

在生香毛霉酶促磷酸化体系中葡萄糖的酵解和嘌呤核苷酸代谢的调节

谢伯泰 杨彭年 占谷宇 邓邦权

(陕西省微生物研究所*, 武功)

我们研究了生香毛霉 (*M. aromaticus* Povah) 酶促磷酸化体系中糖的酵解特性和葡萄糖、磷酸盐对嘌呤核苷酸代谢的调节作用。试验表明, 生香毛霉具有较强的糖酵解酶系活力和发酵力。但是它的发酵能力易受菌体保存温度和放置时间的影响。

在反应体系中, 葡萄糖浓度不但影响酵解代谢, 而且影响 ATP 的累积速度。葡萄糖和磷酸盐浓度的微克分子比例 (以下简称糖磷比), 对嘌呤核苷酸代谢的方向具有重要的调节作用。糖磷比 < 1 , 能抑制 AMP 的降解; 糖磷比 ≥ 1 , 会使 AMP 脱氨生成 IMP, 再进一步分解成 Ino 和 Hx。在一定的糖浓度下, 适当提高磷酸盐的浓度, 可以抑制 AMP 的降解, 促进 AMP 的磷酸化。在一定的磷浓度下, 提高糖的浓度, 似乎能解除磷酸盐对 AMP 脱氨酶和肌苷水解酶活性的抑制。

材料和方法

(一) 菌种

生香毛霉 (*Mucor aromaticus* Povah)

(二) 菌体培养

1. 培养基组成 (%): 葡萄糖 3, 蛋白胨 1, 硫酸铵 0.25, 磷酸氢二钾 0.15, 酵母膏 0.3, 氯化镁 0.1, pH 5.8—6.2。常规灭菌。

2. 菌体培养: 种子瓶振荡培养 6—8 小时, 菌体培养 10 小时左右, 其他条件和菌体收集方法同前报^[1]。

(三) 反应体系

见正文。反应液的 pH 是指加入菌体以前的 pH, 并以雷磁 25 型酸度计为准。

(四) 反应产物的分析鉴定

1. 纸电泳: 在预处理过的新华层析滤纸上

点样 10 微升。电压梯度 15 伏/厘米, 通电 4 小时。缓冲液: (1) 0.04 M 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液, pH 4.8, 用于分离 AMP 的磷酸化产物; (2) 甲酸: 乙酸 (2.5%: 7.8%), pH 1.8。用于嘌呤碱及嘌呤核苷的分离鉴定。电泳斑点的检出, ATP、Ino 及 Hx 克分子转化率的计算, 均同前报^[1]。

2. 纸层析: 溶剂系统为: 异丁酸 : 1N NH_4OH = 100:60。主要用于 IMP 的定性和检出。

3. 中间代谢产物的分离和测定: 糖酵解中间产物的组份分离, 采用 Umbreit, W.W. 等^[2]介绍的方法稍加修改。反应产物按下述步骤分成三组。

(1) 取反应液 2 毫升, 置于 15 毫升离心管中, 用 2 N HNO_3 调至 pH 2.0, 加入稍过量的高汞试剂离心。上清液移入另一离心管中。沉淀用少量水加一滴 HNO_3 和一滴高汞试剂洗涤离心两次, 上清液并入另一离心管, 用 6 N KOH 调至 pH 7.0, 在大部分糖磷酸酯出现沉淀时, 加入镁剂,

本文于 1979 年 2 月 26 日收到。徐俊平、谷朝霞同志参加部分工作。

本文采用以下缩写: ATP: 三磷酸腺苷, ADP: 二磷酸腺苷, AMP: 一磷酸腺苷, Ado: 腺苷, Ade: 腺嘌呤, IMP: 肌苷酸, Ino: 肌苷, Hx: 次黄嘌呤, EMP: 糖酵解代谢途径, FDP: 1,6 二磷酸果糖, F-6-P: 6 磷酸果糖, G-6-P: 6 磷酸葡萄糖, G-3-P: 3-磷酸甘油醛, 3-PGA: 3-磷酸甘油酸, DGP: 1,3 二磷酸甘油酸, EP: 磷酸丙酮酸, TCA: 三羧酸。

* 原名: 中国科学院西北水土保持生物土壤研究所。

并用 NH_4OH 碱化至 $\text{pH } 8.2$ 。室温放置 4 小时后离心, 保留上清液。沉淀加一滴镁剂和少量稀氨水洗涤离心两次, 上清液合并一起定容至 25 毫升。取其中 1 毫升微火浓缩近干, 加 1 毫升 $10 \text{ N H}_2\text{SO}_4$ 消化, 冷却后用 KOH 中和定容于 10 毫升。供测定总磷之用。

另取上述制备液 2 毫升, 加 2 N HCl 2 毫升, 100°C 水解 3 小时, 最后加 2 N KOH 2 毫升, 定容至 10 毫升, 供测定“抗水解磷”之用。

根据总磷和“抗水解磷”之差计算 3-PGA 的含量。

(2) 取反应液 2 毫升, 在 15 毫升离心管中加 1 滴酚酞, 用 6 N KOH 调 $\text{pH } 8.2$ (微显粉红), 加 25% 的醋酸钡 5—6 滴(稍过量), 冷冻 15 分钟后离心。上清液为钡不沉淀部分, 倾于小烧杯中。沉淀用 6 N HCl 1—2 滴溶解后加一滴醋酸钡, 再用 6 N KOH 调 $\text{pH } 8.2$, 冷冻 15 分钟后离心, 上清液并入小烧杯中。

钡沉淀部分加 6 N HCl 1—2 滴溶解后再加 $10 \text{ N H}_2\text{SO}_4$ 2—3 滴(稍过量), 再冷冻 15 分钟后离心, 保留清液。硫酸钡沉淀用少量水洗涤离心两次, 合并清液, 定容至 25 毫升。用间苯二酚法测定其中 FDP 的含量。

(3) 上述钡不沉淀部分, 用 6 N KOH 调 $\text{pH } 8.2$, 加 4 倍体积 95% 的乙醇, 冷冻 30 分钟后离心, 弃去上清液。沉淀用 1 滴 6 N HCl 溶解后加 1 滴醋酸钡, 再加 1 滴 6 N KOH , 然后用 2 N KOH 调 $\text{pH } 8.2$, 再如上述加乙醇冷冻后离心, 如此洗涤两次。最后用 1 滴 6 N HCl 使沉淀溶解后加稍过量的 H_2SO_4 离心。保留清液。硫酸钡沉淀用水洗涤两次, 合并清液, 用 6 N KOH 调 pH 近中性, 定容至 25 毫升。按 1 N KOH 的水解磷, 计算 G-3-P 的含量。在碱性溶液中用碘水解产生无机磷的方法测定 EP 的含量。用间苯二酚法测定 F-6-P 的含量。用蒽酮法测定 G-6-P 的含量。在 G-6-P 的测定中对 P-6-P 发生的还原作用应加以校正; 而戊糖的还原作用对本试验影响不大, 未作校正。

4. 反应液中残留葡萄糖含量的测定

取反应液 0.5—1.0 毫升, 稀释 50—100 倍, pH 调至近中性, 通过 717 阴离子交换树脂 (Cl^- 型) 柱, 除去糖磷酸。上柱流出液和蒸馏水洗柱

液合并定容。用蒽酮显色测定并计算残留葡萄糖的含量。

五. 试验中所用 AMP 的纯度为 85—94%, 使用时折纯计算。

试验结果

(一) 生香毛霉糖酵解酶系的稳定性

生香毛霉虽然具有较强的糖酵解酶系活力, 但是菌体酶促磷酸化能力极易受环境温度的影响。从图 1 和图 2 可以看出, 鲜菌体在 -15°C 保存 3—4 天磷酸化能力基本不变; 在 0°C 只能保存 1 天左右; 而在室温 ($25-28^\circ\text{C}$) 下只能保存 2—3 个小时。

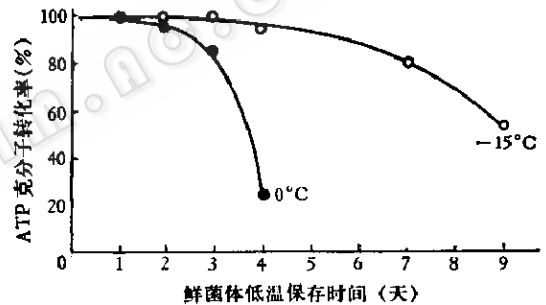


图 1 鲜菌体低温保存时间和保存温度对毛霉菌体磷酸化能力的影响

反应体系(微克分子/毫升): 葡萄糖 200, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 400, AMP 20, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5, $\text{pH } 7.5$, 总体积 2.5 毫升, 另加甲苯 0.125 毫升, 鲜菌体 1 克。35°C 反应 120 分钟后, 加 40% TCA 0.2 毫升终止反应

另外, 根据鲜菌体和钝化菌体(在室温下放置 4—5 小时以后的菌体)的比较试验来看, 不论是鲜菌体还是钝化菌体, 其磷酸化水平的高或低不因添加乙醛而改变。即使在反应体系中添加氧化型辅酶 I (NAD) 5 微克分子/毫升, 也不能提高钝化菌体 ATP 的转化率。但是用 G-6-P, 尤其是用 FDP 代替反应体系中的葡萄糖进行反应, 钝化菌体的磷酸化能力仍能达到鲜菌体的水平(表 1)。

表 1 不同酵解底物对菌体磷酸化的影响

ATP 克分子 转化率(%) 菌体	底物(微克分子/毫升)		葡萄糖 200		G-6-P 100		FDP 100	
	鲜 菌 体	钝 化 菌 体	97.8	96.9	—	96.5	—	100
			77.3	69.6	94.2	91.6	98.3	97.8

这说明温度对毛霉菌体糖酵解和磷酸化能力的影响不是 NAD 氧化还原受阻或供应不足，而主要是葡萄糖的磷酸化受到障碍。

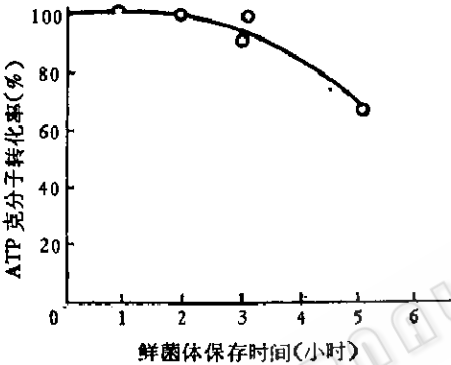


图 2 鲜菌体室温 (25~28℃) 保存时间对毛霉菌体磷酸化能力的影响
反应体系与图 1 相同。

(二) 葡萄糖对毛霉糖酵解和ATP 累积的影响

我们已报道^[1]，用毛霉酶促合成 ATP 主要是通过 EMP 途径实现的。表面上看起来，葡萄糖浓度对毛霉的糖酵解和

ATP 的累积速度有一定的影响，似乎糖浓度能影响 ATP 的克分子转化率(图 3)，但是实际上并不是这样。从表 2 可以看出，随反应体系中葡萄糖浓度的增加，EMP 各中间产物都相应增加，其中 FDP 和 3-PGA 的增加较为显著。不论反应体系中葡萄糖含量的高低，反应一开始糖的消耗都很快

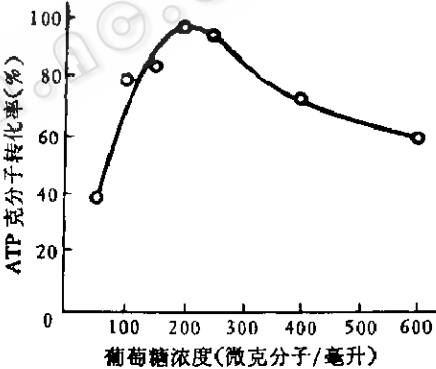


图 3 葡萄糖浓度对 ATP 累积的影响
反应体系与图 1 相同。

(表 3)，这都说明增加反应体系中糖的含量并没有减缓 EMP 和磷酸化的反应速度。只是由于在 EMP 中生成的 ATP 积极地

表 2 葡萄糖对毛霉糖酵解产物的影响

酵解产物(微克分子/毫升) 糖浓度 (微克分子/毫升)						
	G-6-P	F-6-P	FDP	G-3-P	3-PGA	EP
100	0.92	1.4	1.9	0.15	5.0	0
200	1.10	4.4	10.9	0.23	18.9	0
400	7.20	9.4	28.1	0.92	31.0	2.3
600	—	—	35.9	—	—	—

反应体系与图 1 相同。

表 3 葡萄糖的消耗情况

反应时间 (分)	糖浓度 (微克分子/毫升)					
	90	120	150	180	210	240
200	15.3	15.9	11.1	10.2	10.8	10.2
600	57.3	33.7	22.2	19.2	18.9	17.3

反应体系中除 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 为 30 微克分子/毫升外,其他条件与图 1 相同。

表 4 磷酸盐对毛霉糖酵解和嘌呤核苷酸代谢的影响

磷酸盐浓度 (微克分子/毫升)	微克分子/毫升		克分子转化率(%)				
	FDP	残 糖	ATP	ADP	AMP	Ino	Hx
100	14.1	36.1	50.8	9.3	8.3	20.1	10.8
200	—	—	78.0	10.6	2.4	12.2	0
300	—	—	95.1	4.6	1.4	0	0
400	30.2	26.2	97.1	3.7	2.8	0	0
600	21.8	44.9	101.6	0	0	0	0

反应体系与图 1 相同。

参与了 EMP 中葡萄糖和 F-6-P 的需能磷酸转移反应,影响了 ATP 的累积速度,使 ATP 累积高峰出现的时间推迟。看来只有当反应体系中葡萄糖已基本耗尽之后,由 EMP 累积起来的一部分 FDP 再通过 EMP 生成的 ATP 不再参与其他需能磷酸转移时,ATP 才能大量累积。所以糖多时,把糖彻底降解就需要较长的时间,同时也需要消耗较多的 ATP 去参与葡萄糖的磷酸化和 FDP 的生成。

因此,反应体系中糖浓度的增加,并不限制 ATP 的转化速度和转化率,而是由于减缓了 ATP 的累积速度,使 ATP 累积高峰出现的时间相应有所推迟。

(三) 磷酸盐对毛霉糖酵解和磷酸化的影响

磷酸盐是 EMP 中的磷源,它和 G-3-P 作用生成 DGP,并通过磷酸转移反应使

ADP 变成 ATP。在一定的糖浓度下,磷酸盐供应不足(在 100 微克分子/毫升以下),就会影响酵解中间产物的生成和 ATP 的累积,造成 AMP 的降解(表 4)。这时提高磷酸盐的浓度,可以促进糖酵解,增加 ATP 的累积。在较高的磷酸盐浓度下,除了由于反应体系中离子强度太大对 ATP 的累积稍有影响外,并不像葡萄糖对 ATP 的累

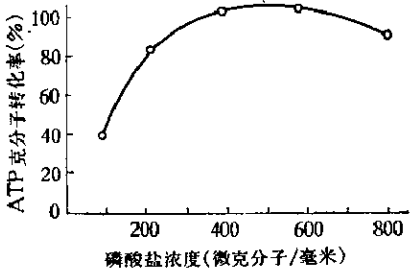


图 4 磷酸盐浓度对酶促磷酸化的影响
反应体系中除 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 为 100-800 微克分子/毫升, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 30 微克分子/毫升外,其他条件与图 1 相同。

积速度有那样显著的影响(图 4 和表 5)。

(四) 糖磷比对毛霉嘌呤核苷酸代谢的调节作用

ATP 克分子转化率(%)		反应时间 (分)		
		120	150	180
磷酸盐浓度 (微克分子/毫升)	400	97.3	93.5	89.5
	600	101.6	99.0	85.3
	800	92.6	94.3	85.7

反应体系中除 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 为 400—800 微克分子/毫升, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 为 30 微克分子/毫升外,其他条件与图 1 相同。

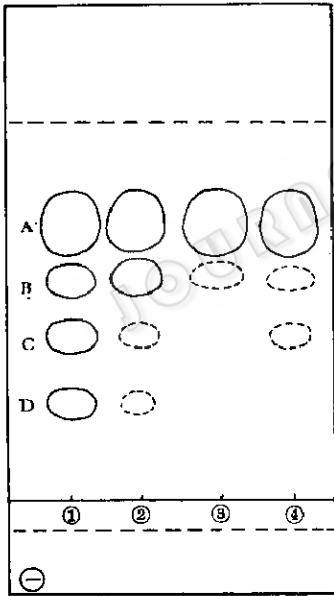


图 5 磷酸盐浓度对磷酸化影响的电泳图谱
pH 4.8, 0.04 M 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,
电压 15 伏/厘米, 4.0 小时。

反应体系中除磷酸盐浓度为 100—600 微克分子/毫升, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 为 30 微克分子/毫升外,其他条件与图 1 相同。

- ① 糖/磷 = 200/100, 糖磷比 > 1
- ② 糖/磷 = 200/200, 糖磷比 = 1
- ③ 糖/磷 = 200/400, 糖磷比 < 1
- ④ 糖/磷 = 200/600, 糖磷比 < 1

A—ATP; B—ADP; C—AMP; D—AMP 的降解物。虚线圈表示量微。

我们在研究葡萄糖和磷酸盐对毛霉酶促磷酸化影响的过程中,发现不仅是磷酸盐的浓度对酶促磷酸化有影响,而且糖磷比对 ATP 的酶促合成和 AMP 的降解有明显地调节作用。AMP 的降解产物经电泳、层析和光谱特性的分析鉴定发现是 IMP、Ino 和 Hx (图 5—9 及表 6)。

这表明,在糖磷比适宜的反应体系中,

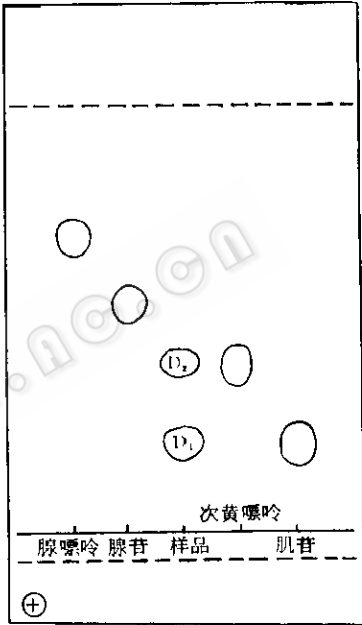


图 6 AMP 降解产物与标准嘌呤化合物电泳图谱的比较

pH 1.8, 醋酸-甲酸缓冲液,电压 15 伏/厘米,电泳 3 小时。图中 D_1 ——Ino; D_2 ——Hx。
 D_1 和 D_2 均为图 5—③的 D 点。

AMP 可以通过 EMP 全部转化为 ATP (图 5—③和图 7—②)。若是糖磷比不适当就会影响 ATP 的克分子转化率,并发生 AMP 的降解 (图 5—①, ② 和图 7—③, ④)。从表 7 和图 5—9 可以更清楚的看出,在反应体系中,凡是糖磷比 < 1 时,就不出现 IMP、Ino 和 Hx 等降解产物;当糖磷比 = 1 时,便开始有少量 Ino 生成;若是糖磷比 > 1, ATP 的克分子转化率就显著地降低,并出现 IMP 和 Ino 等降解产物。尤其是在磷酸盐比较低的情况下(糖/

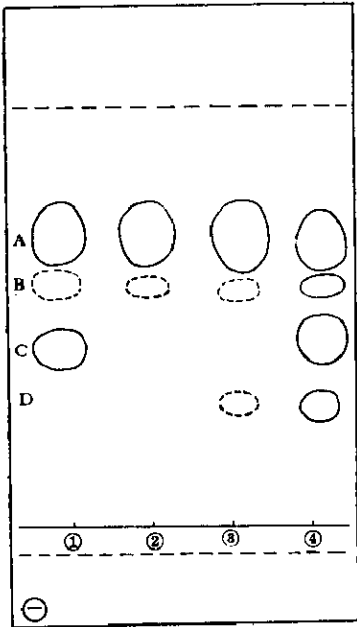


图 7 葡萄糖浓度对磷酸化影响的电泳图谱
pH 4.8, 0.04 M 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液, 电压 15 伏/厘米, 电泳 4 小时。反应体系中除葡萄糖 100—600 微克分子/毫升, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 为 300 微克分子/毫升外, 其他条件均与图 1 相同。

- ① 糖/磷 = 100/400, 糖磷比 < 1
 - ② 糖/磷 = 200/400, 糖磷比 < 1
 - ③ 糖/磷 = 400/400, 糖磷比 = 1
 - ④ 糖/磷 = 600/400, 糖磷比 > 1
- A——ATP; B——ADP; C——AMP; D——AMP 的降解产物。
虚线圈表示量微。

磷 = 200/100), AMP 不但通过 IMP 降解为 Ino, 而且 Ino 还会进一步被分解成 Hx_0 。

此外, 反应体系中糖磷比 > 1 , 糖磷水平又比较高时 (糖/磷 = 600/400), 随反应时间的延长 Ino 增加到一定程度后, 又会逐渐减少。Ino 的累积高峰出现在两个

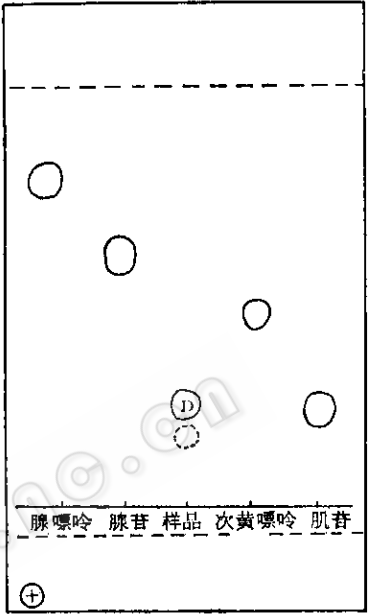


图 8 AMP 降解产物与标准嘌呤化合物的比较
pH 1.8, 乙酸-甲酸缓冲液, D——Ino, D 点就是图 7-④中的 D 点。

半小时, 而 ATP 的累积高峰出现在三个半小时 (图 10)。这可能是因为反应开始时糖磷比 > 1 , 使 AMP 分解成 Ino, 当葡萄糖消耗到一定程度, 改变了原来体系中的糖磷比例。最后使得糖磷比 < 1 , 这时便抑制 AMP 的继续分解, 并使反应中生成

表 6 ATP 降解物与标准嘌呤化合物光谱特性的比较

嘌呤核苷及其碱基 光谱特性 (毫微米)(pH1)	标 准 物								AMP 降解物	
	腺嘌呤	腺苷	次黄嘌呤	肌苷	黄嘌呤	黄苷	鸟嘌呤	鸟苷	D ₁	D ₂
λ Max	263	257	248	248	267	263	275	256	249	250
250/260	0.76	0.84	1.32	1.68	0.57	0.75	1.37	0.94	1.23	1.36
280/260	0.37	0.22	0.09	0.25	0.61	0.28	0.84	0.70	0.033	0.31
290/260	0.035	0.03	0.01	0.025	0.07	0.03	0.49	0.50	0.018	0.007

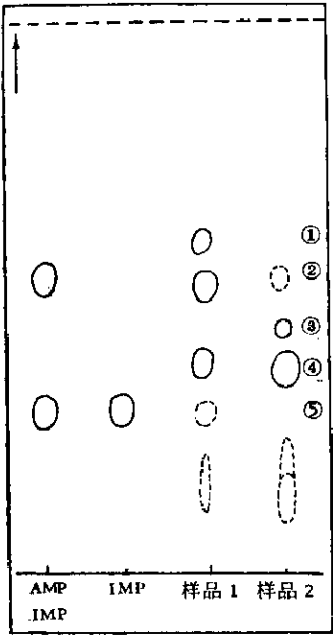


图9 反应产物与标准核苷酸化合物的层析比较
异丁酸-氨溶剂系统，反应体系中除葡萄糖的浓度为200及600微克分子/毫升， $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 为30微克分子/毫升外，其他条件均与图1相同。
样品1 糖/磷 = 600/400，糖磷比 > 1
样品2 糖/磷 = 200/400，糖磷比 < 1
①——Ino；②——AMP；③——ADP；
④——ATP；⑤——IMP。
虚线图表示量微。

表7 糖磷比对AMP转化的影响

克分子转化率(%) / 转化产物 糖/磷(微克分子/毫升)	ATP	Ino	Hx
100/400<1	85.7	0	0
200/300<1	35.1	0	0
200/400<1	109.1	0	0
200/600<1	101.6	0	0
200/200=1	78.0	12.2	0
300/300=1	93.0	9.4	0
400/400=1	95.1	6.2	0
200/100>1	50.8	20.1	10.8
600/400>1	73.8	25.0	0

反应体系中除葡萄糖和 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 分别为100—600微克分子/毫升， $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 为30微克分子/毫升外，其他条件与图1相同。

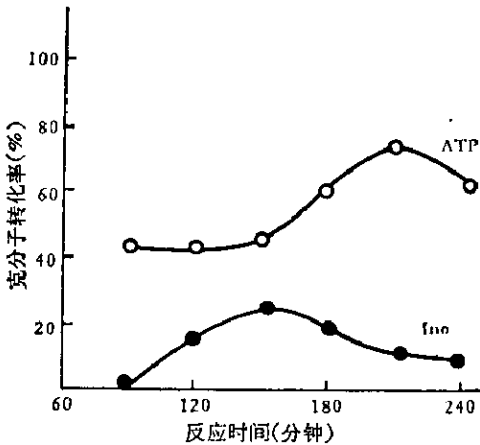


图10 ATP和Ino的变化动态
反应体系中除葡萄糖为600微克分子/毫升， $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 为30微克分子/毫升，其他条件与图1相同。

的一部分Ino又重新被转化成IMP和AMP，增加ATP的累积。所以随着反应时间的延长Ino含量的逐渐减少，ATP才出现累积高峰。

讨 论

试验结果表明，生香毛霉虽然具有完整的酵解酶系和较强的发酵力，但是它对葡萄糖的磷酸化作用易受菌体保存温度和放置时间的影响，从而阻碍酵解和AMP的磷酸化反应。这可能是因为生香毛霉的葡萄糖激酶对温度比较敏感，所以造成活力不太稳定。

在酶促反应体系中，葡萄糖能促进EMP的进行。在EMP中合成的ATP积极地参与葡萄糖和F-6-P的磷酸化反应。在有葡萄糖不断供应的情况下，ATP处于不断合成和不断消耗这样一个动态变化之中，所以不能迅速地大量地累积起来。只有当反应体系中葡萄糖接近耗尽，绝大部分F-6-P都变成FDP之后，需能磷酸转移反应基本终止，ATP才能大量累积。Tochikura, T.等^[3]认为，高浓度葡萄糖能减缓酵母磷酸化反应速度。根据我们的试验

来看,较高的葡萄糖浓度并不限制毛霉 EMP 和 AMP 的磷酸化速度。更确切的说,在毛霉酶促磷酸化反应体系中,高浓度葡萄糖的彻底降解需要较长的时间,延长了 ATP 的动态变化过程,推迟了 ATP 累积高峰出现的时间和速度。

Tochikura, T.等^[3]提出,在酵母酶促磷酸化反应体系中,无机磷酸盐的浓度太低(1/9 克分子)能促使 AMP 变成 IMP, IMP 降解为 Ino、Hx 和 Ado;无机磷酸盐的浓度太高(2/3 克分子)能使 AMP 降解为 Ado 和 Ade;适当的无机磷酸盐浓度(1/3 克分子)能使 AMP 磷酸化为 ADP 和 ATP。但是我们发现对毛霉 EMP 和嘌呤核苷酸代谢起调节作用的并不单是无机磷酸盐的浓度,而更主要的是糖磷的比例关系。在反应体系中,不论磷酸盐浓度的高低,只要糖磷比 ≥ 1 , AMP 就通过 IMP 降解为 Ino。若是反应体系中糖磷比 > 1 ,而糖磷水平又都比较低时,AMP 不但降解成 Ino,而 Ino 还会进一步分解成 Hx;相应提高整个体系中糖磷的水平,也只能阻止 Ino 的进一步分解,并不能防止 AMP 的脱氨和 IMP 向 Ino 的转化。只有改变糖磷的比例,使糖磷比 < 1 ,才能表现出磷酸盐

对 AMP 降解酶类的抑制作用。所以在糖磷比 > 1 ,糖磷水平又较高的体系中,反应初期出现 Ino 的累积,随着葡萄糖的逐渐消耗,糖磷比发生改变,最后使糖磷比 < 1 ,便抑制 AMP 的继续分解,并使代谢方向转向合成,逐渐减少累积起来的 Ino,增加 ATP 的合成。在一定磷酸盐浓度下,糖浓度的增加似乎又能解除磷酸盐对 AMP 脱氨酶和肌苷水解酶活性的抑制,以及对 IMP 核苷酸酶分解反应的阻碍。因此,糖磷比对嘌呤核苷酸的代谢方向具有重要的调节作用。

在不同糖磷浓度的反应体系中,我们没有发现 Ado 和 Ade。估计在此条件下毛霉的 AMP 核苷酸分解酶和腺苷水解酶活力极弱。这与 Tochikura, T. 等^[3]所谈的酵母也不相同。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院西北水土保持生物土壤研究所微生物室:微生物学报, 17(1): 47—51, 1977.
- [2] Umbreit, W.W. et al. 著,姚侃等译,《检压技术》,科学出版社,北京,1961年,pp. 263—276.
- [3] Tatsurokuro, Tochikura et al.: *J. Ferment. Technol.*, 45(6): 511—529, 1967.

REGULATION OF GLYCOLYSIS AND PURINE NUCLEOTIDE METABOLISM IN THE ENZYMATIC PHOSPHORYLATION SYSTEM OF *MUCOR AROMATICUS* POVAH

Xie Bo-tai Yang Peng-nian Zhan Gu-yu Deng Bang-quan

(Shanxi Microbiology Institute, Wugong)

We have studied the character of glycolysis, the effects of glucose and phosphate upon glycolysis and regulation of purine nucleotide metabolism of *M. aromaticus*. Although *M. aromaticus* possess strong fermenting power, the phosphorylation of glucose in *M. aromaticus* is easily effected by the temperature of storage of the mycelia. That may be the key factor affecting glycolysis and phosphorylation of AMP of *M. aromaticus* here.

In the reaction system of enzymatic phosphorylation of *M. aromaticus*, not only the phosphorylation efficiency of AMP but also the accumulation rate of ATP were affected by the concentration of glucose, and the molar ratio of glucose to phosphate (G/P) played an important role in regulating the activation of the enzyme system of glycolysis and purine

nucleotide metabolism. The degradation of AMP was inhibited as $G/P < 1$. The deamination of AMP brought forth the IMP, and the decomposition of latter brought forth Ino and/or Hx as $G/P \geq 1$. Under certain concentration of glucose, the high concentration of phosphate could inhibit deamination of AMP and decomposition of IMP, and promote phosphorylation of AMP. It seems that under certain concentration of phosphate, the inhibition effect of the phosphate on the activity of AMP deaminase and Ino hydrolase can be eliminated when $G/P \geq 1$, AMP was deaminated to form IMP, and the latter was further decomposed to Hx. Therefore G/P play an important regulative role for metabolic pathway of purine nucleotide of *M. aromaticus*.