (University of Illinois, USA) 惠赠。 *E. limosum* 来自美国菌种保存中心。实验菌种都在乙酸菌特定培养基上生长 (Boccazzi and Patterson, 未发表资料), 所添加的糖类将在文中指明。糖类贮液 (%) 均作为厌气溶液分别配置、灭菌, 降温后加入乙酸菌培养基, 以 12 mL 的量分装于 120 mL 血清管中, 用异丁烯橡胶塞封口。在未作说明时, 血清瓶中的气体都是 100% CO<sub>2</sub>。

### 1.2 甲苯处理细胞的准备

渗透化细胞的制备主要依照 Martin 和 Russell 的方法进行<sup>[7]</sup>。从 20 mL 培养液中, 离心 (10 000 × g, 10 min) 收集细胞, 然后用 NAKP 缓冲液 (50 mmol/L NH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mmol/L K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 1 mmol/L 二硫苏糖醇, pH 7.2) 洗涤两次。清洗后的细胞悬浮于甲苯:乙醇 (1:9) 混合液中, 置于冰上待用。

### 1.3 磷酸化分析

用甲苯处理的乙酸菌细胞测定糖磷酸化。1 mL 反应混合物含有 10 mmol/L PEP (或 ATP), 以及 0.1 mL 经甲苯处理的细胞。加入 1 mmol/L 糖起始磷酸化反应, 这些糖类分别含 0.2 μCi 的 D-[U-<sup>14</sup>C]-葡萄糖、2-脱氧-D-[U-<sup>14</sup>C]-葡萄糖、[U-<sup>14</sup>C]-麦芽糖或 [U-<sup>14</sup>C]-蔗糖。39°C 保温 30 min 后, 加入 30 mmol/L BaBr<sub>2</sub> 溶液, 置于冰上 20 min, 以 0.45 μm 滤膜过滤收集磷酸化沉淀产物。滤膜用 80% 乙醇洗涤, 空气干燥, 再计数测定 (1600-R 计数器)。另外, 在反应液中还加入 10 mmol/L 未标记糖。由内源 PEP 和 ATP 引起的糖磷酸化通过不含内源物的对照分析来测定。所有实验都重复三次, 结果用标准差表示。

### 1.4 蛋白浓度测定

蛋白浓度用 Bio-Rad 公司的蛋白测定试剂盒测定。以小牛血清蛋白制作标准曲线。

### 1.5 化学试剂

ATP、PEP、[<sup>14</sup>C]-标记和未标记葡萄糖、2-脱氧葡萄糖、麦芽糖、蔗糖以及二硫苏糖醇和 BaBr<sub>2</sub> 都购自 Sigma 公司 (St. Louis, MO)。

## 2 结果和讨论

### 2.1 依赖于 PEP 和 ATP 的葡萄糖磷酸化

葡萄糖的 PTS 和葡萄糖激酶的产物皆为葡萄糖-6-磷酸, 这两个系统的区别在于磷酸基的供体。甲苯渗透处理细胞的依赖 PEP 磷酸化, 可表示 PTS 的活力, 而依赖 ATP 的磷酸化则代表糖激酶的活力<sup>[7]</sup>。7 种乙酸菌的依赖 PEP 的葡萄糖磷酸化活力见表 1, 其中 A10 的依赖 PEP 的葡萄糖磷酸化活力最高, 而 A4 的活力最低。这些磷酸化活力与其它瘤胃细菌的相近, 如 *Bacteroides rumenicola* 和 *Streptococcus bovis*<sup>[7]</sup>。依赖 PEP 的葡萄糖磷酸化活力在 *A. ruminis*、*A. woodii* 和 A4 中非常低, 所以这些菌可能不具有葡萄糖的 PTS。在所有测试菌中, 依赖 ATP 的磷酸化活力都高于依赖 PEP 的磷酸化活力, 这种特

征亦与某些其它细菌相似<sup>[8]</sup>。然而, *A. woodii* 和 A4 的依赖于 ATP 的磷酸化活力则很低。可以认为它们不具有相应的葡萄糖磷酸转移系统。这两种菌都不能利用葡萄糖而正常生长的事实, 也支持这一推断。

由于依赖 ATP 的葡萄糖磷酸化总是高于依赖 PEP 的葡萄糖磷酸化, 从 PEP 产生 ATP 的可能性并不能排除(即利用 PEP 产生 ATP 的酶类作用)。细菌激酶一般不能使 2-脱氧葡萄糖(非代谢的葡萄糖类似物)磷酸化<sup>[4]</sup>, 因此, 依赖 PEP 的 2-脱氧葡萄糖磷酸化比较准确地表示了 PTS 的活力<sup>[7]</sup>。实验结果可见, *E. limosum*、A10 和 H3HH 的 2-脱氧葡萄糖依赖 PEP 的磷酸化活力都高于依赖 ATP 的磷酸化活力, 说明 PTS 存在于这些乙酸菌中。但相比之处, *A. ruminis* 和 *A. woodii* 和依赖于 PEP 的 2-脱氧葡萄糖磷酸化活力则很低。

表 1 乙酸菌中以 PEP 或 ATP 作为磷基供体的葡萄糖和 2-脱氧葡萄糖的磷酸化活力

Table 1 Specific activities of glucose and 2-deoxyglucose phosphorylation with PEP or ATP as phosphoryl donors in acetogenic bacteria

乙酸菌 Acetogens	葡萄糖磷酸化活力 Glucose phosphorylation			2-脱氧葡萄糖磷酸化活力 2-deoxyglucose phosphorylation		
	$\mu(\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$			$\mu(\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$		
	None	PEP	ATP	None	PEP	ATP
<i>A. ruminis</i>	0.89 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.38 ± 0.03	41.32 ± 0.55	0.24 ± 0.02	0.46 ± 0.06	0.47 ± 0.01
<i>A. woodii</i>	0.85 ± 0.03	1.21 ± 0.03	2.13 ± 0.17	0.32 ± 0.02	0.42 ± 0.01	0.73 ± 0.01
<i>E. limosum</i>	1.19 ± 0.10	3.49 ± 0.03	17.06 ± 0.28	0.60 ± 0.01	2.21 ± 0.42	0.75 ± 0.02
A2	1.38 ± 0.10	2.18 ± 0.08	20.45 ± 0.99	ND <sup>b</sup>	ND	ND
A4	1.05 ± 0.18	1.20 ± 0.13	3.27 ± 0.11	ND	ND	ND
A10	0.29 ± 0.02	11.62 ± 0.06	14.01 ± 0.52	0.31 ± 0.03	11.14 ± 0.32	0.35 ± 0.01
H3HH	1.39 ± 0.09	7.07 ± 0.19	9.99 ± 0.43	1.25 ± 0.05	4.25 ± 0.36	1.40 ± 0.03

<sup>a</sup>Values are mean ± standard deviation (n = 3)

<sup>b</sup>ND = not determined

上述结果支持了我们关于 *A. ruminis* 和 *A. woodii* 不具有 PTS 的推测。由于 A10 的依赖于 PEP 的 2-脱氧葡萄糖磷酸化活力比其依赖于 ATP 的磷酸化活力约高 30 倍, 估计该菌株具有较强的 PTS 系统。

## 2.2 乙酸菌的生长过程和基质对乙酸菌葡萄糖磷酸化活力的影响

H3HH 和 A10 生长在含葡萄糖培养基中的葡萄糖-PTS 活力分别为生长在 H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> 培养基中活力的 8.5 倍和 3.3 倍(表 2), 而它们依赖 ATP 的磷酸化活力在两种培养条件下相近。这表明依赖 ATP 的葡萄糖磷酸化是组成型的, 而依赖 PEP 的葡萄糖磷酸化可被培养基中的葡萄糖诱导。PTS 活力受胞外糖类调节的现象曾得到证实, Rephaeli 和 Saier 报道了胞外糖类对 PTS 中几种蛋白质的诱导作用(即酶 I, HPr 和葡萄糖专一的酶 II)<sup>[9]</sup>。A10 和 H3HH 的 PEP-2 脱氧葡萄糖磷酸化活力与葡萄糖的磷酸化相似, 亦可在葡萄糖培养基中被诱导。

在葡萄糖培养基中生长的细胞, 其 PTS 比活力是变化的(表 3)。对于乙酸菌 A10 和 H3HH, 其 PTS 的比活力在对数期随培养时间的延长而增加, 一旦进入静止期, 葡萄糖磷酸化的速率急剧下降, 甚至低于对数期以前的水平。依赖 ATP 磷酸化的情况与之相似。糖转移系统可能受到细胞内葡萄糖-6-磷酸的反馈抑制, 因为该物质对几种酶 II(PTS 糖

特异的透性酶)的抑制作用已有所报道<sup>[10]</sup>。在对数期的早期和中期,细胞内葡萄糖-6-磷酸的浓度相对较高,胞外的葡萄糖超过了细胞的需要量。然而,一旦胞外葡萄糖被消耗殆尽,进入细胞的葡萄糖将减少,细胞进入对数晚期且生长速度减慢,同时细胞内葡萄糖-6-磷酸的浓度亦降低。

表 2 生长基质对菌株 H3HH 和 A10 的葡萄糖和 2-脱氧葡萄糖的磷酸化活力的影响

Table 2 Effect of growth substrate on the specific activity of PEP-and ATP-dependent phosphorylation of glucose and 2-deoxyglucose by isolates H3HH and A10

生长基质 Growth substrate	葡萄糖磷酸化活力 Glucose phosphorylation			2-脱氧葡萄糖磷酸化活力 2-deoxyglucose phosphorylation		
	$\mu(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$					
	None	PEP	ATP	None	PEP	ATP
H3HH						
Glucose	1.39 ± 0.09 <sup>a</sup>	7.07 ± 0.19	9.99 ± 0.43	1.25 ± 0.05	4.25 ± 0.36	1.40 ± 0.03
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	0.48 ± 0.05	0.83 ± 0.16	9.20 ± 0.26	0.25 ± 0.02	0.42 ± 0.07	0.42 ± 0.10
A10						
Glucose	0.29 ± 0.02	11.62 ± 0.06	14.01 ± 0.52	0.31 ± 0.03	11.14 ± 0.32	0.35 ± 0.01
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	0.96 ± 0.08	3.57 ± 0.13	13.05 ± 0.23	0.56 ± 0.10	2.86 ± 0.02	0.71 ± 0.06

<sup>a</sup>Values are mean ± standard deviation(n = 3)

表 3 生长阶段对菌株 H3HH 和 A10 的葡萄糖磷酸化活力的影响

Table 3 Effect of growth stage on the specific activities of PEP-and ATP-dependent phosphorylation of glucose by isolates H3HH and A10

生长阶段 Growth period	OD <sub>600</sub>	葡萄糖磷酸化活力 Glucose phosphorylation		
		$\mu(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$		
		None	PEP	ATP
H3HH				
Early log	0.5	0.73 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.42 ± 0.08	6.98 ± 0.13
Mid log	1.0	0.56 ± 0.06	3.30 ± 0.05	9.91 ± 0.50
Late log	1.5	1.09 ± 0.16	10.33 ± 0.74	20.32 ± 0.55
Stationary	2.5	0.79 ± 0.09	1.71 ± 0.17	4.58 ± 0.13
A10				
Early log	0.3	0.57 ± 0.02	3.18 ± 0.13	6.55 ± 0.33
Mid log	0.6	0.56 ± 0.06	5.45 ± 0.18	7.16 ± 0.09
Late log	1.0	0.46 ± 0.11	15.58 ± 0.09	16.94 ± 0.24
Stationary	1.2	0.66 ± 0.08	0.91 ± 0.04	2.91 ± 0.04

<sup>a</sup>Values are mean ± standard deviation(n = 3)

### 2.3 基质中的糖类对葡萄糖、麦芽糖和蔗糖磷酸化的影响

H3HH 和 A10 在麦芽糖和蔗糖基质中的生长速度与在葡萄糖基质中的相似。研究这两株菌的麦芽糖和蔗糖的磷酸化,可更加全面地了解乙酸菌的糖磷酸化过程。在不同培养基中, H3HH 和 A10 依赖 PEP 和 ATP 的糖磷酸化速率见表 4。两菌株依赖 ATP 的葡萄糖磷酸化活力在几种基质中都较高,且依赖 PEP 的葡萄糖磷酸化活力都高于麦芽糖和蔗糖磷酸化活力。

H3HH 和 A10 均具有依赖 ATP 的麦芽糖磷酸化活性,但水平较低。据报道,葡萄糖

激酶和己糖激酶均不能使麦芽糖磷酸化<sup>[11]</sup>。目前尚不清楚哪些酶与这两个菌株的依赖 ATP 麦芽糖磷酸化有关,可能包括麦芽糖磷酸化酶及麦芽糖酶。A10 生长于麦芽糖或蔗糖基质时的依赖 ATP 的麦芽糖磷酸化活力高于其生长于葡萄糖基质时的活力,而 H3HH 的情形则相反。然而,培养基中糖成分的变化对其依赖 PEP 的麦芽糖磷酸化活力影响较小。

表 4 基质中糖类对菌株 H3HH 和 A10 的葡萄糖、麦芽糖和蔗糖磷酸化活力的影响

Table 4 Net specific activity of PEP-and ATP-dependent sugar phosphorylation of isolate H3HH growing on different growth substrates

生长基质 Growth substrate	葡萄糖磷酸化活力 Glucose phosphorylation		麦芽糖磷酸化活力 Maltose phosphorylation		蔗糖磷酸化活力 Sucrose phosphorylation	
	$\mu(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$		$\mu(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$		$\mu(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$	
	PEP	ATP	PEP	ATP	PEP	ATP
H3HH						
Glucose	2.98±0.01 <sup>a</sup>	28.14±0.36	1.43±0.09	0.56±0.34	0.19±0.10	ND <sup>b</sup>
Maltose	1.77±0.20	12.61±0.27	1.34±0.07	0.22±0.14	0.26±0.01	0.14±0.10
Sucrose	1.63±0.02	23.80±0.36	1.57±0.30	0.30±0.04	1.30±0.04	5.09±1.26
A10						
Glucose	7.19±0.64	13.10±0.46	1.31±0.13	0.15±0.09	0.44±0.01	0.44±0.01
Maltose	4.21±0.77	11.93±0.46	1.85±0.86	0.92±0.55	0.09±0.01	0.17±0.14
Sucrose	7.59±0.47	8.56±0.52	1.95±0.02	0.64±0.03	1.12±0.03	0.34±0.03

<sup>a</sup>Values are mean ± standard deviation(n=3)

<sup>b</sup>ND= not determined

当 A10 和 H3HH 生长于蔗糖培养基时,蔗糖磷酸化活力较高,且与磷酸基供体无关。这提示蔗糖 PTS 以及蔗糖激酶活性受到诱导。与此相似,Martin<sup>[12]</sup>发现 *S. bovis* 的依赖于 PEP 的蔗糖磷酸化活力亦可被诱导。H3HH 可能主要通过蔗糖激酶使蔗糖磷酸化,而 A10 则主要利用蔗糖磷酸化活力亦可被诱导。H3HH 可能主要通过蔗糖激酶使蔗糖磷酸化,而 A10 则主要利用蔗糖 PTS。比较三种糖的磷酸化,A10 和 H3HH 的依赖 PEP 的蔗糖磷酸化速率均为最低。

## 2.4 糖类在磷酸化过程中的竞争作用

测定<sup>14</sup>C 标记糖的磷酸化时,在培养基中加了过量的其他未标记糖,以研究 A10 和 H3HH 是否利用不同的 PTS 亚系统获取葡萄糖、麦芽糖和蔗糖(表 5)。对于 H3HH,葡萄糖和麦芽糖相互制约较大,因此依赖于 PEP 的葡萄糖和麦芽糖磷酸化作用可能由密切相关的酶催化。过量的麦芽糖抑制了 60.5% 的<sup>14</sup>C-葡萄糖磷酸化,而过量的葡萄糖抑制了 79.0% 的<sup>14</sup>C-麦芽糖磷酸化。过量的麦芽糖仅抑制 A10 中的 44.3% 的<sup>14</sup>C-麦芽糖磷酸化,却抑制了 H3HH 中 94.1% 的<sup>14</sup>C-麦芽糖磷酸化,说明 A10 对麦芽糖的摄取和磷酸化能力高于 H3HH。依赖 PEP 的磷酸化作用的相互抑制亦发生在葡萄糖与蔗糖、麦芽糖与蔗糖之间。由于在糖的竞争试验中,抑制的程度并不完全接近理论上的稀释度,故一个以上的 PTS 亚系统(如糖专一的酶 II 或酶 III),可能参与了葡萄糖、麦芽糖和蔗糖的转运。已有报道,在其它细菌中,如 *E. coli*,由不同的糖专一 PTS 的酶来转运葡萄糖、麦芽糖和蔗糖<sup>[13]</sup>。

A10和H3HH的依赖ATP的葡萄糖、麦芽糖和蔗糖磷酸化活力差异很大。从表5的

表 5 未标记糖对菌株 H3HH 和 A10 的葡萄糖、麦芽糖和蔗糖磷酸化活力的影响

Table 6 Inhibition by unlabeled sugars of PEP-and ATP-depent [ $^{14}\text{C}$ ]sugar phosphorylation in isolates H3HH and A10

标记糖类 Radio-labeled sugar	磷酸化的抑制 Inhibition of phosphorylation <sup>a</sup> /%					
	未标记葡萄糖 Unlabeled glucose		未标记麦芽糖 Unlabeled maltose		未标记蔗糖 Unlabeled sucrose	
	PEP	ATP	PEP	ATP	PEP	ATP
H3HH						
Glucose	87.1	72.6	60.5	ND <sup>b</sup>	39.1	ND
Maltose	79.0	16.3	94.1	96.0	75.2	93.4
Sucrose	59.1	79.2	51.0	85.3	84.3	ND
A10						
Glucose	87.5	87.5	51.6	13.4	50.2	3.9
Maltose	21.1	69.6	44.3	29.3	11.9	ND
Sucrose	24.1	73.5	29.5	35.3	50.9	79.4

<sup>a</sup>Cells were grown on the same but unlabeled sugar

<sup>b</sup>ND= not determined.

抑制程度上看, H3HH 中葡萄糖和麦芽糖由不同的依赖 ATP 的系统进行磷酸化,但在 A10 中,这种关系不明显。根据 H3HH 中麦芽糖和蔗糖之间较强的磷酸化相互抑制效应,可认为该菌株通过相似的酶系统使麦芽糖和蔗糖磷酸化。本实验首次表明,乙酸菌具有蔗糖磷酸化活性,即 PTS 和蔗糖激酶。依赖 ATP 的葡萄糖磷酸化作用存在着组成型,这说明细胞摄入葡萄糖时该系统首先起作用,而后才是 PTS 系统,其方式与谷氨酸脱氢酶:谷氨酰胺合成酶的氮摄入系统类似。进一步研究诱导 PTS 系统的最低糖浓度,以及葡萄糖对 Wood 途径的抑制机理,具有重要的意义。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Drake H L. Acetogenesis and Acetogenic bacteria. In : Lederberg J ed. Encyclopedia of Microbiology. San Diego, CA : Academic Press , 1992. 1~15.
- [ 2 ] Ragsdale S W. *Crit Rev Biochem Mol Biol* , 1991 , **26** : 21~300.
- [ 3 ] Saier M H Jr, Reizer J. *Mol Microbiol* , 1994 , **13** : 755~764.
- [ 4 ] Romano A H, Trifone J D, Broustolon M. *J Bacteriol* , 1979 , **139** : 93~97.
- [ 5 ] Eden G, Fuchs G. *Microbiol* , 1983 , **135** : 68~73.
- [ 6 ] Leedle J A Z, Barsuhn K, Hespell R B. *J Anim Sci* , 1986 , **62** : 789~803.
- [ 7 ] Martin S A, Russell J B. *Appl and Environ Microbiol* , 1986 , **52** : 1348~1352.
- [ 8 ] Moore G A, Martin S A. *J Anim Sci* , 1991 , **69** : 4967~4973.
- [ 9 ] Rephaeli A W, Saier M H Jr. *J Bacteriol* , 1980 , **141** : 658~663.
- [ 10 ] Postma P W, Lengeler J W. *Microbiol Rev* , 1985 , **49** : 232~269.
- [ 11 ] Barman T E. Enzyme Handbook. New York : Springer-Verlag , 1969 , 377~380.
- [ 12 ] Martin S A, Russell J B. *Appl Environ Microbiol* , 1987 , **53** : 2388~2393.
- [ 13 ] Meadow N D, Fox D K, Roseman S. *Annu Rev Biochem* , 1990 , **59** : 497~542.

## SUGAR PHOSPHORYLATION ACTIVITIES IN ACETOGENIC BACTERIA

Jiang Weihong<sup>1,2</sup> Patterson John A<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

(<sup>2</sup>Department of Animal Sciences, Purdue University, IN47907, USA)

**Abstract** Seven acetogenic bacteria (*Acetitomaculum ruminis*, *Acetobacterium woodii*, *Eubacterium limosum* as well as isolates A2, A4, A10 and H3HH) were tested for PEP- and ATP-dependent phosphorylation of glucose and 2-deoxyglucose. Although all organisms had detectable phosphorylation activity, substantial variation existed in the rates of both PEP- and ATP-dependent phosphorylation. Isolate A10 had the highest rate of PEP-dependent phosphorylation of  $11.62 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . Isolate A10, H3HH as well as *E. limosum* most likely have a glucose phosphotransferase system (PTS). In contrast, *A. ruminis*, *A. woodii* and isolate A2, A4 had PEP-dependent glucose phosphorylation rates very similar to control rates, suggesting the lack of PTS activity. The rates of ATP-dependent glucose phosphorylation were higher than PEP-dependent phosphorylation in all organisms surveyed. However, substantial variation existed in the rates of ATP-dependent glucose phosphorylation. The glucose PTS of isolates A10 and H3HH were induced by the presence of extracellular glucose. Moreover, the specific activity of the glucose PTS of both isolates increased as cultures progressed from the early log to late log phase of growth. ATP- and PEP-dependent maltose and sucrose phosphorylation was detected in isolates A10 and H3HH. Although activity was detected in both isolates (A10 and H3HH), the rate of activity varied considerably, depending on the sugar and organism tested.

**Key words** Acetogenic bacteria, Sugar phosphorylation, Phosphotransferase system