

古菌独特的脱氧酮糖酸(ED)葡萄糖酵解途径

刘天明¹, 申玉龙², 刘庆军¹, 刘波^{1*}

¹ 山东轻工业学院食品与生物工程学院, 济南 250353)

² 山东大学微生物技术国家重点实验室, 济南 250100)

摘要: 葡萄糖通过“中心代谢途径”降解为丙酮酸的过程对于生物体物质及能量的代谢具有重要的作用。古菌的葡萄糖酵解过程具有与真核生物以及细菌葡萄糖代谢显著不同的特征。生化性质分析、基因组学、代谢组学等研究结果表明, 古菌糖酵解 Embden-Meyerhof(EM)与 Entner-Doudoroff(ED)途径具有许多与真核生物及细菌经典的EM与ED途径不同的特异性酶类, 其中ED糖酵解代谢又可分为非磷酸化与半磷酸化的糖酵解途径。古菌独特的ED糖酵解途径在代谢路径、酶、调节位点、表达调控、能量转化等方面与真核生物及细菌经典的糖酵解途径均存在明显的差异, 反映了其适应极端的生理环境而形成可塑性代谢路径的能力。本文综述了古菌ED葡萄糖降解过程中的各种酶、调控机制以及能量转化特征的最新进展, 并对进一步的研究方向做了展望。

关键词: 古菌; 糖酵解; Entner-Doudoroff(ED)途径; 极端酶; ATP

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2008)08-1126-06

葡萄糖是生物体利用最普遍的单糖营养物质^[1]。

葡萄糖通过被称为“中心代谢途径”的糖酵解过程转化为丙酮酸, 进而通过三羧酸循环等过程最终降解为二氧化碳、水等小分子物质, 并释放出能量(ATP)供细胞生长发育的需要^[1]。迄今, 对于真核生物与细菌的糖酵解过程已经进行了深入的研究^[2], 其糖酵解途径可分为: 经典的EM途径与ED途径以及氧化的磷酸戊糖途径。古菌, 作为生命的“第三种形式”, 其生理习性、代谢途径、遗传机制等均呈现出不同于真核生物与细菌的特点^[3]。研究古菌的代谢过程不但有可能揭示生命起源的机制, 而且对于有效的利用这种微生物以及来自其中的极端酶类等也具有重要的现实意义^[4]。古菌糖酵解的研究在Woese等提出生命三域学说的90年代初开始起步^[5]。目前, 国际上关于古菌糖酵解代谢的综述多报道于2005年前^[6,7], 而近年来随着许多新的研究成果的出现, 古菌中心代谢途径已成为极端微生物研究的一个热点领域。

1 古菌糖酵解途径概述

与真核生物与细菌不同, 古菌中仅存在EM途径与ED途径, 而缺少氧化的磷酸戊糖途径。古菌EM与ED途径具有与真核生物及细菌经典的EM与ED途径显著不同的特点。这主要体现在: 第一, 糖酵解过程中的部分路径即经过的中间代谢物转化过程不同; 第二, 许多新的酶或酶家族催化糖酵解过程中的同一或不同代谢步骤^[7]。目前, EM糖酵解途径多报道于厌氧性古菌 *Pyrococcus furiosus*、*Thermococcus litoralis* 等, 而ED途径主要发现于 *Sulfolobus solfataricus*、*Picrophilus torridus* 等好氧性古菌。

2 古菌ED葡萄糖酵解途径概述

在古菌ED途径中, 葡萄糖首先经过脱氢、脱水生成2-酮-3-脱氧葡萄糖酸, 后者经过磷酸化(半磷酸化的ED途径)或直接(非磷酸化的ED途径)裂

基金项目: 山东省自然科学基金(Y2005D15); 国家“973项目”(2004CB719604)

*通讯作者。Tel: +86-531-89631192; E-mail: ertrdfgg@yahoo.com.cn

作者简介: 刘天明(1961-), 男, 陕西咸阳市人, 博士, 教授。研究方向为微生物代谢调控。E-mail: Liutm2008@163.com

收稿日期: 2007-12-13; 修回日期: 2008-05-05

解为 3-磷酸甘油醛或甘油醛,随后由甘油醛 3-磷酸脱氢酶氧化 3-磷酸甘油醛为 3-磷酸甘油酸,或者由甘油醛脱氢酶将甘油醛氧化为甘油酸,再由甘油酸激酶催化生成 2-磷酸甘油酸^[7]。其中,磷酸甘油酸变位酶、烯醇化酶、丙酮酸激酶催化 EM 与 ED 途径中相同的代谢途径^[6,7]。目前研究较详细的是来自嗜热酸性古菌 *Sulfolobus solfataricus* 中的 ED 糖酵解途径。与真核生物和细菌不同(1 个葡萄糖分子生成 1 分子 ATP),古菌 ED 糖酵解途径中没有净 ATP 的产生^[7]。

3 半磷酸化的 ED 糖酵解途径

3.1 半磷酸化的 ED 糖酵解途径代谢酶类概述

古菌半磷酸化的 ED 糖酵解途径共有 8 种酶催化

完成(表 1)^[6,7]。除烯醇化酶外,古菌 ED 糖酵解酶类与真核生物及细菌糖酵解酶类缺少或具有较低的序列相似性,它们往往形成一类新的家族或亚族,其生化性质、催化活性及调控机制等具有显著的特征。

3.2 半磷酸化 ED 糖酵解途径代谢酶类的生化性质特点

3.2.1 嗜极性:古菌多生存于深海火山口、热泉等极端自然环境中,其糖酵解酶类往往具有嗜酸(碱)、嗜盐、嗜热与热稳定性等特征^[8]。*Sulfolobus tokodaii* 2-酮-3-脱氧葡萄糖酸激酶的最适酶活温度及 pH 分别为 80 与 8.5,80 热处理 1 h 后对酶活没有影响^[9]; *Pyrobaculum aerophilum* 丙酮酸激酶最适酶活温度在 98 以上,100 时的半衰期达 220 min^[10]。

3.2.2 聚体化:古菌 ED 糖酵解酶类一般以聚体存在,

表 1 古菌 ED 途径中的糖酵解酶类

Table 1 The enzymes involved in the Entner-Doudoroff glycolytic pathway in Archaea.

Enzyme	Pathway	Substrate/cofactor	Sequence character	Catalytic speciality	Source/Reference
Glucose dehydrogenase	ED	Glucose, NAD(P) ⁺	Homologous to alcohol dehydrogenases with Zn ²⁺	Oxidation of galactose	TA[11], TT[33], HM[37], SSO[18], STO[38], PTO[22]
Gluconate dehydratase	ED	Gluconate	Lys159Xaa160Lys161 motif	Dehydration of galactarate, activation by phosphorylation with protein kinase	SSO[8], TT[13]
2-keto-3-deoxy gluconate kinase	sp ED	2-keto-3-deoxy-gluconate, ATP	KDG and ATP binding amino acids	ATP dependence	SSO[12], STO[9], HS[34]
2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate aldolase	sp ED	2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate	N-acetylneuraminatase superfamily	Cleavage of 2-keto-3-deoxy-6-phosphogalactonate, bifunctional (KDG/KDPG aldolase)	SSO[13], STO[40], TT[13]
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	sp ED	Glyceraldehyde-3-phosphate NAD(P) ⁺	aldehyde dehydrogenase superfamily	Allosteric regulation by metabolites in glycolysis	SSO[14], TT[15], MF[23]
Phosphoglycerate mutase	ED,EM	3-Phosphoglycerate, divalent metal ions	Alkaline phosphatase super family, conserved Trp residue	2,3-diphosphoglycerate dependence and independence types	MJ[19], SSO[20], PF[21]
Enolase	ED,EM	2-Phosphoglycerate, divalent metal ions	Homologous to enolase from Eukarya and Bacteria	Thermostability	PF[40]
Pyruvate kinase	ED,EM	Phosphoenolpyruvate, ADP/AMP, divalent metal ions	Absence of conserved Glu for K ⁺ binding	Independence on K ⁺	AFU[10], APE[10], PAE[10], TT[16], PF[36]
2-keto-3-deoxygluconate aldolase	np ED	2-keto-3-deoxygluconate	N-acetylneuraminatase superfamily	Cleavage of 2-keto-3-deoxygalactonate, bifunctional (KDG/KDPG aldolase)	SSO[13], STO[39], TT[13]
Glyceraldehyde dehydrogenase	dehy- np ED	Glyceraldehyde, NADP ⁺	Aldehydedehydrogenase superfamily	Oxidation of hydroxyl aldehyde such as GA,GAP, glycolaldehyde	PTO[31], TA[31]
Glycerate kinase	np ED	Glycerate, ATP	MOFRL domain, seven conserved catalytic amino acids and Glycine loop	2-phosphoglycerate forming, phosphoryl donor specificity, thermostability	TA[27], TT[29], PTO[28], PH[30]

Abbreviations: TA, *Thermoplasma acidophilum*; TT, *Thermoproteus tenax*; HM, *Haloferax mediterranei*; SSO, *Sulfolobus solfataricus*; STO, *Sulfolobus tokodaii*; PTO, *Picrophilus torridus*; HS, *Halococcus saccharolyticus*; MF, *Methanothermus fervidus*; PF, *Pyrococcus furiosus*; MJ, *Methanocaldococcus jannaschii*; AFU, *Archaeoglobus fulgidus*; APE, *Aeropyrum pernix*; PAE, *Pyrobaculum aerophilum*; PH, *pyrococcus horikoshii*. Sp: semi-phosphorylative, np: non-phosphorylative.

如 *Thermoproteus tenax* 丙酮酸激酶为四聚体等^[11-17]。生化与结构分析证明,聚体化是维持极端酶类嗜热性与热稳定性的重要因素之一,许多古菌糖酵解酶类是研究酶进化、稳定性、结构与功能关系等的适宜材料^[4],如 *Sulfolobus solfataricus* 葡萄糖脱氢酶等^[18]。

3.2.3 同源基因与同工酶:基因组序列分析显示,古菌糖酵解酶类有时以同工酶形式存在或者存在一种酶的多个定向进化同源基因,如在 *Thermoproteus tenax* 中鉴定的甘油醛 3-磷酸脱氢酶有两种,一种为 NAD⁺依赖型,另一种为 NADP⁺依赖型^[15]; *Sulfolobus solfataricus* 基因组含有多个甘油醛 3-磷酸脱氢酶旁系同源基因(paralogs)^[14]; *Sulfolobus* 和 *Thermoplasma* 属古菌存在两种类型的磷酸甘油酸变位酶,但它们的酶学性质尚不清楚^[19-21]。

3.3 半磷酸化 ED 糖酵解途径代谢酶类的催化特性

3.3.1 底物与辅助因子: *Picrophilus torridus* 等古菌葡萄糖脱氢酶对于半乳糖、艾杜糖、木糖等也具有较弱的氧化活性^[11, 22]。NAD⁺或 NADP⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺与 Zn²⁺均可作为 *Sulfolobus solfataricus* 葡萄糖脱氢酶的催化辅助因子,结构解析阐明了其对不同底物的选择性^[18]; *Sulfolobus solfataricus* 葡萄糖酸脱水酶、2-酮-3-脱氧葡萄糖酸激酶、2-酮-3-脱氧葡萄糖酸醛缩酶分别能够催化半乳糖酸的脱水以及 2-酮-3-脱氧半乳糖酸的磷酸化与裂解^[8, 12, 13]。上述糖酵解酶类催化“底物混杂性”的特点说明古菌糖酵解蛋白在系统发育过程中可能处于较早的起源地位。

3.3.2 激活剂与抑制剂,对变性剂、有机溶剂、重金属等的抗性

研究表明,古菌糖酵解酶的活性受许多金属离子或有机化合物的调节。二价金属离子 Co²⁺, Ni²⁺, Mg²⁺能够促进 *Sulfolobus solfataricus* 葡萄糖酸脱水酶的活性^[8]; ATP 能够抑制 *Archaeoglobus fulgidus* 丙酮酸激酶的活性,而 ADP、磷酸烯醇式丙酮酸能够消除对酶活的上述抑制作用^[10]。另外,古菌糖酵解酶类对于重金属离子、有机溶剂、变性剂等一般具有较强的抗性。例如, *Sulfolobus solfataricus* 葡萄糖脱氢酶对于甲醇与丙酮具有很强的抗性^[18]、*Sulfolobus solfataricus* 2-酮-3-脱氧葡萄糖酸激酶对于 Fe²⁺、Ca²⁺等重金属离子具有抵抗作用等^[12, 23]。

3.4 半磷酸化 ED 糖酵解途径代谢的调节

糖酵解代谢调控主要是对酶催化水平的调节,包括酶合成与酶活性水平的调节。真核生物与细菌糖酵

解途径的主要调控步骤为酶活性水平的调节,包括葡萄糖激酶、磷酸果糖激酶与丙酮酸激酶 3 个酶^[6, 7],其活性受许多糖酵解中间代谢物的变构调节。同细菌中类似,古菌糖酵解酶编码基因往往形成转录单元基因簇(gene cluster)。 *T. tenax* 丙酮酸激酶基因 mRNA 水平以葡萄糖为碳源异养生长时是自养生长时的 4 倍,说明该酶的活性主要在转录水平上进行调节^[24]。在古菌中,仅有 *Thermococcus kodakaraensis* 中一种参与糖酵解过程的转录调节因子在最近刚刚报道^[25]。与真核生物及细菌不同,古菌 ED 糖代谢调控的变构调节位点为甘油醛 3-磷酸脱氢酶。 *T. tenax* 非磷酸化的甘油醛 3-磷酸脱氢酶受 AMP, ADP, 1-磷酸葡萄糖, 6-磷酸果糖等许多糖酵解中间代谢物的变构调节,而磷酸化的甘油醛 3-磷酸脱氢酶缺少变构调节机制,主要参与糖异生途径中^[15]。 *Sulfolobus solfataricus* 甘油醛 3-磷酸脱氢酶的变构调节机制与 *T. tenax* 中甘油醛 3-磷酸脱氢酶存在明显差异^[14]。

4 非磷酸化的 ED 糖酵解途径

非磷酸化的 ED 糖酵解途径与半磷酸化的 ED 途径的区别在于 2-酮-3-脱氧葡萄糖向 2-磷酸甘油酸转化过程的不同,其中涉及 3 个酶: 2-酮-3-脱氧葡萄糖醛缩酶、甘油醛脱氢酶、甘油酸激酶^[7](表 1)。其中, *S. solfataricus* 和 *T. tenax* 中负责裂解 2-酮-3-脱氧葡萄糖酸与 2-酮-3-脱氧磷酸葡萄糖酸的双功能醛缩酶已经鉴定^[13]。

甘油酸激酶(生成 2-磷酸甘油酸)被认为是非磷酸化 ED 途径中的一个特征性酶^[26]。 *Thermoplasma acidophilum* 甘油酸激酶为单体,只能利用 ATP 作为磷酸供体^[27],而 *Picrophilus torridus*、 *Thermoproteus tenax* 甘油酸激酶为二聚体,能够利用 ATP、GTP 等多种磷酸供体^[28, 29]。最近,我们报道了来自超嗜热球古菌 *Pyrococcus horikoshii* 的一种极端热稳定的甘油酸激酶。该酶能够利用 ADP、PPi 等作为磷酸供体,单价金属离子 K⁺等对酶活有促进作用。序列及系统进化分析表明,古菌甘油酸激酶含有亮氨酸富集结构域,属于甘油酸激酶“三分法”中的第二家族^[30]。

最近,古菌非磷酸化的 ED 糖酵解途径中的一个关键酶—甘油醛脱氢酶在嗜酸性广古菌 *Picrophilus torridus* 和 *Thermoplasma acidophilum* 中报道^[31]。二者均只能利用 NADP⁺为电子受体而不能利用 NAD⁺。序列以及系统进化分析显示它们含有保守的催化谷

氨酸(Glu)与半胱氨酸(Cys)残基以及典型的特征序列 GlyXaaThrXaaXaaGly (Rossmann fold)。迄今, 还未有关于古菌半磷酸 ED 糖酵解途径调控研究的报道。

古菌独特的 ED 葡萄糖酵解途径具有重要的生理学意义。目前认为古细菌是地球上最古老的生命形式, 但仅基于 16SrRNA 序列的系统进化分类仍需要进一步的生物学证据证实。近年来, 古菌生理特性、遗传机制、生态分布以及能量转化特征的研究, 为探索地球上生命的起源, 提供了有力的佐证^[3]。糖酵解代谢在生物新陈代谢中处于“中心地位”, 因此, 古菌糖酵解途径的物质与能量转化特征, 集中体现了早期生命的代谢机制。古菌中许多与真核生物及细菌在生化性质、催化特性、结构、调控特征等方面不同的糖酵解酶类体现了生命三域在代谢水平上独立的进化关系。Ronimus 等通过系统进化分析表明, 真核生物与细菌之间糖酵解酶类的序列亲缘关系较近, 而古菌糖酵解酶类多具有早期生命起源的特征, 并指出嗜热古菌是地球上产生的最早生命形式^[32]。另外, 古菌糖酵解代谢还与能量代谢转化密切相关。由甘油醛 3-磷酸脱氢酶(古菌 ED 糖酵解途径)替代甘油醛 3-磷酸脱氢酶与磷酸甘油酸激酶(真核生物与细菌 ED 糖酵解途径, 存在一步底物水平的磷酸化)的 3-磷酸甘油醛氧化过程缺少了一步底物水平的磷酸化^[6, 7], 因此在古菌 ED 糖酵解途径中没有净 ATP 的产生, 体现了早期生命起源在代谢水平的适应性^[7, 32]。

古菌、真核生物以及细菌中心代谢途径的差异反映了生物体在不同生理环境中形成“可塑性”代谢路径的能力。古菌糖酵解代谢途径的一个特点是“多样性”, 迄今发现的所有能利用 ED 途径的古菌均存在分支的非磷酸化与半磷酸化的 ED 糖酵解途径, 而 *Thermoproteus tenax* 是目前发现的唯一能够利用 EM 与 ED 两种糖酵解途径的古菌^[7, 33]。虽然甘油醛 3-磷酸脱氢酶与磷酸甘油酸激酶在古菌中主要参与糖异生合成途径, 但在嗜盐古菌的 EM 与 ED 糖酵解途径中 3-磷酸甘油醛的氧化由这两个酶完成, 因此嗜盐古菌的葡萄糖代谢更类似于真核生物与细菌^[34]。另外, 许多古菌糖酵解酶类能够催化结构不同的底物, 它们可能参与几种不同的代谢途径, 体现了古菌有机物代谢“混杂性”的特点^[18]。最后, 古菌 ED 糖酵解途径中由甘油醛 3-磷酸脱氢酶替代了真核生物与细菌中甘油醛 3-磷酸脱氢酶与磷酸甘油酸激酶催化 3-磷酸

甘油醛的氧化, 避免了热不稳定性化合物 1, 3-二磷酸甘油酸的产生^[7], 因此古菌糖酵解途径可能与其热适应性有关^[14]。

5 展望

虽然对于古菌 ED 糖酵解的研究已取得很大的进展, 但其中仍有很多细节尚不清楚, 目前的研究方向主要有 3 个方面。

5.1 关键 ED 糖酵解酶类的鉴定

在 ED 糖酵解途径的代表性菌株 *Thermoproteus tenax* 与 *Sulfolobus* 属泉古菌中的甘油醛脱氢酶至尽没有鉴定。Reher 等在 *Sulfolobus solfataricus* 细胞提取物中没有检测到甘油醛脱氢酶的活性, 他们推测在 *Sulfolobus* 属中可能存在一种新的甘油醛脱氢酶^[31]。*Sulfolobus solfataricus* 甘油醛 3-磷酸脱氢酶具有 4 个旁系同源基因, 其编码蛋白也可能具有非磷酸化 ED 途径中甘油醛脱氢酶的功能, 其中的一个同源蛋白(SSO3117)已检测到具有氧化甘油醛的活性^[14]。另外, 在典型的利用非磷酸化 ED 途径的 *Sulfolobus* 属等古菌中的丙酮酸激酶与甘油酸激酶等关键酶类也尚未阐明。这些酶类在生物体内的生理功能以及调控机制是亟待研究的课题^[35]。

5.2 糖酵解酶类的应用

目前真核生物与细菌来源的糖酵解酶类已广泛应用于生物工程与医药诊断领域, 如酵母来源的葡萄糖激酶、烯醇化酶等。由于古菌糖酵解酶类往往具有独特的生化性质或催化特性(如底物选择性、产物特异性、高催化效率), 许多糖酵解“极端酶”在生物催化领域具有极大的应用潜能, 对于自然界糖类化合物的有目的转化具有重要的应用价值, 如葡萄糖脱氢酶应用于葡萄糖结构的分析诊断^[18]、利用古菌来源的甘油酸激酶制备有机化合物 2-磷酸甘油酸等^[30]。

5.3 糖酵解代谢调控

目前, 由于古菌尚未建立起完善的遗传转化系统, 对于糖酵解代谢参与蛋白的研究基本上还处于体外生化性质分析水平。*Sulfolobus solfataricus* 葡萄糖酸脱水酶活性能够被依赖于蛋白质激酶的磷酸化作用激活, 说明糖酵解代谢可能受体内多种信号分子的调控^[8]。另外, 目前利用古菌发酵生产与转化有机物的研究刚刚开始, 对于古菌糖酵解代谢调控机理的阐明, 将有助于我们进一步利用古菌进行代谢控制发酵。最后, 需要指出的是, 古菌的葡萄糖酵解途径存

在于生物体复杂的新陈代谢调控网络中,必然受体内其他生理过程如糖原代谢、糖异生以及戊糖化化合物的代谢等的影响或与之发生各种各样的联系,因此,对于古菌糖酵解代谢调控的研究应该从系统生物学的观点出发,利用基因组学、蛋白组学、代谢组学、遗传分析、生化性质鉴定等多种方法,不但有可能揭示这种“古老”的生命形式独特的代谢机制,也有望阐明生命的起源、进化等重要理论问题并最终为解决人类资源、环境等重大现实问题而服务。

参 考 文 献

- [1] Sunna A, Moracci M, Rossi M, *et al.* Glycosyl hydrolases from hyperthermophiles. *Extremophiles*, 1997, 1: 2–13.
- [2] Peng L, Shimizu K. Global metabolic regulation analysis for *Escherichia coli* K12 based on protein expression by 2-dimensional electrophoresis and enzyme activity measurement. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 61: 163–178.
- [3] Reeve JN, Schmitz RA. Biology, biochemistry and the molecular machinery of Archaea. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8: 627–629.
- [4] Vieille C, Zeikus GJ. Hyperthermophilic Enzymes: sources, uses, and molecular mechanisms for thermostability. *Microbiol Molecul Biol Rev*, 2001, 65: 1–43.
- [5] Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87: 4576–4579.
- [6] Verhees CH, Kengen SW, Tuininga JE, *et al.* The unique features of glycolytic pathways in archaea. *Biochem J*, 2003, 375: 231–246.
- [7] Siebers B, Schönheit P. Unusual pathways and enzymes of central carbohydrate metabolism in Archaea. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8: 695–705.
- [8] Kim S, Lee SB. Identification and characterization of *Sulfolobus solfataricus* D-gluconate dehydratase: a key enzyme in the non-phosphorylated Entner-Doudoroff pathway. *Biochem J*, 2005, 387: 271–280.
- [9] Ohshima T, Kawakami R, Kanai Y, *et al.* Gene expression and characterization of 2-keto-3-deoxygluconate kinase, a key enzyme in the modified Entner-Doudoroff pathway of the aerobic and acidophilic hyperthermophile *Sulfolobus tokodaii*. *Protein Expr Purif*, 2007, 54: 73–78.
- [10] Johnsen U, Hansen T, Schönheit P. Comparative analysis of pyruvate kinases from the hyperthermophilic archaea *Archaeoglobus fulgidus*, *Aeropyrum permix*, and *Pyrobaculum aerophilum* and the hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima*: unusual regulatory properties in hyperthermophil archaea. *J Biol Chem*, 2003, 278: 25417–25427.
- [11] Bright JR, Bryom D, Danson MJ, *et al.* Cloning, sequencing and expression of the gene encoding glucose dehydrogenase from the thermophilic archaeon *Thermoplasma acidophilum*. *Eur J Biochem*, 1993, 211: 549–554.
- [12] Kim S, Lee SB. Characterization of *Sulfolobus solfataricus* 2-keto-3-deoxy-D-gluconate kinase in the modified Entner-Doudoroff pathway. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, 70: 1308–1316.
- [13] Ahmed H, Ettema TJ, Tjaden B, *et al.* The semi-phosphorylative Entner-Doudoroff pathway in hyperthermophilic archaea: a re-evaluation. *Biochem J*, 2005, 390: 529–540.
- [14] Ettema TJ, Ahmed H, Geerling AC, *et al.* The non-phosphorylating glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPN) of *Sulfolobus solfataricus*: a key-enzyme of the semi-phosphorylative branch of the Entner-Doudoroff pathway. *Extremophiles*, 2008, 12: 75–88.
- [15] Brunner NA, Siebers B, Hensel R. Role of two different glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases in controlling the reversible Embden-Meyerhof-Parnas pathway in *Thermoproteus tenax*: regulation on protein and transcript level. *Extremophiles*, 2001, 5: 101–109.
- [16] Schramm A, Siebers B, Tjaden B, *et al.* Pyruvate kinase of the hyperthermophilic crenarchaeote *Thermoproteus tenax*: physiological role and phylogenetic aspects. *J Bacteriol*, 2000, 182: 2001–2009.
- [17] Potter S, Fothergill-Gilmore LA. Purification and properties of pyruvate kinase from *Thermoplasma acidophilum*. *FEMS Microbiol Lett*, 1992, 73: 235–239.
- [18] Milburn CC, Lambie HJ, Theodossis A, *et al.* The structural basis of substrate promiscuity in glucose dehydrogenase from the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus*. *J Biol Chem*, 2006, 281: 14796–14804.
- [19] Graham DE, Xu H, White RH. A divergent archaeal member of the alkaline phosphatase binuclear metalloenzyme superfamily has phosphoglycerate mutase activity. *FEBS Lett*, 2002, 517: 190–194.
- [20] Potters MB, Solow BT, Bischoff KM, *et al.* Phosphoprotein with phosphoglycerate mutase activity from the archaeon *Sulfolobus solfataricus*. *J Bacteriol*, 2003, 185: 2112–2121.
- [21] van der Oost J, Huynen MA, Verhees CH. Molecular characterization of phosphoglycerate mutase in archaea. *FEMS Microbiol Lett*, 2002, 212: 111–120.
- [22] Angelov A, Futterer O, Valerius O, *et al.* Properties of the recombinant glucose/galactose dehydrogenase from the extreme thermoacidophile, *Picrophilus torridus*. *FEBS J*, 2005, 272: 1054–1062.
- [23] Fabry S, Hensel R. Purification and characterization of D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from the thermophilic archaeobacterium *Methanothermobacter feravidus*. *Eur J Biochem*, 1987, 165: 147–155.
- [24] Tjaden B, Plagens A, Dorr C, *et al.* Phosphoenolpyruvate synthetase and pyruvate, phosphate dikinase of *Thermoproteus tenax*: key pieces in the puzzle of archaeal carbohydrate metabolism. *Mol Microbiol*, 2006, 60: 287–298.
- [25] Kanai T, Akerboom J, Takedomi S, *et al.* A global transcriptional regulator in *Thermococcus kodakaraensis* controls the expression levels of both glycolytic and gluconeogenic enzyme-encoding genes. *J Biol Chem*, 2007, 282: 33659–33670.
- [26] Ahmed H, Kehr D, Siebers B. From genome to function: the branched Entner-Doudoroff pathway in *Thermoproteus tenax*. The 6th international congress on Extremophiles, *Book of abstracts*, 2006 Sep 17–26, Brest, France. 2006, 83.
- [27] Noh M, Jung JH, Lee SB. Purification and characterization of glycerate kinase from the thermoacidophilic archaeon *Thermo-*

- plasma acidophilum*: an enzyme belonging to the second glycerate kinase family. *Biotechnol. Bioprocess Eng*, 2006, 11: 344–350.
- [28] Reher M, Bott M, Schönheit P. Characterization of glycerate kinase (2-phosphoglycerate forming), a key enzyme of the non-phosphorylative Entner-Doudoroff pathway, from the thermoacidophilic euryarchaeon *Picrophilus torridus*. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 259: 113–119.
- [29] Kehrer D, Ahmed H, Brinkmann H, *et al.* Glycerate kinase of the hyperthermophilic archaeon *Thermoproteus tenax*: new insights into the phylogenetic distribution and physiological role of members of the three different glycerate kinase classes. *BMC Genomics*, 2007, 8: 301.
- [30] Liu B, Hong Y, Wu L, *et al.* A unique highly thermostable 2-phosphoglycerate forming glycerate kinase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus horikoshii*: gene cloning, expression and characterization. *Extremophiles*, 2007, 11: 733–739.
- [31] Reher M, Schönheit P. Glyceraldehyde dehydrogenases from the thermoacidophilic euryarchaeota *Picrophilus torridus* and *Thermoplasma acidophilum*, key enzymes of the non-phosphorylative Entner-Doudoroff pathway, constitute a novel enzyme family within the aldehyde dehydrogenase. *FEBS Lett*, 2006, 580: 1198–1204.
- [32] Ronimus RS, Morgan HW. Distribution and phylogenies of enzymes of the Embden-Meyerhof-Parnas pathway from archaea and hyperthermophilic bacteria support a gluconeogenic origin of metabolism. *Archaea*, 2003, 1: 199–221.
- [33] Siebers B, Tjaden B, Michalke K, *et al.* Reconstruction of the Central Carbohydrate Metabolism of *Thermoproteus tenax*. *J Bacteriol*, 2004, 186: 2179–2194.
- [34] Johnsen U, Selig M, Xavier KB, *et al.* Different glycolytic pathways for glucose and fructose in the halophilic archaeon *Halo-coccus saccharolyticus*. *Arch Microbiol*, 2001, 175: 52–61.
- [35] Imanaka H, Yamatsu A, Fukui T, *et al.* Phosphoenolpyruvate synthase plays an essential role for glycolysis in the modified Embden-Meyerhof pathway in *Thermococcus kodakarensis*. *Mol Microbiol*, 2006, 61: 898–909.
- [36] Sakuraba H, Utsumi E, Kujo C, *et al.* An AMP-dependent (ATP-forming) kinase in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*: characterization and novel physiological role. *Arch Biochem Biophys*, 1999, 364: 125–128.
- [37] Pire C, Esclapez J, Ferrer J, *et al.* Heterologous overexpression of glucose dehydrogenase from the halophilic archaeon *Haloferax mediterranei*, an enzyme of the medium chain dehydrogenase/reductase family. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 200: 221–227.
- [38] Ohshima T, Ito Y, Sakuraba H, *et al.* The *Sulfolobus tokodaii* gene ST1704 codes highly thermostable glucose dehydrogenase. *J Mol Catal B Enzym*, 2003, 23: 281–289.
- [39] Wolterink-van Loo S, van Eerde A, Siemerink MA, *et al.* Biochemical and structural exploration of the catalytic capacity of *Sulfolobus* KDG aldolases. *Biochem J*, 2007, 403: 421–430.
- [40] Peak MJ, Peak JG, Stevens FJ, *et al.* The hyperthermophilic glycolytic enzyme enolase in the archaeon, *Pyrococcus furiosus*: comparison with mesophilic enolases. *Arch Biochem Biophys*, 1994, 313: 280–286.

The unique Entner-Doudoroff (ED) glycolysis pathway of glucose in Archaea—A review

Tianming Liu¹, Yulong Shen², Qingjun Liu¹, Bo Liu^{1*}

¹College of Food and Bionengineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250353, China)

²State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: Glucose is degraded to pyruvate via the so called “central metabolic pathways” that play vital roles in the carbohydrate and energy metabolism of organisms. Some variances to the classical glycolytic pathways in bacteria and eukarya are presented in the glycolysis of archaea. Results from biochemical, genomic and metabolomic studies indicate that some novel and characteristic enzymes are involved in the archaeal Embden-Meyerhof (EM) and Entner-Doudoroff (ED) glycolysis pathway. The ED pathway in archaea is divided into two sub-routes—the semi-phosphorylative and non-phosphorylative Entner-Doudoroff pathways. The unique glycolysis pathway in archaea is different from those in bacteria and eukarya in metabolic route, enzyme, regulation site, and energy transformation. These characteristics show the ability of these extremophiles to evolve flexible metabolic pathways in the extreme life environment. We reviewed recent advances in the ED glycolytic pathway of archaeon concerning enzymes, regulation and energy transformation. The potentials of glycolysis pathway in archaea were also discussed.

Keywords: Archaea; glycolysis; Entner-Doudoroff (ED) pathway; extremozymes; ATP

Supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province of China (Y2005D15) and the Key Project of China National Programs for Fundamental Research and Development (2004CB719604)

*Corresponding author. Tel: +86-531-89631192; E-mail: ertrdfgg@yahoo.com.cn

Received: 13 December 2008/ Revised: 5 May 2008