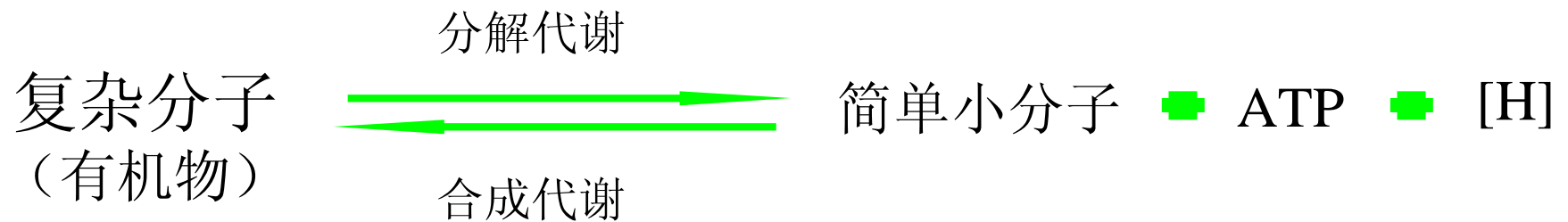
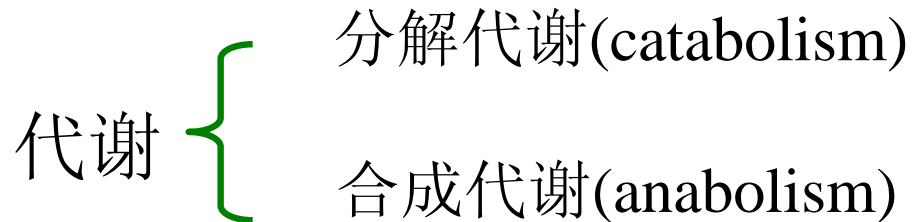


第六章 微生物的代谢

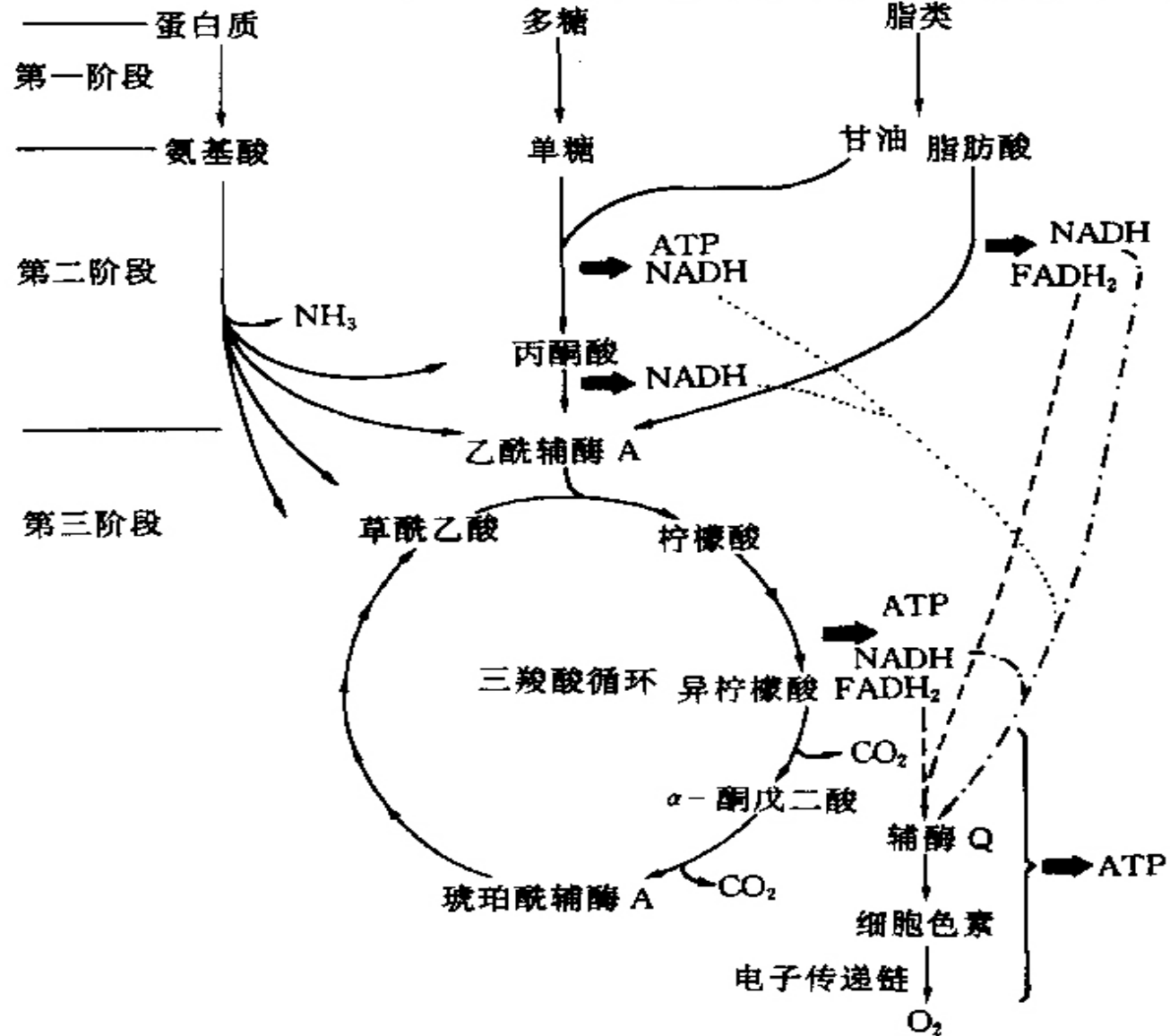
- Ä 第一节 概述
- Ä 第二节 微生物的能量代谢
- Ä 第三节 微生物特有的合成代谢
- Ä 第四节 微生物代谢的调节

第一节 代谢概论

代谢 (metabolism) : 细胞内发生的各种化学反应的总称



分解代谢的三个阶段



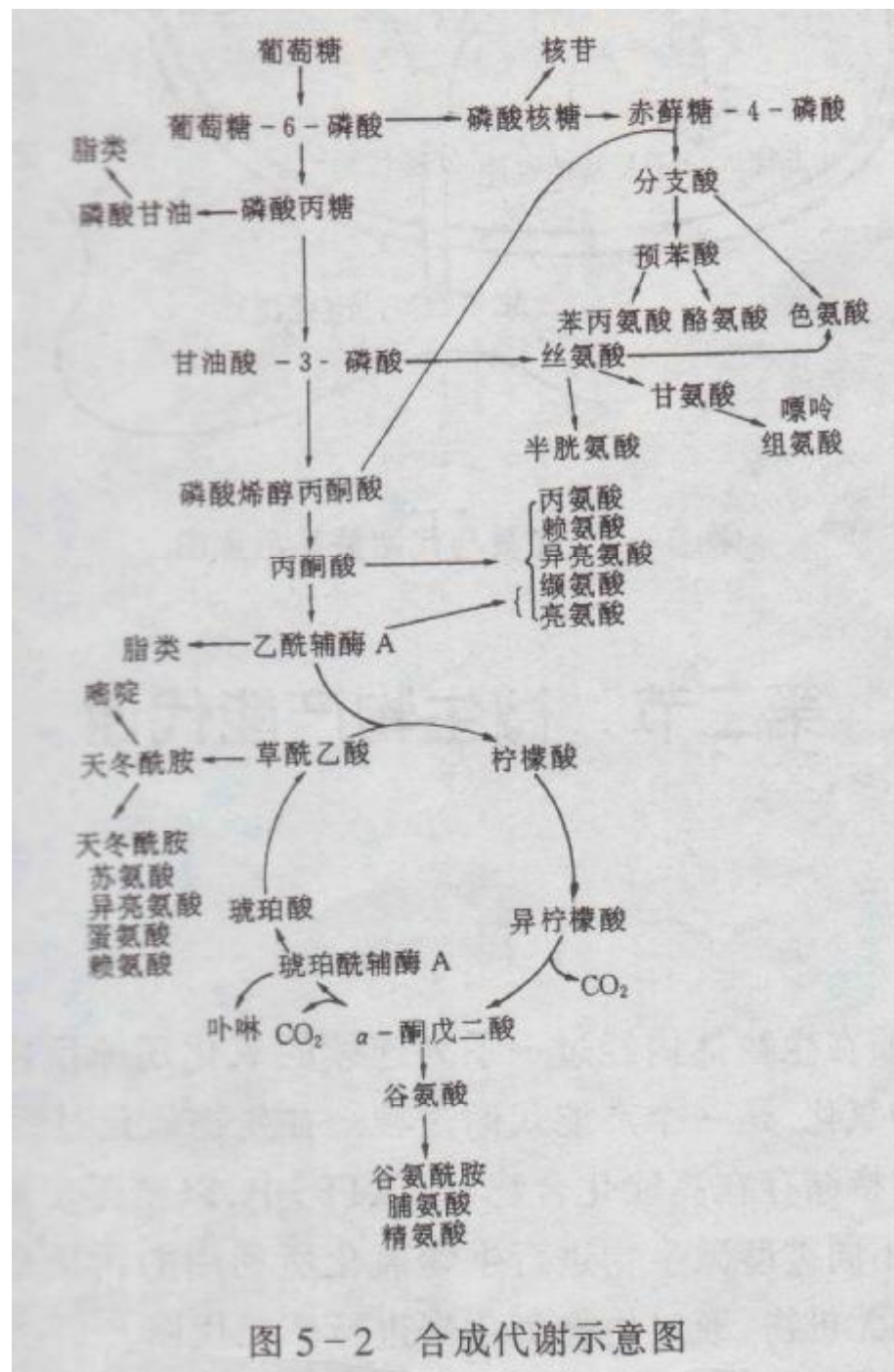
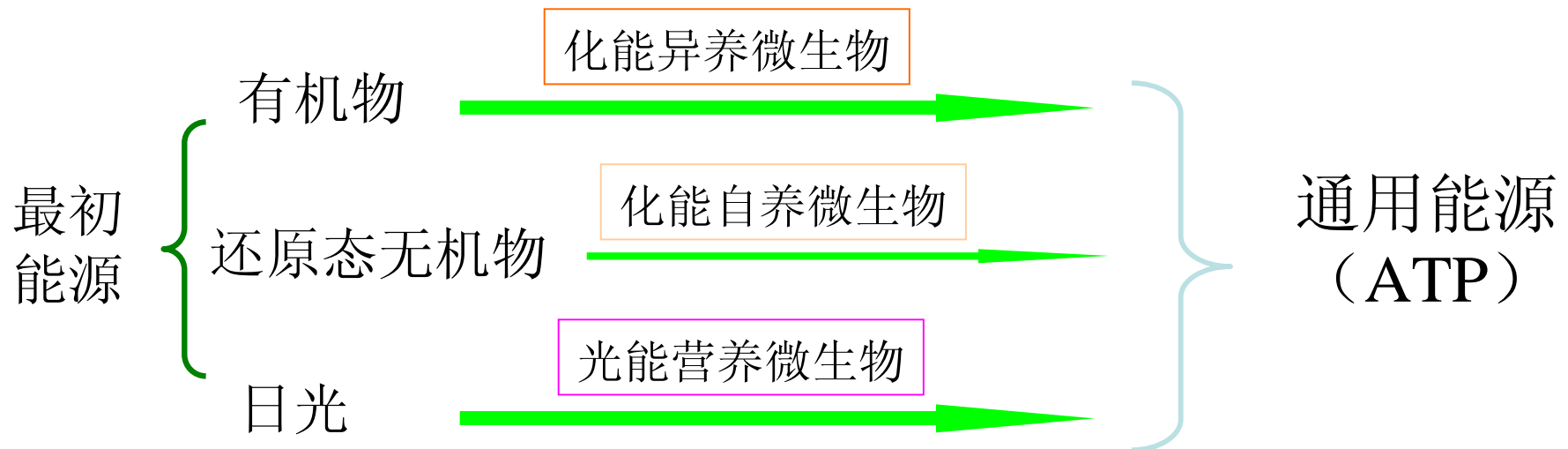


图 5-2 合成代谢示意图

第二节 微生物能量代谢

能量代谢的中心任务，是生物体如何把外界环境中的多种形式的最初能源转换成对一切生命活动都能使用的通用能源-----ATP。
这就是产能代谢。



一. 生物氧化

生物氧化就是发生在或细胞内的一切产能性氧化反应的总称
生物氧化的形式包括某物质与氧结合、脱氢或脱电子三种

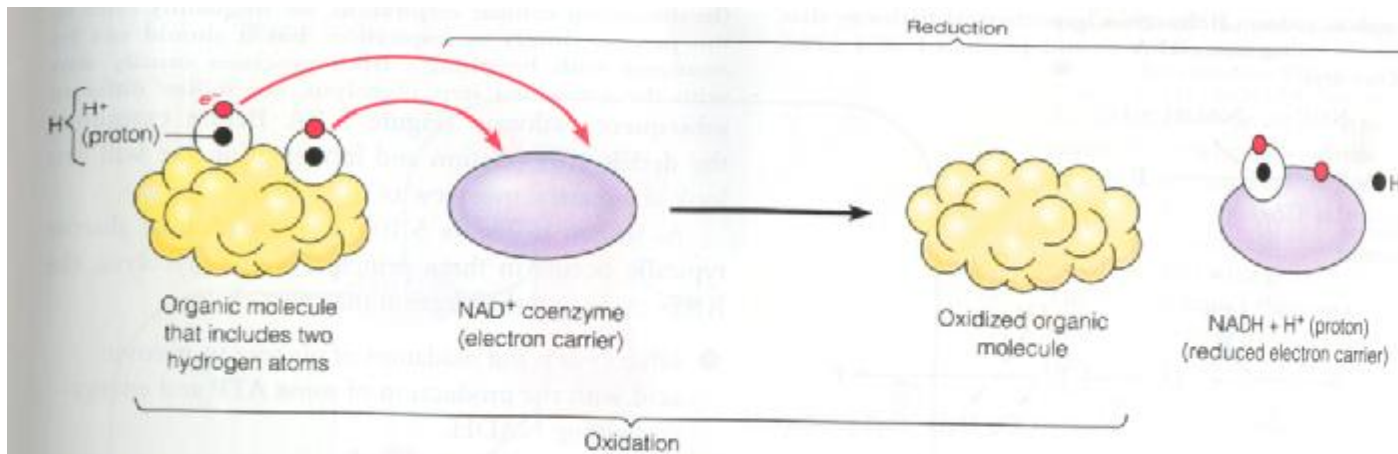
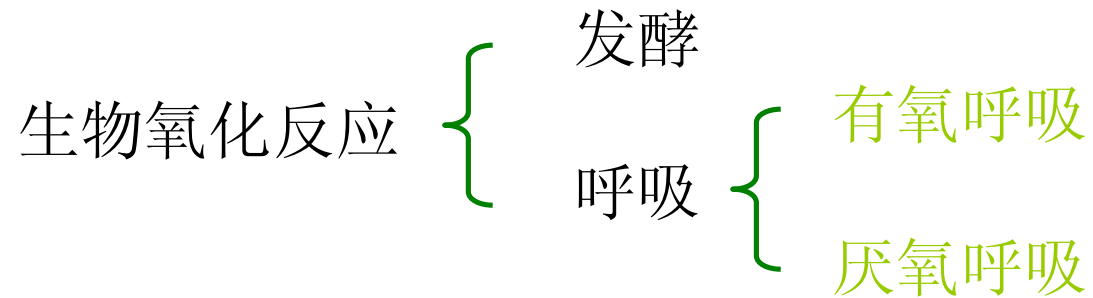


Figure 5.9 Representative biological oxidation. Two electrons and two protons (altogether equivalent to two hydrogen atoms) are transferred from an organic substrate molecule to a coenzyme, NAD⁺. NAD⁺ actually receives one hydrogen atom and one electron, and one proton is released into the medium. NAD⁺ is reduced to NADH, which is a more energy-rich molecule.

Organisms use oxidation-reduction reactions in catabolism to extract energy from nutrient molecules, such as glucose.

异养微生物利用有机物，自养微生物则利用无机物，
通过生物氧化来进行产能代谢。

二、异养微生物的生物氧化



(一) 发酵(fermentation)

有机物氧化释放的电子直接交给本身未完全氧化的某种中间产物，同时释放能量并产生各种不同的代谢产物。

有机化合物只是部分地被氧化，因此，只释放出一小部分的能量。

(一) 发酵(fermentation)

发酵的种类有很多，可发酵的底物有碳水化合物、有机酸、氨基酸等，其中以微生物发酵葡萄糖最为重要。

生物体内葡萄糖被降解成丙酮酸的过程称为糖酵解（glycolysis）

糖酵解是发酵的基础

主要有四种途径：

EMP途径、HMP途径、ED途径、磷酸解酮酶途径。

1. 发酵途径 (1)EMP途径 (Embden-Meyerhof pathway)

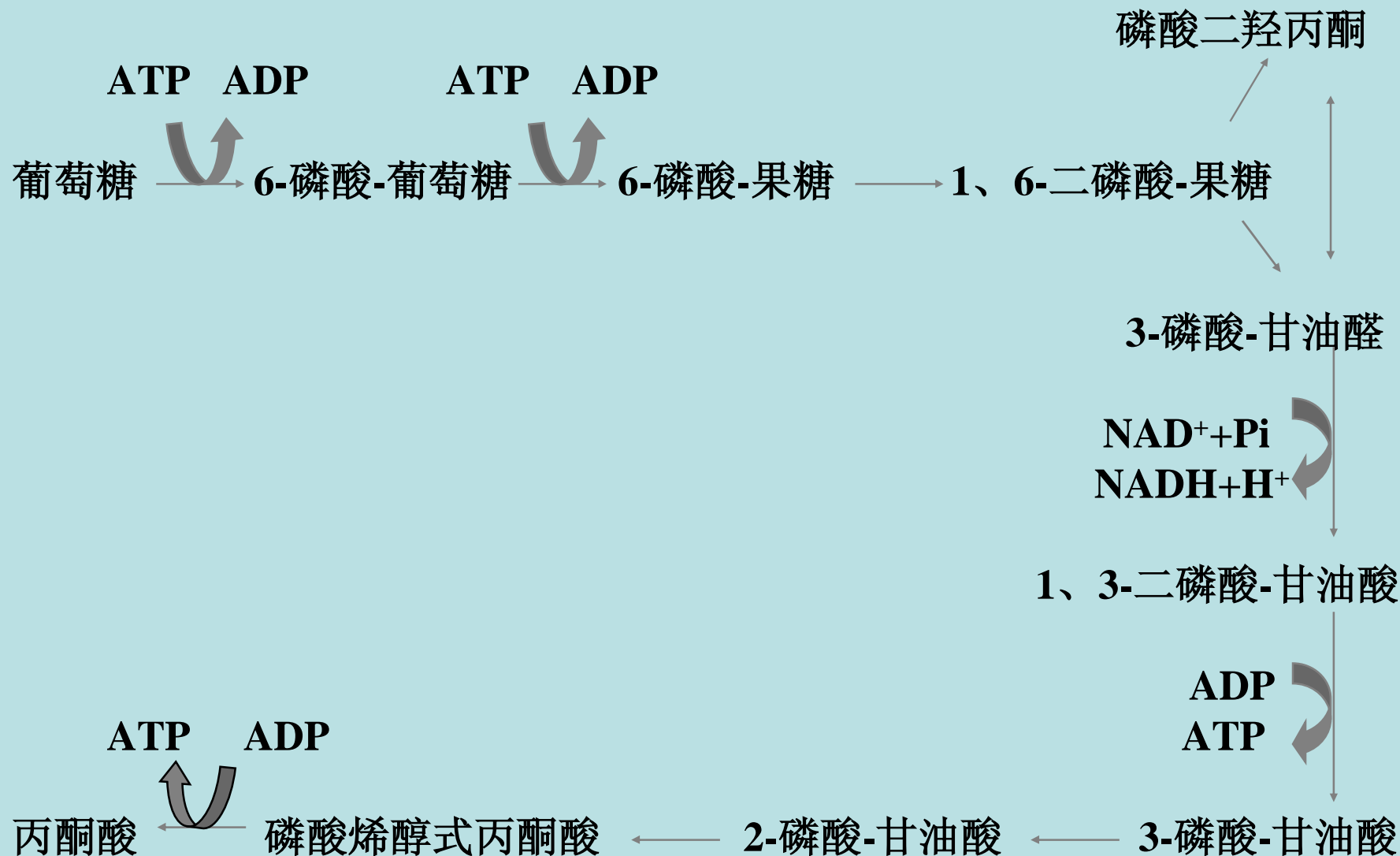


图 EMP途径

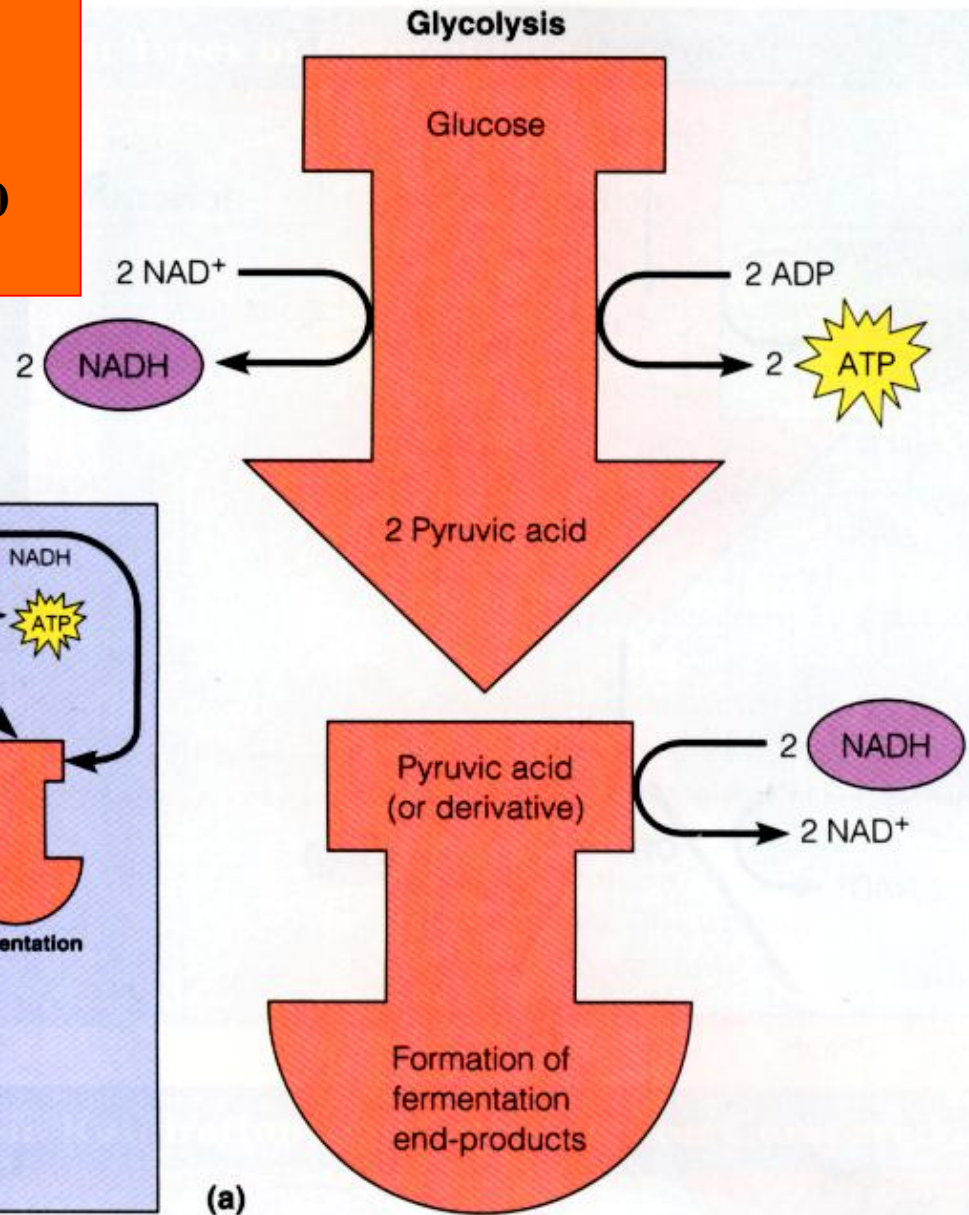
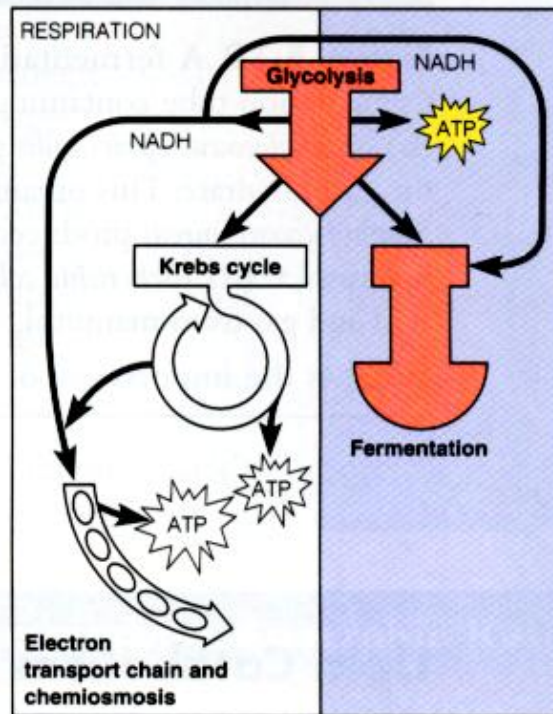
1. 发酵途径 (1)EMP途径 (Embden-Meyerhof pathway)

总反应式为:



In the second step, the reduced coenzymes from glycolysis or its alternatives (NADH, NADPH) donate their electrons and hydrogen ions to pyruvic acid or a derivative to form a fermentation end-product. (b) End-products of various microbial fermentations.

In fermentation, ATP is generated only during glycolysis.



(2)HMP途径 (hexose monophosphate pathway)

总反应式为：



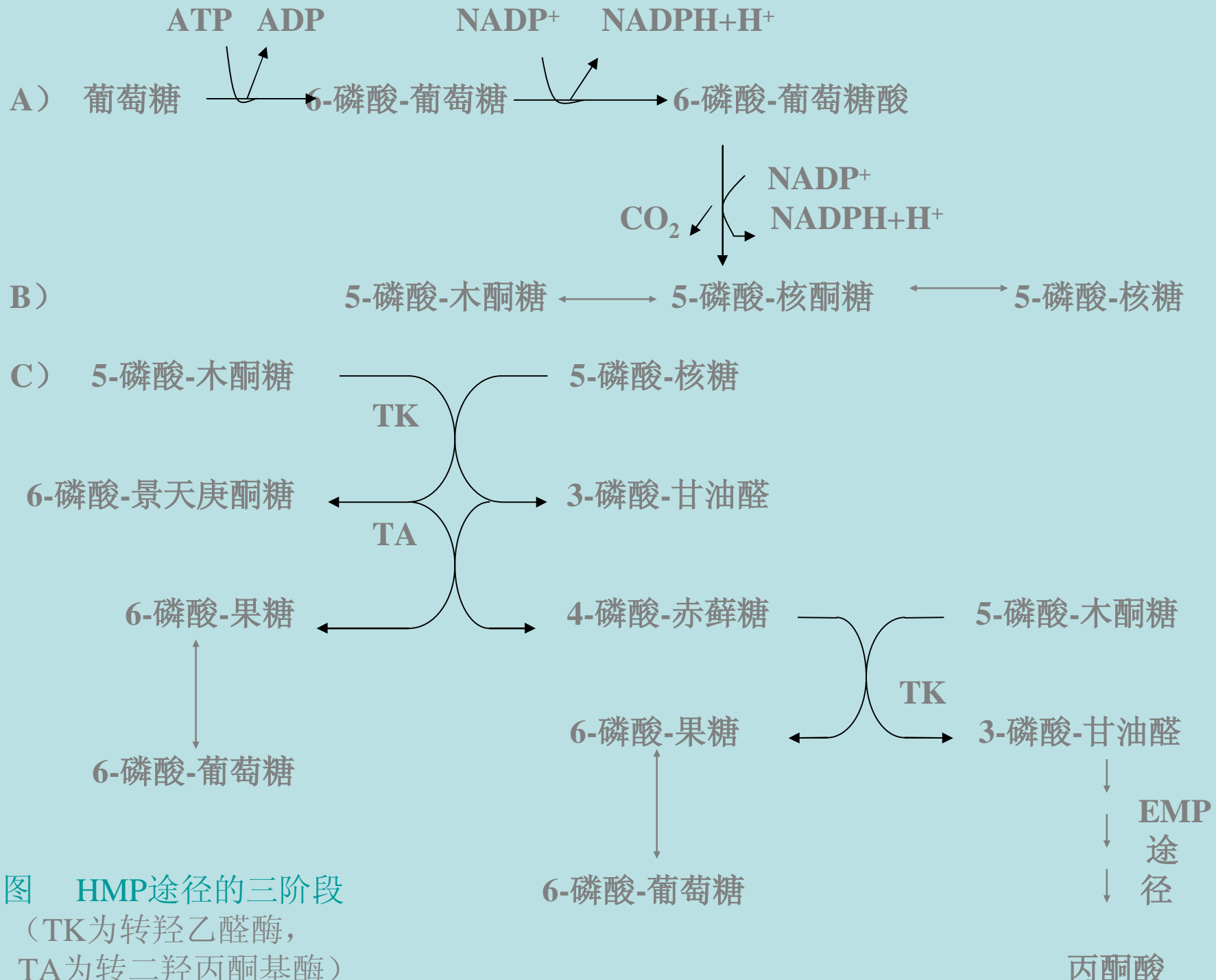
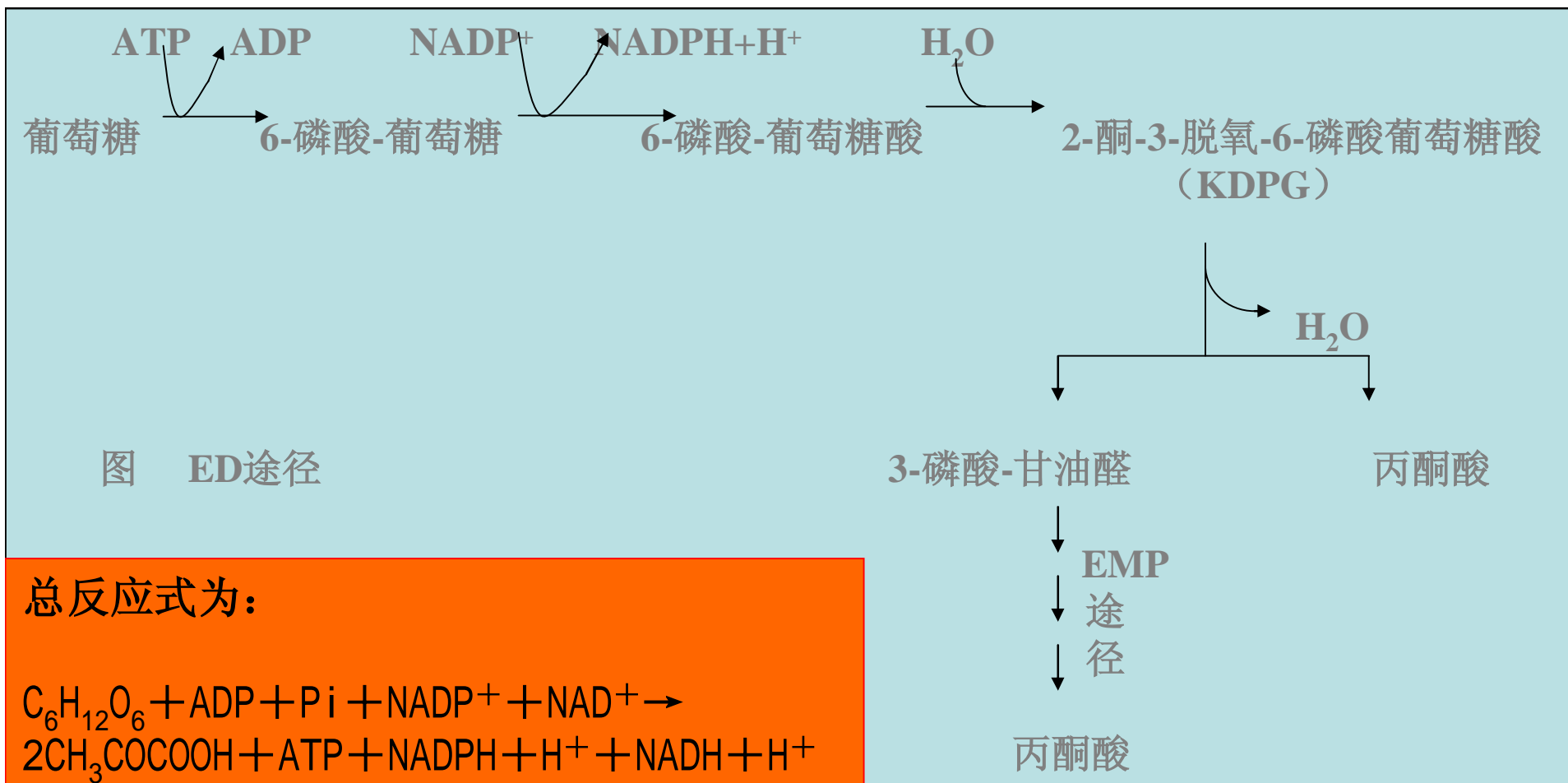


图 HMP途径的三个阶段
(TK为转羟乙醛酶,
TA为转二羟丙酮基酶)

丙酮酸

(3) ED途径 (Entner—Doudoroff pathway)

又称2-酮-3-脱氧-6-磷酸-葡萄糖酸 (KDPG) 裂解途径。



(4)磷酸解酮酶途径

特征性酶是磷酸解酮酶，分为：

磷酸戊糖解酮酶途径（PK途径）
（Phospho-pentose-ketolase pathway）

磷酸己糖解酮酶途径（HK途径）
（Phospho-hexose-ketolase pathway）

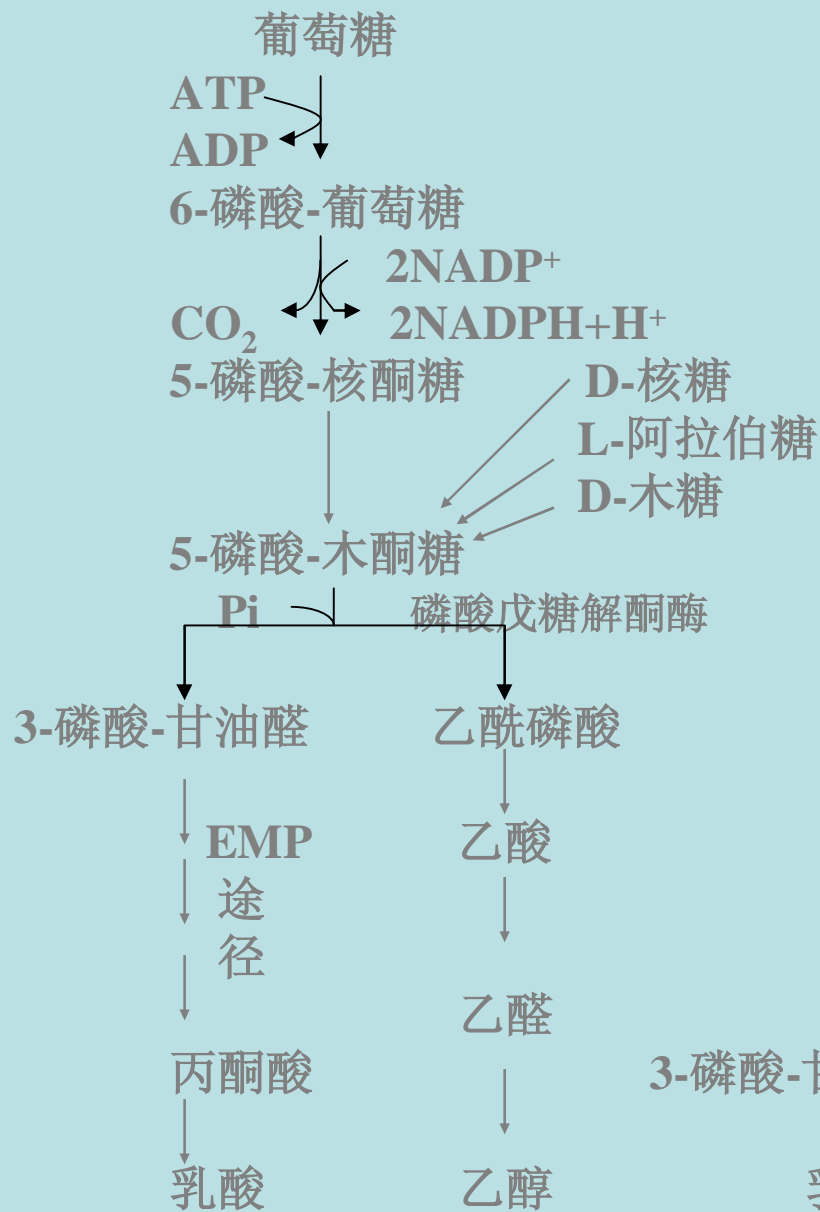


图 磷酸戊糖解酮酶 (PK) 途径

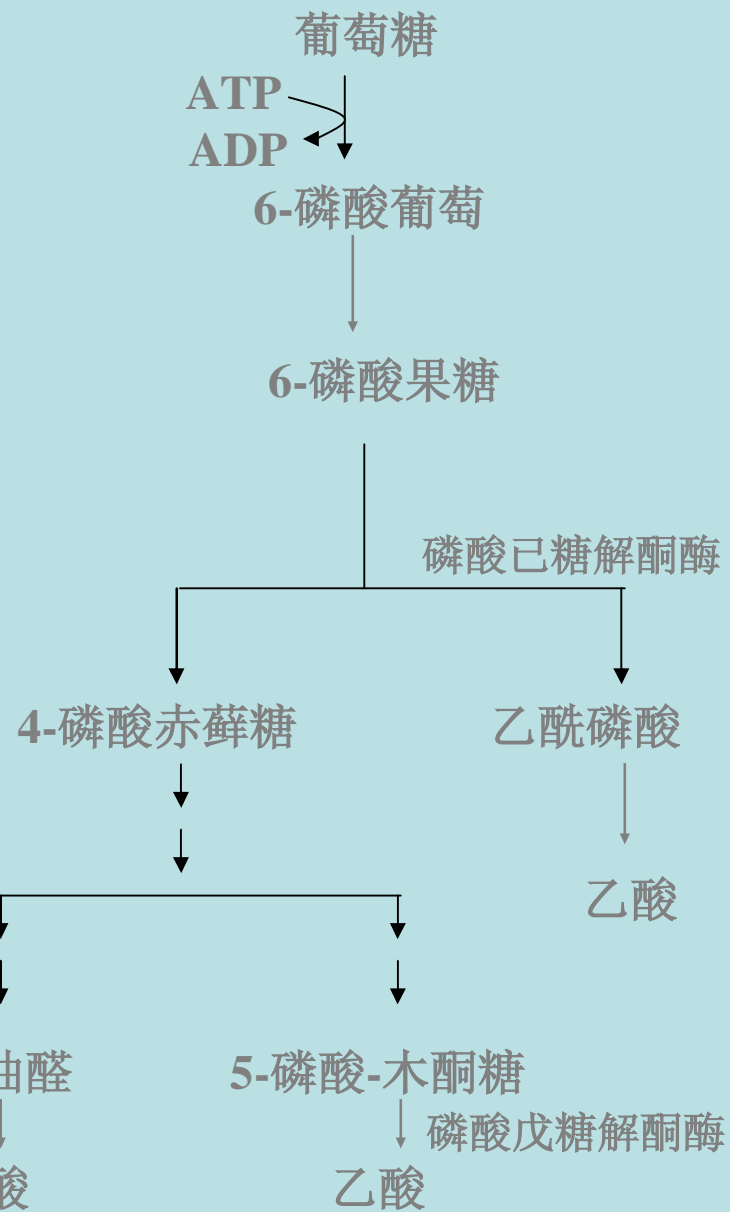
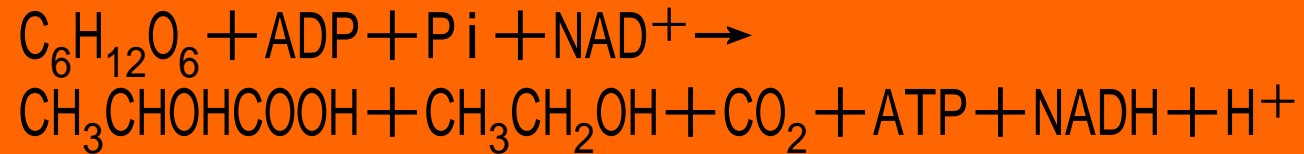


图 磷酸己糖解酮酶 (HK) 途径

磷酸戊糖解酮酶途径（PK途径）

总反应式为：



磷酸己糖解酮酶途径（HK途径）

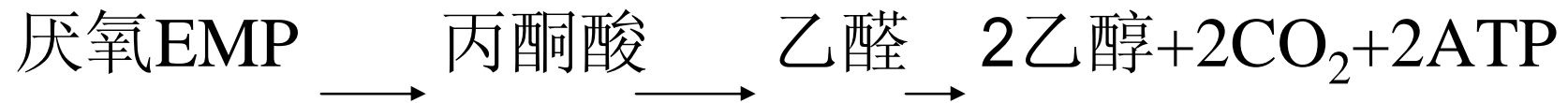
总反应式为：



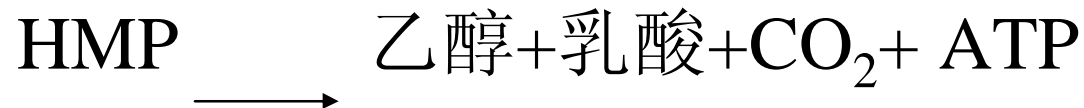
2. 发酵类型

(1) 乙醇发酵

a) 酵母菌的乙醇发酵 (如酿酒酵母)



b) 异型乙醇发酵: (如肠膜明串珠菌)



c) 同型乙醇发酵: (运动发酵单胞菌) 产物仅乙醇



区别: 微生物不同; 途径不同; 产能不同; 碳原子来源不同

(2) 乳酸发酵

表 6-1 乳酸发酵细菌及发酵类型

细 菌	同型乳酸 发 酵	异型乳酸 发 酵	细 菌	同型乳酸 发 酵	异型乳酸 发 酵
乳杆菌属：			肠球菌属：		
德氏乳杆菌	+	—	粪肠球菌	+	—
保伐利亚乳杆菌	+	—	乳酸乳球菌	+	—
干酪乳杆菌	+	—	明串珠菌属：		
植物乳杆菌	+	+	肠膜状明串珠菌	—	+
弯曲乳杆菌	+	—	芽孢乳杆菌属：		
短乳杆菌	—	+	菊糖芽孢乳杆菌	+	—
发酵乳杆菌	—	—	双歧杆菌属：		
			双歧双歧杆菌	—	±

(2) 乳酸发酵

厌氧条件下，乳酸菌进行

同一微生物,利用不同底物,可进行不同形式的乳酸发酵

不同微生物,可进行不同形式的乳酸发酵

乳酸菌：乳杆菌、芽孢杆菌、链球菌、明串珠菌、双歧杆菌等。

同型乳酸发酵与异型乳酸发酵的比较

类型	途径	产物	产能/葡萄糖	菌种代表
同型	EMP	2乳酸	2ATP	<i>Lactobacillus debruckii</i>
异型	HMP (WD)	1乳酸 1乙醇 1CO ₂	1ATP	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
异型	HMP (WD)	1乳酸 1乙酸 1CO ₂	2ATP	<i>Lactobacillus brevis</i>

(3)混合酸(mixed acids fermentation) 和丁二醇发酵(butanediol fermentation)

肠细菌将葡萄糖转化成多种有机酸的发酵。

EMP



丙酮酸



乳酸、乙酸、琥珀酸、甲酸、乙醇、丁醇、2,3-丁二醇、丙酮、CO₂、H₂等

(3)混合酸(mixed acids fermentation) 和丁二醇发酵(butanediol fermentation)

不同微生物发酵产物的不同，也是细菌分类鉴定的重要依据。

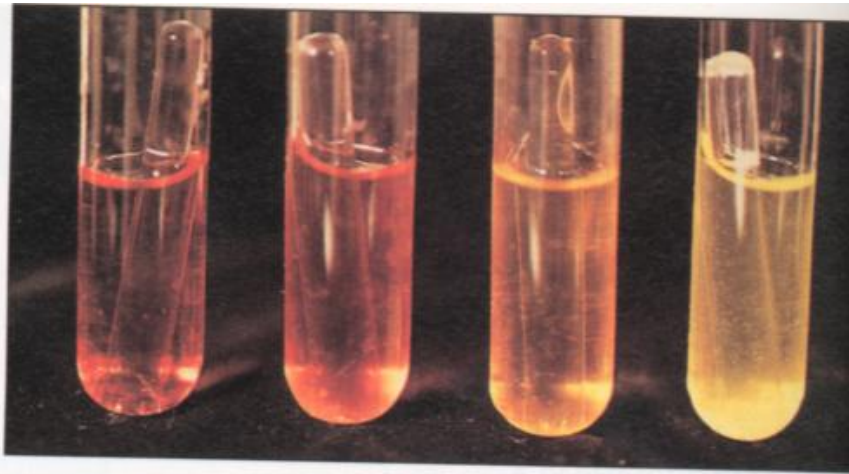


Figure 5.19 A fermentation test. (a) An uninoculated fermentation tube containing the carbohydrate mannitol. (b) *Staphylococcus epidermidis* grew on the protein but did not use the carbohydrate. This organism is described as mannitol⁻. (c) *Staphylococcus aureus* produced acid but not gas. This species is mannitol⁺ (d) *Escherichia coli* is also mannitol⁺ and produced acid and gas from mannitol.

What is the importance of biochemical testing?

Table 9.2 Mixed Acid Fermentation Products of *Escherichia coli*

	Fermentation Balance (μM Product/100 μM Glucose)	
	Acid Growth (pH 6.0)	Alkaline Growth (pH 8.0)
Ethanol	50	50
Formic acid	2	86
Acetic acid	36	39
Lactic acid	80	70
Succinic acid	11	15
Carbon dioxide	88	2
Hydrogen gas	75	0.5
Butanediol	0	0

(4) 丁酸发酵: 专性厌氧菌

不同菌, 通过EMP途径, 产物不同, 可分为:

a. 丁酸发酵:

丁酸梭菌 \longrightarrow 丁酸

b. 丙酮-丁醇发酵:

丙酮-丁醇梭状芽孢杆菌 \longrightarrow 丙酮、丁醇

c. 丁醇-异丙醇发酵:

丁酸梭菌 \longrightarrow 丙酮还原为异丙醇

由葡萄糖开始的各种类型发酵的总结

类型	途径（或条件）	微生物	ATP (mol / L) / 葡萄糖 (mol / L)
乙醇发酵	EMP	酿酒酵母	2
	EMP	解淀粉欧文氏菌	2
	ED	运动发酵单胞菌	1
甘油发酵	EMPEDEMP (3% NaHSO ₃)	酿酒酵母	少量/0
	EMP (pH7.6)	酿酒酵母	0
同型乳酸发酵	EMP	粪肠球菌	2
异型乳酸发酵	PK	肠膜状明串珠菌	1
	HMP+PK	双歧双歧杆菌	2.5
混合酸发酵	EMP	大肠杆菌	2.5
丁二醇发酵	EMP	产气肠杆菌	2
丙酮-丁醇发酵	EMP	丙酮-丁醇梭菌	2
丁酸发酵	EMP	丁酸梭菌	3
丙酸发酵	琥珀酸-丙酸途径	丙酸细菌	2
	丙烯酸途径		3

(二) 呼吸作用

微生物在降解底物的过程中，将释放出的电子交给NAD (P)⁺、FAD或FMN等电子载体，再经电子传递系统传给外源电子受体，从而生成水或其它还原型产物并释放出能量的过程，称为呼吸作用。

有氧呼吸 (aerobic respiration) :

以分子氧作为最终电子受体

无氧呼吸 (anaerobic respiration) :

以氧化型化合物作为最终电子受体

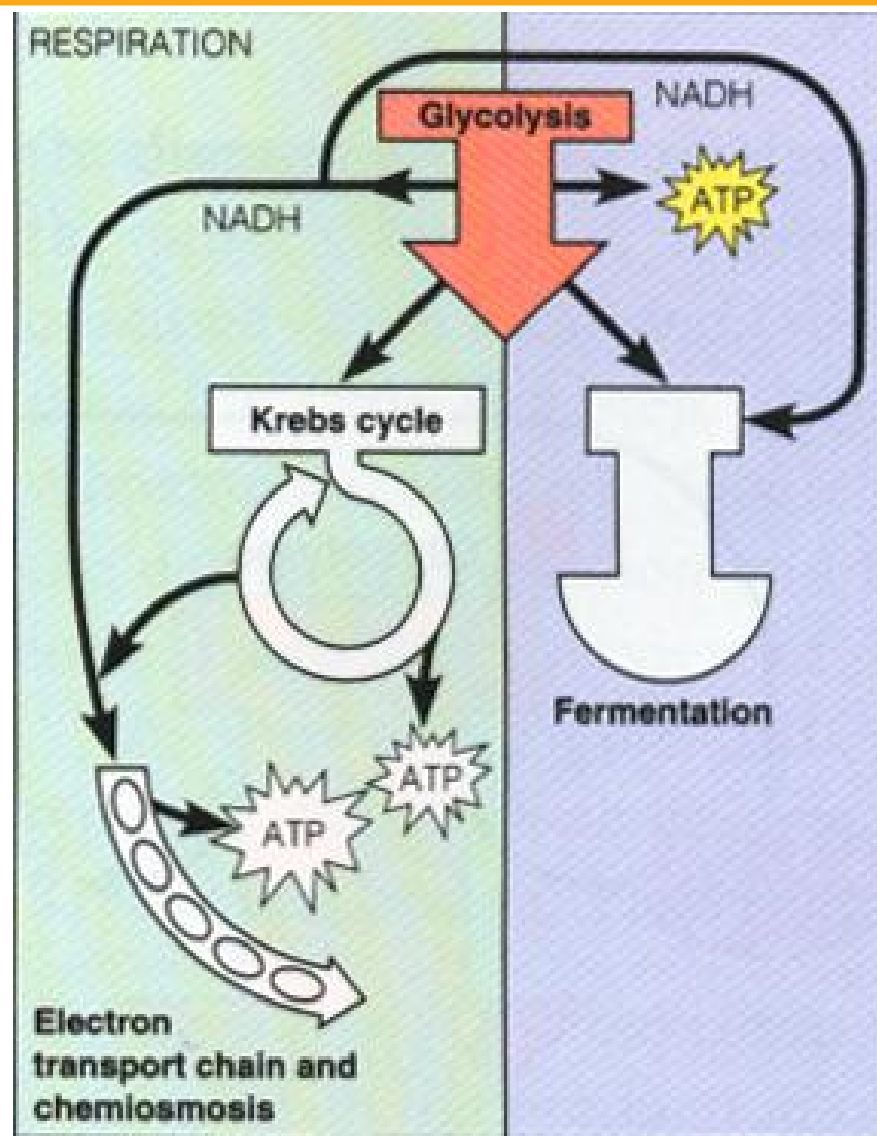
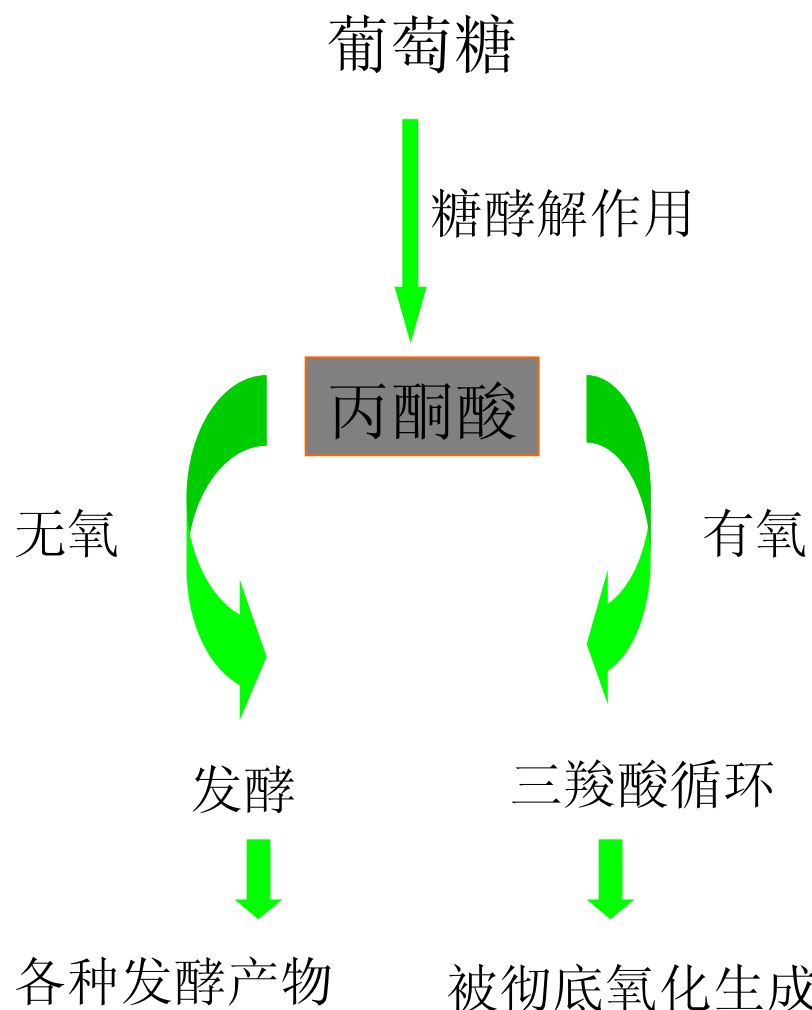
(二) 呼吸作用

Table 9.3 Some Electron Acceptors Used in Respiration

	Electron Acceptor	Reduced Products	Examples of Microorganisms
Aerobic	O ₂	H ₂ O	All aerobic bacteria, fungi, protozoa, and algae
Anaerobic	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Enteric bacteria
	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ , N ₂ O, N ₂	<i>Pseudomonas</i> and <i>Bacillus</i>
	SO ₄ ²⁻	H ₂ S	<i>Desulfovibrio</i> and <i>Desulfotomaculum</i>
	CO ₂	CH ₄	All methanogens
	S ⁰	H ₂ S	<i>Desulfuromonas</i> and <i>Thermoproteus</i>
	Fe ³⁺	Fe ²⁺	<i>Pseudomonas</i> and <i>Bacillus</i>

(二)呼吸作用

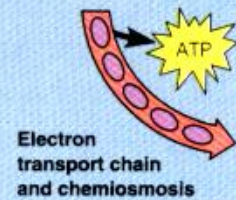
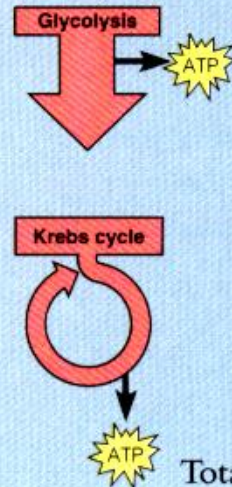
1. 有氧呼吸



(二)呼吸作用

TABLE 5.3 ATP Yield During Procaroytic Aerobic Respiration of One Glucose Molecule

Source	ATP Yield (Method)
Glycolysis 1. Oxidation of glucose to pyruvic acid 2. Production of 2 NADH	2 ATP (substrate-level phosphorylation) 6 ATP (oxidation phosphorylation in electron transport chain)
Preparatory Step 1. Formation of acetyl CoA produces 2 NADH	6 ATP (oxidative phosphorylation in electron transport chain)
Krebs Cycle 1. Oxidation of succinyl CoA to succinic acid 2. Production of 6 NADH 3. Production of 2 FADH	2 GTP (equivalent of ATP; substrate-level phosphorylation) 18 ATP (oxidative phosphorylation in electron transport chain) 4 ATP (oxidative phosphorylation in electron transport chain)
Total: 38 ATP	



2.无氧呼吸

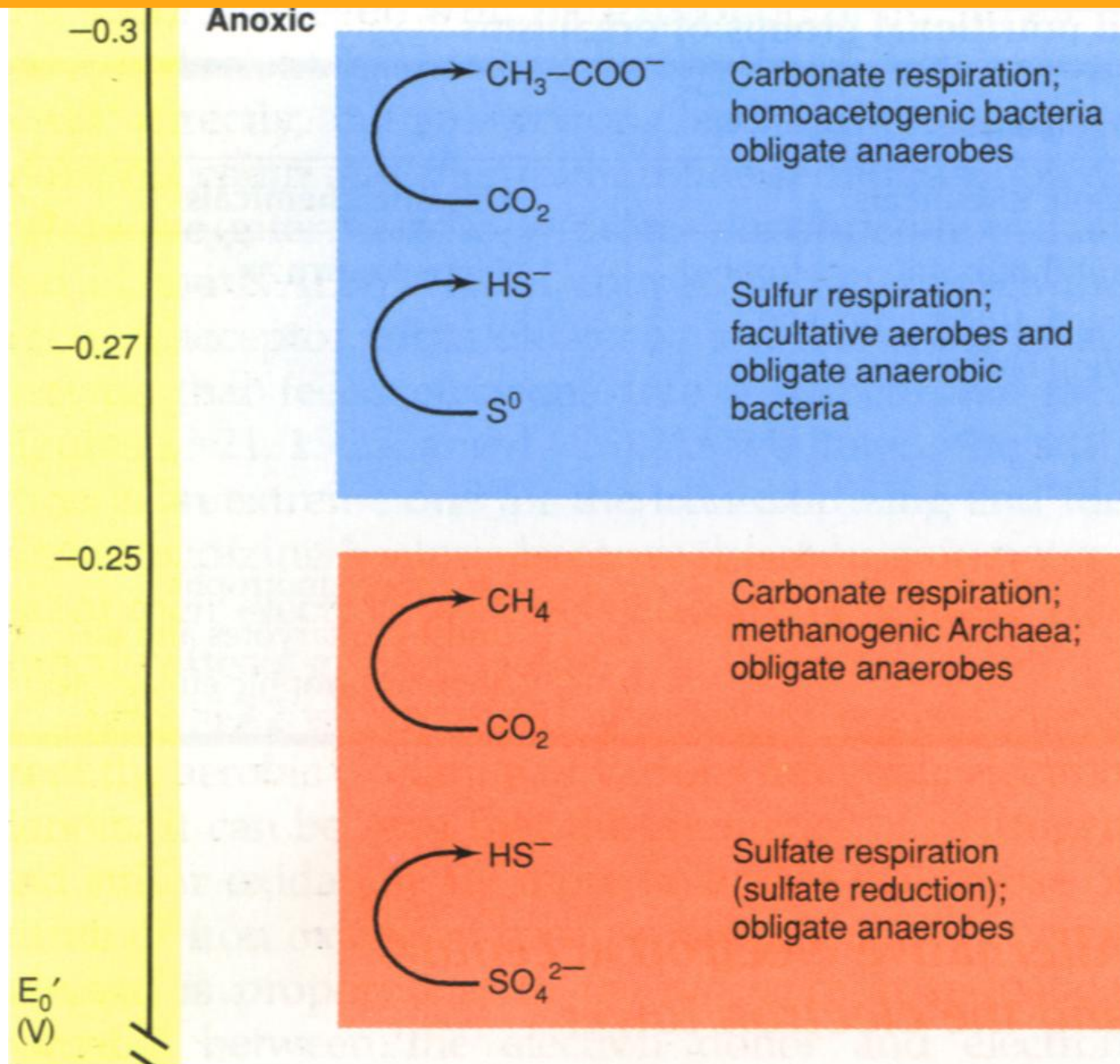
某些厌氧和兼性厌氧微生物在无氧条件下进行无氧呼吸；

无氧呼吸的最终电子受体不是氧，而是 NO_3^- 、 NO_2^- 、 SO_4^{2-} 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 CO_2 等无机物，或延胡索酸（fumarate）等有机物。

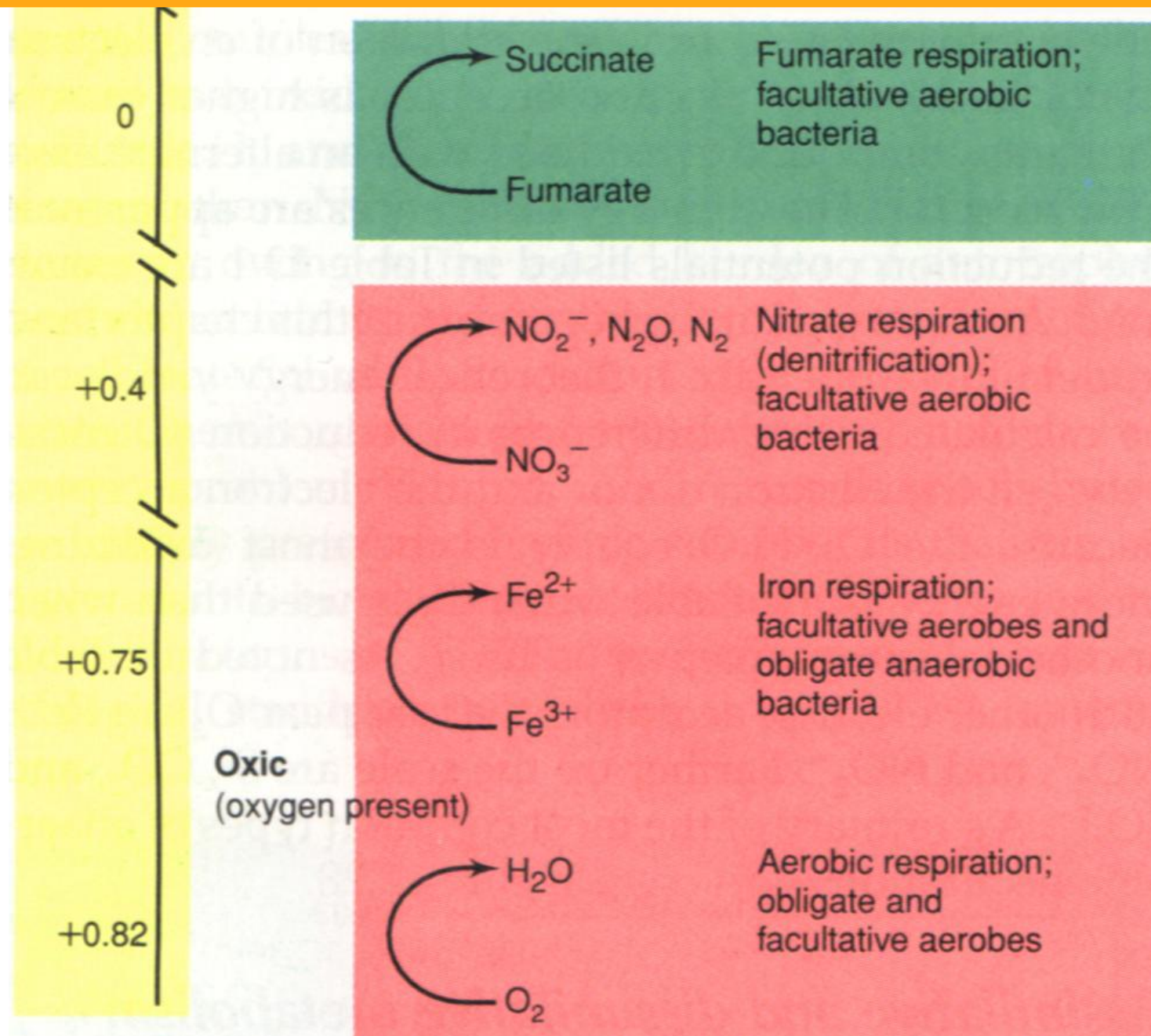
无氧呼吸也需要细胞色素等电子传递体，并在能量分级释放过程中伴随有磷酸化作用，也能产生较多的能量用于生命活动。

由于部分能量随电子转移传给最终电子受体，所以生成的能量不如有氧呼吸产生的多。

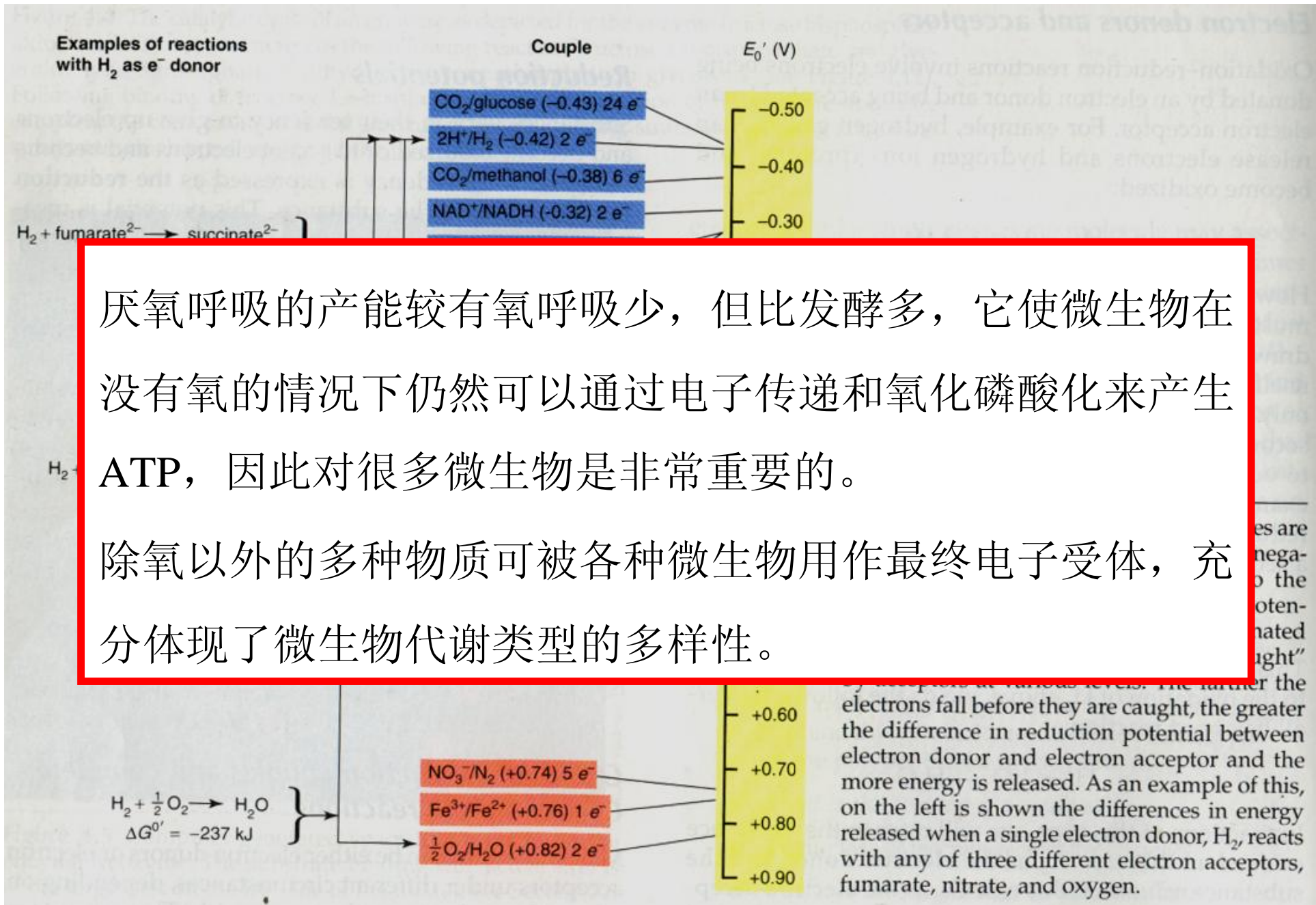
2. 无氧呼吸



2. 无氧呼吸



2. 无氧呼吸



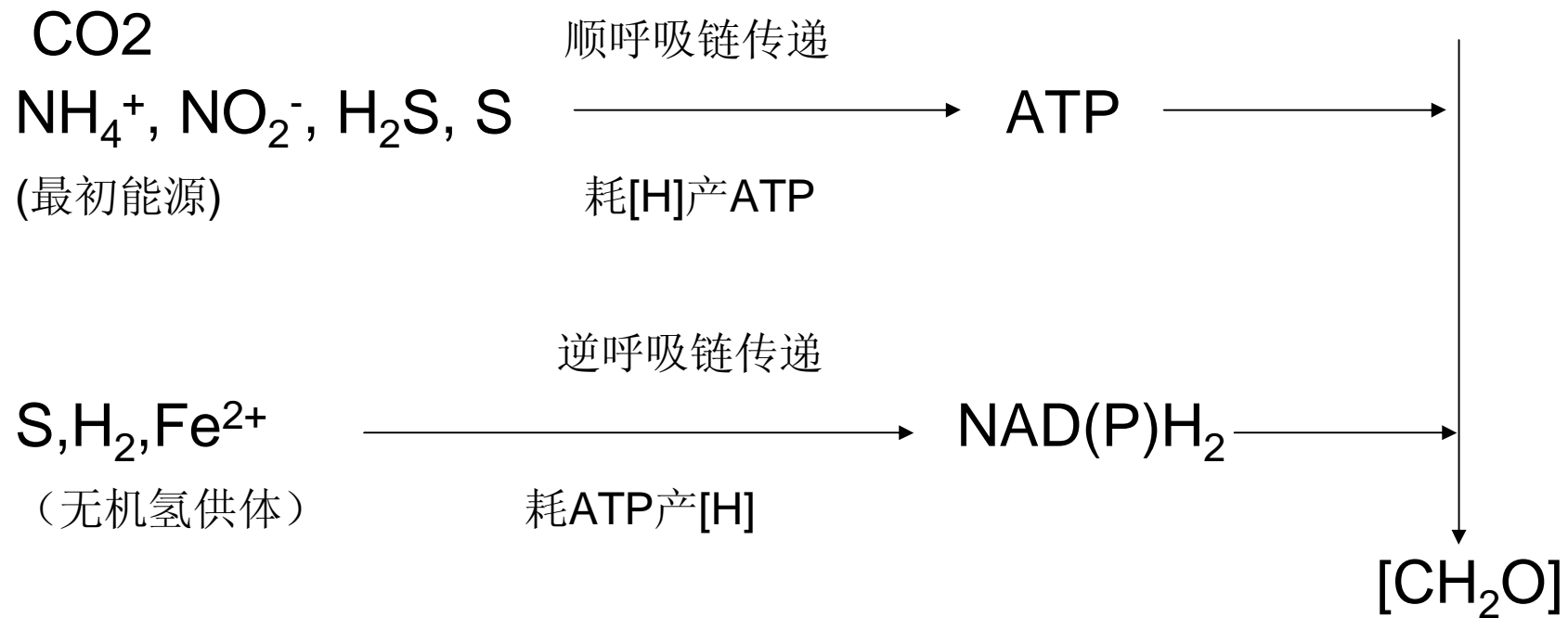
厌氧呼吸的产能较有氧呼吸少，但比发酵多，它使微生物在没有氧的情况下仍然可以通过电子传递和氧化磷酸化来产生ATP，因此对很多微生物是非常重要的。

除氧以外的多种物质可被各种微生物用作最终电子受体，充分体现了微生物代谢类型的多样性。

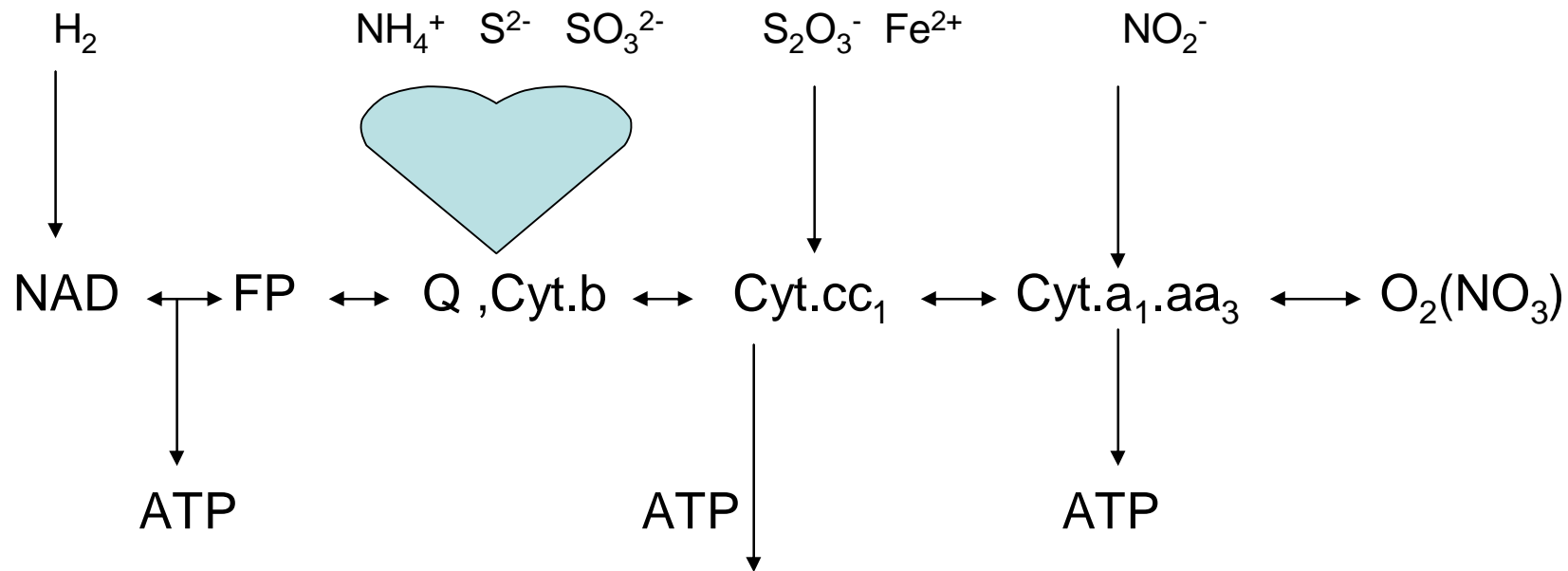
方式	电子受体	产物	获能(千卡)	微生物类型	条件
发酵	有机物	各种中间代谢产物	54	好氧菌, 厌氧菌, 兼性厌氧菌	无O ₂ 或有O ₂
有氧呼吸	O ₂	CO ₂	688	好氧菌, 兼性厌氧菌	有O ₂
无氧呼吸	无机物	CO ₂	429	厌氧菌, 兼性厌氧菌	无O ₂

二、自养微生物的生物氧化

还原CO₂时ATP和[H]的来源



无机底物脱氢后电子进入呼吸链的部位



注：正向传递可产生ATP,而逆向传递消耗ATP，并产生还原力[H]

三、光能微生物的生物氧化

(一) 光合微生物的种类:

- 1、自养型：蓝细菌、红硫菌、绿硫菌等；
- 2、异养或兼性：红螺菌、嗜盐菌等。

嗜盐菌获能途径:

- 有氧时：氧化磷酸化
- 有光时：光合磷酸化
- 有氧或无氧：底物水平磷酸化

底物水平磷酸化：物质在生物氧化中所生成的一些含有高能键的化合物直接偶联**ATP**或**GTP**的合成，这种产生**ATP**等高能分子的方式，叫底物水平磷酸化。

氧化磷酸化：物质在生物氧化中所生成的**NADH**和**FADH₂**可通过位于线粒体内膜和细菌质膜上的电子传递系统或其他氧化性物质，在此过程中偶联**ATP**或**GTP**的合成，这种产生**ATP**等高能分子的方式，叫氧化磷酸化。

光合磷酸化：当一个叶绿素分子吸收光量子而被激活后，释放一个电子，这个电子经过电子传递系统而偶联**ATP**或**GTP**的合成，叫光合磷酸化。（指光能转变为化学能的过程。）

环式光合磷酸化：叶绿素释放的高能电子依次通过铁氧化蛋白，辅酶**Q**，细胞色素**b**和**f**，再返回带正电荷的叶绿素分子。在辅酶**Q**向细胞色素传递电子的时候，造成质子跨膜运动而合成**ATP**。（紫色硫细菌，紫色非硫菌、绿色硫细菌，绿色非硫细菌）

非环式光合磷酸化：高等植物和蓝细菌与光合细菌不同，它们可以裂解水来提供细胞的还原力。它们含有两个反应中心，连同天线色素，初级电子受体和供体一起构成光合系统**I**和光合系统**II**，这两个系统偶联，进行非环式光合磷酸化。

(二) 微生物的光合磷酸化作用

生物类型	方式	条件	色素	反应中心	产物	还原力(NADPH)中H的来源
光合细菌	循环	无O ₂	菌绿素, 类胡萝卜素等	1个	不产氧 ATP	来自H ₂ S等无机氢供体 P150-151
绿色植物 藻类兰细菌	非循环	有O ₂	叶绿素, 藻色素等	2个	产氧 ATP	H ₂ O光解 P151
嗜盐菌	紫膜	低O ₂	细菌视紫红质	紫膜	不产氧 ATP	质子泵 P152-153

(三) 进行光合磷酸化微生物的特点

- 1、细菌内含光合色素：
菌视紫质、菌绿质、菌叶绿素、类胡萝卜素、藻青素等。
- 2、具光合结构：有光合色素和电子传递系统的存在位点。如：蓝细菌—类囊体 红螺菌、红硫菌—在细胞膜内壁形成单位膜组成的光合结构。
- 3、光合细菌中，光照越强，光合结构越多。

第三节 微生物特有的合成代谢

微生物结构大分子——肽聚糖的合成

• **合成特点**：①合成机制复杂，步骤多，且合成部位几经转移；②合成过程中须要有能够转运与控制肽聚糖结构元件的载体（UDP和细菌萜醇）参与。

• **合成过程**：依发生部位分成三个阶段：

—细胞质阶段：合成派克（Park）核苷酸

—细胞膜阶段：合成肽聚糖单体

—细胞膜外阶段：交联作用形成肽聚糖

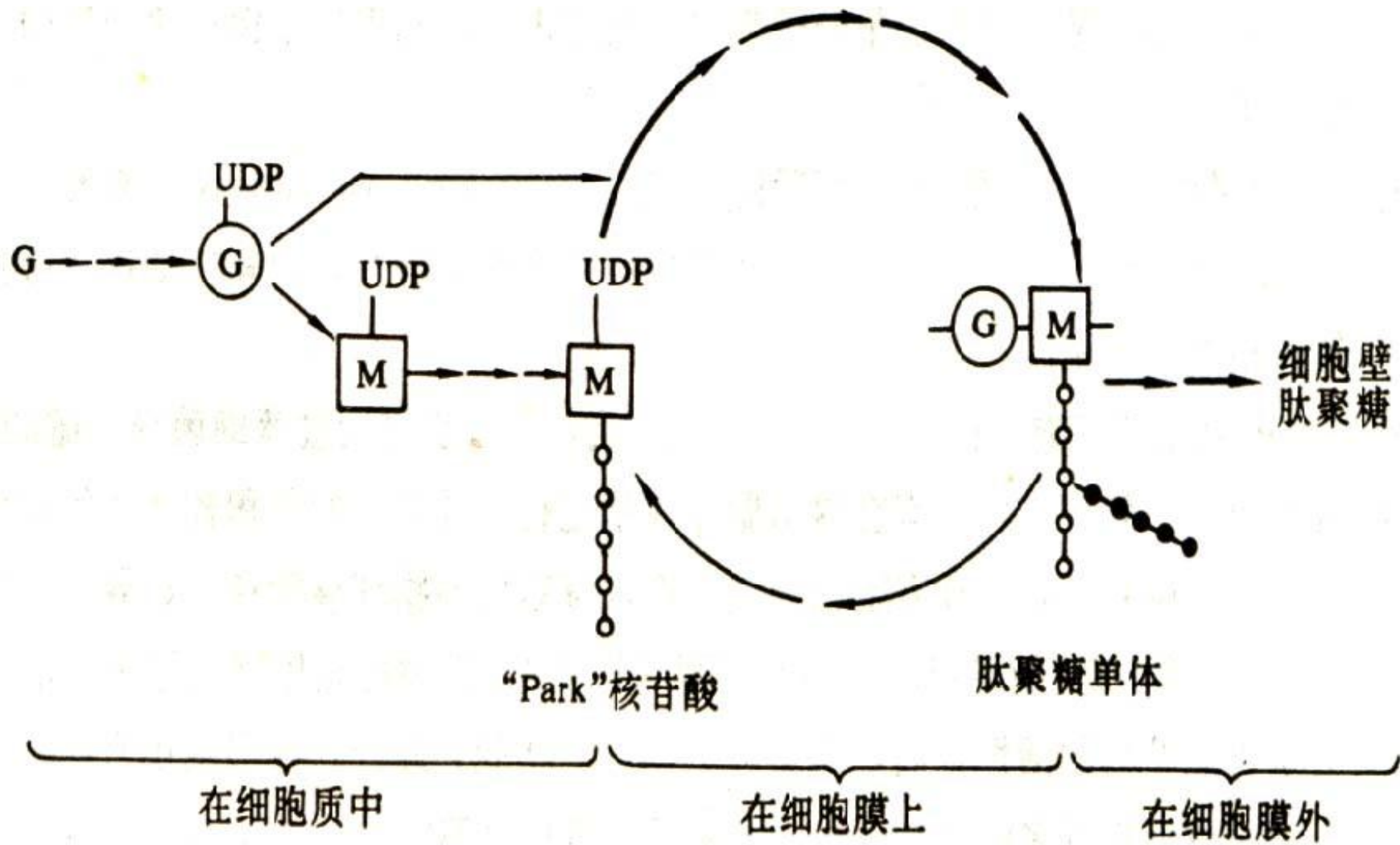
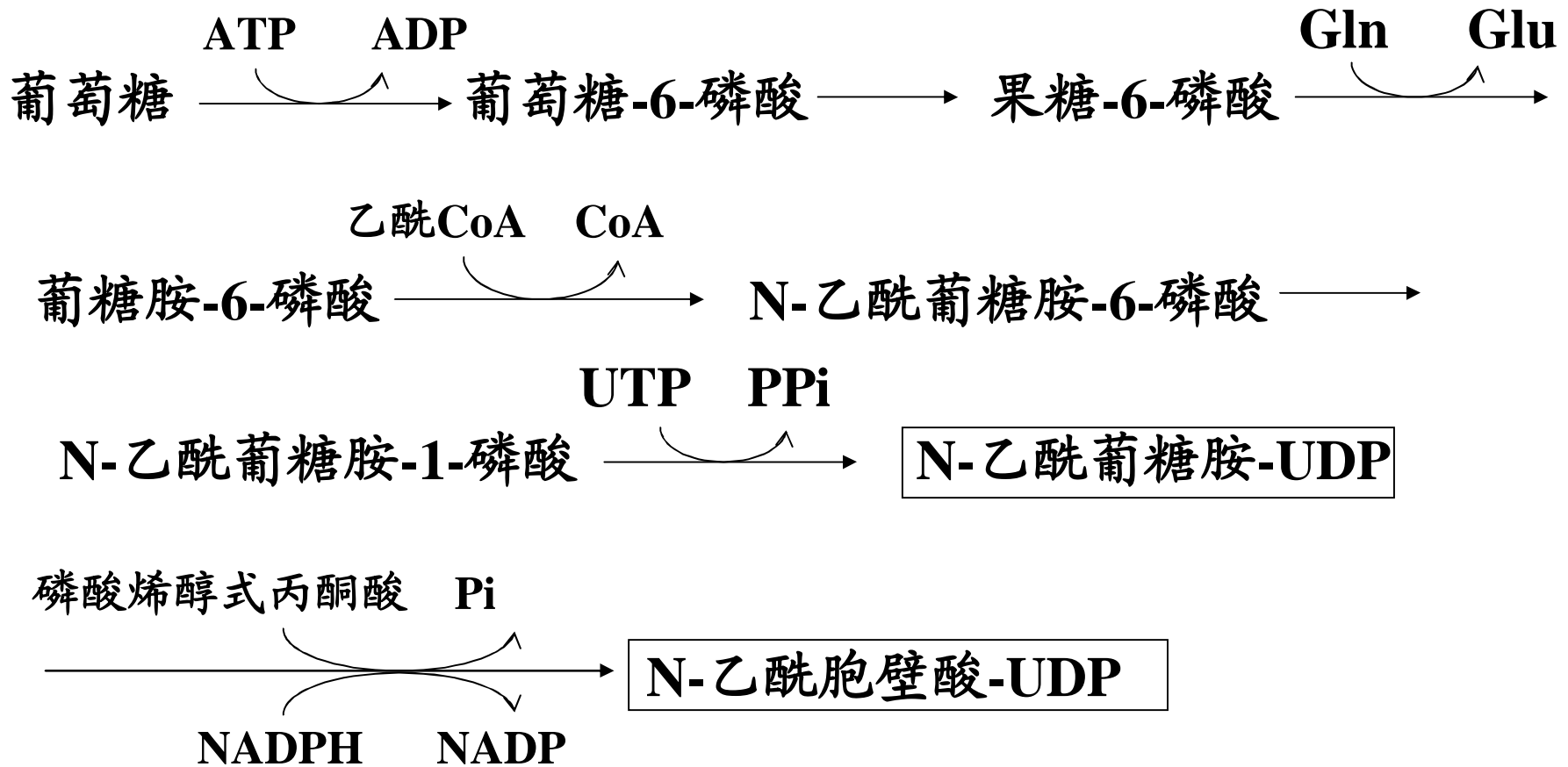


图 6-44 肽聚糖合成的三个阶段及其主要中间代谢物 (G 为葡萄糖, (G) 为 N-乙酰葡萄糖胺, (M) 为 N-乙酰胞壁酸, “Park”核苷酸即 UDP-N-乙酰胞壁酸五肽)

1.在细胞质中合成“单糖五肽”

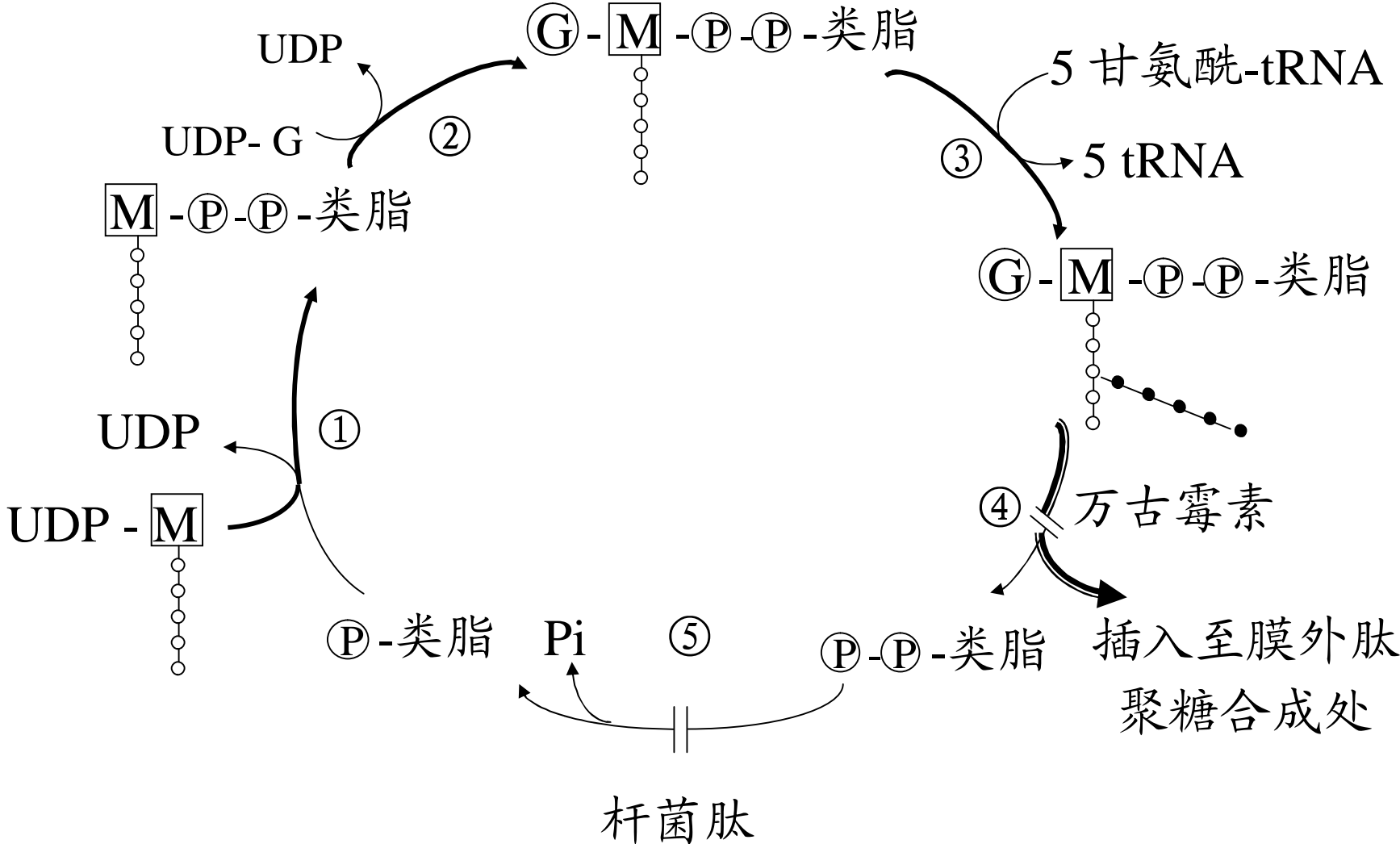
首先由葡萄糖合成N-乙酰葡萄糖胺和N-乙酰胞壁酸，进而合成“单糖五肽”。



2.在细胞膜中合成双糖五肽和甘氨酸肽桥

这一阶段中有一种称为细菌萜醇(bactoprenol,Bcp)脂质载体参与，这是一种由11个类异戊烯单位组成的C₃₅类异戊烯醇，——它通过两个磷酸基与N-乙酰胞壁酸相连，载着在细胞质中形成的胞壁酸到细胞膜上，在那里与N-乙酰葡萄糖胺结合，并在L-Lys上接上五肽(Gly)₅,形成双糖亚单位。

肽聚糖单体的合成



肽聚糖单体的合成——细菌萜醇

细菌萜醇 (bactoprenol)：又称类脂载体；运载“Park”核苷酸进入细胞膜，连接N-乙酰葡萄糖胺和甘氨酸五肽“桥”，最后将肽聚糖单体送入细胞膜外的细胞壁生长点处。

结构式：



功能：除肽聚糖合成外还参与微生物多种细胞外多糖和脂多糖的生物合成，

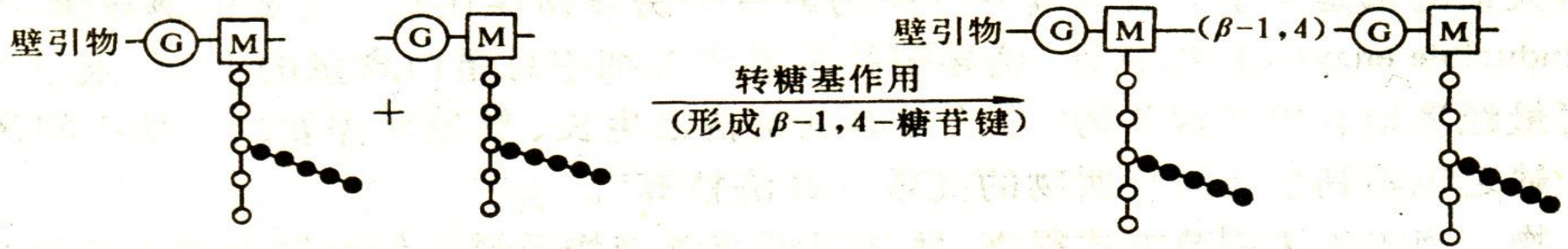
如：细菌的磷壁酸、脂多糖，
细菌和真菌的纤维素，
真菌的几丁质和甘露聚糖等。

3. 在细胞膜外连接“编织成肽聚糖网”

第一步：是多糖链的伸长——双糖肽先是插入细胞壁生长点上作为引物的肽聚糖骨架（至少含6~8个肽聚糖单体分子）中，通过转糖基作用（transglycosylation）使多糖链延伸一个双糖单位；

第二步：通过转肽酶的转肽作用（transpeptidation）使相邻多糖链交联——转肽时先是D-丙氨酰-D-丙氨酸间的肽链断裂，释放出一个D-丙氨酰残基，然后倒数第二个D-丙氨酸的游离羧基与相邻甘氨酸五肽的游离氨基间形成肽键而实现交联。

(1) 转糖基化作用(横向连接)



(2) 转肽作用(纵向连接)

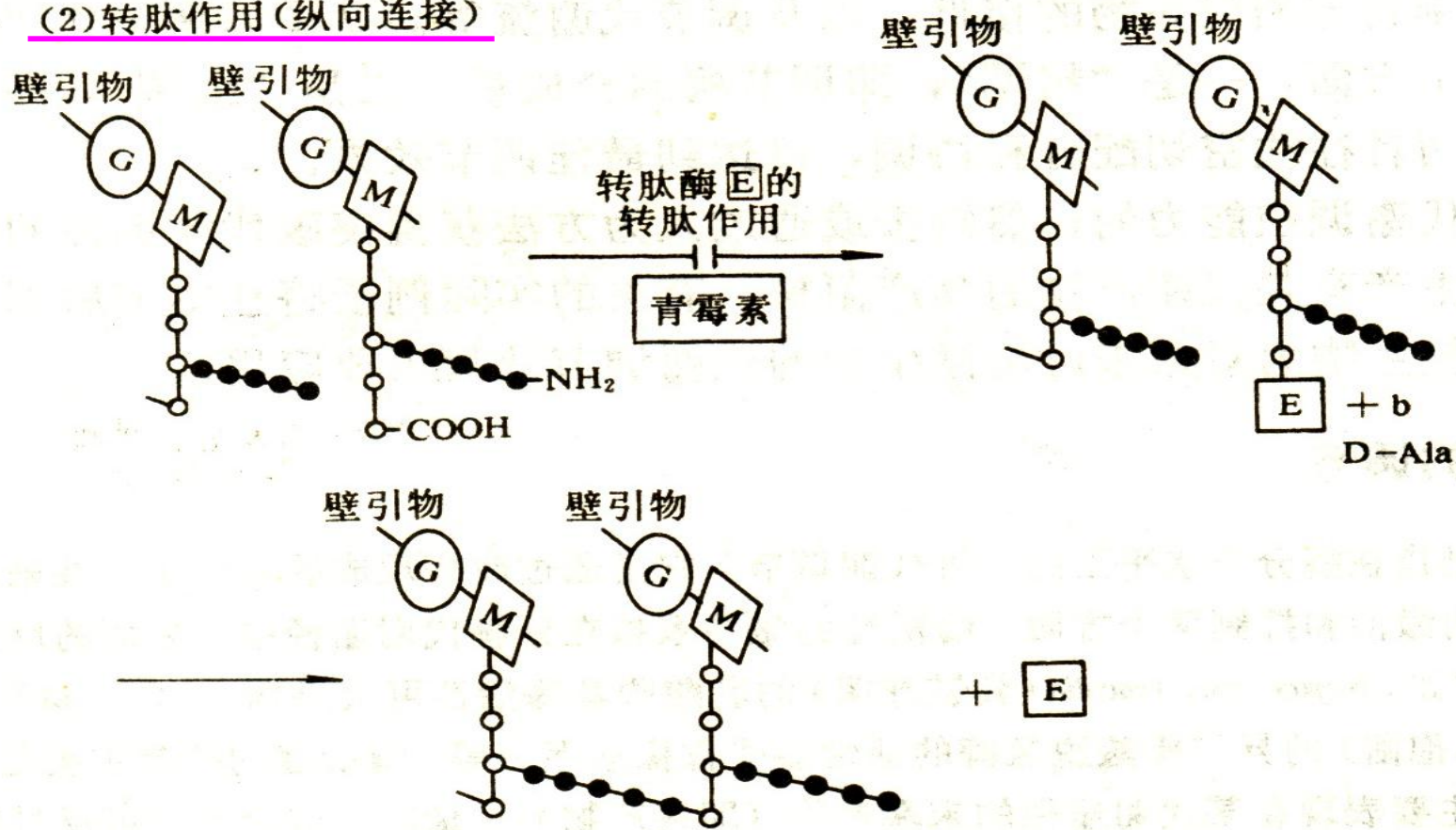
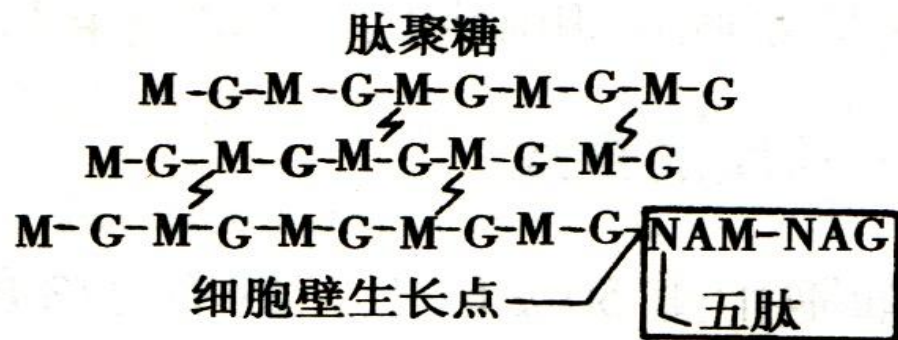
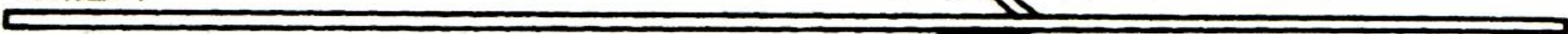


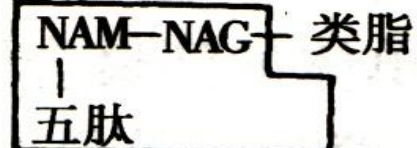
图 6-47 肽聚糖合成的最后阶段 转糖基化作用和转肽作用 (E 为转肽酶)



细胞外

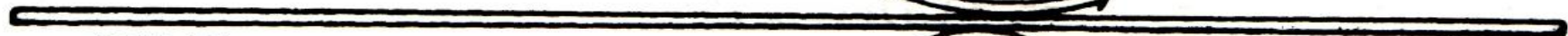


细胞质膜

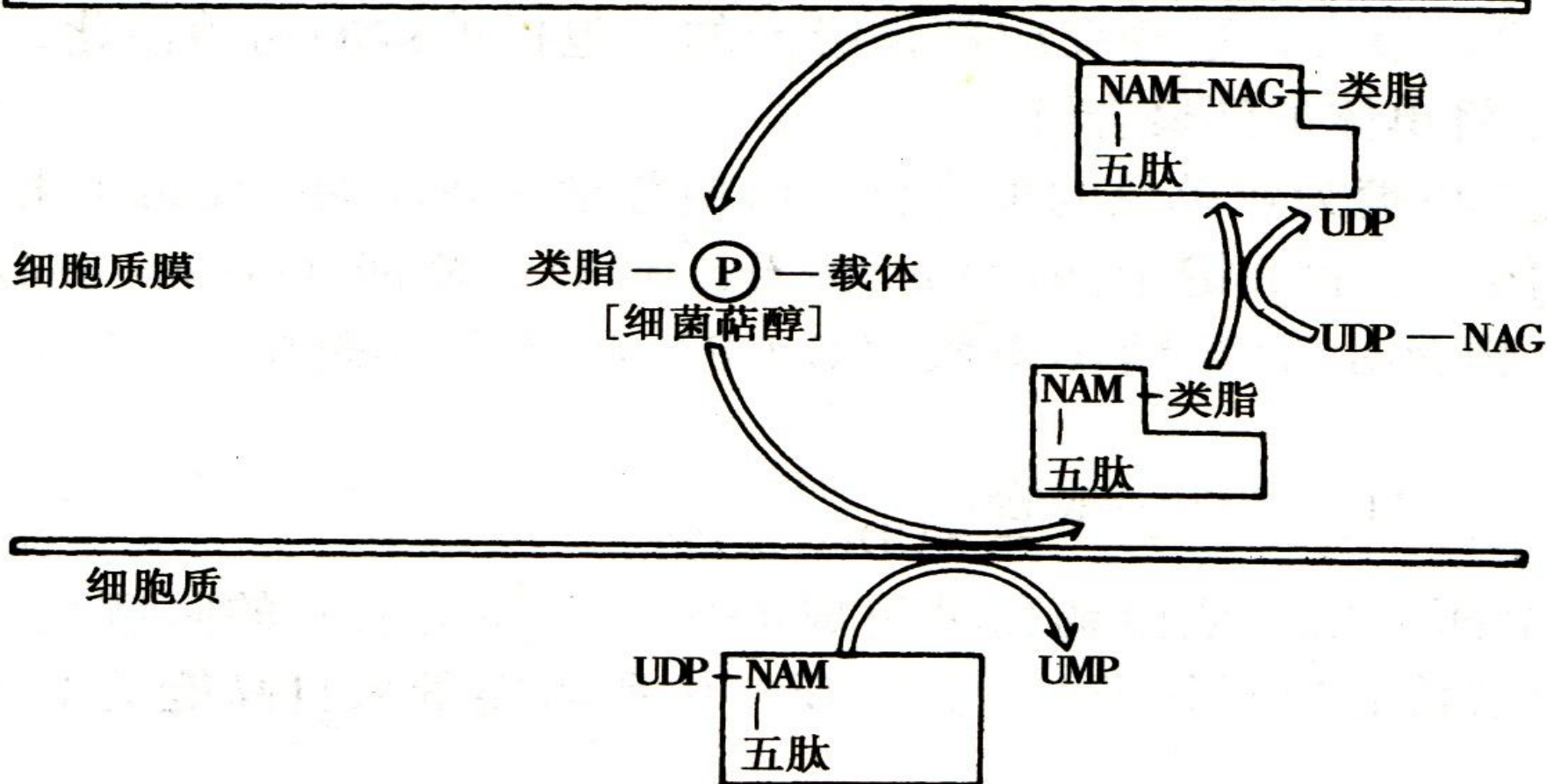
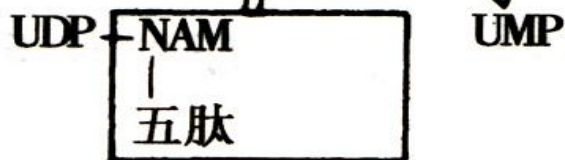


UDP

UDP — NAG



细胞质



第四节 微生物的代谢调控及其应用

- 一、微生物代谢过程中的自我调节
- 二、酶活性的调节
- 三、酶合成的调节
- 四、代谢调控理论的应用

一、微生物代谢过程中的自我调节

- 1.控制营养物质透过细胞膜进入细胞
- 2.通过酶的定位控制酶与底物的接触
- 3.控制代谢物流向

二、酶活性的调节

通过改变现成的酶分子活性来调节新陈代谢的速率的方式。

(一) 调节方式:

1、酶活性的激活: 在代谢途径中后面的反应可被较前面的反应产物所促进的现象; 常见于分解代谢途径。

2、酶活性的抑制: 包括: 竞争性抑制和反馈抑制。

概念: **反馈:** 指反应链中某些中间代谢产物或终产物对该途径关键酶活性的影响。

凡使反应速度加快的称**正反馈**;

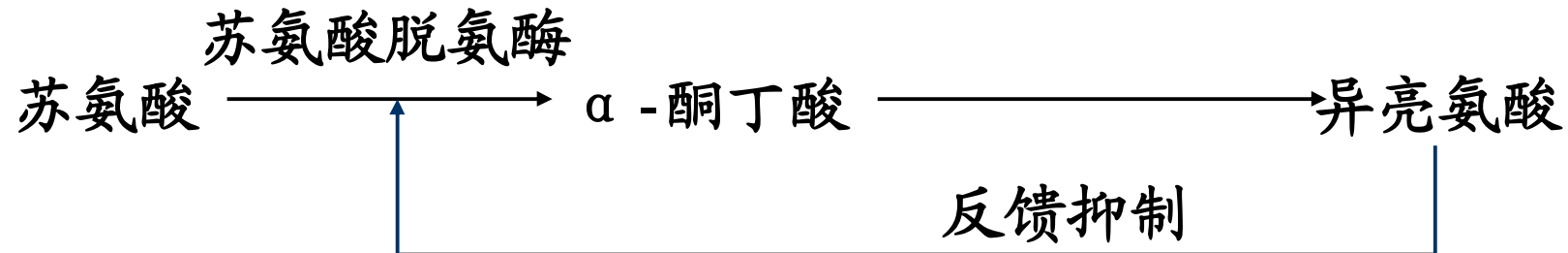
凡使反应速度减慢的称**负反馈 (反馈抑制)**;

反馈抑制——主要表现在某代谢途径的末端产物过量时可反过来直接抑制该途径中第一个酶的活性。主要表现在氨基酸、核苷酸合成途径中。

特点: 作用直接、效果快速、末端产物浓度降低时又可解除

(二) 反馈抑制的类型

1. 直线式代谢途径中的反馈抑制:

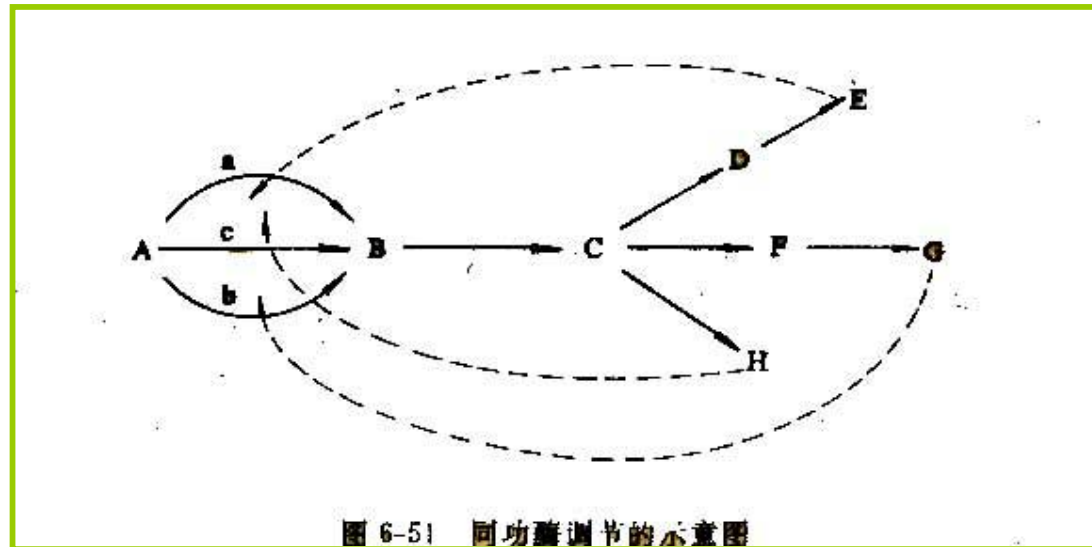


2. 分支代谢途径中的反馈抑制:

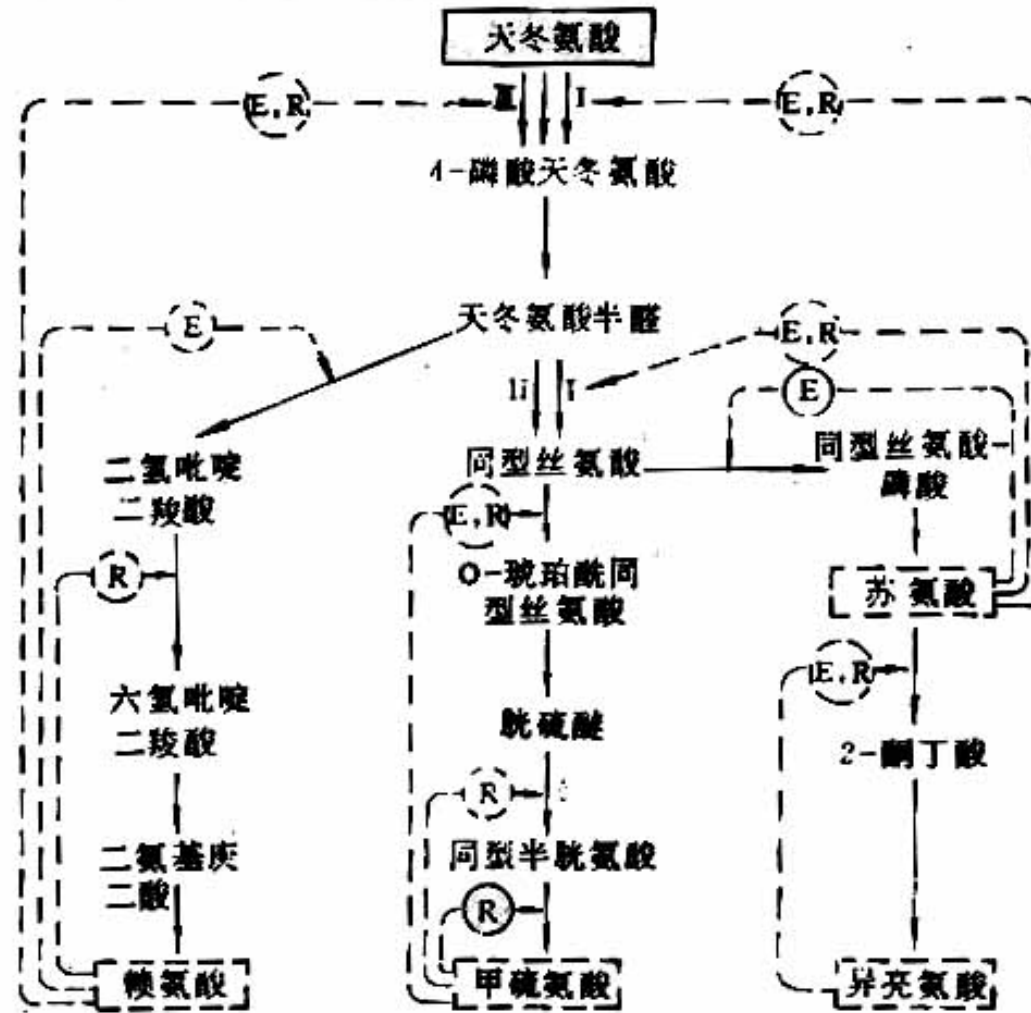
在分支代谢途径中，反馈抑制的情况较为复杂，为了避免在一个分支上的产物过多时不致同时影响另一分支上产物的供应，微生物发展出多种调节方式。主要有：同功酶的调节，顺序反馈，协同反馈，积累反馈调节等。

(1) 同功酶调节——isoenzyme

一个代谢的关键酶可以是不同的一类酶,分别受不同的终产物调控。一条途径受抑制,则代谢会沿另一途径进行。

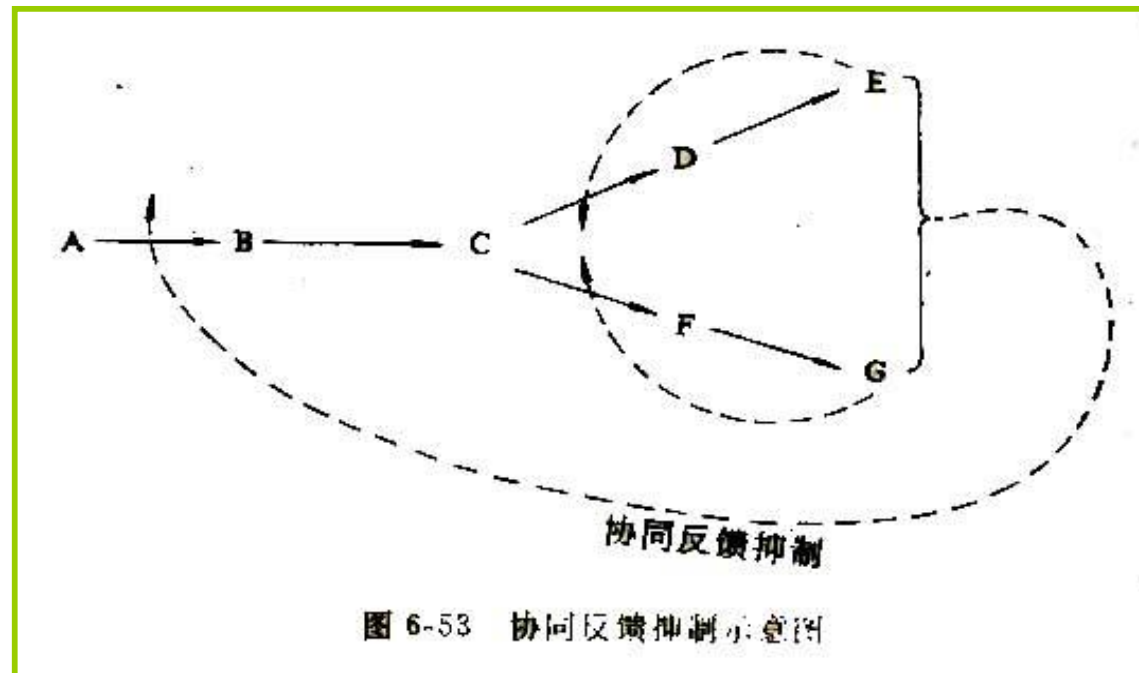


天冬氨酸族氨基酸生物合成调控:



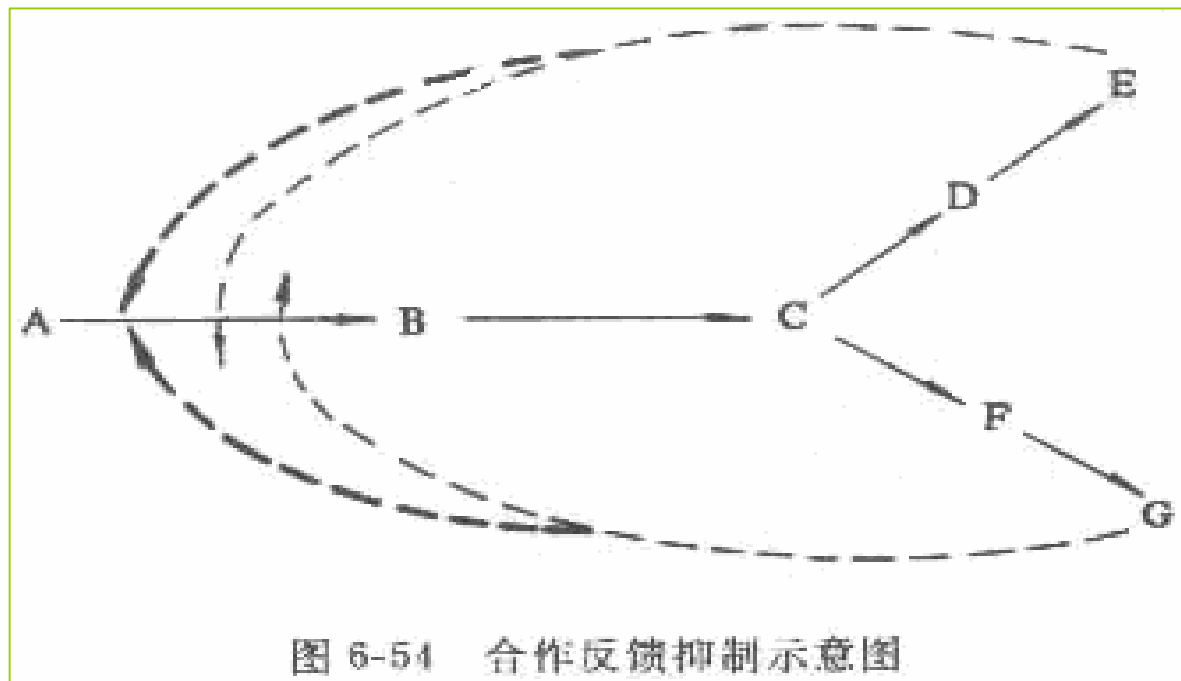
(2) 协同反馈抑制——concerted feedback inhibition

定义：分支代谢途径中几个末端产物同时过量时才能抑制共同途径中的第一个酶的一种反馈调节方式。



(3) 合作反馈抑制——cooperative feedback inhibition

定义：两种末端产物同时存在时，共同的反馈抑制作用大于二者单独作用之和。



(4) 积累反馈抑制——cumulative feedback inhibition

每一分支途径末端产物按一定百分比单独抑制共同途径中前面的酶，所以当几种末端产物共同存在时它们的抑制作用是积累的，各末端产物之间既无协同效应，亦无拮抗作用。

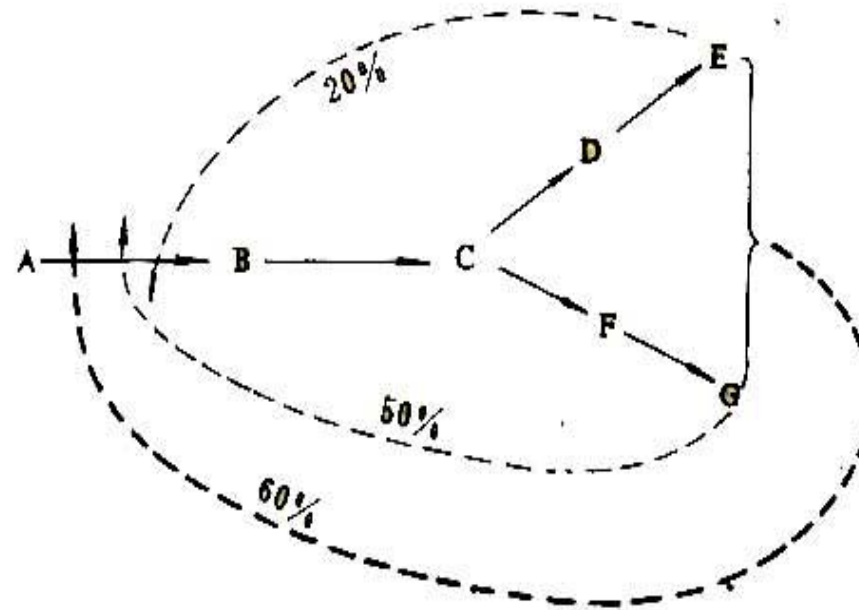
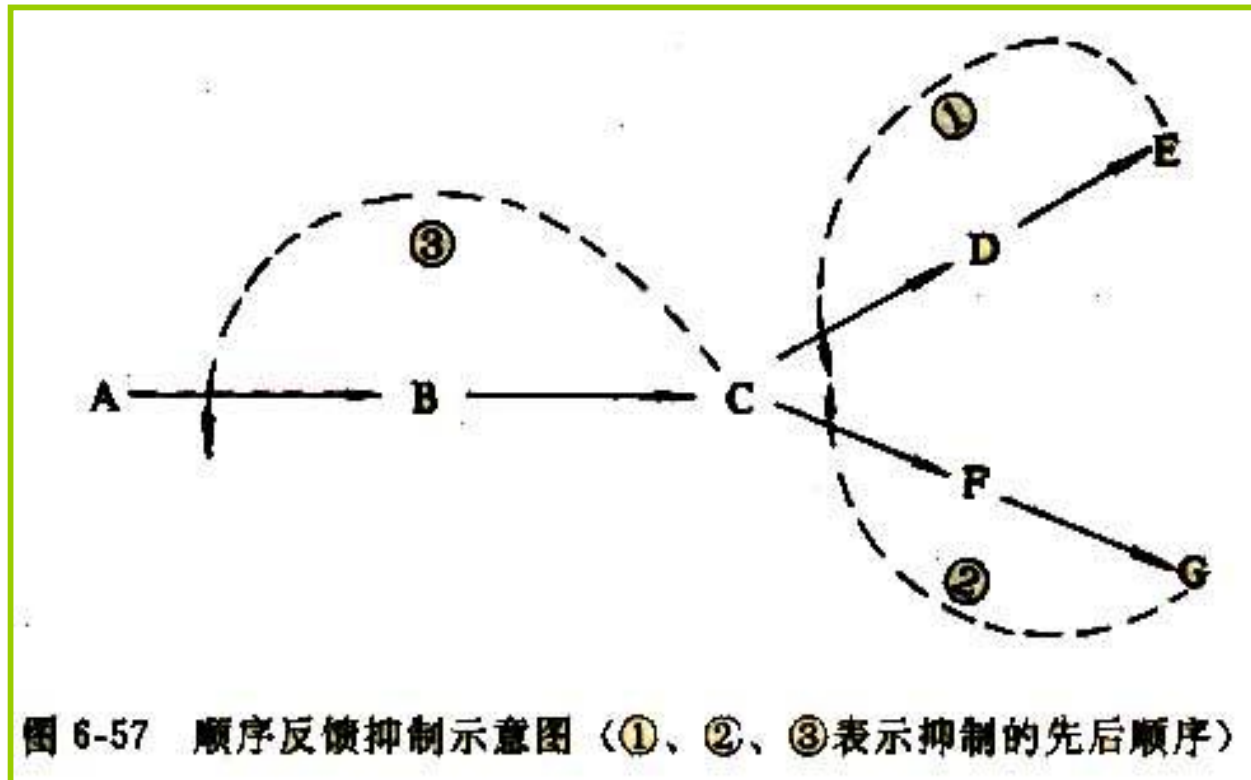


图 6-55 累积反馈抑制示意图 [E 可单独抑制 20%，G 可单独抑制 50%，当 E 与 G 同时存在时 $20 + (100 - 20) \times 50 = 60\%$]

(5) 顺序反馈抑制——sequential feedback inhibition

一种终产物的积累,导致前一中间产物的积累,通过后者反馈抑制合成途径关键酶的活性,使合成终止。



(三)酶活力调节的机制

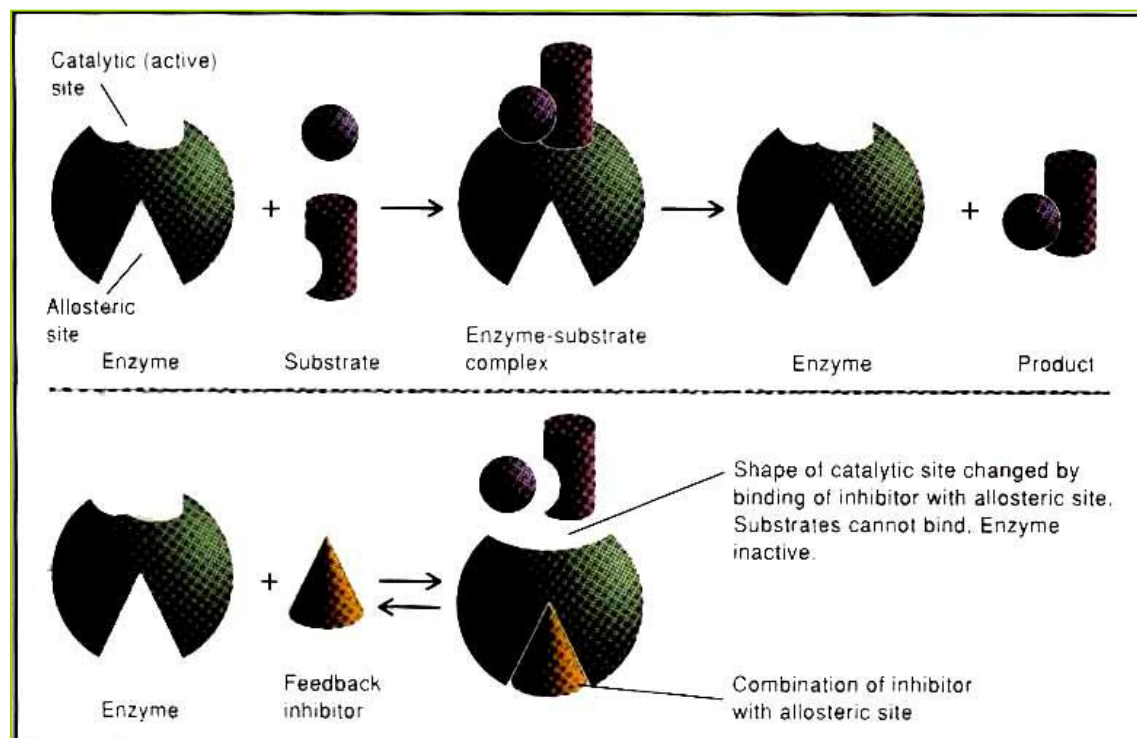
1. 变构酶理论:

变构酶为一种变构蛋白，酶分子空间构象的变化影响酶活。其上具有两个以上立体专一性不同的接受部位，一个是活性中心，另一个是调节中心。

活性位点:与底物结合

变构位点: { 与抑制剂结合,构象变化,不能与底物结合
与激活剂结合, 构象变化,促进与底物结合

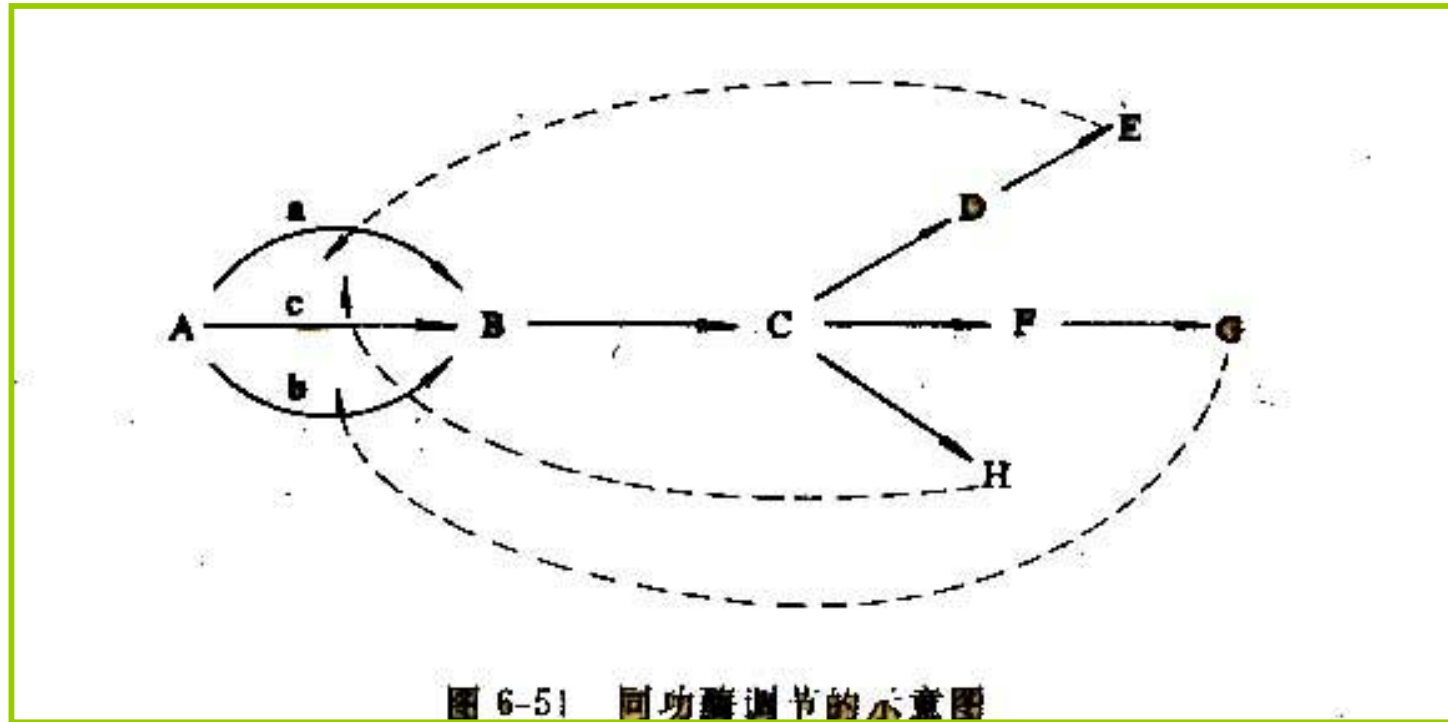
变构酶上有两个位点：



*协同效应中，酶有多个调节位点，只有每一位点与终产物结合才产生反馈。

2、同功酶 (isoenzyme)理论:

某一产物过量仅抑制相应酶活，对其他产物没影响。



三、酶合成的调节

通过调节酶的合成量进而调节代谢速率的调节机制，是基因水平上的调节，属于粗放的调节，间接而缓慢。

(一) 酶合成调节的类型

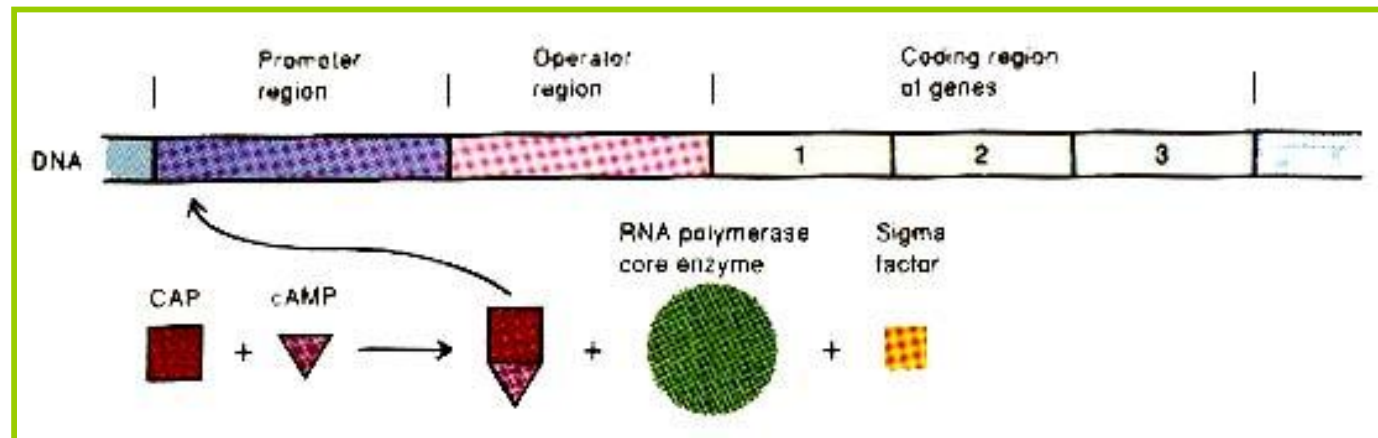
1. 诱导(induction)：是酶促分解底物或产物诱使微生物细胞合成分解代谢途径中有关酶的过程。微生物通过诱导作用而产生的酶称为**诱导酶**（为适应外来底物或其结构类似物而临时合成的酶类）。

2. 阻遏(repression)：是阻碍代谢过程中包括关键酶在内的一系列酶的合成的现象，从而更彻底地控制和减少末端产物的合成。

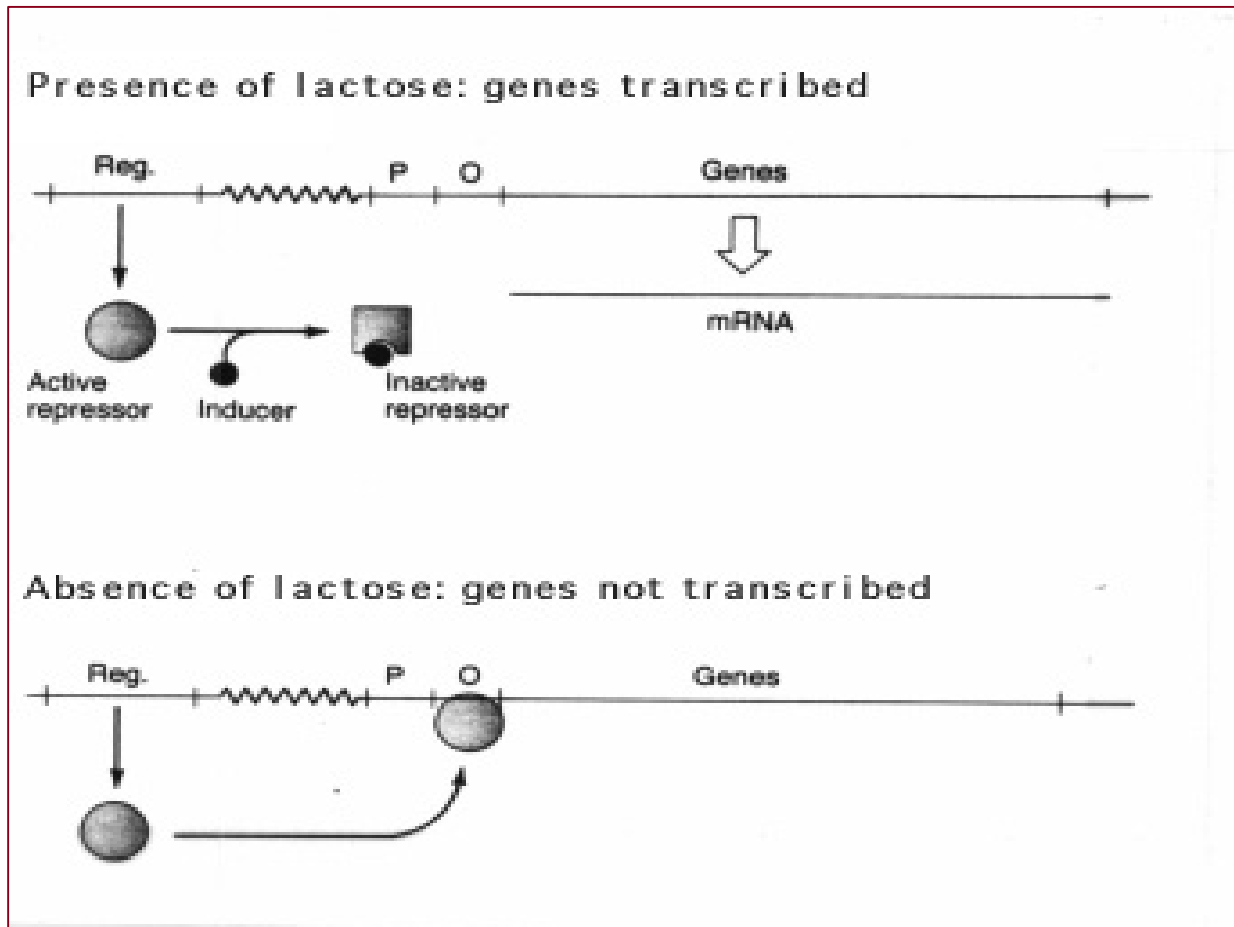
(二) 酶合成的诱导

操纵子学说:

操纵子 (operon) : 是基因表达和控制的一个完整单元, 其中包括启动基因(promoter)、操纵基因(operator)和结构基因 (Structural gene) 3部分。



E.coli 乳糖操纵子学说(负调节)

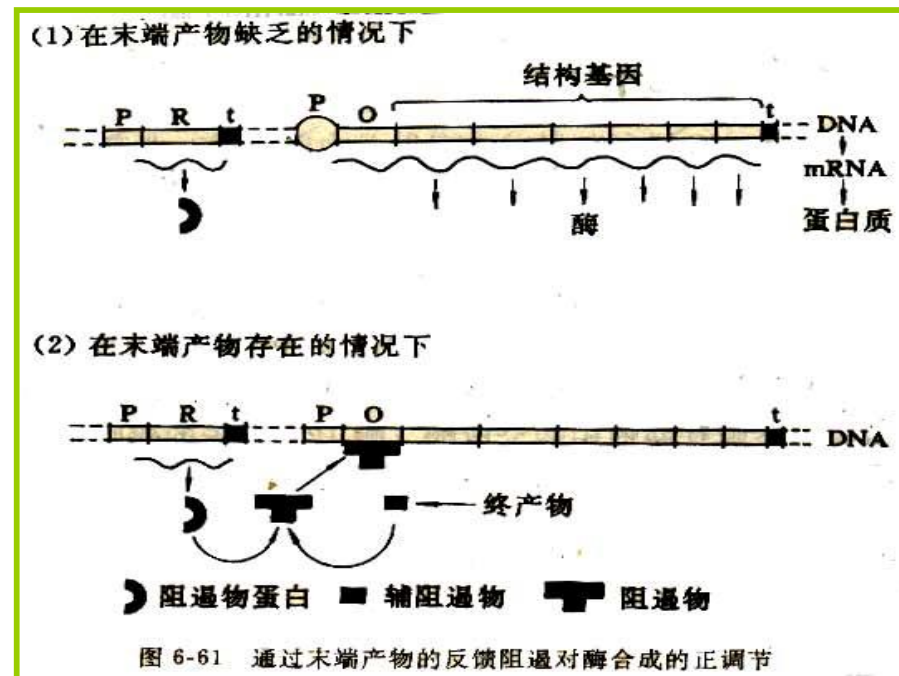


有乳糖时：乳糖作为一种效应物与阻遏物结合，使其变构，不能与O结合，从而转录进行，合成乳糖酶，分解乳糖。

无乳糖时：细胞内产生的阻遏物结合在操纵基因上，转录不能进行。

(三) 酶合成的阻遏

1、终产物的阻遏(end product repression):
即在合成代谢中，终产物阻遏该途径 所有酶的合成。为基因表达的控制。



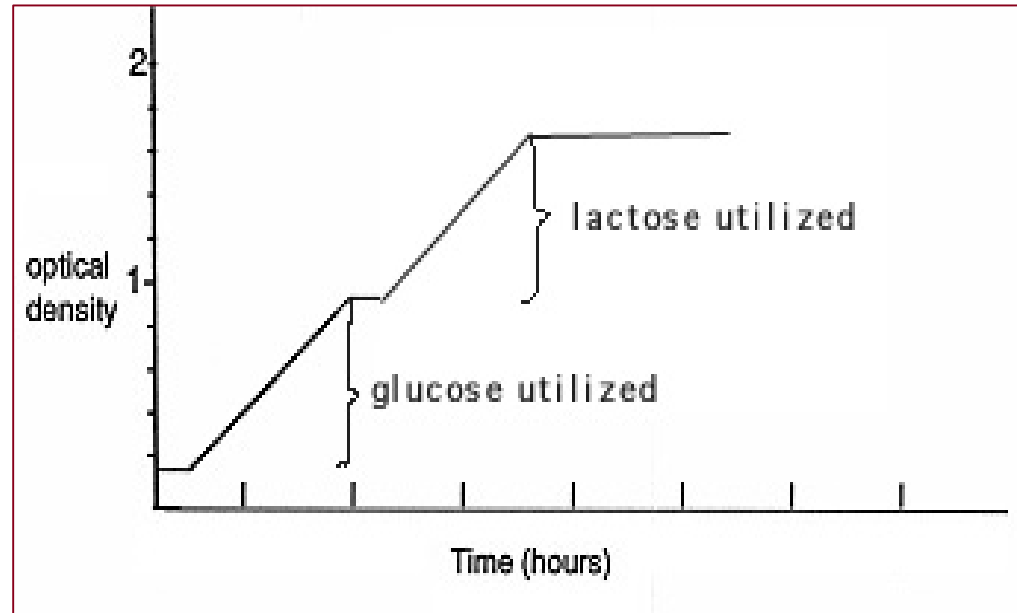
(三)、酶合成的阻遏

2、降解产物的阻遏 (**Catabolite Repression**)

二次生长现象的机制:

分解葡萄糖的酶——组成酶 (固有酶)

分解乳糖的酶——诱导酶, 受葡萄糖分解代谢产物的调控。



The Diauxic Growth Curve of *E. coli* grown in limiting concentrations of a mixture of glucose and lactose

四、调控理论的应用

食品发酵的目的：大量积累人们所需要的微生物代谢产物。

代谢的人工控制：人为地打破微生物的代谢控制体系，使代谢朝着人们希望的方向进行。

人工控制代谢的手段：

改变微生物遗传特性(遗传学方法)；

控制发酵条件（生物化学方法）；

改变细胞膜透性。

(一)遗传学方法

1. 筛选抗反馈突变株

如：对诱变后的菌种用终产物结构类似物，筛选对终产物积累不敏感的细胞株。

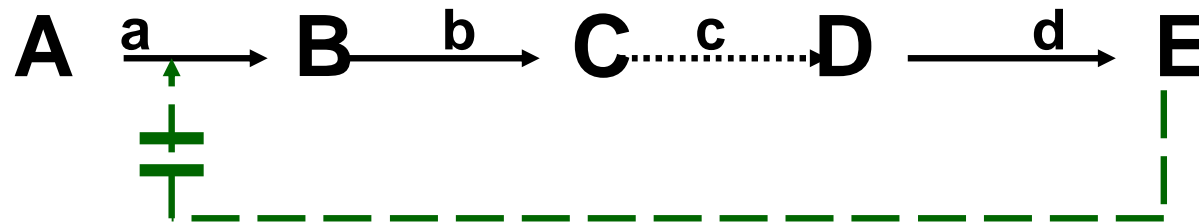
产生原因：1) 酶结构发生改变；
2) 酶系统发生改变。

因此细胞不受终产物反馈抑制，产生过量的产物。

(一)遗传学方法

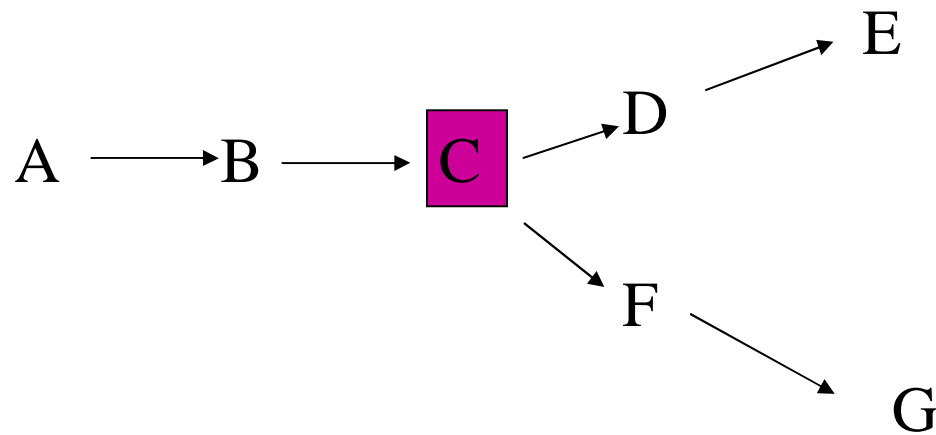
2.营养缺陷型菌株的应用

(1) 对于直线式代谢途径：选育营养缺陷性突变株只能积累中间代谢产物



末端产物E对生长乃是必需的，所以，应在培养基中限量供给E，使之足以维持菌株生长，但又不至于造成反馈调节（阻遏或抑制），这样才能有利于菌株积累中间产物C。

(2) 分支代谢途径: 情况较复杂, 可利用营养缺陷性克服协同或累加反馈抑制积累末端产物, 亦可利用双重缺陷发酵生产中间产物。



分支途径——赖氨酸生产

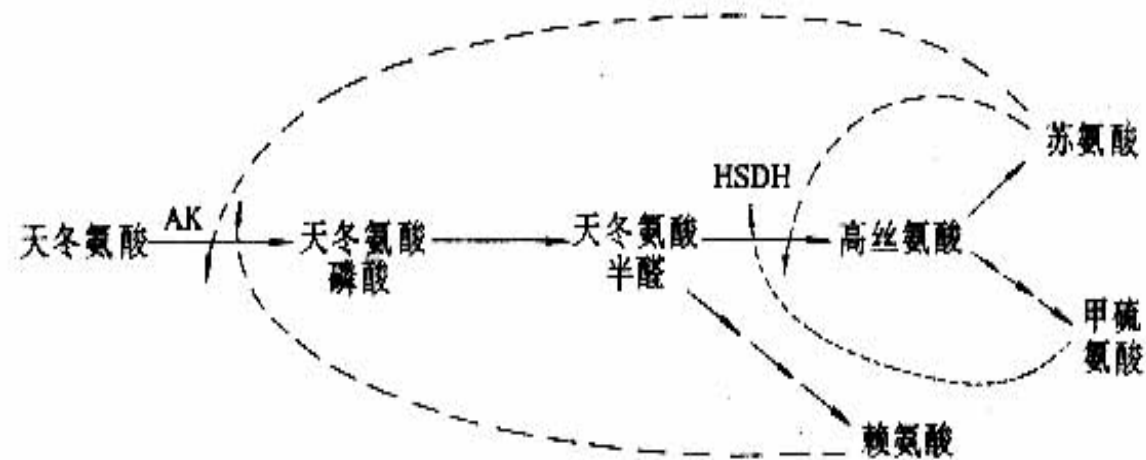


图 6-62 *Corynebacterium glutamicum* 的代谢调节与赖氨酸生产²⁴ (——→为反馈抑制,→为阻遏)

分支途径——肌苷酸发酵

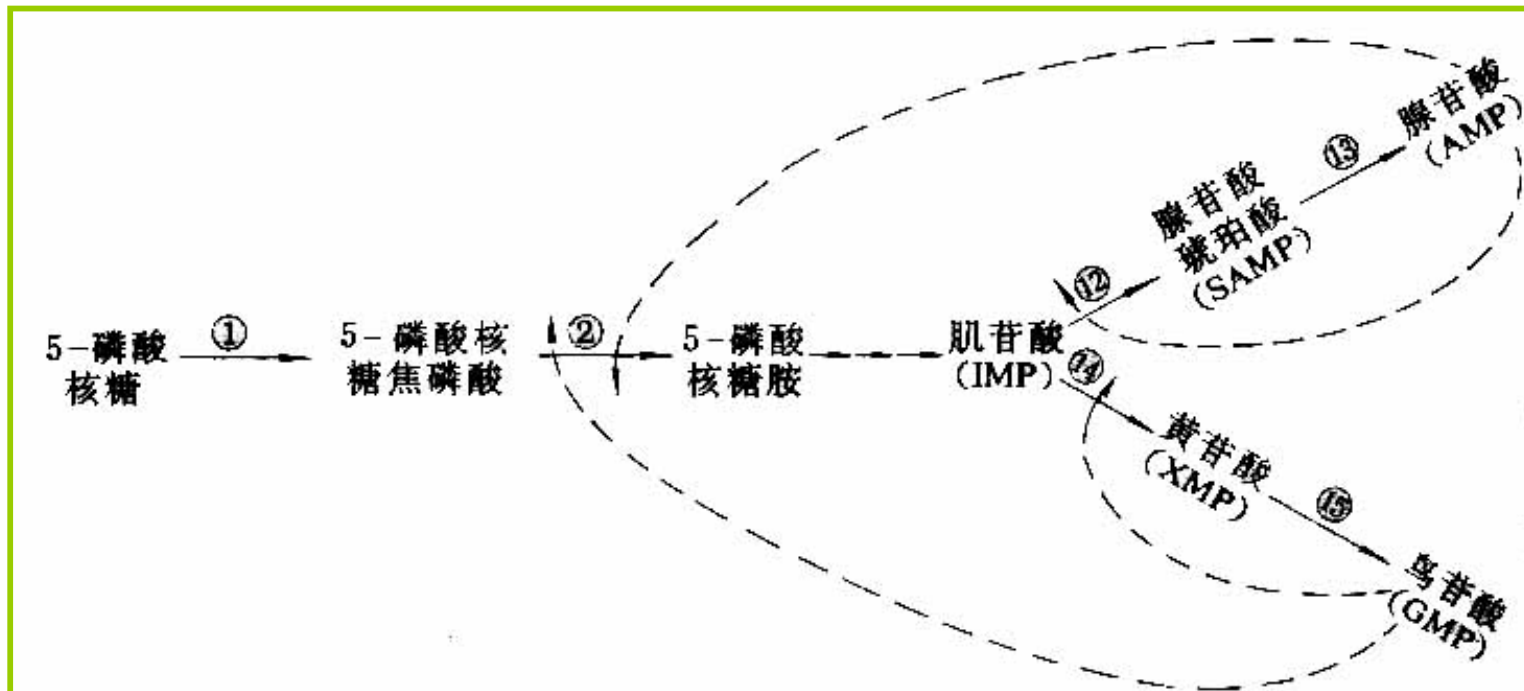


图 6-63 *C. glutamicum* 中 IMP 合成途径的代谢调节 (①5-磷酸核糖焦磷酸激酶, ②5-磷酸核糖焦磷酸转胺酶, ⑬腺苷酸琥珀酸合成酶, ⑫腺苷酸琥珀酸分解酶, ⑭IMP 脱氢酶, ⑮XMP 转胺酶; 虚线箭头表示反馈抑制)

(一)遗传学方法

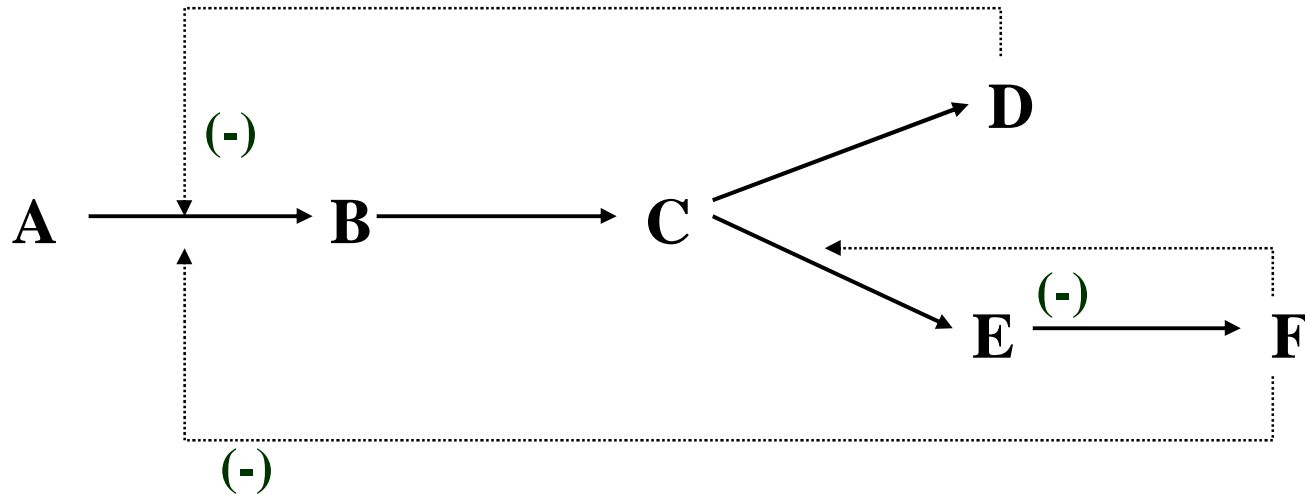
3. 利用基因重组技术，筛选新菌种，以大量积累某种代谢产物。

4. 诱导酶合成

调节基因位点突变,不能编码调节蛋白;
添加底物结构类似物,使其与调节蛋白结合;
不断降低阻遏物的浓度(如连续发酵)。

(二) 生物化学方法

1. 添加前体绕过反馈控制点：亦能使某种代谢产物大量产生



2. 添加诱导剂：从提高诱导酶合成量来说，最好的诱导剂往往不是该酶的底物，而是底物的衍生物，
3. 发酵与分离过程耦合：
4. 控制发酵的培养基成分：

(三) 控制细胞膜渗透性

使胞内的代谢产物迅速渗漏出去,解除末端产物的反馈抑制。

1. 用生理学手段——直接抑制膜的合成或使膜受缺损

如:在Glu发酵中,生物素引起膜透性下降。把生物素浓度控制在亚适量可大量分泌Glu。

2. 利用膜缺损突变株——油酸缺陷型、甘油缺陷型

如:用谷氨酸生产菌的油酸缺陷型,培养过程中,有限制地添加油酸,合成有缺损的膜,使细胞膜发生渗漏而提高谷氨酸产量。