

Chapter 7. 미생물 대사 (Microbial Metabolism)

- * Metabolism : catabolism(분해), anabolism(합성)
- * 탄수화물대사 : EMP경로, HMP경로, ED경로, TCA cycle, Glyoxylate 회로
- * 지방대사 : β -산화, 지방산 합성(중성지방, phospholipid)
- * 단백질 대사 : transamination, decarboxylation
- * 전자전달과 산화적 인산화 반응 : 전자전달계와 ATP 생성
- * 발효 : 알코올발효, 젖산발효, 유기용매 발효
- * 효소 합성의 조절 : operon, allosteric enzyme, covalent modification
- * ATP 생성 경로 : 호흡, 발효, 광합성 3가지 주요 대사경로에 의하여 형성
- * ATP : 합성과 분해의 중간산물로서의 ATP의 역할
- * 호흡 (호기적 대사) : 유기화합물 \rightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (생성물)
- * 발효 (혐기적 대사) : 대사과정에서 생긴 유기물을 산소대신에 사용

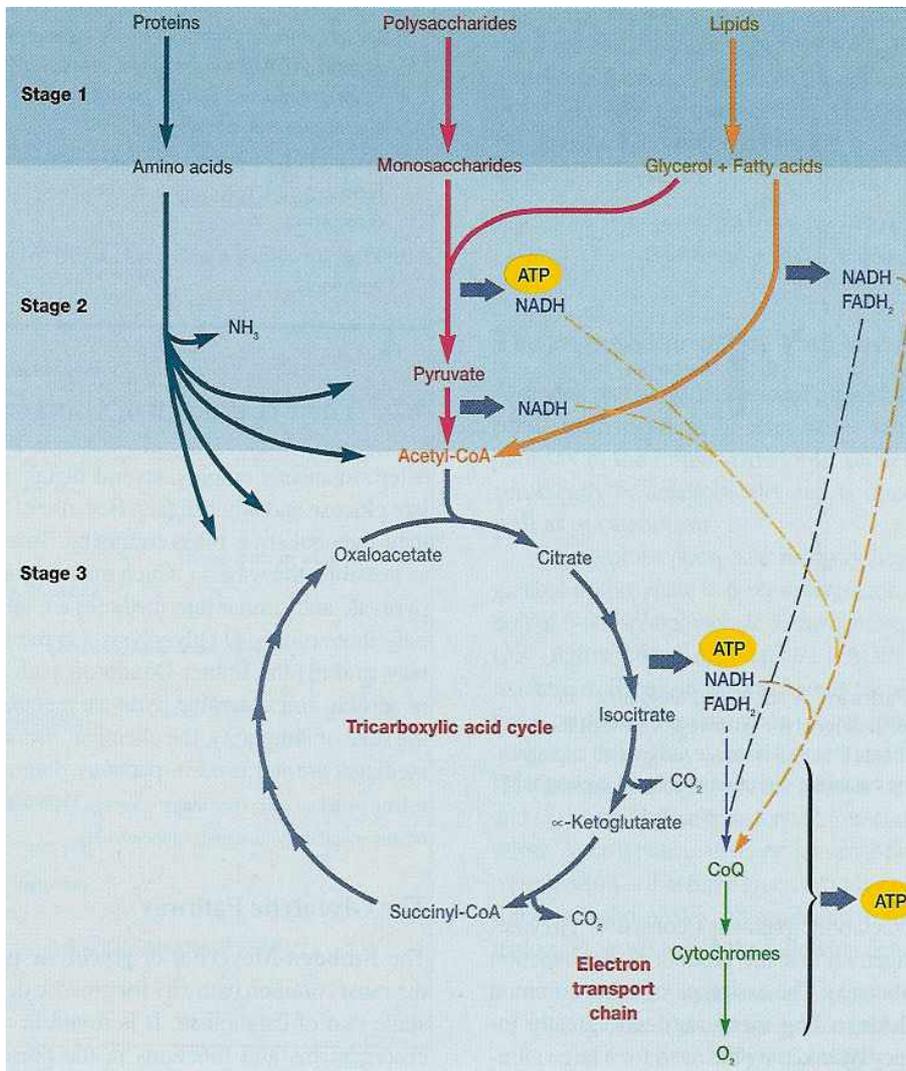


Fig. The three stages of catabolism

1단계; 큰분자분해, 2단계; Acetyl-CoA생성, 3단계; Acetyl-CoA 산화와 전자전달

1. 탄수화물 대사

Glucose → pyruvate (EMP경로, HMP 경로, ED 경로)

1) 당의 분해경로

① Embden-Meyerhof-Parnas pathways(EMP 경로)

- 전체적인 반응 : Glucose → 2 pyruvate + 2ATP + 2NADH

- 2ATP(기질수준 인산화), 2NADH (산화적 인산화) ATP생성

- 지방과 인지질 합성

Dihydroxyacetone phosphate(DHAP) → glycerol-3-phosphate (지방합성)

- Pyruvate → alanine 합성(아미노산 합성)

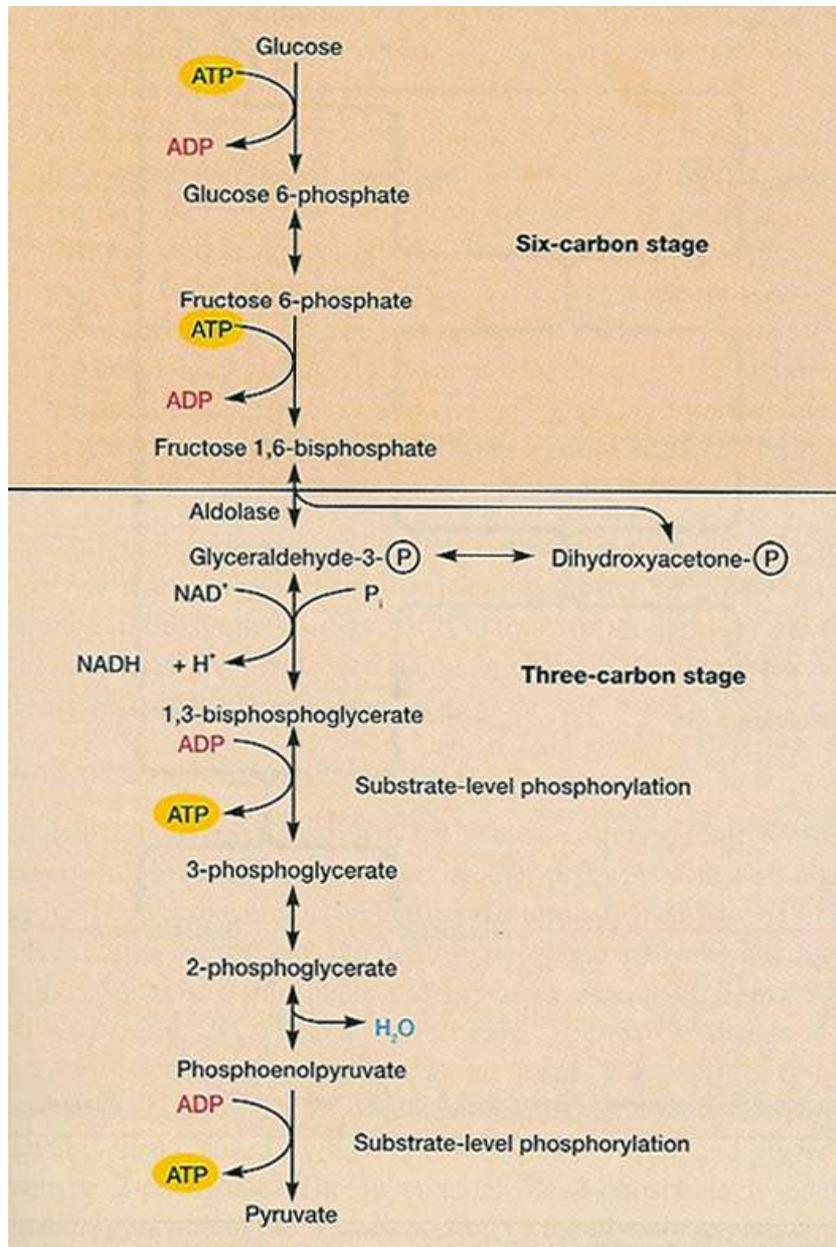


Fig. The glycolytic pathway for the breakdown of glucose to pyruvate

② Pentose Phosphate pathways = hexose monophosphate pathway(HMP)
 5탄당 경로 = 6탄당 1인산경로

- 이 경로는 호기적 또는 혐기적으로 작용하며 생합성과정에도 중요하다.

- 전체적인 반응 : 3 (glucose-6-phosphate) + NADP →



○ HMP경로의 역할

- Ribose : nucleotide 생합성에 사용

- NADPH : 지방산, steroid의 생합성에 사용, 분자의 환원을 위한 전자원

- Erythrose-4-phosphate(중간산물) : 방향족 아미노산의 생합성에 이용

- 중간물질은 ATP 합성에도 이용

○ HMP경로와 EMP 경로의 차이점 :

- NAD 대신에 NADPH를 조효소로 사용, ATP를 요구하지 않음

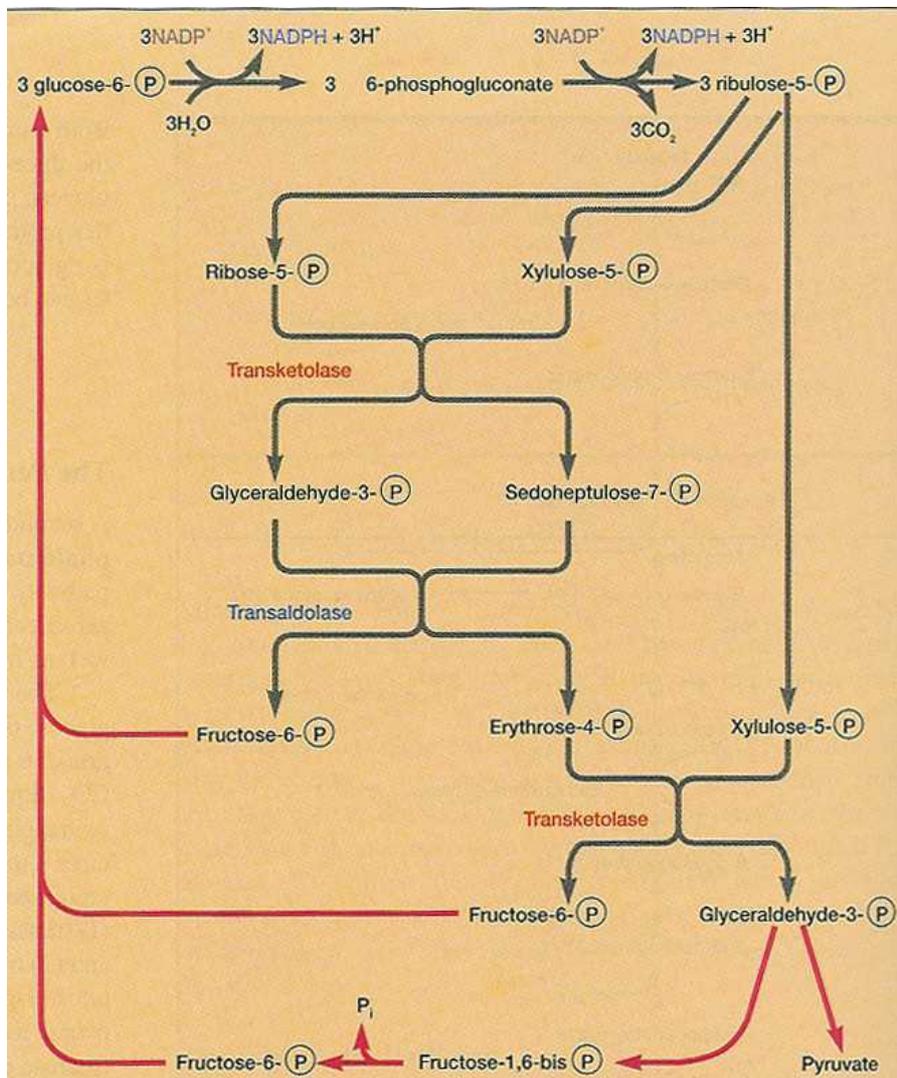


Fig. The conversion of three glucose 6-phosphate molecules to two fructose 6-phosphates and a glyceraldehyde 3-phosphate is traced

③ Entner-Doudoroff 경로(ED 경로)

- KDPG(2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate)경로라고도 함
- ED경로 함유(그람음성균) : *Pseudomonas*, *Zymomonas*, *Azotobacterium*
- 6-Phosphogluconate → **pyruvate** + glyceraldehyde-3-phosphate



Pyruvate + 2ATP + NADPH₂

- 생성물 : 2Pyruvate, NADPH, NADH, 2ATP (1ATP 소모)
- ED 경로의 주요점 : gluconate(글루콘산) 이용

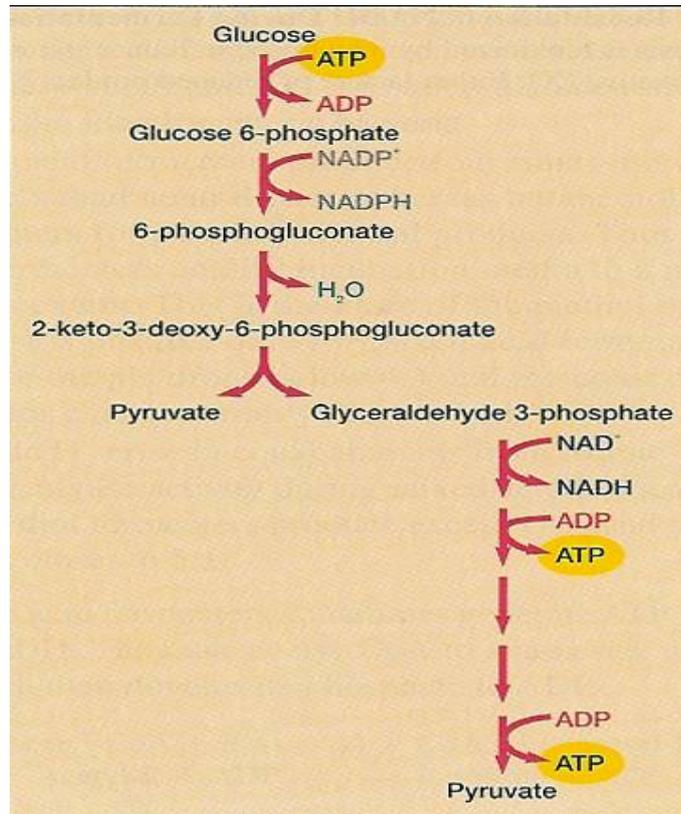


Fig. The Entner-Doudoroff pathway.

2) 호흡(Respiratory)

* 호기적대사로 **TCA 회로와 전자전달계(electron transport system)**로 구성

① Citrate cycle = TCA cycle

- Pyruvate → Acetyl-CoA [탈탄산 반응 1]



- Isocitrate → α-Ketoglutarate [탈탄산 반응 2]

- α-Ketoglutarate → Succinyl-CoA [탈탄산 반응 3]

◎ TCA 회로 역할 : 양성대사성 회로

- 에너지대사회로이면서, 중간산물은 아미노산이나 지방 생합성의 전구체로 사용
- 호기적 조건 : 3 NADH, 1FADH₂, 1GTP 생성
- 통성혐기성 균, 편성혐기성 균 : α-ketoglutarate dehydrogenase 생성하지 못함 → 따라서 불완전 구연산 경로 가진다.
- 생성된 NADH와 FADH₂ : 산화적 인산화 반응에 의하여 ATP를 생산

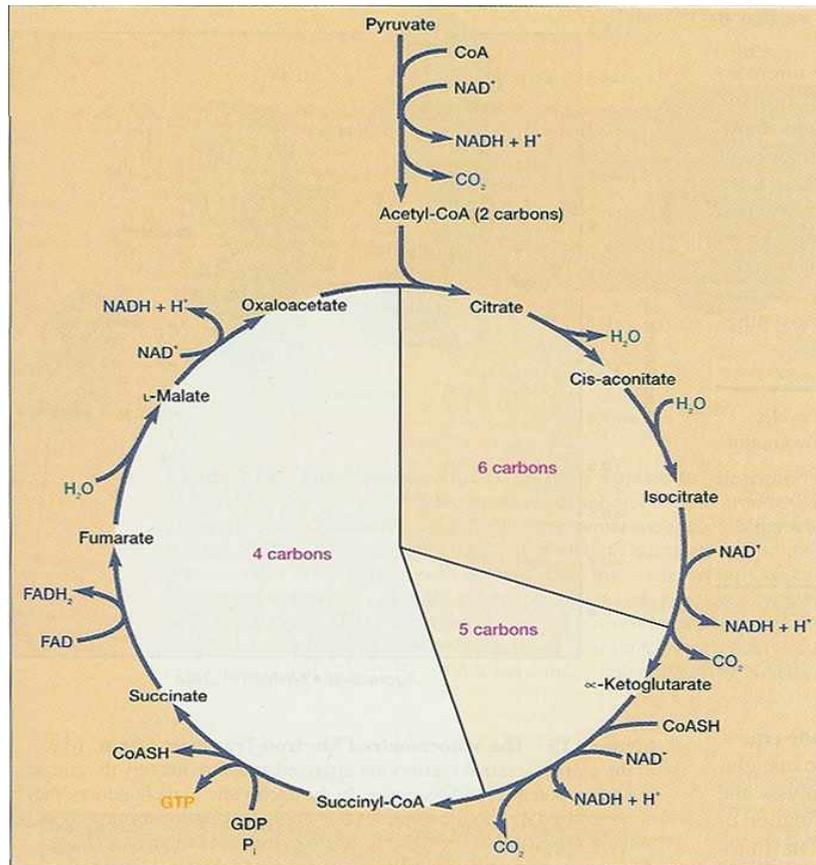
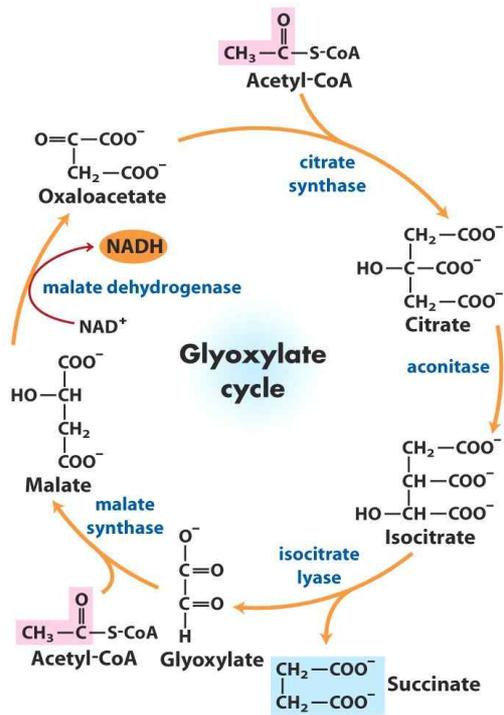


Fig. The cycle may be divided into three stages based on the size of its intermediates.

② Glyoxylate cycle

- * Glyoxylate cycle : Acetyl-CoA를 탄소원으로 사용
 - * Succinate, malate, oxaloacetate : 전구체로 사용으로 고갈
 - * 보충반응(당을 기질로 사용) : (PEP, PVA → OAA) oxaloacetate 보충
 - * 보충반응[Acetyl-CoA 기질] : acetyl-CoA → succinate와 malate 보충
 - * 중간생성물 : glyoxylate + succinate
-
- * 중요효소 : isocitrate lyase, malate synthetase

- ◎ Glyoxylate cycle produces four-carbon compound from acetate
 - 2Acetyl-CoA → Succinate 생성



③ 전자전달계 (electron transport system)

- * 기질의 탈수소화반응 → 수소는 NAD에 전달 → NADH₂ 생성
- * 발효 : NADH₂ → pyruvate의 환원에 사용
- * 호흡 : NADH, FADH₂ → 전자전달계 → 산소(전자수용체) → H₂O 생성

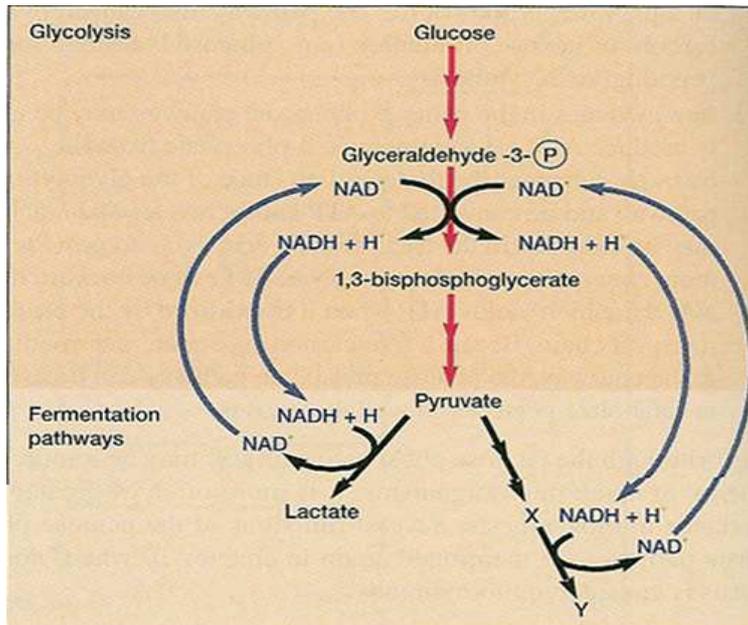


Fig. Reoxidation of NADH during fermentation

◎ **산화적 인산화 반응(oxidative phosphorylation) :**

- 전자전달계를 통해서 ATP가 생성되는 반응
- NADH → 전자전달계 : 2.5 ATP
- FADH₂ → 전자전달계 : 1.5 ATP
- **Glucose 한 분자가 완전히 산화되면 32 ATP 생성**

* 전자전달계 위치 : 원핵세포 → 세포막에 존재
진핵세포 → mitochondria 막에 존재

* **전자전달계 구성성분 :**

- Flavoprotein, Iron-sulphur protein, Ubiquinone, cytochrome

◎ **전자전달의 흐름**

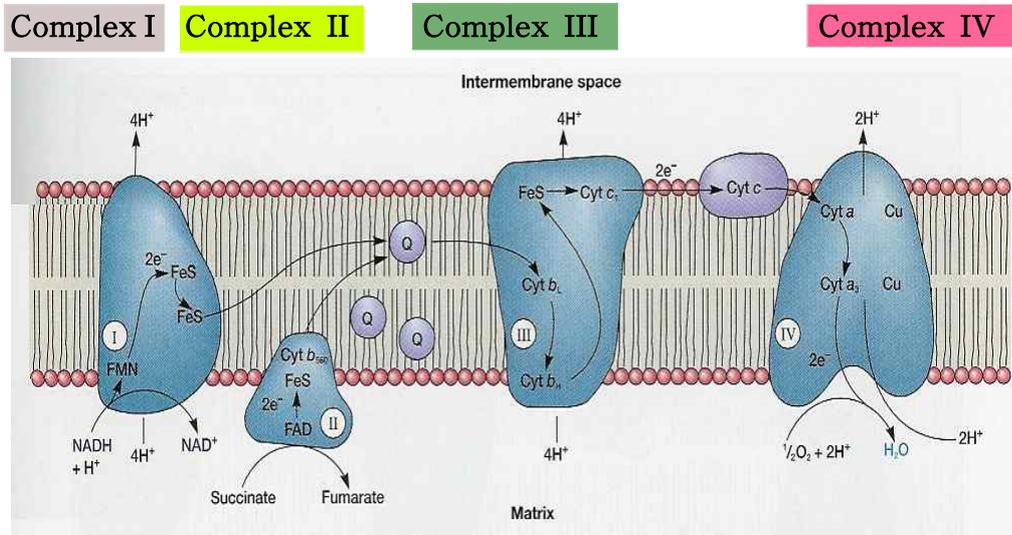
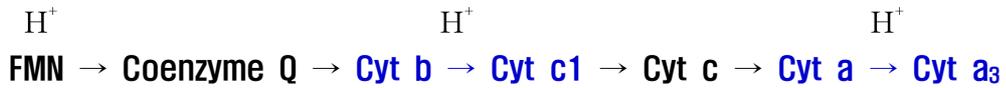


Fig. 미토콘드리아에 적용되는 화학삼투설

3) **발효(fermentation)**

- * Glucose → → → → **Pyruvate** → → 혐기적 조건(발효)
- * 발효에서 공통과정은 :
- NADH의 NAD⁺로의 산화, 전자수용체는 pyruvate나 그 유도체

① **알코올발효(alcoholic fermentation) : 정상적인 발효**

(Neuberg 알코올발효 제 1형식)



◎ **C. Neuberg : (Neuberg 알코올발효 제 2형식) :**



- 당 발효배지에 hydrogen sulfite (아황산수소) 첨가하면 알코올과 CO₂의 수율은 감소하고 glycerol이 주 발효산물이 되는 것을 발견

- **(Neuberg 알코올발효 제 3형식) :**

발효배지에 알칼리 성(NaHCO₃, Na₂HPO₄) 물질 첨가



☞ **Neuberg 알코올발효 제 2형식과 3형식에서 acetaldehyde가 NADH 수용체로 작용하지 못함**

② **젖산발효(lactate fermentation)**

* Lactate dehydrogenase에 의하여 젖산이 생성되며, NADH는 NAD⁺로 산화된다

◎ **호모형 젖산발효 (Homo lactic acid fermentation) : 젖산만 생성**

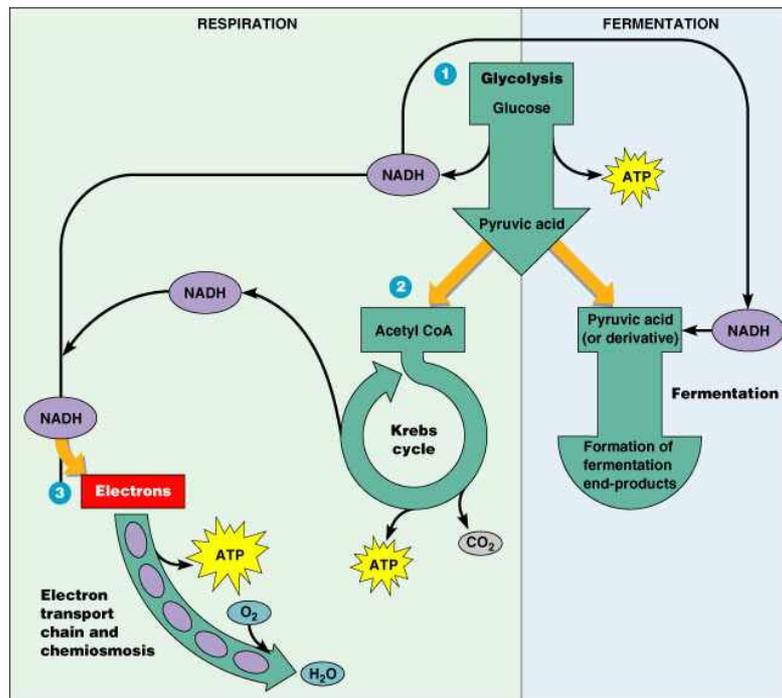
- Glucose → → → → pyruvate → lactic acid
- 젖산 탈수소효소의 입체특이성과 젖산입체이성화효소(lactate racemase) 존재여부에 따라 D, L-형 젖산이 결정되며 또는 혼합된 젖산이 생성된다.
- 발효산물은 대부분 젖산이며 배양환경에 따라 소량의 초산, 에탄올 등이 생성됨

◎ **헤테로형 젖산발효(hetero lactic acid fermentation) : 젖산 외 부산물 생성**

- EMP 경로에 관여하는 효소 결여 : aldolase, triose phosphate isomerase
- Glucose 분해 : HMP 경로를 이용

ex) *Leuconostoc mesenteroides*(생성물) : 젖산, 알코올, CO₂

ex) *Lactobacillus brevis*(생성물) : 젖산, 아세트산, mannitol, CO₂



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

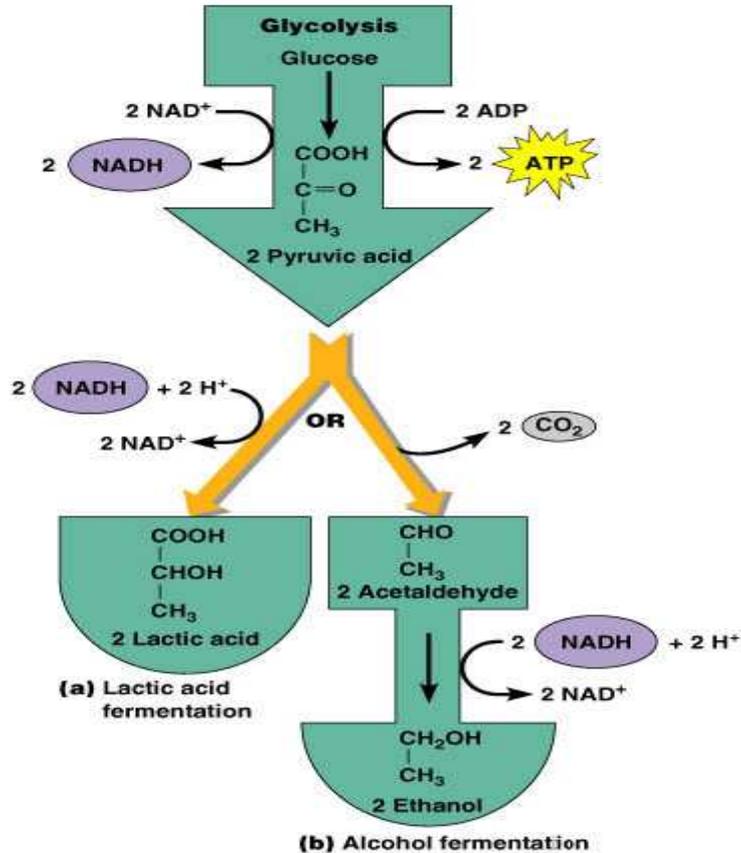
Fig. An overview of respiration and fermentation

◎ **Bifidobacterium 발효**

- *Bifidobacterium* : 어린이의 장내에서 발견, **편성혐기성 젖산균**
- $2 \text{ Glucose} \longrightarrow 2 \text{ Lactic acid} + 3 \text{ acetic acid}$
- Aldolase 및 glucose-6 phosphatase 결핍
- EMP나 HMP 경로를 경유하지 않고 포도당을 분해

☞ 젖산균은 superoxide dismutase 함유, catalase 결핍, peroxidase 함유

[Types of fermentation]



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

③ **개미산 발효 = mixed acid fermentation**

* 장내 서식하는 미생물들의 혐기적 발효형태는 *E. coli*형과 *Enterococcus* 형으로 나뉘어진다.

- **대장균형 (*E. coli*형)** : 주 발효생성물(유기산), 부탄다이올이 생산 안 된다
- ***Enterococcus*형** : 주 발효생성물(부탄다이올), 유기산의 생성물이 감소

◎ **대장균형 (*E. coli*형)의 발효특성 : 4가지 반응**

- Pyruvate에서 acetyl-CoA와 개미산으로 전환반응
- 개미산으로부터 CO_2 와 H_2 로의 전환반응
- Acetyl-CoA의 환원에 의한 ethanol 생성반응
- Pyruvate에서 acetoin과 2, 3-butanediol 생성반응의 결여

☞ 대장균은 식품위생에서 오염의 지표가 되는 세균으로 특히 **수질오염의 지표미생물**이다.

☞ 장내세균과에 속하는 미생물에는 **pyruvate decarboxylase 효소가 결핍**되어 acetaldehyde로의 탈탄산반응이 일어나지 않는다.

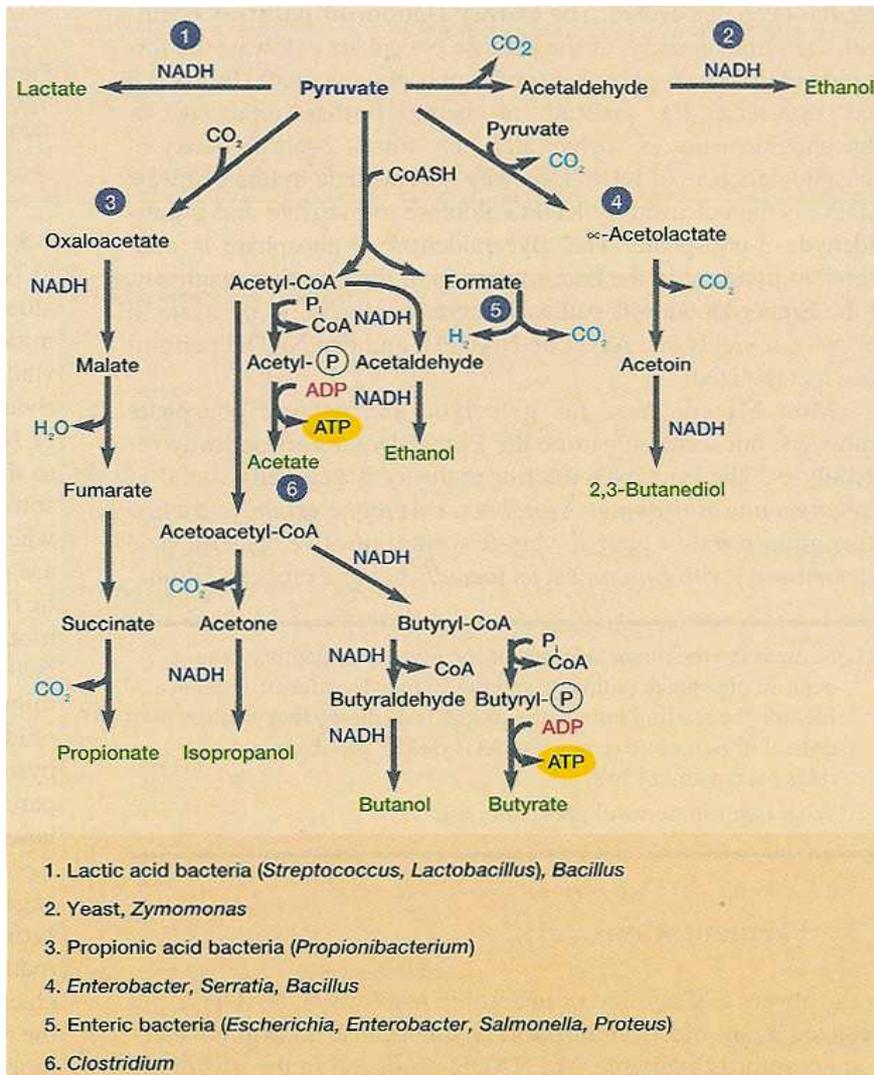
◎ **Enterobacter aerogenes의 발효특성**

- 혐기적 조건하에서 주 발효생성물은 **acetoin과 2, 3-butanediol**으로 Pyruvate로부터 생성된다.

④ **부티르산 (Butyrate) 발효**

- Clostridium : 그람양성균, 편성혐기성균으로 당질이나 유기질소화합물 발효
 ex) *C. butyricum*, *C. acetobutylicum* : 아세톤이나 부탄올 생성

◎ **Some common microbial fermentations**



2. 지방산 대사

* Lipid \longrightarrow glycerol + Fatty acid

1) 지방산의 분해

* Fatty acid \rightarrow β -oxidation \rightarrow Acetyl-CoA 생성 \rightarrow citrate cycle

* Glycerol \rightarrow glycerol kinase \rightarrow glycerol phosphate \rightarrow Glycolysis(해당작용)

◎ 지방산(Fatty acid)의 산화

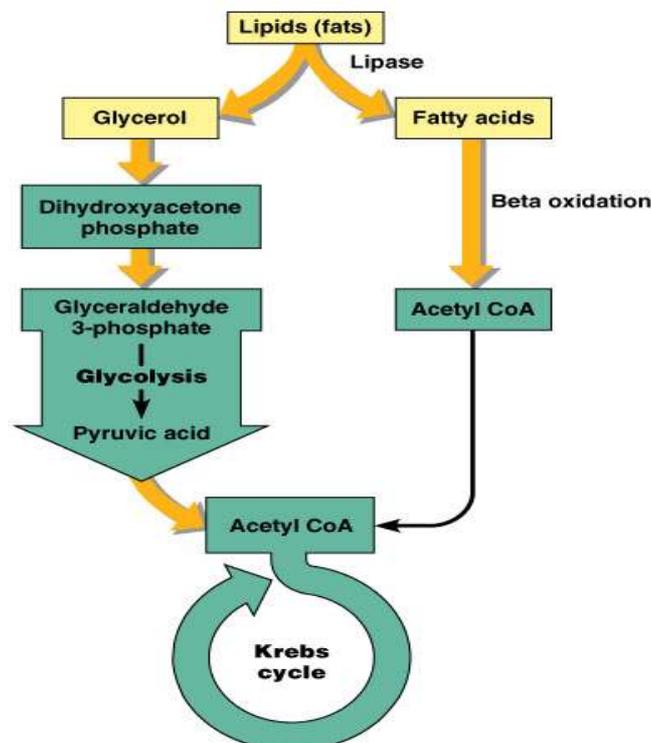
- 지방산의 활성화 : 지방산이 acetyl-CoA와 결합하여 활성화된다.

- β -oxidation : 2단계의 탈수소반응(조효소 NAD, FAD), 1단계의 수화반응

- Acetyl-CoA 생성 :

i) TCA cycle에 의하여 산화 \rightarrow E

ii) Glyoxylate cycle \rightarrow glucose



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fig. Lipid Catabolism

◎ 인지질의 산화 (Phospholipid)의 산화

- Diacylglycerol + 인산 + ethanolamine, choline, serine, inositol이 ester결합

2) 지방산의 합성

◎ 미생물에서의 지질 :

- 원형질막과 세포벽의 주요 구성성분은 주로 짝수 지방산으로 포화지방산이 많다

- 다가불포화지방산과 steroid류는 없다

- 가끔 cyclopropane 환을 가진 지방산이 발견

◎ 지방산 합성 :

- Acetyl-CoA, malonyl-CoA, NADPH₂
- ACP : acyl carrier protein
- 가지 달린 지방산의 전구체 : isobutyryl-CoA, isovaleryl-CoA
- 가지 달린 지방산, 불포화지방산 : 세포막에 유연성을 부여

3) 지방과 인지질의 합성

- Dihydroxyacetone phosphate → glycerol-3-phosphate + Fatty acyl-CoA

↓
Phosphatidic acid

↙
Triacylglycerol

↘
Phospholipid

- Phospholipid의 기능 : 세포막의 구성 성분
- Phospholipid의 종류 : Phosphatidylethanolamine, Phosphatidylcholine
Phosphatidylserine 등

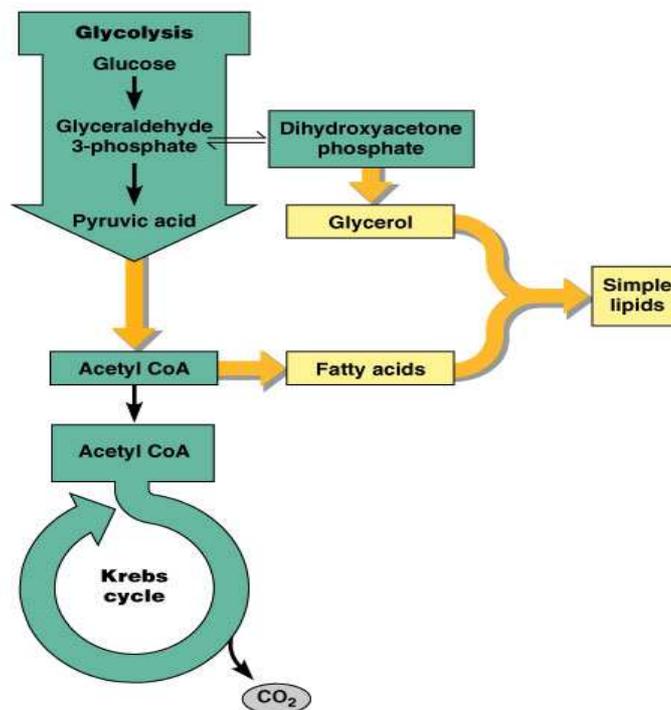


Fig. The biosynthesis of simple lipids

4) 이소프레노이드(isoprenoid)와 스테로이드(steroid)의 합성

- 이소프레노이드는 이소프렌(C₅)을 단위로 하는 중합체를 말한다.
- 이소프레노이드와 스테롤의 생합성은 mevalonic acid에서 시작
- squalene : 탄소수가 30인 이소프레노이드(혐기적 조건에서 합성)
- 효모는 호기적 조건에서 sterol합성, 혐기적 조건에서(squalene합성)

3. 단백질 대사

- Protein $\xrightarrow{\text{protease : extracellular enzyme}}$ polypeptide, oligopeptide, amino acid
- Amino acid $\xrightarrow{\text{NH}_4^+}$ α -keto acid \rightarrow 에너지원(해당작용)
 $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{liver} \rightarrow \text{urea} \rightarrow$ 뇨중 배설

1) 아미노산의 분해

- * 미생물, 녹색식물 : 단백질 구성아미노산(20여종)을 합성
- * **아미노기 이전 반응** :
 - 탈아미노반응(amino acid dehydrogenase), **transamination(아미노기 전이반응)**

① 탈아미노 반응

- 아미노산에서 amino기가 암모니아 형태로 방출되는 반응
 - 효소 : 아미노산 탈수소효소(amino acid dehydrogenase)
NAD를 조효소, 산화환원반응의 촉매작용으로 케토산 합성
 - **산화적 탈아미노반응** : Glutamate \rightarrow α -ketoglutarate + NH_3
Glutamate dehydrogenase
 - **불포화적 탈아미노반응** : Aspartate \rightarrow fumarate + NH_3
 - **가수분해적 탈아미노반응** : Urea \rightarrow 2 NH_3 + CO_2
- ☞ 많은 수의 세균이 요소를 가수분해하여 생성된 암모니아를 질소원으로 이용하며, 대부분의 요소 가수분해효소의 합성은 암모늄이온에 의해서 억제된다.

② 아미노기 전이 반응(transamination)

- **Amino acid + keto acid \longrightarrow Amino acid + keto acid**
- **아미노기 전이반응**은 암모늄이온을 직접 이용할 수 없는 아미노산의 생합성에 쓰이면서 다른 아미노산의 분해에 관여한다.
- 효소 : transaminase, 조효소 : pyridoxal phosphate(PLP)
- **기능 : 비필수 아미노산의 생합성반응**

③ 탈탄산반응(decarboxylation) :

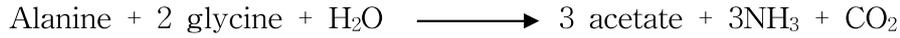
- Decarboxylase에 의하여 아미노산에서 CO_2 가 이탈되고 암모니아 유도체인 1차 아민이 생성되는 반응
 - 아미노산 \rightarrow primary amine + CO_2
- ex) Histidine \rightarrow histamine + CO_2
Lysine \rightarrow cadaverine + CO_2
Ornithine \rightarrow putrescine + CO_2
Arginine \rightarrow agamate + CO_2

☞ **일차아민** : 정상적인 장내소화물이나 단백질성 물질의 혐기적 분해산물

④ Stickland 반응 :

2종의 아미노산이 반응하여 한 아미노산은 수소공여체로, 다른 아미노산은 수소수용체로 작용하는 상호간의 산화환원반응이며 아미노산은 케토산으로 탈아미노화 된다.

ex) *Clostridium sporogenes*



Ala : 수소공여체, Gly : 수소수용체

⑤ 기타

- 황 함유 아미노산이 분해 : 황화수소, 메르캅탄 등이 생성

2) 각 아미노산 계열의 생합성 경로

* 아미노산 생합성에 필요한 탄소골격 : EMP, HMP, TCA 경로의 중간산물을 아미노산 생합성에 이용

- Glutamate 계열 : **α -ketoglutarate** → glutamate, glutamine, proline, arginine

- Aspartate 계열 : **oxaloacetate** → aspartate, lysine, methionine, asparagine, threonine, isoleucine

- Pyruvate 계열 : **pyruvate** → alanine, valine, leucine

- Serine 계열 : serine, glycine, cysteine

- 방향족 아미노산 계열 : **PEP + erythrose-4-phosphate**



4. 대사조절기구

- 효소(enzyme) 미생물의 대사반응을 위해 촉매제로 작용하는 유기분자이다
- 효소는 기질과 반응하여 **효소-기질 복합체**를 만들어 **반응의 활성화 에너지를 낮추는 촉매작용**을 한다

- 효소작용 : 에너지생산, 거대분자의 합성, 세포의 증식

- **대사과정조절 : 효소의 합성조절, 효소의 활성 조절**

- **효소는 구성효소(항상 일정수준으로 존재), 유도효소(필요시기에 합성)**

- **효소의 합성 : 유도(induction)와 억제(repression)기구에 의해 조절**

- 효소합성을 통한 대사조절속도 : coarse tuning (속도가 느리다)

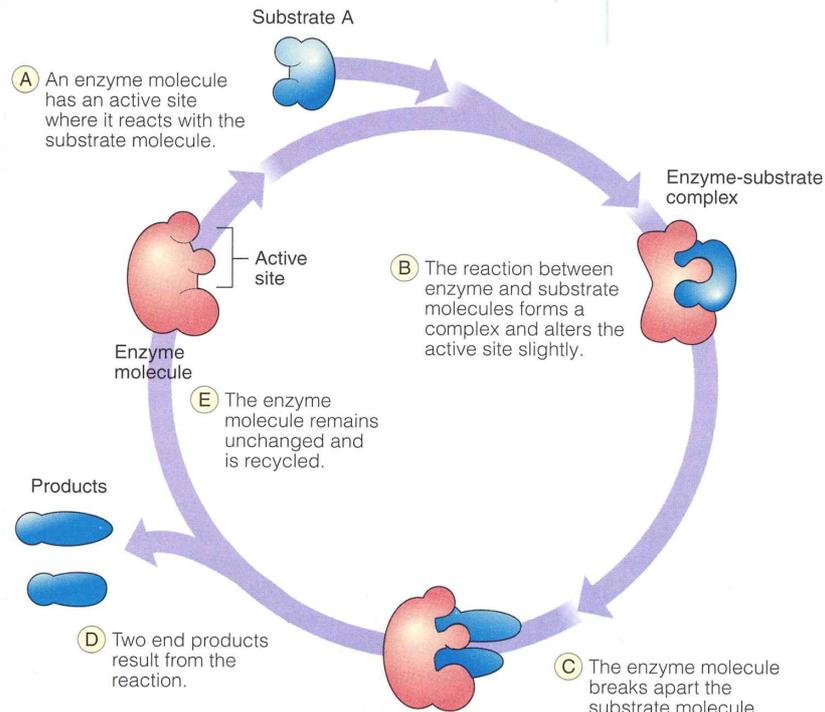
- 효소의 활성을 통한 대사조절속도는 : fine tuning(속도가 빠름)

ex) 분해효소 : 배지에 기질이 존재할 경우에 유도 합성

합성효소 : 생합성 경로의 **최종생성물에 의해 억제 조절**된다.

1) 효소합성의 조절

- 효소의 작용기전 : $E + S \leftrightarrow ES\text{-complex} \rightarrow E + P$

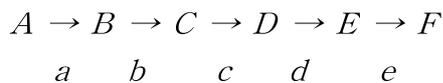


① 유도(induction)

A. 기질유도(substrate induction)

- Lactose 분해효소 : β -galactosidase (기질이 존재할 경우 효소생산)
- 대사성 유도원 : lactose(외부), 알로락토스(allolactose, 내부)

B. 협조적 유도(coordinated induction)와 단계적 유도(sequential induction)



ex) 단계적 유도, 협조적 유도, 협조 + 단계적 유도

C. 대사산물 유도(product induction) : 생성된 반응산물에 의해 유도

ex) Trp $\rightarrow \rightarrow \rightarrow \rightarrow$ Catechol

② 억제(repression)

A. 최종산물억제(end product repression)

- 아미노산의 합성에 관여하는 효소의 생성은 최종생성물이 과잉으로 생산되었을 때 저해된다.

B. 분해억제(catabolic repression)= 대사물억제

- 기질 2개가 공동으로 존재할 경우 한 기질만이 선호되고 다른 물질을 분해하는 효소는 억제되는 것

ex) 기질로 (glucose, lactose)와 (포도당과 sorbitol) 존재할 경우,

- 먼저 glucose가 이용되며 lactose의 분해에 쓰이는 효소의 합성을 억제

2) 효소 합성기구

- 세균의 성장 → 영양원 → 영양원 이용을 위한 효소 생산
 - 구조유전자 → 전사(transcription) : 환경조건, 대사 상태에 의해 결정
- ex) 당 및 그 유도체, nucleotide : 신호물질(signal substance) 또는

작동인자(effector)로 작용
 ↳ 유도원 or 억제원으로 작용

◎ 작용기작 :

- 작동인자가 조절단백질(regulatory protein)에 결합



DNA의 특이적인 부분(작동유전자, operator)과의 결합 능력 변화

- * **억제인자(repressor) :**
 - 작동인자(inducer)가 없는 상태에서 DNA와 결합하는 조절단백질
- * **Apo-repressor**
 - 작동인자(co-repressor)가 있는 상태에서 DNA와 결합하는 조절단백질
- * **오페론(operon) : 전사단위 (Promoter + operator + structural gene)**
(촉진유전자)-(작동유전자)-(구조유전자)
- * **촉진유전자(promoter) :** DNA의 RNA 중합효소(DNA dependent RNA polymerase)가 결합하는 부위로 operon에서 전사가 시작되는 부위
- * **작동유전자(operator) :**
 조절단백질이 작동유전자에 억제인자로 결합 → 전사 저해 → 효소합성 저해
 조절단백질에 유도원이 결합 → 작동유전자에 결합하지 못함 → 전사시작

① Lactose 오페론의 조절(Lac operon)

A. Negative regulation

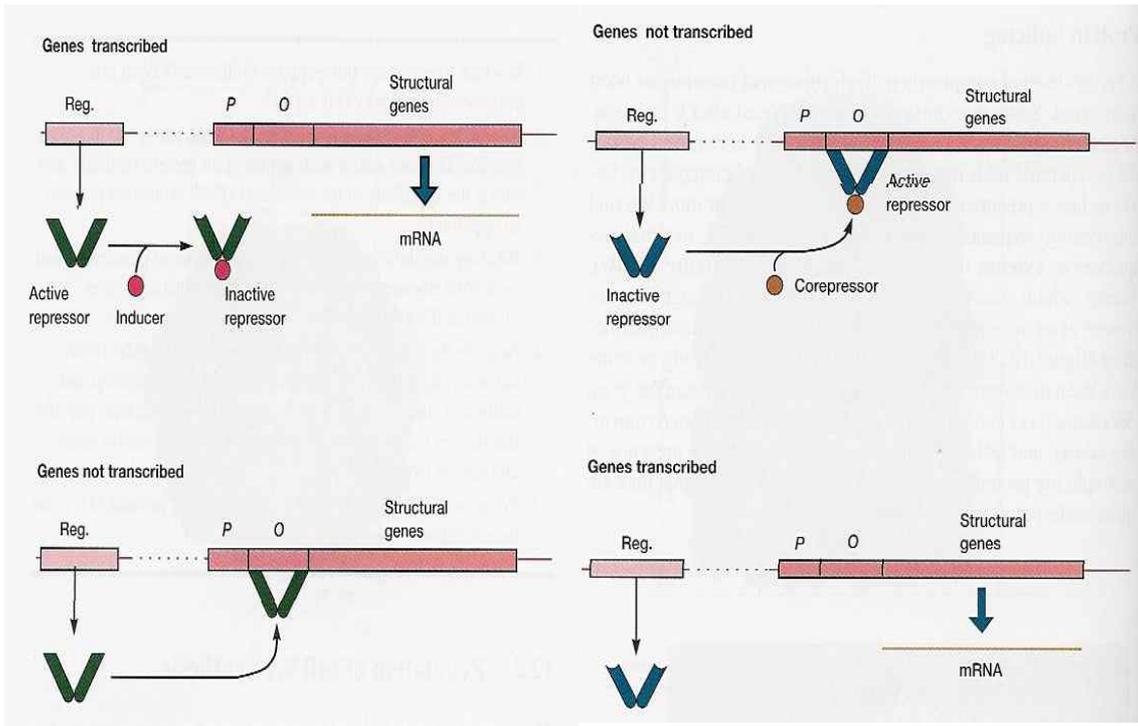
- * Inducer가 존재하지 않는 경우 : 조절단백질이 repressor로 작용하여 operator에 결합함으로써 전사가 저해
- * Inducer(lactose)가 존재하는 경우 : 조절단백질에 allolactose 가 결합하여 억제인자의 형태가 변화하여 operator에 대한 친화도 감소

B. Positive regulation

- Promoter에 CRP 혹은 CAP가 특이적으로 결합하는 부위를 함유
- 이 부위는 RNA polymerase의 결합을 조절하는 부위

[Gene Induction]

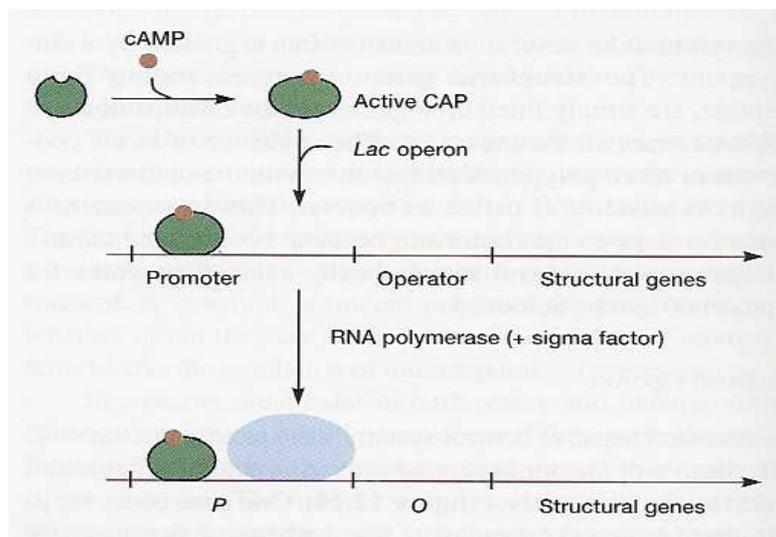
[Gene repression]



◎ 조절단백질 : CRP 혹은 CAP

- CRP(cyclic AMP receptor protein)와 CAP(catabolic activator protein)가 촉진유전자에 결합되는 것은 RNA polymerase 가 DNA에 결합하기 위한 필수적인 과정이다
- 전사는 조절단백질(CRP와 CAP)이 촉진유전자에 실제로 결합될 때만 시작
- CRP와 촉진유전자의 친화력은 cAMP-CRP와의 결합으로 증가

[Positive control of the Lac operon]



- ② **락토오스 오페론의 분해억제**(Catabolic repression of the lactose operon)
- Lactose, glucose 존재 : β -galactosidase 합성 억제 \rightarrow 젖당을 이용하지 못함
 - Glucose 존재하에 세포내의 cAMP 농도가 낮기 때문에 다른 물질에 대한 분해 억제 효과가 있다.

3) 조절방법

- 효소의 **촉매반응속도에 영향을 주는 인자** : 효소의 농도, 기질 또는 반응물의 농도, 기질에 대한 효소의 친화력, 최대속도
- **Km 치** : 최대속도의 중간이 될 때의 기질농도를 나타내며, Km 치는 효소에 대한 친화력을 나타낸다

① 단순효소(simple enzyme)

* **Michaelis-Menten equation** : 많은 효소의 kinetics성질을 설명한다.

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \text{or} \quad V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

V : velocity of enzyme reaction

V_{max} : maximum velocity

[S] : substrate conc.(mole/L)

② 조절효소(regulatory enzyme)

- 조절효소는 2개의 결합부위를 함유
- 기질과 결합하는 부위 : **촉매반응 부위**
- 조절인자와 결합하는 부위 : **입체특이성 부위**

ex) Positive effector (activator), Negative effector(inhibitor)

A. 알로스테릭효소와 작동인자(allosteric enzyme and effector)

- Allosteric effector : ATP, ADP, AMP, acetyl-CoA, PEP, NADH
- **Allosteric enzyme** : 최종산물에 의하여 저해를 받는 효소
- Allosteric regulation : 생성물에 의하여 feedback inhibition을 받는다.

B. 효소활성의 공유결합 변형에 의한 조절

- **Adenylation(아데닐화)**
- **Phosphorylation(인산화)**
- **Acetylation(아세틸화)**

ex) Glycogen phosphorylase (가인산분해효소) :

- Glycogen phosphorylase a (활성형) - serine 기가 인산화
- Glycogen phosphorylase b : 비활성형