

Regulation der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus verschiedenen Bakterienarten durch ATP

J. SCHINDLER und H. G. SCHLEGEL

Institut für Mikrobiologie der Gesellschaft für Strahlenforschung mbH, Göttingen

Eingegangen am 10. Januar 1969

Regulation of the Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase of Different Bacterial Species by ATP

Summary. From cell free extracts of *Hydrogenomonas facilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Acetobacter xylinum* and *A. suboxydans* the glucose-6-phosphate dehydrogenases have been purified up to twenty or eighty fold. The enzymes from *Hydrogenomonas* and *Pseudomonas* are characterized by specificity for NAD and NADP, by sigmoid substrate (G-6-P)¹ saturation curves, and by inhibition by adenosine triphosphate. The *E. coli* enzyme is specific for NADP and is not inhibited by ATP; the substrate saturation curves are hyperbolic even in the presence of ATP. The enzymes from *Acetobacter xylinum* and *A. suboxydans* exhibit specificity for NAD and NADP and hyperbolic substrate saturation curves and are not inhibited by ATP. The results coincide with the idea, the glucose-6-phosphate dehydrogenases functioning only in a degradative pathway are subject to adenylate control with ATP as a negative allosteric effector.

Zusammenfassung. Aus zellfreien Extrakten von *Hydrogenomonas facilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Acetobacter xylinum* und *A. suboxydans* wurden die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasen bis zur 20—80fachen Aktivität gereinigt. Die Enzyme aus *Hydrogenomonas* und *Pseudomonas* sind durch Spezifität für NAD und NADP, sigmoide Substrat (G-6-P)-Sättigungskurven und Hemmbarkeit durch Adenosintri-phosphat gekennzeichnet. Das Enzym aus *E. coli* ist für NADP spezifisch und wird durch ATP nicht gehemmt; die Substratsättigungskurven sind auch in Gegenwart von ATP hyperbolisch. Die Enzyme aus *Acetobacter xylinum* und *A. suboxydans* sind durch Spezifität für NAD und NADP, eine hyperbolische Substratsättigungskurve und Nichthemmbarkeit durch ATP charakterisiert. Die Befunde stehen mit der Vorstellung in Einklang, daß die katabolisch fungierenden Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasen der Regulation durch ATP als negativem allosterischen Effektor unterliegen.

An der Regulation des Hexoseabbaus über den Fructosediphosphat-Weg sind als Effektoren Adenylate beteiligt (ATKINSON, 1966); AMP und ATP beeinflussen die Aktivität der Phosphofruktokinase. Die

¹ Abkürzungen: ATP = Adenosin-5'-triphosphorsäure, G-6-P = Glucose-6-phosphat, G-6-P-DH = G-6-P-Dehydrogenase, NAD(H₂) = Nicotinamid-adenin dinucleotid-phosphat (reduziert), TEA = Triäthanolamin-hydrochlorid.

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasen aus *Pseudomonas aeruginosa* (LESSIE u. NEIDHARDT, 1967) und aus *Hydrogenomonas H 16* (BLACKKOLB u. SCHLEGEL, 1968b) werden durch ATP gehemmt; die Substratsättigungskurven für Glucose-6-phosphat sind sigmoid, und durch ATP wird die Sigmoidität verstärkt; das Enzym aus *Hydrogenomonas H 16* unterliegt auch der Hemmung durch NADH_2 . Die Hemmung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase gibt sich bei *Hydrogenomonas H 16* auch in vivo zu erkennen: dieses Bakterium vermag sowohl mit Fructose als C- und Energiequelle als auch mit molekularem Wasserstoff als H-Donator und CO_2 als Kohlenstoffquelle zu wachsen. Es baut Fructose über den Entner-Doudoroff-Weg ab. Wasserstoff hemmt die Geschwindigkeit des Fructoseabbaus um 80%, nicht aber den Abbau der Gluconsäure. Die durch H_2 bewirkte Hemmung muß folglich oberhalb der 6-Phosphogluconsäure in den Abbauweg eingreifen (BLACKKOLB u. SCHLEGEL, 1968a). Da in Gegenwart von H_2 die Pyridinnucleotide vorwiegend im reduzierten Zustand und die Adenosinphosphate überwiegend in Form von ATP vorliegen (AHRENS, 1966; AHRENS u. SCHLEGEL, 1966), ist anzunehmen, daß die in vivo beobachtete Hemmung auf der in vitro nachgewiesenen Hemmung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase beruht.

Möglicherweise hat die G-6-P-DH im Entner-Doudoroff-Weg generell eine ähnliche regulatorische Funktion wie die Phosphofruktokinase im Fructosediphosphat-Weg. G-6-P-DH ist jedoch auch in Mikroorganismen enthalten, die Hexosen nicht über den ED-Weg abbauen. In diesen Fällen hat das Enzym andere Funktionen und spielt eine Rolle vorwiegend im oxydativen Pentosephosphat-Weg. Es war bekannt, daß beispielsweise die Substratsättigungskurve der G-6-P-DH aus Hefe nicht sigmoid verläuft. Die vorliegende Untersuchung hatte zum Ziel, mehrere Bakterien, die verschiedenen Stoffwechselltypen angehören, zu vergleichen, die Substratsättigungskurven der G-6-P-DH aufzunehmen und die Hemmbarkeit dieses Enzymes durch ATP und NADH_2 zu prüfen.

Methoden

Organismen

Hydrogenomonas facilis, *Pseudomonas fluorescens* Stamm 1591, *Acetomonas suboxydans* und *Escherichia coli* Stamm B 1702 entstammten der institutseigenen Sammlung. *Acetobacter xylinum* wurde freundlicherweise von Herrn Prof. LEISINGER zur Verfügung gestellt.

Anzucht

H. facilis wurde unter heterotrophen Bedingungen mit 0,5% Fructose nach SCHLEGEL et al. (1961) herangezogen; für *P. fluorescens* wurde diese Nährlösung mit 0,05% Hefeextrakt (Difco) und 2% Glucose ergänzt. *A. xylinum* und *A. suboxydans* wurden nach einer leicht modifizierten Methode von LEISINGER et al. (1966) und

E. coli wurde in Vollmedium mit 1% Glucose wachsen gelassen. Das Wachstum der Kulturen wurde durch Messung der Extinktionszunahme bei 436 nm im Zeiss-Photometer PL 4 verfolgt. Der Proteingehalt wurde mit Rinderserumalbumin als Standard nach LOWRY et al. (1951) bestimmt.

Der Ansatz zur *Bestimmung der Aktivität von Glucose-6-P-DH* setzte sich wie folgt zusammen: 0,82 ml 0,1 M TEA-Puffer (pH 8,5), 0,10 ml 0,05 M Glucose-6-phosphat, 0,06 ml 0,014 M NADP oder NAD, 0,02 ml Enzym. Die Messungen wurden bei Zimmertemperatur im Zeiss-Photometer PL 4 bei 365 nm vorgenommen. Die spezifische Aktivität wurde in Einheiten (E) je Gramm Protein angegeben. Eine Einheit (E) ist der Umsatz von 1 μ mol Substrat pro Minute.

Anreicherung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

A. Aus *Hydrogenomonas facilis*: Zur Herstellung zellfreier Extrakte wurden 25 g gewaschene und bei -20° C aufbewahrte Zellen in 10 ml 0,002 M Tris-HCl-Puffer suspendiert; die Zellsuspension wurde 30 sec je Milliliter bei 550 W im Ultraschalldesintegrator (Schoeller & Co.) behandelt. Die Zellrückstände wurden durch Zentrifugieren bei 2° C abgetrennt (Phywe-Eispirouette, 15000 U/min, 40 min). 12 ml Überstehendes wurden mit dem gleichen Volumen Puffer verdünnt. *MnCl₂-Fraktion*: Der Rohextrakt wurde unter Rühren mit 0,05 Volumen 1 M $MnCl_2$ -Lösung versetzt; die Suspension wurde weitere 15 min gerührt und 10 min in der Phywe-Zentrifuge bei 10000 U/min zentrifugiert. *Ammoniumsulfat-Fraktion*: 25%ige Ammoniumsulfat-Sättigung: 17,4 ml der $MnCl_2$ -Fraktion wurden mit 2,506 g $(NH_4)_2SO_4$ versetzt; die Lösung wurde 15 min weitergerührt und das Präzipitat abzentrifugiert. 55%ige Ammoniumsulfat-Sättigung: In 17,7 ml Überstehendes wurden 3,416 g $(NH_4)_2SO_4$ eingerührt, das aktive Präzipitat nach weiteren 15 min abzentrifugiert und in 4 ml 0,05 M Tris-HCl-Puffer aufgenommen. *Sephadex G-200-Fraktion*: 2 ml der aktiven Ammoniumsulfat-Fraktion wurden auf eine Säule von Sephadex G-200 (fine) der Größe $28 \times 2,2$ cm gegeben. Die Eluierung des Proteins erfolgte mit 0,1 M Tris-HCl-Puffer (pH 7,4, 1 M NaCl). Die Durchflußrate betrug 12 ml/Std. Es wurden Proben von 2,5 ml aufgefangen. Die Enzymaktivität erschien in den Proben Nr. 12–18. Die eluierten aktiven Proben wurden vereinigt und in Kollodiumhülsen (Sartorius Membranfilter GmbH, Göttingen) unter Vacuum auf 2,2 ml konzentriert. *DEAE-Sephadex-Fraktion*: 2 ml des Säulenkonzentrates wurden auf eine Säule ($26 \times 1,8$ cm) von DEAE-Sephadex A-50 (medium) geschichtet. Das Protein wurde mittels eines linearen Puffergradienten eluiert: 200 ml 0,03 M Tris HCl-Puffer (pH 7,4; 0,1 mM NAD). Es wurden Proben von 2,5 ml aufgefangen. Das Enzym erschien in den Proben Nr. 30–35. Die aktiven Eluate wurden vereinigt und in Kollodiumhülsen unter Vacuum konzentriert. Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasen der anderen Organismen wurden unter leicht modifizierten Bedingungen über folgende Stufen angereichert: B. *P. fluorescens*: Rohextrakt, $MnCl_2$ -Fraktion, 30–50%ige Ammoniumsulfat-Fraktion, Sephadex G-200, C. *A. xylinum*: Rohextrakt, $MnCl_2$ -Fraktion, 30–50%ige Ammoniumsulfat-Fraktion, Sephadex G-200, DEAE-Sephadex, D. *A. suboxydans*: Rohextrakt, 30–50%ige Ammoniumsulfat-Fraktion, 40–50%ige Ammonium-Fraktion, E. *E. coli*: Rohextrakt, $MnCl_2$ -Fraktion, 33–55%ige Ammoniumsulfat-Fraktion, Sephadex G 200, 40–60%ige Ammoniumsulfat-Fraktion, DEAE-Sephadex.

Ergebnisse

Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasen wurden nach dem unter Methoden beschriebenen Verfahren angereichert und in den in Tab.1

Tabelle 1. Anreicherungsgrade der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasen aus *Hydrogenomonas facilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acetobacter xylinum*, *Acetomonas suboxydans* und *Escherichia coli*

Organismen	Spezifische Aktivität (E/g Protein)				Grad der Anreicherung
	Rohextrakt		reinstes Enzympräparat		
	NAD	NADP	NAD	NADP	
<i>H. facilis</i>	690	433	54910	23000	79
<i>P. fluorescens</i>	194	188	2986	2216	15
<i>A. xylinum</i>	1,8	16	116	983	61
<i>A. suboxydans</i>	67	193	4934	10573	55
<i>E. coli</i>	0	91	0	7331	63

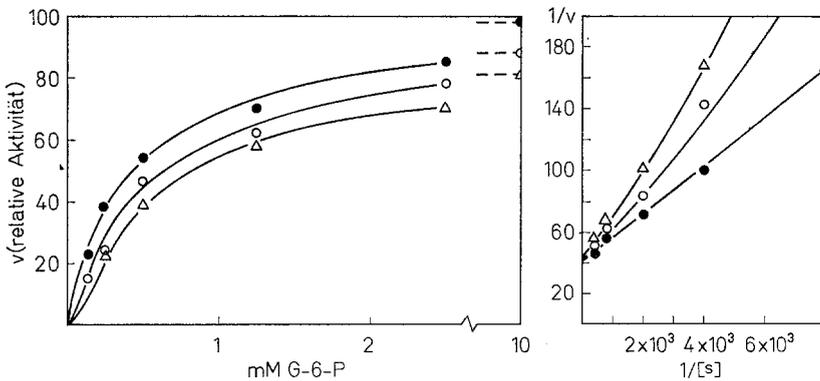


Abb. 1. Einfluß von ATP auf die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Hydrogenomonas facilis* bei variiertem G-6-P-Konzentration. Substratsättigungskurven und Lineweaver-Burk-Darstellung. Testansatz (1 ml): 0,89 ml 0,1 M Glycin-Puffer (pH 9,5), 0,06 ml 0,014 M NAD, 0,005 ml Enzym, G-6-P, wie in der Abbildung angegeben. ●—● Kontrolle ohne ATP; ○—○ 0,375 mM ATP; △—△ 0,750 mM ATP

aufgeführten Reinigungsgraden untersucht. Für jede Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase wurden die Substratsättigungskurven in Abwesenheit und in Gegenwart von ATP aufgenommen.

Für das Enzym aus *Hydrogenomonas facilis* verlief die Substratsättigungskurve hyperbolisch (Abb. 1). ATP setzte die Aktivität herab; die in Gegenwart von ATP aufgenommene Substratsättigungskurve hatte einen leicht sigmoiden Verlauf. Das Enzym aus *Pseudomonas fluorescens* ist durch eine sigmoide Substratsättigungskurve charakterisiert, deren Sigmoidität durch ATP-Zusatz verstärkt wird (Abb. 2). Die Affinität beider Dehydrogenasen war zu NAD größer als zu NADP

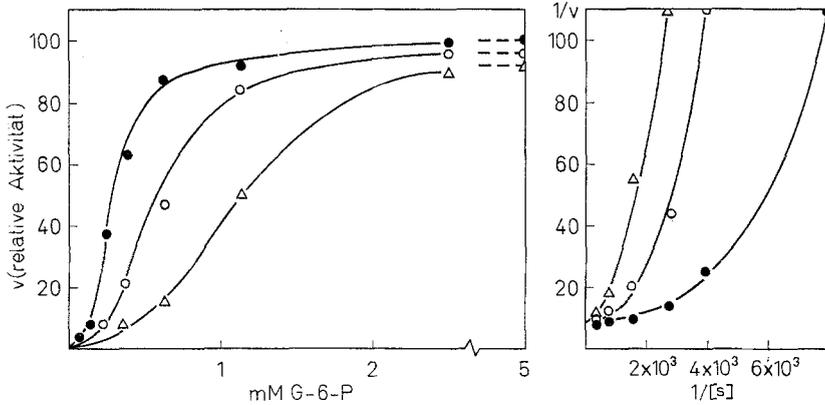


Abb. 2. Einfluß von ATP auf die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Pseudomonas fluorescens* bei variiertem G-6-P-Konzentration. Testansatz (1 ml): 0,88 ml 0,1 M TEA-Puffer (pH 7,6), 0,06 ml 0,014 M NAD, 0,015 ml Enzym, G-6-P, wie in der Abbildung angegeben. ●—● Kontrolle ohne ATP; ○—○ 0,084 mM ATP; △—△ 0,167 mM ATP

Tabelle 2. Hemmung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Hydrogenomonas facilis* durch $NADH_2$ bzw. $NADPH_2$

Ansatz	E/g Protein	% Aktivität
A. 5,6 mM NAD (ohne Zusatz)	24083	100
0,07 mM $NADPH_2$	21293	88
0,14 mM $NADPH_2$	19267	80
0,28 mM $NADPH_2$	16377	68
B. 0,14 mM NADP (ohne Zusatz)	15610	100
0,07 mM $NADH_2$	15028	96
0,14 mM $NADH_2$	14450	93
0,28 mM $NADH_2$	14450	93

Testansatz (1 ml): 0,90 ml 0,1 M Glycin-Puffer (pH 9,5), 0,05 ml 0,025 M G-6-P, 5,6 mM NAD bzw. 0,14 mM NADP, 0,02 ml Enzym.

(Tab. 2, 3). Bei beiden Enzymen setzte $NADPH_2$ die Enzymaktivität mit NAD als H-Acceptor herab; demgegenüber hatte $NADH_2$ auf die Reaktionsrate mit NADP als H-Acceptor nur geringen Einfluß. Zur Bestimmung der $K_{0,5}$ -Werte für Glucose-6-phosphat, NAD und NADP wurden die Konzentrationen des zu prüfenden Substrates variiert, wobei jeweils die anderen Systemkomponenten konstant gehalten wurden. Die $K_{0,5}$ -Werte wurden aus den Lineweaver-Burk-Diagrammen abgelesen (Tab. 4).

Der Einfluß der H^+ -Ionenkonzentration auf die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *H. facilis* wurde in 0,1 M Glycin-

Tabelle 3. Hemmung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Pseudomonas fluorescens* durch $NADH_2$ bzw. $NADPH_2$

Ansatz	E/g Protein	% Aktivität
A. 2,8 mM NAD (ohne Zusatz)	2986	100
0,07 mM $NADPH_2$	2505	83
0,14 mM $NADPH_2$	2408	81
0,28 mM $NADPH_2$	2023	68
B. 0,1 mM NADP (ohne Zusatz)	2023	100
0,07 mM $NADH_2$	2023	100
0,14 mM $NADH_2$	1927	95
0,28 mM $NADH_2$	1830	91

Testansatz (1 ml): 0,80 ml 0,05 M TEA-Puffer (pH 7,6), 0,1 ml 0,05 M NADP, 2,8 mM NAD bzw. 0,1 mM NADP, 0,01 ml Enzym.

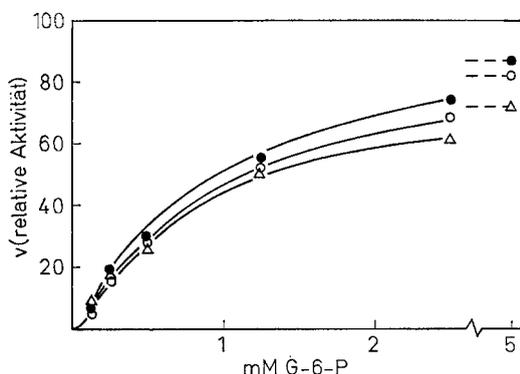


Abb. 3. Einfluß von ATP auf die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Acetobacter xylinum* bei variiertem G-6-P-Konzentration. Testansatz (1 ml): 0,83 ml 0,1 M TEA-Puffer (pH 8,5), 0,06 ml 0,014 M NADP, 0,01 ml Enzym, G-6-P, wie in der Abbildung angegeben. ●—● Kontrolle ohne ATP; ○—○ 7,5 mM ATP; △—△ 12,5 mM ATP

Puffer geprüft. Mit NAD als H-Acceptor lag das pH-Optimum noch etwas weiter im Alkalischen. Das pH-Optimum des Enzyms aus *P. fluorescens* in 0,05 M TEA-Puffer lag sowohl für NAD als auch für NADP bei pH 7,7.

Die Aktivität der Dehydrogenase aus *H. facilis* wurde durch Zusatz von $MgCl_2$ und $MnCl_2$ (jeweils $2,5 \cdot 10^{-4}$ M) gesteigert. Das Enzym aus *Pseudomonas fluorescens* wurde nur durch $MnCl_2$ ($3 \cdot 10^{-3}$ M) leicht aktiviert. EDTA ($2,5 \cdot 10^{-4}$ M bzw. $1 \cdot 10^{-2}$ M) hatte in keinem Fall Einfluß auf die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase.

Auf die aus den Extrakten von *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter suboxydans* und *Escherichia coli* gewonnenen Glucose-6-phosphat-Dehydro-

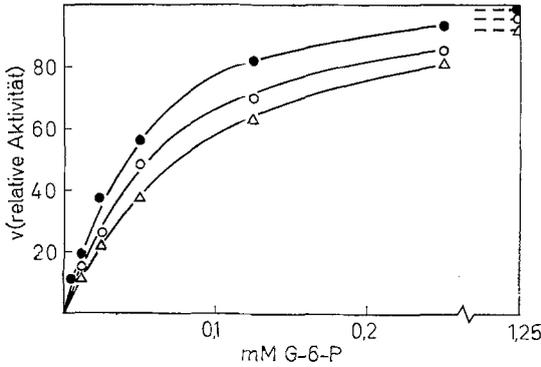


Abb.4. Einfluß von ATP auf die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Acetomonas suboxydans* bei variiertem G-6-P-Konzentration. Testansatz (1 ml): 0,87 ml 0,1 M TEA-Puffer (pH 8,5), 0,06 ml 0,14 M NADP, 0,02 ml Enzym, G-6-P, wie in der Abbildung angegeben. ●—● Kontrolle ohne ATP; ○—○ 2,5 mM ATP; △—△ 5,0 mM ATP

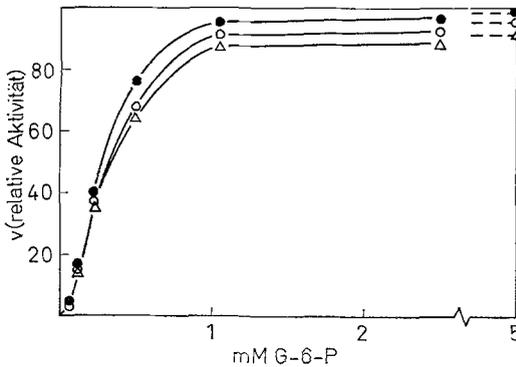


Abb.5. Einfluß von ATP auf die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Escherichia coli* bei variiertem G-6-P-Konzentration. Testansatz (1 ml): 0,79 ml 0,1 M TEA-Puffer (pH 8,5), 0,06 ml 0,014 M NADP, 0,05 ml Enzym, G-6-P, wie in der Abbildung angegeben. ●—● Kontrolle ohne ATP; ○—○ 2,5 mM ATP; △—△ 5,0 mM ATP

genasen hatten ATP und die reduzierten Pyridinnucleotide einen nur geringen Einfluß. Die Substratsättigungskurven der Dehydrogenasen aus *A. xylinum* und aus *E. coli* verliefen leicht sigmoid (Abb.3, 5), die für *A. suboxydans* hingegen hyperbolisch (Abb.4). Durch ATP wurden die Enzyme kaum gehemmt, und Anzeichen für eine Verstärkung der Sigmoidität waren nicht vorhanden.

Die Enzymfraktionen aus *A. xylinum* und *A. suboxydans* hatten zu NADP eine höhere Affinität als zu NAD (Tab.1 und 4). Bei *E. coli*

ließ sich weder im Rohextrakt noch in der angereicherten Fraktion eine NAD-spezifische Aktivität nachweisen. Die Reduktion von NADP oder NAD durch die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase von *A. xylinum* wurde durch die Anwesenheit von NADH bzw. NADPH nur leicht gehemmt. NADH zeigte keinen Einfluß auf die NADP-Reduktion in *A. suboxydans*, und auch die Wirkung von NADH auf die durch das *E. coli* Enzym katalysierte NADP-Reduktion war nur geringfügig.

Tabelle 4. K_m - bzw. $K_{0,5}$ -Werte der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Hydrogenomonas facilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acetobacter xylinum*, *Acetomonas suboxydans* und *Escherichia coli*

Organismen	K_m -Werte [M]		
	G-6-P	NADP	NAD
<i>H. facilis</i>	$3,6 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$9,6 \cdot 10^{-5}$
<i>P. fluorescens</i>	$3,03 \cdot 10^{-4}$ ($K_{0,5}$)	$9,7 \cdot 10^{-5}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
<i>A. xylinum</i>	$5 \cdot 10^{-4}$ ($K_{0,5}$)	$2,7 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-2}$
<i>A. suboxydans</i>	$5,6 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	$6,2 \cdot 10^{-3}$
<i>E. coli</i>	$3,4 \cdot 10^{-4}$ ($K_{0,5}$)	$6,8 \cdot 10^{-5}$	0

Die durch die Lineweaver-Burk-Darstellung ermittelten K_m - bzw. $K_{0,5}$ -Werte für Glucose-6-phosphat, NAD und NADP sind aus der Tab. 4 ersichtlich. Das pH-Optimum der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *A. xylinum* wurde in 0,1 M TEA-Puffer bei pH 8,5 ermittelt; bei *A. suboxydans* hielt sich in 0,1 M Tris-HCl-Puffer die maximale Aktivität zwischen pH 9,0 und pH 10,0, während das pH-Optimum für *E. coli* um 8,3 lag. Die pH-Optima variierten je nach dem verwendeten Puffer beträchtlich. Die Aktivitäten aller drei Dehydrogenasen wurden durch $MgCl_2$ ($5 \cdot 10^{-3}$ M) oder $MnCl_2$ ($3 \cdot 10^{-3}$ M) gefördert. EDTA ($1 \cdot 10^{-2}$ M) hatte jedoch in keinem Fall Einfluß auf die Aktivität der G-6-P-DH.

Diskussion

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase ist an mehreren Stoffwechselwegen beteiligt, die sich bei verschiedenen Mikroorganismen in ihrer Bedeutung für den Gesamtstoffwechsel unterscheiden. Bei denjenigen Bakterien, die Hexosen über den Entner-Doudoroff-Weg abbauen, ist es offenbar das erste für diesen Abbauweg spezifische Enzym und hat lediglich eine katabolische Funktion. Bei *Hydrogenomonas H 16* fehlt sogar die 6-Phosphogluconsäure-Dehydrogenase; ob dieses Enzym allen „Entner-Doudoroff-Organismen“ fehlt, bleibt zu prüfen. Bei den Bakterien, die Hexosen über den Embden-Meyerhof-Weg abbauen, liegt die Bedeutung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase in der Oxydation

der Hexosen zu den Pentosephosphaten; das Enzym hat folglich eine anabolische Funktion. Bei den heterofermentativen Milchsäurebakterien ist das Enzym in einen Abbauweg eingeschaltet. Inwieweit dem Enzym bei *Acetobacter xylinum* und *A. suboxydans* eine katabolische und eine anabolische Funktion zukommt, ist noch unsicher.

Die vorliegende Arbeit macht mit der vergleichenden Untersuchung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasen verschiedener Bakterien einen ersten Anfang. Die erhobenen Befunde spiegeln die physiologische Rolle, die das Enzym bei verschiedenen Bakterien spielt, wider. Bakterien, die Hexosen ausschließlich über den Entner-Doudoroff-Weg abbauen (*Hydrogenomonas H 16*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*), verfügen über eine Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, die durch eine relativ geringe Affinität für Glucose-6-phosphat, Spezifität für sowohl NAD als auch NADP, eine sigmoide Substrat(G-6-P)-Sättigungskurve und Hemmbarkeit durch ATP gekennzeichnet ist. Demgegenüber hat das Enzym in Organismen, in denen dem Enzym in erster Linie anabolische Funktionen zukommen, eine Spezifität für NADP, eine hyperbolische Substrat(G-6-P)-Sättigungskurve und keine Empfindlichkeit gegenüber ATP.

Die vorliegenden Befunde reichen zu einer Verallgemeinerung noch nicht aus. Es bleiben noch mehrere Bakteriengruppen zu prüfen, bei denen Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase entweder nur einer einzigen Funktion dient oder sowohl in katabolische Wege als auch in Biosynthesewege eingeschaltet ist.

Herrn Dr. LEISINGER danken wir für die Überlassung von *Acetobacter xylinum* und Herrn Dr. GOTTSCHALK für viele methodische Hinweise. Die Versuche wurden teilweise im Rahmen eines durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützten Forschungsprogramms durchgeführt.

Literatur

- AHRENS, J.: Über die Komponenten des Elektronentransportsystems bei *Hydrogenomonas H 16*. Diss., Göttingen 1966.
- , u. H. G. SCHLEGEL: Zur Regulation der NAD-abhängigen Hydrogenase-Aktivität. Arch. Mikrobiol. **55**, 257—265 (1966).
- ATKINSON, D. I.: Regulation of enzyme activity. Ann. Rev. Biochem. **35**, 85—125 (1966).
- BLACKKOLB, F., u. H. G. SCHLEGEL: Katabolische Repression und Enzymhemmung durch molekularen Wasserstoff bei *Hydrogenomonas*. Arch. Mikrobiol. **62**, 129—143 (1968a).
- — Regulation der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aus *Hydrogenomonas H 16* durch ATP und NADH₂. Arch. Mikrobiol. **63**, 177—196 (1968b).
- LEISINGER, TH., A. WIEMKEN u. L. ETTLENGER: Über cellulosefreie Mutanten von *Acetobacter xylinus*. Arch. Mikrobiol. **54**, 21—36 (1966).

78 J. SCHINDLER u. H. G. SCHLEGEL: Regulation der Glucose-6-P-DH durch ATP

LESSIE, T., and F. C. NEIDHARDT: Adenosine triphosphate-linked control of *Pseudomonas aeruginosa* glucose-6-phosphate dehydrogenase. J. Bact. **93**, 1337—1345 (1967).

LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, and R. J. RANDALL: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. biol. Chem. **193**, 265—275 (1951).

SCHLEGEL, H. G., H. KALTWASSER u. G. GOTTSCHALK: Ein Submersverfahren zur Kultur wasserstoffoxydierender Bakterien: Wachstumsphysiologische Untersuchungen. Arch. Mikrobiol. **38**, 209—222 (1961).

Dr. J. SCHINDLER
Fa. Henkel
4000 Düsseldorf

Prof. Dr. H. G. SCHLEGEL
Institut für Mikrobiologie
der Universität
3400 Göttingen, Goßlerstr. 16